

SCHLUSSBERICHT

zum Forschungsvorhaben

**„Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung
von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als
Voraussetzung zum Anbau und zur großtechnischen
Isolierung der Gerb- und Farbstoffe“**

Förderkennzeichen: 96NR176-F

Bearbeitungszeitraum: 01.04.1998 – 30.06.2001

Projektverantwortlicher: Prof. Dr. Ingo Schellenberg

Wissenschaftlicher Bearbeiter: Dr. Gerhard Schnüber

Hochschule Anhalt (FH)
Standort Bernburg
FB Landwirtschaft, Oecotrophologie
und Landespflege

Bernburg, den 01.12.2001

Registrier-Nr.:

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1.	Zielstellung des Vorhabens	4
2.	Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	4
3.	Planung und Ablauf der Arbeiten	4
4.	Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde	5
5.	Verfahren und Schutzrechte, an die angeknüpft wurde	7
6.	Versuchsdurchführung	8
6.1	Anlage der Feldversuche	8
6.2	Inhaltstoffliche und technologische Untersuchungen	11
7.	Ergebnisse	11
7.1.	Anbau von Rhabarber	11
7.1.1.	Pflanzgutgewinnung	14
7.1.2.	Pflanzung von Rhabarber	14
7.1.2.1	Wurzelpflanzung	14
7.1.2.2	Pflanzung mikrovermehrter Pflanzen	16
7.1.3	Landwirtschaftliche Bearbeitung der Rhabarberbestände	18
7.1.4	Pflanzenkrankheiten und Schädlinge	24
7.1.5	Ernte der Rhabarberwurzeln	26
7.1.6	Wurzelentwicklung und Wurzelträge	29
7.2	In- vitro- Arbeiten zur Mikrovermehrung	33
7.3	Untersuchungsmethoden und Methodenentwicklung	38
7.3.1	Gerbstoffbestimmung	38
7.3.2	Methoden zur Bestimmung der Anthrachinone	39
7.3.2.1	Kapillarelektrophorese	39
7.3.2.2	HPLC	41
7.3.2.3	Extraktion	43
7.4	Untersuchung der Inhaltsstoffe	44
7.4.1	Gerbstoffuntersuchungen	44
7.4.1.1	Gerbstoffgehalte in verschiedenen Rhabarber- Arten	44
7.4.1.2	Gerbstoffgehalte in Wurzeln verschiedener Anbaujahre	45
7.4.1.3	Untersuchung des Einflusses der Düngung auf die Gerbstoffgehalte	45
7.4.1.4	Gerbstoffgehalte in durch Aussaat erhaltenen Rhabarberpflanzen	47
7.4.2	Untersuchung der freien Anthrachinone in den Rhabarberwurzeln	49
7.4.2.1	Untersuchung der freien Anthrachinone in den Wurzeln der ausgewählten Genotypen	49
7.4.2.2	Anthrachinongehalte in durch Aussaat erhaltenen Nachkommen der ausgewählten Rhabarber	51
7.4.3	Versuche zur Selektion gerbstoffreicher Genotypen	52
7.4.3.1	Elektrophoretische Untersuchungen	53
7.4.3.2	Beziehungen zwischen den Anthrachinonen und den Gerbstoffgehalten	57
7.4.3.3	Beziehungen zwischen den Gerbstoffgehalten in den verschiedenen Wachstumsjahren	58
7.4.3.4	Selektion gerbstoffreicher Pflanzen	59
7.5	Technologische Untersuchungen	59
7.5.1	Extraktionsuntersuchungen	59
7.5.1.1	Extraktionsuntersuchungen bei verschiedenen Genotypen	59
7.5.1.2	Anthrachinongehalte in den Extraktionsfraktionen	64
7.5.1.3	Extraktionsuntersuchungen an mikrovermehrten und durch Aussaat erhaltenen Rhabarberpflanzen	65
7.5.1.4	Extraktausbeute bei unterschiedlich gedüngten Rhabarberpflanzen	66
7.5.1.5	Extrakt Herstellung und -untersuchung für die Gerbung	66
7.6	Großtechnische Untersuchungen	67
7.6.1	Reinigung der Wurzeln	67
7.6.2	Zerkleinerung der Rhabarberwurzeln	70
7.6.2.1	Vorversuche im Labor	70

7.6.2.	Großtechnische Zerkleinerung	71
7.6.2.3	Einfluss der Zerkleinerung auf die Gewinnung der Inhaltsstoffe	73
7.6.3	Trocknung der Rhabarberwurzeln	74
7.6.3.1	Trocknung im Trockenwerk	74
7.6.3.2	Kalttrocknung	75
7.6	Gerbversuche mit Extrakten aus bisher noch nicht geprüften Genotypen	75
7.8	Großtechnische Extraktion	78
7.9	Kosten von Rhabarbergerbstoff	79
7.9.1	Rohstoffkosten	79
7.9.2	Extraktionskosten	81
8.	Zusammenfassung	81
9.	Literaturverzeichnis	85

Abkürzungen und Begriffserklärungen

AG	Arbeitsgruppe
AZ	Anteilzahl
CE	Kapillarelektrophorese
Cr	Chrom
EOF	Elektroosmotischer Fluss
FB	Farbstoff
FILK	Forschungsinstitut für Leder- und Kunstledertechnologie gGmbH Freiberg
G	Genotyp
GR	Glührückstand
GT	Gesamttrockenmasse
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HS Anhalt	Hochschule Anhalt (FH)
K	Kalium
KAS	Düngemittel (Kalk-Ammon-Salpeter)
MEKC	Micellare Elektrokinetische Chromatographie
MS	Massenspektrometrie
N	Stickstoff
NIG	Nahrungs- Ingenieurtechnik GmbH Magdeburg
P	Phosphor
RG	Reingerbstoff
TS	Trockensubstanz
UL	Unlösliches
UV-Bereich	Ultraviolette Strahlung als Teil des elektromagnetischen Spektrums
VIS-Bereich	der für das menschliche Auge sichtbare Bereich des elektromagnetischen Spektrums

1. Zielstellung

Ziel des Forschungsvorhabens war es, für die Gewinnung von Gerb- und Farbstoffen aus den Wurzeln von Rhabarberarten eine Grundlage für die landwirtschaftliche und industrielle Produktion zu erarbeiten. Dafür mußten folgende Teilaufgaben bearbeitet werden:

- Anbau gerbstoffreicher Genotypen aus dem verfügbaren Rhabarbersortiment der HS- Anhalt und Untersuchung ihrer ackerbauliche Eignung.
- Untersuchung neuer Genotypen, die noch nicht hinsichtlich Gerb- und Färbbeeigenschaften untersucht wurden.
- Untersuchung von Sämlingen, um die genetische Variabilität des Rhabarbers bei der Aussaat zur Auslese neuer gerbstoffreicher Herkünfte auszunutzen.
- Entwicklung von Möglichkeiten für eine schnelle Einführung neuer gerbstoffreicher Rhabarbergenotypen durch genotypspezifische Mikrovermehrungsmethoden.
- Entwicklung von Methoden zur Identifizierung der Gerb- und Farbstoffe, die schon im Jungpflanzenstadium eine Bestimmung der Eigenschaften ermöglichen.
- Großtechnische Untersuchungen für die Verarbeitung der Wurzeln sollten die Möglichkeit schaffen, bei Bedarf große Mengen an Gerbstoffen herstellen zu können.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Mit dem Zuwendungsbescheid vom 27.03.1998 konnte das Verbundvorhaben ”Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als Voraussetzung zum Anbau und zur großtechnischen Isolierung der Gerbstoffe”

mit dem Förderkennzeichen 96NR176-F am 01.04.98 begonnen werden.

Die Höhe der Zuwendung für die Hochschule Anhalt (FH) betrug 923.021,86 DM für den Bewilligungszeitraum

01.04.1998 bis 30.06.2001.

Mit Schreiben der FNR vom 20.12.2000 wurde die Laufzeit des Vorhabens von ursprünglich bis 31.12.2000 bis zum 30.06.2001 verlängert.

Mit den Verbundpartnern NIG GmbH Magdeburg, TINPLANT- Pflanzenvermehrungs GmbH Klein Wanzleben und dem Forschungsinstitut für Leder- und Kunstledertechnologie gGmbH Freiberg wurden für den Bearbeitungszeitraum Kooperationsverträge geschlossen. Die Bezahlung der Kooperationsleistungen erfolgte als Vergabe von Aufträgen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die HS- Anhalt war Koordinator des Verfahrens und bearbeitete das Gesamtvorhaben.

Die NIG- GmbH bearbeitete Fragen der Extraktion von Gerb- und Farbstoffen, die TINPLANT- GmbH bearbeitete Fragen der Erarbeitung genotypspezifischer Mik-

rovermehrungen und das Institut für Leder- und Kunstledertechnologie Freiberg führte Gerbstoffuntersuchungen sowie Probegerbungen durch.

In Absprachen wurde der NIG GmbH bzw. dem FILK Freiberg Pflanzenmaterial für die jeweilige Aufgabenstellung zur Verfügung gestellt.

Vierteljährlich erfolgten wechselseitig Beratungen der Kooperationspartner zum Informationsaustausch über den Stand der Erkenntnisse.

4. Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde

Leder ist ein zunehmend beliebter Artikel, dessen Grundstoff die Rohhaut ist und das als ein Produkt aus einem nachwachsenden Rohstoff angesehen werden kann. Obwohl in den Industriestaaten die Lederherstellung in den letzten Jahrzehnten schwach abgenommen hat, ist weltwirtschaftlich immer noch eine Steigerung zu verzeichnen (SCHRÖER und SCHNEIDER, 1997).

Weltweit werden ca. 1,5 Mrd. m² Leder hergestellt, davon wird der größte Teil des Rindleders für Schuhe mit Oberleder verwendet, die zahlenmäßig mit 4,573 Milliarden Paar angegeben werden (FAO, 1998). Es existieren in Deutschland 34 Betriebe mit je über 20 Beschäftigten, die in die Lederindustrie integriert sind (Stand 1998). Insgesamt sind in der deutschen Lederindustrie 3150 Personen angestellt.

Etwa 80% des Leders wird durch Chromgerbung hergestellt (TROMMER und KELLERT 1999). Allein in Deutschland werden jährlich ca. 14 Mio. m² Flächenleder erzeugt, welches 14 bis 28 g/kg Chrom enthält. Für die weltweite Chromgerbstoffherstellung werden jährlich ca. 85.000 t Chrom gefördert (REICH, 2000). Jährlich fallen in Deutschland 18.000 t Chromfalzspäne an, die zu einem Drittel auf normalen Deponien entsorgt werden müssen (DÖPPERT u.a.1994), da sie aufgrund der noch enthaltenen geringen Chromanteile weder als Düngemittel noch für Futterzwecke eingesetzt werden dürfen. Vor allem aber die gebrauchten Ledergegenstände, die entsorgt werden, wie z. B. die hohe Anzahl der jährlich hergestellten Schuhe, werden auf normalen Mülldeponien entsorgt. Ein teilweiser Ersatz der Chromgerbstoffe durch vegetabilische Gerbstoffe würde zumindest zu einer Verringerung der Chrombelastung führen.

In den letzten Jahren ist in der Industrie ein verstärkter Trend dahingehend zu verzeichnen, dass viele Produkte auf die Möglichkeiten der Substitution von synthetisch erzeugten Materialien auf natürlich verfügbare Rohstoffe hin untersucht werden.

Der Einsatz von pflanzlichen Gerbstoffen bei der Lederherstellung nimmt bei bestimmten Produkten wieder zu, ist aber durch Raubbau an unwiederbringlichen, natürlich gewachsenen Wäldern begrenzt (z.B. Quebracho, 1950 mit doppelt so viel Anteilen am Weltmarkt wie Mimosa noch an erster Stelle bei vegetabilen Gerbstoffen, war 1990 nur noch mit ca. 50% von Mimosa an den gehandelten Gerbstoffen beteiligt) (OERTEL, 1993; ANONYM, 1993; SLABBERT, 1999). Weltweit werden ca. 300.000 t vegetabilischer Gerbstoffe gehandelt, hauptsächlich Mimosa, Quebracho, Kastanie und Valonea, die in verschiedenen Ländern mit unterschiedlichen Gerbverfahren eingesetzt werden (ANONYM, 1997; CUTTING, 1997). Auch für andere Produktzweige, wie Kosmetik werden Vegetabilgerbstoffe zunehmend eingesetzt (SHI, 1997).

Rohstoffe aus der heimischen Landwirtschaft können dazu beitragen, dass einerseits die natürlichen Ressourcen geschont und andererseits ein ökologischer

Kreislauf von der Produktion der Rohstoffe bis zur Entsorgung der nicht mehr benötigten Produkte gewährleistet wird.

Sowohl aus Erfahrungen vergangener Jahrzehnte als auch aus aktuellen Forschungsergebnissen (GNAMM, 1949; OERTEL u.a. 1994; SCHELLENBERG und SCHNÜBER, 1994, 1997, 1998; SCHELLENBERG u.a.1995,1998) ist bekannt, dass Pflanzen aus der Familie der Knöterichgewächse (Polygonaceae) Gerbstoffe in solchen Qualitäten und Mengen enthalten, dass sie zumindest zu einer teilweisen Substitution der Chromgerbung genutzt werden können.

Ansatzpunkte für den Einsatz einheimischer bzw. in Deutschland kultivierbarer Pflanzen im Sinne der Aufgabenstellung sind aus der Vergangenheit bekannt. Durch die Konkurrenzsituation zur Chromgerbung konnten sich allerdings Versuche zur Kultivierung spezieller Gerbstoffpflanzen unter mitteleuropäischen Klimaverhältnissen nicht durchsetzen.

Bisher wurden von der HS- Anhalt und ihren Kooperationspartnern bei verschiedenen Forschungsthemen folgende Ergebnisse erhalten:

In dem Rhabarber- Sortiment wurden mehrere Genotypen gefunden, die sich aufgrund der Inhaltsstoffkonzentrationen für die Gerbung eignen. Für einige Genotypen wurden Extraktionsverfahren entwickelt. Genotyp 10 wurde landwirtschaftlich in Parzellenversuchen angebaut und technologische Fragen wie Pflege, Düngung und Ernte untersucht. Die Möglichkeiten der Farbvariationen durch den Einsatz von Gerbstoffen verschiedener Genotypen zeigte, dass verschiedene Farbabstufungen im Bereich von gelb bis braun in einem Gerbgang zu erreichen sind. Gleichzeitig wurde von einer Charge Wurzeln so viel Gerbstoff gewonnen, dass erste Produkte (2000 Paar Schuhe, Handschuhe und Sitzmöbel) hergestellt und verkauft wurden.

Um den Rhabarber als Ganzpflanze zu nutzen, wurden Rezepturen für Bioreiniger entwickelt, die im Verbrauchertest mit den Noten sehr gut bis gut beurteilt wurden.

Bei der Gerbung mit natürlichen Gerbstoffen erhält man bereits gefärbte Leder, deren Farbausprägung sich mit der Herkunft und den Gewinnungsverfahren der Gerb- und Farbstoffe ändert. Auf die färbende Wirkung der Rhabarberextrakte für die Gerbung und auf die Färbemöglichkeit für die Lederproduktion wurde schon hingewiesen (OERTEL u.a., 1994).

Die auch medizinisch wirksamen Inhaltsstoffe des Rhabarbers besitzen färbende Eigenschaften und wurden im 18. Jahrhundert auch in Deutschland zum Färben von Textilien und Wolle benutzt (SCHWEPPE, 1993; NATHO, 1986; ROTH u.a., 1992). Die für diese Eigenschaften verantwortlichen Verbindungen sind Anthrachinone, Anthranole, Anthrone und Dianthrone, die als Glykoside oder Aglykone vorliegen.

Die Lederindustrie und der Lederhandel stehen einem Einsatz von Gerbstoffen aus den bearbeiteten Knöterichgewächsen interessiert gegenüber. Erste größere Versuche, Gerbgänge mit Rhabarbergerbstoffen durchzuführen sind positiv ausgefallen.

Neben diesen positiven Ergebnissen wurde bisher die Produktion von Rhabarberwurzeln in landwirtschaftlichem Maßstab nicht ausreichend untersucht. Bestenfalls waren in Deutschland Kleinanpflanzungen für die Gewinnung als Gemü-

se im Anbau. Aussaat, Pflanzung und Pflege dieser Kulturen auf großen Flächen mit der für den Landwirt notwendigen Rentabilität sind bisher nur teilweise untersucht worden. Auch die technischen Verarbeitungen sind zu optimieren.

Für eine Einführung der Gerbstoffproduktion aus Rheum, von der Herstellung der Rohstoffe bis zur großindustriellen Verwendung, ist es notwendig, die natürlichen Reserven im genetischen Potential des Rhabarbers stärker zu nutzen. Es müssen Pflanzen geschaffen werden, die technologisch, sowie von ihrer Inhaltsstoffqualität und -menge optimale Eigenschaften aufweisen und mit Verfahren des integrierten Anbaus zu kultivieren sind.

5. Verfahren und Schutzrechte, an die angeknüpft wurde

- Es wurde von den Bearbeitern der Forschungsthemen zur Nutzung von Rhabarber für die Herstellung von Gerbstoffen im Rahmen des Verbundvorhabens „Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie. Entwicklung von chromfreien Gerbmitteln und –verfahren“ (FKZ 1480878, 1480879 und 1480815) ein Patent zur Gewinnung von Gerbstoffen aus Knöterichgewächsen angemeldet (Az. DPA: 19615436.7-43 (1996)).

6. Versuchsdurchführung

6.1 Anlage der Feldversuche

Versuchsort Bernburg

Standort:	Bernburg Kohlenstrasse und Neugattersleben Sachsen- Anhalt
Höhenlage über NN	80 m
Mittl. Jahresniederschlagssumme	483 mm
Mittlere Jahreslufttemperatur	8,9° C
Hauptbodenform	Löß-Schwarzerde
Standortregionaltyp	Lö 1a 1
Bodenwertzahl	93- 100

Versuchsort Wulfen

Standort:	Wulfen, Kr. Köthen, Sachsen- Anhalt
Schlag	Sandweg links
Höhenlage über NN	70 m
Mittl. Jahresniederschlagssumme	483 mm
Mittlere Jahreslufttemperatur	8,9° C
Hauptbodenform	Lehmiger Sand
Standortregionaltyp	D5a
Bodenwertzahl	52

Versuchsbeschreibung

Für Praxisversuche wurden die Hauptflächen auf den Schlägen der Hochschule Anhalt (Strenzfeld 1), der Agrargesellschaft mbH Wulfen und in Agrar- GbR Neugattersleben (Pflanzungsversuche) angelegt. Parzellenversuche zur Genotypperhaltung und Sämlingsaussaat wurden auf dem Versuchsfeld Kohlenstraße Bernburg angelegt.

Pflanzen:

Auf den Flächen für Großversuche wurden folgende Rhabarberarten ausgepflanzt:

- Rheum officinale BAIL., Herkunft Vacrotut Ungarn (Genotyp 2)
- Rheum rhabarberum L., Sorte „The Sutton“ (Genotyp 10)
- Rheum rharbarberum L., Herkunft Nordkorea (Genotyp 24)
- Rheum spec. Herkunft Polen, alte Landsorte (Genotyp 25)

Um eine rationelle Bearbeitung zu ermöglichen wurden die Flächen für die einzelnen Genotypen hintereinander angelegt, so dass eine Längsbearbeitung über das gesamte Feld erfolgen konnte. Die Flächen in Strenzfeld wurden in den Jahren 1999 und 2000 mit unterschiedlichen Düngungsvarianten behandelt. Eine vorherige Differenzierung der Düngung im ersten Wachstumsjahr der einzelnen Genotypen wäre wenig sinnvoll gewesen, da die Pflanzen (im 4 cm- Topf) noch so klein waren, dass auch bei der geringsten Düngungsstufe ausreichend N zur Verfügung stand.

Die Sortimentsversuche auf dem Versuchsfeld Kohlenstrasse wurden manuell gepflegt.

Angelegte Versuche:

Bearbeitungs,- Düngungs- und Pflanzenschutzversuche:

Versuchsort Bernburg/Versuchsfeld Strenzfeld:

2,6 ha: Genotypen 10, 2, 24, und 25, Wurzel- und In- vitro- Pflanzung

Versuchsort Neugattersleben: 2,5 ha In- vitro- Pflanzen

Versuchsort Wulfen:

4,0 ha, Genotyp 10 und 2, Wurzel- und In- vitro- Pflanzung

Parzellenversuche

Versuchsort Bernburg/Versuchsfeld Kohlenstraße:

Genotypensortimente, Ausgewählte Genotypen und Aussaatversuche

Vorbereitung der Versuchsflächen

Die Versuchsfläche in Wulfen bestand schon und wurde für die Bearbeitungs- und Ernteverversuche genutzt. Sie war mit Winterweizen bestellt, wurde nach der Ernte gepflügt und mit 450 dt/ha Rindermist gedüngt. Die Düngung mit Rindermist erfolgte im Frühjahr 1997 nach der Pflanzung. Der Boden war zu Vegetationsbeginn 1996 und 1997 optimal mit den Hauptnährstoffen versorgt. Von den Mikroelementen befanden sich Zink und Mangan in optimalen und Kupfer in mittleren Konzentrationen im Boden.

Schlagkartei

Versuchsfläche Strenzfeld

03.07.1998	Pflanzung der mikrovermehrten Pflanzen Genotyp 2 und angießen
21.07.1998	Handhacke quer
27.07.1998	Maschinenhacke längs
28.08.1998	60 kg KAS/ha
22.09.1998	Maschinenhacke längs und Handhacke quer
01.03.1999	Umpflanzung in Reihenabstände 1,5 x 1,0 m
12.03.1999	100 kg N/ha KAS
15.03.1999	Maschinenhacke längs
27.03.1999	Handhacke quer
22.04.1999	Blütenstände entfernt
19.-21.5.99	längs gefräst, Handhacke quer
19.06.1999	Maschinenhacke längs
17.06.1999	2. N- Gabe, gestaffelt 50/100/150 kg N/ha
09.07.1999	Maschinenhacke längs
15.07.1999	Handhacke quer
27.01.2000	Herbizidversuche angelegt, 1. Behandlungstermin

07.03.2000	Herbizidversuch 2. Behandlungstermin
20.03.2000	Maschinenhacke
22.03.2000	Handhacke quer
24.04.2000	100 kg KAS gestreut
26.04.2000	Maschinenhacke
02.-04.5.00	Blütenstände entfernt
18.05.2000	2. N- Gabe 50/100/150 kg N/ha
20.-26.6.00	Längs gehackt
07.08.2000	Längs gefräst
01.03.2001	Mit Sencor behandelt
15.05.2001	Distelnester bekämpft

Versuchsfläche Wulfen

28.04.1998	N- Dünger ausgebracht
26.-28.5.98	Längsreihen gefräst
06.05.1998	N- Dünger ausgebracht
17.-24.7.98	Kraut entfernt
06.-10.8.98	Kraut entfernt
08.09.1998	Fusiladeversuch 3,0 l/ha (Quecken und Hirse)
19.01.1999	Mit Striegel bearbeitet
20.01.1999	Spritzung mit 3,0 l/ha Kerb 50W in 350 l Wasser
22.03.1999	100 kg KAS gestreut
19.-20.4.99	Bearbeitung mit Fräse
23.08.1999	Mulchen für Ernte
31.08.1999	Rodung von 2 ha
17.03.2000	100 kg N/ha KAS
12.04.2000	Bearbeitung mit Schwergrubber
14.06.2000	Bekämpfung von Distelnestern mit Lontrel

Versuchsfläche Kohlenstraße

Parzellenversuche:

Genotypensortiment und ausgewählte Genotypen

28.09.1998	Sortiment geerntet und Pflanzstücke hergestellt
01.10.1998	Genotypensortiment in 8- facher Wiederholung neu angelegt
12.03.1999	100 kg KAS gedüngt
13.04.1999	Mit Traktor längs gehackt
06.05.1999	Handhacke quer
18.05.1999	Mit Radhacke quer gehackt
03.-04.8.99	Beseitigung großer Unkräuter
12.-13.1.00	Gemulcht mit Miscanthushäcksels
07.03.2000	120 kg KAS gedüngt

Aussaatversuche

05.04.1998	Aussaat der Samen im Gewächshaus
19.04.1998	Pikieren der Sämlinge

04.05.1998	Pflanzen der Sämlinge in Töpfe
25.6-1.7.98	Auspflanzen der Sämlinge 50 x 50 cm
14.07.1998	Düngung 80 kg N/ha KAS
10.07.1998	Unkrautbeseitigung durch Handhacke
04.07.1998	Probenentnahme
4.-11.10.98	Wurzeln gerodet, geteilt und Proben genommen
9.-16.11.98	Wurzelhälften wieder gepflanzt
12.03.1999	100 kg N/ha KAS gedüngt
18.03.1999	Mit Radhacke längs bearbeitet
12.04.1999	Mit Radhacke quer bearbeitet
03.05.1999	Mit Radhacke längs bearbeitet
07.03.2000	100 kg N/ha KAS gedüngt
11-12.10.00	Wurzelproben entnommen

6.2 Inhaltsstoffliche und technologische Untersuchungen

Die inhaltsstofflichen Untersuchungen erfolgten in den Laboratorien der Hochschule Anhalt.

Die quantitativen Gerbstoffbestimmungen wurden vom Freiburger Leder- und Kunstlederinstitut gGmbH mit der international gebräuchlichen „Hautpulvermethode“ ermittelt.

Einige Ledercharakteristika wurden mit Hautpulvertabletten untersucht.

Die Beurteilung gegerbter fertiger Leder wurde ebenfalls in Freiberg durch eine Leder- Vollanalyse vorgenommen.

Kleintechnische Versuche zur Isolierung der Inhaltsstoffe führte die NIG Magdeburg im Labor- und Technikumsmaßstab durch.

Großtechnisch wurde die Trocknung und die Gerbstoffextraktion in Industriebetrieben durchgeführt (Zuckerfabrik Könnern, Trockenwerk Rätzlingen, Polychemie Limbach- Oberfrona und Spreewaldpharma).

Die biotechnologischen Versuche zur Mikrovermehrung wurden von der Firma TINPLANT Pflanzenvermehrungs- GmbH Klein Wanzleben durchgeführt.

7. Ergebnisse

7.1 Anbau von Rhabarber

7.1.1 Pflanzgutgewinnung

Bei Rhabarber ist die Vermehrung durch Pflanzung von Wurzelstücken üblich, da bei der Aussaat genetische Spaltungseffekte auftreten, die zur Vermischung der Sorteneigenschaften führen. Das spielte schon bei den Gemüserhabarbersorten mit definierten Geschmacksqualitäten eine Rolle und ist auch für die Gewinnung von Gerb- und Farbstoffen mit bestimmten Qualitätseigenschaften von Bedeutung. Zwar erfolgt in manchen Fällen noch eine Vermehrung über Samen, bei der auch hohe Stielträge zu verzeichnen waren, doch die Einheitlichkeit der Stiefarbe konnte nur bei vegetativer Vermehrung gewährleistet werden (MAYNARD, 1990).

Eine Lieferung von Pflanzstücken durch den Gartenbauhandel ist prinzipiell möglich, steht aber bei einsetzendem größerem Bedarf an der Leistungsgrenze. Vor allem bei Bedarf an speziellen Sorten oder Genotypen läßt sich der Anbau

von mehreren Hektar nur mit mikrovermehrten Pflanzen verwirklichen, da nur damit in kurzer Zeit große Pflanzenzahlen zu realisieren sind. Im Rahmen der Arbeiten zum Forschungsvorhaben wurde die Etablierung der Mikrovermehrung für die Genotypen 2, 10, 24 und 25 erarbeitet.



Abbildung 1: Pflanzstück von ca. 800 g mit mehreren Knospen

Die Kosten für die durch Mikrovermehrung hergestellten Pflanzen sind bei der gegenwärtig benötigten Menge an Pflanzen jedoch nicht günstiger als die für die Pflanzstücke, wenn auch eine kontinuierliche Herstellung größerer Stückzahlen sicher zu einer Verminderung der Preise bei den In- vitro- Pflanzen führen würde. Bei Anbauflächen einiger Hektar, z. B. in der Einführungsphase ist daher auch eine Gewinnung von Pflanzstücken aus vorhandenen Beständen sinnvoll.

Die Untersuchungen zur Gewinnung von Pflanzmaterial wurden an Pflanzen verschiedenen Alters mit der Sorte „The Sutton“ durchgeführt. Ein Teil der Wurzeln wurde nur zur Vermehrung geerntet, ein anderer für die großtechnische Verarbeitung und die Pflanzstücke wurden vor der Weiterverarbeitung herausgeschnitten. Es wurde darauf orientiert, Stücke von ca. 500 g zu erreichen. Nach BIELKA (1961) und FRITZ und STOLZ (1989) soll das Gewicht der einzelnen Rhizomstücke von 300 g bis 1 kg betragen. Sie müssen mindestens ein Auge (Knospe) aufweisen (wie Abbildung 1).

Andere Größen an Pflanzstücken (HÄGER, 1999) wurden bei der Pflanzung von Gemüserhabarber benutzt und von den Betrieben erfolgreich verwendet. Dabei wurden nur ca. 100 g grosse Stücke geschnitten, die sich dann aufgrund der geringen Größe auch mit geringerem Aufwand pflanzen lassen. Diese Pflanzstücke dürfen allerdings nicht lange gelagert werden, weil sie an der Luft leicht austrocknen und eine Pflanzung im Spätherbst ist aufgrund der langen Zeit bis zur Bildung erster Wurzeln ungünstig.



Abbildung 2: Zu kleine Pflanzstücke eignen sich nicht für die Lagerung und vertrocknen

Voraussetzung für die Rhizompflanzung ist das Vorhandensein gesunder virusfreier Wurzeln. Für die Herstellung von Pflanzstücken sind kräftige Ausgangspflanzen mit gesunden Wurzeln und vielen Knospen (Augen) notwendig. Aus dem Gemüserhabarberanbau ist bekannt, dass kräftige Knospen schneller zu kräftigen Stielen und Blättern führen, was sich auch auf das Wachstum der Wurzeln auswirkt.

Die Ausbeute an Pflanzstücken wurde schon in früheren Arbeiten untersucht. Von 300 Wurzeln wurden 1665 Rhizomstücke hergestellt. 1285 davon stellten mit einem Durchschnittsgewicht von 1 kg pro Stück und mehreren Augen (Knospen) eine sehr gute Qualität dar, 380 wiesen ein Durchschnittsgewicht von 462 g auf.

Das liegt im Bereich der bei vegetativer Vermehrung üblichen Pflanzstücke. 1996 wurden weitere 7000 Pflanzstücke hergestellt. Für das manuelle Zerteilen der Wurzeln wurde eine Ausbeute von 200 bis 250 Pflanzstücke je Stunde erreicht.

Beim Schneiden von 2000 Pflanzstücken im Jahre 2000 wurden die Herstellungszeiten untersucht.

Die Abbildung 3 zeigt, dass eine Wurzelteilung mit einem kontinuierlichen und kalkulierbaren Zeitaufwand möglich ist. Die Leistung blieb, ähnlich wie 1996 knapp unter 200 Stück je Stunde. Dabei ist nur die reine Teilungszeit berücksichtigt.

Das Heranbringen der Wurzeln, sowie der Abtransport oder Verladungen sind nicht mit inbegriffen. Die Größe der Wurzelstücke betrug im Durchschnitt ca. 500 g je Pflanzstück.

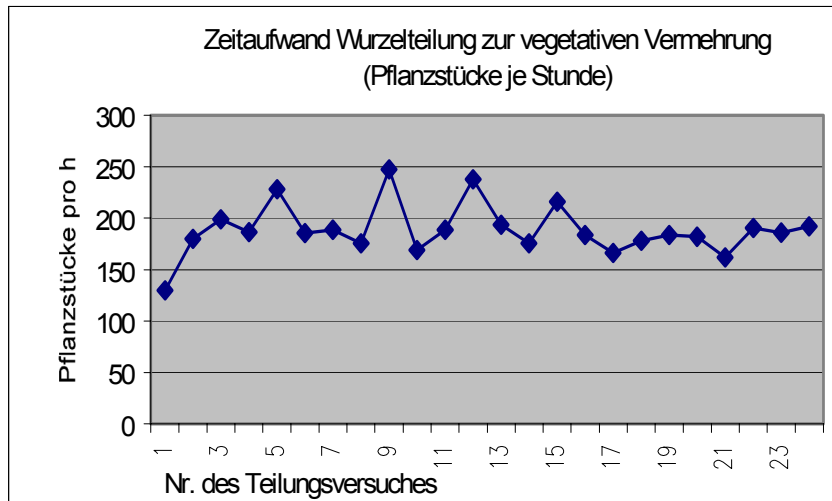


Abbildung 3 Herstellungszeiten für Pflanzstücke

7.1.2 Pflanzung von Rhabarber

7.1.2.1 Wurzelpflanzung

Zeitpunkt der Pflanzung

Die Pflanzung von Rhabarber erfolgte in Deutschland bisher fast nur im gärtnerischen Maßstab bzw. mit gärtnerischen Methoden, d. h. durch Eingraben der Pflanzstücke in den Boden. Auch in Gemüseanbaubetrieben ist keine Mechanisierung der Rhizompflanzung üblich. Sie wird meistens mit Saisonkräften durchgeführt.

Der Zeitpunkt der Pflanzung wird in Abhängigkeit von der Nutzung des Rhabarbers unterschiedlich festgelegt. Die bisher dazu beschriebenen Praktiken gehen alle von der Verwendung des Rhabarbers als Gemüse aus. Üblich ist traditionell eine Herbstpflanzung im Oktober oder November (FRITZ und STOLZ 1989). Dabei werden meistens nach dem Absterben der Blätter die Wurzeln ausgegraben, zerschnitten und gepflanzt. Begründet wird der Erfolg der Herbstpflanzung damit, dass sich während der Vegetationspause an dem Pflanzstück schon feine Haarwurzeln bilden, die im Frühjahr eine schnelle und kräftige Entwicklung begünstigen. Es kann jedoch auch vorkommen, dass bei nassen Standorten die Bewurzelung langsamer vor sich geht und es zum Erfrieren des gepflanzten Wurzelstückes kommt (WIJK, 1998).

Eine Frühjahrspflanzung ist ebenfalls üblich. Diese wird traditionell nach Gartenbauverfahren (FRITZ und STOLZ 1989) bis Ende April durchgeführt. Inzwischen sind jedoch weitere Ergebnisse dazu publiziert. Im niederländischen Gemüsebau werden ebenfalls Herbst- und Frühjahrspflanzungen als üblich angesehen. Die Frühjahrspflanzung wird dort üblicherweise vom 9. Februar bis zum 1. April durchgeführt, wobei beim späteren Pflanzdatum die Wurzelstücke bis zum Pflanzen bei niedrigen Temperaturen in Torfmull (gegen Austrocknung) gelagert werden. Die besten Erfolge traten auf, wenn die Stücke nicht aus erst im Februar geernteten Wurzeln hergestellt wurden, sondern wenn die im Herbst

geernteten Wurzeln zerschnitten und bei Temperaturen von -2 bis $+1$ °C aufbewahrt wurden. Dabei konnten 68% sehr gute Pflanzen erhalten werden, während bei der normalen Frühjahrspflanzung mit im Februar geernteten Wurzeln nur 50% gut angewachsen waren (WIJK, 1998).

Der sogenannten Sommerpflanzung wird erst in den letzten Jahren Beachtung geschenkt. Dabei werden die Pflanzstücke von Anfang Mai bis Ende August ausgepflanzt. Untersuchungen anhand der Qualität und Ertrag der oberirdischen Stielmasse zeigten, dass die besten Ergebnisse an Biomasse (zweijährige Untersuchungen) bei Rhabarber erhalten wurden, die vom 11. Mai bis zum 24. Juni gepflanzt wurden (WIJK, 1997).

Bei Nutzung der Wurzeln zur Gerbstoffgewinnung ist es aber sinnvoll, erst nach der Vegetationsperiode die Mutterwurzeln zu ernten und Pflanzstücke herauszuschneiden, weil bis dahin noch mit Wurzelwachstum zu rechnen ist.

Pflanzung mit dem Pflanzpflug

Die Wurzelpflanzung mit einem Pflanzpflug wurde in einem anderen Vorhaben¹ schon beschrieben. Es wurde ein Pflanzgerät (Eigenbau) modifiziert, das vorher in Baumschulen zum Einsatz kam. Mit dem Gerät wird eine Furche gezogen, in welche die Pflanzstücke eingeworfen werden.



Abbildung 4: Pflanzen von Wurzelstücken mit dem Pflanzpflug

Unmittelbar nachdem die Wurzelstücke in die Erdrinne geworfen werden, erfolgt ein Zustreichen der Rinne mit Erde durch angebrachte Bleche. Zwei Räder drücken dann die Erde fest.

Die Pflanzzeiten betragen pro Hektar (ermittelt bei Parzellenversuchen) 4 bis 5 Stunden. Bei Pflanzung von 2 ha Gesamtfläche wurden 9 Stunden je Hektar mit 3 Personen benötigt. Durch nicht ausreichend tiefgründig vorbereiteten Boden kam es dabei ständig zu Störungen durch sich auftürmende Reste von untergefrästem Stroh. Ein weiterer Nachteil der Methode war, dass eine korrekt quadratische Pflanzung nicht möglich war, weil die Abstände der Wurzeln untereinander

¹ Entwicklung von Verfahren zum Anbau sowie zur biotechnologischen Erzeugung von fruchtsäure-, gerb- und farbstoffhaltigen Pflanzenarten aus der Sicht einer industriellen Verwertung der Inhaltsstoffe (FKZ L22-60203/NR-A032)

der beim Einwerfen der Pflanzstücke nicht eingehalten werden konnten, selbst wenn die Abstände markiert wurden.

Aus diesem Grund wurden auch andere mögliche Varianten untersucht, die ebenfalls mit herkömmlicher Ackertechnik durchgeführt werden können, ohne dass eine völlige Neuentwicklung eines Gerätes vorgenommen werden müsste.

Pflanzung durch Auslegen der Pflanzstücke in eine vorgefertigte Furche

Es wurden auf den Versuchsflächen am Standort Bernburg mit einem Einscharpflug Furchen gezogen und die Pflanzstücke hineingeworfen. Anschließend wurde wieder zugepflügt, so dass die Wurzelstücke in der vorgesehenen Tiefe unter der Erde lagen. Prinzipiell tritt bei dem manuellen Einwurf der Pflanzstücke der gleiche Mangel wie bei der Variante mit dem Pflanzpflug auf, die Abstände zwischen den Pflanzen innerhalb einer Reihe sind (besonders bedingt durch das anschließende Zupflügen) nicht so gleichmäßig, dass später der Acker längs und quer bearbeitet werden kann. 1 Hektar konnte auf diese Weise mit 4 Personen in 10,5 (insgesamt 42 Arbeitsstunden) bepflanzt werden.

Handpflanzung

Es wurde eine Schnur mit Markierungen eingesetzt, um zwischen den Pflanzen gleiche Abstände zu gewährleisten. Eine Person grub mit dem Spaten Löcher für die Wurzelstücke in den gut gelockerten Boden, eine andere Person warf die Pflanzstücke in die Löcher und beim Ausstechen des nächsten Loches wurde die Erde in das mit der hineingelegten Wurzel geworfen, womit das Pflanzstück gleich bedeckt wurde. Die Pflanzzeit für einen Hektar betrug mit 4 Personen 14,75 h (insgesamt 59 Arbeitsstunden).

7.1.2.2 Pflanzung von mikrovermehrten Pflanzen

Beim Anlegen eines Feldes mit mikrovermehrten Pflanzen zeigte sich (dieses ebenfalls schon bei Versuchen zu einem anderen Thema,¹), dass mit herkömmlichen Pflanzmaschinen keine erfolgreiche Pflanzung möglich war, weil die



Abbildung 5: Mikrovermehrte Rhabarberpflanzen mit Wurzelballen (Größe Vierertopf)

¹ Entwicklung von Verfahren zum Anbau sowie zur biotechnologischen Erzeugung von fruchtsäure-, gerb- und farbstoffhaltigen Pflanzenarten aus der Sicht einer industriellen Verwertung der Inhaltsstoffe (FKZ L22-60203/NR-A032)

Abstände zwischen den Pflanzen nicht realisiert werden konnten und auch die Blätter der kleinen Setzlinge abbrechen.

Es wurde deshalb versucht, Methoden für eine rationelle Handpflanzung zu entwickeln.

Zur Kennzeichnung der Pflanzstelle wurden ebenfalls mit den Abständen markierte Schnüre verwendet, die sich schnell anordnen lassen. Der Boden wurde tief durchgefräst. Mit einem speziell dafür gefertigten Metall- Pflanzstock wurden Löcher in die Erde gestoßen, in welche die Pflanzen eingesetzt wurden. Die eingesetzten Pflanzen wurden danach festgetreten. Die Methode erwies sich als sehr produktiv. Die Pflanzen mit den 4 cm Wurzelballen wuchsen gut an. Bei ausgetrocknetem Boden ist jedoch ein Angießen oder eine Bewässerung notwendig.

Zeitaufwand für die Pflanzung der mikrovermehrten Pflanzen:

Ausmessen und Etiketten stecken für 50 Reihen 40 min, das entspricht je Reihe	0,8 min
Pflanzschnur längs (Reihenverlauf) stecken	2,0 min
Pflanzlöcher mit Spezialgerät bereiten	5,0 min
Pflanzen transport zur Pflanzreihe (berechnet auf 1 Reihe mit 50 Pflanzen)	1,2 min
Pflanzen mit Wurzelballen in die Pflanzlöcher einlegen	2,5 min
Pflanzen festtreten	2,5 min

1 Person benötigt für 50 Pflanzen 14 Minuten, das entspricht für einen Hektar 20 Stunden und 45 Minuten (4445 Pflanzen/ha) bzw. 31 Stunden (6667 Pflanzen je ha).



Abbildung 6-8: Mikrovermehrte Pflanzen nach der Pflanzung sowie im 2. und 3. Wachstumsjahr

Obwohl die gepflanzten Setzlinge anfangs sehr spärlich aussahen, speicherten die Wurzelballen wahrscheinlich so viel Wasser, dass sie schnell zu wachsen begannen. Sie bildeten bei Abständen von 1,5 x 1,0 m sehr schnell einen kräftigen Bestand, der sehr gleichmäßig gewachsen war.

Die Pflanzungsversuche zeigten, dass bei der Wurzelpflanzung mit allgemeiner landwirtschaftlicher Technik keine Variante gefunden werden konnte, mit der auch eine präzise Pflanzung möglich ist. Von Seiten der Arbeitszeit ist der Pflanzpflug am geeignetsten, lässt aber durch unregelmäßige Ablage keine spätere Bearbeitung in zwei Richtungen zu. Das Auslegen in einer Furche ist schon präziser, aber es kommt immer noch zu unregelmäßigen Abständen. In Anbetracht einer drei- bis vierjährigen Standzeit sollte auf die etwas teurere, aber genaue Handpflanzung mit Saisonkräften zurückgegriffen werden, weil dabei in den Folgejahren eine erfolgreichere mechanische Bearbeitung möglich ist.

7.1.3 Landwirtschaftliche Bearbeitung der Rhabarberbestände

Für die landwirtschaftliche Bearbeitung wurden folgende Versuchsanlagen angelegt, bzw. genutzt:

Versuchsort Wulfen

- Genotyp 10 (Sorte „The Sutton“), Wurzelpflanzung 1997 und 1998
- Genotyp 10 (Sorte „The Sutton“), In- vitro- Pflanzung 1997
- Genotyp 2, In- vitro- Pflanzung 1997

Versuchsort Bernburg

- Genotyp 2, In- vitro- Pflanzung 1998
- Genotyp 2, In- vitro- Pflanzung 1999
- Genotyp 24, In- vitro- Pflanzung 1999
- Genotyp 25, In- vitro- Pflanzung 1999

Parzellenversuche Bernburg (Kohlenstraße)

Genotypensortiment, Ausgewählte Genotypen, Aussaatversuche, Versuch VIII

Im Unterschied zu den Parzellenversuchen wurden die großen Bestände, auch die verschiedener Genotypen, so hintereinander angelegt, dass sie mit landwirtschaftlicher Technik in einer Richtung in einem Arbeitsgang bearbeitet werden konnten.

Bearbeitung der Versuchsflächen

1. Versuchsort Wulfen

1998

Die Bearbeitung erfolgte 1998 nur mechanisch, ohne Einsatz von Herbiziden. Es zeigte sich, dass die reine mechanische Bearbeitung 1998 nicht ausreichend war. Die Unkrautbedeckung setzte in dem Versuchsjahr durch die anfänglich vorhandene Feuchtigkeit und Wärme im Mai sehr schnell ein. Obwohl die über

Wurzeln gepflanzten „The Sutton“- Bestände relativ schnell wuchsen, bedeckten die Pflanzen den Boden nicht vollständig, so dass die Unkräuter sich vor allem innerhalb der Reihen durchsetzen konnten.

Durch die Bearbeitung zwischen den Reihen waren die Bestände aber noch relativ sauber. Im Sommer überwucherten dann große Exemplare Gänsefuß, Gänsekohldistel, Ackerdistel und vereinzelt andere Wildpflanzen die Bestände. Noch schwieriger gestaltete sich die Pflege der mikrovermehrten Rhabarberpflanzen. Sie waren im ersten Anbaujahr nur wenig gewachsen, so dass die Unkräuter schnell höher waren als die Rhabarberpflanzen. Dabei zeigten sich große Differenzen zwischen der Sorte „The Sutton“ und dem Genotyp 2. „The Sutton“ wuchs zwar im Jugendstadium ebenfalls langsam, holte aber schnell auf. Eine Bodenbedeckung mit Unkräutern konnte aber ebenfalls nicht vermieden werden. Das hatte zwischen den Pflanzen innerhalb der einzelnen Reihen starken Unkrautwuchs bis zu 90 % Bedeckungsgrad zur Folge.

Der Genotyp 2 zeigte von Anfang an ein geringeres Wachstum als ”The Sutton”. Im Laufe des Jahres kräftigten sich die Pflanzen, jedoch die großen Wachstumsdifferenzen zum „The Sutton“ blieben erhalten.

1999

1999 wurden die Versuche mit dem zugelassenen Mittel Kerb50 W behandelt. Zur Vorbereitung der Behandlung mit Kerb 50W wurden die Bestände auf dem Standort Wulfen im Winter mit einem Striegel bearbeitet. In den Herbst- und Wintermonaten hatte sich ein starker Bewuchs mit Vogelmiere eingestellt. Die relativ starke Verunkrautung des im Vorjahr ohne Herbizid behandelten Schlag es könnte sonst dazu führen, dass sehr viele trockene Unkräuter den Boden teilweise abdecken und die Wirkung des Herbizides einschränken bzw. schon verbrauchen (Miere).

Nach dem Striegeln wurde ein Teil des Bestandes mit Kerb 50 W gespritzt. Die Behandlung wurde so weit wie möglich hinausgezögert, um die Wirkung zu verlängern. Die Bonituren sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Unkrautbewuchs (31.03.1999) nach Behandlung (20.01.1999) eines Rhabarberfeldes mit Kerb 50W

Bonitur	Unkrautbonitur je Variante 1 m ²										
	Anzahl Unkräuter/m ²					Bedeckungsgrad %					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	Ø
Fläche 1 behandelt (G10 Wurzelpflanzung)	14,	23,	27,	17,	26	10,	15,	25,	30,	25	21
Fläche 2 behandelt (G2, G10, mikroverm.)	14,	5,	122,	12,	37	10,	6,	85,	15,	25	28
Unbehandelt (G10 Wurzelpflanzung)	40,	41,	55,	56,	44	85,	70,	95,	90,	80	84

Die Bonituren ergaben 10 Wochen (31.3.) nach der Behandlung weniger Unkräuter und einen Bedeckungsgrad von 24,6 % im Vergleich zur unbehandelten Fläche (84 %). Die Dauer der Wirkung war jedoch nicht befriedigend. Am 20.4. musste deshalb eine mechanische Bearbeitung mit einer Anbaufräse in Längsrichtung vorgenommen werden. Zwischen den Pflanzen innerhalb der Reihen

erfolgte keine Bearbeitung. Der Unkrautbestand nahm dann bis Mitte Mai stark zu, wobei hauptsächlich Wurzelunkräuter wie Distel teilweise dichte Bestände bildeten. Die Wirkung von Kerb 50W auf die Entwicklung der Unkräuter war insgesamt nicht ausreichend. Vor allem beim Genotyp 2 (mikrovermehrt), bei dem eine Bedeckung der Bestände durch die Blätter auch 1999 nicht eingetreten war, wies der Boden einen Unkrautbewuchs mit fast 100 % Bedeckungsgrad auf. Die Ursachen dafür lagen in dem speziellen Fall an den für die Boden- und Größenverhältnisse dieses Rhabarbers zu großen Pflanzenabständen.

Die nicht befriedigenden Ergebnisse in der Bearbeitung der Bestände der mikrovermehrten Pflanzen des Genotyps 2 führten zu der Schlußfolgerung, dass bei den weiteren Pflanzungen die Abstände innerhalb der Reihen bei den verschiedenen Herkunftten variiert werden müssen. Der Versuch wurde nach Prüfung der Wurzelmassen (\varnothing 1,5 kg/Wurzel) umgebrochen, weil kein Wurzelzuwachs erfolgt war.

2000

2000 befand sich auf dem Versuchsort noch ein ha der Sorte „The Sutton“, der bearbeitet werden mußte. Es wurde von weiteren chemischen Maßnahmen abgesehen. Der Schlag wurde im März mit einem Schwergrubber längs und quer bearbeitet. Die oberirdische Masse entwickelte sich dann sehr schnell, so dass der Boden gut abgedeckt war und es kam nur zu geringem Unkrautwachstum. Ab Mitte Mai entwickelten sich dann wieder Distel, die nesterweise über das ganze Feld verteilt waren und die Rhabarberpflanzen überragten. Sie wurden in Versuchen, eine lokale Bekämpfung durchzuführen, mit der Rückenspritze mit Lontrel behandelt. Der Erfolg war sehr gut. Der Boden war dann das ganze Jahr vor allem mit Gräsern bedeckt, die aber aufgrund der Beschattung durch die Blätter nur zögernd wuchsen.

2001

2001 wurde der gleiche Schlag noch einmal gegrubbert. Die Wirkung entsprach dem Jahr 2000. Die Unkräuter wurden gestört und der Rhabarber deckte den Boden ab. Disteln traten nur vereinzelt auf.

2. Versuchsort Bernburg - Untersuchungen zur Verträglichkeit und Wirkung von Pflanzenschutzmitteln

Die Praxisversuche auf dem Standort Bernburg lagen bei den Versuchsflächen der Hochschule und der LVA. Es wurden anfangs auch Handarbeiten durchgeführt, um einen guten Gesamtzustand der Versuchsflächen zu gewährleisten. Die Beschreibung der Pflege dieser Versuche wird deshalb auf Untersuchungen zur Herbizidanwendung beschränkt, die dann letztlich 2001 auch die einzige Bearbeitung blieb.

- A. Parzellenversuche Genotyp 2, (3. Wachstumsjahr*)
- B. Parzellenversuche alle Genotypen (2. Wachstumsjahr*)
- C. Praxisversuche

* Teilflächen innerhalb der Großversuche.

Die Untersuchungen zur Herbizidanwendung wurden in Abstimmung mit dem Pflanzenschutzamt des ALF Bernburg vorgenommen. Weiterhin wurden beim akuten Auftreten einer Wurzelkrankheit in Zusammenarbeit mit dem Pflanzenschutzamt Magdeburg und Bernburg eine Bekämpfung durchgeführt.

Für die Versuche zur Herbizidverträglichkeit und –wirkung wurden die Rhabarberpflanzen mit verschiedenen Mitteln behandelt.

Sencor 1kg/ha
 Stomp 3,5 kg/ha
 Flexidor 0,4 l/ha
 Kerb 50W 3,0 kg/ha
 Kerb 50 W 3,0 kg/ha kombiniert mit Round up 4,0 l/ha.

Behandlungstermine waren der 20. Januar und der 6. März 2000 , um den Einfluß auf die Pflanzen in verschiedenen Entwicklungsstadien zu untersuchen.

Zu A: (Parzellenversuche Genotyp 2, 3. Wachstumsjahr, Behandlung am 20.01.2000)

Die Versuche wurden in vier Wiederholungen durchgeführt. Der Rhabarber befand sich noch in der Winterruhe. Es waren noch keine Knospen ausgetrieben. Die Pflanzen befanden sich im dritten Wachstumsjahr. Obwohl es hauptsächlich auf eine Verträglichkeitsuntersuchung des Rhabarbers gegenüber den verschiedenen Herbiziden ankam, wurden Unkrautbonituren vorgenommen. Ausgangslage und Behandlungen des Spritztermins sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Erster Behandlungstermin

Tabelle 2 : Behandlung von Genotyp 2 im dritten Standjahr mit verschiedenen Herbiziden (20.01.01)

Mittel	Aufwandsmenge	B e d e c k u n g s g r a d (%)		
		zum Spritztermin	Bonitur 21.03.	Bonitur 02.05.
Unbehandelt		6	5	25
Sencor	1kg/ha	5	0	5
Stomp	2,5 kg/ha	4	3	4
Flexidor	0,4 kg/ha	4	3	16
Kerb 50W	3,0 kg/ha	5	2	17
Kerb/Round up	3,0/4,0kg/ha	5	0	4

Hauptunkräuter: Vogelmiere, Bingelkraut, Taubnessel, Kleine Brennesel

Die eingesetzten Herbizide riefen in dem Stadium keine Schädigungen an den Rhabarberpflanzen hervor. Es zeigte sich, dass die Varianten Sencor, Stomp und die Kombination Kerb/Round up die beste Langzeitwirkung aufwiesen. Gegenüber der unbehandelten Kontrolle mit 25% Bedeckungsgrad zeigten alle Mittel eine Wirkung. Die Ergebnisse deckten sich bei den eingesetzten Mitteln mit denen von Untersuchungen des Pflanzenschutzamtes Bernburg auf den Versuchsflächen der HS- Anhalt in Wulfen (MEYER, 1999).

Zweiter Behandlungstermin

Tabelle 3: Behandlung von Genotyp 2 im dritten Standjahr mit verschiedenen Herbiziden im März (06.03.00).

Variante	B e d e c k u n g s g r a d (%)		
	Aufwandsmenge	zum Spritztermin	Bonitur 02.05.
unbehandelt		4	11
Sencor	1kg/ha	5	9
Stomp	2,5 kg/ha	4	4
Flexidor	0,4 kg/ha	3	6
Kerb 50W	3,0 kg/ha	4	7

Hauptunkräuter: Vogelmiere, Bingelkraut, Taubnessel, Kleine Brennesel

Bei der Behandlung am zweiten Spritztermin kam es zu leichten Schädigungen an den Blättern der Pflanzen, die sich schon entfaltet hatten, bzw. gerade bei der Entfaltung waren. Die Schäden waren aber nicht bleibend. Nach dem Abfallen der mit den Mitteln benetzten Blätter konnte man keinen Unterschied mehr zu den nicht behandelten Pflanzen erkennen. Die Wirkung auf die Unkräuter hält jedoch bei einer Behandlung im März länger an.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit dem späteren Spritztermin im März der Unkrautbewuchs zeitlich weiter hinausgezögert wurde, als bei der Januarbehandlung. Allerdings zeigte die unbehandelte Kontrolle ebenfalls weniger Bewuchs. Auffällig ist, dass die Wirkung von Sencor geringer war als bei dem ersten Behandlungstermin. Der schlechte durchschnittliche Wirkungsgrad beruhte hauptsächlich auf dem Bewuchs der dritten Wiederholung, bei der ein Bedeckungsgrad von 15 % ermittelt wurde. Dieser hohe Bedeckungsgrad ist darauf zurückzuführen, dass die auf der Parzelle stehenden Unkräuter beim Behandeln schon größer waren als beim ersten Spritzen und Sencor bei Pflanzen über dem 3-Blatt- Stadium schlechter wirkt, so dass die Unkrautpflanzen nur wenig geschädigt wurden und weiter wuchsen. Die Unkrautarten auf dieser Wiederholung bestanden vor allem aus Vogelmiere, Ackerhohlzahn, Bingelkraut und Ackerkratzdistel.

Zu B: Parzellenversuche alle Genotypen (2. Wachstumsjahr)

Die Behandlung erfolgte zu den gleichen Terminen wie bei dem dreijährigen Genotyp 2. Es wurden je vier Pflanzen mit den Mitteln gespritzt. Die meisten Pflanzen befanden sich noch im Rotknospenstadium. Ziel war es, die Reaktion der Rhabarberpflanzen in diesem Stadium auf den Kontakt mit den eingesetzten Mitteln zu untersuchen.

Es zeigte sich die gleiche Wirkung wie bei den älteren Pflanzen. Beim frühen Spritztermin war keine Schädigung zu erkennen. Bei den Pflanzen, an denen sich schon kleine Blätter befanden, waren geringe Beeinträchtigungen zu erkennen (Sencor, Stomp), die aber nach einem Monat nicht mehr zu sehen waren. Zu Wachstumsschädigungen kam es nicht.

Zu C: Praxisversuch

Als Schlußfolgerung aus den Versuchen wurde in der Verlängerungsphase des Forschungsvorhabens im Jahre 2001 noch ein Praxisversuch mit dem Mittel Sencor durchgeführt.

Schlag 1 Bernburg: 2- und 3- jährige Bestände aus Wurzel und In vitro- Pflanzung der Genotypen 2, 10, 24, 25.

Schlag 2 Bernburg: 1- jährige Pflanzen der Genotypen 2, 24 und 25.

Behandlungsdatum 01.03.2001

Die Temperatur betrug +2° C, der Boden war leicht angefroren durch Nachtfrost, die Pflanzen befanden sich im Rotknochenstadium, einzelne Blätter waren auf dem Schlag 1 in der Entfaltungsphase, bei Schlag 2 ca. 60 %.

Vorhandene Unkräuter : Schlag 1 Bedeckungsgrad ca. 10 %, hauptsächlich Vogelmiere, wenig Gräser. Schlag 2: Bedeckungsgrad mit Unkräutern: 10 bis 20 %, alles überständige Exemplare Kamille, Gänsefuß, Quecken und Ackerhohlzahn.

Ca. 3 Wochen nach der Behandlung waren auf dem Schlag 1 in Bernburg die darauf befindlichen Unkräuter abgestorben.

Mit Ausnahme von Disteln, die nesterweise über das gesamte Feld verteilt waren und lokal bekämpft wurden, blieb der Bestand unkrautfrei und musste im laufenden Versuchsjahr nicht mehr bearbeitet werden.



Abbildung 9: Mit Sencor (01.03.01) behandelter Rhabarberschlag, dessen nicht geschlossene Reihen (1,80 m) am 15.03. unkrautfrei sind

Auf dem zweiten Schlag wurden die schon großen Unkräuter nicht geschädigt. Ein Neuaustreiben von Unkräutern blieb aber lange Zeit aus, so dass der Schlag mit Ausnahme von Disteln und übergroßen Einzelexemplaren der Arten Ackerhohlzahn, Kamille und Beifuß sauber blieb.

Zwei nicht behandelte Reihen auf diesem Feld wiesen zum 16.6.01 einen Bedeckungsgrad von 70 bis 80 % auf. Die erst einjährigen Pflanzen, die zum Zeitpunkt der Behandlung in der Entwicklung schon weiter waren als die älteren, zeigten wie bei den Parzellenversuchen teilweise Schäden an einzelnen Blättern, die schon ausgetrieben hatten. Sie waren nach einem Monat, als die Pflanzen schon mehr Blätter entwickelt hatten, nicht mehr zu erkennen.

Die Herbizidversuche zeigen, dass es prinzipiell möglich ist, den Rhabarber mit Mitteln wirksam zu behandeln, ohne dass eine Schädigung der Pflanzen zu verzeichnen ist. Bei einem frühen Spritztermin im Januar waren keine Pflanzenschädigungen zu erkennen. Bei dem späteren Termin im März traten leichte Blattschäden auf, die aber nach kurzer Entwicklungszeit nicht mehr zu erkennen waren. Sehr gute Erfahrungen wurden mit dem Mittel Sencor gemacht, mit dem

bei einer Behandlung am ersten März 2001 (optimale Bedingungen, gefrorener Boden, der nach der Behandlung taute und mit seiner Feuchtigkeit eine gute Filmbildung begünstigte, keine Niederschläge in den Folgetagen) die Unkrautentwicklung derart vermindert wurde, dass außer einer lokalen Bekämpfung von Distelnestern keine Bearbeitungen mehr notwendig waren.

7.1.4 Pflanzenkrankheiten und Schädlinge

Rhabarber ist eine kräftige Pflanze, die von wenig Schädlingen befallen wird, wenn man bei der Vermehrung von gesundem Material ausgeht. Viele Schädlinge treten nur gelegentlich oder bei extremen Witterungsbedingungen auf.

Beschrieben werden für den Gemüserhabarberanbau z. B. Blattflecken (*Rhamularia rhei*). Es kommen dabei ovale bis unregelmäßig geformte braune Flecken auf den Blättern vor. KÜHN (1987) beschreibt Rhabarbermosaik, Stengelgrundfäule, Violetter Wurzeltöter, Falscher Mehltau, Rhabarberrost, und Blattfleckenkrankheit.

Manchmal treten auch Cystenaale auf, welche die Pflanze meistens vom Grund her befallen (auch wenn sie dann im Stengel schmarotzen). Diese Schädlinge treten hauptsächlich auf, wenn vor dem Pflanzen von Rhabarber als Vorfrucht ebenfalls Rhabarber, Spinat, Kohl oder Kohlrabi standen. Gelegentlich kommen auch zwei Blattkäferarten (ESTER, 1998) vor, die sich zwar auch massenhaft vermehren können, aber nicht bekämpft werden müssen.

In vorhergehenden Versuchen wurde auf einem Schlag auf dem Versuchsfeld Wulfen ein Befall mit pilzlichen Schaderregern festgestellt. Es kam zu einer Verfärbung einiger Blätter, die im Verlaufe der nächsten Wochen zunahm. Es lag ein Befall vor, der als Blattfleckenkrankheit durch den Pilz *Ascochyta rhei* identifiziert wurde.

Von den 300 Pflanzen im Bestand waren ca. 35 % befallen, davon 2% schwer (über die Hälfte der Blätter zeigten Schäden).

Die Identifizierung des Erregers wurde über das Pflanzenschutzamt des ALF Bernburg im Institut für Phytopathologie Aschersleben vorgenommen. Eine Bekämpfung des Pilzes wurde nicht durchgeführt, da mit fortschreitender Vegetationsperiode der Befall abnahm. Die infizierten Blätter vertrockneten und neu nachwachsende Blätter zeigten die Symptome des Pilzbefalls nicht mehr.

Auf dem betroffenen Stück wurde die Infektion und Verbreitung des Pilzes durch die engen Pflanzenabstände und durch das feuchte Frühjahr gefördert. Der Bestand wurde nicht bearbeitet und eine Blatternte wurde ebenfalls nicht vorgenommen, so dass die Blätter (Abstand in der Reihe nur 1m, großblättrige Sorte, „The Sutton“) sehr eng standen.

Auf den anderen Schlägen aus der Herbstpflanzung 1995, die innerhalb der Reihe Pflanzenabstände von 1,50 m aufwiesen und noch nicht so viel Grünmasse entwickelt hatten, wurde kein Pilzbefall festgestellt.

Der Befall wiederholte sich im Folgejahr 1997 nicht. Ein Grund dafür dürfte die Trockenheit des Sommers 1997 gewesen sein. Auch auf anderen Schlägen konnte keine Infektion durch Pilzkrankheiten festgestellt werden.

In Jahren mit hohem Befallsdruck ist eine vorbeugende Behandlung oder eine Bekämpfung von *Ascochyta rhei* in frühen Stadien mit Fungiziden möglich.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeiten trat eine weitere Schädigung auf dem Schlag von Genotyp 24 und 25 auf. Die beiden Genotypen fielen im Mai 2000 durch Schadsymptome auf, die vom Pflanzenschutzamt Magdeburg als



Abbildung 10: Stengelgrundfäule bei Genotyp 25

Stengelgrundfäule mit nachfolgender bakterieller Wurzelfäule als Folgeinfektion bestimmt wurde (LOPEZ, 2000).

Die Pflanzen zeigten welke Blätter, die sich leicht herausziehen ließen und starben sehr schnell ab. Sie wiesen an ihren Wurzeln zu dem Zeitpunkt auch keine aktiven Knospen mehr auf. Merkwürdig war, dass der unmittelbar daneben stehende Genotyp 2 nicht eine erkrankte Pflanze aufwies. Genotyp 24 gehört zur Art *Rheum rhabarberum*, Genotyp 25 ist eine alte Landsorte (den Merkmalen nach auch *rhabarberum*) und Genotyp 2 gehört zu *Rheum officinale*. Vielleicht ist das Ausbleiben des Befalls von Genotyp 2 auf den Unterschied in der Art zurückzuführen.

Um eine Weiterverbreitung der Krankheit zu verhindern, wurde der Bestand nach Hinweisen von LOPEZ (2000) mit 0,15 % -iger Lösung Previcur N behandelt und nach einer Woche mit 3kg Aliette/ha.

Es traten danach keine weiteren Schädigungen auf.

Die bisher bei den Versuchen aufgetretenen Krankheiten beim Rhabarber führten bei der Ascochyta- Blattfleckenkrankheit nicht zu Ausfällen. Bei der Stengelgrundfäule mit anschließender bakterieller Wurzelfäule starben die befallenen Pflanzen ab. Nach einer Behandlung mit Previcur und Aliette wurden keine weiteren Infektionen an anderen Rhabarberpflanzen mehr festgestellt. Der Genotyp 2 wurde nicht befallen.

7.1.5 Ernte der Rhabarberwurzeln

Ernte durch Auspflügen mit Einscharpflug

Die bisher durchgeführten Ernterversuche zeigten, dass die Wurzeln nur mit schweren Geräten aus dem Boden zu bergen sind. Beim normalen Auspflügen kam es dazu, dass die Wurzeln teilweise wieder untergepflügt und dann übersehen wurden. Außerdem wurden durch das Pflugschar viele Nebenwurzeln abgeschnitten, die häufig sehr fleischig sind und so zu hohen Verlusten an erstklassigem Wurzelmaterial führen.

Auspflügen mit Rüttelpflug



Abbildung 11: Selbstgebauter Rüttelpflug

Für die Ernte der Wurzeln mit dem Rüttelpflug waren 1999 2 Hektar vorgesehen. Der Zustand des Feldes, war wie beschrieben durch starken Unkrautbewuchs gekennzeichnet. Eine Bearbeitung wurde jedoch im Sommer nicht mehr durchgeführt, da die großen Blätter des Rhabarbers mindestens zu 50 % abgebrochen wären. Bedingt durch ein erneutes Austreiben der Pflanzen wäre dann mit Ertragsverlusten an Wurzelmasse zu rechnen.

Ein von uns gebauter Rüttelpflug, der ausreichend tief arbeiten kann und mit dem die Wurzeln komplett herausgehoben werden, erwies sich als geeignet.

Durch die Rüttelbewegung der an den Pflug angebrachten Stangen wurde ein Teil der an den Wurzeln haftenden Erde abgeschüttelt.



Abbildung 12: Arbeit mit dem Rüttelpflug bei der Wurzelernte

Die Wurzeln wurden durch die Rüttelstangen in einer Reihe abgelegt. Diese sollten so mit einem Traktor mit Ladekorb aufgenommen werden. Nur Wurzeln, die vereinzelt in die Furche fielen, waren danach schwerer zu bergen waren.



Abbildung 13: Ausgepflügte und abgelegte Wurzeln

Ernten mit FOBRO- Beetroder

Als weitere Variante wurde die Eignung einer käuflichen Rodemaschine untersucht.

Der Rodeversuch wurde mit einem „Fobro Super HD Beetroder“ der Bärtschi-Fobro AG durchgeführt. Diese erfolgte an einem als Gemüserhabarber genutztem Feld (7 Jahre) mit der Rhabarbersorte „The Sutton“. Der Boden war tonartig, die Bodenwertzahl betrug 80.

Der Roder war für die härtesten Einsätze gebaut und empfohlen für Rodearbeiten ballenloser Laub- und Nadelhölzer im Baumschulwesen sowie für Freilandstauden.

Die Rodung der Rhabarberwurzeln verlief unbefriedigend. Die angegebene Arbeitstiefe von 35 cm wurde auf dem Schlag nicht erreicht und es wurden viele Nebenwurzeln abgerissen, die dann unter der Erde liegen blieben.



Abbildung 14: Ernterversuche mit dem Beetroder

Obwohl die mechanische Rüttelvorrichtung kräftig arbeitete, wurden Erde und Wurzeln nicht voneinander getrennt. Bedingt durch die große Arbeitsbreite des Pflugmessers wurde sehr viel Erde mit angehoben, die beim Rütteln nicht durch das Rost fiel.

Die Wurzeln wurden zwar herausgerissen, aber mit der angehobenen Erde wieder als gesamte Platte abgelegt (Abbildung 14), so dass selbst eine Aufnahme der Wurzeln mit der Hand fast nicht möglich war. Eine Anwendung des Roders auf schweren Böden ist deshalb nicht zu empfehlen.

Bergung auf dem Feld

Die vorgesehene Bergung der Wurzeln nach dem Auspflügen verlief nicht wie erwartet. Der für die Bergung eingesetzte Traktor mit Zuckerrübenladekorb fasste aufgrund der teilweise ungünstigen Lage der ausgepflügten Wurzeln und der



Abbildung 15: Bergungsversuche mit dem Zuckerrübenkorb am Traktor

vorhandenen Unkrautwurzeln zu viel Erde, so dass ein Beladen damit nicht möglich war. Die Bergung der Wurzeln wurde dann mit der Hand vorgenommen, da ein Termin für die Reinigung in der Zuckerfabrik Könnern eingehalten werden mußte.

Verladen

Die Verladung der geernteten Wurzeln auf einen Container LKW musste wegen der hohen Bordwände mit einem Rübenlader „Manitou“ vorgenommen werden.



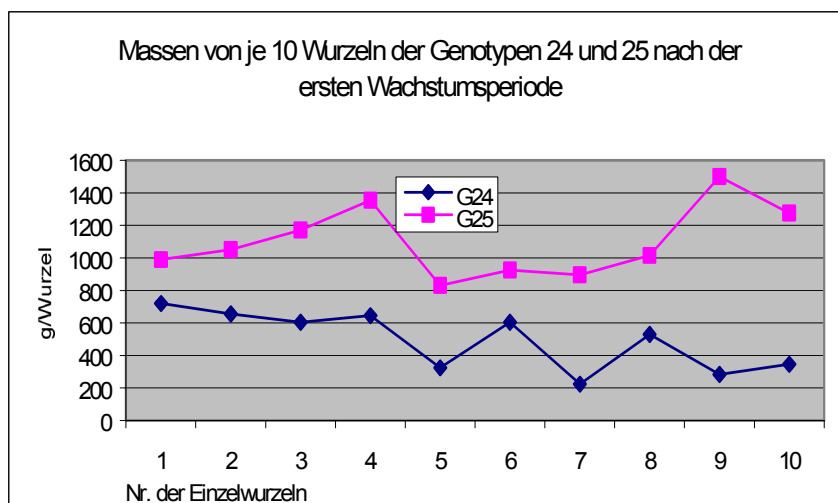
Abbildung 16: Verladen der Rhabarberwurzeln mit einem Teleskoplader in einen Container-LKW

Innerhalb von 40 min konnten 25 t Rhabarberwurzeln auf den Container-LKW verladen werden.

Von den untersuchten Ernteverfahren eignete sich am besten das Auspflügen mit dem Rüttelpflug. Mit ihm werden die Wurzeln ausreichend weit aus der Erde gehoben und lassen sich leichter aufnehmen. Der bei Arzneipflanzen und Baumschulen eingesetzte Fobro- Beetroder erreichte keine ausreichende Arbeitstiefe und es wurde zu viel Erde angehoben und wieder mit abgelegt, so dass die Wurzeln wieder im Boden eingebettet waren. Die Bergung vom Feld muss noch optimiert werden. Denkbar wäre eine Veränderung des am Traktor befindlichen Korbes, indem der vordere Teil durch Stangen verlängert wird.

7.1.6 Wurzelentwicklung und Wurzelerträge

Die Wurzelentwicklung der einzelnen mikrovermehrten Pflanzen der Genotypen 24 und 25 nach der ersten Wachstumsperiode sind in der Abbildung 17 dargestellt. Es zeigte sich, dass im ersten Jahr ein unterschiedlicher Zuwachs auftrat, obwohl es sich bei den gepflanzten Stecklingen um Material aus dem In-vitro-Labor handelt, das gleiche Voraussetzungen hatte und bei der Pflanzung wenig Größenunterschiede aufwies.



das gleiche Voraussetzungen hatte und bei der Pflanzung wenig Größenunterschiede aufwies.

Abbildung 17: Wurzelentwicklung bei mikrovermehrten Pflanzen im ersten Wachstumsjahr

Wie aus Abbildung 18 zu erkennen ist, sind die Schwankungen der Wurzelgewichte auch in der zweiten Vegetationsperiode sehr hoch. Die Akkumulation an

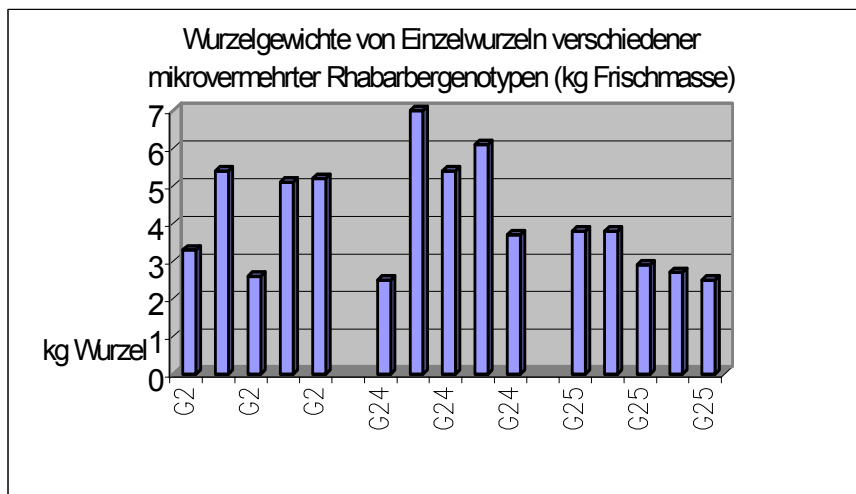


Abbildung 18: Unterschiedliche Wurzelmassen bei mikrovermehrten Rhabarbergenotypen im zweiten Wachstumsjahr

Wurzelmasse ist demnach auch bei mikrovermehrten Einzelpflanzen sehr unterschiedlich. Die bei In- vitro- Pflanzen festgestellte Gleichmäßigkeit der Bestände scheint nur bei der oberirdischen Masse zuzutreffen (Siehe Abbildung 7 und 8).

Die Entwicklung der In- vitro- Wurzeln der Genotypen 2, 24 und 25 in Abhängigkeit von dem Wachstumsalter ist in der Abbildung 19 dargestellt.

Es zeigte sich an den dargestellten Mittelwerten der Wurzelgewichte eine kontinuierliche Wurzelentwicklung und eine Zunahme im Verlaufe der 3 Jahre (3. Jahr während der Wachstumsperiode, Abbildung 19).

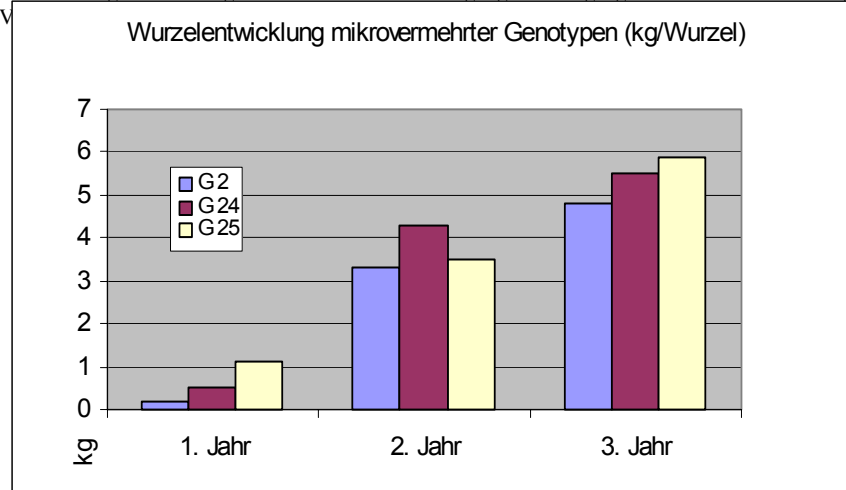


Abbildung 19: Mittlere Wurzelmassen von je 5 Wurzeln der mikrovermehrten Genotypen nach unterschiedlicher Wachstumszeit

Die Ermittlung der Wurzelerträge der auf dem Versuchsfeld Strenzfeld angebauten Genotypen war aufgrund der dreijährigen Laufzeit nur im zweiten oder dritten Standjahr möglich. Die geernteten Wurzeln sind in der Tabelle 4 beschrieben.

Tabelle 4: In Bernburg- Strenzfeld angebaute und untersuchte Genotypen (geerntet Oktober 2000)

Genotyp	Pflanzdatum	Anz. geernteter Wurzeln
a. 2	Juli 1998	160
b. 2	Juli 1999	15
c. 24	Juli 1999	15
d. 25	Juli 1999	15

In der Verlängerungsphase des Themas vom Januar bis Juni 2001 wurden noch einmal Wurzelproben genommen, um zu ermitteln, ob ein weiterer Ertragszuwachs erfolgt ist (Abbildung 21).

a. Genotyp 2, 3-jähriges Wachstum

Der Schlag mit dem Genotyp wurde in Anlehnung an Literaturangaben sehr stark gedüngt. Es werden N- Mengen von 250 kg N/ha angegeben (WIJK, 1998; FRITZ und STOLZ, 1998).

Die Abbildung 20 zeigt die durchschnittlichen Erträge bei den verschiedenen Düngungsvarianten. Die Wurzelerträge sind in t/ha dargestellt. Es zeigte sich, dass sich bei den verschiedenen N- Varianten die Wurzelerträge nicht unterschieden. Die Differenzen zwischen den Düngungsstufen waren bei den Durchschnittswerten der einzelnen Wiederholungen sehr gering. Wiederholung a fiel bei allen N- Gaben durch erhöhte Erträge auf. Die Ursachen dafür konnten nicht ermittelt werden. Die Gehalte an P, K und Mg im Boden waren wie bei den anderen Wiederholungen im Bereich „gut bis reichlich versorgt“.

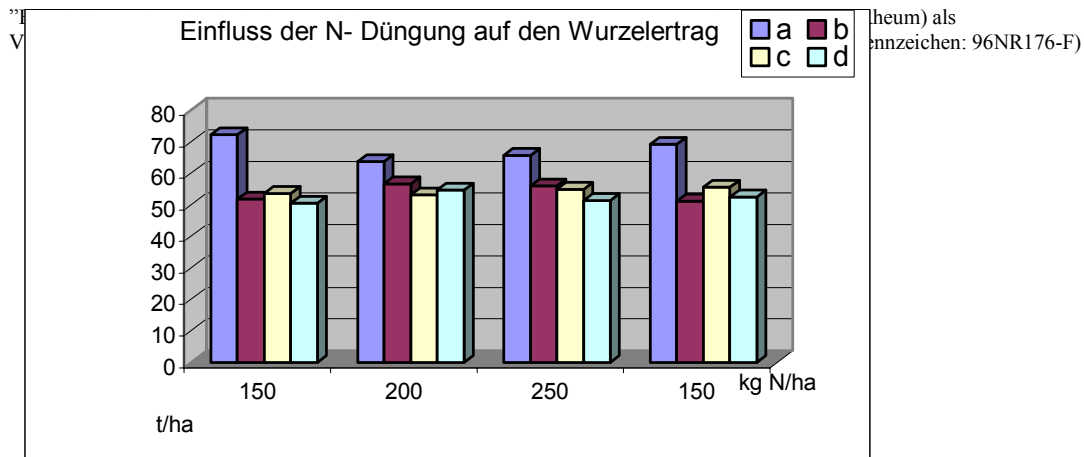


Abbildung 20: Einfluß der N- Düngung auf die Wurzelserträge von Genotyp 2 In- vitro.- Pflanzen im dritten Wachstumsjahr

Die Erträge der im Jahre 2001, im vierten Standjahr der noch während Wachstumsperiode geernteten Wurzeln des Genotyps 2 sind in der Abbildung 21 dargestellt.

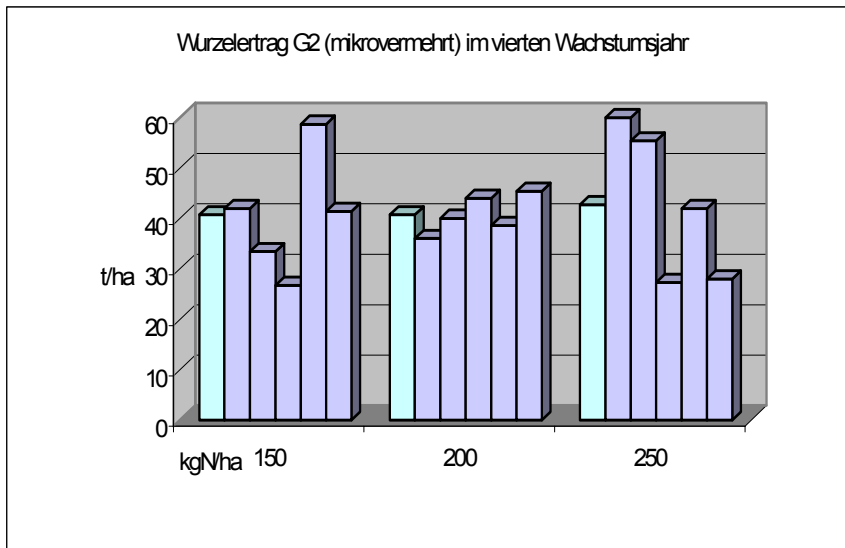


Abbildung 21: Erträge von Einzelwurzeln des Genotyps 2 (4. Wachstumsjahr), Ernte 2001

Es zeigte sich, dass es noch einmal zu einem Ansteigen der Wurzelmasse kam. Das bestätigt die schon 1997 aufgezeigten Kalkulationen (SCHELLENBERG und SCHNÜBER, 1997), dass mikrovermehrte Pflanzen nach 3 Jahren noch nicht ausgewachsen sind. Ein Einfluß der Stickstoffdüngung war auch im vierten Jahr nicht zu erkennen. Die Unterschiede der Durchschnittserträge (blau) waren minimal. Die Gewichte der Einzelwurzeln (grün) unterschieden sich dagegen stark.

Die gleiche Reaktion zeigten die nur zweijährigen, erst 1999 gepflanzten Genotypen 2, 24 und 25 auf die unterschiedlichen Düngungsstufen, bei denen die Differenzen ebenfalls gering ausfielen (Abbildung 22).

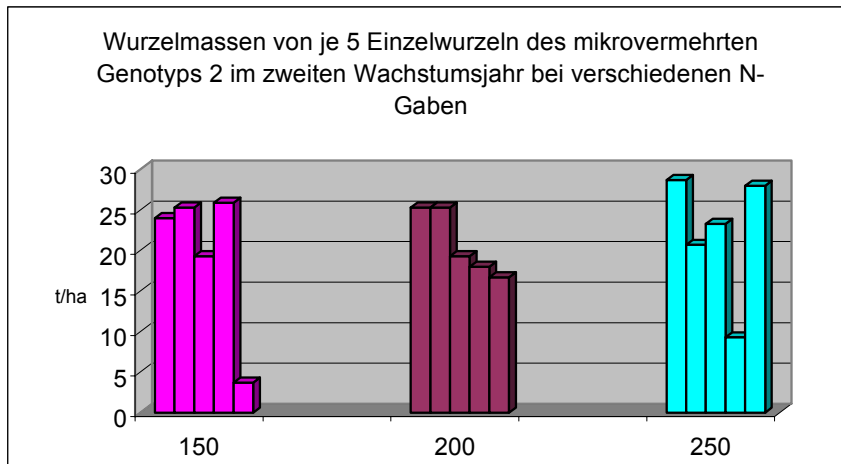


Abbildung 22: Wurzelmassen des Genotyps 2 (mikrovermehrt) im 2. Standjahr

Der 2-jährige Genotyp 2 wurde ebenfalls mit verschiedenen N-Stufen gedüngt. Die Wurzelerträge lagen im Durchschnitt der 5 Wurzeln bei 19,8t (150 kg N), 20,2 (200 kg N) und 22,0 (250 kg N).

In der Abbildung 22 ist erkennbar, dass die Einzelwurzeln sich bei allen geprüften Genotypen sehr stark unterscheiden und die geringen Differenzen im Ertrag. Nicht auf die N-Düngung zurückgeführt werden kann.

Die erwarteten Steigerungen der Wurzelerträge durch die Düngung traten nicht ein. Die Schwankungen zwischen den Einzelwurzeln waren auch bei den Wurzeln im vierten Wachstumsjahr noch sehr hoch. Der gute Boden in Bernburg enthält ausreichend Nährstoffe, so dass eine Düngung von 150 kg N voll für einen maximalen Ertragszuwachs ausreichte. Einen Einfluss übt wahrscheinlich auch die Tatsache aus, dass die Rhabarberpflanzen nicht beerntet wurden und deshalb weniger N benötigen als aus der Literatur ersichtlich ist. Es war bei den mikrovermehrten Pflanzen auch im vierten Standjahr eine Ertragszunahme zu verzeichnen. Die Erträge erreichten im dritten Standjahr eine Höhe von ca. 35 t je Hektar und im vierten ca. 40 t pro Hektar.

7.2 In- vitro- Arbeiten zur Mikrovermehrung der Pflanzen

Für eine schnelle Einführung von neuen Rhabarbergenotypen mit definierten Gerbstoffgehalten und –Qualitäten ist eine Bereitstellung von ausreichend Pflanzenmaterial notwendig. Eine Vermehrung über Samen ist aufgrund der Aufspaltungen der Nachkommen in den Eigenschaften nicht möglich und ist auch im Gemüserhabarberanbau nicht üblich. Eine Wurzelvermehrung über Wurzelstücke bringt in kurzen Zeiten nicht ausreichend Pflanzmaterial. Spezielle Verfahren, die darauf beruhen, eine Wurzel durch Abschneiden der Knospen zu stimulieren, viele kleine Knospen zu bilden, die dann isoliert werden und unter bestimmten Aufzuchtbedingungen zu kompletten Wurzeln heranwachsen, bringen ebenfalls keine ausreichende Pflanzenanzahl. Der Multiplikationsfaktor beträgt dabei 64 (WIJK, 1998), d. h. man kann aus einer Wurzel 64 neue im Verlaufe eines Jahres heranziehen. Geht man davon aus, dass man nur 1 bis 10 Wurzeln eines neuen Genotyps zur Verfügung hat, bedeutet das, dass man maximal 64 bis 640 Pflanzen bekommt. Bei größtmöglichen Pflanzabständen, wie sie bei den Versuchen bei der Sorte „The Sutton“ angelegt wurden, benötigt man für

einen Hektar schon 4445 Pflanzen. Es musste deshalb nach effektiveren Verfahren gesucht werden.

Einige Arbeiten zur Mikrovermehrung von Rhabarber wurden schon beschrieben, sie befassen sich mit Gemüserhabarber (LASSUS, 1994) sowie Rheum rhaponticum (RUMPUNEN, K., 1989, 1990), die für ihre speziellen Sorten spezielle Nährstoffzusätze oder Medien (LAL und AHUJA, 1993) entwickelten.

Die Erarbeitung des Verfahrens zur Mikrovermehrung teilt sich in folgende Hauptabschnitte:

1. Erarbeitung einer Anzuchtmethode für die Mutterpflanzen
2. Explantatgewinnung und Etablierung
3. Sprossregeneration
4. In- vitro- Vermehrung
5. Bewurzelung
6. Überführung
7. Depothaltung

Für die Entwicklung des Verfahrens wurden die auf hohe Gerbstoffanteile und -eigenschaften selektierten Rhabarbergenotypen 2, 10, 24 und 25 eingesetzt, um über Mikrovermehrung Ausgangsmaterial mit genetisch identischen Pflanzen in größeren Stückzahlen herzustellen.

Zu 1: Zur Entnahme von Knospen mussten die Mutterpflanzen im Gewächshaus angezogen werden, um eine Kontrolle der Wachstumsbedingungen und der Nährsubstrate zu gewährleisten. Damit sollte eine Verminderung von Infektionen erreicht werden. Gerade die schwammigen Wurzeln bei Rhabarber enthalten viele Keime, die dann auf dem Nährmedium zur Unsterilität führen. Die Mutterpflanzen wurden als Wurzelstücke aus dem Sortiment der HS- Anhalt entnommen.

Die Anzucht der Mutterpflanzen erfolgte in Erdkulturen in Gefäßen. Um die Pflanzen relativ keimfrei zu halten, wurden sie nur bis zur Hälfte in das Nährsubstrat eingesetzt. Die im Herbst angezogenen Mutterpflanzen zeigten wenig Knospen. Auch ließen sich die Nachfolgearbeiten schwieriger durchführen, da



Abbildung 23: Explantatentnahme an Kleinen Knospen der Wurzel

die entnommenen Knospen eine geringe Vitalität aufwiesen. Die im Winter in Kultur genommenen Mutterpflanzen zeigten für die Explantatentnahme und die nachfolgende Regenerationsphase bessere Eigenschaften.

Zu 2: Die Herstellung von Regeneraten erfolgte nach folgendem Schema:
Knospentnahme → Blattentfernung → Oberflächenreinigung →
Oberflächensterilisation → 3 x Bidest → Aufsetzen auf das Medium.

Die Explantatentnahme von den angetriebenen Mutterpflanzen erfolgte an den kleinen Nebenknospen.

Die Knospen wurden gereinigt, abgestorbene Blätter entfernt und 10 min in Seifenlösung gewaschen. Danach erfolgte eine Oberflächensterilisation in 0,15 %iger Sublimatlösung (5 - 10 min). Zur Entfernung des noch anhaftenden Sterilisationsmittels wurden die Knospen 3 x mit bidestilliertem Wasser gewaschen.

Diese Verfahrensweise bis zur Regeneration intakter Sprosse mußte immer nach dem gleichen Prinzip durchgeführt werden, um Sterilität zu erzeugen.

Die ersten 9 Sterilisationen der Explantate von im Herbst in Kultur genommenen Mutterpflanzen führten nur zu einem mäßigem Erfolg. Die Anzahl aktiver, zur Regeneration fähiger Knospen war äußerst gering und das Material befand sich wahrscheinlich noch in der Winterruhe. Auch hohe Cytokininzugaben führten nicht zu einem Zustand mit aktiven Wachstumsphasen.

Zu 3: Sämtliche Untersuchungen zur Auslösung von Induktions- und Differenzierungsprozessen erfolgten auf modifizierten Mineralsalzmedien nach MURASHIGE und SKOOG (1962), dem Wachstumsstoffe in unterschiedlichen Mengen zugesetzt wurden (Tabelle 5).

Tabelle 5: Modifiziertes Mineralsalzmedium nach MURASHIGE und SKOOG (1962)

Bestandteile	Konzentrationen
1. NH_4NO_3	1650,000 mg/l
2. KNO_3	1900,000 mg/l
3. $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440,000 mg/l
4. $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370,000 mg/l
5. KHPO_4	170,000 mg/l
6. Na_2EDTA	37,300 mg/l
7. $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,800 mg/l
8. H_3BO_3	6,200 mg/l
9. $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,300 mg/l
10. $\text{ZnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	8,600 mg/l
11. KJ	0,830 mg/l
12. $\text{Na}_2\text{MOO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,250 mg/l
13. $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg/l
14. $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025 mg/l
15. Saccharose	20,000 g/l
16. Agar-Agar	7,000 g/l

Insgesamt wurden zehn verschiedene Medien zur Regeneration geprüft.

Erhöhtes Ausscheiden von Phenolen (Braunfärbung) und anderen sekundären Stoffwechselprodukten, Schimmelbildung und Auswachsen endogener Erreger führte zu den häufigsten Ausfällen, wie auch DUSEK, (1986) beschrieb. Wiederholte Sterilisation nach 2 Tagen, Anwendung reduzierend wirkender Substanzen (Ascorbinsäure, L- Cystein, Glutathion 0,1 – 0,5 mg/l) gegen die Polyphenolbildung oder das Aufsetzen mikroskopisch herauspräparierter Meristeme auf flüssiges Nährsubstrat mit Filterpapierbrücken zeigten keinen positiven Einfluß auf das Regenerationsergebnis. Zum Sommer 1998 (Ende Mai bis Ende Juni) verbesserte sich bei im Mai entnommenen Knospen nach weiteren 5 Etablierungsversuchen das Ergebnis deutlich. Von allen 3 Genotypen konnten wachstumsfähige Sprosse erhalten werden, die sich jedoch im Wachstumsverhalten und in der Vermehrungsrate deutlich unterschieden.

Zu 4: Bei allen Genotypen wurde durch einsetzende Wurzelbildung eine Vermehrung durch Ansatz neuer Knospen verhindert. Die Vermehrungsrate betrug bei hohen Cytokinin- und BAP- Zugaben (5- 16 mg/l bzw. 3- 5 mg/l) nur 1.

Tabelle 6: Vermehrungsrate von verschiedenen Rhabarberherkünften bei der In-vitro- Vermehrung

Genotyp	Anzahl durch Teilung erhaltener Pflanzen					Vermehrungs- faktor
	1998 Kalenderwoche			1999 Kalenderwoche		
	43	46	49	2	5	
2	300	540	1700	3100	6000	2,1
24	350	600	2240	5500	10000	2,4
25	60	90	480	1800	4000	3,2

Ab September konnten dann bei einem 14- tägigen Teilungszyklus Vermehrungsraten von 2-3 erreicht werden. Die einzelnen zu vermehrenden Herkünfte



Abbildung 24: Rhabarberpflanzen in der Vermehrungsphase

zeigten genotypische Unterschiede in der Vermehrungsrate.

Nach der Vermehrung der Sprosse auf eine Zahl von ca. 20.000 wurde die Teilung eingestellt.



Abbildung 25: Teilung von Sprossen

Zu 5: Da bei der Bewurzelung Schwierigkeiten auftraten, wurde das Verfahren für die Vermehrung im dritten Bearbeitungsjahr noch einmal modifiziert. Es wurde ein Teilungsrythmus von 14 Tagen strikt eingehalten. Dadurch wurde die hohe Absterberate an Blättern vermindert, die eine erschwerte Teilung verursachten. Veränderungen am Medium wurden ebenfalls vorgenommen:

- Verminderung des BAP-Gehalt von 10 mg/l auf 5mg/l
- Verwendung von ausschließlich p.A. Saccharose (vorher einfach gereinigt)

Durch die vorher sehr schleppend anlaufende Bewurzelung wurde vermutet, dass die jungen Pflanzen durch die kurzen Teilungszeiträume und Umsetzen Cytokinine akkumulierten, welche die Wurzelbildung unterdrückten. Es wurde deshalb eine Stufenbewurzelung eingeführt. Die Pflanzen wurden auf verschiedene Medien umgesetzt.

1. Stufe	0,1 mg/l NES	Genotyp 2 und 24	2 Wochen
2. Stufe	0,5 mg/l IBS	Genotyp 2 und 24	3 Wochen
3. Stufe	0,5 mg/l IBS	nur Genotyp 25	

Bei den Genotypen 2 und 24 reichten drei Stufen, für Genotyp 25 musste eine dritte Stufe eingeführt werden, die noch einmal mit dem gleichen Medium durchgeführt wurde, wie die Stufe 2. Die Bewurzelungsraten sind in der Tabelle 7 dargestellt:

Tabelle 7: Bewurzelung von mikrovermehrten Rhabarberpflanzen bei verschiedenen Methoden (% bewurzelte Pflanzen)

Genotyp	4 Wochen Stufe 1	2 Wochen Stufe 1	3 Wochen Stufe 2	2 Wochen Stufe 2
10	20		60	
2	5		50	60
25	30		80	
24	10		30	80

Zu 6: Überführung ins Gewächshaus

Der nächste Schritt nach der Bewurzelung der mikrovermehrten Pflanzen war eine Überführung von der sterilen In- vitro- Kultur in eine unsterile Erdkultur. Die Pflanzen wurden in Saatschalen in ein Gemisch aus Torf, Sand und Perlite gepflanzt und 10 bis 30 Tage (je nach Klon) auf nährstoffarmem Boden bei Luftfeuchtigkeiten von 85 bis 88 % und einer Assimilationsbeleuchtung kultiviert.

Danach wurden die Pflanzen ins Gewächshaus überführt und dort zur Anpassung erst einmal abgeschattet. Nach der Anpassungsphase wurden die Pflänzchen in Töpfe von 60 – 65 ml gepflanzt und ebenfalls bei hoher Luftfeuchtigkeit 4 bis 7 Wochen kultiviert. Nach dieser Periode wurden entsprechend der Kulturzielstellung auf die Endgröße von 4 cm umgetopft und bis zur Pflanzung darin gehalten.

Durch Erhöhung des Perlitanteils im Überführungssubstrat konnten die Ausfallraten im Gewächshaus gesenkt werden. Bei zu hohem Torfanteil wurde aus dem schwammigen Gewebe des kleinen Rhabarberstecklings so viel Feuchtigkeit entzogen, dass es zu regelrechten Vertrocknungserscheinungen (Erschlaffung der Blätter bis zum Vertrocknen) kam.

Zu 7: Die Depothaltung wird durchgeführt, um bei Bedarf ein vermehrungsfähiges Pflanzenmaterial zur Verfügung zu haben.

Das ausgewählte Material wird steril in verschlossenen Behältnissen auf einem Nährmedium bei geringen Temperaturen und herabgesetzter Beleuchtung (50%) gehalten. Der Stoffwechsel der Pflanzen wird dadurch stark eingeschränkt. Günstigster Temperaturbereich sind 8 bis 10 °C. Es zeigte sich bei den Versuchen, dass auch 18°C möglich waren, die Pflanzen müssen dann früher umgesetzt werden. Wenn die Pflanzen dann gebraucht werden, müssen sie stufenweise an Vermehrungsbedingungen angepasst und auf Vermehrungsmedium gesetzt werden.

Die Arbeiten zur Mikrovermehrung zeigten, dass eine Vermehrung der gerbstoffreichen Genotypen schnell und erfolgreich möglich ist. Die einzelnen bearbeiteten Genotypen unterschieden sich jedoch sowohl bei der Regeneration als auch bei der In- vitro- Vermehrung. Für alle benutzten Genotypen und für die einzelnen Entwicklungsschritte waren spezifische Nährmedien und Behandlungen notwendig. Die Bewurzelung und Überführung auf Erde setzte Veränderungen in der Zusammensetzung der Erdgemische gegenüber bisher hergestellten Pflanzen voraus. Die potentiell zu nutzenden Genotypen werden in Depots bei stoffwechselvermindernden Bedingungen aufbewahrt, um bei Bedarf für die Mikrovermehrung bereit zu stehen.

7.3 Untersuchungsmethoden und Methodenentwicklung

7.3.1 Gerbstoffbestimmung

1. Gerbstoffbestimmung nach der Hautpulvermethode
2. Screening an Hautpulver
3. Gerbungen von Kalb- und Rinderhaut im Labor und Technikum

Zu 1: Als Vergleich für die Gerbstoffgehalte und -qualitäten diente der Mimosarindenextrakt „SETA SUN“ der Firma SETA Industrial S.A., Brasilien. Von den in

Deutschland eingesetzten pflanzlichen Gerbstoffextrakten sind zwei Drittel Mimosarindenextrakte.

Die Gerbstoffbestimmung nach der Hautpulvermethode ist die Standardmethode für den Handel mit Vegetabilgerbstoffen. Es werden weltweit jährlich ca. 240.000 t eingesetzt.

Zur Gerbstoffbestimmung wurden die zerkleinerten Wurzeln mit Wasser extrahiert. Die Extraktlösungen wurden nach der Entfernung unlöslicher Bestandteile auf einen Gehalt von 4 g Reingerbstoff pro Liter eingestellt. In den Lösungen befanden sich der Reingerbstoff, die Nichtgerbstoffe und Wasser. Die Lösung lief durch eine mit 7 g Hautpulver gefüllte „Procterglocke“. Der vom Hautpulver aufgenommene Teil der Lösung ist definitionsgemäß der Reingerbstoff. Er wird aus der Differenz der Gesamtrückstände der Lösung vor und nach der Sorption bestimmt. Erwartungsgemäß war der Anteil des Reingerbstoffes am Gesamtlöslichen bei den untersuchten Extrakten wegen ihres Gehaltes an Polysacchariden geringer als der des Mimosarindenextraktes.

Zu 2: Die erste gerbereitechnologische Bewertung der Extrakte erfolgte mit dem Tablettentest. Bei diesem Test wird 1 g Hautpulver mit einer Lösung, die 4 g Reingerbstoff enthält, geschüttelt. Anschließend wird die Suspension über eine Nutsche abgesaugt. Auf dem Filter der Nutsche bleiben das Hautpulver mit den kollagenaffinen Teilen der Lösung. Sie bilden eine Tablette, die getrocknet, konditioniert und ledertechnologischen Prüfungen (Volumenbildung, Weichheit, Kompressibilität, Lichteinheit) unterzogen wird.

Zu 3: Auf der Grundlage der Tablettentests erfolgten die Gerbungen im Labor- und Technikumsmaßstab, welche die prinzipielle Eignung der Extrakte bestätigten.

7.3.2 Erarbeitung von Methoden zur Bestimmung der Anthrachinone

7.3.2.1 Kapillarelektrophorese

Die Entwicklung einer kapillarelektrophoretischen Analysenmethode wurde im Rahmen einer Diplomarbeit durchgeführt (FRANZ, 1999).

Erster Schritt war die Ermittlung und Beurteilung der Eigenschaften der zu untersuchenden Substanzen (Löslichkeiten, Detektion, Ermittlung der Kenndaten Strukturformel [Literatur], Absorptionsspektrum und Ionencharakter der Probeanalyten), aus denen zu erkennen war, dass eine gemeinsame Bestimmung aller Anthrachinone mittels Kapillaronenelektrophorese (CZE) nicht möglich ist.

Die Analyten wiesen unterschiedliche Löslichkeits- und Ladungseigenschaften auf (Rhein besitzt eine Carboxylgruppe, die anderen sind neutral). Eine Untersuchung mit verschiedenen Puffern bestätigte, dass von den Anthrachinonen mit der Methode nur Rhein analysiert werden konnte.

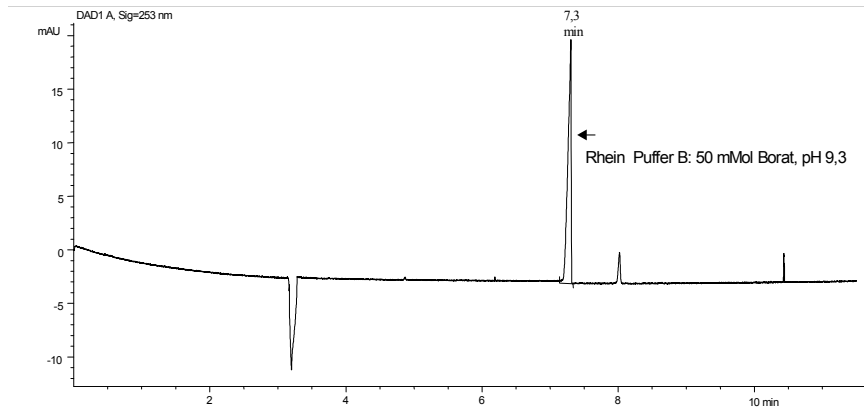


Abbildung 26: Kapillarelektrophoretische (Kapillarzonenelektrophorese, CZE) Analyse von Rhein

Als weiteres kapillarelektrophoretisches Verfahren wurde die „Micellare Elektrokinetische Chromatographie“ (MEKC) eingesetzt. Dazu werden dem Puffer Detergentien (bei der vorliegenden Arbeit SDS) zugesetzt, die im basischen Puffer negativ geladen sind und sich ab der „kritischen micellaren Konzentration“ (10 mM) mit ihren hydrophoben Teilen zu Agglomeraten (Micellen) zusammenschließen. Sie sind mit dem hydrophilen Teil ihrer Moleküle im Puffer gelöst. Sie wandern durch ihre Ladung aktiv in Richtung Anode, werden aber vom EOF in Richtung Kathode und somit zum Detektor befördert. Aufgrund der Löslichkeitsunterschiede der Analyten in den Micellen und in der wässrigen Pufferphase kann man auch neutrale Verbindungen voneinander trennen. Zur besseren Lösung der Anthrachinone im Puffer wurde Ethanol zugesetzt.

Nach der Erarbeitung der Trennung wurden die Bedingungen für die Durchführung der Analysen optimiert (Abbildung 27- 29). Wichtigste Einflussfaktoren waren die Ionenkonzentration des Puffers, pH- Wert, Ethanolzusatz,

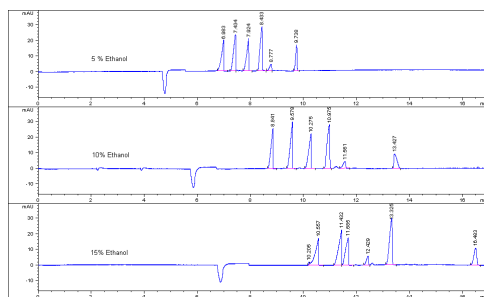


Abbildung 27: Einfluss der Ethanolkonzentration auf die Migrationszeit

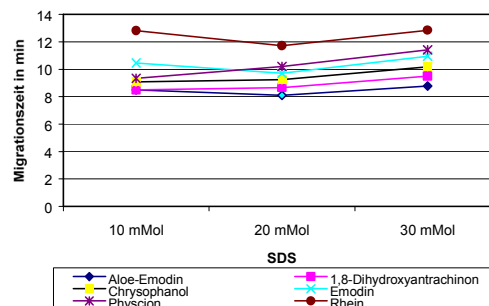


Abbildung 28: Einfluss der SDS-Konzentration auf die Migrationszeit

Zusatz an Detergentien, Spannung und Temperatur. Der Einsatz von einem CAPS- Puffer führte zu besseren Trennleistungen. Nach Erprobung verschiedener Konzentrationen an Puffer, SDS und Ethanol wurde als optimale Zusammensetzung 20mM CAPS, 20 mM SDS und 10 % Ethanol in Wasser gefunden. Ein Zusatz von Harnstoff (6mM) führte zu einer Verbesserung der Grundlinie.

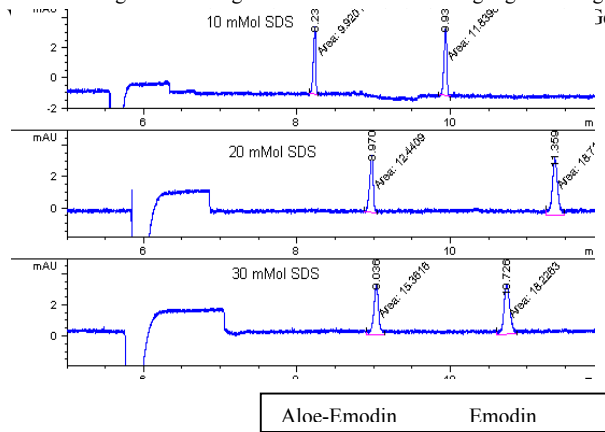


Abbildung 29: Einfluss der SDS- Konzentration auf die Selektivität

Als Kapillare wurde eine Standardkapillare mit einem Durchmesser von 50µm und 50 cm effektiver Länge benutzt. Die Injektion wurde hydrodynamisch durchgeführt. Ein Standarddiagramm ist in der Abbildung 30 dargestellt.

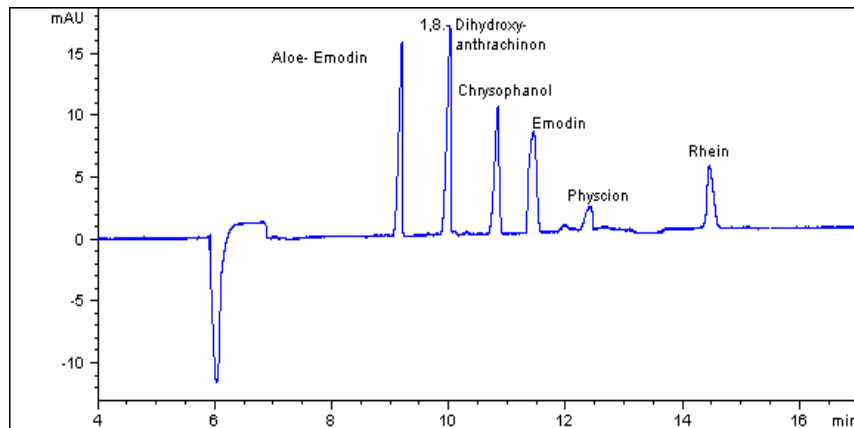


Abbildung 30: Standardchromatogramm Anthrachinone

Bei der Untersuchung der Rhabarberwurzelpollen wurden die gefundenen Verbindungen von dem CE- Gerät durch die Migrationszeit identifiziert und zusätzlich über den Vergleich der Probenspektren mit Spektren der Standards entsprechender Konzentration geprüft.

Als erste Verbindung erscheint Aloe- Emodin. Es folgen Emodin, Chrysophanol und Physcion. Rhein weist die größte Migrationszeit auf, weil es dem EOF entgegen, aktiv in Richtung Kathode wandert.

7.3.2.2 HPLC

Da bei der CE keine Kühlung der Proben im Probenkarussell möglich war und bei dem Caps- Puffer mit SDS das Replenish- System nicht zuverlässig arbeitete, erfolgte die Untersuchung der ethanolschen Extrakte der durch Aussaat gewonnenen Sämlinge mit der HPLC, deren Probengeber gekühlt war. Eine Methode dafür wurde im Rahmen des Forschungsthemas³ erarbeitet

³ Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie, Entwicklung von schwermetallfreien Färb- und Gerbmitteln und verfahren Rohstoffherzeugung und -charakterisierung (FKZ 14 810 22 8)

Die Detektion erfolgte mit einem Diodenarray-Detektor bei 254 und 436 nm. Ein Beispiel für das Absorptionsspektrum von Aloe- Emodin zeigt Abbildung 31.

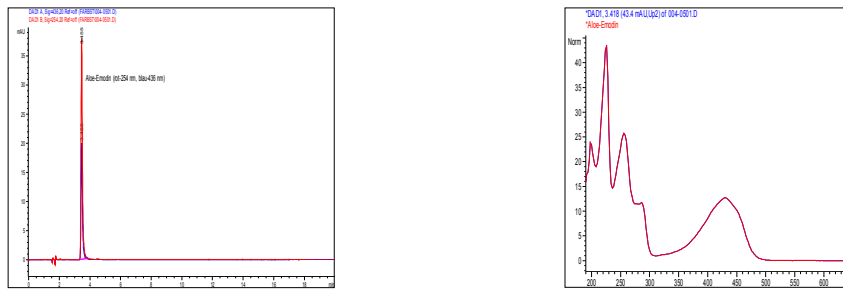


Abbildung 31: Chromatogramm Aloe-Emodin und Absorptions-Spektrum

Da bei 254 nm die Absorptionsintensität der Vergleichssubstanzen höher ist als bei 436 nm, wurde die Kalibration der Aglykone sowie auch die quantitative Auswertung der einzelnen Chromatogramme bei dieser Wellenlänge durchgeführt. Abbildung 32 zeigt ein Chromatogramm der 5 Standardsubstanzen.

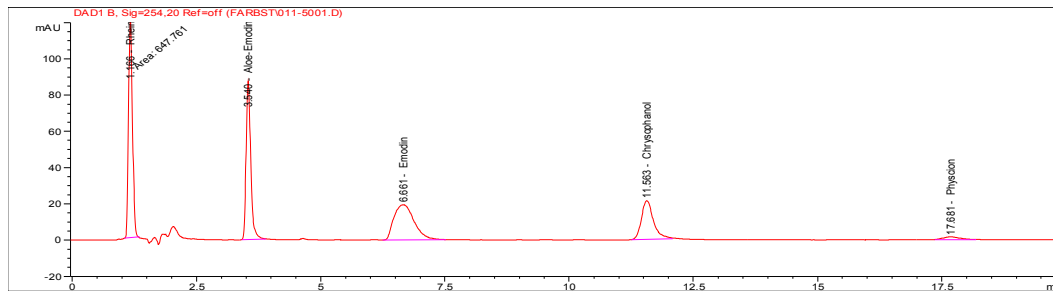


Abbildung 32: Chromatografische Trennung der 5 Anthrachinonaglykone

Nach DIN 32645 wurden für die Einzelstandards die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mit Hilfe der Software SQS (Perkin Elmer) ermittelt.

Für die Untersuchungen im Rahmen des vorliegenden Forschungsvorhabens wurde die Methode durch Gradientenelution modifiziert. Die chromatographischen Bedingungen sind nachfolgend aufgeführt

Die Charakterisierung der Anthrachinongehalte in den Wurzeln wurde an einer HPLC- Anlage der Firma Hewlett Packard System 1100 mit binärem Pumpensystem durchgeführt.

Trennsäule: C18 Luna (2) 5µ; 250*4,5 mm der Fa. Phenomenex
 Detektion UV/ DAD bei 436 nm
 Flussrate: 1,2 ml/min
 Eluent A: 70% Methanol/ 30% Wasser vorgemischt
 Eluent B: 100% Methanol

Gradientenprogramm:

Zeit (min)	A	% B
0	100	0
4,0	15	85
12,0	15	85
13,0	100	0
18,0	100	0

Die Analysenzeit beträgt bis zum Erreichen der Ausgangsbedingungen für den Neustart 18 Minuten.

Als Standardsubstanzen wurden die Farbstoffe Rhein, Aloe-Emodin, Emodin, Chrysophanol und Physcion der Firma Roth in HPLC reiner Qualität für die Kalibrierung verwendet.

7.3.2.3 Extraktion

Es wurden verschiedene Lösungsmittel für die spätere Extraktion auf ihre Eignung überprüft. Im Ergebnis wurde Ethanol für die weiteren Untersuchungen der freien Anthrachinone genutzt. Die Optimierung der Extraktion wurde mit dem Genotyp 10 durchgeführt.

Um eine erschöpfende Extraktion der Anthrachinonfarbstoffe aus Rhabarberwurzeln zu gewährleisten, wurden im Rahmen des Forschungsvorhabens² nach 15 Extraktionen des gleichen Wurzelmaterials mit einem Soxtherm die gewonnenen Extrakte mit den Ergebnissen der Extinktionsmessungen verglichen und ausgewertet. Nach der zweiten Extraktion waren in dem Wurzelmaterial keine freien Anthrachinone mehr vorhanden. In weiteren Untersuchungen wurden mit der ASE (Accelerated Solvent Extraction) Versuche zur reproduzierbaren und erschöpfenden Extraktion vorgenommen. Es ergab die gleichen Resultate.

Die Konzentrationen der aglykonischen Farbstoffe wurden mittels Kapillarelektrophorese (CE) ermittelt und sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Genotyp 10 nach zweifacher Extraktion einer Zelle

ASE Extraktionslauf	Aloe Emodin µg/g	Chrysophanol µg/g	Emodin µg/g	Physcion µg/g
1.	436.86	1017.00	576.39	815.64
2.	356.92	325.20	0.00	4.52
Summe	793.78	1342.19	576.39	820.16

(Bedingungen ASE: 70 °C; 10 min Standzeit; 60 % Spülvolumen; 1 g Probe/2 g Diatomeenerde; 70 % C₂H₅ OH; Extrakt 25 ml)

Die Bedingungen für die Extraktion mit der ASE wurden optimiert (Extraktionszeit, Spülvolumen, Wiederholbarkeit, Vergleich mit Soxtherm).

Tabelle 9: Standardabweichungen bei der Extraktion der Aglykone

	Aloe-Emodin	Chrysophanol	Emodin	Physcion	Gesamt FB
RSD % Soxtherm	10,00	10,79	20,69	22,32	12,93
RSD% ASE (100%)	4,10	10,55	1,95	7,90	6,51

Die Tabelle 9 zeigt, dass die Standardabweichungen bei der ASE geringer waren. Die Entscheidung für die ASE führte nicht nur zu besseren Standardabweichungen, sondern war auch durch die Automatik rationeller.

² „Entwicklung einer Extraktions- und Analysenmethodik zur Charakterisierung und quantitativen Bestimmung der Farbstoffe in Rhabarberwurzeln als Voraussetzung für eine Nutzung der Farbstoffe in der kosmetischen Industrie“ (FKZ 3206A/0020H0)

7.4 Untersuchung der Inhaltsstoffe

7.4.1 Gerbstoffuntersuchungen

7.4.1.1 Gerbstoffgehalte in verschiedenen Rhabarberarten

Zur Charakterisierung der Gerbstoffgehalte in den Rhabarberwurzeln wurden die im 1998 erweiterten Sortiment der HS- Anhalt befindlichen Rhabarberherkünfte untersucht.

Tabelle 10: Reingerbstoffgehalte (% in der Trockensubstanz) in Wurzeln der verschiedenen Herkünfte von Rhabarberarten des Sortimentes

	Mittel	Spann-
	der Art	weite der Art
Rh. officinale BAILL.; Dolomiten (Münster)	12,9	
Rh. officinale BAILL.; Vacrutot (Ungarn)	18,9	13,6 10,8-18,9
Rh. officinale BAILL.; Kirovsk (UdSSR)	12,1	
Rh. officinale BAILL.; England)	10,8	
Rh. officinale BAILL.; Dolomiten (Münster)	15,8	
Rh. officinale BAILL.; Dolomiten (Münster)	11,9	
Rh. officinale BAILL.; Landsorte, Slovakei	12,6	
Rh. palmatum L.; Dublin (Irland)	12,9	12,3 8,7- 6,5
Rh. palmatum L.; Petersburg (UdSSR)	11,2	
Rh. palmatum var. atropurpureum; Dublin (Irland)	8,7	
Rh. palmatum l.f. flor. rubro MAXIM. Petersburg	16,5	
Rh. rhabarbarum L.; The Sutton	10,8	
Rh. rhabarberum L.; Holsteiner Blut	11,9	13,1 9,2-17,8
Rh. rhabarberum L.; Utrecht (Holland)	9,2	
Rh. rhabarberum L.; Uppsala (Schweden)	15,2	
Rh. rhabarberum L.; KVDR 1986	16,9	
Rh. rhabarberum L.; Kirovsk (UdSSR)	13,9	
Rh. rhabarberum L.; China 1956	9,4	
Rh. rhabarberum L.; KVDR 1987	17,8	
Rh. rhab. x Rh. rhaponticum	12,2	
Rh. rhaponticum L.; Kirovsk (UdSSR)	10,5	12,5 8,0-16,8
Rh. rhaponticum L.; Dnepropetrovsk (UdSSR)	13,6	
Rh. rhaponticum L.; Kirovsk (UdSSR)	16,8	
Rh. rhaponticum L.; Uppsala (Schweden)	8,0	
Rh. rhaponticum L.; Petrograd (UdSSR)		13,8
Rh. rhaponticum L.; Taplozek (Finnland)	12,5	

In der Tabelle 10 sind die Rhabarberarten des Sortimentes der HS- Anhalt dargestellt. Es zeigte sich bei den Untersuchungen der Gerbstoffgehalte des Sortimentes, dass zwischen den einzelnen Arten keine großen Unterschiede bestehen. Die Mittelwerte der Arten schwanken zwischen 12,5 und 13,6 % Reingerbstoff in der Trockensubstanz. Auch die Spannweiten im Reingerbstoffgehalt sind bei den Herkünften der verschiedenen Rheum- Arten sehr ähnlich. Rheum officinale und Rheum palmatum, deren Gerbstoffe schon vor Jahrtausenden medi-

zinisch genutzt wurden, liegen mit ihren Durchschnittswerten 0,65 % über (officinale) bzw. unter (palmatum) dem Gesamtdurchschnitt.

Aus dem Sortiment wurden deshalb verschiedene Genotypen unabhängig von der Art, nur nach der Höhe der Gerbstoffgehalte für die weiteren Untersuchungen ausgewählt.

7.4.1.2 Gerbstoffgehalte in Wurzeln verschiedener Anbaujahre

Zur Untersuchung des Jahreseinflusses wurden Wurzeln der 7 ausgewählten Genotypen aus verschiedenen Anbaujahren (1994, 1996, 1998) untersucht. Es zeigte sich, dass in den Jahren 1996 und 1998 die Gerbstoffgehalte fast gleich waren. Die Konzentrationen an Reingerbstoff in der Trockenmasse waren genotypspezifisch und wiesen in den beiden Jahren keinen Einfluss des Anbaujahres auf. 1994 waren Abweichungen zu den anderen Versuchsjahren zu erkennen. Die Gerbstoffkonzentrationen lagen bei den Genotypen 2, 11, 12 und 21 etwas höher als in den Erntejahren 1996 und 1998. Die charakteristischen Differenzen im Gerbstoffgehalt zwischen den Genotypen waren auch 1994 ausgeprägt.

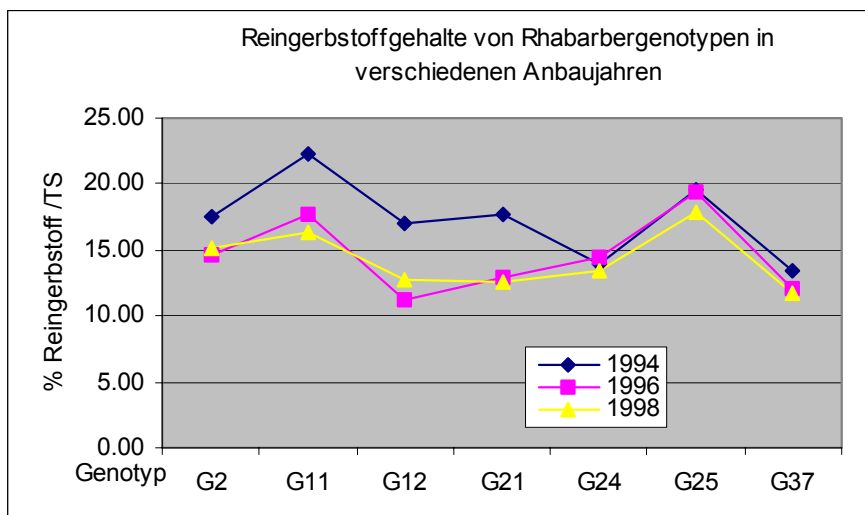


Abbildung 33: Reingerbstoffgehalte in Wurzeln verschiedener Genotypen in den Jahren 1994 bis 1998

Der genotypisch fixierte Gerbstoffgehalt wurde durch die Wirkung der Jahre nur gering beeinflusst.

7.4.1.3 Untersuchung des Einflusses der Düngung auf die Gerbstoffgehalte

Da die mikrovermehrten Pflanzen mit verschiedenen N- Gaben gedüngt wurden, ist auch untersucht worden, ob die unterschiedliche N- Ernährung einen Einfluss auf ihre Reingerbstoffgehalte ausübten. Die Untersuchungen wurden an Pflanzen des Genotyps 2, 24 und 25 im zweiten und bei Genotyp 2 auch im dritten Standjahr durchgeführt.

Die Abbildung 34 zeigt die Genotypen 2, 24 und 25 im 2. Wachstumsjahr. Es war kein Einfluß der Stickstoffdüngung zu erkennen Die Unterschiede in den Gerbstoffgehalten sind ungerichtet. Die Reingerbstoffkonzentrationen in den

Mutterpflanzen (rechts), von denen die geprüften Genotypen durch Mikrovermehrung erhalten wurden, liegen noch höher als bei den zweijährigen In- vitro-Pflanzen.

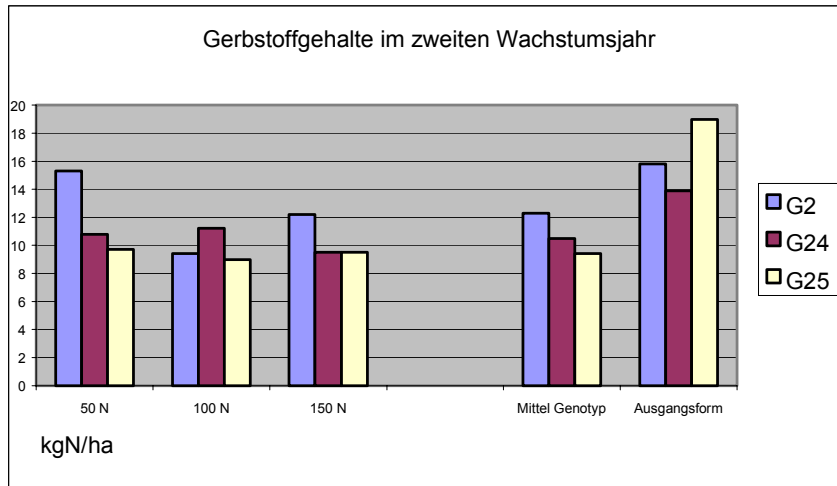


Abbildung 34: Gerbstoffgehalte in verschiedenen Genotypen im zweiten Wachstumsjahr

Die Abbildung 35 zeigt die Reingerbstoffgehalte der vier Wiederholungen der mit unterschiedlicher N- Düngung behandelten Schläge. Es zeigte sich, dass die Düngung bei den untersuchten Pflanzen

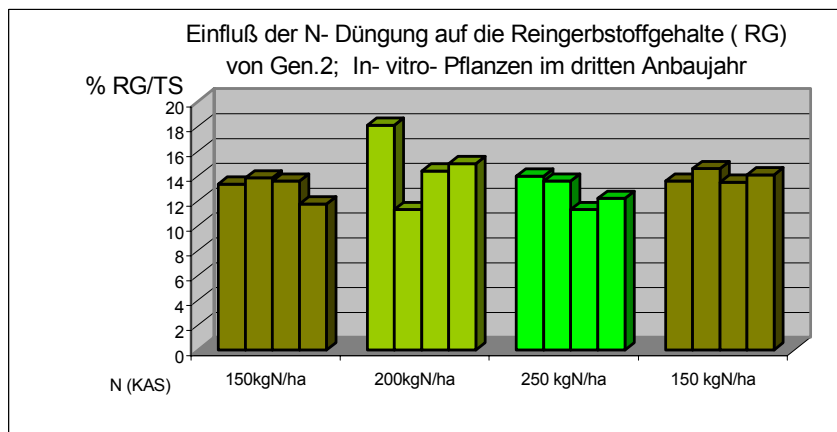


Abbildung 35: Reingerbstoffgehalte bei verschiedenen Düngungsstufen.

keinen Einfluß auf die Höhe der Reingerbstoffgehalte ausübte. Die durchschnittlichen Gerbstoffgehalte unterschieden sich bei den N- Varianten nur minimal. Die Variation im Gerbstoffgehalt war z. B. bei der 200 kg N- Variante größer als zwischen den Düngungsstufen.

7.4.1.4 Gerbstoffgehalte in durch Aussaat erhaltenen Rhabarberpflanzen

Für die Anlage eines Versuches mit Sämlingen wurden Samen, die 1997 aus dem Sortiment gewonnen werden konnten, von den ausgewählten und schon untersuchten Herkünften genutzt. Die Aussaat erfolgte im April 1998 im Gewächshaus. Die Genotypen zeigten starke Unterschiede bei der Keimung der Samen. Nach dem Pikieren wurden die Pflanzen in Töpfen weiterkultiviert und im Juli 1998 in Abständen von 50 x 50 cm ausgepflanzt. Die Untersuchung der Gerbstoffgehalte wurde mit folgenden Zielen durchgeführt:

- Untersuchungen zur genetischen Aufspaltung von Rhabarberwurzeln zur Erzeugung gerbstoffreicher Nachkommen und eventueller Früherkennung geeigneter Genotypen
- Auslese gerbstoffreicher Nachkommen

Die Wurzeln der Sämlinge wurden im Oktober 1998, 1999 und 2000 geerntet. Nach dem Teilen der Wurzeln wurde jeweils eine Hälfte zerschnitten und gefriergetrocknet, die zweite wieder ausgepflanzt. Die Gerb- und Farbstoffe der einzelnen Sämlinge wurden untersucht.

Durch die beim Rhabarber vorhandene genetische Inhomogenität der durch Aussaat erhaltenen Pflanzen traten die gewünschten Differenzen in den Gerb- und Farbstoffen auf. Schon visuell bestätigte sich beim frisch geernteten Material, dass zwischen den Nachkommen der einzelnen Herkünfte Differenzen in der äußeren und inneren Wurzelfarbe bestanden. Insgesamt gesehen war ein Trend zu erkennen, dass mit der Zunahme der Wachstumszeit die Gerbstoffgehalte zunahmen.

In der Abbildung 36 sind die durchschnittlichen Gerbstoffgehalte der Wurzeln der aus Samen gezogenen Nachkommen der verschiedenen Genotypen in drei Wachstumsjahren aufgezeigt. Es ist zu erkennen, dass die gemittelten Gerbstoffkonzentrationen bei den meisten Nachkommen vom ersten zum dritten Wachstumsjahr ansteigen. Eine Ausnahme bilden die Genotypen 2 und 12, bei deren Nachkommen im Durchschnitt schon im zweiten Anbaujahr das Maximum der Gerbstoffkonzentration erreicht war.

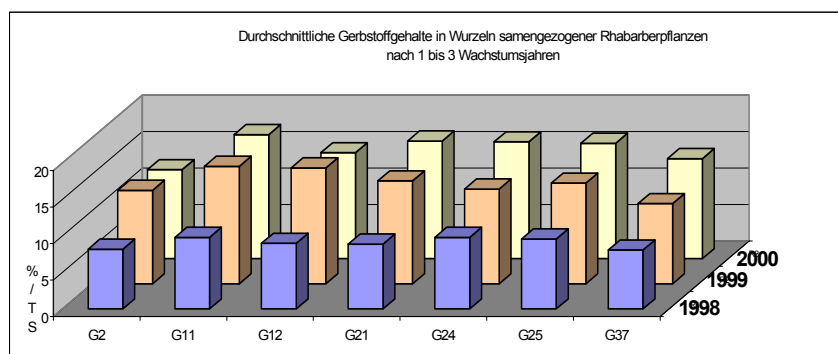


Abbildung 36: Durchschnittliche Gerbstoffgehalte der durch Aussaat erhaltenen Nachkommen nach verschiedenen Wachstumsjahren

Vergleicht man die durchschnittlichen Gerbstoffgehalte der Nachkommen im dritten Wachstumsjahr (2000) mit denen der Eltern, ist zu erkennen, dass bei den Genotypennachkommen die Gerbstoffkonzentrationen der Ausgangspflanzen nur bei G11, G12 und G37 erreicht wurden. Wahrscheinlich findet bei einigen Pflanzen auch noch im vierten Jahr noch ein Ansteigen des Gerbstoffgehaltes statt.

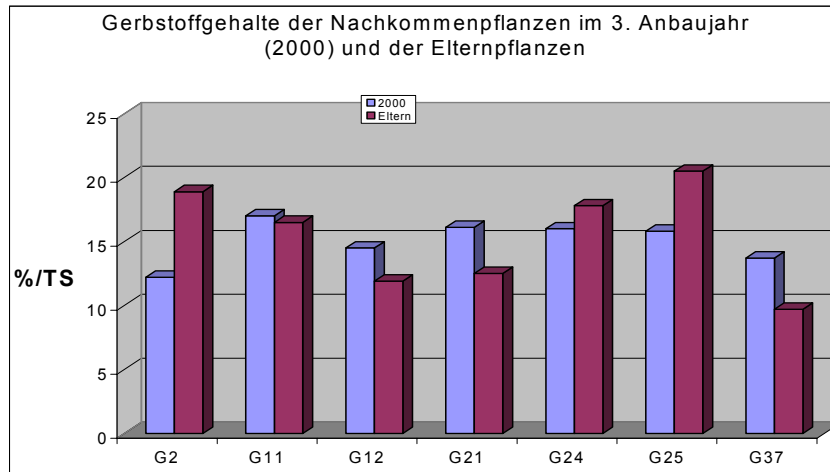


Abbildung 37: Durchschnittliche Gerbstoffgehalte der Nachkommen im 3. Wachstumsjahr und ihrer Elternpflanzen

Die Schwankungsbreiten der Gerbstoffkonzentrationen in den Nachkommen ist in der Tabelle 11 dargestellt.

Die Gerbstoffgehalte der Einzelpflanzen unterschieden sich innerhalb der Abstammung und auch zwischen den Jahren sehr stark.

Tabelle 11: Spannweite der Gerbstoffgehalte (%TS) bei durch Aussaat erhaltenen Nachkommen der ausgewählten Genotypen

Genotyp	Mutterpflanzen	Nachkommen vom 1. bis 3. Erntejahr		
	Ernte Ø 1994-1998	1998 min max	1999 min max	2000 min max
2	15,8	4,9-14,4	11,0-15,6	7,3-15,8
11	18,8	8,2-15,1	15,1-19,0	12,4-23,6
12	13,7	8,2-11,0	13,2-19,1	11,0-18,2
21	14,4	7,8-13,7	12,6-18,6	13,7-18,1
24	13,9	6,2-12,2	12,0-14,0	13,0-19,0
25	19,0	7,5-11,6	12,8-14,4	14,0-17,1
37	12,4	5,6-11,0	7,4-16,2	10,6-18,0

Die Gerbstoffgehalte der Sämlingswurzeln in den drei Anbaujahren zeigten, dass sie bei den Nachkommen gleicher Abstammung beträchtlichen Streuungen unterliegen.

Es ist weiterhin zu erkennen, dass die Gerbstoffgehalte der durch Aussaat erhaltenen Nachkommen im ersten Jahr alle unter denen der Ausgangspflanzen lagen. Auch die höchsten Gerbstoffgehalte einiger Sämlinge erreichen die Kon-

zentrationen der Ausgangspflanzen in keinem Genotyp.

Im zweiten (1999) und dritten (2000) Jahr wurden die Ausgangsformen, von denen die Samen stammen, in den Gerbstoffgehalten teilweise übertroffen (Genotypen 11, 12, 21, 24 und 37). Bei 25 erreichte keiner der Nachkommen die hohen Gehalte der Ausgangsform.

Damit scheint zwischen den Konzentrationen in den Elternpflanzen und den Sämlingsnachkommen im ersten Wachstumsjahr keine Beziehung zu bestehen, was darauf hinweist, dass die erwartete Aufspaltung im Gerbstoffgehalt eingetreten ist. Es wurden Pflanzen mit hohem Gerbstoffgehalten ausgewählt.

Die Gerbstoffgehalte in den Wurzeln scheinen bei einigen Genotypen schon im zweiten Wachstumsjahr ihre optimalen Konzentrationen zu erreichen. So wiesen einige Pflanzen die Tendenz auf, im zweiten Wachstumsjahr schon mehr Gerbstoffe akkumuliert zu haben, als im dritten. Wahrscheinlich ist bei diesen Genotypen die optimale Konzentration im zweiten Jahr erreicht und die Verminderung im dritten liegt im Rahmen der normalen Streuung der Gerbstoffgehalte. In einigen Pflanzen könnte auch das Ausgraben und Teilen der Wurzeln im zweiten Jahr, sowie das nachfolgende Wiederauspflanzen der halben Wurzel eine Ursache für eine Gerbstoffverminderung im 3. Jahr sein.

Die Untersuchungen der Gerbstoffgehalte in den durch Aussaat erhaltenen Nachkommen zeigte, dass die Gerbstoffgehalte bei den Sämlingen im ersten Jahr am niedrigsten waren und im zweiten bzw. dritten Jahr zunahmen. Eine weitere Erhöhung ist nicht auszuschließen. Es zeigte sich auch die erwartete genetische Aufspaltung in der Höhe des Gerbstoffgehaltes. Im dritten Wachstumsjahr wurden einige Pflanzen herausgelesen, welche die Mutterpflanzen in der Gerbstoffkonzentration in der Trockenmasse übertroffen hatten.

7.4.2 Untersuchung der freien Anthrachinone in den Rhabarberwurzeln

7.4.2.1 Untersuchung der freien Anthrachinone in den Wurzeln der ausgewählten Genotypen

Die Untersuchung der Anthrachinone in den ausgewählten Formen zeigte, dass vor allem die Aglykone Emodin, Chrysophanol und Physcion gefunden wurden. Aloe- Emodin trat bei einigen auf und Rhein ist wahrscheinlich in den alkoholischen Extrakten nicht vorhanden.

Die Abbildung 38 zeigt die Gehalte an freien Anthrachinonen in den ausgewählten Genotypen. Die Anthrachinongehalte der geprüften Genotypen waren unterschiedlich. Insgesamt hohe Konzentrationen an Aglykonen wiesen die Genotypen 2, 11 und 25 auf. Diese Genotypen besaßen höhere Konzentrationen an Chrysophanol (G 11, G 25) bzw. Chrysophanol und Emodin (G2). G 11 und G 37 zeigen im Verhältnis zu den anderen Farbstoffen sehr hohe Physciongehalte.

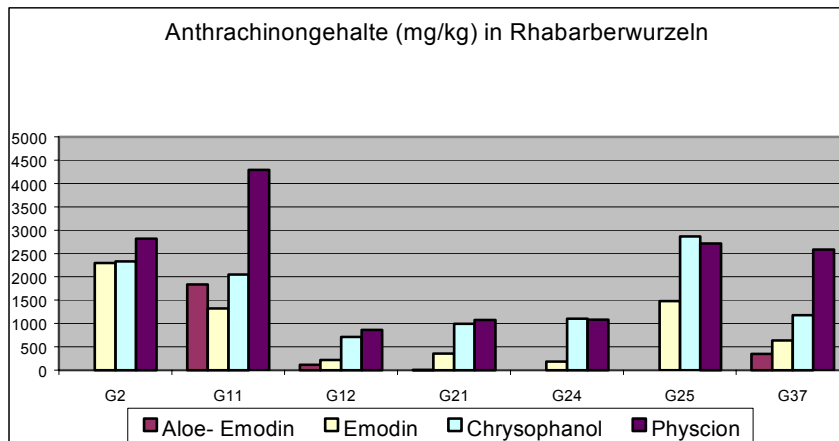


Abbildung 38: Anthrachinongehalte in den verschiedenen Genotypen

Nur Genotyp 11,12 und 37 wiesen auch Anteile an Aloe- Emodin auf, bei G11 hoch und bei G12 und 37 niedrig waren.

Die unterschiedlichen Farben der analysenstarken Gerbstofflösungen der einzelnen Genotypen sind orangebraun (2, 25), schokoladenbraun (11), nußbraun (12,37) und lehmraun (21, 24). Eine Beziehung zu den freien Anthrachinonen wurde nicht gefunden. Die Lösungen der relativ farbstoffreichen Genotypen 2 und 25 sind orangebraun, 11 weist eine schokoladenbraune Färbung auf. Eine Beziehung der freien Anthrachinone zur Färbung der Leder setzt aber eine Korrelation zwischen den freien und glykosidisch gebundenen Anthrachinonen voraus, da die freien Anthrachinone mit Ausnahme von Rhein nicht in der wässrigen Gerbstofflösung enthalten sind.

Zwischen den einzelnen Farbstoffen der verschiedenen Genotypen bestehen Beziehungen.

Tabelle 12: Beziehungen zwischen den Farbstoffen untereinander und zum Gerbstoffgehalt bei ausgewählten Genotypen

	r
FB- Summe/ Physcion	0,97
FB- Summe/ Chrysophanol	0,70
FB- Summe/ Emodin	0,80
Physcion/ Chrysophanol	0,71
Physcion/ Emodin	0,71
Chrysophanol/ Emodin	0,87
Gerbstoff/ Summe Farbstoff	0,40
Gerbstoff/ Physcion	0,33
Gerbstoff/ Chrysophanol	0,62
Gerbstoff/ Emodin	0,62

Es zeigte sich, dass Physcion nicht nur die Verbindung mit den höchsten Konzentrationen in den Wurzeln ist, sondern auch bei allen Genotypen in engster Beziehung zur Gesamtanthrachinonmenge steht. Es folgten Emodin und Chrysophanol.

Die Anthrachinone sind untereinander ebenfalls relativ hoch korreliert. Die Beziehungen zum Gerbstoffgehalt sind bei den Anthrachinonfarbstoffen weniger eng. Es wurden Untersuchungen an Nachkommen durchgeführt, um zu ermitteln, ob in den ersten Wachstumsjahren Beziehungen der Anthrachinone zum Gerbstoffgehalt, vor allem in späteren Wachstumsjahren, zu erkennen sind.

7.4.2.2 Anthrachinongehalte in durch Aussaat erhaltenen Nachkommen der ausgewählten Rhabarber

Die durchschnittlichen Anthrachinongehalte je Genotypnachkommen zeigen, dass mit dem Alter der Wurzeln auch die Anthrachinongehalte zunehmen, wobei die Differenzen zwischen dem zweiten und dritten Jahr gering sind und der Höchstgehalt schon im zweiten Jahr, in Ausnahmefällen auch schon im ersten Jahr erreicht sein kann. Die Nachkommen unterscheiden sich von den Aus-

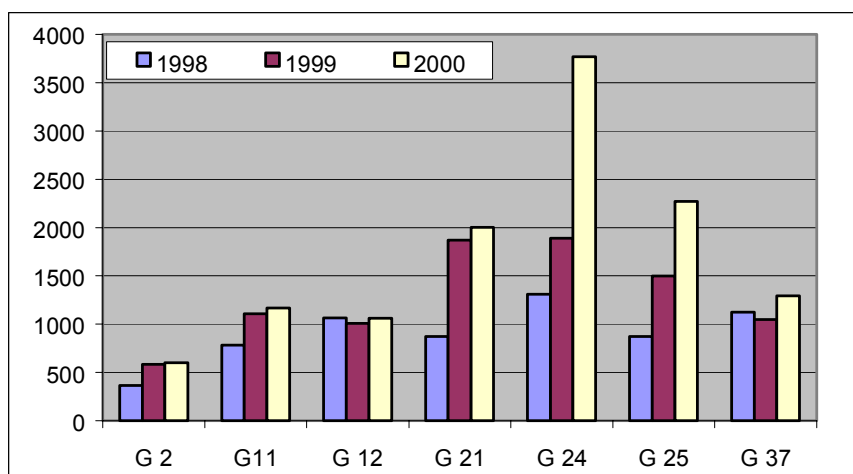


Abbildung 39: Anthrachinongehalte der Wurzeln von durch Aussaat erhaltenen Pflanzen

gangsformen in den Verhältnissen der Farbstoffe zwischen den Genotypen. Wie beim Gerbstoffgehalt haben wahrscheinlich auch hier die Aufspaltungseffekte

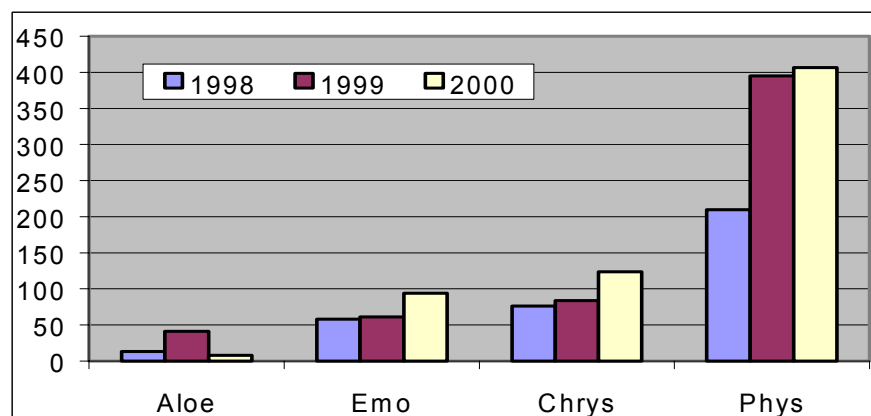


Abbildung 40: Nachkommen aller Genotypen in verschiedenen Anbaujahren

der Samen zu einer Variation geführt, die sich auch in den mittleren Farbstoffsummen bei den Anthrachinonen widerspiegeln.

Betrachtet man die Durchschnittswerte der einzelnen Anthrachinonverbindungen in den verschiedenen Versuchsjahren, zeigt sich die gleiche Tendenz. Mit der Zunahme des Alters steigen zumindest die Hauptkomponenten der freien Anthrachinone Chrysophanol, Physcion und Emodin an. Die Abbildung 40 macht deutlich, dass im Durchschnitt über alle Genotypennachkommen auch die Hauptkomponenten der Anthrachinone mit dem Wachstumsalter zunehmen, wenn auch bei einzelnen Nachkommen im zweiten und dritten Jahr schon hohe Konzentrationen gefunden wurden.

Wie bei den Elternpflanzen dominieren die Gehalte an Physcion. Bei Genotyp 2, sowie bei 21 und 37 im dritten Jahr sind die Gehalte an Chrysophanol am höchsten.

7.4.3 Versuche zur Selektion gerbstoffreicher Genotypen

Im Rahmen der Aufgabenstellung sollten gerbstoffreiche Rhabarbergenotypen gesucht werden. Dazu wurden neben den Untersuchungen neuer Genotypen auch Versuche unternommen, Pflanzen durch Aussaat zu vermehren und im Laufe der Entwicklung zu ermitteln, ob Merkmale, die Hinweise auf die Gerbstoffgehalte im dritten Wachstumsjahr geben können, schon in jüngeren Pflanzen, wie z. B. im ersten Wachstumsjahr, gefunden werden können.

Dazu wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

1. Suche nach Fraktionen oder Banden in den Wurzelproteinen, die mit hohen Gehalten an Gerbstoffen korrelieren. Dazu war zu erarbeiten:
 - Entwicklung einer geeigneten Extraktionsmethode der Proteine aus den Wurzeln (Ausgangs- oder In- vitro- Pflanzen).
 - Entwicklung einer elektrophoretischen Trennungsmethode für die isolierten Wurzelproteine.
 - Untersuchung der Ausgangsgenotypen und der durch Aussaat erhaltenen Pflanzen.
 - Ermittlung, ob es charakteristische Proteinbanden gibt, die auf hohe Gerb- und Farbstoffgehalte hinweisen.

2. Untersuchung von Gerb- und Farbstoffen in Pflanzen unterschiedlichen Alters und mit verschiedenen Gerbstoffgehalten
 - Untersuchung reifer Wurzeln auf Gerb- und Farbstoffe.
 - Untersuchung von In- vitro- Nachkommen auf Gerb- und Farbstoffe
 - Versuche zum Auffinden von Beziehungen zwischen Gerbstoffgehalten in jungen In- vitro- Pflanzen und ihren Ausgangspflanzen
 - Untersuchung der Beziehungen zwischen Inhaltsstoffen und dem Gerbstoffgehalt durch Analyse der durch Samen aufgezogenen Rhabarberpflanzen.

3. Selektion
 - Auslese der Jungpflanzen, die sich für eine Weiterverwendung für die Gerbstoffgewinnung eignen.
 - Aussaat der Pflanzen mit hohen Gerbstoffkonzentrationen zur Bildung einer Genotypenreserve für die Vermehrung.

7.4.3.1 Elektrophoretische Untersuchungen

1. Trennung der Wurzelproteine mittels Polyacrylamid- Gel- Elektrophorese

1.1 Material und Methoden

Die Trennung der Proteine nach der Molekülgröße erfolgte in einer vertikalen Trennkammer Minigel-Twin G41/42 der Fa. Biometra.

Die Größe des Harnstoffgels betrug 8x8x0,5 mm. Das Gel wurde nach folgender Rezeptur gegossen:

Gelansatz:

- A: 21,6 ml Eisessig
- 2,5 ml TEMED auf 50 ml bi. dest. Wasser
- B: 5,0 ml 40%- iges Polyacrylamid
- C: 9,6 g Harnstoff in 50 ml gelöst
- 25 mg APS (fest) als Katalysator
- Mischen von A:B:C; 2,5:5,0:12,5 ml über Nacht bei 37 °C polymerisieren

1.2 Extraktionspuffer für die Probenaufarbeitung:

- 13,75 ml Isopropanol
- 0,5 ml Mercaptoethanol auf 25 ml bi. dest. Wasser

1.3 Probenaufarbeitung:

25mg Wurzelpulver mit 400 µl Extraktionspuffer 1h bei Raumtemperatur extrahieren danach 15 min. bei 15000U/min. zentrifugieren.

Zum gereinigtem Extrakt wurde 20 µl 4mol Harnstoff hinzugeben vermischt. Davon wurden 10 µl als Probe auf das Gel auftragen.

1.4 Elektrophoretische Bedingungen:

Start bei 10mA 66V

Nach 15 min. auf 20 mA erhöht.

Proben liefen bis Farbstofffront aus dem Gel austrat.

Das erhaltene Gel ist in der Abbildung 41 dargestellt.

Die Abbildung 41 zeigt die Bahnen mit den Wurzelproteinen der Genotypen 2, 10 und 25 im Vergleich zu drei Weizensorten. Während die Weizenproben zumindest eine Proteintrennung anzeigten, waren die Proteine der Rhabarberwurzeln auf dem Gel nicht zu erkennen. Weizen wurde als Testsubstanz benutzt, weil die Eiweißtrennung dieser Sorten bekannt war. Auf dem Gel ist zu erkennen, dass auch bei Ihnen unter den spezifischen Bedingungen dieser Elektrophorese keine deutliche Trennung gelang.



Abbildung 41: Keine Proteinbanden bei den Rhabarbergenotypen 2, 10 und 25 im Vergleich mit Weizensorten, die nach dem gleichen Verfahren extrahiert wurden.

2. Trennung der Wurzelproteine mittels Isoelektrischer Fokussierung und Blaufärbung.

Die Genotypen 2, 10 und 25 wurden nach den beiden o. g. Extraktionsmethoden aufgearbeitet und mit IEF bestimmt.

Bei der IEF erfolgt eine Auftrennung der Proteine nach ihrem isoelektrischen Punkt.

2.1 Material und Methoden

Die Isoelektrische Fokussierung wird in einer horizontalen Trennkammer Desaphor der Firma Desaga durchgeführt. Das Trenngel ist ein 8 molares Harnstoffgel mit einem pH Gradienten von 3-10. Es wird auf Trägerfolie gegossen. Die Gelgröße betrug 225x112x0,5 mm.

Gelansatz

Harnstoffgel nach Göhler 260x130 x0,5 mm

- 3,125 ml 30% Acrylamid
- 4,15 ml 60% Glycerin
- 5,625 g Harnstoff gelöst in 5,625 ml bi. dest. Wasser
- 1,2 ml Servalyt pH 3-10
- 125 µl 10% Ammoniumpersulfat

2.2 Extraktionspuffer für die Probenaufarbeitung

A: Extraktion mit Natriumsulfit:

200 mg Na_2SO_3 gelöst in 1 ml H_2O mit 9 ml Ethylenglycol versetzen (täglich frischer Ansatz).

B: Extraktion mit Phosphatpuffer:

90 mg di-Natriumhydrogenphosphat

2,5 ml 100% Glycerin

100 µl Mercaptoethanol

29 mg EDTA alles in 100 ml bi. dest. Wasser lösen.

2.3 Probenaufarbeitung mit Extrakt A:

25 mg Probe mit 200µl Extraktionslösung versetzen und bei Raumtemperatur über Nacht extrahieren.

10µl vom Überstand wird als Probe auf das Gel aufgetragen.

2.4 Probenaufarbeitung mit Extrakt B:

25 mg Probe mit 300µl Extraktionslösung versetzen und bei Raumtemperatur über Nacht extrahieren. Anschließend wird die Probe bei 3500 U/min 15 min. zentrifugiert.

10µl vom Überstand werden als Probe auf das Gel aufgetragen.

Der Probenauftrag erfolgte mittig auf dem Gel um das Laufverhalten besser einschätzen zu können.

2.5 IEF- Bedingungen:

- Temperatur der Trennkammer 10°C
- 2000 V Endspannung
- 10 mA
- 20 Watt
- Vorfokussierung dient zur besseren Ausbildung des pH- Gradienten
- Start bei 270 V
- 002 Watt
- Ende nach 30 min bei 500 V
- Danach erfolgt der Probenauftrag und Start der Fokussierung
- Trennung ist beendet wenn die Endspannung von 2000 V erreicht ist (ca. 3-4Stunden).

Die Proteine wurden nach der IEF mit 20% Trichloressigsäure fixiert und anschließend mit Coomassie Brilliant Blue sichtbar gemacht.

Die Ergebnisse sind in der Abbildung 42 dargestellt.

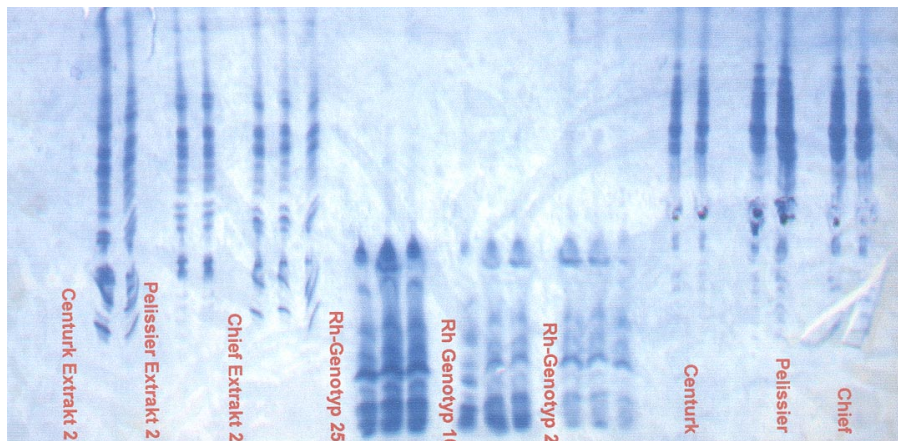


Abbildung 42: Keine deutliche Trennung der mit Na₂SO₃ extrahierten Proteine

Auf dem Elektropherogramm ist zu erkennen, dass die Proteine der Wurzelproben, die mit Na₂SO₃ extrahiert wurden, im sauren Teil des Gels (unten) in Banden aufgetrennt wurden. Die Na₂SO₃- Extrakte sind dennoch nicht sehr aussagekräftig, da die Banden sehr unscharf sind. Spezifische Merkmale waren nach diesen Extraktionen, die mehrmals wiederholt wurden, nicht zu erkennen. Die Extraktion der Proben mit Phosphatpuffer ergab im letzten Teil des Gel keine Banden und ist deshalb nicht mit dargestellt.

3. Trennung der Wurzelproteine mit IEF und Silberfärbung.

Für die IEF galten die gleichen Bedingungen wie im vorigen Abschnitt
Es wurde eine weitere Extraktionsmethode ausprobiert und der Nachweis der Proteine mit einer empfindlicheren Färbemethode durchgeführt.

3.1 Extraktion mit CHAPS- Puffer

- 2,4 g Harnstoff
- 0,2 g CHAPS
- 7,7 mg DTT
- 50 µl Servalyt 3-10
- 0,5 g Glycerin 100 %
- alles in 5 ml warmen Wasser lösen

3.2 Probenaufarbeitung:

- 20 mg Probe mit 500µl CHAPS- Puffer 30 min. im Ultraschallbad extrahieren
- 10 min bei 10 000 U/min zentrifugieren
- Probe durch einen 0,45µ Membranfilter reinigen
- 10µl Probe werden auf das Gel aufgetragen.

Die Proteinfärbung erfolgte mit einer Silberfärbung nach BLUM, BEIER und GOSS (1987). Die Gele wurden densitometrisch mit dem Videoscan der Firma CAMAG ausgewertet.

Mit dieser Färbungstechnik wurden Elektropherogramme erhalten, auf denen deutliche Banden zu erkennen waren.

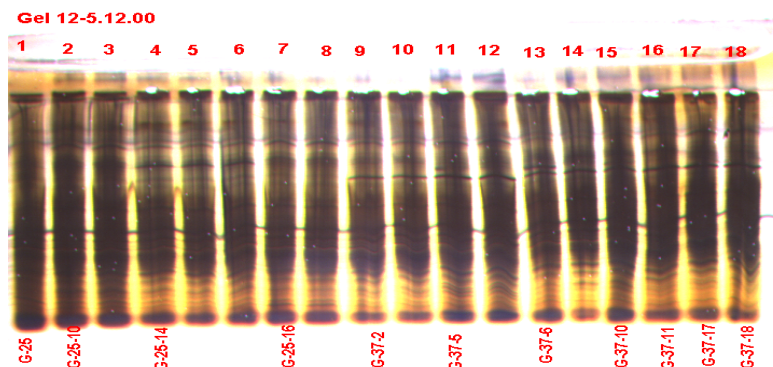


Abbildung 43: Mittels IEF getrennte Proteine aus Rhabarberwurzeln (Silberfärbung)

Ergebnisse der Proteinauftrennung

Bei der Beurteilung der Elektropherogramme zeigte sich, dass eine sehr große Anzahl an Banden auftrat, von denen die meisten bei allen Genotypen vorhanden waren. Es waren aber auch starke Banden zu erkennen, bei denen zwischen einzelnen Genotypen oder Genotypennachkommen Differenzen auftraten.

Gel 17 (Anhang): Die Nachkommen des Genotyp 12 wiesen Gerbstoffgehalte von 14,8 und 14,9 auf. Die elektrophoretischen Muster beider Nachkommen mit

praktisch gleichem Gerbstoffgehalt zeigten aber im mittleren Bereich Differenzen auf. So besaß Pflanze 12-8 2 deutlich sichtbare Banden, die bei 12-17 fehlten. Die Nachkommen 21-6, und 21-10 besaßen einen sehr hohen Gerbstoffgehalt, 21-9 nur einen mittleren (16,8; 18,2; 13,7). Die Nachkommen mit 18,2 und 13,7 % Gerbstoff, die sich am meisten unterscheiden, weisen gleiche elektrophoretische Spektren auf, während bei 21-6 zwei Banden im mittleren Bereich weniger vorhanden waren, als bei den beiden anderen.

Gel 12, (Anhang): Bei den Genotypennachkommen 25-10, 25-14 und 25-16 schwankten die Gerbstoffgehalte zwischen 14,0 und 17,1 %. Es konnten keine Unterschiede an den Banden festgestellt werden, sondern nur Differenzen in der Intensität.

Deutliche Differenzen traten bei allen Genotyp 25- Nachkommen zu den Nachkommen des Genotyps 37 auf.

Innerhalb der Nachkommen des Genotyps 37 lagen große Schwankungen im Gerbstoffgehalt vor. Zwischen den einzelnen Elektropherogrammen waren keine gerichteten Differenzen zu erkennen.

Ähnliche Verhältnisse wurden auch bei Genotyp 2 gefunden (Gel 16). Zwischen den Nachkommen, deren Elektropherogramme sich nicht unterschieden, betrug die Differenz zwischen den Gerbstoffgehalten 6,9 %.

Gel 18: Beim Genotyp 26 wiesen alle Nachkommen gegenüber der Herkunftspflanze neue Komponenten im schnelleren Bereich auf, Beziehungen zu den Gerbstoffgehalten wurden nicht gefunden.

Insgesamt zeigten die elektrophoretischen Untersuchungen, dass anhand der Muster der extrahierten Proteine keine Schlüsse auf den Gerbstoffgehalt gezogen werden konnten.

7.4.3.2 Beziehungen zwischen den Anthrachinonen und den Gerbstoffgehalten

Die erhaltenen Anthrachinongehalte (Anhang) wurden auch benutzt, um zu ermitteln, ob Beziehungen zwischen ihnen und den Gerbstoffen bestehen, aus denen man auf die späteren Gerbstoffgehalte schließen kann. Es zeigten sich weder bei den Summen der Farbstoffe noch bei den einzelnen Anthrachinonfarbstoffen ausreichend enge Korrelationen, die auf einen Zusammenhang zwischen den Inhaltsstoffen hinweisen.

Die Korrelationskoeffizienten zwischen den verschiedenen Anthrachinonen und den Gerbstoffen lagen im Bereich von $-0,49$ bis $(+) 0,43$.

Es muß daraus geschlussfolgert werden, dass eine Gerbstoffvoraussage über die Anthrachinonverbindungen, die auch sekundäre Stoffwechselprodukte darstellen, nicht möglich ist.

7.4.3.3 Beziehungen zwischen den Gerbstoffgehalten in den verschiedenen Wachstumsjahren

Die bei den durch Aussaat erhaltenen Genotypen untersuchten Gerbstoffgehalte wurden genutzt, um zu ermitteln, ob zwischen den Gerbstoffgehalten in den ers-

ten und späteren Jahren Beziehungen bestehen. Es wurden deshalb die Korrelationen zwischen den verschiedenen Jahren ermittelt.

Tabelle 13: Beziehungen zwischen den Gerbstoffgehalten der Wurzeln von Sämlingen in verschiedenem Alter

Genotyp 2	1998 - 1999	r= -0,89
	1998 - 2000	r= 0,30
	1999 - 2000	r= -0,29
Genotyp 11	1998 - 1999	r= 0,46
	1998 - 2000	r= 0,18
	1999 - 2000	r= -0,02
Genotyp 12	1998 - 1999	r= -0,31
	1998 - 2000	r= 0,10
	1999 - 2000	r= 0,29
Genotyp 21	1998 - 1999	r= -0,14
	1998 - 2000	r= 0,22
	1999 - 2000	r= -0,11
Genotyp 24	1998 - 1999	r= 0,08
	1998 - 2000	r= 0,60
	1999 - 2000	r= -0,30
Genotyp 25	1998 - 1999	r= 0,62
	1998 - 2000	r= -0,32
	1999 - 2000	r= -0,14
Genotyp 37	1998 - 1999	r= 0,02
	1998 - 2000	r = 0,20
	1999 - 2000	r= 0,31

Die ermittelten Korrelationen sind sehr unterschiedlich. Sie liegen im Bereich von – 0,89 bis + 0,60. Es ist keine Systematik zu erkennen. Die Ergebnisse deuten an, dass auch über die Bestimmung der Gerbstoffe in den ersten beiden Wachstumsjahren keine Vorhersage getroffen werden kann, ob die Pflanze einmal gerbstoffreich sein wird. Die Differenzierung der Wurzeln der einzelnen Genotypen zu gerbstoffreichen oder gerbstoffarmen Pflanzen findet wahrscheinlich erst in den späteren Wachstumsjahren statt. Die gleiche Tendenz war bei den mikrovermehrten Pflanzen zu erkennen, bei denen die Werte der Einzelwurzeln auch großen Schwankungen unterlagen. Beim Genotyp zwei war dabei (über alle Varianten) ein Zuwachs von 2 % Gerbstoff vom zweiten zum dritten Jahr erfolgt. Ein Vergleich der Gerbstoffgehalte der Genotypen 2, 24 und 25 im zweiten Jahr zeigte bei ihnen, dass die Herausbildung der charakteristischen Gerbstoffgehalte noch nicht erfolgt war. Darauf weist auch die Tatsache hin, dass die Korrelationen im Laufe der Entwicklungszeit ungerichtet sind und vom zweiten zum dritten Jahr auch keine engeren Beziehungen zwischen den Gerbstoffgehalten bestanden als zwischen den anderen Jahren.

7.4.3.4 Selektion gerbstoffreicher Pflanzen

Die Untersuchungen für eine Vorhersage der Gerbstoffe in den ausgesäten Genotypen führten nicht dazu, dass gerbstoffreiche Genotypen im Jungpflanzenstadium erkannt werden konnten. Es wird daraus geschlossen, dass gerbstoffreiche Pflanzen nur anhand der Gerbstoffanalysen im dritten Wachstumsjahr ausgelesen werden können. Es wurden auch im dritten Wachstumsjahr Pflanzen mit hohen und niedrigen Gerbstoffgehalten aufgefunden. Die mit hohen Gerbstoffkonzentrationen wurden ins Sortiment aufgenommen und können bei Bedarf mikrovermehrt werden.

Tabelle 14: Aus Sämlingen selektierte Pflanzen für die Gerbstoffgewinnung

Genotyp	Gerbstoffgehalt (%TTS)	Wurzelentwicklung (kg/Wurzel)
11/4	18,8	3,1
11/16	18,5	4,4
12/7	18,2	2,5
24/16	19,0	2,0
24/18	16,8	2,6
25/4	16,6	3,5
25/14	16,8	3,1
25/16	17,1	2,8
37/4	18,0	1,1
37/18	17,1	1,8

Die Wurzelgewichte wurden bei der Probenahme während der Ernte im 3. Standjahr ebenfalls ermittelt. Die Erträge können nur untereinander zum Vergleich dienen, da durch das Teilen der Wurzeln in jedem Herbst doch eine Beeinflussung des Wachstums zu erwarten ist und eine Ertragsvorhersage darum sehr unsicher ist. Die Wurzelmassen der ausgesäten Genotypen schwankten im Erntejahr von 0,3 bis 4,5 kg je Wurzel.

Es zeigte sich, dass bei den durch Aussaat gewonnenen Pflanzen aussichtsreiche Genotypen, die neben hohen Gerbstoffgehalten auch akzeptable Wurzelgewichte aufwiesen, erst im dritten Standjahr selektiert werden konnten.

7.5 Technologische Untersuchungen

7.5.1 Extraktionsuntersuchungen

7.5.1.1 Extraktionsuntersuchungen bei verschiedenen Genotypen

Die bei den Versuchen eingesetzten 8 ausgewählten Genotypen wurden für die Extraktionsuntersuchungen genutzt.

Die Wurzeln der Genotypen 2,10,11,12, 21, 24, 25 und 37 wurden gewaschen, zerkleinert und getrocknet.

Für die ausgewählten Genotypen standen Mengen von 0,3 kg bis 1 kg zur Verfügung.

Untersuchungen zum Extraktionsverfahren

Da sich die Kooperationspartner bei den Forschungsthemen zur Gerbstoffgewinnung aus Rhabarber bereits seit einigen Jahren mit der Verarbeitung von Rhabarberwurzeln beschäftigt, konnte auf ein erarbeitetes Know how zur Extraktion zurückgegriffen werden, welches in den Projekten des BMBF¹ dokumentiert ist.

Es wurde nachgewiesen, dass eine Extraktion sowohl der Gerb- als auch der Farbstoffe bei erhöhten Temperaturen beschleunigt wird. Aus wirtschaftlicher Sicht ist dabei auch die Kapazitätserhöhung des Lösungsmittels für die zu extrahierenden Wertstoffe nicht zu unterschätzen.

Die Extraktion der Farbstoffe und Gerbstoffe wurde bei Temperaturen von 40°C - 50°C vorgenommen.

Zur Extraktion der Inhaltsstoffe wurden folgende Lösungsansätze untersucht:

- A. Fraktionierte Extraktion der Farb- und Gerbstoffe für spezifische Einsatzzwecke und
- B. Gemeinsame Extraktion von Farb- und Gerbstoffen

Die Randbedingungen zu den Extraktionsverfahren sind im Anhang dokumentiert.

Aufarbeitung der Extrakte

Die Trennung der Extrakte aus den Maischen erfolgte mittels einer Laborpresse (Typ Parapress). Dadurch konnten die Restextraktmengen in den Treestern minimiert werden.

Die Extrakte wurden nach der Filtration unter Vakuum eingedampft. Um eine Spaltung der Glucoside zu vermeiden, wurde die Produkttemperatur nicht über 60 °C erhöht.

Bei einigen Genotypen konnte durch die Rotationsdünnschichtverdampfung ein rieselfähiges Farbstoffpulver erzeugt werden. Die Gerbstoffextrakte wurden generell als Konzentrate formuliert, da die Herstellung eines Pulvers für diese Produkte betriebswirtschaftlich nicht vertretbar ist.

Ergebnisse

Lösungsansatz A

Diesem Lösungsansatz liegt der Gedanke zu Grunde, die Farbstoffe durch Lösungsmittel mit höherer Alkoholkonzentration aus der Wurzel zu gewinnen. Da die Gerbstoffe in diesen hochprozentigen Alkoholen nicht oder nur schlecht löslich sind, erfolgt hauptsächlich eine fraktionierte Extraktion der Farbstoffe.

¹ „Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie. Entwicklung von chromfreien Gerbmitteln und -verfahren“ (FKZ 1480878, 1480879 und 1480815)

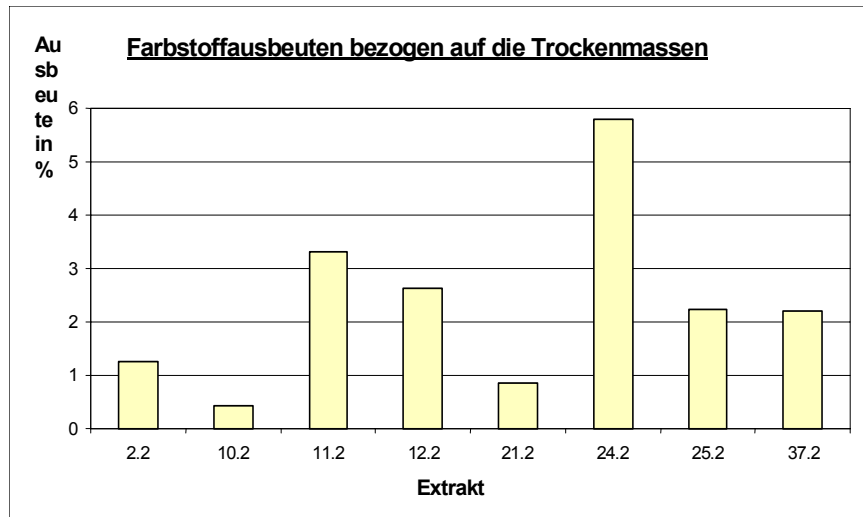


Abbildung 44: Farbstoffausbeute bezogen auf Trockenmasse

Die Gerbstoffe wurden anschließend mit Alkohol- Wassergemischen extrahiert, um die wasserlöslichen Komponenten wie Zucker, Salze usw. zurückzudrängen und so die “Gerbstoffqualität” zu verbessern.

Die Abbildung 44 zeigt die Ausbeute der Farbstofffraktionen der einzelnen Genotypen. Es ist eine hohe Variabilität der gewonnenen Farbstoffmengen bei den 8 Genotypen zu erkennen. Herausragend war der Genotyp 24, aus dem fast 6% Farbstoff gewonnen werden konnte. Die Genotypen 10 und 21 scheiden aus Sicht einer fraktionierten Farbstoffgewinnung aus, da die Ausbeuten unter 1% lagen.

In der Abbildung 45 sind die Ergebnisse zu der Gerbstoffextraktion im Anschluss an die Farbstoffgewinnung dargestellt. Die Ausbeute an Gerbstoff erreichte bei fast allen Genotypen 20 % und damit erwartete Größenordnungen.

Nach der rein quantitativen Summierung der Gerbstoff- und Farbstoffausbeuten sollte der Genotyp 11 für weitere Untersuchungen bevorzugt werden. Der Genotyp 24 wäre nach der Ausbeute für die Gewinnung der Farbstoffe geeignet.

Die Zusammensetzung der Farbstofffraktionen muß mit entsprechenden Methoden noch untersucht werden.

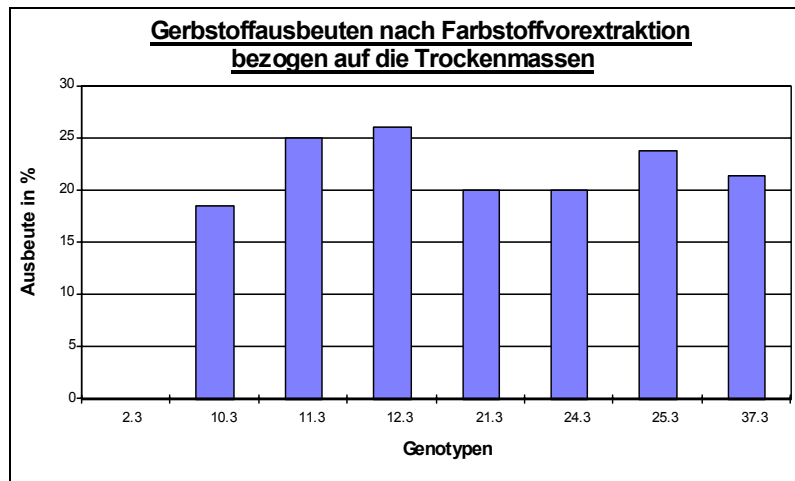


Abbildung 45: Gerbstoffausbeuten nach der Farbstoffvorextraktion

Lösungsansatz B

Mit dieser Verfahrensvariante wurden unter Zusatz eines Dispergiermittels zum Alkohol-Wassergemisch die Gerbstoffe und die Farbstoffe in einem Extraktionsschritt gewonnen.

Die Abbildung 46 zeigt die dabei erzielten Gesamtausbeuten an extrahierten Substanzen, dargestellt als Gerbstoffausbeuten.

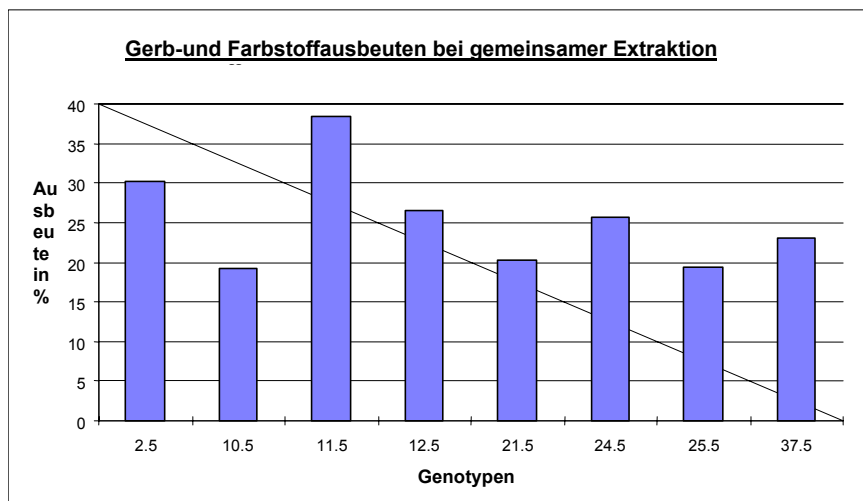


Abbildung 46: Gerb- und Farbstoffausbeuten bezogen auf die Trockensubstanz

Es zeichneten sich besonders die Genotypen 2 und 11 durch große Mengen an extrahierbaren Stoffen aus. Bei beiden Genotypen konnten auch mit der Hautpulvermethode hohe Gerbstoffgehalte nachgewiesen werden. Genotyp 25, bei dem mit Hautpulver ebenfalls ein hoher Gerbstoffgehalt ermittelt wurde, zeigte einen geringeren Anteil an extrahierbaren Substanzen.

Ergebnisse zur Aufarbeitung der Extrakte

Von entscheidender Bedeutung für die Wirtschaftlichkeit des Gesamtverfahrens der Gewinnung der Inhaltsstoffe ist die Erzeugung lagerfähiger Produkte.

Lagerfähige Produkte sind entweder Pulver- oder Konzentratformulierungen. Für die Gerbstoff- bzw. Farbstoffprodukte sollten Konzentrate ausreichend sein, weil mit Produkten konkurriert wird, die sich auf einem niedrigen Preisniveau befinden.

Da die Gewinnung der Farbstoffe durch eine Extraktion mit reinem Alkohol erfolgte und die Produkte frei von Lösungsmitteln sein sollten, wurde bis zur Trockene eingedampft.

Es wurde bei der Entwicklungsarbeit darauf orientiert, die Konzentrate unter schonenden Verfahrensparametern herzustellen. Das Eindampfen der Konzentrate erfolgte unter Vakuum bei maximalen Produkttemperaturen von 55 °C.

Bei einigen Genotypen ließen sich die Farbstoffe ohne Probleme bis zum Trockenprodukt konzentrieren.

Die Abbildungen 47 und 48 zeigen die Gerbstoffausbeuten vor dem Konzentrieren im Vergleich zu den Ausbeuten nach diesem Verfahrensschritt.

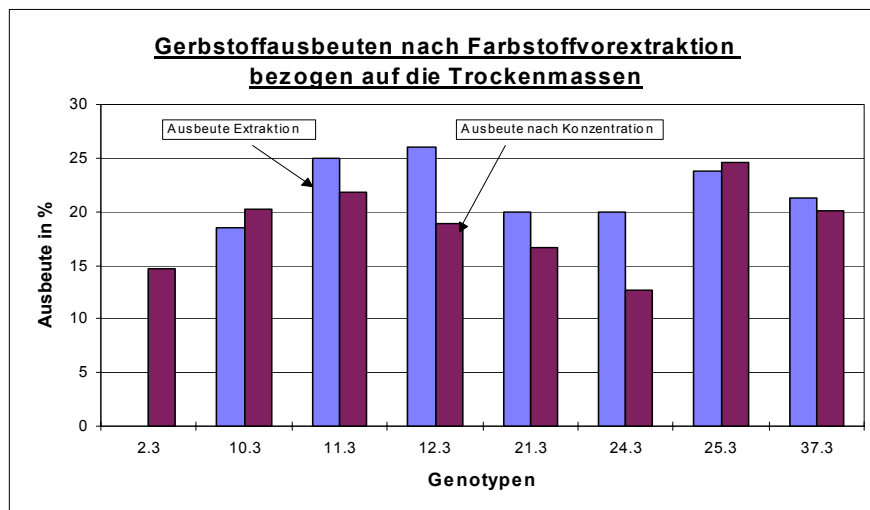


Abbildung 47: Vergleich der Gerbstoffausbeuten in Abhängigkeit von der Aufarbeitung

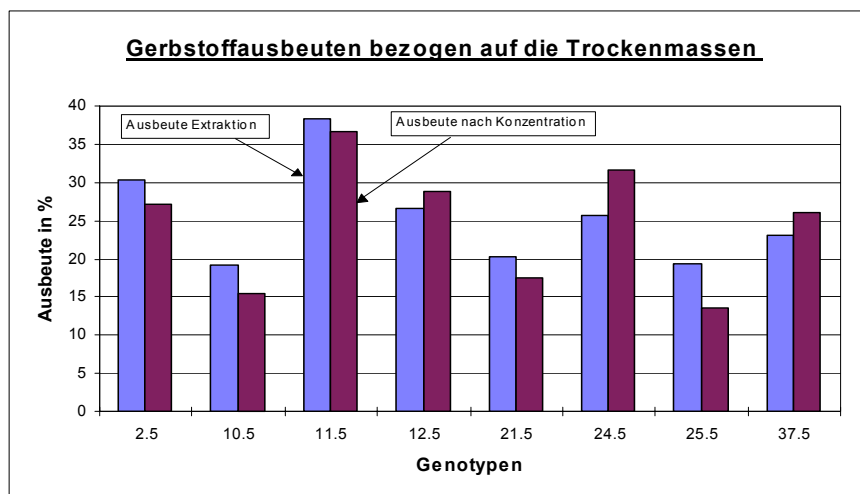


Abbildung 48: Vergleich der Gerbstoffausbeuten in Abhängigkeit von der Aufarbeitung

Theoretisch sollten die Ausbeuten nach dem Konzentrieren etwas geringer sein, da auf Grund von Toträumen in den Anlagen und nicht sichergestellten 100%igen Wiederfindungsraten beim Gewinnen der Konzentrate Verluste auftreten.

In den Diagrammen sind allerdings auch die umgekehrten Fälle erkennbar. Für diese Differenzen könnten Probenahme- und Analysenfehler verantwortlich sein. Bei den direkt extrahierten Gerbstoffen, nach Lösungsweg B zeigte sich die gleiche Tendenz beim Konzentrieren. Insgesamt war die Ausbeute jedoch höher, da die Farbstoffe mit in dieser Fraktion sind.

Abschätzung des verfahrenstechnischen Aufwandes

Die Entwicklungen zu den Verfahren erfolgten unter Berücksichtigung der in der Industrie vorhandenen großtechnischen Anlagen und damit in enger Verbindung zur Praxis. Aus dieser Sicht wird eingeschätzt, dass sowohl die zweistufige Extraktion nach Lösungsansatz A als auch die Extraktion nach Lösungsansatz B großtechnisch problemlos umgesetzt werden kann.

Die Anlagentechnik zur Konzentrierung der Rohextrakte ist in den meisten Betrieben für die Herstellung von pharmazeutischen Extrakten vorhanden.

Insgesamt sind die Verfahren auf Industrieanlagen übertragbar.

7.5.1.2 Anthrachinongehalte in den Extraktionsfraktionen

Die Gehalte an freien Anthrachinonen in den von der NIG GmbH gewonnenen Extrakten sind in der Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Gehalte an freien Anthrachinonen (Summe der gefundenen Aglykone, µg/ml) in den Gerb- und Farbstoffextrakten

Genotyp	2	11	12	21	24	25	37
Farbstoffextrakt	93,0	777,5	128,7	131,0	163,3	757,1	508,0
Gerbstoff nach FB	3,9	13,8	6,0	3,4	3,0	12,1	4,5
Gerbstoffdirektextrakt	2,6	5,6	2,8	2,5	1,1	4,1	3,0

Die Ergebnisse zeigen, dass der erste Extrakt (Farbstoffe) die größten Mengen aller freien Anthrachinone enthält. Es ist fast die gesamte Menge an freien Anthrachinonen mit der ersten Extraktion isoliert worden.

Das zeigt, dass die erarbeitete Extraktionsmethode für die Farbstoffe zumindest die freien Anthrachinone erfaßt. Der aufgrund der Extraktausbeuten als farbstoffreich herausgestellte Genotyp 24 enthält wenig Aglykone. Die Hauptmengen an isolierten Farbstoffen müssen daher aus anderen alkohollöslichen Verbindungen bestehen.

Die einzelnen Anthrachinonverbindungen der Extrakte sind im Anhang dargestellt.

7.5.1.3 Extraktionsuntersuchungen an mikrovermehrten und durch Aussaat erhaltenen Rhabarberpflanzen

Es wurden mikrovermehrte Pflanzen (Genotyp 2 im zweiten und dritten, Genotyp 24 und 25 nur im zweiten Wachstumsjahr) auf die Ausbeuten an extrahierbaren Gerb- und Farbstoffen untersucht.

Es zeigte sich am Beispiel des Genotyps 2, dass die Ausbeuten an extrahierbaren *Farbstoffen* im zweiten Standjahr geringer waren, als im dritten. Für die Genotypen 24 und 25 stand noch kein Material im dritten Wachstumsjahr zur Verfügung.

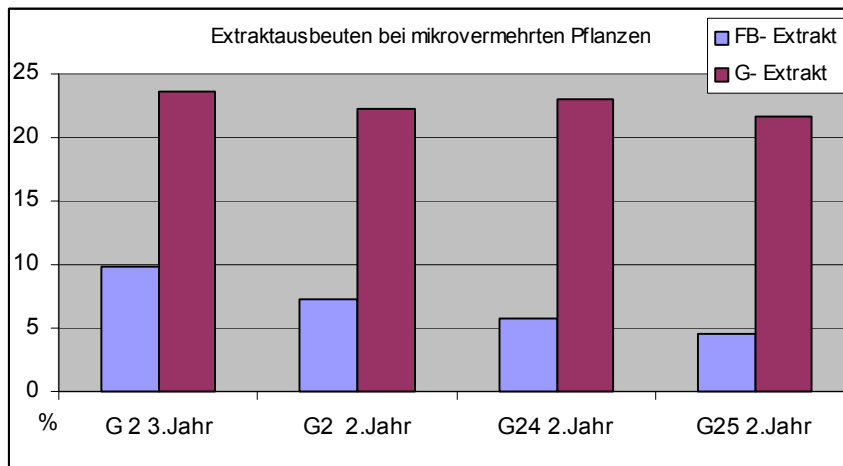


Abbildung 49: Extraktausbeuten bei verschiedenen mikrovermehrten Pflanzen

Die Ausbeuten an *Gerbstoffextrakten* erreichten im zweiten Jahr auch schon relativ hohe Konzentrationen (Abbildung 49/rechter Teil/). Es lagen kaum Differenzen zu den dreijährigen Pflanzen vor.

Die Genotypen 2, 24 und 25 unterschieden sich kaum. Die Unterschiede, die z. B. zwischen den Mutterpflanzen aufgetreten waren, lagen hier nicht vor. Möglicherweise kommt es im Laufe der weiteren Entwicklung noch zu weiteren Differenzierungen in der Gerbstoffakkumulation.

Untersuchungen der Extraktion bei durch Aussaat erhaltenen Pflanzen

Die durch Aussaat erhaltenen Nachkommen der Genotypen zeigten, dass die Inhomogenität der Samen in den Farbstoff- als auch in den Gerbstoffextraktausbeuten zu Differenzen führte, die auch zwischen den Nachkommen gleicher Herkunft zu erkennen waren. Die größten Differenzen waren bei den Nachkommen des Genotyps 11 zu erkennen. Alle Extraktausbeuten lagen aber in den bei Rhabarber üblichen Bereichen.

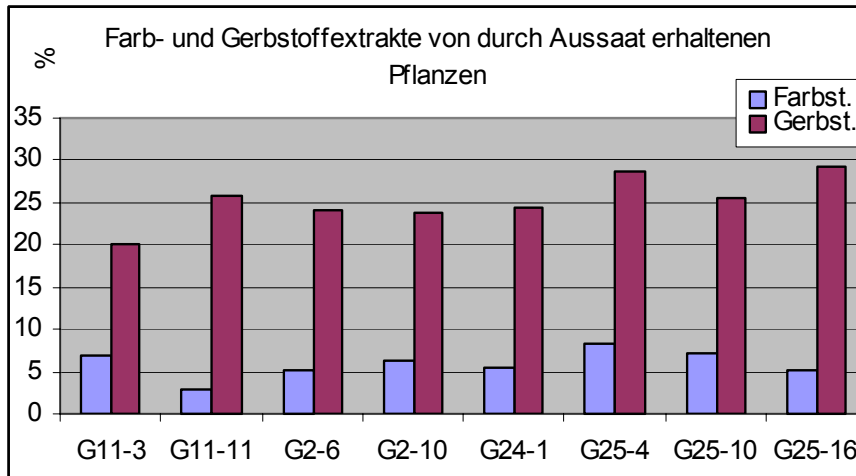


Abbildung 50: Farb- und Gerbstoffextrakte bei durch Aussaat erhaltenen Nachkommen

7.5.1.4 Extraktausbeute bei unterschiedlich gedüngten Rhabarberpflanzen

Tabelle 16: Extraktausbeuten (% der extrahierten TS von der Gesamt- TS), Genotyp2, mikrovermehrt, 3. Wachstumsjahr bei unterschiedlicher N- Düngung

Wurzel	Farbstoffextrakt		Gerbstoffextrakt	
	150 kg N/ha	250 kg N/ha	150 kg N/ha	250 kg N/ha
1	9,2	8,3	23,6	22,2
2	11,1	8,3	24,7	20,9
3	9,5		21,7	
4	9,2		24,2	

Die gewonnenen Ausbeuten an Gerbstoffextrakten bei verschiedenen Düngungsstufen wiesen keine großen Unterschiede auf (Tabelle 16). Bei der höheren N- Gabe zeigt sich eine Tendenz der Verminderung der Gerb- und Farbstoffausbeuten. Die Unterschiede sind aber sehr gering und die Ergebnisse stammen von Einzelwurzeln. Die Tabelle 16 zeigt auch, dass innerhalb der 150- N- Stufe auch schon Variationen vorkommen und die Differenzen wahrscheinlich mit in der normalen Streuung der Extraktausbeuten liegen. Das bestätigte sich auch bei den Gerbstoffgehalten nach der Hautpulvermethode, bei der durch die Düngung ebenfalls keine wesentlichen Einflüsse festgestellt werden konnten.

7.5.1.5 Extrakterstellung und -untersuchung für die Gerbung

In einem 1998 neu angelegten Versuch, der einige noch nicht charakterisierte Genotypen enthielt, wurden gerbstoffreiche Genotypen gefunden und auf weitere Eigenschaften untersucht, um ihre Eignung für den Einsatz als Gerbstoff bei der Ledergerbung zu testen. Da nicht nur der Gesamtgerbstoffgehalt nach der Hautpulvermethode bedeutsam ist, sondern auch die Extrahierbarkeit der Inhaltsstoffe, die von vielen Merkmalen, wie zum Beispiel Wurzelstruktur abhängen kann, wurden sie deshalb auf ihre Extraktionsfähigkeit und die dabei ent-

stehenden Ausbeuten geprüft. Die Extrakte wurden gleichzeitig für Gerbversuche genutzt und dem FILK übergeben.

Tabelle 17. Extraktionsmittel 50 %-iges Ethanol, Temperatur 50° C

Probe	Wurzelmasse	Menge Extraktionsmittel	Extraktmenge*	% TS Extrakt, refraktometrisch*	Ausbeute*
VIII/16	5,6 kg	30 Liter	3,8 kg	32,0 %	21,5 %
VIII/17	5,3	30	4,0	45,5	34,0
VIII/15	3,7	20	1,8	65,0	31,3
VIII/4	3,8	20	1,4	82,5	31,3

Extraktausbeute = durch das Extraktionsmittel gelöste Trockensubstanz, *= Konzentrat

Als Extraktionsmittel wurde 50 %-iges Ethanol verwendet. Die Extraktausbeuten schwankten zwischen 21,54 und 34,00 %. Die höchsten Extraktausbeuten wurden bei dem Genotyp VIII/4 und VIII/17 gefunden. Beide besaßen auch hohe Anteilzahlen. Die Extraktausbeuten zeigten, dass alle Genotypen seitens der Gerbstoffausbeute als geeignet anzusehen sind. Die Extrakte wurden weiteren Untersuchungen unterzogen.

7.6 Großtechnische Untersuchungen

7.6.1 Reinigung der Wurzeln

Da die kontinuierliche technische Weiterverarbeitung der Rhabarberwurzeln zum Gerbstoff nach der Ernte die Herstellung eines lagerfähigen Produktes voraussetzt, müssen die Wurzeln gereinigt, getrocknet und zerkleinert werden. Im La



Abbildung 51: Wurzel mit eingeschlossenem Schmutz in inneren Hohlräumen
bor ist eine Reinigung problemlos möglich, großtechnisch wurden dazu Untersu-

chungen durchgeführt.

Die Reinigung der Rhabarberwurzeln ist ein wichtiger Teilschritt bei der Gewinnung der Rhabarbergerbstoffe. Schmutz- und Erdbestandteile bleiben bei der Gerbstoffherstellung als unlöslicher Rückstand im Gerbstoffextrakt und beeinflussen das Gerbergebnis negativ.

Aufgrund der Verzweigung der Wurzeln und des ständig neuen Zuwachses an Nebenwurzeln bilden sich Kammern, in denen der Schmutz bei der Ernte haften bleibt.

Die bisherigen Ernterversuche zeigten, dass schon viel anhaftende Erde auf dem Feld entfernt wird, weil die Wurzeln bei dem Auspflügen aus dem Boden in der Regel nicht völlig komplett bleiben und zur Bergung teilweise noch einmal manuell geteilt werden. Trotzdem bleiben ca. 20 bis 30 % Schmutz haften. Dieser lässt sich nur durch Abwaschen entfernen.

1. Vorgeschaltete Wäsche im Trockenwerk

Die Wurzeln wurden im Trockenwerk in einen Vorratsbunker geschüttet, von dort aus über Förderbänder in einen Waschbottich transportiert und in dem mit Wasser gefüllten Behälter von ca. 1x 3 m durch sich drehende ”Flügel” bewegt, dabei gewaschen und gleichzeitig vorwärts geschoben. Die anhaftende Erde wurde dabei entfernt. Diese Reinigung der Wurzeln war für eine spätere Verarbeitung zu Gerbstoffen ausreichend. Vom technischen Ablauf war dieses Verfahren jedoch nicht zufriedenstellend. Durch das leichtere spezifische Gewicht der Rhabarberwurzeln als bei anderen Trockengütern (wie Kartoffeln oder Rüben), schwammen diese an der Oberfläche und fielen teilweise schon vor dem Förderband, das sie weitertransportieren sollte, herunter. Ein Teil von ihnen schwamm dadurch mit dem ablaufenden Sand- Wassergemisch in den Abwasserkanal und landete im Klärbecken. Andere Wurzel verhakten sich dabei und blieben zu lange im Waschbottich, was sicher zu Verlusten an Inhaltsstoffen führte. Zu große Wurzeln passten nicht durch die Transportschnecke. Es wurde deshalb nach weiteren Reinigungsverfahren gesucht.

2. Wäsche in der Zuckerfabrik



Abbildungen 52: Entladen des Containers für die Wäsche in der Zuckerfabrik

Die Wäsche in der Zuckerfabrik fand an einer Nebenstelle der Rübenaufnahme

statt. Bei der Reinigung von Zuckerrüben werden diese mit einem Wasserstrahl gewaschen und gleichzeitig vorwärts geschoben. Durch das geringe spezifische Gewicht schwammen die Wurzeln auch hierbei an der Oberfläche und wurden nicht von den Strahlen gereinigt. Durch das Einweichen der Wurzeln lockerte sich aber der Schmutz ausreichend und mit dem Korb eines Kranes wurden die Rüben bewegt und gereinigt. Die Wirkung der durchgeführten Reinigungsprozedur war für eine Weiterverarbeitung der Wurzeln Ausreichend, wenn auch die im Labor mögliche Sauberkeit nicht erreicht wurde. Die Reinigungsversuche der 25 t Rhabarberwurzeln dauerten 2,5 Stunden. Auf eine Besonderheit gegenüber der Wäsche von Rüben muß hingewiesen werden. Die Rhabarberwurzeln sind von der Form her baumstumpfartig aufgebaut und rollen nicht vom Containerfahrzeug in die Waschmulde. Wenn mit dem Wasserstrahl nachgeholfen wird, rutschen zuerst die Wurzeln aus dem unteren Teil heraus. Der Schwerpunkt des Containerfahrzeuges verlagert sich da-



Abbildung 53: Waschvorgang mit dem Kran

mit nach oben. Bei der Wäsche der Wurzeln wehte nur ein mäßiger Wind, aber der Container mußte tiefer gestellt werden, da er anfang zu schwanken und umzukippen drohte. Es müsste also aus sicherheitstechnischen Gründen darauf geachtet werden, dass das Fahrzeug beim Entladen gesichert und nicht zu hoch in Kippstellung gefahren wird.

3. Wäsche in der Waschmulde für Kartoffeln und Rüben im Trockenwerk

Eine Reinigung in der Zuckerfabrik lässt sich nur bei Anfall mehrerer Tausend Tonnen und mit der in der Zuckerfabrik üblichen Logistik rentabel durchführen. Es wurde deshalb noch eine weitere Möglichkeit einer Wäsche direkt im Trockenwerk untersucht.

Genutzt wurde dazu die Kartoffelwäsche im Trockenwerk Rätzlingen, die im Prinzip auch wie eine Rübenwäsche in der Zuckerfabrik aufgebaut ist. Das Waschgut wird in der Waschmulde mit einem starken Wasserstrahl gereinigt. Die Rhabarberwurzeln wurden ebenfalls eingeweicht und mit einem Kran bewegt, bis die Erde ausreichend abgewaschen war. Die gereinigten Wurzeln wurden dann wieder mit einem Frontlader herausgenommen und zur Zerkleinerung gebracht.

Bei der unmittelbar anschließenden Zerkleinerung zeigte sich, dass das Einweichen der Wurzeln zu einer zu starken Wasseraufnahme führte. Der genutzte Feldhäcksler, der 1999 für die Herstellung der Wurzelschnitzel benutzt wurde begann zu schmieren und zu verstopfen, wodurch das Zerkleinern erschwert wurde. (Bei der Wäsche 1999 verloren die Wurzeln nach der Wäsche durch den Transport und durch zweitägiges Lagern bis zur Verarbeitung einen großen Teil der Feuchtigkeit und konnten deshalb mit dem Feldhäcksler problemlos geschnitzelt werden).

Die Reinigungsversuche führten bei allen drei durchgeführten Varianten zu einer ausreichenden Beseitigung der Schmutzanteile von den Wurzeln. Aus betriebstechnischen Gründen ist von einer Reinigung in der Fließstrecke des Trockenwerkes abzusehen, da einige Wurzeln dazu auch noch vorzerkleinert werden müssen. Die Wäsche in der Zuckerfabrik und in der Kartoffelwaschmulde des Trockenwerkes können in Abhängigkeit von der zu verarbeitenden Wurzelmenge genutzt werden.

7.6.2 Zerkleinerung der Rhabarberwurzeln

7.6.2.1 Vorversuche im Labor

Bei Extraktionsversuchen zeigte sich, dass Schnitzel, die eine Wanddicke von 2 bis 4 mm besitzen, sich am effektivsten extrahieren lassen. Diese Schnitzel können dabei auch chip- oder nudelartig geformt sein. Für die Untersuchungen sollten praxisnahe und in den Betrieben vorhandene Möglichkeiten genutzt werden, da eine Entwicklung von Schneidemaschinen im Rahmen der Forschungsthematik zeitlich und finanziell nicht möglich war.

1. Schreddern mit fahrbarem Schredder, anschließende Trocknung

Die Zerkleinerung mit dem Schredder führte zu groben Schnitzeln, die in Originalzustand teilweise 1 cm dick waren. Sie wurden dann in dem grob zerkleinerten Zustand getrocknet und weiter bearbeitet. Die Trocknung ergab einen hohen Anteil großer Wurzelstücke.

2. Trocknung der grob vorzerkleinerten Wurzeln und anschließende Zerkleinerung mit dem Gartenschredder

Bei der Trocknung der nur grob zerkleinerten Wurzelstücke zeichnete sich ab, dass der Trockenaufwand sehr groß wird. Die Wurzelverzweigungen, die zum Teil bis zu 5 cm Durchmesser aufwiesen, mussten tagelang im Trockenschrank liegen, ehe sie annähernd trocken waren. Sie wiesen dann im Inneren zum Teil immer noch nicht durchgetrocknete Anteile auf. Andererseits waren dünnere Teile, oder beschädigte Wurzeln, denen Stücke der äußeren Hülle fehlten so stark durchgetrocknet, dass das anschließende Schreddern mit dem Die-selschredder zu einem zu großen Anteil an Staub führte.

Die zerkleinerten Wurzeln wurden mit Sieben fraktioniert.

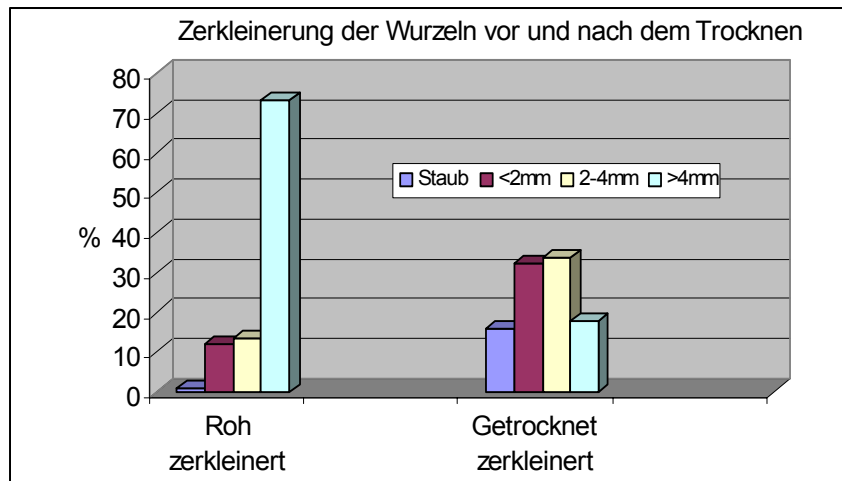


Abbildung 54: Zerkleinerung der Wurzeln mit einem Dieselschredder vor und nach dem Trocknen

Abbildung 54 zeigt die Größenverhältnisse der zerkleinerten und getrockneten Wurzeln. Es ist zu erkennen, dass bei den ertefrisch zerkleinerten Wurzeln über 70 % in einem Bereich über 4 mm Wandstärke liegen.

Es sollte deshalb bei der großtechnischen Zerkleinerung ein Verfahren gefunden werden, bei dem schon bei dem ersten Schnitt die Endgröße erreicht wird.

7.6.2.2 Großtechnische Zerkleinerung

1. Zerkleinerung in der Arbeitsstrecke des Trockenwerkes, 2 x trocken und mahlen
2. Zerkleinerung gereinigter und abgetropfter Wurzeln mit Feldhäcksler
3. Fraktionierung der Schnitzel in der Getreidereinigung
4. Zerkleinerung nach Trocknen mit Mühle und 10 mm Sieb
5. Zerkleinerung nach Trocknen mit Mühle ohne Sieb
6. Zerkleinerung nach Vortrocknung mit dem Feldhäcksler

Zu 1. Diese Art der Zerkleinerung erfolgte während der Trocknung auf der Fließstrecke für den Transport zur Trockentrommel. Die Wurzeln wurden von einem fest installierten Vorhäcksler grob zerkleinert und gelangten dann über das Förderband zur zweiten Zerkleinerungsstation, dem Feinhäcksler. In diesem wurden durch rotierende Messer dünne Scheiben geschnitten, die zur Trommel weitergeleitet wurden. Der Feinhäcksler fiel aber ständig aus, weil durch die Fasern der Wurzeln die Messer verstopften und verschmierten. Das Ergebnis waren dann Chargen nur grob geschnitzelter Wurzelteile, die so die Trocknung durchliefen. Sie waren dann nicht durchgetrocknet, so dass ein zweiter Trockengang in der Trockentrommel erfolgte. Da sie dann auch noch nicht einheitlich trocken waren, wurde befürchtet, dass es bei längerer Lagerung in Säcken zur Schimmelbildung kommen könnte. Deshalb wurde nach der zweiten Trocknung eine Vermahlung der Schnitzel vorgenommen. Die Feuchtigkeit wurde dadurch im gesamten zerkleinerten Material besser verteilt, so dass es haltbar wurde. Die aber völlig durchgetrockneten Schnitzel wurden jedoch beim Mahlen zu fein zer schlagen, was erhöhte Anteile an zu feinen Bestandteilen zur Folge hatte.

Zu 2. Die in der Zuckerfabrik gereinigten Wurzeln wurden ca. 100 km zum Trockenwerk transportiert. Dabei lief schon ein großer Teil des bei der Wäsche auf-

gesaugten Wassers ab. Die Wurzeln ließen sich mit einem Feldhäcksler zerkleinern. Für die ideale Schnittgröße, wie sie bei Vorversuchen erhalten wurden, waren die Wurzeln aber immer noch zu naß und es mußte eine größere Schnittgröße eingestellt werden, weil die Messer des Feldhäckslers zu verstopfen begannen. Es wurde dadurch auch 69,8 % größerer Schnitzel erhalten, als 2- 4 mm Wanddicke. Es wurde deshalb versucht, die Schnitzel in verschiedene Größenanteile zu trennen.

Zu 3. Die getrockneten Schnitzel wurde in einer Getreidereinigungsanlage fraktioniert. Sie wurden mit Luft durch verschiedene Siebe geblasen und in separaten Kammern aufgefangen. Die Fraktion bestand zu 75 % aus Schnitzeln, die das 5 mm- Sieb nicht passierten. Davon würden aber nach den Erkenntnissen einer Handsortierung 90 % den Anforderungen der Extraktion entsprechen, weil die meisten Schnitzel, die das Sieb nicht passierten, Wanddicken unter 4 mm hatten und nur etwas gebogen waren. Von der Größenzusammensetzung brachte die Fraktionierung keinen Vorteil.

Zu 4. Die Herstellung der Schnitzel mit dem Feldhäcksler ohne Fraktionierung und Vermahlung nach der Trocknung mit einer Mühle mit einem 10 mm Sieb brachte keine zu verwertenden Schnitzel. Dabei waren schon über 50 % unter 2 mm und davon 13,9 % Staub, der bei der Extraktion am meisten stört, da er das Material in den Packungen der Anlagen verdichtet.

Zu 5. Die Vermahlung der getrockneten Schnitzel nach der Zerkleinerung mit dem Feldhäcksler mit einer Mühle ohne Sieb, senkte den Staub- und Feinanteil unter 2 mm, beides zusammen betrug aber immer noch 39,5 % und wies damit auch keine vorteilhafte Größe auf.

ZU 6. Diese Trockenvariante wurde getestet, weil nach einer Wurzelernte im Jahr 2000 und einer Wäsche direkt im Trockenwerk die Rhabarberwurzeln sich nicht mehr mit dem Feldhäcksler (wie Variante 2) zerkleinern ließen. Sie waren zu feucht und führten zu einem Verstopfen und Verschmieren des Schneidwerkes. Die Wurzeln wurden deshalb in der Fließstrecke des Trockenwerkes grob

Tabelle 18 zeigt die Korngrößen der Wurzelschnitzel nach verschiedenen Zerkleinerungsmethoden.

Tabelle 18: Prozentuale Anteile an Schnitzeln bestimmter Wanddicke bei verschiedenen Zerkleinerungsmethoden

	Fließstrecke Trocken- werk	Feldhäcks- ler	Fraktionie- rung	Feldhäcks- ler, Mühle, Sieb	Feldhäcks- ler, Mühle	Vortrocknen Feldhäcks- ler
Staub	67,6	0,9	0,2	13,9	10,4	1,1
<2 mm	31,5	6,6	0,7	41,3	29,1	41,0
2-4 mm	0,8	13,9	11,1	21,0	13,0	21,2
4-5 mm	0,1	9,0	12,6	10,0	5,4	9,5
> 5 mm		69,4	75,2	13,6	41,3	27,1

zerhäckselt, nach dem ersten Trocknen mit dem Grashäcksler (Claas/Jaguar) zerkleinert und noch einmal getrocknet. Es wurden auch hierbei alle Schnitzelgrößen gefunden. Die feinsten Anteile lagen mit 42,1 % relativ hoch, wenn auch der Staubanteil nur 1,1 % betrug. Die Anteile unter 2 mm lassen sich noch mit

einsetzen, da sie meistens der Länge nach durch das Sieb gefallen sind und mehrere Millimeter lang sind.

Die Zerkleinerung mit den zur Verfügung stehenden Geräten brachte in keinem Fall ein ideales Ergebnis. Entweder die Anteile waren zu groß oder sie enthielten zu viel Schnitzel unter 2 mm, bei denen dann ein hoher Anteil Staub zu erwarten ist, der die Extraktion insofern erschwert, als dass die Lösungsmittel nicht kontinuierlich durchfließen können. Eine Möglichkeit wäre z. B. das Absieben des Staubanteils. Von der kleinsten Korngröße wurde dann noch der Teil abgesiebt, der ein 0,6 mm Rundsieb passierte. Dieser Teil betrug z. B. bei der günstigsten Variante „Vortrocknen/Feldhäcksler“ nur 2,25 %.

7.6.2.3 Einfluss der Zerkleinerung auf die Gewinnung der Inhaltsstoffe

Die verschiedenen Fraktionen wurden von der NIG- GmbH auf die Gewinnung von Extrakten untersucht. Die Fraktion, die durch das 0,6 mm Rundsieb fiel, wurde als Staub bezeichnet. Extrahiert wurde 3 Stunden mit 50 %-igem Isopropanol. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Extraktausbeute (%) bei verschiedenen großen Wurzelschnitzeln

	Häcksler	Getreide- rein.	Häcks- ler/Mühle	Häcks- ler/Mühle/ Sieb
Staub	18.2	0,0	16.3	16.7
<2 mm	19.5	0,0	16.9	19.5
<4 mm	17.2	16.6	18.9	20.2
<5 mm	13.2	16.4	17.8	20.6
>5 mm	8.7	17.1	15.8	19.1

Es wird gezeigt, welcher prozentuale Anteil von der Trockensubstanz der Wurzeln im Extrakt jeder Fraktion erhalten wurde.

Die Extraktion der verschiedenen großen Wurzelschnitzel führte zu keinen großen Differenzen in den Extraktausbeuten. Lediglich bei der Variante, die nur mit dem Häcksler zerkleinert wurde, ist ein großer Ausbeuterückgang zu verzeichnen. Bei dieser Variante scheinen die größten Stücke für eine Extraktion nicht mehr geeignet zu sein, da ihre Wanddicke über 4 mm liegt. In der Getreidereinigungsanlage wurden diese Teile mit abgetrennt und bei den beiden Varianten mit der Mühle wurden sie zerkleinert.

In der Abbildung 55 sind die Aschegehalte der Fraktionen aufgezeigt. Dabei ist zu erkennen, daß die beiden Staubfraktionen aus den mit der Mühle nachgemahlten Schnitzeln die höchsten Ascheanteile besitzen, was wahrscheinlich auf darin enthaltene Anteile an Schmutz zurückzuführen ist.

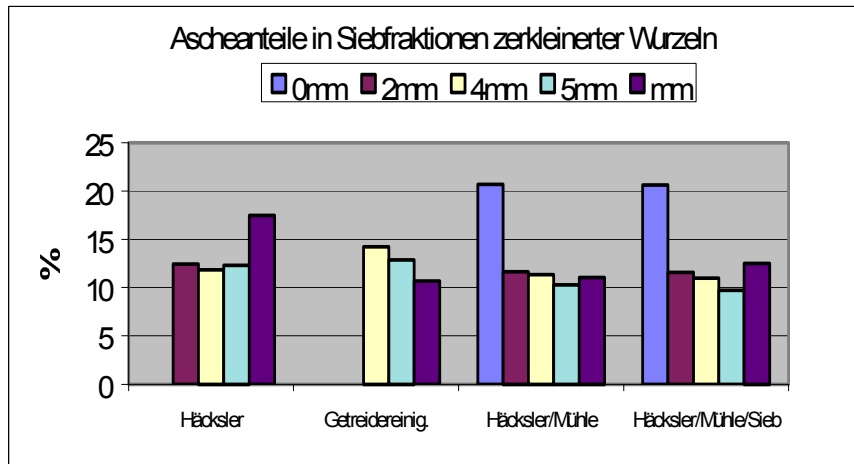


Abbildung 55: Anteile an Asche in den verschiedenen großen Schnittzeln

Die Extraktion der verschiedenen großen Schnittzeln führte bei den größten Schnittzeln und bei dem staubförmigen Anteil zu Verlusten in der Extrakttausbeute. Bei letzterem zeigten die Ascheanalysen, dass wahrscheinlich noch Schmutzpartikel mit darin enthalten waren, die vom Lösungsmittel bei der Extraktion mit erfasst wurden.

7.6.1 Trocknung der Rhabarberwurzeln

7.6.3.1 Trocknung im Trockenwerk

Für die großtechnische Trocknung wurden jeweils 12 bzw. 25 t frischen Wurzelmaterials benutzt.

Die Versuche wurden im Trockenwerk Rätzlingen durchgeführt. Dabei mußte die betriebsbedingte Reihenfolge des Trocknungsvorganges eingehalten werden.

Der Transport der Wurzeln erfolgte von der Schüttmulde aus über ein breites Förderband (2,5 m) und wurde von dort in die Trockenanlage zur Wäsche geleitet. Nach der Wäsche gelangten sie auf ein weiteres Förderband und wurden zu einem fest eingebauten Häcksler transportiert, der eine Grobzerkleinerung vornahm. Von dem Häcksler wurden die Wurzeln automatisch zu einer weiteren Zerkleinerungsvorrichtung geführt, welcher die Stücke zur Größe von Kartoffelchips zerkleinerte. Ein weiteres Förderband transportierte die Stücke zur Trockentrommel. Diese bestand aus einer ca. 10 m langen Trommel, die mit Kohle (automatisch) beheizt wurde, und sich ständig drehte. Die schon gereinigten und zerkleinerten Wurzeln wurden direkt in die Trockentrommel geleitet. Durch innerhalb der Trommel angeordnete Lamellen wurde das Trockengut weiter transportiert und kam ca. nach zwei Stunden am Ausgang der Trommel an. Die Eingangstemperatur an der Trockentrommel betrug 300° C, die Ausgangstemperatur 60 - 85 °C. Da die Wurzeln durch das Verdampfen des Wassers gekühlt wurden, kommt es zu wenig Beeinträchtigungen der Gerbstoffe in der Wurzelmasse. Die Gehalte an Reingerbstoff der entnommenen Proben von 4 Trockenchargen lagen bei 9,4; 11,3, 12,5 und 6,5 % in der Trockensubstanz, was mit Ausnahme des geringsten Gehaltes (bei der letzten Trocknung) den Konzentrationen anderer Prüfungen bei der Sorte "The Sutton" entspricht. Es konnte nicht nachgeprüft werden, ob es bei dem Wurzelmaterial mit den dem geringsten Gehalt eventuell

zu einer Kondensierung der Gerbstoffe aufgrund kurzzeitiger Überhitzung gekommen war, weil die technischen Parameter nicht an jedem Punkt der Trockentrommel kontrolliert werden können. Bei im Labor getrockneten Wurzeln dieser Charge waren die Gerbstoffgehalte ca. 2 % höher.

7.6.3.2 Kalttrocknung

Es wurden auch Versuche zu einer Trocknung ohne Beheizung vorgenommen. Dazu wurden 5,8 kg frisch gewaschener, grob zerkleinerter Wurzeln in Siebe gelegt und zusammen mit Mais in Säcken, der ebenfalls getrocknet werden sollte, in die für die Getreidetrocknung vorgesehene Kaltbelüftung gelegt. Nach 3 Tagen ergab eine Wägung ein Gewicht von 2,4 kg. Das Material war lufttrocken und lagerfähig. Auf diese Weise könnten die Kosten für die Trocknung drastisch vermindert werden.

7.7 Gerbversuche mit Extrakten aus bisher noch nicht geprüften Genotypen

Zur Erweiterung des Sortimentes wurden 1998 durch Wurzelpflanzung verschiedene Rheum- Herkünfte in einem gesonderten Versuch angelegt. Die Wurzeln wurden nach Sortimentsauflösung aus der Bundesanstalt für Züchtungsforschung übernommen. Die Genotypen wurden in einem Parzellenversuch angepflanzt. Von den 10 Genotypen wurden je 4 Wurzelstücke ausgepflanzt. Der Parzellenversuch diente zur Gewinnung noch nicht geprüften Probenmaterials. Von den Wurzeln wurden im dritten Wachstumsjahr Proben für die analytischen Untersuchungen entnommen, um die Gerbstoffe zu untersuchen.

1999 wurden die ersten Proben entnommen und analytisch untersucht. Die Gehalte lagen zwischen 5,6 und 29,0 % Reingerbstoff. Die Herkünfte, die über 20 % Reingerbstoff aufwiesen, besaßen auch Anteilzahlen über 50, das heißt ein günstiges Verhältnis zwischen Gerbstoffen und Nichtgerbstoffen im Extrakt.

Die neuen Rhabarbergenotypen wurden aus einem Sortiment, das durch Wurzelpflanzung vermehrt wurde, geerntet und für die Eignung zur Lederherstellung getestet.

Die erfolgversprechenden Genotypen wurden vermehrt und weiteren Prüfungen unterzogen.

Die Charakterisierung erfolgte mit folgenden Methoden:

- Gerbstoffbestimmung nach der Filtermethode mit Hautpulver
- Screening an Hautpulver (Tablettentest)
- Gerbung von Rindhaut im Technikum

Die Genotypen (VIII/4, VIII/15, VIII/16 und VIII/17) wiesen in dem neuen Sortiment hohe Gerbstoffgehalte auf.

Gerbstoffanalysen

Bei der Untersuchung wurden folgende Ergebnisse erhalten.

Die Gerbstoffeigenschaften dieser gerbstoffreichen Formen liegen im Rahmen der bisherigen Werte, die für flüssige Extrakte aus Rhabarberwurzeln gefunden wurden.

Lediglich die Dispergierung des Extraktes VIII/16 erwies sich als schwierig.

Tabelle 20: Gerbstoffbestimmung nach der Filtermethode

Extrakt	GT*	GR*/GT	analysenstarke Lösung	im GT des Extraktes				
				pH	RG*	NG*	UL*	AZ*
	%	%	Farbe		%	%	%	%
VIII/ 4	63,0	4,2	ockerbraun	5,3	43,8	43,8	12,4	50,0
VIII/15	54,5	4,3	ockerbraun	5,1	30,8	52,6	16,6	36,9
VIII/16	23,1	7,8	nußbraun	5,1	42,6	54,5	2,9	43,9
VIII/17	35,0	4,0	lehmbraun	4,6	32,6	41,3	26,1	44,1

GT- Gesamttrockenrückstand, GR- Glührückstand, RG- Reingerbstoff, NG- Nichtgerbstoff, UL- Unlösliches, AZ- Anteilzahl, (alle Merkmale gemessen als prozentualer Anteil vom Extrakt).

Die Unterschiede im GT der vier Extrakte sind auf die unterschiedliche Aufkonzentration zurückzuführen und anwendungstechnisch problemlos, da die Konzentrationen vor der Gerbung neu eingestellt werden. Der GR, der aus den Oxiden der mineralischen Anteile besteht, war bei dem Extrakt VIII/16 höher als bei anderen Extrakten. Als Ursachen kommen höhere Mineralstoffgehalte der Wurzeln, evtl. ungenügendes Waschen und die Extraktionsführung in Frage. Die Farben der analysenstarken Lösungen waren die für Rhabarberwurzelextrakte typischen Brauntöne.

Tabelle 21: Anwendungstechnische Untersuchungen

Extrakt	Konsistenz	Verhalten beim Zerreiben
VIII/4	nicht teerartig	sandartig
VIII/15	nicht teerartig	sandartig
VIII/16	teerartig	klebrig
VIII/17	nicht teerartig	sandartig

Die anwendungstechnischen Untersuchungen zeigen, dass sich die Extrakte mit Ausnahme von VIII/16 für den praktischen Einsatz eignen.

Wegen der teerartigen unlöslichen Bestandteile wurde der Extrakt VIII/16 nicht für die Gerbung freigegeben. Beim technischen Einsatz teerhaltiger Extrakte besteht zu Beginn der Gerbung die Gefahr, dass sich das UL an der Oberfläche

der Leder absetzt und eine gleichmäßige Diffusion der Gerbstoffe in das Leder verhindert. Die Leder können verkleben. Teerartige Bestandteile müssen nach der Extraktion von den für die Gerbung bestimmten Extrakten abgetrennt werden. Das ist durch Sedimentation möglich.

Tablettentest

Vor dem Einsatz der Extrakte in der Gerberei erfolgte der Tablettentest.

Bei dem Tablettentest wurde 1g Hautpulver mit einer Lösung, die 4 g Reingerbstoff enthielt, geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension über eine Nutsche abgesaugt. Auf dem Filter der Nutsche blieben das Hautpulver und die sorbierten Anteile der Lösung. Die Tabletten wurden getrocknet, konditioniert und ledertechnologischen Prüfungen (scheinbare Dichte d_s , Kompressibilität K, Volumenrendement VR, Weichheit W, Beständigkeit gegenüber ultraviolettem Licht UV) unterzogen.

Die Farben der Tabletten waren vergleichbar mit früheren Ergebnissen. Die scheinbare Dichte wurde aus der Masse und dem Volumen jeder Tablette bestimmt. Sie belegt die volumenbildende Wirkung der Extrakte auf Kollagen. Das deckt sich mit dem Volumenrendement, welches das Volumen einer Tablette angibt, das aus 100g Kollagen gebildet wird. Demnach sind von den Extrakten VIII/4 und VIII/17 die „wattigsten“ Leder zu erwarten. Mit den Extrakten VIII/4 und VIII/17 wurden Kompressibilitäten $> 30\%$ erreicht. Die UV-Beständigkeit, zu deren Bestimmung die Tablette ultravioletter Strahlung ausgesetzt und die Farbabweichung gegenüber der Originalprobe nach dem 5-stufigen Graumaßstab (Note 5 = keine Veränderung) bewertet wird, ist für Vegetabilgerbstoffe sehr gut.

Tabelle 22: Charakterisierung der Gerbstoffe mit dem Tablettentest

Extrakt	Farbe	d_s	K	VR	W	UV
		g/cm ³	(%)	cm ³ /100g Kollagen	N/mm	Note
VIII/4	ockergelb	0,29	31,0	667	0,08	3,0
VIII/15	braunbeige	0,35	25,6	509	0,16	4,0
VIII/16	ockerbraun	0,33	22,1	479	0,43	3,5
VIII/17	olivbraun	0,32	32,2	593	0,12	4,0

d_s - scheinbare Dichte, K- Kompressibilität, VR- Volumenrendement, W- Weichheit, UV Note- (1schlecht, 5 sehr gut).

Gerbung

Die Flotten und die Leder aller vier Versuche wurden untersucht.

Aus den Prozeßdaten geht hervor, dass vergleichbare Blößenmassen bearbeitet wurden und die pH-Werte am Ende des Pickels, das ist die der Gerbung vorgelegte Prozeßstufe, sowie nach der Gerbung, im üblichen Rahmen lagen. An den Faßwänden der Gerbfässer und auf den Ledern kam es zum Teil zu sandigen Ablagerungen, die beim nachfolgenden Waschen mit Wasser entfernt werden konnten. Probleme gab es bei der Gerbung durch die Ablagerung teerartiger Bestandteile des Extraktes VIII/16 auf der Faßwand und dem Leder, die bei der

Gerbung im technischen Maßstab zum Verkleben der Häute führen können. Bei der Gerbung der 1 m² großen Rindsblöße wurden sie vom Fett der nachfolgenden Lickerfettung dispergiert.

Die analytischen Daten der Leder, dazu zählen die Feuchte, der GT, die Asche, das Extrahierbare und der Auswaschverlust der mit den vier Extrakten hergestellten Leder waren vergleichbar. Die Farbe lag im gelbbraunen Bereich, wobei die Rückseite bei drei Extrakten dunkler als die Narbenseite war. Die Leder hatten einen angenehm aromatischen Geruch und ein feines Narbenkorn. Die Egalität, wurde nach dem 5-stufigen Graumaßstab als durchschnittlich bewertet. Die Weichheiten lagen im akzeptablen Bereich. Mit den Extrakten VIII/4, VIII/15 und VIII/16 hergestellte Leder waren etwas weiche als mit Extrakt VIII/. Die Wasseraufnahmen und die Schrumpfungstemperaturen der 4 Leder waren vergleichbar. Die UV-Beständigkeiten der Leder der Extrakte VIII/4 und VIII/15 erreichten nicht das Niveau der anderen beiden Extrakte.

Die Extrakte VIII/4, VIII/15 und VIII/17 aus Rhabarberwurzeln waren für die Gerbung gut geeignet. Der Extrakt VIII/16 sollte erst nach Abtrennung des teerartigen Unlöslichen zur Gerbung verwendet werden.

Es zeigte sich, dass bei drei geprüften Genotypen neben den hohen Gerbstoffgehalten auch gute Ledereigenschaften erzielt werden konnten. Die im Technikum bei der NIG Magdeburg hergestellten Extrakte wiesen Anteilzahlen zwischen 36 und 50 auf. Die Farben lagen innerhalb der bei Rhabarber üblichen Brauntöne. Die UV- Beständigkeiten waren gut und lagen mit den Noten 3 bis 4 über Ledern, die mit dem Vegetabilgerbstoff Mimosa (2) hergestellt wurden. Die hergestellten Leder zeigten in der Farbe, dem Geruch, der Egalität und Schrumpfung für Vegetabilleder akzeptable Eigenschaften.

7.8 Großtechnische Extraktion

Zu den großtechnischen Extraktionsversuchen kamen Wurzelschnitzel zum Einsatz, die in der Zuckerfabrik Könnern gewaschen und im Trockenwerk Rätzlingen getrocknet wurden. Die Schnitzel entsprachen annähernd den Anforderungen an die geforderte Größe. Sie waren mit dem Feldhäcksler zerkleinert worden und anschließend getrocknet. Ca. 85 % der Schnitzel wiesen eine Wandstärke von 2 bis 4 mm auf, auch wenn sie das 4mm- Sieb nicht passierten, weil sie länglich geformt, beziehungsweise krumm waren.

Der Reingerbstoff in den Wurzeln entsprach den bisherigen Werten bei der Sorte „The Sutton“. Die Anteilzahl von 50 bei der Analyse der Wurzelschnitzel ist als gut zu bezeichnen.

Bei der Untersuchung des gewonnenen Extraktes zeigte sich, dass neben geläufigen Werten bei Gesamttrockensubstanz, Glührückstand, pH und unlöslichem Rückstand, der Reingerbstoffgehalt des Gerbextraktes (Produkt) und die Anteilzahl niedrig, aber für eine Gerbung ausreichend waren. Eine Untersuchung der Extraktionsrückstände (Trester) ergab, dass noch 3,52 % Gerbstoffe in den Rückständen enthalten waren.

Die Untersuchungen der Schnitzel vor und nach der Extraktion ergaben folgende Ergebnisse:

Tabelle 23: Untersuchungen zur großtechnischen Extraktion

Wurzelschnitzel:	
Reingerbstoff in den Schnitzeln (% in der TS):	11,4
Anteilzahl.	50
Extrakt:	
Gesamttrockenrückstand	52,7 %
Glührückstand	4,8 %
Reingerbstoff auf Produkt (eingedickt auf 70 %)	19,2 %
Anteilzahl	43,5
Nichtgerbstoff	24,9%
Unlösliche Bestandteile	8,8 %
PH der analysenstarken Lösung	4,8
Farbe der analysenstarken Lösung	ockerbraun
Tablettentest	gute Volumenbildung kein Teer
Trester:	
Trockensubstanz	28,4 %
Reingerbstoff in der Rohmasse	1,0 %
Reingerbstoff in der Trockensubstanz	3,5 %

Es hatte keine erschöpfende Extraktion stattgefunden. Die von der NIG vorgegebenen Parameter für die Extraktion konnten teilweise aus technischen Gründen nicht eingehalten werden. Wahrscheinlich war das Lösungsmittel nicht kontinuierlich ausgetauscht worden, wenn es beladen war. Aufgrund der dadurch schon bestehenden Sättigung des Extraktionsmittels konnten nicht alle Gerbstoffanteile aus den Schnitzeln herausgelöst werden. Das Verfahren muß noch optimiert werden.

7.9 Kosten für die Herstellung von Rhabarbergerbstoff

7.9.1 Rohstoffkosten

Die Kosten für die Herstellung von getrockneten Rhabarberschnitzeln, die bei der Pflanzung, Bearbeitung, Ernte, Reinigung, Zerkleinerung und Trocknung entstehen, sind in der Tabelle 24 dargestellt.

Gegenüber den Kalkulationen von 1997 aus den Parzellenversuchen¹ ergaben sich einige Veränderungen in den Kosten für den Anbau und die Verarbeitung.

^{1 2} Entwicklung von Verfahren zum Anbau sowie zur biotechnologischen Erzeugung von fruchtsäure-, gerb- und farbstoffhaltigen Pflanzenarten aus der Sicht einer industriellen Verwertung der Inhaltsstoffe (FKZ L22-60203/NR-A032)

Tabelle 24: Kosten der landwirtschaftlichen Herstellung Rhabarberwurzeln
(Landwirtschaftliche Kosten je Hektar)

1. Jahr		Euro	Erläuterungen
Pflanzstücke		2223	
Organische Düngung	50 t	60	Miststreuer, Mist Eigenleistung Schlepper mit Fahrer
Einarbeitung (Grubber)		38	Schlepper mit Fahrer
Saatbettaufbereitung		74	Saatbettkombination,
Pflanzung	60 h	632	56 h gesamter Arbeitslohn Pflanzpersonen, 4 h Schlepper u. Fahrer
2 x Hacken, längs und quer		70,40	Schlepper, Fahrer, Hack maschine
Düngung	150 kg N, KAS	101,50	KAS, Fahrer, Schleuder- streuer, Traktor, 15 min
2. Jahr			
2 x Hacken, längs		45,20	Schlepper, Fahrer, Hack maschine
Düngung	150 kg N, KAS	101,50	KAS, Fahrer, Schleuder- streuer, Traktor, 15 min
3. Jahr			
1x Grubbern, längs		38,25	Schlepper, Fahrer, Schwergrubber
Düngung	150 kg N, KAS	101,50	KAS, Fahrer, Schleuder- streuer
Erntevorbereitung Blatt entfernen (Mulchen, Fräse)		56,25	Fräse, Traktor, Fahrer
Auspflügen	3,0	81,0	Schlepper u. Fahrer 20/h Pflug 7/h
Aufnehmen vom Feld		540,0	4 Pers. je 27h a 10E/h, Traktor 27h, a 10 E/h,
Beladen auf Container		27,0	Teleskoplader, Fahrer
Transport		300	150 km, km = 1,00 E
Deckungsbeitrag 3 Jahre		2250	750 E/Jahr
Reinigung, Zerkleinerung			
Trocknung		1100	Waschen, Schnitzel, Trocknen

Gesamt 7733,85 Euro

Ertrag 30 t/ha, Trockensubstanz 33%, Getrocknetes Material 10,0t.

1 t getrockneter Wurzel kostet 773 Euro ,

Die Preise für die Landwirtschaftliche Erzeugung der Rhabarberwurzeln wurden nach dem KTBL- Taschenbuch Landwirtschaft 2000/2001 und den in den Versuchen durchgeführten Arbeiten kalkuliert. Zugrunde gelegt wurden die Beträge für den überbetrieblichen Maschineneinsatz.

7.9.2 Extraktionskosten

Die Extraktion kann man als Lohnarbeit in einem schon bestehenden pharmazeutischen Betrieb durchführen lassen. Die Extraktion von einem kg trockener Wurzeln kostet z. Zt. ca. 5 Euro (Wähling, 2001). Ausgehend 10 t (1 ha) trockener Wurzeln bedeutet das Kosten von 50.000 Euro. Dieser Preis stellt die Kosten für die Extraktion von 2000 kg extrahierter Trockenmasse dar. Als 70 %-ige Suspension (2857 kg) betragen die Extraktionskosten 17,54 Euro je kg Suspension.

Die dargestellte Rechnung bezieht sich auf der Erntemasse von einem ha, das entspricht 10 t Wurzelrockenmasse.

Extrahiert werden 10 t getrockneter Wurzeln. Diese Wurzeln enthalten 20 % Feststoffe, in denen die Gerbstoffe (50 %) enthalten sind. Würde man den Extrakt vollständig eindampfen, erhielte man 2000 kg Pulver mit 50 % Reingerbstoff. Das Pulver könnte zur Gerbung eingesetzt werden. Um die Kosten für die Sprühtrocknung zu sparen, wird nicht getrocknet, bis 2 Tonnen Pulver erreicht sind, sondern nur zu einem Konzentrat eingeeengt, das 70 % Trockensubstanz enthält (solche Konzentrate sind ebenso wie Pulver als Gerbstoff im Handel).

Bei einem 70 %-igen Konzentrat sind in einer t des Konzentrates 700 kg Pulver enthalten, 300 kg sind Wasser. 2000 kg Pulver in einer Lösung oder Suspension, die 30 % Wasser enthält, stellen eine Gesamtmasse an Konzentrat von 2857 kg dar.

Das Konzentrat (gewonnen aus 10 t trockener Wurzeln mit 20 % Ausbeute an extrahierter Trockensubstanz setzt sich aus 2000 kg gerbstoffhaltigem Pulver und 857 kg Wasser zusammen. Es wird in dieser Form gehandelt.

Zu den Kosten der Extrakterstellung kommen die Rohstoffkosten. Eine Tonne getrockneter Rhabarberwurzeln kostet 773 Euro. Die Kosten für 10 t, wie im obigen Beispiel liegen bei 7730 Euro. Bezogen auf die Ausbeute von 2,857 t Konzentrat entfällt auf 1 kg ein Rohstoffpreis von 2,71 Euro. Daraus ergeben sich Gesamtkosten für die Herstellung von 1 kg Konzentrat (Rohstoff = 2,71 Euro, Extraktionskosten = 17,54 Euro) ein Preis von 20,25 Euro je kg Konzentrat.

Zusammenfassung

1. Die Anlage von Rhabarberbeständen erfolgt durch Pflanzung vegetativ erzeugter Pflanzstücke oder mikrovermehrter Pflanzen, weil es bei der Vermehrung über Samen zu genetischen Aufspaltungen bei den Nachkommen kommen kann. Die Herstellung von Pflanzstücken kann der Landwirt im Herbst selbst vornehmen. Bei vorhandenen Beständen können nach der Wurzelernte die Wurzeln zerschnitten werden und die Pflanzstücke in einer Größe von 300 bis 1000 Gramm hergestellt werden. Aus einer Wurzel lassen sich 5 bis 6 ausreichend große Pflanzstücke mit den entsprechenden Knospen schneiden. Versuche ergaben, dass von einer Person ca. 200 Stücke in der Stunde hergestellt werden können. Die Verwendung von kleinen Pflanzstücken führte in den Versuchen nicht zu dem erwarteten Erfolg, weil viele während der Lagerung austrockneten.

Die Pflanzungsversuche zeigten, dass bei der Wurzelpflanzung mit allgemeiner landwirtschaftlicher Technik keine Variante gefunden werden konnte, mit der auch eine präzise Pflanzung möglich ist. Von Seiten der Arbeitszeit ist der Pflanzpflug am geeignetsten, lässt aber durch unregelmäßige Ablage keine spätere Bearbeitung in zwei Richtungen zu. Das Auslegen in einer Furche ist schon präziser, aber es kommt immer noch

zu unregelmäßigen Abständen. In Anbetracht einer drei- bis vierjährigen Standzeit sollte auf die etwas teurere, aber genaue Handpflanzung mit Saisonkräften zurückgegriffen werden, weil dabei in den Folgejahren eine erfolgreichere mechanische Bearbeitung möglich ist.

Die Pflanzung von mikrovermehrten Pflanzen wurde ebenfalls auf der Basis von Handarbeit untersucht. Es zeigte sich, dass mit geeigneten Hilfsgeschäften, wie selbstgefertigten Pflanzstöcken für das Hineinstecken der Pflanzlöcher in den Boden, zeitlich sehr gute Ergebnisse erreicht werden können. Die Pflanzung ermöglicht außerdem sehr präzise Abstände zwischen den Pflanzen in allen Richtungen, was eine spätere Bearbeitung stark erleichtert.

2. Die Bearbeitung großer Rhabarberschläge ist mit herkömmlicher Landtechnik möglich. Vor allem wenn der Rhabarber groß genug ist, um den Boden abzuschatten, sind nicht viele Bearbeitungen notwendig. In den ersten Bearbeitungsjahren ist das insbesondere bei In- vitro- Pflanzen kritisch. Es zeigte sich bei den Versuchen, dass die bei der Wurzelpflanzung der Sorte „The Sutton“ gewonnenen Erfahrungen nicht einfach auf die mikrovermehrten Pflanzen übertragen werden können. Der mechanische Pflegeaufwand ist im ersten Jahr bei diesen Pflanzen hoch. Es wurden deshalb die mikrovermehrten Pflanzen, die weniger oberirdische Biomasse aufweisen, innerhalb der Reihen in Abständen von einem Meter gepflanzt.

Auf einem ha wurzelgepflanzten Rhabarbers „The Sutton“ reichte in dem dritten und vierten Standjahr eine rechtzeitige Bearbeitung mit dem Schwergrubber aus, um das Unkraut so weit einzudämmen, dass nur wenig Unkräuter eine Möglichkeit zur Entwicklung hatten.

3. Systematischer Pflanzenschutz ist bei Rhabarber nicht erforderlich, wenn man die Standortansprüche berücksichtigt und die Flächen ausreichend düngt und bearbeitet.

Die bekannten Krankheiten beim Rhabarber treten nur gelegentlich auf. Bei der Pflanzung muß deshalb darauf geachtet werden, dass das Material frei von Virus- und Pilzkrankheiten ist. Im beschriebenen Vorhaben kam es bei zwei Genotypen zu Stengelgrundfäule mit anschließender bakterieller Wurzelfäule, die zum Absterben mehrerer hundert Rhabarberpflanzen führte. Die Krankheit konnte erfolgreich bekämpft werden und eine Weiterverbreitung trat nicht auf.

Herbizidversuche zeigten, dass es prinzipiell möglich ist, den Rhabarber mit Mitteln wirksam zu behandeln, ohne dass eine Schädigung der Pflanzen zu verzeichnen ist. Bei einem frühen Spritztermin im Januar waren keine Pflanzenschädigungen zu erkennen. Bei dem späteren Termin im März traten leichte Blattschäden auf, die aber nach kurzer Entwicklungszeit nicht mehr zu erkennen waren. Sehr gute Erfahrungen wurden mit dem Mittel Sencor gemacht, mit dem bei einer Behandlung am ersten März 2001 (optimale Bedingungen, gefrorener Boden, der nach der Behandlung taute und mit seiner Feuchtigkeit eine gute Filmbildung begünstigte, keine Niederschläge in den Folgetagen) die Unkrautentwicklung

derart vermindert wurde, dass außer einer lokalen Behandlung von Distelnestern keine Bearbeitungen mehr notwendig waren.

4. Von den untersuchten Ernteverfahren eignete sich am besten das Auspflügen mit dem Rüttelpflug. Mit ihm werden die Wurzeln weiter aus der Erde gehoben als mit dem Beetroder und lassen sich leichter aufnehmen. Der bei Arzneipflanzen und Baumschule eingesetzte Fobro- Beetroder erreichte keine ausreichende Arbeitstiefe und es wurde zu viel Erde angehoben und wieder mit abgelegt, so dass die Wurzeln wieder im Boden eingebettet waren. Die Bergung vom Feld muss noch optimiert werden. Denkbar wäre eine Veränderung des am Traktor montierten Korbes, indem der vordere Teil durch Stangen verlängert wird. Die Verladung für den Transport vom Acker zur Reinigung oder Trocknung lässt sich mit einem Teleskoplader problemlos durchführen.

Bei der Untersuchung der Wurzelentwicklung war zu erkennen, dass die Einzelwurzeln sich bei allen geprüften Genotypen sehr stark in der Entwicklung unterschieden. Die erwarteten Steigerungen der Wurzeleerträge durch die Düngung traten nicht ein. Eine N- Versorgung mit 150 kg N/ha ist ausreichend. Es war bei den mikrovermehrten Wurzeln auch noch im vierten Standjahr eine Ertragszunahme zu verzeichnen. Die Schwankungen zwischen den Einzelwurzeln waren auch bei den Wurzeln im vierten Wachstumsjahr noch sehr hoch. Die Erträge erreichten im dritten Standjahr eine Höhe von ca. 35 t je Hektar und im vierten ca. 40 t pro Hektar.

5. Die Arbeiten zur Mikrovermehrung zeigten, dass eine Vermehrung der gerbstoffreichen Genotypen rationell möglich ist. Die einzelnen bearbeiteten Genotypen unterschieden sich jedoch sowohl bei der Regeneration als auch bei der In- vitro- Vermehrung. Für alle benutzten Genotypen und für die einzelnen Entwicklungsschritte waren spezifische Nährmedien und Behandlungen notwendig. Die Bewurzelung und Überführung auf Erde setzte Veränderungen in der Zusammensetzung der Erdgemische gegenüber bisher hergestellten Pflanzen voraus. Die potentiell zu nutzenden Genotypen werden in Depots bei stoffwechselvermindernden Bedingungen aufbewahrt, um bei Bedarf für die Mikrovermehrung bereit zu stehen.
6. Für die Untersuchung der Anthrachinonfarbstoffe in den Wurzeln wurden Methoden mittels HPLC und CE entwickelt. Die Extraktion der freien Anthrachinone wurde mit der ASE durchgeführt, die automatisch und mit ausreichender Präzision arbeitet.

Bei den Untersuchungen der Gerbstoffgehalte des Sortimentes zeigte sich, dass die einzelnen Arten keine großen Unterschiede im Gerbstoffgehalt aufwiesen sondern die Schwankungsbereiche innerhalb der einzelnen Arten bei etwa gleich groß waren. Die Mittelwerte der einzelnen Arten schwanken zwischen 12,3 und 13,6 % Reingerbstoff in der Trockensubstanz. Auch die Spannweiten im Reingerbstoffgehalt sind bei den Herkünften der verschiedenen Rheum- Arten sehr ähnlich.

Untersuchungen aus mehreren Anbaujahren zeigten, dass die Gerbstoffgehalte der Rhabarber, die aus dem Sortiment für die Versuche einge-

setzt wurden, genotypisch bedingt waren. Es wurden in einem Anbaujahr zwar Abweichungen in den Konzentrationen der Gerbstoffe bei einigen Genotypen gefunden, die typischen Differenzen zwischen ihnen blieben jedoch bestehen.

Die Stickstoffdüngung wirkte sich nicht auf die Gerbstoffgehalte in den Wurzeln aus. Zwischen den verschiedenen Düngungsstufen wurde in keinem Entwicklungsstadium der Pflanzen und bei keinem Genotyp eine mit der Düngung im Zusammenhang stehende Tendenz einer Erhöhung oder Verminderung festgestellt. Entweder besteht kein Zusammenhang zwischen der Gerbstoffakkumulation und der N- Ernährung, oder es ist wie bei dem Einfluss auf die Erträge ermittelt wurde, in jeder Variante ausreichend N im Angebot enthalten, so dass es nicht zu Mangelerscheinungen kam.

Um eine genetische Aufspaltung zugunsten hoher Gerbstoffgehalte zu erreichen wurden ausgewählte Genotypen mit Samen vermehrt. Die Untersuchungen der Gerbstoffgehalte in den durch Aussaat erhaltenen Nachkommen zeigte, dass die Gerbstoffgehalte bei den Sämlingen im ersten Jahr am niedrigsten waren und im zweiten bzw. dritten Jahr zunahmen. Eine weitere Erhöhung ist nicht auszuschließen. Es zeigte sich auch die erwartete genetische Aufspaltung in der Höhe des Gerbstoffgehaltes. Im dritten Wachstumsjahr wurden einige Pflanzen herausgelesen, welche die Mutterpflanzen in der Gerbstoffkonzentration übertroffen hatten.

7. Es wurden Reinigungsversuche in der Zuckerfabrik und im Trockenwerk durchgeführt. Die Reinigungsversuche führten bei allen drei durchgeführten Varianten zu einer ausreichenden Beseitigung der Schmutzanteile von den Wurzeln. Aus betriebstechnischen Gründen ist von einer Reinigung in der Fließstrecke des Trockenwerkes abzusehen, da einige Wurzeln dann noch vorzerkleinert werden müssen. Die Wäsche in der Zuckerfabrik und in der Kartoffelwaschmulde des Trockenwerkes können in Abhängigkeit von der zu verarbeitenden Wurzelmenge genutzt werden.

Die großtechnische Zerkleinerung mit den zur Verfügung stehenden Geräten brachte in keinem Fall ein ideales Ergebnis. Entweder waren zu viel Schnitzel zu groß oder unter 2 mm, bei denen dann ein hoher Anteil Staub zu erwarten ist, der die Extraktion insofern erschwert, als dass die Lösungsmittel nicht kontinuierlich durchfließen können. Eine Verbesserung wäre z. B. das Absieben des Staubanteils. Von der kleinsten Korngröße wurde dann noch der Teil abgesiebt, der ein 0,6 mm Rundsieb passierte. Dieser Teil betrug z. B. bei der günstigsten Variante „Vortrocknen/Feldhäcksler“ nur 1,1 %.

Die Extraktion der verschiedenen großen Schnitzel führte bei der größten Form und bei dem staubförmigen Anteil zu Verlusten in der Extraktbeutelbeute. Bei letzterem zeigten die Ascheanalysen, dass wahrscheinlich noch Schmutz mit darin enthalten war.

Die Trocknung der Rhabarberwurzeln wurde in einer Trommeltrockenanlage durchgeführt. Die Eingangstemperatur betrug dabei 300°C. Durch das Verdampfen des Wassers wurde das Material nicht überhitzt.

8. Die Prüfung neu eingeführter Rhabarbergenotypen, die sich durch hohe Gerbstoffgehalte auszeichneten, wurde mit Hautpulver- und Tabletten-tests sowie Proberbungen durchgeführt. Im Ergebnis dieser Untersuchungen wurden neben den hohen Gerbstoffgehalten bei drei geprüften Genotypen auch gute Gerb- eigenschaften festgestellt. Die im Technikum bei der NIG Magdeburg hergestellten Extrakte wiesen Anteilzahlen zwischen 36 und 50 auf. Die Farben lagen innerhalb der bei Rhabarber üblichen Brauntöne. Ein Extrakt enthielt teerartige Bestandteile und war für eine Gerbung nicht geeignet, weil diese sich sowohl auf dem Leder als auch auf den Fasswänden ablagern. Die UV- Beständigkeiten wurden als gut beurteilt und lagen mit den Noten 3 bis 4 besser als bei dem Vegetabilgerbstoff Mimosa (Note 2). Die hergestellten Leder zeigten in der Farbe, dem Geruch, der Egalität und der Schrumpfung für Vegetabilleder akzeptable Eigenschaften.

9. Die Bedingungen für eine Extraktion der verschiedenen Genotypen und technologischen Fraktionen wurden erarbeitet. Es wird eingeschätzt, dass sowohl die zweistufige als auch die einstufige Extraktion großtechnisch problemlos umgesetzt werden kann. Die Entwicklungen zu den Verfahren erfolgten unter Berücksichtigung der in der Industrie vorhandenen großtechnischen Anlagen und damit in enger Verbindung zur Praxis.

Die Anlagentechnik zur Konzentrierung der Rohextrakte ist in den meisten Betrieben für die Herstellung von pharmazeutischen Extrakten vorhanden.

Die Verfahren sind auf Industrieanlagen übertragbar.

Die großtechnische Extraktion wurde in dem Pharmabetrieb Spreewaldpharma durchgeführt. Das eingesetzte Material enthielt vor der Extraktion 11,3 % Gerbstoff in der Trockensubstanz. Insgesamt wurden bei diesen Großextraktionsversuchen nur 5% Gerbstoff aus den Wurzelschnitzeln gewonnen. Dies führte auch zu einer Verminderung der Anteilzahlen, da dann im Gerbstoffextrakt prozentual höhere Gehalte an Nichtgerbstoffen mit extrahiert werden. An einer Optimierung der großtechnischen Extraktion muß noch gearbeitet werden. Grundsätzlich waren die Extrakte aber gut zum Gerben geeignet. Die vorgesehenen Mengen an Leder für Großversuche in der Autoindustrie wurden hergestellt und befinden sich derzeit in der Langzeitprüfung.

Literaturverzeichnis

ANONYM, 1995: Studie über umweltverträgliche Lederprodukte. In: Leder- und Häutemarkt 47 (1995) 7, S. 1.

ANONYM 1997: Finding a natural niche In: Leather (1997) 8, S.33.

BIELKA, R.: Grundriß des Feldgemüsebaues. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, 1961.

BEIER und GOSS: Electrophoreses 1987,8,93-99.

CUTTING, N.J.: The development and application of speciality wattle extracts
In: JSLTC 81 (1997) 3, S. 89.

DÖPPERT, S., S. KARRES, H. SLAATS, J. WESTPHAL und P. MUMMENHOFF: Wet-white- Verfahren aus heutiger Sicht. Das Leder, 45 (1994), S. 272 – 281.

DUSEK, J.; ZAHRADNICEK, M; HUBIK, J.: The effect on the cultivation conditions on the growth of the tissue culture of the rhubarb root and the production of secondary metabolites. Cesk. Farm.;8!986) 35, 7, S. 313-317.

FAO, 1998: Zitiert bei REICH, 2000.

FRITZ; D., STOLZ, W.: Gemüsebau. Eugen Ulmer-Verlag Stuttgart 1989.

GNAMM, H.: Die Gerbstoffe und Gerbmittel. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1949.

HÄGER, 1999: Persönliche Mitteilung. Erfahrungen bei Sommerpflanzung von Gemüserhabarber.

KABRODT, K., SCHNÜBER, G.: Anbau und Verwertung gerbstoffhaltiger Pflanzen aus landwirtschaftlicher und industrieller Sicht. Tagungsband d. Prof. Oberdorf Konferenz 1998.

KÜHN, M.: Der Rhabarber Monographie, Univ. Stuttgart Hohenheim, 1987.

LAL, N. and AHYIA, P.S.: Assesment of liquid culture procedures for in vitro propagation of Rheum emodi. Plant cell tissue and Organ Culture. 1993, 34, 2, 223-226; 8 ref.

LASSUS, C; VOPIO, I.: Micropropagation of rhubarb with special reference to weaning stage and subsequent growth plant propagation. Agric. Sci. Finland; 81994) 3, 189-94.

MAYNARD, D.: Annual rhubarb production in Florida. Proceedings of the florida State Horticultural Society . 1990, publ. 1991, 103: s. 343-346.

MURASHIGE, T. SKOOG, F. „A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures“ Physiol. Plant. –Copenhagen 15 (1962) S. 473 – 497.

OERTEL, H., REICH, G., MEYER, L., LANGE, E.: Vegetabilische Gerbstoffe "nach Maß" - ein Betrag zur Sicherung der Rohstoffgrundlage der Lederindustrie. XXII. IULTCS-Kongreß, Porto Alegre (Brasilien), Nov. 1993.

OERTEL, H., REICH, G., MEYER, L., LANGE, E.: Vegetabilische Gerbstoffe "nach Maß" - ein Beitrag zur Sicherung der Rohstoffgrundlage der Lederindustrie. Das Leder, Heft 9, 1994, S. 188 - 198.

SCHRÖER, Th. und R. SCHNEIDER: Grundzüge der weltweiten Entwicklungstendenzen der Erzeugung von Rindleder, der bovinen Tierbestände und Häuteproduktion. Das Leder, 4/1997, S. 87 – 93.

REICH, G.: Ökologische Aspekte wichtiger Gerbverfahren. Forschungsgemeinschaft Leder e.V., 2000 Fuchstanzstrasse. 61, 60489 Frankfurt a.M.

SHI, P.: The Chemical Principles to be Considered in Post Tanning Process. Proceedings IULTCS-Congress London 11.-14.09.1997 S. 575.

SCHELLENBERG und SCHNÜBER, 1994: Literaturstudie „Anbau und Verwertung gerbstoff- und fruchtsäurehaltiger Pflanzen unter Berücksichtigung der Wirtschaftlichkeit vom Anbau bis zur industriellen Verwertung. Ministerium RLU des Landes Sachsen-Anhalt, April 1998.

SCHELLENBERG, I., KABRODT, K., SCHNÜBER, G.: Stoffliche Verwertung nachwachsender Rohstoffe. in „Nachwachsende Rohstoffe-Zukunftsmärkte in Sachsen-Anhalt?“ (Tagungsdokumentation der Fachtagung, veranstaltet von Bundestags- und Landtagsfraktion Bündnis 90/DIE GRÜNEN Sachsen - Anhalt; 1995).

SCHELLENBERG, I., KABRODT, K. u.a.: Gewinnung von Gerb- und Farbstoffen sowie Fruchtsäuren aus Knöterichgewächsen als nachwachsende Rohstoffe. in „Chemie nachwachsender Rohstoffe“ (Tagungsband d. österr. Bundesministeriums für Umwelt, Jugend und Familie), 1997.

SCHELLENBERG, I., KABRODT, K., SCHNÜBER, G.: Rhabarber. in Buch „Leitfaden Nachwachsende Rohstoffe“, Müller-Verlag Heidelberg (1998).

SCHELLENBERG, I., SCHNÜBER, G.: Entwicklung von Verfahren zum Anbau sowie zur biotechnologischen Erzeugung von fruchtsäure-, gerb- und farbstoffhaltigen Pflanzenarten aus der Sicht einer industriellen Verwertung der Inhaltsstoffe. Forschungsbericht, Ministerium RLU des Landes Sachsen-Anhalt, April 1998.

TROMMER, B. und H. J. KELLERT: Ökologischer Vergleich verschiedener Gebraten. Leder- und Häute Markt 6/1999, S. 25- 36.

RUMPUNEN, K. Mikroöroekning av rabarber. Examensarbete. Sveriges Landbruksuniv., Alnarp (Sveden). Inst foer Traedgaardsvetenskap.

RUMPUNEN, K.: Mikroöroekning av rabarber. Verksamhetsberettelse-Baalsgaard-Avdelningen-foer-Hortikulturell-Vaextfoeraedling (Sveden), 1990. S.126-133.

WIJK, C., Kanters, FML.: Vermeerdering zomerstek rabareber optimal tot half juni? PAV Bulletin Vollegrondsgroenteteelt. 1997, 22-23.

WIJK, C.: Teelt van rabarber. Teelthandleiding- Praktijkonderzoekvoor de ackerbouw en de Vollegrondsgroenteteelt. 1998, Nr 82.

Anlagenverzeichnis

- Anlage 1: Extraktionsversuche an ausgewählten Genotypen
- Anlage 2: Versuchsfeld Kohlenstraße
- Anlage 3: Versuchsfeld Wulfen und Neugattersleben
- Anlage 4: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen 1998
- Anlage 5: Extraktionsversuche bei unterschiedlichen Korngrößen
- Anlage 6: Extraktionsversuche bei mikrovermehrten und ausgesäten Genotypen
- Anlage 7: Anthrachinonfarbstoffe in den Gerb- und Farbstoffextrakten
- Anlage 8: Versuchsanlage Strenzfeld
- Anlage 9: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen 1999
- Anlage 10: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen 2000
- Anlage 11: Gerbstoffgehalte der Genotypen in verschiedenen Jahren
- Anlage 12: Gel 12, IEF - Silberfärbung
- Anlage 13: Gel 15, IEF - Silberfärbung
- Anlage 14: Gel 16, IEF - Silberfärbung
- Anlage 15: Gel 17, IEF - Silberfärbung
- Anlage 16: Gel 18, IEF – Silberfärbung
- Anlage 17: Bilder

Anlage 1: Extraktionsversuche an ausgewählten Genotypen, Seite 1

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	% TS Pflan- ze grav.	Masse Pflanze	Extraktions- mittel	Men- ge Ex- Mittel	Extra- kti- onste- mpe- ratur	Extra- kti- ons- zeit	Extrakt- menge	% TS Ex- trakt grav.	% TS Ex- trakt refr.
			%	kg		l	°C	h	l	%	%
1	2.1	Farbstoffextrakt	89.00	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.94		
	2.2	Farbstoff aus 2.1							1,124 g		
	2.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.39		
	2.4	Konzentrat aus 2.4							23,8 g		55.00
	2.5	Gerbstoffextrakt	89.00	0.1	Isopropanol 50 %	1	50	3	0.88	3.06	
	2.6	Konzentrat aus 2.5							33,4 g		72.50
2	10.1	Farbstoffextrakt	90.20	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.98		
	10.2	Farbstoff aus 10.1							0,4 g		
	10.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.48	3.49	
	10.4	Konzentrat aus 10.4							27.6		66.00
	10.5	Gerbstoffextrakt	90.20		Isopropanol 50 %	1	50	3	0.92	1.88	
	10.6	Konzentrat aus 10.5							21.5		65.00
3	11.1	Farbstoffextrakt	89.80	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.83		
	11.2	Farbstoff aus 11.1							2,99 g		
	11.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.51	4.4	
	11.4	Konzentrat aus 11.4							39,2 g		50.00
	11.5	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	1	50	3	0.92	3.75	
	11.6	Konzentrat aus 11.5							47,7 g		69.00

Anlage 1: Extraktionsversuche an ausgewählten Genotypen, Seite 2								
Ausbeuten bezogen auf die eingesetzte Trockenmasse								
Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	Tro- cken- masse	Ausbeute pro Verfahrens- schritt				
			g	%				
1	2.1	Farbstoffextrakt	89.00					
	2.2	Farbstoff aus 2.1		1.26				
	2.3	Gerbstoffnachex- trakt						
	2.4	Konzentrat aus 2.4		14.70				
	2.5	Gerbstoffextrakt	89.00	30.25				
	2.6	Konzentrat aus 2.5		27.20				
2	10.1	Farbstoffextrakt	90.20					
	10.2	Farbstoff aus 10.1		0.44				
	10.3	Gerbstoffnachex- trakt		18.50				
	10.4	Konzentrat aus 10.4		20.19				
	10.5	Gerbstoffextrakt	90.20	19.17				
	10.6	Konzentrat aus 10.5		15.49				
3	11.1	Farbstoffextrakt	89.80					
	11.2	Farbstoff aus 11.1		3.32				
	11.3	Gerbstoffnachex- trakt		24.98				
	11.4	Konzentrat aus 11.4		21.82				
	11.5	Gerbstoffextrakt	89.80	38.41				
	11.6	Konzentrat aus 11.5		36.65				

Anlage 1: Extraktionsversuche an ausgewählten Genotypen Seite 3

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	% TS Pflan- ze grav.	Masse Pflanze	Extraktions- mittel	Men- ge Ex- Mittel	Extra- kti- onste- mpe- ratur	Extra- kti- ons- zeit	Extrakt- menge	% TS Ex- trakt grav.	% TS Ex- trakt refr.
			%	kg		l	°C	h	l	%	%
4	12.1	Farbstoffextrakt	91.00	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.92		
	12.2	Farbstoff aus 12.1							2,4 g		
	12.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.39	6.06	
	12.4	Konzentrat aus 12.4							55,6 g		31.00
	12.5	Gerbstoffextrakt	91.00	0.1	Isopropanol 50 %	1	50	3	0.89	2.72	
	12.6	Konzentrat aus 12.5							77,1 g		34.00
5	21.1	Farbstoffextrakt	90.50	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.89		
	21.2	Farbstoff aus 21.1							0,78 g		
	21.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.5	3.62	
	21.4	Konzentrat aus 21.4							24,7 g		61.00
	21.5	Gerbstoffextrakt	90.50	0.1	Isopropanol 50 %	1	50	3	0.92	2.00	
	21.6	Konzentrat aus 21.5							22,5 g		70.00
6	24.1	Farbstoffextrakt	89.00	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.88		
	24.2	Farbstoff aus 24.1							5,176 g		
	24.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.39	4.54	
	24.4	Konzentrat aus 24.4							20,1 g		56.00
	24.5	Gerbstoffextrakt	89.00	0.1	Isopropanol 50 %	1	50	3	0.94	2.34	
	24.6	Konzentrat aus 24.5							51,1 g		55.00

Anlage 1: Extraktionsversuche an ausgewählten Genotypen, Seite 4

Versuchsnummer	Probennummer Genotyp	Probenerläuterung	Trockenmasse	Ausbeute pro Verfahrensschritt					
			g	%					
4	12.1	Farbstoffextrakt	91.00						
	12.2	Farbstoff aus 12.1		2.63					
	12.3	Gerbstoffnachextrakt		25.97					
	12.4	Konzentrat aus 12.4		18.94					
	12.5	Gerbstoffextrakt	91.00	26.60					
	12.6	Konzentrat aus 12.5		28.80					
5	21.1	Farbstoffextrakt	90.50						
	21.2	Farbstoff aus 21.1		0.86					
	21.3	Gerbstoffnachextrakt		20.00					
	21.4	Konzentrat aus 21.4		16.64					
	21.5	Gerbstoffextrakt	90.50	20.33					
	21.6	Konzentrat aus 21.5		17.40					
6	24.1	Farbstoffextrakt	89.00						
	24.2	Farbstoff aus 24.1		5.81					
	24.3	Gerbstoffnachextrakt		19.89					
	24.4	Konzentrat aus 24.4		12.64					
	24.5	Gerbstoffextrakt	89.00	25.66					
	24.6	Konzentrat aus 24.5		31.57					

Anlage 1: Extraktionsversuche an ausgewählten Genotypen, Seite 5

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	% TS Pflan- ze grav.	Masse Pflanze	Extraktions- mittel	Men- ge Ex- Mittel	Extra- kti- onste- mpe- ratur	Extra- kti- ons- zeit	Extrakt- menge	% TS Ex- trakt grav.	% TS Ex- trakt refr.
7	25.1	Farbstoffextrakt	89.80	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.89		
	25.2	Farbstoff aus 25.1							2,0 g		
	25.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.49	4.36	
	25.4	Konzentrat aus 25.4							37,8 g		65.00
	25.5	Gerbstoffextrakt	89.80	0.1	Isopropanol 50 %	1	50	3	0.85	3.00	
	25.6	Konzentrat aus 25.5							109,4 g	22.29	
8	37.1	Farbstoffextrakt	90.20	0.1	Isopropanol 100 %	1	40	3	0.89		
	37.2	Farbstoff aus 37.1							2,0 g		
	37.3	Gerbstoffnachex- trakt			Isopropanol 45 %	0.5	50	3	0.47	4.08	
	37.4	Konzentrat aus 37.4							32,9 g		55.00
	37.5	Gerbstoffextrakt	90.20	0.1	Isopropanol 50 %	1	50	3	0.96	2.17	
	37.6	Konzentrat aus 37.5							34 g		69.00

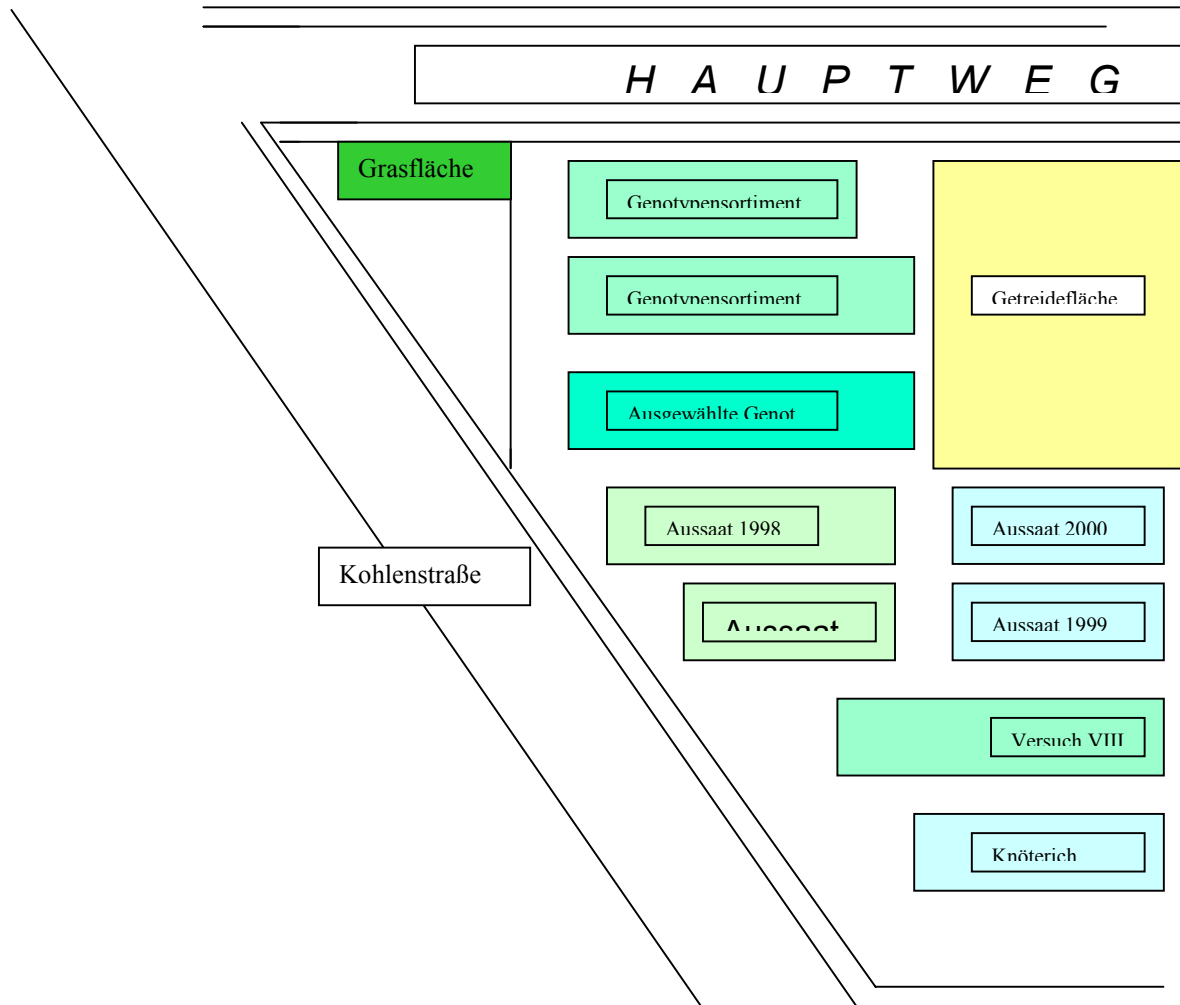
Anlage 1: Extraktionsversuche an ausge- wählten Genotypen, Seite 6

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	Tro- cken- masse	Ausbeutepro Verfahrens- schritt					
				g	%				
7	25.1	Farbstoffextrakt	89.80						
	25.2	Farbstoff aus 25.1		2.22					
	25.3	Gerbstoffnachex- trakt		23.79					
	25.4	Konzentrat aus 25.4		24.57					
	25.5	Gerbstoffextrakt	89.80	28.39					
	25.6	Konzentrat aus 25.5		27.15					
8	37.1	Farbstoffextrakt	90.20						
	37.2	Farbstoff aus 37.1		2.21					
	37.3	Gerbstoffnachex- trakt		21.25					
	37.4	Konzentrat aus 37.4		20.06					
	37.5	Gerbstoffextrakt	90.20	23.09					
	37.6	Konzentrat aus 37.5		26.00					

Anlage 2:

Versuchsfeld Kohlenstraße

Parzellenversuche



Anlage 3: Versuchsfeld Wulfen und Neugattersleben

4,0 ha Versuchsfläche, Versuche wurden genutzt für Bearbeitungs- und Behandlungsfragen, sowie für Ernteversuche

Genotyp 10, The Sutton, Wurzelpflanzung Gepflanzt 1996 Geerntet 1999	Genityp 2, mikrover- Mehrt. Gepflanzt: Juli 1997 2000 um- gebrochen	G 10 In vi tro 19 97	Genotyp 10, The Sutton, Wurzel- pflanzung Gepflanzt Januar 1998
--	--	--	---

Versuchsfeld Neugattersleben, mikrovermehrte Pflanzen

2,5 ha mikrovermehrte Pflanzen, gepflanzt 2000

Genotyp 25 12 Reihen
Genotyp 24 8 Reihen
Genotyp 10 6 Reihen
Genotyp 24 6 Reihen
Genotyp 25 30 Reihen

Anlage 4: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen, Seite 1

Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen
Sämlingsver-
such

Nr	Ernte 98		Analysenstar- ke Lösung Farbe	auf die GT des Extraktes			
	TS(%)	RG/GT %		RG %	NG %	UL %	AZ %
2- 1	93.2	14.4	narzissen- gelb	38.5	61.5	0	38.5
2- 2	93.3	10.5	ockerbraun	28.1	70.3	1.6	28.6
2- 3	95.8	7.2	goldgelb	21.9	75	3.1	22.6
2- 4	97	7.2	honiggelb	31.9	68.1	0	31.9
2- 5	94.2	7.1	honiggelb	25	72.7	2.3	25.6
2- 6	93.4	8.8	ockerbraun	42.1	55.3	2.6	43.2
2- 7	94.3	4.9	narzissen- gelb	22	75.6	2.4	22.5
2- 8	94.5	7.6	honiggelb	24.2	74.2	1.6	24.6
2- 10	93.5	6.5	honiggelb	30.8	66.7	2.5	31.6
2- 11	95	8.4	signalgelb	29.8	66.7	3.5	30.9
2- 15	95.5	6.6	ockerbraun	26.8	71.4	1.8	27.3
2- 17	92.2	9.2	ockerbraun	22.6	74.2	3.2	23.3
10 -0	91.7	14.9	olivbraun	40.5	54	5.5	42.9
11 -2	95.3	8.2	goldgelb	36.1	61.1	2.8	37.1
11 -3	95.7	7.6	honiggelb	31.8	63.6	4.6	33.3
11 -4	94	9.6	goldgelb	33.3	64.1	2.6	34.2
11 -6	94.5	13.7	ockerbraun	41.9	55.8	2.3	42.9
11 -7	94.9	7.1	maissgelb	28	72	0	28
11 -9	96.8	8.8	maissgelb	32.6	63.3	4.1	34
11 -10	94.3	11.1	narzissen- gelb	40	57.8	2.2	40.9
11 -11	93.1	9.8	goldgelb	43.4	53.3	3.3	44.8
11 -13	95.7	9.8	goldgelb	34.6	61.5	3.9	36
11 -16	95.5	15.1	nussbraun	36.8	60.5	2.7	37.8
11 -18	93.7	7.4	honiggelb	28.1	68.8	3.1	29
12 -3	92.6	10.3	goldgelb	32.7	65.4	1.9	33.3
12 -4	96.8	11	honiggelb	28.6	67.9	3.5	29.6
12 -5	97.5	9.4	cyrrygelb	31.2	65.6	3.2	32.2
12 -6	93.9	6.8	zinkgelb	20	80	0	20
12 -7	91.7	10.7	ockerbraun	28	72	0	28
12 -8	92.8	7.9	rapsgelb	15	85	0	15
12 -11	92.7	8.3	goldgelb	22	78	0	22
12 -17	90.9	8.2	rapsgelb	17	81.1	1.9	17.3
12 -18	92.7	8.4	zinkgelb	28.2	69.2	2.6	29
21 -4	92.6	8.6	honiggelb	20.3	78	1.7	20.7
21 -6	94.4	8.6	honiggelb	18.7	81.3	0	18.7
21 -8	93.4	7.8	goldgelb	25	75	0	325
21 -9	91.2	9.2	cyrrygelb	20	76.7	3.3	20.7
21 -10	94.3	8.9	ockerbraun	31.4	68.6	0	31.4

Anlage 4: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen, Seite 2

Nr	TS(%)	RG/GT %	Analysenstar-	auf die GT des Extraktes			
			ke Lösung	RG	NG	UL	AZ
			Farbe	%	%	%	%
21- 11	93	15.4	goldgelb	33.3	66.7	0	33.3
21- 12	93.7	8.4	cyrrygelb	26.3	70.2	3.5	27.3
21- 13	93.9	7.7	honiggelb	22.2	75.9	1.9	22.6
21- 14	92.7	9.9	ockerbraun	30.9	65.5	3.6	32.1
21- 15	92.5	13.7	rapsgelb	30.8	66.7	2.5	31.6
24- 0	93.8	9.4	rehbraun	50.9	45.4	3.7	25.8
24- 1	94	6.2	maisgelb	16.7	81.7	1.6	17
24- 3	93.7	10.5	ginstergelb	35.5	61.3	3.2	36.7
24- 4	96.6	11.6	maisgelb	37.2	58.8	4	38.8
24- 5	94.2	8.2	honiggelb	30	67.5	2.5	30.8
24- 6	94.7	7.6	goldgelb	25	70	5	29.3
24- 7	94.8	7.9	rapsgelb	23.2	76.8	0	23.2
24- 8	93.9	7.9	goldgelb	33.3	64.6	2.1	34
24- 9	95.7	7.9	goldgelb	28.9	68.4	2.7	29.7
24- 12	95.6	11.1	honiggelb	35.2	61.1	3.7	36.5
24- 13	93.7	9.2	rapsgelb	27.1	70.8	2.1	27.7
24- 17	93.2	12.2	goldgelb	32.7	67.3	0	32.7
24- 18	92.8	8.7	goldgelb	28.6	69	2.4	29.3
25- 0	92.7	20.9	nussbraun	58.7	36.5	4.8	61.7
25- 2	94.8	9.7	narzissen- gelb	32.5	62.5	5	334.2
25- 3	96	11.4	signalgelb	28.8	68.2	3	29.7
25- 4	94.6	9.6	maisgelb	39.1	58.7	2.2	40
25- 5	94.6	7.5	zinkgelb	36.4	60.6	3	37.5
25- 6	93.9	10.6	cyrrygelb	22.8	75.4	1.8	23.2
25- 9	94.6	11.6	ginstergelb	44.7	50	5.3	47.2
25- 10	93.8	8	honiggelb	36.9	71.2	1.9	27.4
25- 14	96.6	8.2	rapsgelb	35.4	62.5	2.1	36.2
25- 16	94	9.6	honiggelb	26.5	71.4	2.1	27.1
37- 1	96	8.8	goldgelb	21.4	75.7	2.9	22.1
37- 2	94.4	8.6	orangebraun	26.6	70.3	3.1	27.4
37- 4	97.4	11	maisgelb	34.3	62.7	3	35.4
37- 5	92.2	8.4	goldgelb	18.9	81.1	0	18.9
37- 6	94.2	7.8	honiggelb	24	74	2	24,5
37- 7	94.9	9.5	goldgelb	36.2	69	4.8	27.5
37- 10	94.4	7.5	honiggelb	18	78.7	3.3	18.6
37- 11	95.2	5.6	goldgelb	15.5	82.5	1.7	15.8
37- 14	92.2	6.4	rehbraun	15.3	83	1.7	15.5
37- 17	94.7	7.9	ginstergelb	26.8	71.4	1.8	27.3
37- 18	93.9	8.1	cyrrygelb	25	71.4	3.6	25.9

Anlage 5: Extraktionsversuche bei unterschiedlicher Korngröße

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Geno- typ	Korn- größe Fraktion	Asche in der Wurzel	Masse Pflanze	Extraktions- mittel	Men- ge Ex- Mittel	Extra- kti- onste- mpe- ratur	Extra- kti- ons- zeit	Extrakt- menge	% TS Ex- trakt grav.	Aus- beute	TS des Pul- vers	Asche im Pulver
		mm	%	kg		l	°C	h	l	%	%	%	%
1	336/2	< 2	12.44	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.428	2.13	18.23		
	336/3	2 - 4	11.84	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.440	2.22	19.54		
	336/4	4 - 5	12.31	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.430	2.00	17.20	92.29	6.40
	336/5	5	11.91	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.425	1.55	13.18		
	336/6	> 5	17.47	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.430	1.01	8.69		
	2	337/1	Staub	20.70	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.430	1.96	16.86	93.20
337/2		< 2	11.66	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.430	2.27	19.52		
337/3		2 - 4	11.34	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.440	2.30	20.24		
337/4		4 - 5	10.29	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.435	2.37	20.62	98.07	6.70
337/5		> 5	11.08	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.440	2.17	19.10		
3	338/3	2 - 4	14.20	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.425	1.95	16.58		
	338/4	4 - 5	12.86	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.440	1.86	16.37	94.88	5.99
	338/5	> 5	10.70	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.435	1.97	17.14		
4	339/1	Staub	20.61	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.430	1.90	16.34	96.56	6.26
	339/2	< 2	11.57	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.430	1.96	16.86		
	339/3	2 - 4	10.96	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.435	2.17	18.88		
	339/4	4 - 5	9.74	0.045	50 % Isopropanol	0.45	50	3	0.390	2.05	17.77	95.76	6.65
	339/5	> 5	12.51	0.05	50 % Isopropanol	0.5	50	3	0.440	1.79	15.75		

Anlage 6: Extraktionsversuche an mikrovermehrten und ausgesäten Genotypen, Seite 1

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	% TS Pflan- ze grav.	Masse Pflanze	Extraktions- mittel	Men- ge Ex- Mittel	Extra- kti- onste- mpe- ratur	Extra- kti- ons- zeit	Extrakt- menge	% TS Ex- trakt grav.
			%	kg		l	°C	h	l	%
1	G2 1a 1	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.340	1.08
	G2 1a 2	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.4	50	3	0.320	2.22
	G2 1a 3	Konzentrat aus 3							13,41 g	40.51
	G2 1a 4	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	0.6
2	G2 1b 6	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.330	1.35
	G2 1b 7	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.4	50	3	0.330	2.22
	G2 1b 8	Konzentrat aus 7							13.41	40.54
	G2 1b 9	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	0.65
3	G2 1c 10	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.340	1.12
	G2 1c 11	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.133	3.66
	G2 1c 12	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.380	1.00
4	G2 1d 14	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.440	0.84
	G2 1d 15	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.140	3.42
	G2 1d 16	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.400	1.22
5	G2 3a 17	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.340	0.98
	G2 3a 18	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.4	50	3	0.350	1.7
	G2 3a 19	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	0.75
6	G2 3c 20	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.330	1.01
	G2 3c 21	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.133	3.34
	G2 3c 22	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	1

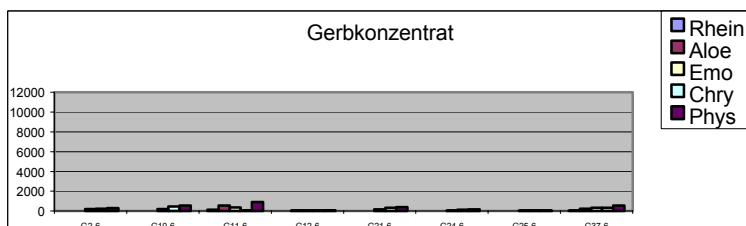
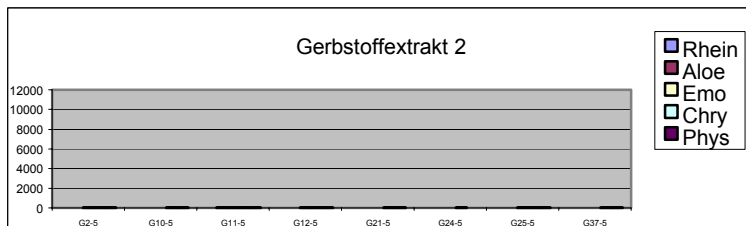
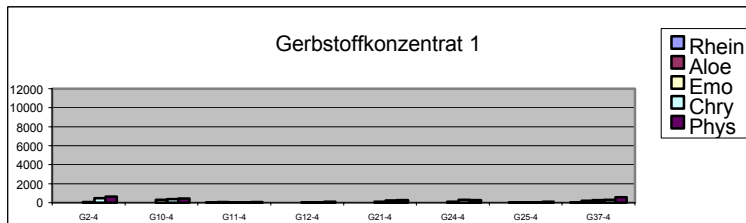
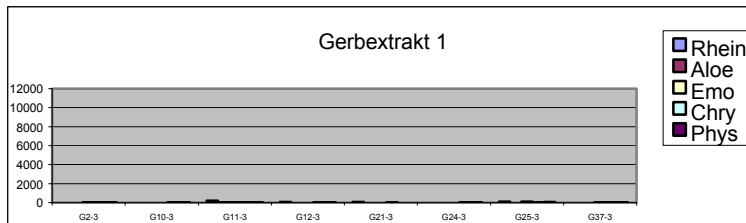
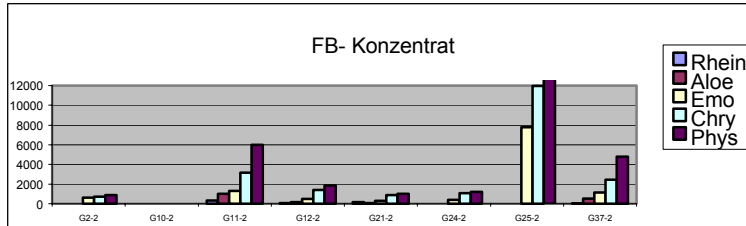
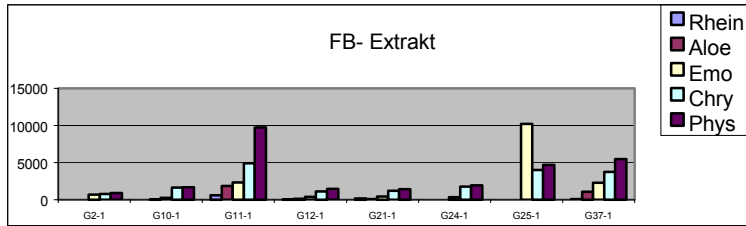
Anlage 6: Extraktionsversuche an mikrovermehrten und ausgesäten Genotypen, Seite 2

Versuchsnummer	Probennummer Genotyp	Probenerläuterung	% TS Pflanze grav.	Masse Pflanze	Extraktionsmittel	Menge Ex-Mittel	Extraktions-	Extraktions-	Extraktmenge	% TS Extrakt grav.
							temperatur	zeit		
			%	kg		l	°C	h	l	%
7	G2 V1 23	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.338	0.86
	G2 V1 24	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.150	2.89
	G2 V1 25	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.385	1.19
8	G24 V1 26	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.330	0.69
	G24 V1 27	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.157	3.08
	G24 V1 28	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.380	1.15
9	G11/3 29	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.350	0.78
	G11/3 30	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.140	2.94
	G11/3 31	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.400	0.99
10	G25 V1 32	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.350	0.51
	G25 V1 33	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.150	2.61
	G25 V1 34	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.400	1.19
11	G11/11 35	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.350	0.34
	G11/11 36	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.150	3.74
	G11/11 37	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	1.20
12	G2/6 38	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.350	0.6
	G2/6 39	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.130	3.82
	G2/6 40	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	1.21
13	G2/10 41	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.353	0.72
	G2/10 42	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.130	3.83
	G2/10 43	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.380	1.19

Anlage 6: Extraktionsversuche an mikrovermehrten und ausgesäten Genotypen, Seite 3

Ver- suchs- num- mer	Proben- nummer Genotyp	Probenerläuterung	% TS Pflan- ze grav.	Masse Pflanze	Extraktions- mittel	Men- ge Ex- Mittel	Extra- kti- onste- mpe- ratur	Extra- kti- ons- zeit	Extrakt- menge	% TS Ex- trakt grav.
			%	kg		l	°C	h	l	%
14	G24/1 44	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.340	0.64
	G24/1 45	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.135	3.35
	G24/1 46	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.400	1.32
15	G25/4 47	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.330	0.99
	G25/4 48	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.140	3.84
	G25/4 49	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.400	1.53
16	G25/10 50	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.345	0.84
	G25/10 51	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.140	3.38
	G25/10 52	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.400	1.37
17	G25/14 53	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.340	0.47
	G25/14 54	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.150	3.76
	G25/14 55	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	1.23
18	G25/16 56	Farbstoffextrakt		0.04	Isopropanol 100 %	0.4	40	3	0.350	0.61
	G25/16 57	Gerbstoffnachextrakt			Isopropanol 45 %	0.2	50	3	0.130	4.83
	G25/16 58	Gerbstoffextrakt			Isopropanol 50 %	0.4	50	3	0.390	1.40

Anlage 7: Einzelne Anthrachinofarbstoffe in den Fraktionen zur Gerb- und Farbstoffgewinnung

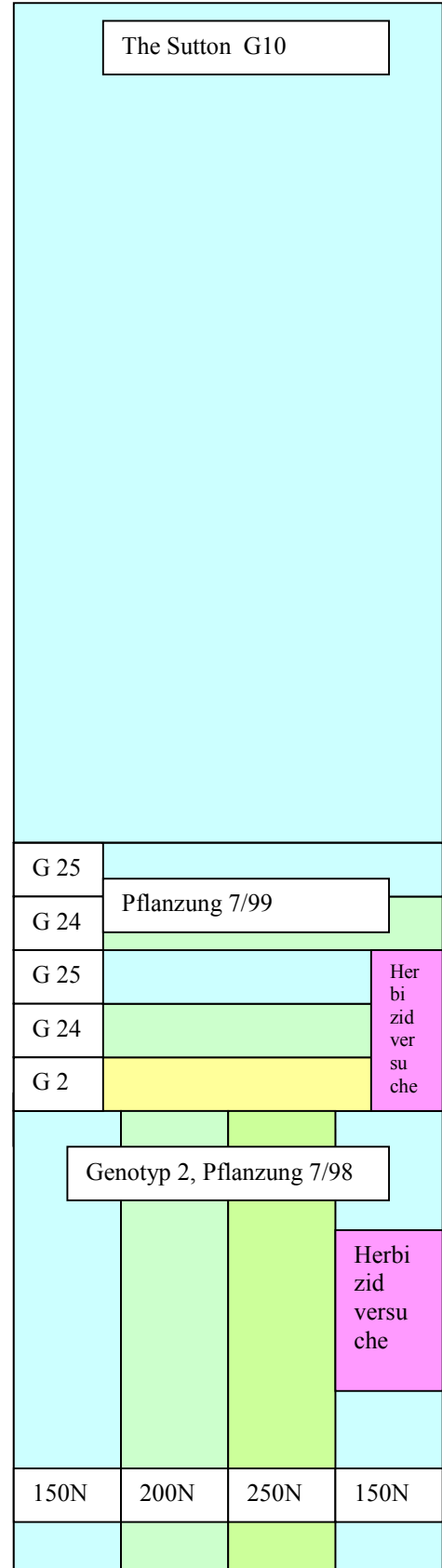
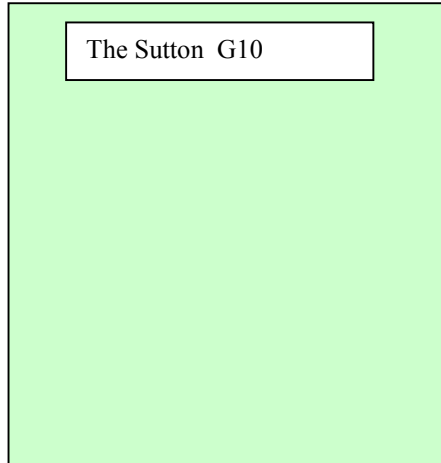


Anlage 8:

Versuchsanlage Strenzfeld

2,7 ha

Bearbeitung der verschiedenen Genotypen und Herbizidversuche



Anlage 9: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen, Seite 1

Sämlingsversuch		Ernte 1999		pH	Analysenstarke Lösung Farbe	gRG/l	RG %	auf die GT des Ex- traktes		AZ
Genotyp	TS(%)	RG/GT (%)	NG %					UL %		
459	25-14	91.6	13.4	5.1	narzissengelb	2.7	27.3	72.7	0	27.3
460	25-16	92	14.4	5.1	narzissengelb	3.2	33.3	64.7	2	34
461	26-1	92.8	13	5.1	narzissengelb	2.8	3.2	63.2	2.6	35.1
462	26-2	92.2	14.1	5.1	narzissengelb	2.9	26.4	71.7	1.9	26.9
463	26-3	92.5	14.5	4.9	zinkgelb	3.1	40	57.5	2.5	41
464	26-5	93	14.2	5.1	narzissengelb	3	38.6	59	2.4	39.5
465	26-6	93	14.6	5.1	narzissengelb	3.1	37.8	60	2.2	38.6
466	26-8	92.8	12.5	5	maisgelb	2.7	27.9	69.8	2.3	28.6
467	26-10	92.6	12.4	4.8	narzissengelb	2.4	30.4	65.2	4.4	31.8
468	26-11	92.6	12.2	4.8	narzissengelb	3	27.8	70.4	1.8	28.3
469	26-12	92.4	14.2	4.9	narzissengelb	2.9	34.2	63.4	2.4	35
470	26-13	93.4	12.4	4.8	narzissengelb	2.7	26.7	71.1	2.2	27.3
471	26-14	91.1	12.8	4.9	zinkgelb	2.6	33.3	63.6	3.1	34.4
472	26-15	91.2	12	4.8	zinkgelb	2.5	29.4	67.6	3	30.3
473	26-16	91.7	13	4.7	narzissengelb	2.9	36.2	60.9	2.9	37.3
474	26-17	91.8	13.4	4.8	narzissengelb	3.1	33.3	64.8	1.9	34
475	26-18	92.8	12.4	4.4	zinkgelb	2.7	30	67.5	2.5	30.8
476	30- 1	92.9	11.4	4.8	honiggelb	2.7	35.3	61.8	2.9	36.4
477	30 -2	92.6	10.6	4.9	honiggelb	2.7	34.3	65.7	0	34.3
478	30- 3	92.8	10.9	4.9	honiggelb	2.9	29.3	68.9	1.8	29.8
479	30- 4	93.3	10.5	4.9	honiggelb	2.9	29.8	68.1	2.1	30.4
480	30- 5	93.7	10.2	4.9	honiggelb	2.5	29.4	67.6	3	30.3
481	30- 6	93.3	10.4	4.8	honiggelb	2.7	32.4	67.6	0	32.4
482	30- 7	93.4	10.3	5	honiggelb	2.8	31	66.7	2.4	31.7
483	30- 8	93.6	10.9	4.9	honiggelb	2.9	35	62.5	2.5	35.9
484	30- 9	93.5	11.2	5	honiggelb	2.6	30.6	66.7	2.7	31.4
485	30 10	93.2	11.4	4.9	honiggelb	3	32.6	65.2	2.2	33.3
486	30-11	93	11.2	4.9	honiggelb	3	34.1	63.6	2.3	34.9
487	30-12	92.9	11.8	4.8	honiggelb	2.9	34.2	63.4	2.4	35
488	30-13	92.7	12	4.4	honiggelb	3.4	37.2	62.8	0	37.2
489	30-14	93.4	12.4	4.8	honiggelb	3.3	35.3	62.8	1.9	36
490	30-15	93.4	12	4.7	honiggelb	3.2	35.4	64.6	0	35.4
491	30-16	93.5	10.3	4.9	zinkgelb	2.5	33.3	63.3	3.4	34.5
492	30-17	92.8	10.2	4.9	narzissengelb	2.9	33.3	66.7	0	33.3
493	30-18	93.4	11.9	4.9	narzissengelb	2.6	36.7	63.3	0	36.7
494	37-1	91.4	10.8	5.2	narzissengelb	2.7	19	81	0	19
495	37-2	92.5	8	5.1	zinkgelb	2.3	24.2	72.7	3.1	28

Genotyp	TS(%)	RG/GT (%)	pH	Analysenstarke Lösung Farbe	gRG/l	RG %	auf die GT des Ex- traktes NG %	UL %	AZ
496 37-4	92.6	13	4.9	maisgelb	2.9	26.4	71.7	1.9	26.9
497 37-5	93.8	10.2	5.2	honiggelb	2.7	20.3	78	1.7	20.7
498 376	92.9	11.2	4.9	zinkgelb	2.7	27.9	69.8	2.3	28.6
499 37-7	91.5	10.2	5	maisgelb	2.6	26.8	70.7	2.5	27.1
500 37-10	91.6	7.4	5.1	zinkgelb	2.4	14.8	85.6	1.6	15.6
501 37-11	91.6	11.7	5.6	narzis- sengelb	3	20.3	79.9	0	20.3
502 37-14	90.4	11.9	5.4	honiggelb	2.9	21.9	76.6	1.5	22.2
503 37-17	91.4	16.2	4.8	narzis- sengelb	3.2	35.4	62.5	2.1	36.2
504 37-18	91.4	10.6	5	maisgelb	3.2	20	80	0	20

Anlage 10: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen, Seite 1

Sämlingsversuch

Ernte
2000

Nr	TS(%)	RG/GT (%)	pH	Analysenstarke Lösung	auf die GT des Extraktes				
					Farbe	gRG/l	RG %	NG %	UL %
532 2-1	90.5	13.5	5.6	lehmbraun	4.7	51.6	47.2	1.2	52.2
533 2-2	91.1	14.2	5.5	rehbraun	4.8	53.7	44.4	14.9	54.7
534 2-4	90.8	11.7	5.7	lehmbraun	2.9	35.4	64.6	0	35.4
535 2-5	91.3	10.3	5.4	rehbraun	3.6	38.8	59.6	2.1	39.1
536 2-6	89.9	7.3	5.4	ockerbraun	2.6	39.4	59.1	1.5	40
537 2-7	90	9.3	5.9	orangebraun	2.1	34.4	65.6	0	34.4
538 2-10	91.3	15.8	5.4	lehmbraun	5.1	55.4	43.5	1.1	56
539 2-14	91	12.4	5.7	lehmbraun	3.1	43.7	54.9	1.4	44.3
540 2-16	91.6	15.6	5.5	lehmbraun	3.5	44.3	54.4	1.3	44.9
541 11-2	92	23.6	5.2	kastanienbraun	4.2	49.5	48.6	1.9	50.5
542 11-3	91.2	17.4	5.1	kupferbraun	3.6	53.7	44.8	1.5	54.5
543 11-4	91.1	18.8	5.1	orangebraun	4	54.8	42.5	2.7	56.3
544 11-7	90.3	13.4	5.1	orangebraun	3.3	35.9	60.9	3.2	37.1
545 11-9	91	17.8	5.0	kupferbraun	4.4	57.9	42.1	0	57.9
546 11-10	90.4	19.4	5.0	lehmbraun	4.3	51.8	44.6	3.6	53.8
547 11-11	90.7	13.6	5.0	rotorange	3.3	49.2	47.8	3	50.8
548 11-13	90.5	12.4	4.9	rotorange	3.4	52.7	45.5	1.8	53.7
549 11-16	91.2	18.5	4.9	mahagonibraun	4.4	56.4	42.3	1.3	57.1
550 11-18	91.4	15.1	4.9	rotorange	3.6	45	52.5	2.5	46.2
551 12-3	90.8	13.4	4.9	ockerbraun	3.5	50	48	2	51
552 12-4	91.7	13.5	5.2	goldgelb	3.4	40.7	55.9	3.4	42.1
553 12-5	91.4	11	4.9	narzissengelb	2.9	47.5	50	2.5	48.7
554 12-6	91.1	13.12	5.0	narzissengelb	3.3	48.9	46.8	4.3	51
555 12-7	91.3	18.2	5.0	narzissengelb	3.1	50	46.3	3.2	57.7
556 12-8	91.4	14.9	5.1	narzissengelb	3.4	40	56.7	3.3	41.12
557 12-11	91.6	15.7	5.2	olivbraun	3.3	45.9	52.5	1.6	46.7
558 12-17	90.9	14.8	5.0	lehmbraun	3.6	45	53.8	1.2	45.6
559 12-18	91	15.6	5.0	ockerbraun	3	44.8	53.7	1.5	45.4
560 21-6	91.3	16.8	5.0	ockerbraun	3	50	43.7	3.3	51.7
561 21-8	90.7	15	5.1	ockerbraun	3.4	43.9	54.6	1.5	44.6
562 21-9	91.3	13.7	5.2	narzissengelb	3	40.3	58.1	1.6	41
563 21-10	91.7	18.1	5.1	narzissengelb	3.5	56.5	41.9	1.6	57.4
564 21-11	92.2	16.8	4.9	lehmbraun	3.4	58.6	39.7	1.7	59.6
565 24-1	91.6	13	5.0	ockerbraun	2.9	49	49	2	50
566 24-5	91.2	16	4.7	lehmbraun	3	45.5	53	1.5	46.2
567 24-8	90.8	14.7	4.5	rehbraun	3.2	50	48.2	1.8	50.3
568 24-9	91	16.5	4.4	orangebraun	3.2	48.5	3	50	
569 24-12	91.7	16.1	4.4	kupferbraun	3	53.6	46.6	0	53.6
570 24-16	91.9	19	5.1	rotorange	3.4	57.6	39	3.4	59.6
571 24-18	91.7	16.8	5.1	orangebraun	3.1	43	54.2	2.8	44.3
572 25-2	90.8	15.8	5.1	orangebraun	2.9	44	53	3	45.3
573 25-4	91.5	16.6	4.9	orangebraun	3.2	51.6	45.2	3.2	53.3
574 25-5	92.2	16.1	5.0	lehmbraun	3.1	48.4	50	1.6	49.2
575 25-6	90.5	14.2	4.9	orangebraun	3	50	48	2	51
576 25 9	91.6	15.9	4.9	kupferbraun	3.1	53.4	44.8	1.8	54.4

Anlage 10: Gerbstoffgehalte von Nachkommen der verschiedenen Genotypen, Seite 2

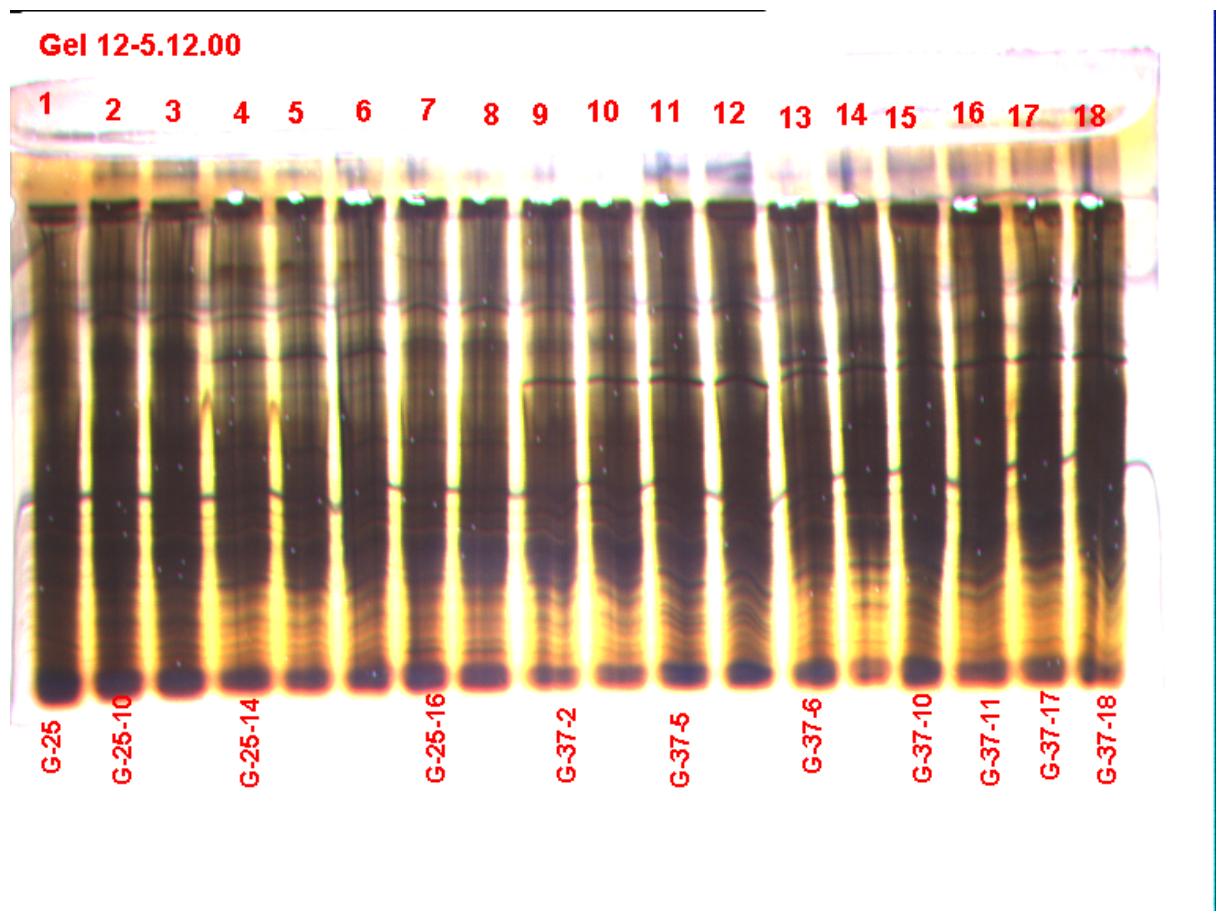
Nr	TS(%)	RG/GT (%)	pH	Analysenstarke Lösung		auf die GT des Extraktes			
Genotyp				Farbe	gRG/l	RG %	NG %	UL %	AZ
577 25-10	90.9	14	5.0	ockerbraun	3.1	49.1	49.1	1.8	50
578 25-14	90.9	16.8	4.9	ockerbraun	3.4	51.5	45.5	3	53.1
579 25-16	90.9	17.1	4.9	narzissen-gelb	3.1	54.4	42.1	3.5	56.4
580 37.1	91	13	5.0	honiggelb	2.9	44.5	51.8	3.7	46.2
581 37.2	90.9	13.9	5.0	maisgelb	3	44.6	51.8	3.6	46.3
582 37-4	91	18	5.0	lehmbraun	3.2	53.3	45	1.7	54.2
583 37-5	91.6	12.5	5.3	orangebraun	2.9	39.3	59	1.7	40
584 37-6	91.6	14	5.0	orangebraun	3	43.1	53.4	3.5	44.6
585 37-7	91.9	11.5	5.1	lehmbraun	2.6	37.5	60.7	1.8	38.2
586 37-10	91.4	10.6	5.7	goldge3lb	2.8	37.5	60.4	2.1	38.3
587 37-11	91.8	14.2	5.4	goldge3lb	3.7	45.7	54.3	0	45.7
588 37-14	91.8	13.2	5.0	orangebraun	3	42.3	57.7	0	42.3
589 37-17	92.3	16.6	5.1	orangebraun	3.1	48.4	48.4	3.2	50
590 37-18	91.9	17.1	5.0	narzissen-gelb	3.4	50	48.5	1.5	50.8

Anlage 11: Gerbstoffgehalte der ausgewählten Genotypen in verschiedenen Jahren

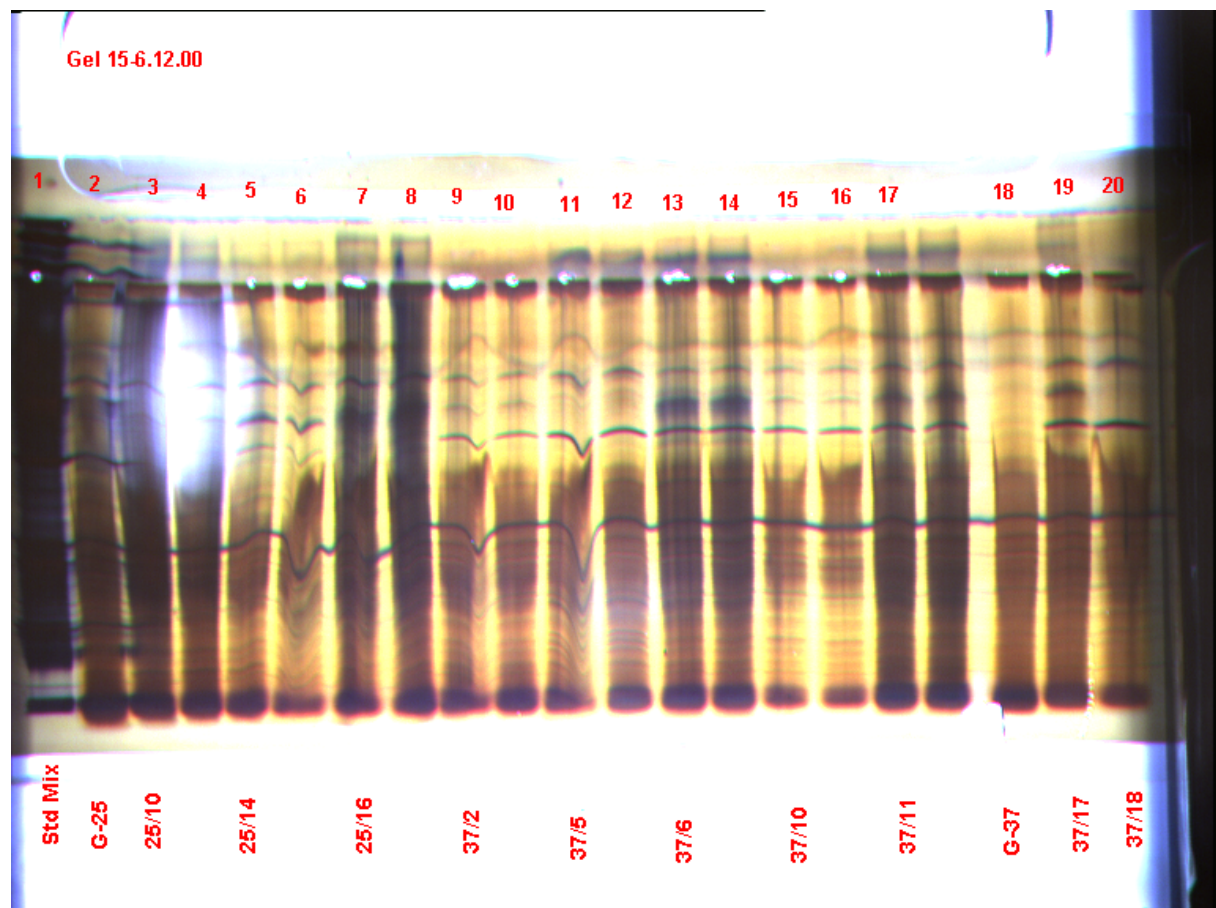
Genotyp/Jahr

	TS(%)	RG/GT % Analysenstarke Lösung Farbe	auf die GT des Extraktes				
			pH	RG	NG	UL	AZ
2-94	91.1	17.6 rehbraun	5	45.6	52.9	1.5	46.3
2-96	91.2	14.7 rehbraun	5	50	47.1	2.9	61.8
2-98	91.9	15.1 nußbraun	5.2	49.1	49.1	1.8	50
11-93	92.5	22.2 nußbraun	5.1	51.2	48.8	0	51.2
11-96	90.3	17.7 schokobraun	5.3	55.6	41.7	2.7	57.1
11-98	91.6	16.4 rehbraun	4.9	56.2	41.7	2.1	57.4
12-94	89.9	17 nußbraun	5.2	37.2	61.4	1.4	37.7
12-96	90.1	11.3 schokobraun	5.4	37	59.3	3.7	61.5
12-98	90.3	12.8 nußbraun	5.4	40.5	59.5	0	40.5
21-93	89.9	17.7 rehbraun	4.8	43.6	53.2	3.2	45
21-96	90.8	13 nußbraun	5.1	45.4	54.6	0	45.4
21-98	91.8	12.6 rehbraun	4.9	52.8	47.2	0	52.8
24-94	90.7	13.9 lehm- braun	5.1	41.2	56.9	1.9	42
24-96	90.8	14.4 lehm- braun	5	58.3	38.3	3.4	60.4
24-98	91.9	13.4 lehm- braun	4.9	55.2	41.4	3.4	57.1
25-94	91	19.6 mahagonibraun	4.9	54.5	43.2	2.3	55.8
25-96	91.2	19.4 schokobraun	5	62.5	35	2.5	64.1
25-98	91.1	17.9 mahagonibraun	5	60.3	39.7	0	60.3
37-94	90.7	13.4 rehbraun	5.1	38.5	58.5	3	39.7
37-96	89.6	12 schokobraun	5.2	40.2	56.6	3.2	41.5
37-98	91.6	11.7 schokobraun	5.1	49.2	51.8	0	49.2

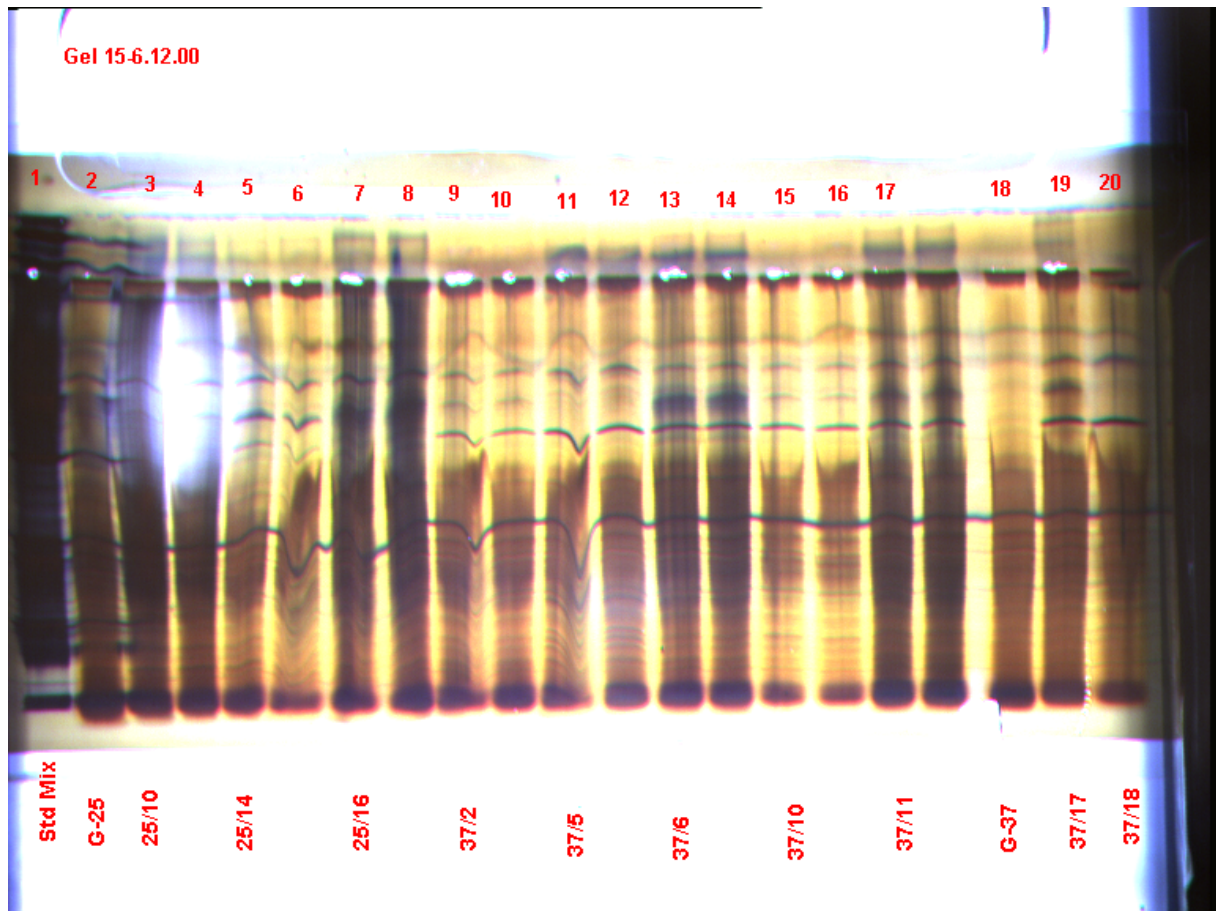
Anlage 12: Gel 12



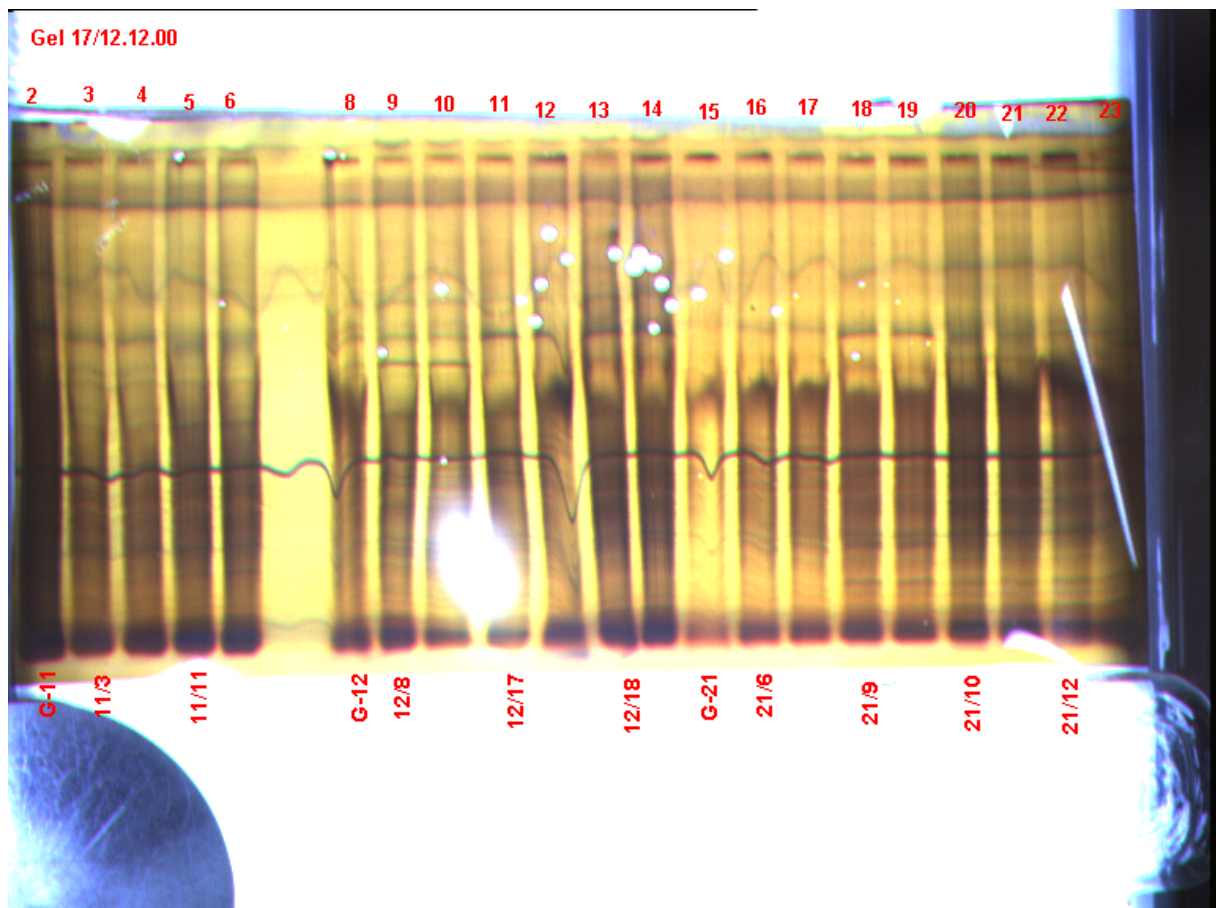
Anlage 13: Gel 15



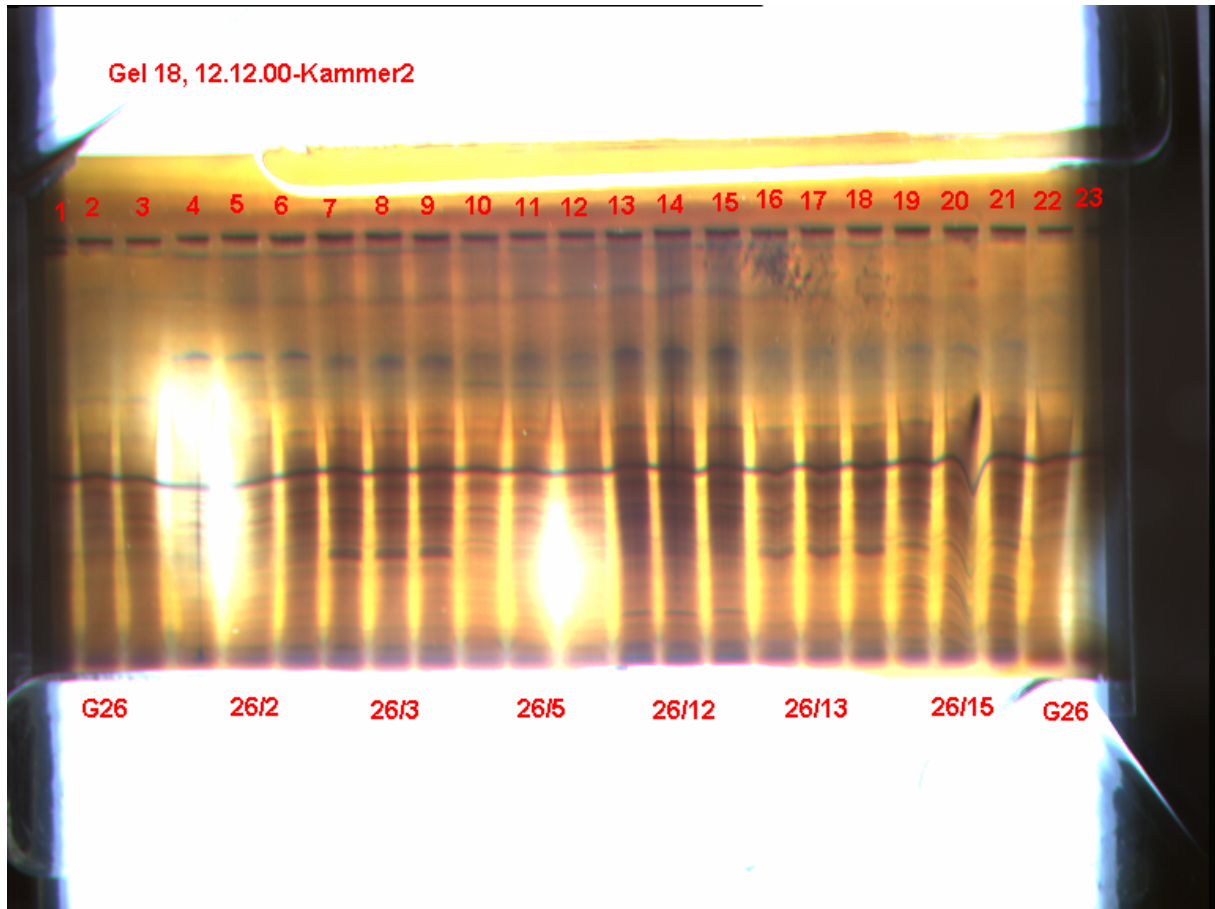
Anlage 14: Gel 16



Anlage 15: Gel 17



Anlage 16 Gel 18



Anlage 17: Bilder

Für die Untersuchungen ausgewählte Genotypen



Genotyp 2



Genotyp 11



Genotyp 12



Genotyp 24



Genotyp 25



Genotyp 37



Spenderpflanzen für die Mikrovermehrung



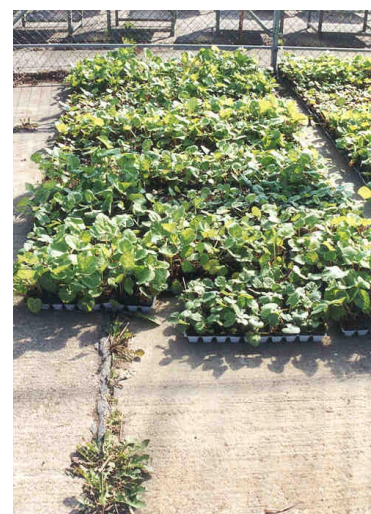
Regenerierte Pflanzen vor und nach dem Teilen



Depothaltung



Überführung auf Erdkultur



Mikrovermehrte Pflanzen in Topfkulturen zur Pflanzung

”Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als Voraussetzung zum Anbau und zur Großtechnischen Isolierung der Gerb- und Farbstoffe” (Förderkennzeichen: 96NR176-F)



In- vitro- Pflanzen bei Auflaufen nach den Pflanzjahr



Rhabarberpflanze (In vitro) nach der ersten Wachstumsperiode



Geschlossener Rhabarberbestand



Aussaatversuch

”Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als Voraussetzung zum Anbau und zur Großtechnischen Isolierung der Gerb- und Farbstoffe” (Förderkennzeichen: 96NR176-F)



Genotyp 2, mikrovermehrt, 3. Standjahr



The Sutton, wurzelgepflanzt, 3. Standjahr



Zweijährige Rhabarberwurzel

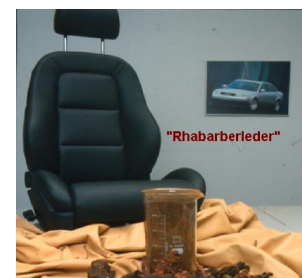
”Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als Voraussetzung zum Anbau und zur Großtechnischen Isolierung der Gerb- und Farbstoffe” (Förderkennzeichen: 96NR176-F)



Geerntete Wurzeln (3- jährig) vor der Reinigung



Wäsche in der Zuckerfabrik



Produkte aus „Rhabarberleder“

”Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als Voraussetzung zum Anbau und zur Großtechnischen Isolierung der Gerb- und Farbstoffe” (Förderkennzeichen: 96NR176-F)