

Schlußbericht

zum Verbundvorhaben

Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie

„Entwicklung von schwermetallfreien

Färb-und Gerbmitteln und -verfahren“

Rohstoffherzeugung und -charakterisierung

FKZ 14 810 22 8

Bearbeitungszeitraum: 01.08.1996 bis 31.03.1999

Bernburg, den 29.10.99

Prof. Dr. I. Schellenberg

Projektverantwortlicher

K.Kabrodt

Themenbearbeiter

Hochschule Anhalt (FH)
Standort Bernburg
FB Landwirtschaft, Oekotrophologie
und Landespflege
(Name der Forschungsstelle)

Bernburg ,den 29.10.99

Registrier-Nr.: 423-4014-1481022

Forschungsthema

Verbundvorhaben:
Abfallvermeidung und -verwertung in
der Lederindustrie

TV 6: „Entwicklung von schwermetallfreien
Färb- und Gerbmitteln und -verfahren“
Rohstoffbereitstellung/Rohstoffcharakterisierung

FKZ: 14 81022 8

Projektverantwortlicher: Prof. Dr. I. Schellenberg

Themenbearbeiter: K. Kabrodt

Das Ziel des Forschungsvorhabens wurde erreicht.

Bearbeitungszeitraum: 01.08.1996 bis 31.03.1999

Abschluß des Vorhabens: 31.03.1999

Prof. Dr. I. Schellenberg

Projektverantwortlicher

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
Abkürzungen und Begriffserklärungen	5
<u>1. Aufgabenstellung</u>	6
<u>2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde</u>	7
<u>3. Planung und Ablauf des Vorhabens</u>	7
<u>4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde</u>	7
<u>5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen</u>	8
<u>6. Untersuchungen und Ergebnisse</u>	9
6.1 <u>Rohstoffbereitstellung</u>	9
6.1.1 Vorarbeiten	9
6.1.2 Versuchsfeldanlage 1996	9
6.1.3 Versuchsdurchführung	11
6.1.4 Bearbeitung der Versuchsflächen	11
6.1.5 Rheum	12
6.1.5.1 Einfluß der Mindeststandzeit auf die Wurzelbiomassebildung	12
6.1.5.2 Gerbstoffgehalte im Genotypensortiment	12
6.1.5.3 Düngung	14
6.1.5.4 Schaffung von Voraussetzungen für großflächigen Anbau	16
6.1.5.4.1 Pflanzgutgewinnung	17
6.1.5.4.2 Mikrovermehrung	17
6.1.5.4.3 Versuche zur Reinigung, Trocknung und Zerkleinerung der Wurzeln	19
6.1.5.4.4 Anbauverfahren für Rhabarber	20
6.1.5.5 Ganzheitliche Betrachtung "Gerbstoffe aus Rhabarberwurzeln"	21
6.1.5.5.1 Bereich Landwirtschaft	22
6.1.5.5.2 Bereich Extrakteur	23
6.1.5.5.3 Bereich Lederindustrie	24
6.1.5.6 Ökonomische Betrachtungen zu Anbau, Bearbeitung und Ernte von Rhabarberwurzeln	26
6.1.6 Reynoutria	28
6.1.6.1 Ermittlung des optimalen Erntezeitpunktes	28
6.1.6.2 Auswirkung der Totalbeerntung auf den Gerbstoffgehalt	29

6.1.6.3	Biomasse	30
6.1.6.4	Pflanzung von Staudenknöterich (<i>Reynoutria sachalinensis</i>)	31
6.1.6.5	Pflanzenentwicklung	31
6.1.6.6	Bearbeitung der Bestände	31
6.1.6.7	Ernte der Biomasse von Staudenknöterich	32
6.2.	<u>Inhaltsstoffanalytik</u>	33
6.2.1	Geräte und Chemikalien	33
6.2.2	Anthracenderivate	34
6.2.3	Entwicklung eines HPTLC-Verfahrens	36
6.2.4	Entwicklung eines HPLC-Verfahrens	38
6.2.5	Untersuchung des Genotypensortiments	40
6.2.6	Untersuchung der nach ihrer Farbe ausgewählten Genotypen	42
6.2.7	Untersuchung der Probe kaltwasserunlösliche Fraktion	43
6.2.7.1	Qualitative dünnschichtchromatografische Untersuchungen	45
6.2.7.2	Massenspektrometrische Untersuchungen	49
6.2.8	Untersuchung der Rohstoffe und Extrakte auf ihren Schwermetallgehalt	58
6.2.9	Zusammenfassung	60
7.	<u>Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse</u>	61
8.	<u>Während der Durchführung des Vorhabens bekanntgewordener Fortschritt auf diesem Gebiet bei anderen Stellen</u>	62
9.	<u>Veröffentlichung der Ergebnisse</u>	62
10.	<u>Literaturverzeichnis</u>	63
	Verzeichnis der Anlagen	64
	Erfolgskontrollbericht	

Abkürzungen und Begriffserklärungen

AZ	Anteilzahl
Cr	Chrom
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
FILK	Forschungsinstitut für Leder-und Kunstledertechnologie gGmbH Freiberg
GR	Glührückstand
GT	Gesamttrockenmasse
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
HS Anhalt	Hochschule Anhalt (FH)
K	Kalium
KAS	Düngemittel (Kalk-Ammon-Salpeter)
M + H ⁺	Quasimolekulation bei positiver Ionisierung
M - H ⁺	Quasimolekulation bei negativer Ionisierung
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. Aufgabenstellung

Die Chromgerbung ist das derzeit dominierende Verfahren zur Herstellung von Leder. Es ist kein Verfahren bekannt, das diese hohe Lederqualität mit gleichem Aufwand erreicht. Jedoch ist die Entsorgung chromhaltiger fester Abfälle aus der lederherstellenden und -verarbeitenden Industrie sowie der verschlissenen Lederartikel (Schuhe, Kleidung, Täschnerwaren, Polstermöbel) ein offenes Problem. In Deutschland betrifft das 142.090 t feste Abfälle und 34.400 t Klärschlämme (35% TS) bei einer Lederproduktion von 15 Mio m².

Die Kritik an der Chrombelastung der Umwelt ist derzeit so hoch, daß selbst Teillösungen zur mengenmäßigen Begrenzung des Chromeinsatzes zu einer spürbaren Entschärfung der Situation beitragen können.

Möglichkeiten, um zumindest zu einer Verminderung des Chromeinsatzes zu kommen, werden in der Rückbesinnung auf pflanzliche Gerbmittel in der Hauptgerbung gesehen. Dort hatten diese bis in das erste Drittel dieses Jahrhunderts dominiert, wurden jedoch aus Kosten- und Qualitätsgründen von Chrom-III-salzen verdrängt.

Heute sind viele Gründe, die zum Niedergang der Hauptgerbung mit pflanzlichen Gerbmitteln führten, kritisch zu bewerten und bedürfen in vielen Bereichen der wissenschaftlichen Prüfung. Dazu kommt, daß die Landwirtschaft nach alternativen Formen der Bodennutzung sucht und die handelsüblichen pflanzlichen Gerbmittel zum Großteil aus natürlich vorkommenden Bäumen gewonnen werden, deren Rodung Wildbestände gefährdet. Soweit sie plantagenmäßig gewonnen werden, sind Mengenaufkommen und Variationsbreite weitgehend begrenzt.

Die Herstellung chromfreier Leder läßt sich mit der derzeit praktizierten Lederfärbung mit schwermetallhaltigen Farbstoffen nicht vereinbaren.

Die Lederhersteller laufen Gefahr, auch bei der chromfreien Gerbung durch eine nachfolgende Färbung mit Metall-Komplex-Farbstoffen den Grenzwert von 1 mg Cr/l Restflotte zu überschreiten. Es fallen schwermetallhaltige Schlämme und Abfälle an. Deshalb besteht ein Bedarf an schwermetallfreien, möglichst natürlich vorkommenden Farbstoffen.

Hierzu wurden die im Wurzelmaterial der Knöterichgewächse, im speziellen in den Wurzeln der Rheum- Genotypen natürlich vorkommenden Farbstoffe untersucht. Es wurde getestet, ob diese Farbstoffe kostengünstig aus dem Pflanzenmaterial isoliert und in reiner Form zur Verfügung gestellt sowie auch nach den Qualitätsanforderungen der Gerberei erfolgreich bei der Färbung von Leder eingesetzt werden können. Als Alternative zur Isolierung der Farbstoffe werden die unaufbereiteten Extrakte der infragekommenden Genotypen zur Gerbung und Färbung genutzt.

Aus dieser Situation wurde das Vorhaben abgeleitet, das an die seit 1992 im Rahmen des Verbundvorhabens "Abfallvermeidung- und verwertung in der Lederindustrie" von der Hochschule Anhalt (FH) in Bernburg, der NIG GmbH in Magdeburg und der FILK gGmbH in Freiberg begonnenen Arbeiten zur Gewinnung und Anwendung von Gerbmitteln aus den Wurzeln der Knöterichgewächse anknüpfte.

Als Untersuchungsobjekt dienten aus der Familie der Polygonaceen (Knöterichgewächse) die Gattungen Rheum (Rhabarber) und Reynoutria (Staudenknöterich), von denen an der Hochschule Anhalt (FH) 42 bzw. 2 Genotypen existieren. Als Rohstoffherzeuger ergaben sich für die HS Anhalt innerhalb des Forschungsprogrammes folgende Aufgaben:

- Vertiefende Untersuchungen zur Gerbstoffproblematik mit größeren Pflanzenmengen der Gattungen Reynoutria und Rheum
- Ermittlung des Einflusses des Erntezeitpunktes auf den Gerbstoffgehalt für die Gattung Reynoutria
- Erweiterung der Untersuchungen auf die Gewinnung der in den Wurzeln verschiedener Genotypen von Rheum (Rhabarber) natürlich vorkommenden Farbstoffe
- Entwicklung und Optimierung analytischer Untersuchungsmethoden zur chemischen Charakterisierung der in diesen Wurzeln vorkommenden Farbstoffe
- Chemisch- analytische Untersuchung des Pflanzenmaterials auf Begleitstoffe;

- Lieferung des Pflanzenmaterials an die NIG GmbH Magdeburg zur Durchführung von Extraktionsversuchen;
- Lieferung des Pflanzenmaterials an das FILK Freiberg zur Bestimmung des Gerbstoffgehaltes in den einzelnen Spezies.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Mit dem Zuwendungsbescheid vom 31.07.96 konnte das Verbundvorhaben

„Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie; TV 6: Entwicklung von schwermetallfreien Färb- und Gerbmitteln und -verfahren; Rohstoffherzeugung und -charakterisierung“

mit dem Förderkennzeichen 1480878/6 am 01.08.96 begonnen werden.

Die Höhe der Zuwendung für die Hochschule Anhalt (FH) betrug 641.430,00 DM für den Bewilligungszeitraum

01.08.1996 bis 31.01.1999.

Mit Schreiben des UBA vom 30.10.1998 wurde die Laufzeit des Vorhabens kostenneutral bis zum 31.03.1999 verlängert.

Mit den Verbundpartnern NIG GmbH Magdeburg und dem Forschungsinstitut für Leder- und Kunstleder-technologie gGmbH Freiberg wurde für den Bearbeitungszeitraum ein Kooperationsvertrag geschlossen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Innerhalb des Verbundvorhabens „Abfallverwertung und -vermeidung in der Lederindustrie“ bearbeitete die Hochschule Anhalt (FH) die Teilaufgabe „Rohstoffbereitstellung/Rohstoffcharakterisierung“ im Zeitraum 01.08.1996 bis 31.03.1998 entsprechend dem Arbeitsplan aus dem Antrag an das UBA vom 07.05.1996.

In Absprachen mit den Kooperationspartnern 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

Vor Einführung der synthetischen Farbstoffe wurden zur Färbung von Leder natürliche Farbstoffe eingesetzt. Nachdem sie diese überragende Bedeutung zwischenzeitlich verloren hatten, werden heute wieder Farholzextrakte in kristalliner Form oder als Pulver mit gleichbleibender Konzentration gehandelt /1/.

Rheum ist schon seit 4 000 Jahren, zuerst in China, wegen der abführenden Wirkung seiner Rhizom-inhaltsstoffe (z. B. in Rheum palmatum = Medizinalrhabarber) medizinisch genutzt worden. Die Verwendung der fleischigen Blattstiele für Kompott kam erst um 1750 in England auf /2/.

Die medizinisch wirksamen Inhaltsstoffe der Rhabarberwurzeln sind Anthrachinone, Anthranole, Anthrone und Dianthrone, die als Glykoside und als Aglykone vorliegen. Diese sind auch zum Färben geeignet und man kann gelbe und orange Farbtöne auf Wolle erhalten.

SCHWEPPE /3/ beschreibt Rheum nobile sowie Rumex nepalensis als Sikkimesische Färbepflanzen für das 18. Jahrhundert. Rhizomteile des Rheums rhabarberum, des Gemüserhabarbers, und des Rumex obtusifolius fanden zur gleichen Zeit in Deutschland Anwendung zur Gelb- bzw. Orangefärbung von Wolle.

Der hauptsächlich in den Wurzeln von zahlreichen Rheum- und Rumex-Spezies vorkommende Farbstoff ist Chrysophanol, häufig auch als 8 β -D-Glykosid (=Chrysophanein) /4/ bezeichnet.

Normalerweise kommt Chrysophanol zusammen mit Emodin, Rhein, Physcion und ähnlichen Chinonen in Pflanzen vor.

Zahlreiche Heterodianthrone dieser Verbindungen sind als Glykoside in den Wurzeln von Rheum-Spezies enthalten /5/ (siehe dazu auch Punkt 6.2.2).

Weltweit werden jährlich ca. 800.000 t synthetische Farbstoffe, davon 156.000 t in Deutschland, produziert. Die Lederindustrie ist einer der größten Verbraucher von Farbstoffen /6/. Geschliffene Leder werden mit ca. 8 % Farbstoff gefärbt. Das erfolgt vor dem Hintergrund der steigenden Lederproduktion: von einer Milliarde m² im Jahre 1980, über 1,8 Milliarden m² im Jahre 1992 auf ca. 2 Milliarden m² im Jahre 2000 /7/.

Derzeit erfolgt eine grundsätzliche neue energetische und ökologische Bewertung der Herstellung und des Einsatzes synthetischer Farbstoffe. Das geschieht zu einem Zeitpunkt, wo bei den konkurrierenden natürlichen Farbstoffen entscheidende Nachteile, die zu ihrer Ablösung geführt hatten, darunter die ungenügende Konformität, durch den fortgeschrittenen Stand der Pflanzenzüchtung und der Extraktionstechnik ausgeräumt werden können. Dieser sich abzeichnende Prozeß der kritischen Betrachtung sowohl der synthetischen Gerb- wie auch der Farbstoffe durch die Lederindustrie wurde nicht zuletzt durch das steigende Umweltbewußtsein ausgelöst. Der Slogan "Saubere Technologie" sowie die Werbeargumente "Bio-Leder" und "Öko-Labels" rücken die pflanzliche Gerbung und Färbung verstärkt in das Interesse. SCHMIDT von der AUDI-AG stellt sich die Lösung durch ein schwermetallfreies, mit wasserlöslichen organischen oder natürlichen Farbstoffen gefärbtes Leder vor /8/.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Auf der Grundlage des Kooperationsvertrages FILK-Reg.-Nr.: Vf 205/96 vom 21.08.1996 wurde das Fo-Vorhaben „Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie; Entwicklung von schwermetallfreien Färb- und Gerbmitteln und -verfahren“ gemeinsam mit der Nahrungs-Ingenieur-Technik-GmbH Magdeburg und dem Forschungsinstitut für Leder- und Kunstledertechnologie gGmbH Freiberg bearbeitet.

6. Untersuchungen und Ergebnisse

6.1 Rohstoffbereitstellung:

6.1.1 Vorarbeiten

Voraussetzung für die Bearbeitung des Themas war die Ernte des Rheum- Genotypensortimentes (42 Genotypen) im Frühjahr 1996.

Damit wurde gewährleistet, daß zum mehrmals verschobenen Beginn des Bearbeitungszeitraumes 01.08.96 genügend Pflanzenmaterial zur Verfügung stand, um umgehend mit den analytischen Untersuchungen bzw. den Extraktions- und Applikationsversuchen beginnen zu können.

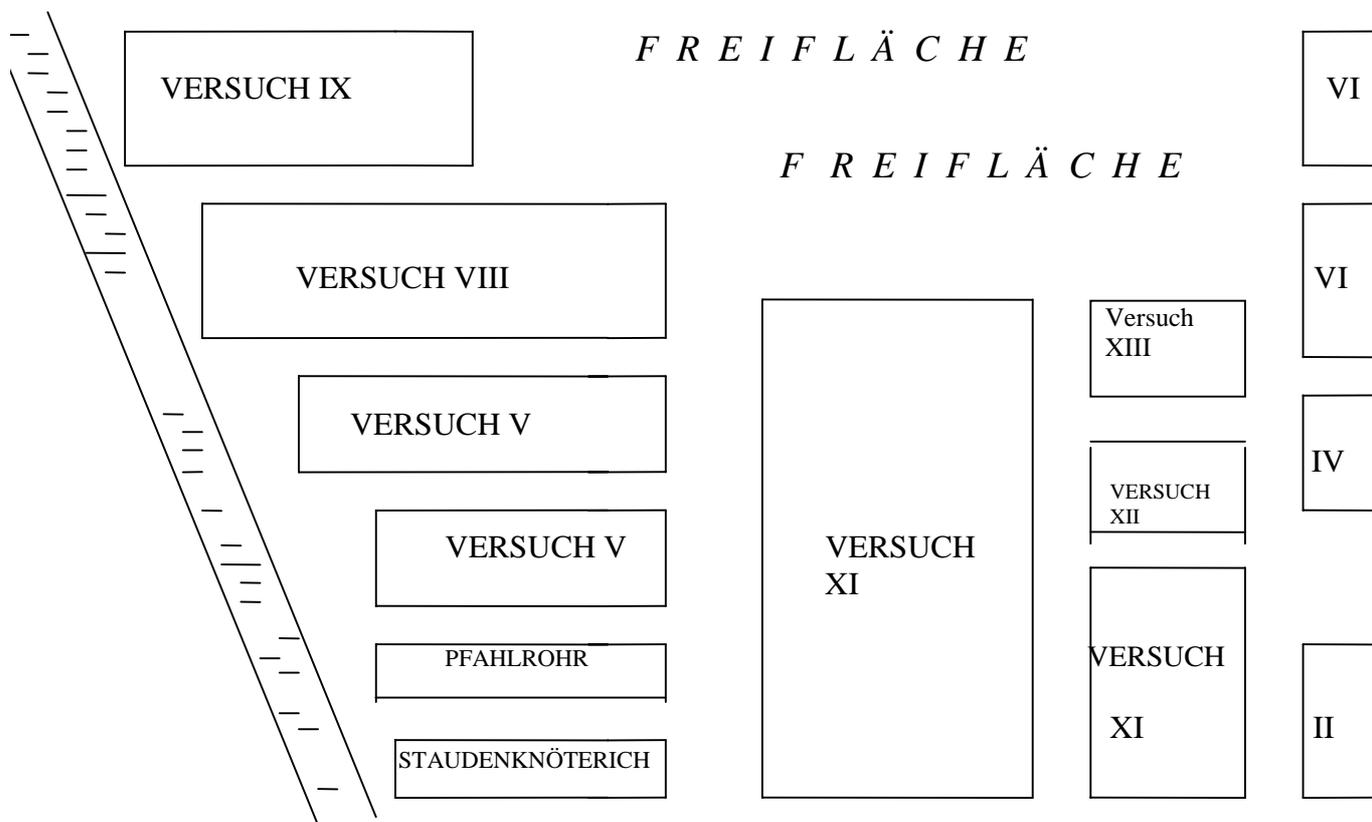
Der NIG GmbH konnten ≥ 4 kg Trockenmasse pro Genotyp, dem FILK Freiberg ≥ 100 g Trockenmasse pro Genotyp zur Verfügung gestellt werden.

6.1.2 Versuchsfeldanlage 1996

In Abbildung 1 ist die Versuchsfeldanlage zu Projektbeginn 1996 dargestellt.

Abb. 1: Versuchsfeld Kohlenstraße Bernburg, Rhabarber, Ampfer, Knöterich 1996

HAUPTWEG



Versuch II: Vermehrung der Sorte „The Sutton“, vorrangig für Probenahmen oberirdischer Biomasse;

Versuch III: Beerntung im Frühjahr 1996. Der NIG GmbH konnten ≥ 4 kg Trockenmasse pro Genotyp, dem FILK Freiberg ≥ 100 g Trockenmasse pro Genotyp zur Verfügung gestellt werden.

Versuch IV: Unterschiedliche Beerntung der oberirdischen Masse bei zwei Düngungsstufen

- Var. 1: 80 kg N/ha, totale Blatternte mehrmals (2-mal 1994)
- Var. 2: s. o. , totale Blatternte jährlich einmal
- Var. 3: s. o. , Blatt wird nicht geerntet
- Var. 4: s. o. , ca. 1/3 der Blattmasse (Gemüseernte)
- Var. 5: s. o. , totale Blatternte jährlich einmal (Mähvariante mit Sichel)
- Var. 6: 160kg N/ha, wie Var. 1
- Var. 7: s. o. , wie Var. 2
- Var. 8: s. o. , wie Var. 3
- Var. 9: s. o. , wie Var. 4
- Var.10: s. o. , wie Var. 5

Versuch V: Unterschiedliche Einbringung des Düngers bei zwei Düngungsstufen (80 kg N/ha, 160 kg N/ha)

- Var. 1: 80 kg N/ha mit Beregnung
- Var. 2: 160kg N/ha mit Beregnung
- Var. 3: 80 kg N/ha plus Gülle mit Beregnung
- Var. 4: 80 kg N/ha plus jährliche PK- Düngung mit Beregnung
- Var. 5: 80 kg N/ha ohne Beregnung
- Var. 6: 160kg N/ha ohne Beregnung
- Var. 7: 80 kg N/ha plus Gülle ohne Beregnung.

Versuch VI: Anlage 1994 mit der Sorte „The Sutton“; Bereitstellung von oberirdischem Material in größeren Mengen bzw. von Wurzelmaterial nach Beendigung der 2-jährigen Vegetationszeit für kleintechnische Extraktionsversuche;

Versuch VII: Beerntung im Frühjahr 1996 (siehe Versuch III)

Versuch VIII: weitere ausgewählte Rheum- Genotypen; bislang noch nicht näher charakterisiert

Versuch IX: Ampferbestand, Anlage 1994; Erhalt für zukünftige Fragestellungen;

Versuch X: 9 Genotypen wurden aufgrund ihrer Farbgebung gezielt vegetativ auf ≤ 25 Individuen vermehrt (2, 9, 11, 12, 17, 19, 21, 24, 25, 29, 30, 39, Anlageplan siehe *Anhang 1*). Nach 2 1/2 Standjahren (1998) wurden alle Pflanzen beerntet und als Ausgangsmaterialien für die Farbstoffextraktionsversuche der NIG GmbH zur Verfügung gestellt.

Versuch XI: Nach der vollständigen Beräumung der Versuche III und VII im Frühjahr 1996 erfolgte eine Neuanlage des vollständigen Genotypensortimentes (Anlageplan siehe *Anhang 2*). Damit wird auch über den Abschluß des Fo-Themas hinaus der Erhalt dieses großen Sortimentes an Rheum für zukünftige Fragestellungen gewährleistet.

Versuch XII: Fruchtsäuren (Anlageplan siehe *Anhang 3*)

Versuch XIII: Genotypen-Reserve (Anlageplan siehe *Anhang 3*)

Versuch Staudenknöterich: Anlage Herbst 1993;

- Var. 1: 10 Pflanzen Reynoutria japonica (Herkunft Großbeeren),
- Var. 2: 10 Pflanzen Reynoutria sachalinensis (Herkunft Großbeeren),

Var. 3: 10 Pflanzen *Reynoutria sachalinensis* (Herkunft Oldenburg).
 Von diesen Pflanzen wurden Monatsproben zur Ermittlung des optimalen Erntezeitpunktes für eine Gerbstoffgewinnung genommen.

6.1.3 Versuchsdurchführung

Die Anlage der Versuche erfolgte durch Pflanzung von Rhizomstücken. Neben dem Erreichen hoher Erträge mit den gewünschten Inhaltsstoffeigenschaften besteht das Ziel (auch das der potentiellen industriellen Nutzer), die Rohstoffe so ökologisch wie möglich zu erzeugen. Deshalb sollen chemische Mittel für die Reinhaltung der Bestände nur in Ausnahmefällen eingesetzt werden.

Für die oben beschriebene Versuchsfeldfläche war eine Bearbeitung manuell und mit Versuchsfeldtechnik ausreichend. Über die Erfahrungen mit größeren Versuchsfeldern siehe 6.1.5.5.4.

Schlagkartei Genotypenversuche

Standort:	Bernburg, 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

6.1.4 Bearbeitung der Versuchsfelder

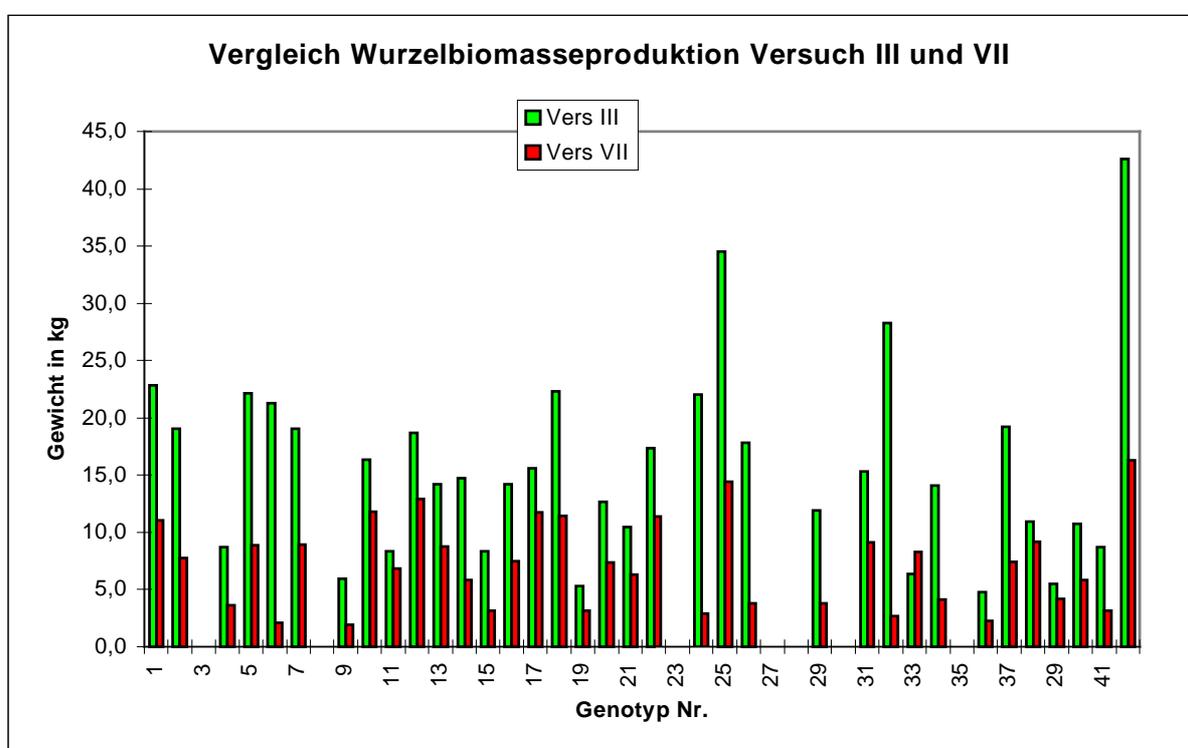
29.04.1996	Rodung der Versuche III und VII
08.05.1996	Mechanische Bodenbearbeitung vor der Pflanzung mit der Kreiselegge
08.05.1996	Pflanzung der Versuche
05.06.1996	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Kleintraktor und Hackmaschine
17.06.1996	Mechanische Unkräuterbeseitigung mittels Handhacke
24.06.1996	100 kg N/ha gedüngt (KAS)
19.07.1996	Mechanische Bearbeitung mit Kleintraktor und Hackmaschine
20.08.1997	Handhacke
20.09.1997	Handhacke
14.03.1997	100 kg N/ha gedüngt (KAS)
15. - 17.04.97	Handhacke
22.04.1997	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Kleintraktor und Hackmaschine
19.06.1997	Handhacke
17.07.1997	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Fräse
28.08.1997	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Kleintraktor
15.04.1998	100 kg N/ha gedüngt (KAS)
15.04.1998	Handhacke
28.05.1998	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Fräse
19.06.1998	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Kleintraktor und Hackmaschine
15.07.1998	Mechanische Bearbeitung der Fläche mit Handhacke
25. - 30.09.98	Rodung der Versuche X bis XIII, Neuanlage des Genotypensortimentes

6.1.5 Rheum

6.1.5.1 Einfluß der Mindeststandzeit auf die Wurzelbiomassebildung

Als Mindeststandzeit für Rheum wurde bei Rhizompflanzung nach bisherigen Erkenntnissen 2 Jahre veranschlagt. In Abbildung 2 ist die Wurzelbiomasseproduktion zweier Genotypensortimente gegenübergestellt. Versuch III wurde nach 3 Jahren Vegetationszeit, Versuch VII nach 2 Jahren geerntet. Gegenübergestellt wurden nur Genotypen, bei denen mindestens 3 Individuen pro Versuch zur Gewichtsermittlung zur Verfügung standen. Detaillierte Übersichten dazu finden sich in *Anhang 4 bzw. 5*. Es zeigt sich, daß fast ausnahmslos bei 3-jähriger Standzeit deutlich höhere Biomassen zu erzielen sind. Daraus abzuleiten sind wesentlich höhere Ausbeuten an Reingerbstoff pro Hektar. Daher wird eine Mindeststandzeit von 3 Jahren für Rheum bei Rhizompflanzung empfohlen.

Abb. 2: Wurzelbiomasseproduktion nach 3 (grüne Säulen) bzw. nach 2 Jahren (rote Säulen) Standzeit



6.1.5.2 Gerbstoffgehalte im Genotypensortiment

In Tabelle 1 sind die Gerbstoffgehalte der einzelnen Rheum-Genotypen dargestellt. Weiterhin werden einige Parameter zur qualitativen Charakterisierung der Leder aufgeführt (FILK-Ergebnisse).

Tabelle1: Charakterisierung des Genotypensortiments

Genotyp	Wurzel			Analysenstarke Lösung		auf die GT vom Extrakt (50°/95°C je 2 h)			qual. Parameter aus Tablettentest	
	GT (%)	GR/GT (%)	RG/GT (%)	pH	Farbe	RG (%)	NG (%)	UL (%)	Kompres- sibilität (%)	Volumen- rendement (cm ³ /100g)
1	82,6	10,4	12,9	4,9	nußbraun	54,9	43,4	2	3,5	269
2	77,0	7,0	18,9	4,6	orangebraun	54,4	45,6	0	13,5	488
3	82,3	21,1	12,1	5,4	lehmbraun	52,2	46,0	2	12	542
4	82,4	22,8	10,8	4,8	lehmbraun	51,4	47,6	1,0	9,8	534
5	92,6	12,7	15,8	4,6	sepiabraun	42,1	56,1	2	8,7	453
6	86,3	9,9	11,9	5,3	braunoliv	39,2	60,1	0,7	11,2	567
7	86,3	12,6	12,9	5,1	grünbraun	44,4	47,4	8,2	3,3	322
8	89,7	13,0	11,2	5,3	schokola- denbr.	57,7	38,5	3,8	3,6	340
9	88,0	13,1	8,7	4,9	nußbraun	42,0	57,0	1,0	3,7	386
10*	81,2	14,1	10,8	5,1	sepiabraun	33,2	66,0	0,8	6	422
11	83,7	12,3	16,5	4,9	schokola- denbr.	53,9	45,5	0,6	6,2	366
12	83,6	15,3	11,9	5,3	nußbraun	53,7	45,5	0,8	12,1	410
13	94,1	10,9	9,2	4,8	orangebraun	34,4	65,6	0	6,9	491
14	91,4	8,9	15,2	5,2	lehmbraun	41,1	56,7	1,6	5,8	459
15	80,4	15,3	16,9	4,4	rehbraun	52,6	46,3	1,1	9	525
16	87,4	21,0	10,5	5,1	lehmbraun	48,0	52,0	0	6,4	392
17	75,3	7,3	13,6	4,8	orangebraun	40,8	59,2	0	5,1	436
18	70,3	11,1	16,8	5,2	lehmbraun	39,3	60,2	1	6,5	439
19	87,7	12,2	8,0	5,2	nußbraun	41,4	55,7	3	3	359
20	81,9	11,0	13,8	4,7	lehmbraun	48,1	51,9	0	4	449
21	59,8	13,4	12,5	4,9	lehmbraun	38,3	55,4	6	7,7	475
22	72,1	10,9	13,9	4,8	orangebraun	44,4	54,1	2	9,9	559
23	67,0	19,5	9,4	5,1	orangebraun	49,6	49,9	1	6,5	347
24	67,6	12,6	17,8	4,5	lehmbraun	55,2	40,7	4	8,2	437
25	96,7	9,6	20,5	4,5	orangebraun	58,8	41,2	0	9,2	464
26	76,6	13,4	14,0	5,0	lehmbraun	38,2	57,8	4,0	17,4	499
27	63,9	14,8	8,4	4,8	lehmbraun	46,3	51,0	2,7	3,5	422
28										
29	62,3	6,8	18,7	4,8	orangebraun	49,5	48,5	2,0	13,2	499
30	91,2	9,0	10,0	5,2	olivbraun	34,7	62,7	2,6	12,3	474
31	91,8	15,2	8,3	5,3	schokola- denbr.	47,5	48,8	3,7	4,2	400
32	91,6	11,3	14,7	5,1	nußbraun	48,0	50,0	2,0	4	363
33	77,0	13,1	8,4	4,8	nußbraun	47,6	49,9	2,5	8,7	470
34	74,9	13,8	11,8	5,0	lehmbraun	52,0	45,6	2,4	10,9	459
35	92,2	11,2	18,8	4,9	lehmbraun	33,8	61,2	5,0	6,6	518
36	78,7	11,6	15,6	5,0	lehmbraun	51,5	48,5	0	9,7	564
37	85,2	13,9	9,7	4,8	nußbraun	40,6	56,7	3	6,6	332
38	83,1	16,1	8,3	5,8	schokola- denbr.	50,4	36,5	13	4,5	427
39	93,4	14,5	13,0	4,7	lehmbraun	54,6	45,4	0	14,8	585
40	86,8	11,8	12,2	5,1	rehbraun	47,7	47,7	5	12,8	517

41	84,7	14,3	9,4	5,2	lehm Braun	31,2	63,6	5	3,3	380
42	80,8	12,7	12,6	5,6	schokola- denbr.	44,6	52,8	3	4,4	373

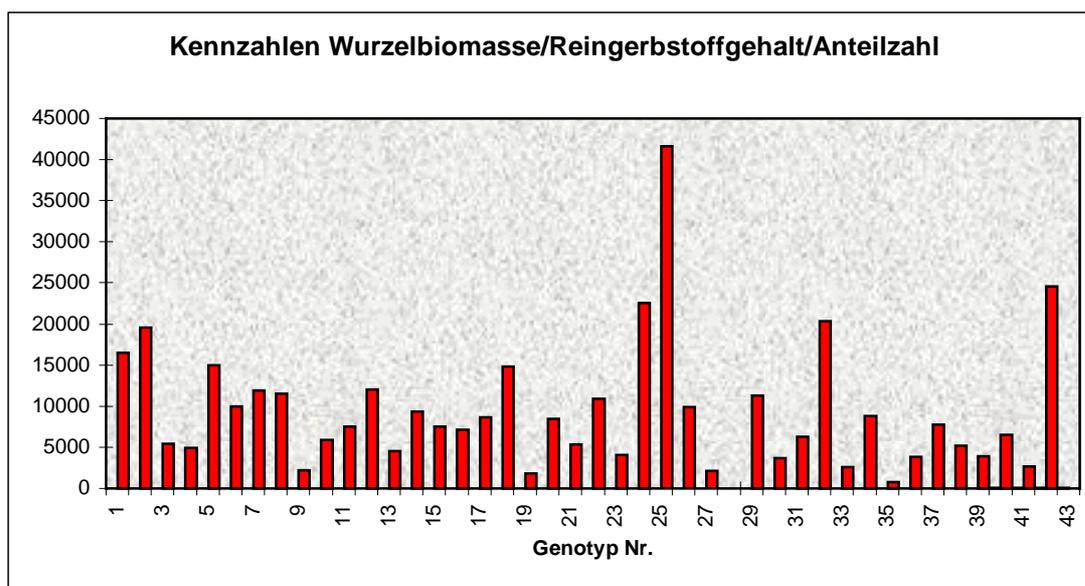
* Genotyp 10 entspricht den Genotypen 0 und 43 der Legende 1993

Analog zur Ergebnisdarstellung des Abschlußberichtes zum Thema 14 80 878/6 wurden für den Versuch III aus den ermittelten Wurzelbiomassen, dem Reingerbstoffgehalt pro Wurzeltrockenmasse sowie der Anteilzahl Kennzahlen zur Charakterisierung des Genotypensortimentes gebildet (Abbildung 3).

Aufgrund der hohen Wurzelbiomassen (siehe Abb. 2) sind die Kennzahlen deutlich höher als die für o.a. Abschlußbericht ermittelten. Herausragende Eigenschaften weisen wieder die Genotypen 2, 24 und 25 auf. Im vom FILK durchgeführten Tablettest wird auch das Lederbildungsvermögen (Volumenrendement) als gut eingeschätzt. Diese 3 Genotypen dürften zukünftig für den großflächigen Anbau infrage kommen, wobei das Pflanzmaterial auf anderem Wege als durch Teilung der Mutterwurzel gewonnen werden muß (siehe dazu Punkt 6.1.5.4.2 Versuche zur Mikrovermehrung).

Für die Genotypen 32 und 42 stehen keine vergleichenden Kennzahlen aus dem letzten Abschlußbericht zur Verfügung. Hier liegen aber die Parameter für die zu erreichende Lederqualität deutlich unter den 3 oben genannten Genotypen.

Abb. 3: Kennzahlen der Rheum-Genotypen



Trotz seiner im Vergleich zu den herausragenden Genotypen niedrigen Kennzahl bleibt weiterhin der Genotyp 10 von Interesse. Da dieser Genotyp als einziger in ausreichender Menge zur Verfügung stand, mußten alle größeren technologischen sowie Anbauversuche mit diesem Material durchgeführt werden. Die daraus hergestellten Extrakte dienen auch zur Gerbung ganzer Häute und zur Fertigung der Musterexponate für die Fa. Schomisch (siehe Punkt 7). Auch die nachfolgend genannten Untersuchungen zur Düngung wurden mit diesem Genotyp durchgeführt.

6.1.5.3 Düngung

Die Düngungsversuche IV und V wurden innerhalb des Forschungsthemas 14 80 878/6 angelegt. Ihre Auswertung war im o.g. Abschlußbericht nicht möglich, da eine Vegetationszeit von 3 Jahren eingehalten werden mußte, um eine optimale Gerbstoffproduktion und damit die Vergleichbarkeit mit den anderen Versuchen zu gewährleisten.

In Abbildung 4 und 6 sind die Reingerbstoffgehalte der verschiedenen Düngungsvarianten dargestellt. Pro Variante wurden 4 Individuen analysiert.

Abb. 4: Reingerbstoffgehalt /Wurzel trockenmasse beim Düngungsversuch V

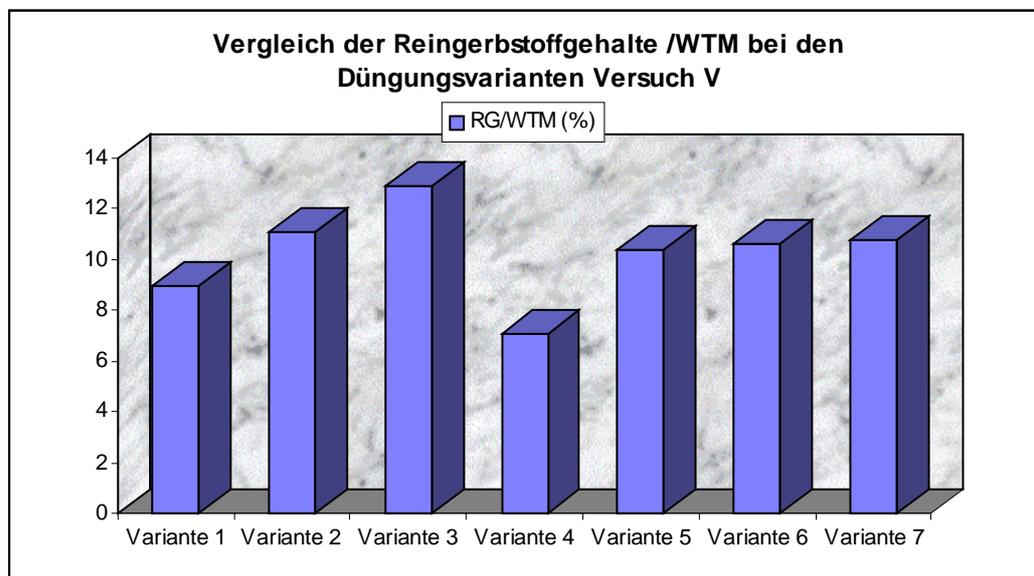
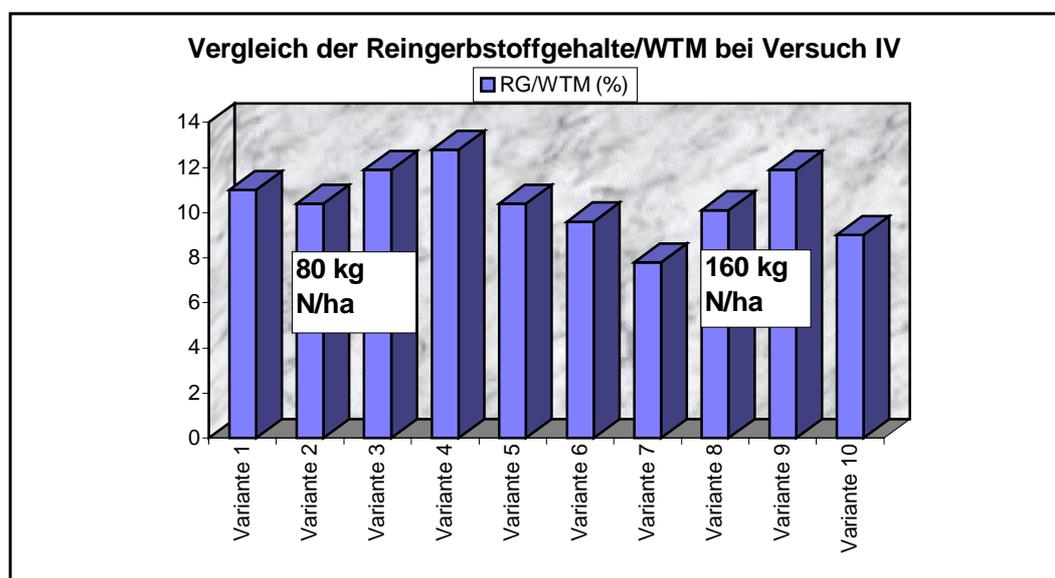


Abb. 5: Reingerbstoffgehalt /Wurzel trockenmasse beim Düngungsversuch IV



Die Unterschiede in den Reingerbstoffgehalten pro Wurzel trockenmasse sind nicht signifikant. Das gilt sowohl für berechnete und unberechnete Varianten als auch für Varianten, die mit unterschiedlichen Nährstoffen und Mengen an Düngemittel behandelt wurden. Gleiche Aussagen sind auch für die Wurzelbiomassebildung zu treffen (hier nicht dargestellt).

Daraus ist zu schlußfolgern, daß für Böden unserer Versuchsanlage eine Düngung in Höhe von 80 kg N/ha zum Ausgleich der Stickstoffbilanz völlig ausreichend ist. Sowohl für die Ausbildung der Biomasse als auch für den für diesen Genotyp charakteristischen Reingerbstoffgehalt hatten höhere Düngermengen keine Auswirkung.

Aus den Versuchsanlagen im 0,5 ha Maßstab liegen aber noch andere Erfahrungen vor (siehe Punkt 6.1.5.4.4). Durch die hohe oberirdische Biomassebildung des Rhabarbers lag dort ein intensiver Nährstoffzug vor.

Aus dem Anbau des Rhabarbers als Gemüsepflanze ist ein hoher K- Bedarf bekannt (200- 250 kg K_2O / ha). Stickstoff muss im ersten Jahr 150 und im zweiten 200 kg N/ha (geteilt zum Wachstumsbeginn und im Juli) verabreicht werden.

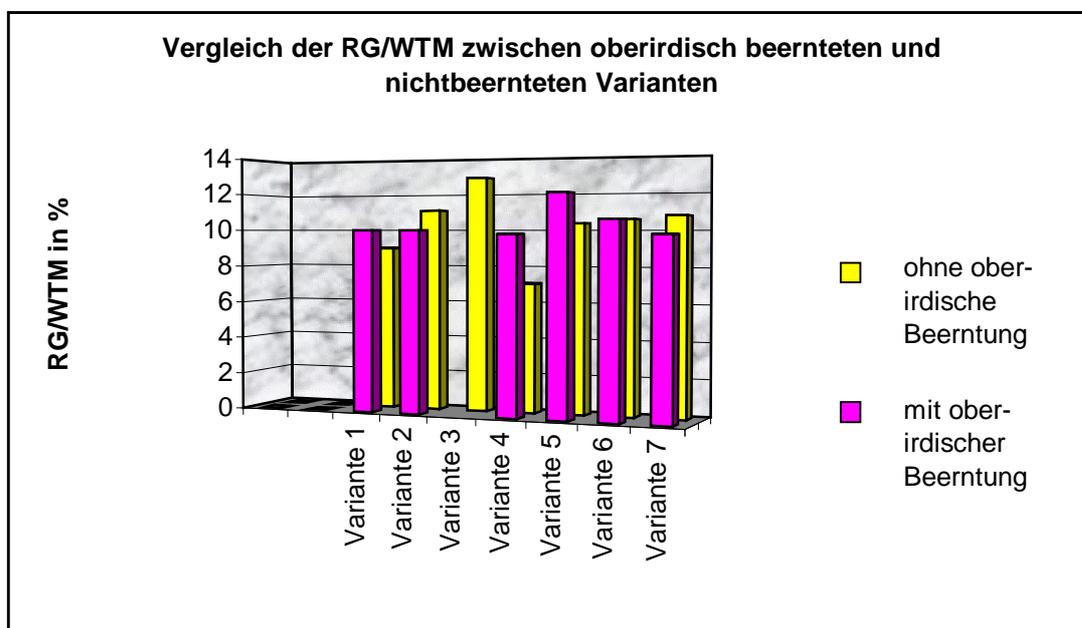
Für die Nutzung von Rhabarber wird die Strategie der Ganzpflanzenverwertung angestrebt. Bei einer Standzeit von 3-4 Jahren bis zur Ausbildung einer wirtschaftlich akzeptablen Wurzelbiomasse fällt mindestens einmal pro Jahr die oberirdische Biomasse an. In einem vom BMWi geförderten Fo-Projekt wurde geprüft, ob sich aus der oberirdischen Biomasse von Rhabarber die dort enthaltenen Fruchtsäuren Äpfel-, Zitronen- und Oxalsäure in reiner Form isolieren lassen (Patent Nr.: DE 197 55 426).

Es besteht ebenfalls die Möglichkeit, den fruchtsäurehaltigen Preßsaft bzw. Saftkonzentrat zur Herstellung von Reinigungsmitteln einzusetzen. In o. g. Fo-Thema wurden Rezepturen für einen Allzweckreiniger, ein Geschirrspülmittel, einen Sanitärreiniger sowie einen Kaffeemaschinenentkalker entwickelt. Diese Produktpalette wurde von 100 Haushalten mit guten bis sehr guten Resultaten getestet.

Die Erzeugung des Gerbextraktes kann durch diese zusätzliche Vermarktungsmöglichkeit der oberirdischen Biomasse noch ökonomischer gestaltet werden.

Das setzt jedoch voraus, dass sich die oberirdische Beerntung nicht negativ auf die Gerbstoffbiosynthese in den Wurzeln auswirkt. Die Versuche IV und V wurden deshalb in einzelnen Varianten auch oberirdisch beerntet. In Abb. 6 sind für den Versuch V die Reingerbstoffgehalte pro Wurzeltrockenmasse für oberirdisch beerntete und nicht beerntete Varianten dargestellt

Abb. 6: Einfluß der oberirdischen Beerntung auf den RG/WTM



Bei diesem Parzellenversuch läßt sich kein negativer Einfluß der oberirdischen Beerntung auf die Gerbstoffbildung in den Wurzeln feststellen.

6.1.5.4 Schaffung von Voraussetzungen für großflächigen Anbau

Für die nachfolgend dargestellten Ergebnisse wird auch auf Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zurückgegriffen, die im Rahmen zweier weiterer Fo-Themen durchgeführt worden sind. Bearbeitet wurden dabei die Themen:

- "Entwicklung von Verfahren zum Anbau sowie zur biotechnologischen Erzeugung von fruchtsäure-, gerb- und farbstoffhaltigen Pflanzenarten aus der Sicht einer industriellen Verwertung der Inhaltsstoffe" (gefördert vom Ministeriums für Raumordnung, Landwirtschaft und Umwelt des Landes Sachsen-Anhalt, Laufzeit: 04/ 95-12 /97) und
- "Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Erzeugung von Ausgangsmaterial von Rhabarber (Rheum) als Voraussetzung zum Anbau und zur großtechnischen Isolierung der Farbstoffe" (gefördert von der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, Laufzeit: 04/98- 12 /2000).

Da Teilergebnisse dieser beiden Themen bereits in die ganzheitliche Betrachtung (siehe Punkt 6.1.6) eingeflossen sind, sollen sie nachfolgend verkürzt dargestellt werden. Für detailliertere Ergebnisdarstellung wird auf die entsprechenden Abschluß- bzw. Zwischenberichte verwiesen.

6.1.5.4.1 Pflanzgutgewinnung

Bei Rhabarber ist die Vermehrung durch Pflanzung von aus definierten Mutterpflanzen gewonnenen Rhizomstücken üblich, da bei der Aussaat genetische Spaltungseffekte auftreten, die zur Vermischung der Sorteneigenschaften führen. Das spielte vor allem bei den Gemüserhabarbersorten mit definierten Geschmacksqualitäten eine Rolle und ist deshalb auch für die Gewinnung von Gerb- und Farbstoffen mit bestimmte Qualitätseigenschaften von Bedeutung.

Die Lieferung von Pflanzstücken durch den Handel ist möglich, steht aber bei einsetzendem größerem Bedarf an der Leistungsgrenze.

Vor allem aber die Lieferung der durch unsere Untersuchungen als besonders für die Gerb- oder Farbstoffproduktion geeigneten Sorten oder Genotypen läßt sich bei einem Bedarf für mehrere Hektar nur über die Mikrovermehrung verwirklichen. Daher wurde die Etablierung der Mikrovermehrung für mehrere Genotypen erarbeitet. Die Kosten für die durch Mikrovermehrung hergestellten Pflanzen sind zur Zeit aber noch nicht günstiger als die für die Pflanzstücke. Eine kontinuierliche Herstellung größerer Stückzahlen würde zu einer Verminderung der Preise bei den In- vitro- Pflanzen führen, da vor allem die Etablierung des Verfahrens für bestimmte Genotypen bislang hohe Kosten verursacht hat.

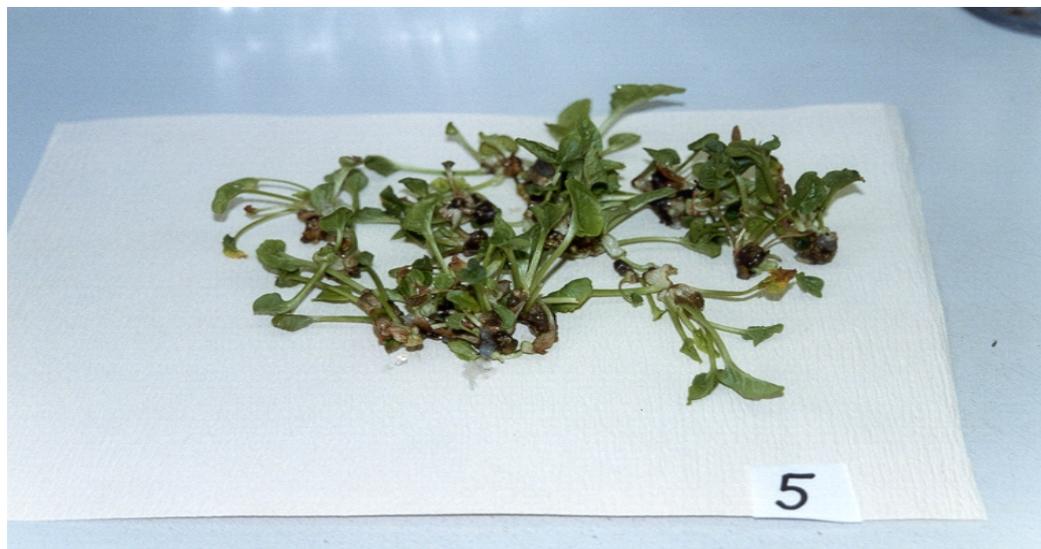
6.1.5.4.2 Mikrovermehrung

Für die 3 auf hohe Gerbstoffanteile selektierten Rhabarbergenotypen 2, 24 und 25 sollten In- vitro- Vermehrungsverfahren entwickelt werden, um so Ausgangsmaterial mit genetisch identischen Pflanzen in größeren Stückzahlen herzustellen.

Vor der Explantatentnahme wurden Wurzelstücke der entsprechenden Genotypen angetrieben und aktive kleine Knospen zur Regeneration entnommen. Die Knospen wurden gereinigt, von abgestorbenen Blättern 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. Als Grundnährsubstrat diente ein modifiziertes MS- Medium (MURASHIG und SKOOG) mit 8 g Agar, 30 g Sucrose, 1,5 mg BAP oder 2- 16 mg Kinetin je Liter Medium bei einem pH- Wert von 5,8.

Die ersten 9 Sterilisationen 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. Insgesamt wurden zehn verschiedene Medien zur Regeneration geprüft.

Abb. 7: Mikrovermehrte Rhabarberpflanzen



Erhöhtes Ausscheiden von Phenolen (Braunfärbung), Schimmelbildung und Auswachsen endogener Erreger führte zu den häufigsten Ausfällen. Wiederholte Sterilisation nach 2 Tagen, Anwendung reduzierend wirkender Substanzen (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 Sterilisationen das Ergebnis deutlich. Von allen 3 Genotypen konnten wachstumsfähige Sprosse erhalten werden, die sich jedoch im Wachstumsverhalten und in der Vermehrungsrate deutlich unterschieden. Vor allem einsetzende Wurzelbildung führte dazu, daß es zu keiner Vermehrung durch Ansatz neuer Knospen kam. Die Vermehrungsrate betrug bei hohen Cytokinin- und BAP- Zugaben (5- 16 mg/l bzw. 3- 5 mg/l) nur 1. Ab September konnten dann bei einem 14- tägigen Teilungszyklus Vermehrungsraten von 2-3 erreicht werden. Die einzelnen zu vermehrenden Herkünfte zeigten genotypische Unterschiede in der Vermehrungsrate.

Tabelle 2: Vermehrungsrate von verschiedenen Rhabarberherkünften bei der In- vitro- Vermehrung

Genotyp	Anzahl der durch Teilung erhaltenen Pflanzen			Vermehrungsfaktor
	43	46	49	
2	300	540	1700	1,8
24	350	600	2240	1,7
25	60	90	480	1,5

Die Teilung kann so lange fortgesetzt werden, bis die für die vorgesehene Anbaufläche notwendige Anzahl an Jungpflanzen erzeugt worden ist. Diese werden dann in Töpfen weiter angezogen und können in unterschiedlichen Ballengrößen (4-5 cm, 7 cm, 9 cm) ausgepflanzt werden. Der Pflanzabstand von 1,5 x 1,5 m für die vegetativ vermehrten Pflanzen ist für die Topfballenpflanzen zu groß. Daher werden pro Hektar mehr Pflanzen benötigt. Für die bisherigen Flächenversuche mit einer Größe von ca. 0,5 Hektar wurde eine Mindestanzahl von 4450 Pflanzen pro Hektar ermittelt.

Abb. 8: mikrovermehrte Pflanzen im 9 cm-Topf im Gewächshaus vor der Auspflanzung



6.1.5.4.3 Versuche zur Reinigung, Trocknung und Zerkleinerung der Wurzeln

Die technische Verarbeitung der Rhabarberwurzeln setzt nach der Ernte die Herstellung eines lagerfähigen Zwischenproduktes voraus. Aus diesem Grund wurden Versuche zur Reinigung, Trocknung und Zerkleinerung einer größeren Menge Wurzeln des Genotyps "The Sutton" durchgeführt. Hierfür standen ca. 12 t Wurzelmaterial zur Verfügung. Es handelte sich um die nach der Erzeugung von Pflanzstücken für die vegetative Vermehrung des Rhabarbers verbliebene Biomasse.

Abb. 9: Wurzelmaterial von Rheum



Die Versuche wurden im Trocknungswerk Rätzlingen durchgeführt. Dabei mußte eine betriebsbedingte Reihenfolge des Trockenvorganges eingehalten werden.

Die Wurzeln wurden 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" vorwärts bewegt, wobei die anhaftende Erde abgewaschen wurde. Diese Form der Reinigung der Wurzeln war für eine spätere Gewinnung von Gerbstoffen ausreichend. Der Weitertransport der Wurzeln erfolgte ebenfalls durch die Drehbewegung der Flügel. Am Rand des Bottichs angekommen, fielen die Wurzeln über den Rand auf ein weiteres Förderband und wurden zu einem Häcksler transportiert, der eine Grobzerkleinerung vornahm. Von dem Häcksler wurden die Wurzeln automatisch zu einer weiteren Zerkleinerungsvorrichtung geführt, welche die groben Stücke zur Größe von Kartoffelchips zerschnitt. Ein weiteres Förderband transportierte die Stücke zum Trockenofen. Dieser bestand aus einer ca. 10 m langen Trommel, die mit Kohle (automatisch) beheizt wurde, und sich ständig drehte. 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, kam es zu keiner Beeinträchtigung der Inhaltsstoffe in der Wurzelmasse.

Bei 3 entnommenen Proben lag die Gerbstoffkonzentration zwischen 10,5 und 12,5 % in der Trockensubstanz und entsprach damit den Gehalten anderer Prüfungen bei der Sorte "The Sutton".

Es sind jedoch noch Optimierungen notwendig. Vor allem bei unzerschnittenen Wurzeln, aus denen keine Pflanzstücke gewonnen wurden, ist zu erwarten, dass Knospenteile stören könnten, da sie zum einen viel Schmutz enthalten und zum anderen bei der Trocknung verkohlen. Das hätte eine Erhöhung des unlöslichen Anteils im Rhabarbergerbstoff zur Folge.

6.1.5.4.4 Anbauverfahren für Rhabarber

Standortansprüche: Rhabarber wächst auf allen Bodentypen, wenn sie gut drainiert und gedüngt sind. Die beste Wachstumsgrundlage sind humus- und nährstoffreiche Böden mit guter Wasserversorgung, da die großen Blätter eine hohe Verdunstungsrate aufweisen. Stauende Nässe ist jedoch schädlich.

Vorfrucht: Keine Ansprüche, möglichst nicht nach sich selbst und nicht nach Luzerne.

Pflanzenschutz: Systematischer Pflanzenschutz ist bei Rhabarber nicht erforderlich, wenn man die Standortansprüche berücksichtigt und die Flächen ordentlich 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 Pilzkrankungen ist. Bei Viruserkrankungen den Bestand nicht lange stehen lassen und den Standort wechseln. Tierische Schädlinge treten selten massenhaft auf. Sie können außer Nematoden mit Insektiziden bekämpft werden.

Sortenwahl: Zur Gerbstoffgewinnung ist bisher nur die ertragreiche Sorte „The Sutton“ aufgrund der großen Biomasse zu empfehlen. Diese Sorte ist in der Praxis gründlich erprobt. Anwendungsversuche mit den gerbstoffreicheren Sorten 2, 24 und 25 stehen noch aus.

Bodenvorbereitung: Organische Düngung einbringen und gut einarbeiten, da sonst Schwierigkeiten beim Pflanzen mit dem Pflanzpflug auftreten. Besonders bei Einsatz von In- vitro- Pflanzen muß der Boden tiefgründig gelockert und geglättet sein.

Pflanzung von Rhizomstücken: Eine Herbstpflanzung wird bevorzugt, Frühjahrspflanzungen sind bis April möglich. Eine Aussaat ist aufgrund der hohen genetischen Aufspaltungsrate nicht üblich.

Pflanzung ist von Oktober bis November möglich, wenn frostfreie Witterung vorherrscht.. Die Pflanzung wird mit einem Pflanzpflug vorgenommen. Die Pflanzstücke werden in die vom Gerät gezogene Furche eingeworfen und danach durch die Maschine wieder zugestrichen.

Einwerfen von Pflanzstücken in eine Furche, die mit einem Einscharpflug hergestellt wird und anschließendes Zupflügen ist ebenfalls möglich.

Reihenabstand 1,5 m, Pflanzenabstand in der Reihe 1,5 m.

Pflanzung mikrovermehrter Pflanzen: Bodenvorbereitung wie bei Rhizompflanzung vornehmen. Eine feuchtigkeitsbewahrende Pflanzbettbereitung im Frühjahr ist günstig für das Anwachsen der jungen Pflanzen. Die Pflanzung erfolgt ab Mitte Mai. Pflanzung mit herkömmlichen Pflanzmaschinen ist aufgrund der großen Blätter nicht möglich. Es ist eine Handpflanzung notwendig. Dabei ist auf gute Einhaltung der Abstände (auch innerhalb der Reihe) zu achten, da die Bearbeitung dann erleichtert wird. Bei trockener Witterung ist eine Beregnung oder zumindest Angießen der Pflanzen notwendig.

Unkrautbekämpfung: Mit Wachstumsbeginn mechanisch durch Maschinenhacke die Unkräuter beseitigen und bis zur Schließung des Bestandes nach Bedarf hacken. Bei mikrovermehrten Pflanzen ist eine häufigere Bearbeitung notwendig, da die Pflanzen langsamer wachsen und den Bestand später abdecken. Im zweiten Anbaujahr ist durch Abdeckung des Bodens mit den großen Blättern in der Regel nur eine einmalige Unkrautbeseitigung durch Hacken notwendig. Anwendung von Herbiziden ist möglich. Gegenwärtig ist nur KERB 50 W zugelassen, weil Rhabarber als Gemüse- oder Kompottpflanze gilt. Für die Nutzung als nachwachsender Rohstoff sind Herbizide untersucht worden und auch wirksam. Eine Zulassung steht noch aus.

Düngung: Durch die hohe Biomasse des Rhabarbers liegt ein intensiver Nährstoffentzug vor. Alle Düngungen sollten jedoch auf einer detaillierten Bodenanalyse basieren. Bei pH- Werten unter 5,5 ist zu kalken. Als Grunddüngung sind 500 dt Stallmist zu geben. Der K- Bedarf ist groß (200- 250 kg K₂O/ ha). Stickstoff muss im ersten Jahr 150 und im zweiten 200 kg N/ha (geteilt zum Wachstumsbeginn und im Juli) verabreicht werden.

Wurzelernte: Die Wurzelernte kann am besten durch Auspflügen mit einem Spezialpflug vorgenommen werden. Die Wurzeln werden damit gleich vorgereinigt. Eine

maschinelle Verladetechnik für die großen Rhabarberwurzeln existiert noch nicht und kann nur mit einem Rad- oder Frontlader vorgenommen werden. Rüben- und Kartoffelrodetechnik eignen sich nicht und müßten erst dafür modifiziert werden. Die Wurzeln müssen nach der Ernte in Futtertrocknungsanlagen gewaschen, zerkleinert und getrocknet werden (siehe Punkt 6.1.5.4.3). Sie sind dann für den Einsatz zur Inhaltsstoffextraktion vorbereitet.

6.1.5.5 Ganzheitliche Betrachtung "Gerbstoffe aus Rhabarberwurzeln"

Zur Sicherung der industriellen Anwendung der Forschungsergebnisse erfolgte die ganzheitliche Betrachtung für den Genotyp „The Sutton“. Sie wurde in die Abschnitte Landwirtschaft, Extrakteur und Lederindustrie unterteilt und bei den turnusmäßigen Beratungen des Lenkungsausschusses aktualisiert. Diese Betrachtung war möglich, weil Wurzeln dieses Genotyps von brachliegenden Feldern, die in der ehemaligen DDR zur Gemüseversorgung dienten, in größeren Mengen zur Verfügung standen.

6.1.5.5.1 Bereich Landwirtschaft

Züchtung

Auswahl	aus einem vorhandenen Sortiment von ca. 40 Herkünften
Gen-Manipulation	keine
Vermehrung	vegetativ (in vitro bzw. Rhizom)

Anbau

Pflanzgut	In-vitro-Vermehrung oder Rhizome; 4 500 Pflanzen/ha; bei der Rhizompflanzung: beginnt die Vermehrung im Herbst vor der Pflanzung; In-vitro-Pflanzen müssen im Mai bereitgestellt werden
Monokultur	nein (nur begrenzter Bedarf)
Flächenbedarf	0,6 ha/1 t Reingerbstoff (nach 3 Jahren, Pflanzung und Ernte im Herbst)
Pflanzung	für In-vitro-Pflanzen muß maschinelle Lösung erarbeitet werden (herkömmliche Technik wegen weiter Pflanzabstände und großer Blätter nicht geeignet; Pflanzung kleinerer Setzlinge wird geprüft – auftretende Verluste entscheiden über Tragfähigkeit des Konzeptes)
Grunddüngung	400 dt Stalldung und 100 kg NPK/ha
Düngung	jährlich 100 bis 200 kg N/ha, je nach Boden
N-Entzug durch die Wurzeln	192 bis 330 kg N/ha
Pflanzenschutz	Bodenherbizide ab 2. Wachstumsjahr. Nur speziell für Gemüserhabarber zugelassene Mittel sind im Handel. Untersuchungen über Verträglichkeit gegenüber verschiedenen Herbiziden sind gelaufen, die Zulassung erfolgt nur nach Prüfungen offizieller Pflanzenschutzstellen.
Pflege	mechanisch
Ernte	wurde im Rahmen des RLU-Projektes bearbeitet, Ernte der Wurzeln mechanisiert, muß noch an größeren Flächen bestätigt werden
Erträge nach 3 Jahren	30 - 50 t frische Wurzeln bei rhizomgepflanztem Rhabarber (extrahierbarer

je Hektar	Gerbstoff: 1,0 - 1,7 t, entsprechend: 10 - 16 t Wurzeln, trocken). Das ergibt ca. 2,8 - 4,8 t Pulverextrakt (10 % Feuchte, Anteilzahl 50) oder 4,2 - 7 t Konzentrat (30 % Feuchte, 30 % Gerbstoff, Anteilzahl 50). Bei In-vitro-vermehrten Pflanzen liegen noch keine Erträge vor.
Wachstumszeit	mindestens 3 - 4 Jahre
Gerbstoffgehalt	beim Sutton ca. 8 % bis 10 % auf GT der Wurzeln
Verwertung von Blatt/Stengel	jährlich 100 t Grünmasse/Schnitt zu Fruchtsäuremix möglich; dadurch (Totalernte) hervorgerufenes Ertragsdefizit an Wurzeln ist nach Parzellenversuchen nicht festzustellen.

Aufbereitung der frischen Wurzeln

Waschen	Vorzerkleinerung der Wurzelköpfe notwendig, Waschen mittels Schwemmrinnen oder Flotationswäscher
Zerkleinern	mittels eines Futterhäckslers oder Schnitzlers, Scheibendicke 2 mm bis 3 mm
Trocknen	Trommeltrockner, Eingangstemperatur 300 °C, Ausgangstemperatur 85 °C, Gerbstoffverlust ca. 2,5 % auf WTM, eventuell Nachzerkleinerung notwendig

6.1.5.5.2 Bereich Extrakteur

Handling der Trockenwurzeln (> 15 % Feuchte)

Lagerung	Kein Problem in normal belüfteten Lagerräumen (> 50 °C und < 80 % rel. Feuchte) kein Verderb und Masseverlust durch Schimmel
Schädlinge	Gefahr durch Staublaus, Kornkäfer, Moderkäfer, Bekämpfung mit Spezialprodukten (z.B. Fa. Bayer)
Staubexplosion	träges Explosionsverhalten bei Korngrößen < 90 µm
Brandgefahr	keine bei frischen Wurzeln träges Brandverhalten bei trockenen Wurzeln und mit 10 Gew.% i-Propanol beladenen Testern: bei ständiger Wärmezufuhr Glimmbrand, selbstverlöschend
Schwermetalle (mg/1 kg GT der Wurzel)	Blei: ≤ 4,3; Cadmium: < Nachweisgrenze; Chrom: 0,2; Nickel: ≤ 1,9

Extraktion

(Angaben beziehen sich auf 1 kg Trockenwurzel mit 90 % GT)

Alkohol	Eingang: 5 kg; Verlust: 0,042 kg (im Trester)
Wasser	Eingang: 5 kg; Verlust: 2,2 kg (im Trester und Konzentrat)
Dampf	9 kg (2 kg Ausdämpfen, 7 kg Destillation)
Kondensat	8,2 kg (vom Aufbereiten, Ausdämpfen und Abpressen)
Trester	2,8 kg (abgepreßt)
Tresterverwertung	Verbrennen, Vergären, Kompostieren

Kompostierung vor Vergärung favorisiert, da Substrat hohen GT-gehalt hat und für die Vergärung schlecht zugänglich ist – Entsorgungsnummer (ASN) beantragen (11415 Trester oder 53504 Trester von Heilpflanzen)
 Analysenzertifikat mit Schwerpunkt Schwermetalle erforderlich für Kompostierung, Grenzwerte für Alkoholbelastung sind nicht bekannt
 Energiegewinnung (Tests der Uni Magdeburg)
 Vergärung (Gutachten durch ORGA-TECH, Groß Mühlingen)
 Kompostierung (Gutachten durch Block-Kompostierung Hohendo-leben)

Extrakt

(Angaben beziehen sich auf 1 kg Trockenwurzel mit 90 % GT)

Mutterlauge	8 kg mit 2,5 % GT mit ca. 4 kg Alkohol und 4 kg Wasser
Trocknen des Konzentrates	1036 kJ (für Pulver)
Gerbstoffe	überwiegend kondensierte
Nichtgerbstoffe	überwiegend Polysaccharide
Farbstoffe	Anthrachinone (Glykoside gehen > 50 °C in wasserunlösliche Aglykone über)
Anteilzahl	um 50 %
Handelsformen	Pulver und Konzentrat
Ausbeute und Qualität	Einfluß der Hauptfaktoren (Boden, Klima, Düngung, Trocknung, Transport, Umschlagzeit, Extraktion) muß schrittweise herausgearbeitet werden nach Verfahrensbeschreibung ca. 20 % GT oder 10 % RG auf WTM
Schwermetalle (mg/1 kg Pulver)	Blei: ≤ 8,6; Cadmium: < Nachweisgrenze; Chrom: ≤ 1,8; Nickel: ≤ 8,4
Lagerfähigkeit	Pulver ist leicht hygroskopisch – entsprechende Verpackung vorsehen Konzentrat mit 70 % GT - lagerstabil
Unlösliches	wenn es teerartig ist muß es entfernt werden, da es den Gerbverlauf stört (Totgerbung) und die Leder fleckig werden
Schnelltest	kein teerartiger Bodensatz, beim Umrühren des Konzentrates mit dem Glasstab muß dieser frei von teerartigem Unlöslichen bleiben, Absaugzeit des Tablettentests (Vgl. mit der zentrifugierten Probe)

6.1.5.5.3 Bereich Lederindustrie

Herstellung

Bedarf beim Arbeiten über Wet-white: ca. 200 g RG/1m² Leder
 Direktgerbung: ca. 540 g RG/1m² Leder

Hilfsmittel

Dialdehyd Vorgerbung mit Dialdehyd ergibt Wet-white, die gespalten werden können.
 Vorteil: geringerer Extraktbedarf für den dünneren Narbenspalt. Nachteil:

MAK-Wert 0,2 ppm, Wassergefährdungsklasse 1, als Alternative wird die Vorbehandlung mit Rhabarberextrakt untersucht

Syntane	zur kontrollierten Diffusion der Rhabarberextrakte in die Blöße. Vorteil: glatte und gleichmäßig gegerbte Leder. Nachteil: Synthese, Abbaubarkeit, als Alternative wird die Vorbehandlung mit Farblicker untersucht
Konditionierung	Vorbehandlung der Blöße zur Verbesserung der Diffusion und Bindung der Gerbstoffe über eine Vergrößerung der interfibrillären Räume mit (Hilfs-) Gerbstoffen und/oder Salzen. Nachteil: Abwasser-Belastung, Neutralsalzbelastung, Effekt soll durch Farblicker erreicht werden

Abwasser

hoher BSB	bei der Auslegung der Kläranlage berücksichtigen
Wassertoxizität	Hemmung beträgt ca. 30 % des Relugan GT 50 (Dialdehydderivat)
Farbe	bei der Aufbereitung berücksichtigen (Sorption)

Leder

Preis	beim Arbeiten aus Wet-white ca 14 DM/1m ² höher als beim Einsatz von Mimosaextrakt
Markt	Hochpreisniveau
Marktanteil	im Jahr 2000 < 0,007 % der Weltlederproduktion
Farbechtheit	UV- und Heißlichtechtheit: Note 3 (besser als Mimosa/Tara mit Note 2 bei einer Skala von 1 bis 5)
Hydrothermische Stabilität	Schrumpfungstemperatur 80 °C (vergleichbar mit Mimosa/Tara), kann durch nachträgliche Vernetzung auf das Niveau von Chromleder gebracht werden (Kochgare)
Thermische Stabilität	wird nach Vorliegen größerer Muster untersucht (erwartet wird eine für Vegetabilleder typische Schrumpfung < 10 %, Vergleich: Chromleder > 15 %)
Migration	zum Teil starke Migration in PVC-Weichfolie (Genotyp/ Note auf der Narben-seite: 2/2, 10/2, 24/4, 25/2,5 Note 5= sehr gut, Note 1= ungenügend) gilt als Echtheitsmerkmal
Alterungsverhalten	wird nach Vorliegen größerer Muster bestimmt
Entsorgung	keine Unterschiede zu üblichen Vegetabilledern
Eluat	ca. 1 000 mg O ₂ /l CSB
Schwermetalle	entsprechend des Schwermetallgehaltes der Extrakte und der verwendeten Gerbgefäße im ppm-Bereich

6.1.5.6 Vorläufige ökonomische Betrachtungen zu Anbau, Bearbeitung und Ernte von Rhabarberwurzeln /9/

Die Kosten für den landwirtschaftlichen Anbau wurden auf der Grundlage von Langparzellenversuchen nach dem KTBL- Taschenbuch Landwirtschaft 1996/97 kalkuliert /10/.

Anbaukosten

Rhabarber

	Zeit (h)	DM	Erläuterungen
1. Jahr			
Pflanzstücke		6668	1,50 DM/ Stck.
Organische Düngung	1,2	77	Miststreuer 2,20
Einarbeitung (Grubber)	1,0	80	Schlepper mit Fahrer 62 DM/h
Saatfurche	1,0	120	Schlepper mit Fahrer DM/h,
Saatbettauflbereitung	1,0	74	Zuschl.f. Schwergrubber 25 DM h
Pflanzung	5,0	510	Schlepper m. Fahrer 88 DM/h,
			Saatbettkombination 25 DM/h
			Schlepper m. Fahrer, 5 x 62 DM, 1
			Facharbeiter auf Pflanzmasch. 125
			DM/ 5h, 1Pflanzmasch. 75 DM/5h
Gülle ausbringen	1,0	104	
4 x Hacken	2,0	198	Schlepper m. Fahrer 2 x 62 DM,
			1 Pers. 2 x 25 DM, Hackmasch.
			2 x 12 DM
Düngung		195	
2. Jahr			
Gülle ausbringen	1,0	104	
2 x Hacken	1,0	133	Schlepper m. Fahrer 1 x 88 DM,
			1 Pers. 1 x 25 DM, Hackmasch.
			1 x 20 DM
Düngung		195	
3. Jahr			
Gülle ausbringen	1,0	104	
2 x Hacken	1,0	133	Schlepper m. Fahrer 1 x 88 DM,
			1 Pers. 1 x 25 DM, Hackmasch.
			1 x 20 DM
Düngung		195	
Blatt entfernen (Mulchen, Fräse)	1,0	104	Häckslerpreis 250 DM/h
Ernte	3,0	231	Schlepper m. Fahrer 3 x 62 DM,
			3 x 15 DM Pflug
Laden	3	300	Radlader m. Fahrer 100 DM/h
Transport		540	150 km, km = 1,80 DM
Deckungsbeitrag	3 Jahre	3000	
Reinigung, Zerkleinerung			
Trocknung		2850	1 t getr. Wurzeln 170 DM
		15915	

Bei einem angenommenen Ertrag von 50 t/ha mit einer Trockensubstanz von 33% erhält man von einem Hektar 16,6 t getrocknetes Material.
Damit kostet 1 t getrockneter Wurzel 959 DM.

Je nach Bodenqualität und Genotyp Rheum kann sich dieser Preis im ungünstigsten Fall (nur 20 t/ha Ertrag) auf bis zu 2400 DM pro Tonne getrocknete Wurzel erhöhen.

Bei speziellen Genotypen kann vor allem in der Anfangsphase des Rhabarberanbaus nur auf mikrovermehrte In- vitro- Pflanzen zurückgegriffen werden, weil nicht genügend Wurzeln dieser Genotypen zur Erzeugung von Pflanzstücken zur Verfügung stehen.

Werden im ersten Anbaujahr In - vitro Pflanzen eingesetzt, so erhöhen sich die Kosten wie folgt:

- | | |
|---|----------|
| • Anbaukosten laut Berechnung | 15915 DM |
| • Mehrkosten für In- vitro- Pflanzen zur Zeit ca. | 4000 DM |
| • Bei 4 Jahren Kultivierung zusätzlicher Deckungsbeitrag für ein Jahr | 1000 DM |
| • ein Jahr zusätzlich für die Pflegearbeiten und Düngung | 432 DM |

→ Kosten bei Einsatz von In- vitro- Pflanzen **21347 DM.**

Damit kostet 1 t getrockneter Wurzel bei einem Ertrag von 50 t/ha 1268 DM.

6.1.6 Reynoutria

Im Unterschied zum Rhabarber soll beim Staudenknöterich die oberirdische Biomasse zur Gerbstoffextraktion eingesetzt werden, da die Gerbstoffe bei dieser Spezies überwiegend in den Blättern lokalisiert sind. Die Wurzeln des Staudenknöterichs enthalten ebenfalls Gerbstoffe, die jedoch nach bisherigen Untersuchungen keine ausreichende Qualität aufweisen. Die Wurzeln des Staudenknöterichs sind nicht kompakt und wuchern. Sie bilden hauptsächlich Wurzeläusläufer, die sich schlecht vollständig ernten lassen.



Abb. 10: Reynoutria japonica (Vordergrund) und R. sachalinensis (Hintergrund)

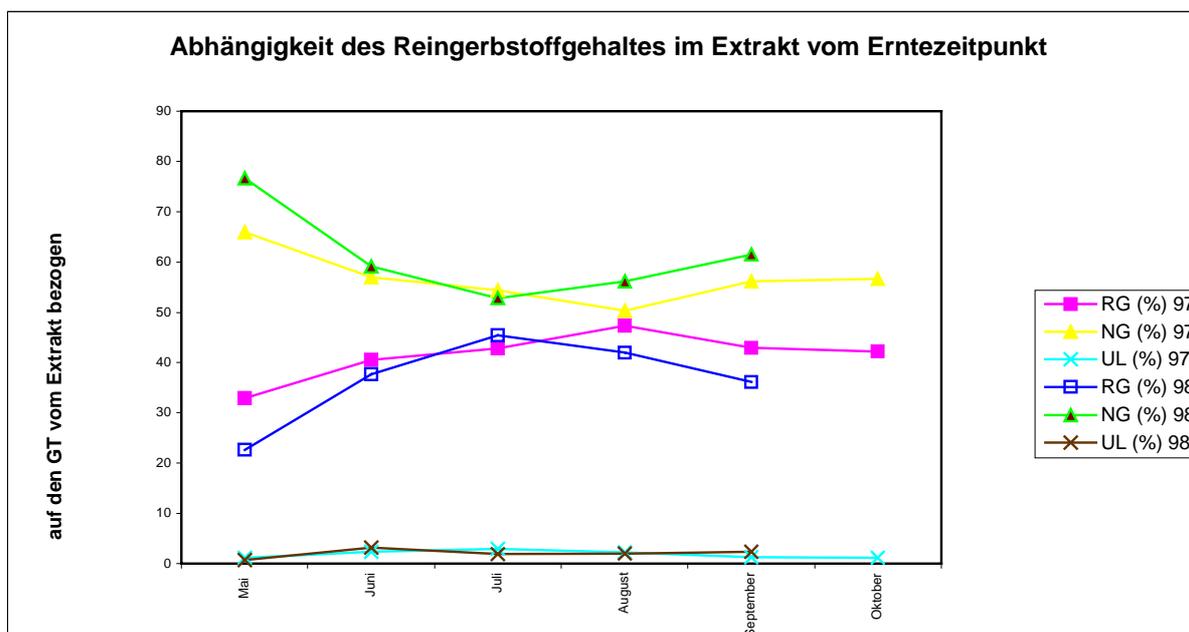
6.1.6.1 Ermittlung des optimalen Erntezeitpunktes

Durch monatliche Probennahme von Mai bis September wurde im Laufe der Versuchsjahre 1997 und 1998 ein optimaler Erntezeitpunkt ermittelt, wobei als ausschlaggebender Parameter neben der Biomasseproduktion der Reingerbstoffgehalt pro Trockenmasse Blätter herangezogen wurde.

In Abb.11 sind die nach der Hautpulvermethode ermittelten Reingerbstoffgehalte im Extrakt von Reynoutria sachalinensis in Abhängigkeit vom Erntezeitpunkt dargestellt. Die im Diagramm dargestellten Werte entsprechen den Mittelwerten der Gerbstoffbestimmung von jeweils 10 Pflanzen.

Eine Zusammenstellung der detaillierten Daten findet sich in *Anhang 6*.

Abb. 11: Abhängigkeit des Reingerbstoffgehaltes im Extrakt vom Erntezeitpunkt bei *R. sachalinensis*



Das Optimum der Gerbstoffsynthese liegt in den Monaten Juli/August.

Für den 2. Genotyp *Reynoutria japonica* wurde die Monate Juni/Juli als Zeitpunkt der höchsten Gerbstoffsynthese ermittelt (ohne Abb., Daten siehe *Anhang 7*). Diesen Daten liegen allerdings nur Einfachbestimmungen wegen des begrenzten Pflanzenmaterials an diesem Genotyp zugrunde.

6.1.6.2 Auswirkung der Totalbeerntung auf den Gerbstoffgehalt

Soll der *Reynoutria*-Bestand jährlich oberirdisch beerntet werden, so ist bei einer möglichen Mindeststandzeit von 10 Jahren sicherzustellen, dass sich sowohl die Gerbstoffqualitäten als auch die -mengen nicht negativ verändern. Innerhalb des Fo-Themas konnten die Auswirkungen der Totalbeerntung nur über einen Zeitraum von 2 Vegetationsperioden kontrolliert werden. Dazu wurde auf der *Reynoutria* Versuchsfläche ein definierter Bereich in zwei Teilflächen unterteilt, wovon eine total und die andere nicht beerntet wurde. In Tab. 3 sind die ermittelten Reingerbstoffgehalte bezogen auf den Gesamttrockenrückstand der Blattmasse dargestellt.

Tab. 3: Reingerbstoffgehalte bezogen auf den Gesamttrockenrückstand der Blattmasse für *R. sachalinensis*

Ernte August 1998	Ernte August 1999 nach vorjähriger Totalbeerntung	Ernte August 1999 ohne Vorjahresbeerntung
8,83 % RG/GT	7,75 % RG/GT	8,0 % RG/GT
	53,2 kg	54,6 kg

Nach 2-jährigen Untersuchungen unterschieden sich sowohl die Biomassen als auch die GR/GT von beernteter und unbeernteter Variante nur geringfügig. Dieser Versuch soll auch nach Ablauf des Fo-Themas weitergeführt werden, um unsere Aussagen präzisieren zu können.

Ein weiterer Ansatz zur ökonomischeren Verwertung von *Reynoutria* gegenüber *Rheum* besteht in der Möglichkeit einer mehrmaligen Beerntung der oberirdischen Biomasse.

Hierzu wurden vom Neuaustrieb auf der totalbeernteten Fläche im Oktober 1998 erneut Proben entnommen und der RG/GT bestimmt. Die ermittelten 4,4 % RG/GT liegen noch unter dem für eine normale Vegetationsperiode für den Monat Mai gefundenen Wert.

Weiterhin sind zu einem so späten Erntezeitpunkt die Witterungsbedingungen von entscheidendem Einfluß. Trockenheit nach der 1. Ernte im August oder aber früh einsetzende Fröste im Herbst beeinflussen sowohl die Biomasseneubildung als auch den Reingerbstoffgehalt negativ. Daher ist nach unseren Untersuchungen von einer einmaligen Ernte zum Zeitpunkt der optimalen Reingerbstoffkonzentration in der Blattmasse auszugehen.

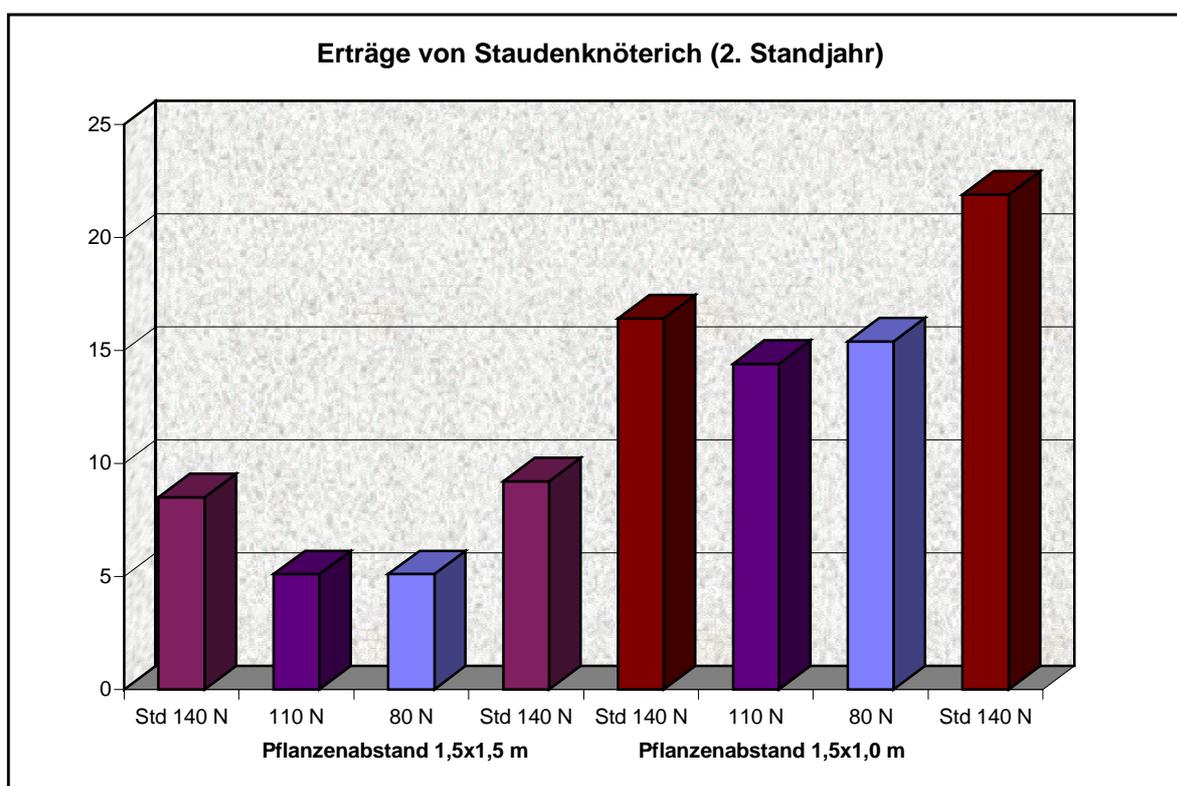
6.1.6.3 Biomasse

Die Erträge der oberirdischen Biomasse des Staudenknöterichs sind in der Abbildung 12 dargestellt. Die Hektarerträge schwanken über alle Varianten zwischen 5,1 und 22,3 Tonnen pro Hektar. Zwischen der höchsten (140 kg N/ha) und den beiden niedrigeren Düngungsstufen (80 und 110 kg N/ha) liegen Unterschiede im Hektarertrag vor. Sie lassen sich jedoch nicht statistisch sichern. Größer sind die Differenzen zwischen den verschiedenen Standweiten der Pflanzen. Es zeichnet sich ab, daß die engere (1,5 x 1,0 m) Standweite gegenüber der weiteren (1,5 x 1,5 m) zu höheren Erträgen führt. Bei den N- Düngungsstufen 140 kg N/ha lassen sich diese Differenzen mittels F- Test sichern.

Auf dem gesamten Staudenknöterichschlag zeigte sich ein Pflanzenwachstum, daß keine Tendenz zum zugeführten Nährstoffangebot erkennen ließ.

Die Schwankungen zwischen den einzelnen Wiederholungen (die a- und b- Wiederholungen unterschieden sich stark von den c- d- Wiederholungen) sind wahrscheinlich auf das Zusammenwirken von Bodenunterschieden und der Trockenheit im Verlaufe der Vegetationsperiode zurückzuführen. Ein weiterer Grund liegt in der unterschiedlichen Größe der Ausgangspflanzen und dem Alter der Pflanzen. Nach zwei Jahren ist noch kein optimaler Ertrag zu erhalten. Es ist deshalb möglich, daß sich die Differenzen zwischen den zwei verschiedenen Standweiten in weiteren Wachstumsjahren ebenfalls noch ändern.

Abbildung 12: Erträge der oberirdischen Biomasse von Staudenknöterich



6.1.6.4 Pflanzung von Staudenknöterich (*Reynoutria sachalinensis*)

Die großflächigeren Versuche zum Staudenknöterich wurden 1996 durch Pflanzung angelegt.

Die technologische Versuchsfäche wurde mit Rhizomstücken bepflanzt.

Die Hauptversuche (Reihenabstand 1,50 x 1,50 m und 1,50 x 1,00 m Reihenabstand) wurden am 28.05.96 gepflanzt. Eingesetzt wurden durch In- vitro- Kultur hergestellte Pflanzen von *Reynoutria sachalinensis*. Sie wiesen bei der Pflanzung eine Größe von ca. 20 - 30 cm sowie kräftige Wurzelballen auf (9 cm- Topf) und hatten schon einige Blätter gebildet.

6.1.6.5 Pflanzenentwicklung

Die Bestände entwickelten sich anfangs unregelmäßig, da die Ausgangspflanzen unterschiedlich groß waren. Zum Teil wurden die Blätter vollständig eingezogen, entwickelten sich aber im Laufe der Vegetationsperiode wieder. Zum Sommer hin kräftigten sich die Pflanzen und bildeten Verzweigungen, die später den Bestand dicht werden ließen.

Bei den Pflanzen aus der Rhizompflanzung setzte sofort ein kräftiges Wachstum ein.

Die einzeln erscheinenden Triebe waren von Anfang an kräftig und verzweigten sich bald. Es entstand schnell ein dicht schließender Bestand.

Abbildung 13: Staudenknöterichbestand



In den zwei Versuchsjahren glichen sich die Unterschiede in der Pflanzenentwicklung zwischen Rhizom- und In- vitro- Pflanzen sowie die Unterschiede zwischen den In- vitro- Pflanzen nicht aus. Für eine abschließende Beurteilung der Ertragsfähigkeit müssten die Pflanzen länger kultiviert werden, zumal bei einer Nutzung als nachwachsender Rohstoff beim Staudenknöterich Nutzungszeiten bis zu 10 Jahren denkbar sind.

6.1.6.6 Bearbeitung der Bestände

Die Bearbeitung der Bestände erfolgte durch Längsbearbeitung.

Dabei konnten die innerhalb der Reihe stehenden Unkräuter nicht von der Hackmaschine erfaßt werden. In dem Staudenknöterichbestand war ein starkes Auftreten von Hirse zu verzeichnen, welche später durch Behandlung mit Fusilade beseitigt wurde. Die abgestorbenen Hirsepflanzen wurden im

Bestand belassen. Ab August entwickelte sich ein geschlossener Bestand, der sowohl beim rhizombürtigen als auch beim mikrovermehrten Staudenknöterich keine Bearbeitung mehr erforderte. 1997 trieben die Pflanzen ab Mitte April kräftig aus. Eine Längshacke wurde zur Bodenauflockerung durchgeführt. Weitere Pflegearbeiten waren aufgrund der dicht gewachsenen Pflanzen nicht mehr notwendig.

6.1.6.7 Ernte der Biomasse von Staudenknöterich

Es wurde anfänglich überlegt, die landwirtschaftliche Erntetechnologie nur auf ein „Pflücken“ der Blätter auszurichten, da die Stiele weniger als 1% Gerbstoffe enthalten. Nach den Erfahrungen der NIG GmbH /11/ bei der Extraktion zeigte sich aber, daß bei alleiniger Extraktion der getrockneten Reynoutria-Blätter die Extraktionsausbeuten schlechter ausfielen als bei Verwendung eines Blatt-Stengel-Gemisches.

Die Stengel lockern das trockene Pflanzenmaterial auf, so daß das Lösungsmittel das eigentliche Extraktionsgut - die gerbstoffreichen Blätter- besser umströmen und somit die Gerbstoffe besser desorbieren kann. Ergebnisse zur Optimierung des Blatt / Stengel-Mengenverhältnisses sind im Abschlußbericht der NIG GmbH dargestellt.

Der Staudenknöterich läßt sich durch verschiedene Mähverfahren oder durch Häckseln ernten. Im Gegensatz zum Rhabarber gehen bei einer Zerkleinerung keine Inhaltsstoffe verloren. Vor dem Trocknen wird die oberirdische Biomasse in der Trockenanlage auf die notwendige Größe für die Extraktion zerkleinert.

Ein weiterer Unterschied zum Rhabarber ist in den wesentlich längeren Standzeiten eines Reynoutria-Bestandes zu sehen. Der Rhabarberbestand müßte wegen der Lokalisierung der Gerbstoffe in der Wurzelbiomasse nach max. 4 Standjahren vollständig erneuert werden. Bei Reynoutria kann man von einer Standzeit von mindestens 10 Jahren ausgehen.

6.2 Inhaltsstoffanalytik

6.2.1 Geräte und Chemikalien

Geräte

- HPLC-Anlage der Firma Hewlett-Packard HP 1100 (finanziert über Mittel des BMBF) für flüssigchromatografische Untersuchungen bestehend aus:
Binärer Pumpe
Säulenofen
Probengeber
Diodenarray-Detektor
- HPTLC-Ausrüstung der Firma CAMAG (Ausrüstung der Hochschule Anhalt) für dünnschichtchromatografische Untersuchungen bestehend aus:
Automatischem Probengeber ATS III
Scanner 3
Entwicklungskammern in vertikaler und horizontaler Ausführung
- Automatisierte Extraktionsanlage (ASE) der Fa. Dionex (finanziert über Mittel des BMBF)
- Schneidmühle SM 2000 der Fa. Retsch
- AAS 5/FL der Analytik Jena GmbH

Chemikalien u. Lösungsmittel

	Qualität
n-Hexan	Supra Solv (Merck)
Essigsäureethylester	Roti Solv HPLC (Roth)
Essigsäure	Suprapur (Merck)
Ameisensäureethylester	p.a. (Riedel de Haen)
Ameisensäure	p.a. (Riedel de Haen)
Methanol	LiChrosolv (Merck)
Isopropanol	Roti Solv HPLC (Roth)
Benzol	Rotipuran (Roth)
Petrolether (40-60°)	(Roth)
Chloroform	p.a. (Merck)
Aceton	Rotipuran (Roth)
Toluol	Roti Solv HPLC (Roth)
Dichlormethan	Roti Solv HPLC (Roth)
Ethylmethylketon	p.a. (Merck)
Tetrahydrofuran	Roti solv HPLC (Roth)
1,4-Dioxan	Rotipuran (Roth)
Pyridin	rein
Eisen (III)chlorid	Reag Ph Eur (Merck)
Standardsubstanzen	Rotichrom HPLC (Roth)

Stationäre Phasen

HPTLC-Fertigschicht, Kieselgel 60 F 254
Säule Ultrasphere RP 18, 25 cm x 4,6 mm, 5µm

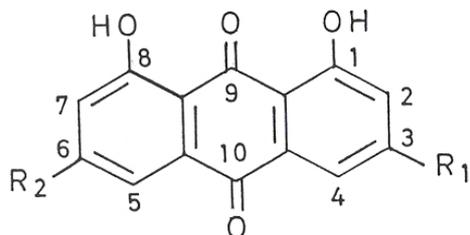
Sprühreagenzien

5%-ige methanolische KOH
2%-ige methanolische Eisen (III)chloridlösung
Pyridin:Methanol (1:1, v/v)

6.2.2 Anthracenderivate

Bei den in Rheum-Arten nachgewiesenen Anthracenderivaten handelt es sich um 1,8-Dihydroxyanthrachinone (Abb. 14).

Abb 14: 1,8-Dihydroxyanthrachinon



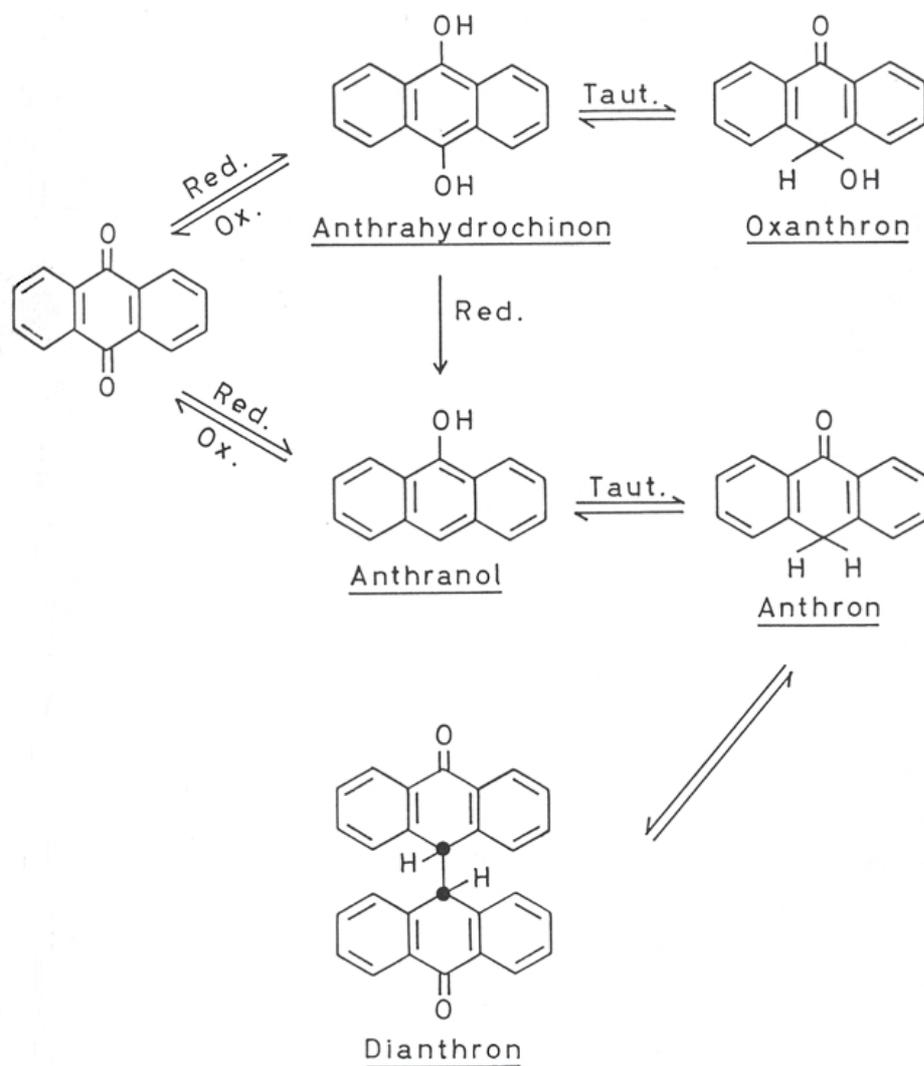
In Tabelle 4 sind die bisher isolierten monomeren Anthrachinonaglykone aufgeführt (nach /12/):

Tab. 4: Monomere Anthrachinone in Rheum

Name des 1,8-Dihydroxy-anthrachinonderivates	Struktur	Autor	Jahr
Chrysophanol	R ₁ : CH ₃ R ₂ : H	Schlossberger u. Döpping	1844
Emodin	R ₁ : CH ₃ R ₂ : OH	De la Rue und Müller	1858
Rhein	R ₁ : COOH R ₂ : H	Hesse	1895
Physcion	R ₁ : CH ₃ R ₂ : OCH ₃	Hesse	1899
Chrysaron	Evtl.: 1,2,7-trihydroxy-8-methylantrachinon	Hesse Thomson	1908 1971
Aloe-Emodin	R ₁ : CH ₂ OH R ₂ : H	Tutin und Clewer	1911

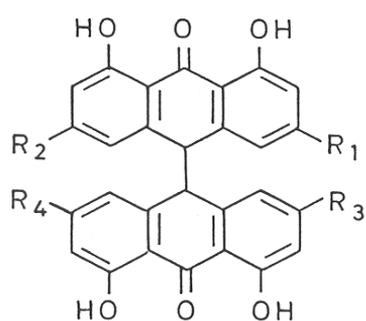
Bekannt für die Anthrachinonderivate sind ihre vielfältigen chemischen Umwandlungsmöglichkeiten. Die Reduktion des Anthrachinons führt zu Anthrahydrochinon oder Anthranol, die in ihren tautomeren Formen als Oxanthron bzw. Anthron vorliegen können (Abb. 15).

Abb. 15: Oxidations-Reduktions-Schema des Anthrachinons



Durch Dimerisierung können aus Anthronen Dianthrone entstehen. Iso-Dianthrone bestehen aus zwei identischen Monomeren, Hetero-Dianthrone sind aus zwei unterschiedlichen Monomer-Einheiten aufgebaut (Abb. 16).

Abb. 16: Allgemeine Strukturformel der Dianthrone



Die Anthrachinone liegen in der Pflanze bereits in frühen Entwicklungsstadien als Glykoside vor. Gstirner und Flach /13/ ermittelten durch spektralphotometrische Bestimmung nach vorheriger dünn-schichtchromatografischer Isolierung der einzelnen Anthraverbindungen einen etwa 8 mal größeren Gehalt an Glykosiden als an freien Aglykonen.

Als Zuckerkomponente wird in der Mehrzahl der Fälle Glucose beschrieben. Staufenberg /12/ fand bei der Untersuchung von Blattmaterial von *Rheum palmatum* L. Monoglykoside, Diglykoside und Dianthronglykoside. Der dünn-schichtchromatografische Nachweis der Glucose nach hydrolytischer Spaltung und zweidimensionaler Entwicklung wurde mittels NMR- und MS-Experimenten bestätigt. Der Autor verweist in seiner Arbeit darauf, dass sowohl die Anthrachinonaglykone und -glykoside als auch die Dianthronglykoside sehr reaktionsempfindliche Substanzen darstellen. Bereits unter mildesten Bedingungen treten Dimerisierungen aus Monomeren, Spaltungen von Dimeren bzw. Zuckerabspaltungen auf /14/.

Aus der Kenntnis der Literatur erschien es für die Untersuchung der Palette von 42 Genotypen unumgänglich, sich auf ein repräsentatives Spektrum an zu untersuchenden Substanzen festzulegen. Diese Auswahl an Substanzen mußte aber für eine Vergleichbarkeit der Eignung der Rheum-Wurzeln als Farbstofflieferanten auf jeden Fall quantifizierbar sein.

Hierfür kamen, auch aus dem Grund der Verfügbarkeit von käuflichen Standardsubstanzen, nur die aglykonischen Verbindungen Chrysophanol, Physcion, Emodin, Aloe-Emodin und Rhein in Frage.

Weiterhin sollten die zu entwickelnden Analysenverfahren die Möglichkeit der Automatisierbarkeit aufweisen, um einen hohen Probendurchsatz zu gewährleisten. Dafür kommen in erster Linie chromatografische Verfahren in Betracht.

6.2.3 Entwicklung einer dünn-schichtchromatografischen Trennmethode

Aus dem Bereich der pharmazeutischen Drogenanalytik sind eine Reihe von Trennsystemen für Anthrachinonderivate bekannt. Jedoch berichten die verschiedenen Autoren /15; 16; 17/, dass zum einen für die Substanz Rhein kein reeller Rf-Wert erzielt werden konnte (Substanz blieb am Startpunkt haften), zum anderen die Trennung von Physcion und Chrysophanol nur unzureichend war.

Staufenberg /12/ berichtet von einer erfolgreichen Trennung der Anthrachinonaglykone auf einem Kieselgelträger nach einer 2-Stufen-Entwicklung mit folgenden Fließmittelsystemen:

- a) Benzol/ Ameisensäureethylester/ Ameisensäure = 73 : 24 : 3 , 5cm Entwicklung
- b) Petrolether (40-60°C)/ Essigsäureethylester/ Essigsäure = 90 : 5 : 5 , 10 cm Entwicklung.

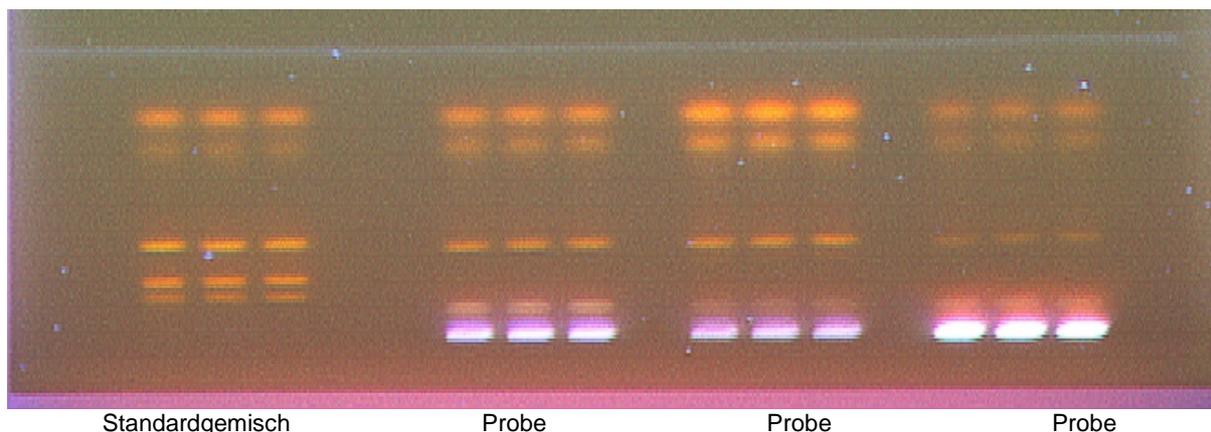
Zum gleichen Resultat kamen Rai und Shok /18/ mit einem Fließmittel bestehend aus Petrolether (40-60°C)/ Ameisensäureethylester/ Ameisensäure = 90 : 4 : 1 mit dem Vorteil, dass nur ein Fließmittel gebraucht wurde.

Beide Systeme wurden daher mit der an der Hochschule Anhalt zur Verfügung stehenden Ausrüstung zur Hochleistungs-dünn-schichtchromatografie (HPTLC) überprüft.

Da für die Quantifizierung der Anthrachinone auf die densitometrische Direktauswertung zurückgegriffen wurde, kamen als stationäre Phasen Kieselgelschichten für die HPTLC zum Einsatz. Diese Schichten zeichnen sich gegenüber den in der zitierten Literatur verwendeten stationären Phasen wie Cellulose (Papierchromatografie) und mit Kieselgel beschichteten (teilweise manuell beschichteten) Aluminiumfolien durch eine höhere Trennleistung und Trennschärfe aus, was für die reproduzierbare quantitative Auswertung eine Grundvoraussetzung ist.

Zusätzlich enthielt das Sorbens einen UV-Indikator zur verbesserten Detektion der Substanzen im UV-Bereich. Bei 254nm erscheinen die fluoreszierenden Substanzen als dunkle Zonen auf hellem Untergrund (Fluoreszenzlöschung durch die Substanzen), bei 366 nm als gelb fluoreszierende Zonen auf dunklem Untergrund (Abb. 17).

Abb. 17: Detektion nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter UV-Licht (366nm)



Jedoch erwiesen sich auch mit den modernen Sorbentien und mit den o. a. Fließmittelsystemen die beiden Substanzen Physcion und Chrysophanol als kritisches Peakpaar. Daher wurde die Trennmethode für die Aglykone wie folgt neu optimiert:

Stationäre Phase : HPTLC-Fertigschicht, Kieselgel 60 F 254
 Fließmittel: n-Hexan/ Essigsäureethylester / Essigsäure = 3 : 14 : 0,1 (v:v)

Die Detektion ist visuell durch die Eigenfärbung der Substanzen möglich bzw. unter der UV-Lampe bei Betrachtung bei 254nm und 366 nm (siehe oben). Weiterhin kann man Anthrachinonderivate durch postchromatografische Derivatisierung mit 5 %-iger KOH sichtbar machen.

Das Prinzip der densitometrischen Direktauswertung besteht in der Messung der Absorptionsintensität der einzelnen Substanzen bei Einstrahlung von monochromatischem Licht mit einer dem Absorptionsmaximum der Substanzen entsprechenden Wellenlänge. Zur Ermittlung von λ_{max} wurde von den Einzelsubstanzen das Absorptionsspektrum in einem Wellenlängenbereich von 200 bis 550 nm jeweils direkt auf der Dünnschichtplatte aufgenommen. Stellvertretend sind in Abb. 18 die Spektren von Aloe-Emodin und Rhein dargestellt (jeweils von 2 Bahnen aufgenommen).

Abb. 18: UV/VIS-Spektren von Aloe-Emodin und Rhein, durch Remissionsmessung am TLC-Scanner 3 direkt auf der entwickelten HPTLC-Platte aufgenommen

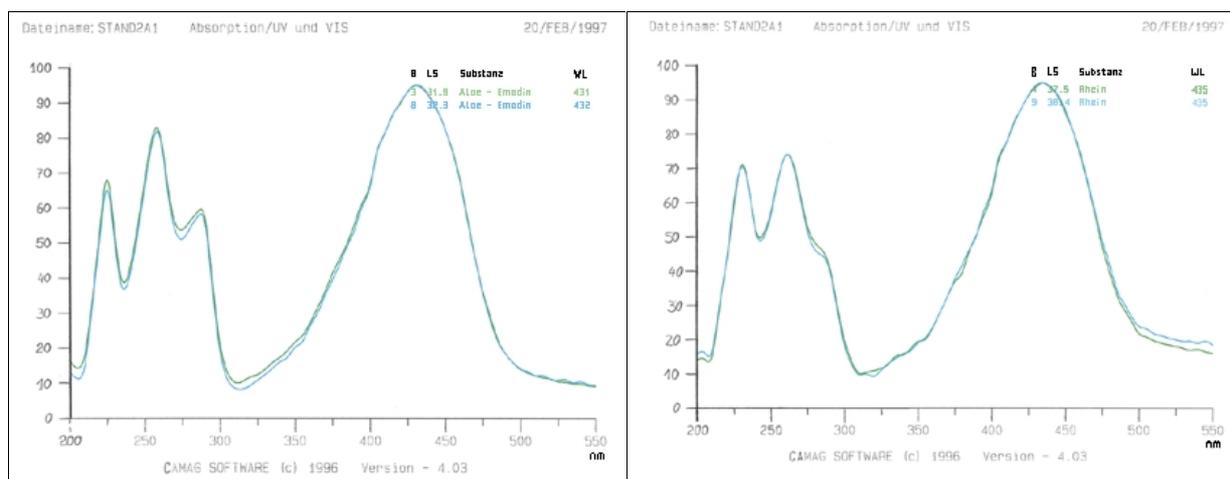
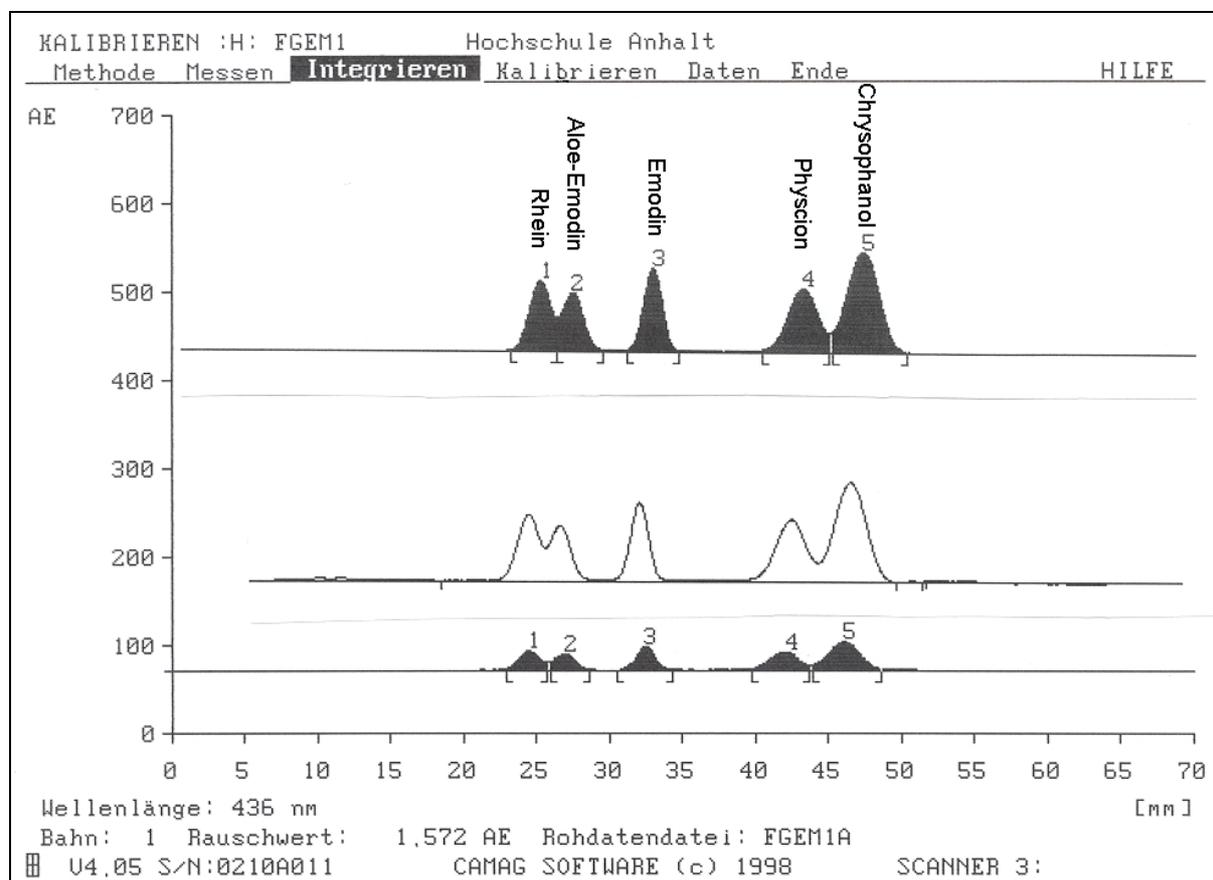


Abb. 19 zeigt Densitogramme verschiedener Standardkonzentrationen im Gemisch der 5 Aglykone. Im Sinne zunehmender Laufstrecke LS werden die Substanzen Rhein, Aloe-Emodin, Emodin, Physcion und Chrysophanol detektiert.

Abb. 19: Densitogramm der dünnenschichtchromatografischen Auftrennung des Anthrachinon-Aglykon-Standardgemisches



Im *Anhang 8* sind die Kalibrationsfunktionen für die Einzelsubstanzen dargestellt.

Nach DIN 32645 wurden für die Einzelstandards die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mit Hilfe der Software SQS (Perkin Elmer) ermittelt (siehe Tab. 4).

Tab. 4: Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Einzelstandardsubstanzen, ermittelt mit der HPTLC

	Rhein	Aloe-Emodin	Emodin	Physcion	Chrysophanol
Nachweisgrenze in ng	7,45	5,39	6,05	28,76	27,75
Bestimmungsgrenze in ng	21,45	16,32	18,01	76,46	74,28

6.2.4 Entwicklung eines HPLC-Verfahrens

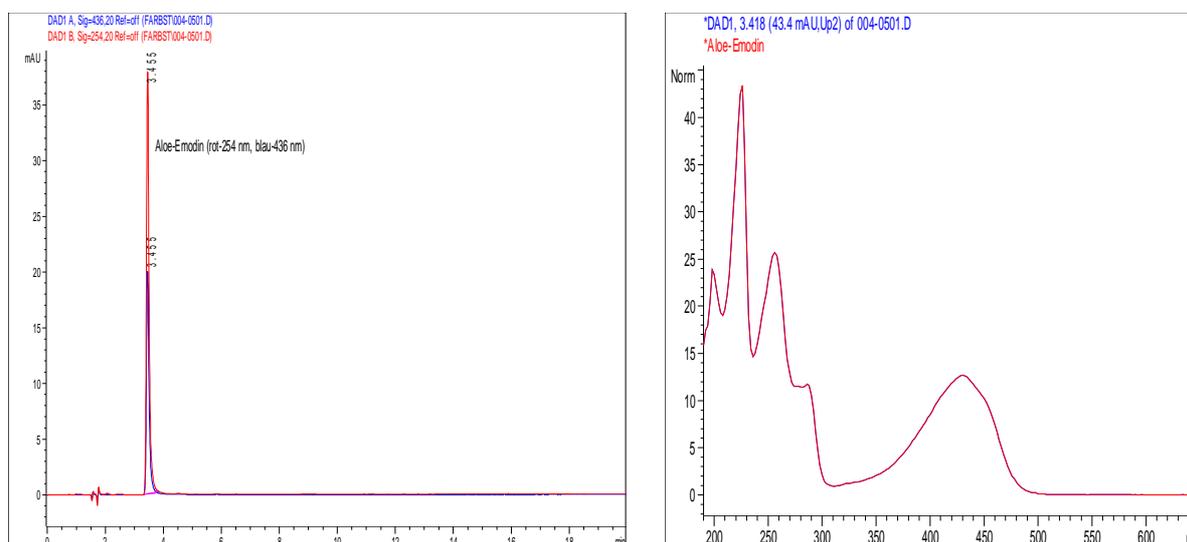
Krauß /19/ stellte in seiner Arbeit zur Untersuchung von Krapp-Anthrachinonen die von verschiedenen Autoren genannten HPLC-Systeme zur Trennung von Anthrachinonen zusammen (Tab.5).

Tab. 5: HPLC-Systeme zur Trennung von Anthrachinonen (nach /19/)

Stationäre Phase	Mobile Phase	Mischungsverhältnis des Eluenten
Lichrosorb RP 18	Methanol:Wasser:Essigsäure	40:60:1
Spherisorb ODS 5	Methanol:2,5% Ameisensäure in Wasser	81,5:18,5
Permaphase ODS	Methanol:Wasser	
Micropack Si-10	Methanol:n-Pentan	
Corasil II Si	Cyclohexan:Ethylacetat	
Nucleosil 5	Tetrahydrofuran:Wasser:Essigsäure	8:2:1

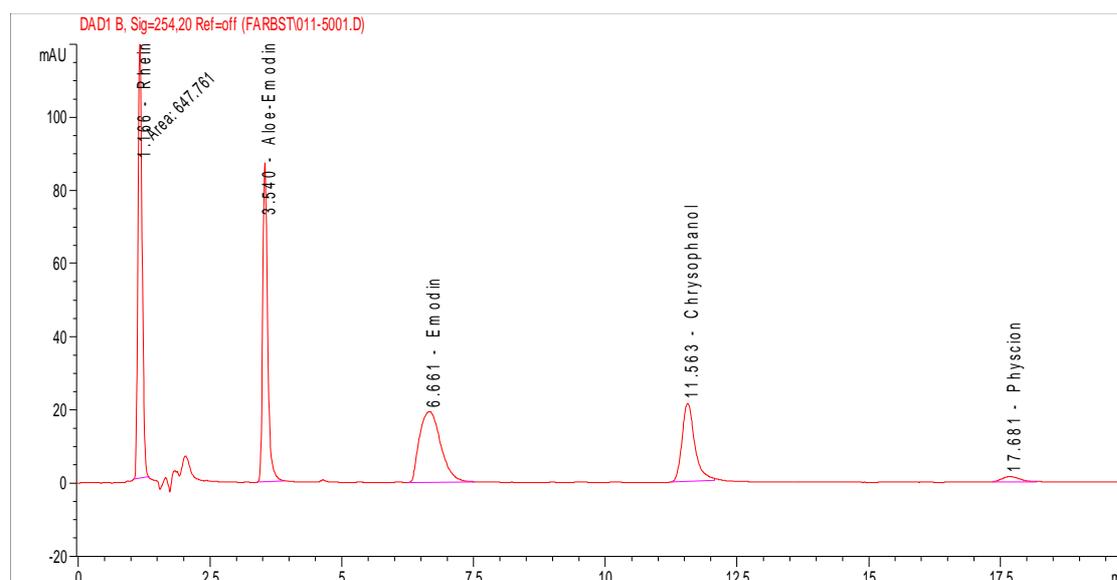
Für unsere Untersuchungen setzten wir ebenfalls eine sog. Umkehrphase (Reversed Phase-Material) ein. Als Eluent diente ein Methanol : Wasser-Gemisch (80:20 v/v, Flow: 1,5 ml/min). Die Detektion erfolgte mit einem Diodenarray-Detektor bei 254 und 436 nm. Zunächst wurden in Einzelläufen die Retentionszeiten der Standardsubstanzen ermittelt. Da mit einem Diodenarray-Detektor gearbeitet wurde, konnten simultan die UV/VIS-Spektren der Substanzen aufgenommen werden. Diese wurden in einer Spektrenbibliothek abgelegt, um bei der späteren Analyse der Farbstoffextrakte nicht nur über die Retentionszeit, sondern auch über das Spektrum der Vergleichssubstanzen die einzelnen Aglykone zu identifizieren bzw. um Koelutionen mit anderen Substanzen auszuschließen. Ein Beispiel zeigt Abb. 20.

Abb. 20: Chromatogramm Aloe-Emodin + 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. Abb.21 zeigt ein Chromatogramm der 5 Standardsubstanzen.

Abb. 21: Chromatografische Trennung der 5 Anthrachinonaglykone



Im *Anhang 9* sind die Kalibrationsfunktionen für die Einzelsubstanzen dargestellt.

Nach DIN 32645 wurden für die Einzelstandards die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mit Hilfe der Software SQS (Perkin Elmer) ermittelt (siehe Tab. 6).

Tab. 6: Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Einzelstandardsubstanzen, ermittelt mit der HPLC

	Rhein	Aloe-Emodin	Emodin	Chrysophanol	Physcion
Nachweisgrenze in ng/μl	0,66	0,32	0,39	0,78	2,82
Bestimmungsgrenze in ng/μl	2,30	1,13	1,42	2,81	9,79

Die ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die HPLC sind im Vergleich zur HPTLC wesentlich niedriger. Daher kam für die folgenden quantitativen Bestimmungen bei der Untersuchung des Genotypensortimentes sowie der aus den nach ihrer Farbgebung ausgewählten Genotypen die HPLC als Analysenverfahren zum Einsatz.

Trotzdem wurde für qualitative Untersuchungen weiter auf die optimierte HPTLC-Methode zurückgegriffen, da mit dieser Methodik simultan in sehr kurzer Zeit mehrere Proben gleichzeitig analysiert und bezüglich des Vorhandenseins von Anthrachinon-Aglykonen beurteilt werden können (siehe auch 6.2.7.1).

6.2.5 Untersuchung des Genotypensortimentes

Für die quantitative Bestimmung der Anthrachinon-Aglykone in den einzelnen Rheum-Genotypen wurde die unter Punkt 6.2.4 dargestellte HPLC-Methode eingesetzt. Die Probeneinwaage erfolgte wie in Tabelle 7 angegeben. Die Extrakte wurden im Ultraschallbad im Lösungsmittel Isopropanol:Wasser (50:50, v:v) gelöst, durch ein 0,45μm Membranfilter filtriert und direkt für die HPLC verwendet. Die Standardsubstanzen wurden in gleicher Weise behandelt.

Tabelle 7: Ergebnisse der Farbstoffbestimmung der Genotypenextrakte.

Genotypen	Farbstoff gesamt bezogener auf EW	Farbstoff bezogen auf 1 kg
	[mg]	[g]
G1	6,206	31,03
G2	2,236	11,18
G3	1,670	8,35
G4	2,815	14,08
G5	3,682	18,41
G6	4,678	23,39
G7	4,611	23,06
G10 f	2,066	10,33
G11	6,741	33,71
G12	3,895	19,48
G13	2,579	12,90
G14	2,363	11,82
G15	1,811	9,06
G16 f	2,067	10,34
G17	1,901	9,51
G18	2,242	11,21
G20	2,763	13,82
G21	3,105	15,53
G22 f	2,064	10,32
G23	2,259	11,30
G24	3,512	17,56
G25	5,639	28,20
G26 f	2,091	10,46
G29	3,497	17,49
G31	2,702	13,51
G32	3,262	16,31
G33	3,261	16,31
G34	3,055	15,28
G35	3,671	18,36
G36	3,020	15,10
G37 f	3,818	19,09
G38	4,656	23,28
G39 f	1,961	9,81
G40 f	1,915	9,58
G41 f	1,594	7,97
G42 f	4,035	20,18

Probeneinwaage: 200 mg (gelöst in 50 ml i-Propanol/Wasser 50:50)
erwärmt bis ca. 50 °C, f = filtriert

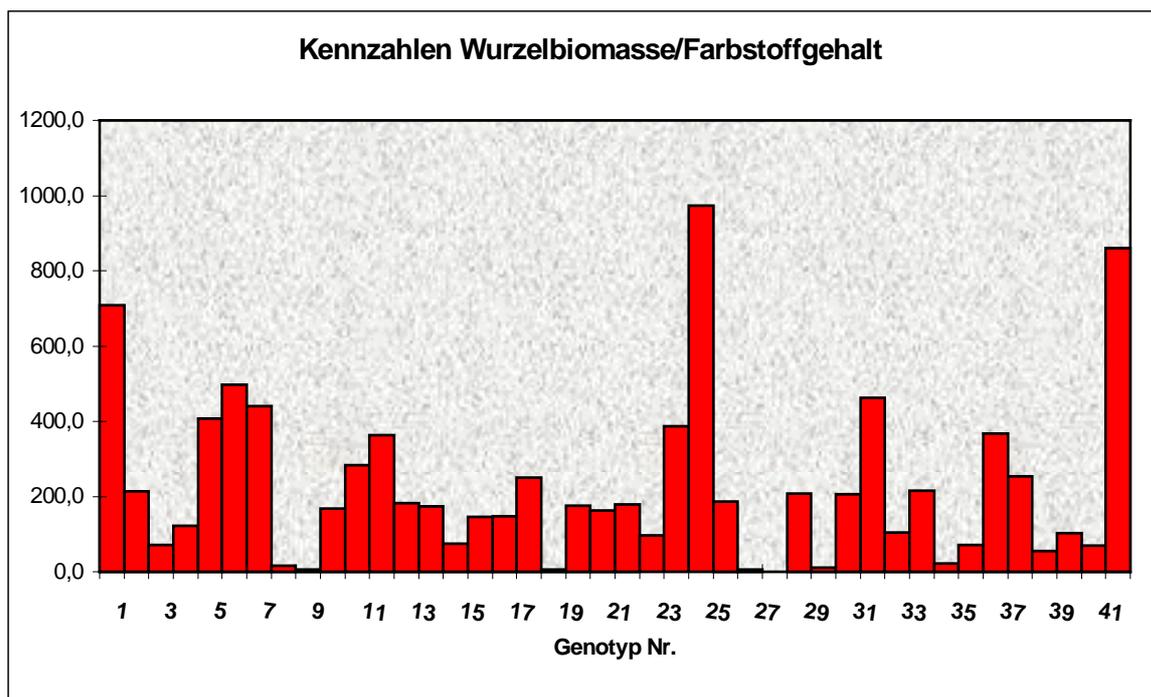
Zum Vergleich der Farbstoffausbeute im Genotypensortiment wurden wie unter Punkt 6.1.5.2 Kennzahlen als Produkt aus den Wurzelbiomassen in kg (Versuch III, siehe *Anhang 4*) und dem in den Farbstoffextrakten ermittelten Gesamttaglykongehalten in g/kg (siehe Tabelle 7) berechnet. Sie sind in Abbildung 22 dargestellt.

Genotyp 25 nimmt auch bei der Bewertung der Farbstoffbiosynthese eine herausragende Stellung ein. Genotyp 42 ist aufgrund seiner hohen Biomasseproduktion als sehr gut zu bewerten. Da die mit diesem Genotyp erzielten Ledereigenschaften vergleichsweise schlecht ausfielen, wäre die Herstellung von reinen Farbextrakten aus diesem Genotyp zu favorisieren.

Weiterhin weisen die Genotypen 1 und 11 hohe Farbstoffgehalte auf, wobei Genotyp 11 wegen zu geringer Biomassebildung wohl nicht für einen großflächigen Anbau geeignet ist.

Die Kennzahlen der Genotypen 8, 9, 19, 27 und 30 resultieren nur aus der Biomasseproduktion und sind daher nicht aussagekräftig.

Abb. 22: Kennzahlen der Rheum-Genotypen



6.2.6 Untersuchung der nach ihrer Farbe ausgewählten Genotypen

Die mittels der unter Punkt 6.2.4 beschriebenen HPLC-Methode ermittelten Farbstoffgehalte der von der NIG GmbH hergestellten Farbstoffextrakte der ausgewählten Rheum - Genotypen sind im *Anhang 10* dargestellt (zur Bezeichnung der Extraktvarianten siehe Bericht NIG GmbH Magdeburg).

Durch Vergleich der Absorptionsspektren der Standardsubstanz Rhein mit dem von der Chromatographiesoftware in fast allen Proben bei der entsprechenden Retentionszeit als Rhein identifizierten Peak konnte belegt werden, daß es sich nicht um Rhein handelt (siehe Abb. 23 und 24). Dieser Vergleich wurde bei allen Proben durchgeführt.

Abb.23: Chromatogramm der Probe 2/98

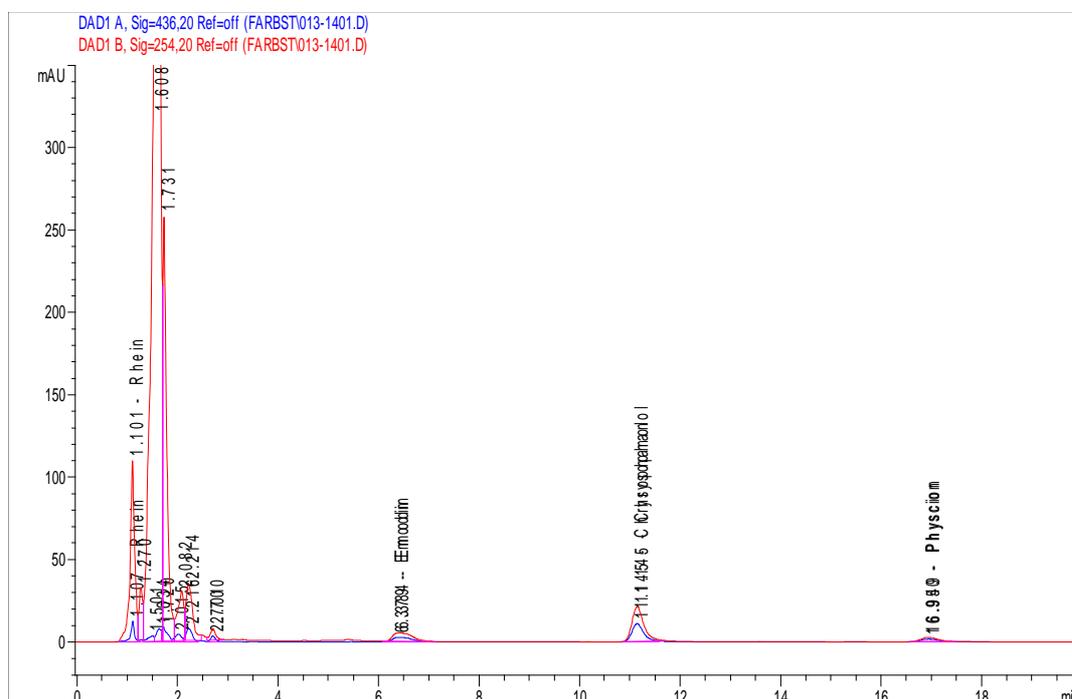
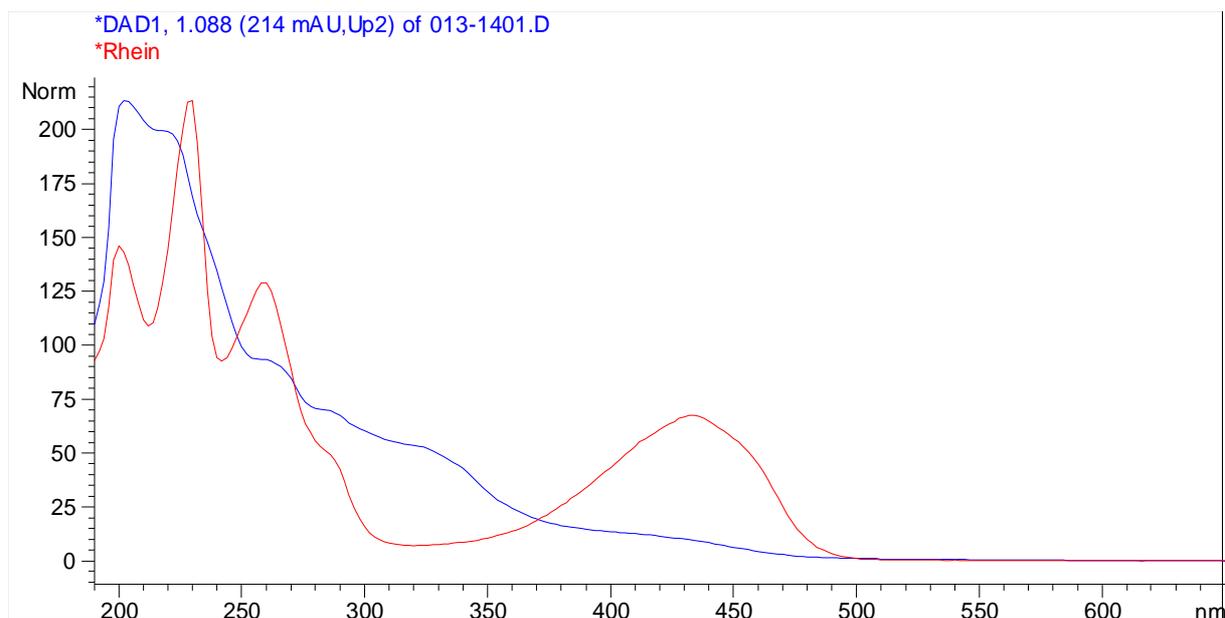


Abb.24: Vergleich der Absorptionsspektren Probe 2/98 Gerbstoff (blau) und Standardsubstanz Rhein (rot)

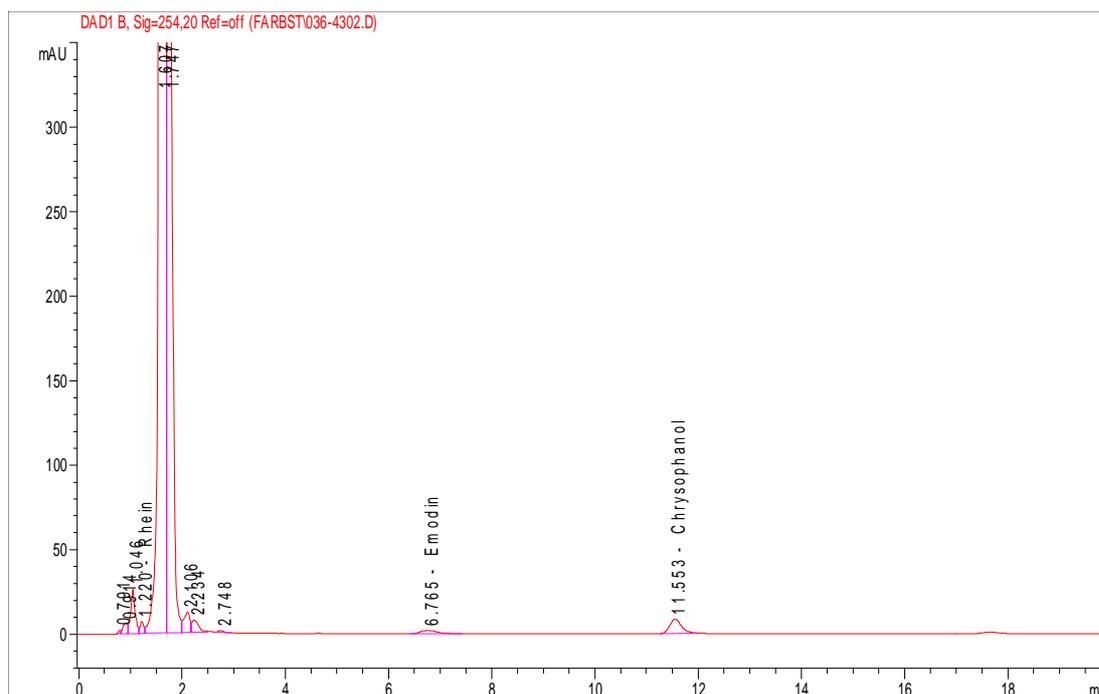


6.2.7 Untersuchung der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion"

Aus der Erprobung verschiedener Extraktionsvarianten seitens der NIG GmbH Magdeburg resultierten Fraktionen, die nach der Klassifizierung der NIG GmbH als "kaltwasserunlösliche Fraktionen" bezeichnet wurden. Die bei der Extraktion des Genotyps 10 (Sorte "The Sutton") erhaltene Probe wurde mittels der an der Hochschule Anhalt vorhandenen instrumentellen Ausrüstung näher analysiert.

Nachfolgende Abb. zeigt das Chromatogramm dieser Probe nach der chromatografischen Trennung mittels HPLC.

Abb. 25: Chromatogramm der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion (Detektion bei 254 nm)



Die Probe "**kaltwasserunlösliche Fraktion**" zeigt im Vergleich der chromatografischen Auftrennung starke Ähnlichkeit mit allen anderen Proben. Von den Aglykonen werden lediglich Emodin und Chrysophanol in einer Gesamtkonzentration von 0,7 % (m/m) gefunden. Die weiteren Untersuchungen hatten das Ziel, die Identität der "unbekannten Peaks" im Chromatogramm zu klären.

Die Absorptionsspektren der beiden dominierenden Peaks bei 1,607 min und 1,747 min sind in den Abb. 26 und 27 blau dargestellt. In allen anderen Chromatogrammen eluieren bei dieser Retentionszeit ebenfalls große Matrixpeaks. Stellvertretend sind in den Abb.26 und 27 die Absorptionsspektren dieser Peaks aus der Probe **2/98-Farbstoff-Fr.2** rot dargestellt.

Abb. 26: Vergleich der Absorptionsspektren des Peaks bei 1,607 min der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion" (blau) mit einem Matrixpeak an gleicher Position aus Probe Genotyp 2/98 Farbst.-Fr. 2(rot)

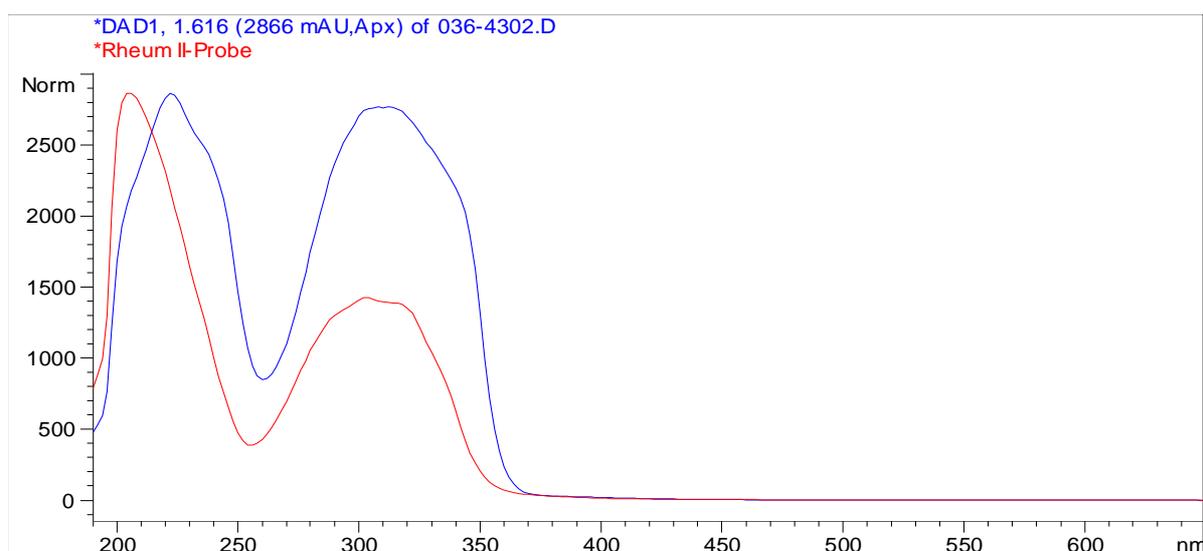
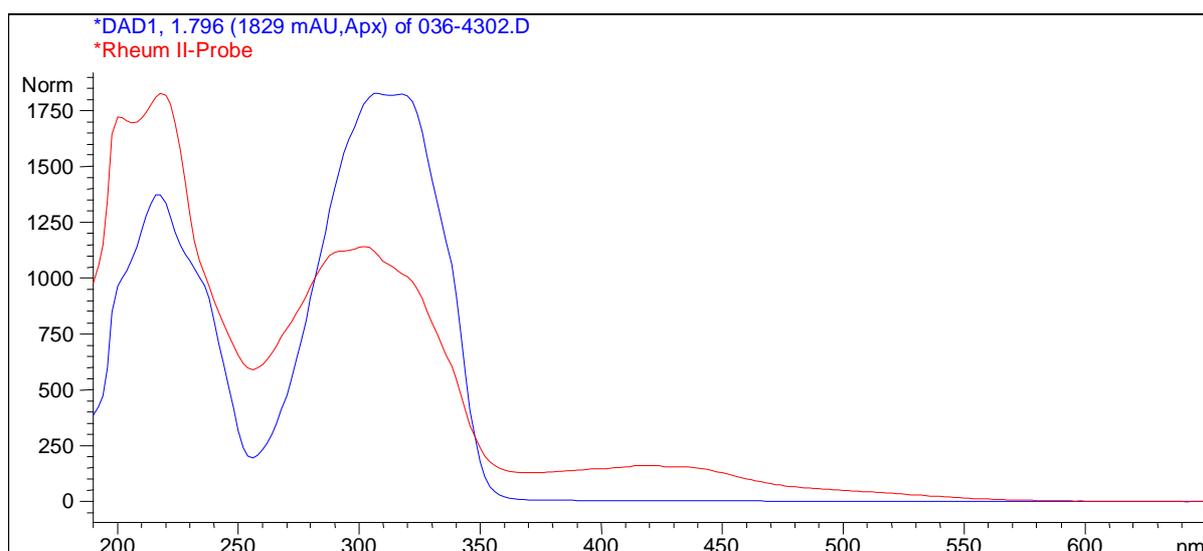


Abb. 27: Vergleich der Absorptionsspektren des Peaks bei 1,747 min der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion" (blau) mit einem Matrixpeak an gleicher Position aus Probe Genotyp 2/98 Farbst.-Fr. 2(rot)



Daraus kann zunächst geschlußfolgert werden, dass sich die qualitative Zusammensetzung der "kaltwasserunlöslichen Fraktion" nicht wesentlich von der der anderen Farbstoff-Fractionen unterscheidet.

6.2.7.1 Qualitative dünnschichtchromatografische Untersuchungen

Zur weiteren Identifizierung der unbekannt Substanzen der kaltwasserunlöslichen Fraktion wurden drei Extrakte (Probenbezeichnung siehe Beschriftung an den einzelnen Aufnahmen) nochmals dünnschichtchromatografisch untersucht.

Durch postchromatografische Derivatisierung mittels verschiedener Sprühreagenzien ist zumindest eine Zuordnung zu verschiedenen Substanzklassen möglich.

Zur Anwendung kamen:

- 5%-ige methanolische KOH → spezifisch für Hydroxyanthrachinone, aber auch Hydroxyanthrone bzw. -dianthron: **Rotfärbung**
- 2%-ige methanolische Eisen (III)chloridlösung → spezifisch für Gerbstoffe:
dunkelgrün auf gelbem Untergrund
- Pyridin:Methanol (1:1, v/v) → spezifisch für Hydroxyanthrone bzw. -dianthron :
Violett färbung
→ zur Unterscheidung von Hydroxyanthrachinonen
orange-gelbe Färbung.

Die Proben (je 7000nl) sowie das Standardgemisch (3500 nl) wurden mit dem automatischen Probengeber ATS 3 der Fa. CAMAG strichförmig aufgetragen.

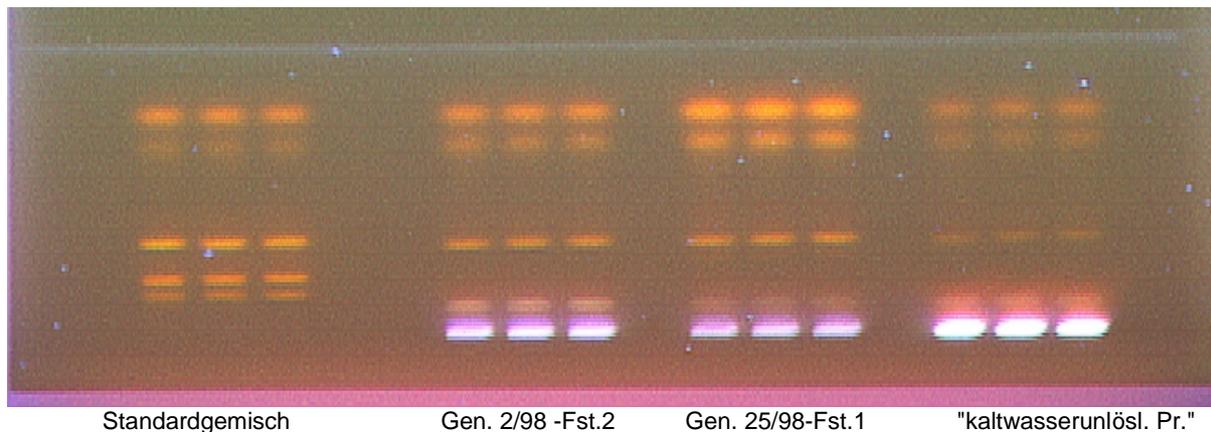
Nach der Entwicklung der HPTLC-Platten (Kieselgel 60 F 254) im Fließmittel n-Hexan:Essigsäureethylester:Essigsäure (14:3:0,1) und anschließender Trocknung wurde zuerst eine Aufnahme im UV-Licht bei 366 nm (siehe **Aufnahme 1 und 2**) gemacht.

1. Das Standardgemisch enthält in aufsteigender Reihenfolge Rhein, Aloe-Emodin, Emodin, Physcion und Chrysophansäure. Alle drei Proben enthalten die per HPLC quantifizierten Aglykone Emodin, Physcion und Chrysophansäure. Über der stark fluoreszierenden Bande am Startpunkt liegt bei allen Proben eine weitere Bande unterhalb der Laufstrecke von Rhein.
2. Nach Besprühen mit methanolischer KOH (**Aufnahmen 3 und 4**) färbten sich erwartungsgemäß die Standards sowie die Aglykone der 3 Proben rot. Ganz schwach erscheint eine zusätzliche Bande über Emodin (Aufnahme 4, Probe Genotyp 25), die Bande am Start zeigt eine Braunfärbung, die darüberliegende Bande ist nach der Derivatisierung nicht mehr zu erkennen.
3. **Aufnahme 5** zeigt die Derivatisierung mit Eisen-(III) chlorid. Es zeigt nur die Startbande eine typische Färbung. Die unter 1. genannte Bande zwischen Start und Rhein zeigt keine Reaktion.
4. Nach der Derivatisierung mit Pyridin : Methanol trat die unter 2. beschriebene zusätzliche Bande deutlicher lila gefärbt hervor. Die unter 1. genannte Bande zwischen Start und Rhein zeigt keine Reaktion (**Aufnahmen 6 und 7**).

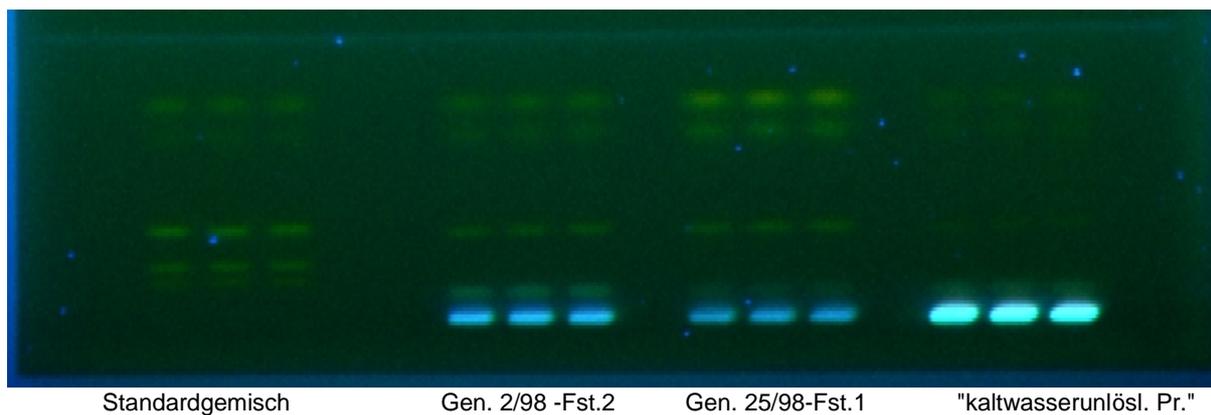
Schlußfolgerungen:

- Bei Gen. 25 scheint zusätzlich noch ein Hydroxyanthrone oder -dianthron im Extrakt enthalten zu sein.
- Bei den zwei dominierenden Peaks im Chromatogramm der Probe „kaltwasserunlöslicher Farbstoff“ scheint es sich nicht um einen Anthrachinonfarbstoff zu handeln. Die Derivatisierung mit Fe(III)Cl zeigt eine für Gerbstoffe positive Reaktion für den Startpeak. Der zweite Peak ist nach den bisherigen Untersuchungen nicht näher einzuordnen.

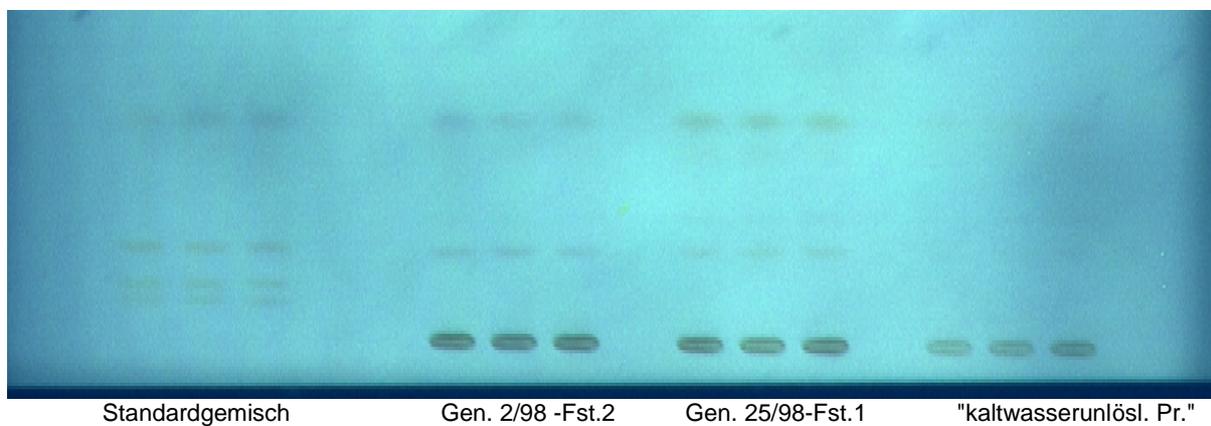
Aufnahme 1: nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter UV-Licht (366nm) ohne Derivatisierung



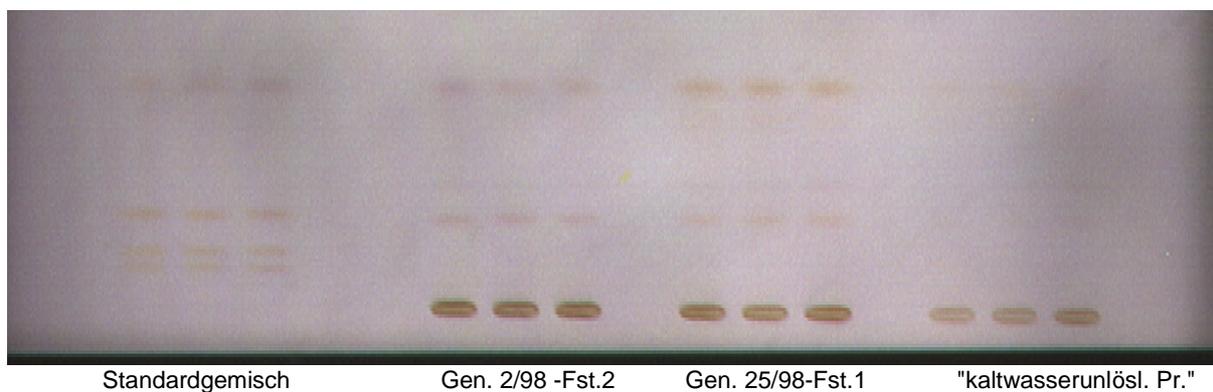
Aufnahme 2: nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter UV-Licht (366nm) ohne Derivatisierung, weniger belichtet



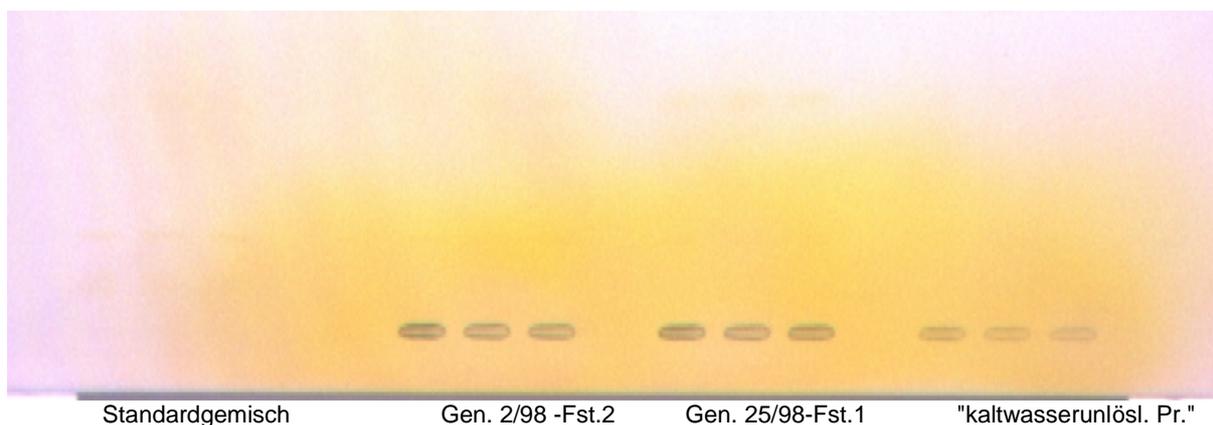
Aufnahme 3: nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter Auflicht (Weißlicht) nach Derivatisierung mit KOH (anthrachinontypisch),



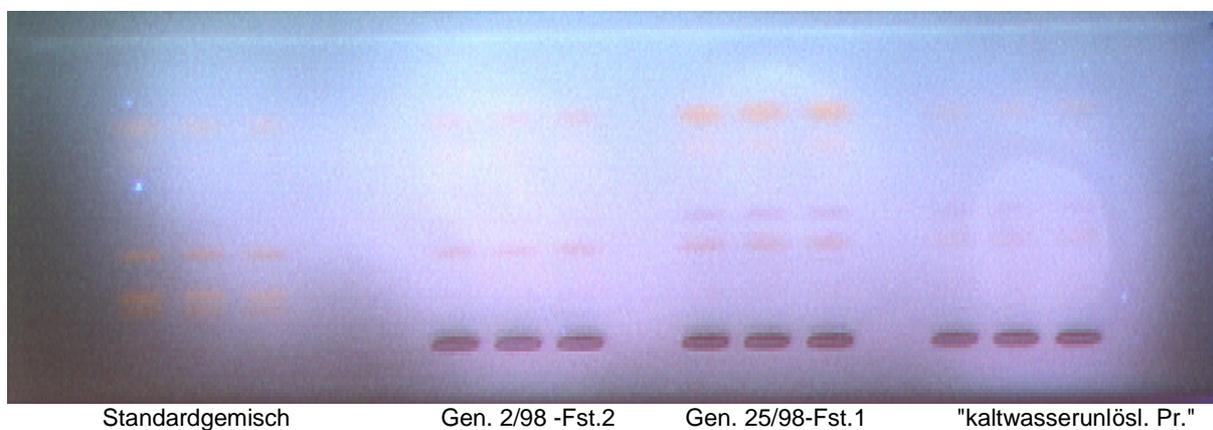
Aufnahme 4: nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter Auflicht (Weißlicht) nach Derivatisierung mit KOH (anthrachinontypisch), andere Belichtung als bei Aufnahme 3



Aufnahme 5: nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter Auflicht (Weißlicht) nach Derivatisierung mit Eisen(III)-chlorid (gerbstofftypisch),



Aufnahme 6: nach Entwicklung im Fließmittel n-Hexan: Ethylacetat: Essigsäure (14:3:0,1) unter Auflicht (Weißlicht) nach Derivatisierung mit Pyridin:Methanol (1:1,v:v), (typisch für Anthrone und Dianthrone)



6.2.7.2 Massenspektrometrische Untersuchungen zur Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion"

Wie unter 6.2.6 ausgeführt, macht das Fehlen von entsprechenden Standardsubstanzen es unmöglich, die noch unbekanntenen Zonen aus den DC-Chromatogrammen bzw. nicht zuzuordnende Peaks aus der säulenchromatografischen Auftrennung eindeutig qualitativ zu bestimmen.

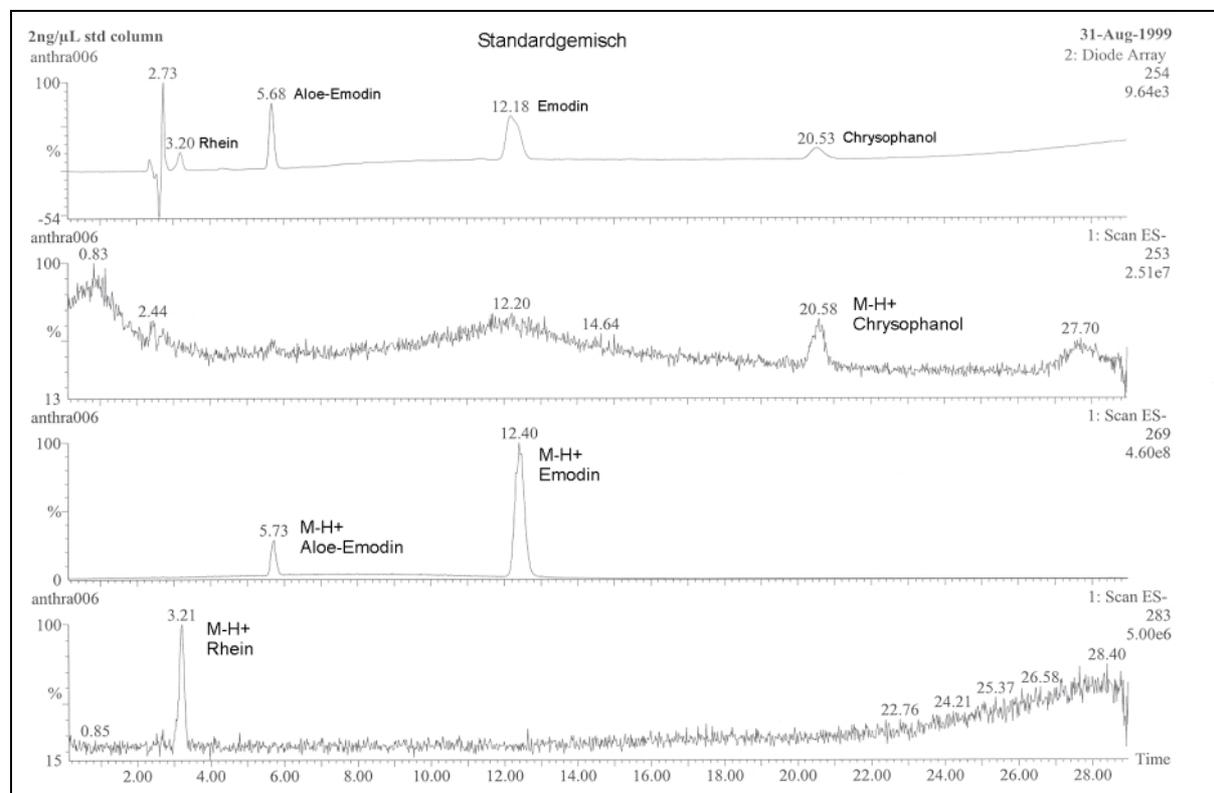
Weitergehende Möglichkeiten bieten sich durch die Kopplung von HPLC und massenspektrometrischer Detektion.

Für entsprechende Messungen stand ein HPLC-Tandem-Massenspektrometer (LS/MS-MS-System) der Fa. Micromass unter Anwendung der Elektrospray-Ionisierungstechnik (ESI) zur Verfügung. Die unter Punkt 6.2.4 dargestellten HPLC-Bedingungen wurden zur chromatografischen Trennung der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion" eingehalten. Aufgrund von Druckproblemen mit der am oben genannten System zur Verfügung stehenden HPLC-Anlage konnte nur ein Fluß von 1,0 ml/min eingestellt werden. Daher ergeben sich in nachfolgend dargestellten Abbildungen für die UV-Spur bei 254 nm Retentionszeitverschiebungen zu den unter Punkt 6.2.4 dargestellten Chromatogrammen (siehe Abb. 21) im Sinne späterer Elution der Einzelsubstanzen.

Nachfolgende Abbildung zeigt von oben nach unten:

1. Chromatografische Auftrennung des Anthrachinonstandardgemisches, Detektion bei 254 nm (Phsycion konnte nicht mehr detektiert werden, da bereits in Lösung zersetzt)
2. Full-Scan MS der Masse $m/z = 253$ im Negativ Modus (entspricht der Masse von Chrysophanol $M = 254$ minus H^+)
3. Full-Scan MS der Masse $m/z = 269$ im Negativ Modus (entspricht der Masse von Emodin bzw. Aloe-Emodin $M = 270$ minus H^+)
4. Full-Scan MS der Masse $m/z = 283$ im Negativ Modus (entspricht der Masse von Rhein $M = 284$ minus H^+)

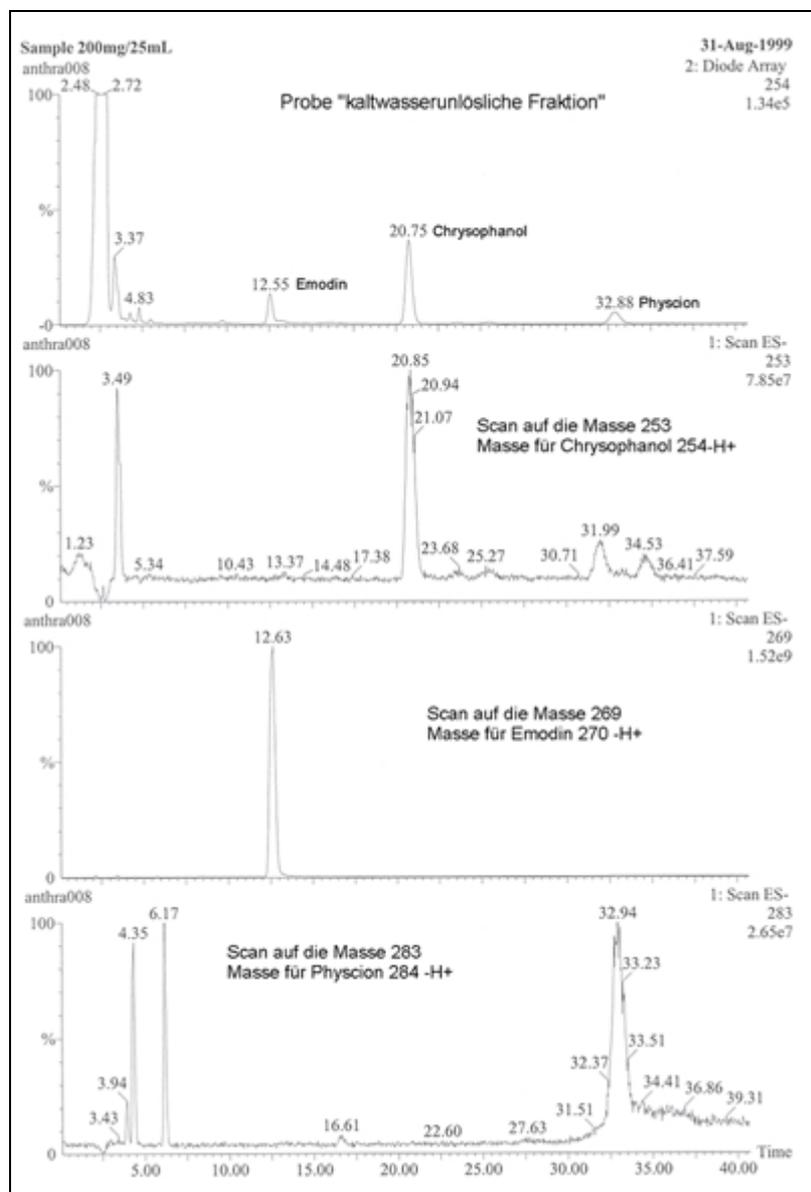
Abb. 28: UV- und massenspektrometrische Detektion der Anthrachinonaglykone (Standardgemisch)



Entsprechend zu den Retentionszeiten erscheinen in den Massenspektren der Quasimolekülonen der einzelnen Anthrachinonaglykone Signale für Ionenintensitäten.

Abb. 29 zeigt in gleicher Weise die UV-Spur bzw. die Massenspuren für die Anthrachinonaglykone der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion".

Abb. 29: UV- und massenspektrometrische Detektion der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion"



Wie schon unter Punkt 6.2.7 dargestellt, können die Verbindungen Emodin und Chrysophanol im UV-Chromatogramm qualitativ über den Retentionszeitvergleich mit Standardsubstanzen bestimmt werden. Eindeutig findet man im Massenspektrum auch die Ionenintensitäten der entsprechenden Quasimolekülonen.

In der Probe, die als Extraktpulver vorlag und unmittelbar vor der Analyse in Isopropanol/Wasser (50/50) gelöst wurde, erscheint ein Peak bei 32,88 min im UV-Chromatogramm. Hierbei handelt es sich um Physcion. Im Full-Scan MS-Spektrum findet man für das Quasimolekülion $m/z = 283$ (Masse für Physcion $M = 284$ minus H^+) eine entsprechende Ionenintensität.

Nicht nachweisbar war das Aglykon Rhein, die Massenspur $m/z = 283$ ($M = 284$ minus H^+) zeigt bei der Retentionszeit von 3,21 min (siehe Abb.28) keine Ionenintensität.

Die in dieser Probe noch nicht identifizierten Substanzen eluieren sehr früh. Bei den vorliegenden chromatografischen Bedingungen (RP 18-Material, Eluent: Methanol : Wasser-Gemisch 80:20 v/v, Flow: 1,5 ml/min) müssen diese Verbindungen polarer sein als die später eluierenden Aglykone. Dass in den Full-Scan-Massenspuren der Massen $m/z = 253$ und 283 in diesem Bereich des Chromatogramms Ionenintensitäten auftreten, deutet auf das Vorhandensein von glykosidisch gebundenen Aglykonen hin. Die Massen der Anthrachinonglykoside berechnen sich wie folgt:

Masse des Aglykons plus Masse von Zucker (180) minus 18 (Abspaltung von Wasser bei der glykosidischen Bindung)

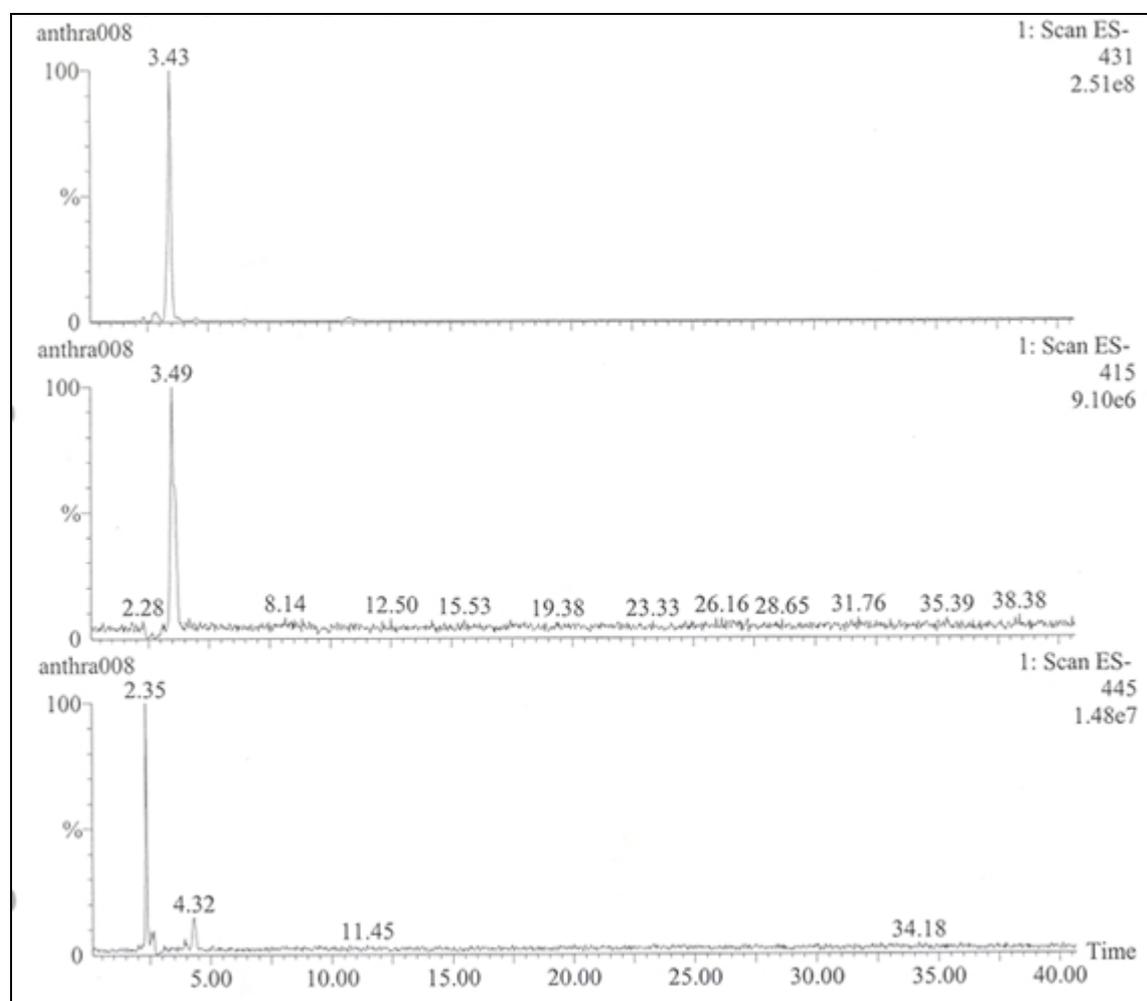
Entsprechend ergeben sich folgende Massen:

- | | | |
|-----------------------------|-----|-------------------------------------|
| • für Rhein-glykosid | 446 | M minus H ⁺ = m/z = 445 |
| • für Aloe-Emodin-glykosid | 432 | M minus H ⁺ = m/z = 431 |
| • für Emodin-glykosid | 432 | M minus H ⁺ = m/z = 431 |
| • für Chrysophanol-glykosid | 416 | M minus H ⁺ = m/z = 415 |
| • für Physcion-glykosid | 446 | M minus H ⁺ = m/z = 445. |

In einem nächsten MS-Experiment wurden die Bedingungen so gewählt, dass nur die Ionenintensitäten der Massen 445, 431 und 415 detektiert wurden.

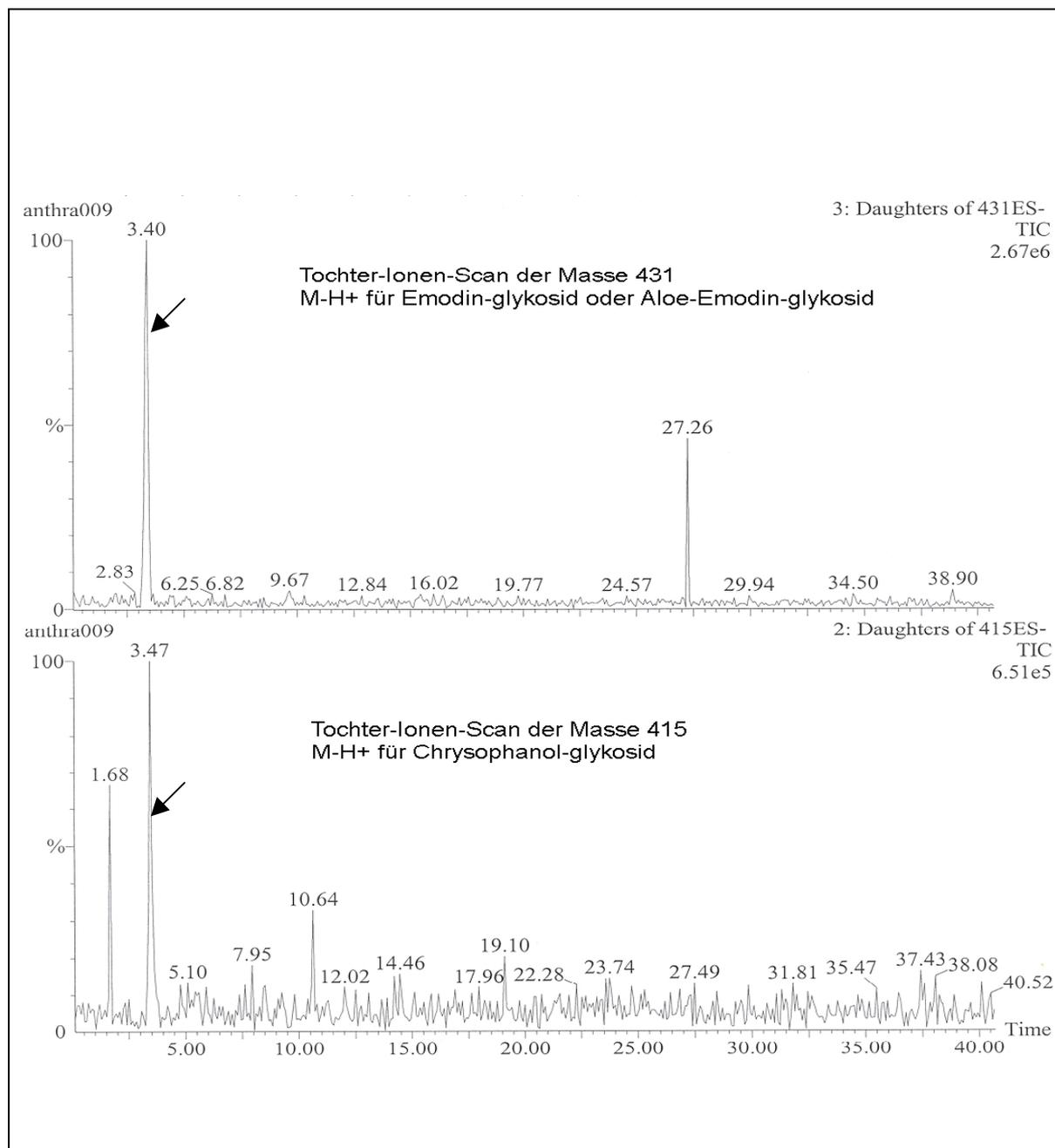
Wie in Abb. 30 gezeigt, erscheinen die Ionenintensitäten für diese Massen bei einem Analysenlauf über 40 min nur bis ca. 4,3 min, also im Bereich der noch nicht identifizierten Peaks.

Abb. 30: Scan auf die Massen m/z = 431, 415 und 445 im ES-Negativ-Ion-Mode



Auch die Tochter-Ionen-Spektren im MS/MS-Experiment zeigen Ionenintensitäten in dieser Region (Abb. 31).

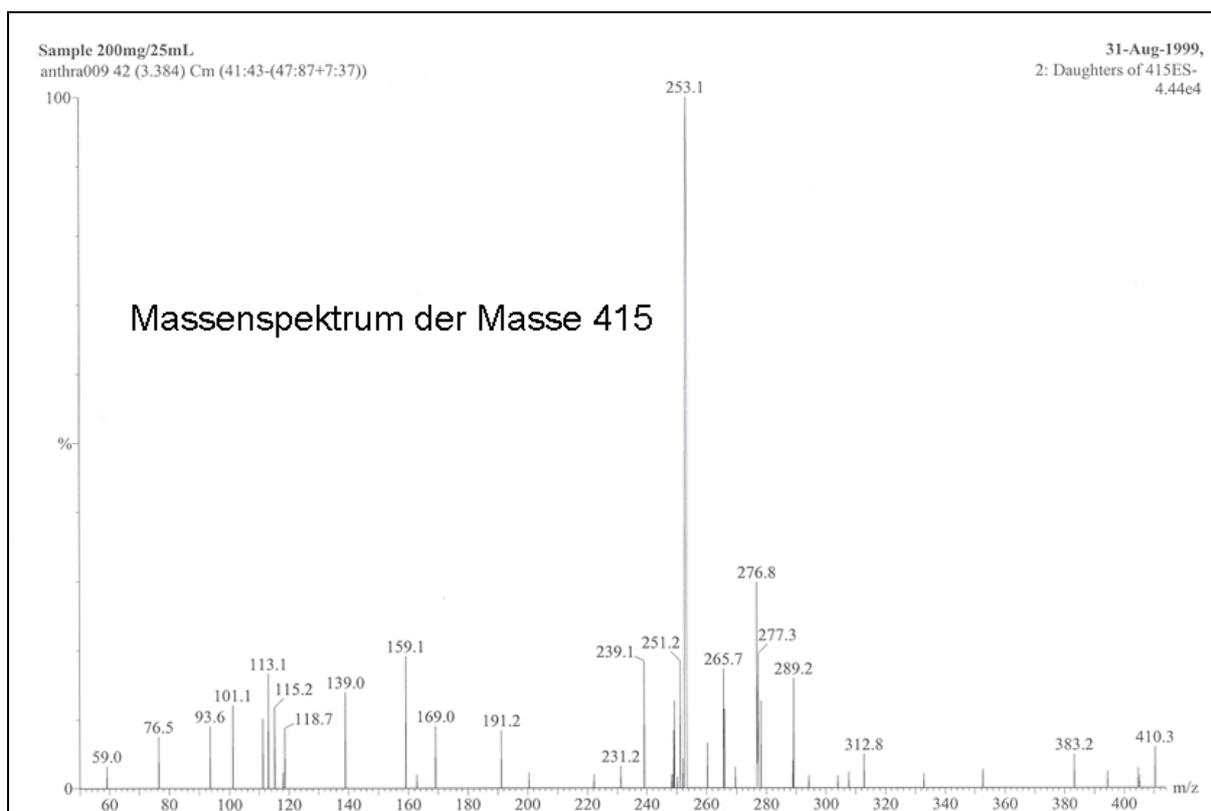
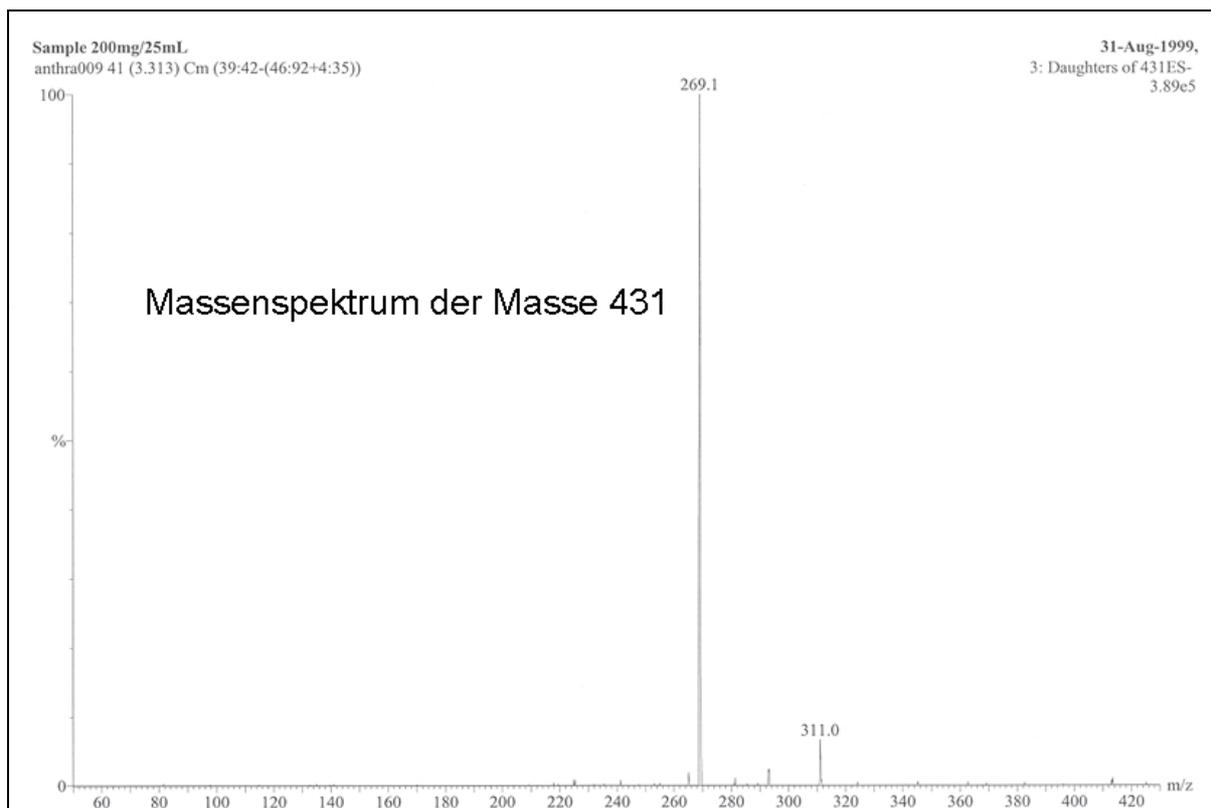
Abb. 31: Daughter-Ion-Scan der Massen 431 und 415 im ES-Negativ-Ion-Mode



Nachfolgende Abbildungen (Abb. 32 u. 33) zeigen die Massenspektren der in der obigen Abbildung mit einem Pfeil versehenen Peaks. Durch Stoßaktivierung (collision-induced-dissociation, CID) der Quasimolekülionen 431 und 415 mit Argon als Stoßgas ergeben sich charakteristische Tochterionenspektren. Die jeweiligen Eltern-Ionen sind aufgrund der Fragmentierung nicht mehr zu erkennen. Als Base-Peaks treten die Massen für die Aglykone Emodin oder Aloe-Emodin und für Chrysophanol auf. Die Massendifferenz zu den Eltern-Ionen beträgt in beiden Fällen 162 und entspricht der Abspaltung von Glukose. (Bedingungen für die MS-Experimente siehe *Anhang 11*).

Dies beweist das Vorhandensein von Anthrachinonglykosiden in dem Bereich des Chromatogrammes von ca. 3 min bis ca. 5 min (siehe UV-Spur, Abb. 29).

Abb. 32 u. 33: Elektrospray-Tochterionenspektren der Massen 431 und 415



Scans auf Eltern-Ionen von Dianthronen bzw. Dianthronglykosiden (Massenzahlen siehe *Anhang 12*) ließen keine Ionenintensitäten für diese Verbindungen erkennen. Vom chromatografischen Verhalten sind unter den beiden großen Peaks zu Beginn des Chromatogramms auch viel polare Verbindungen zu erwarten.

Mittels Nanospray-Technik wurde die Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion" ohne vorherige chromatografische Trennung direkt in das MS injiziert .

Für einige Rheum-Arten, wie Rheum palmatum und Rheum officinale ist das Fehlen von Rhaponticin charakteristisch. Da diese beiden Arten zur Drogengewinnung pharmazeutisch genutzt werden, ist die Abwesenheit von Rhaponticin auch ein Kriterium bei der Reinheitsprüfung, da die Substanz eine östrogene Wirkung haben soll /21/.

Der Genotyp 10, aus dem die Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion" isoliert wurde, gehört dagegen zu der rhaponticinhaltigen Rheum-Art Rheum rhabarberum.

Durch die Vorgänge in der ESI-Quelle werden außer Quasimolekülonen auch leicht Artefakte mit Ammonium- bzw. Natriumionen gebildet. Treten sie regelmäßig auf, wird das Auffinden des eigentlichen Molekülonen erleichtert.

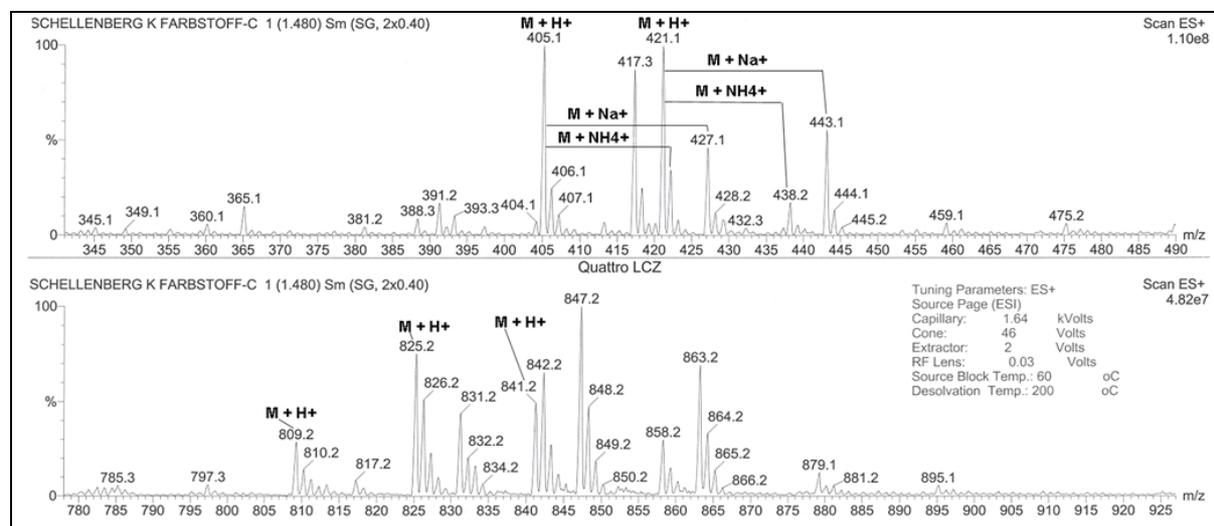
Im Massenbereich bis 950 m/z treten solche Artefakte für die Massen 808, 825 und 840 auf (in Abb. 36 aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht einzeln gekennzeichnet).

Die Massen selbst resultieren aus der Clusterbildung in der ESI-Quelle von :

- je einem Molekül Desoxyrhaponticin mit einem zweiten Molekül Desoxyrhaponticin
 $404 + 404 + H^+ \rightarrow 809$
- je einem Molekül Desoxyrhaponticin mit einem Molekül Rhaponticin
 $404 + 420 + H^+ \rightarrow 821$
- je einem Molekül Rhaponticin mit einem zweiten Molekül Rhaponticin
 $420 + 420 + H^+ \rightarrow 841$.

Hierbei lagern sich die Moleküle ohne Ausbildung einer chemischen Bindung zusammen. Würde es sich um echte Dimere handeln, (egal, ob nativ aus dem Pflanzenmaterial stammend oder erst in der Ionenquelle gebildet) könnte man dies an der Massendifferenz von minus 2 amu gegenüber der doppelten Monomerenmasse erkennen.

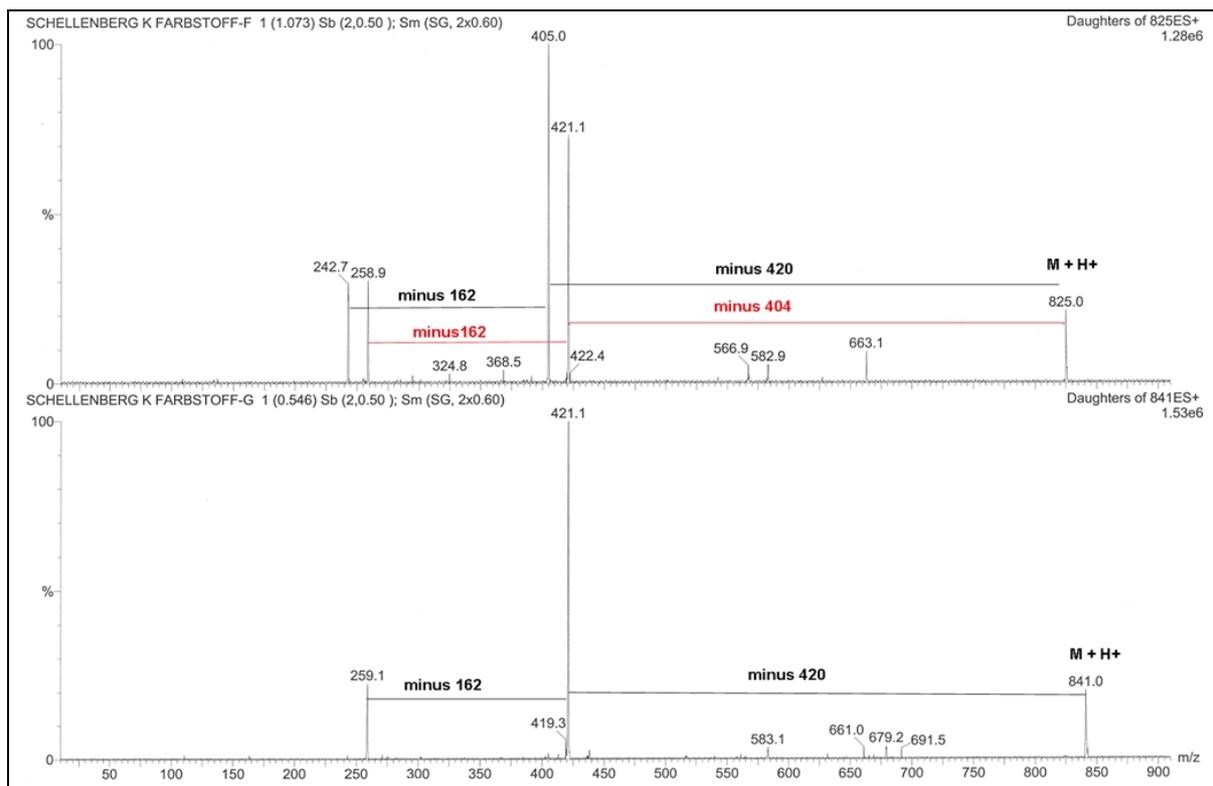
Abb. 36: Ausschnitt aus dem ESI-Full-Scan-Massenspektrum (Positiv Mode) der Gesamtprobe "kaltwasserunlösliche Fraktion" im Bereich 340 bis 490 m/z bzw. 780 bis 925 m/z



Den Beweis für diese Vermutung liefern die Elektrospray-Tochterionenspektren der Quasimolekülonen 825 und 841. Wie in Abb. 37 gezeigt, ergibt die Fragmentierung der Masse 841 (untere Darstellung) zwei charakteristische Tochterionen, die Masse 421 für das $M + H^+$ von Rhaponticin und die Masse 259, die der Abspaltung von Glukose aus dem Rhaponticin entspricht.

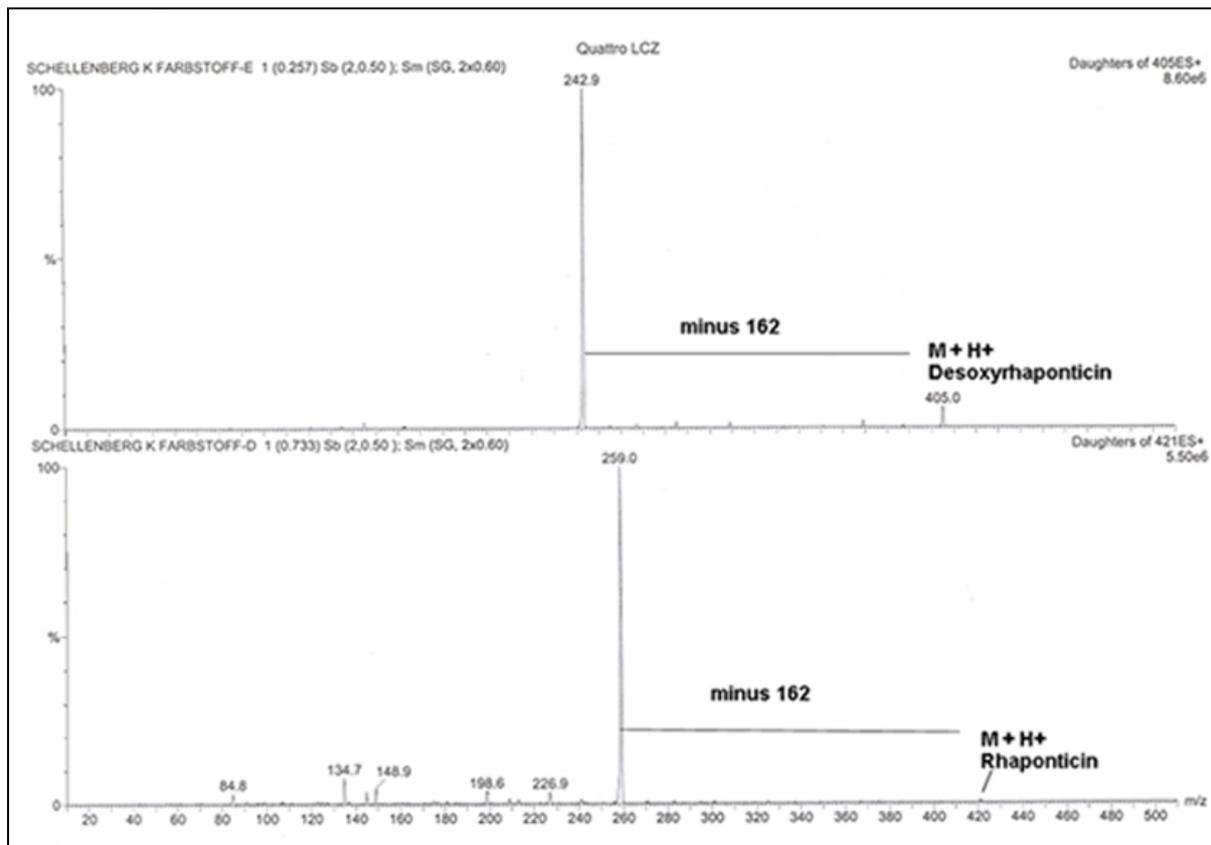
Das Parent-Ion 825 zerfällt in je ein $M + H^+$ der Masse 405 = Desoxyrhaponticin sowie in $M + H^+ = 421$ = Rhaponticin. Beide Tochterionen spalten wiederum Glukose ab.

Abb. 37: Elektrospray-Tochterionenspektren der Massen 825 und 841



Zur Komplettierung seien nachfolgend (Abb. 38) noch die Elektrospray-Tochterionenspektren der Massen 405 und 421 gezeigt. Hier sind noch einmal für die Quasimolekülonen der Monomere Desoxyrhaponticin und Rhaponticin die charakteristischen Fragmentierungen dargestellt. Sowohl Desoxyrhaponticin wie auch Rhaponticin spalten Glukose ab, das Massenspektrum des Rhaponticin zeigt als Base-Peak die Masse 259, dies entspricht dem $M + H^+$ der Verbindung Rhapontigenin (siehe auch Abb. 35).

Abb. 38: Elektrospray-Tochterionenspektren der Massen 405 und 421



Schlußfolgerungen:

- In der Probe "kaltwasserunlösliche Fraktion" ist neben den Aglykonen Emodin und Chrysophanol auch noch Physcion enthalten.
- Die Probe enthält glykosidisch gebundene Aglykone. Eindeutig kann man über die Masse des Quasimoleküls sowie aus den zugehörigen Fragmentmassen Chrysophanol-monoglykosid identifizieren. Es ist weiterhin Emodin- und/oder Aloe-Emodin-monoglykosid enthalten. Da beide Substanzen die gleiche Masse besitzen, kann mit der an dem uns zur Verfügung stehenden Gerätesystem zu erzielenden Massenauflösung von einer Masseneinheit keine genauere Unterscheidung vorgenommen werden. Hier bleibt nur die Möglichkeit, über eine Modifizierung der chromatografischen Bedingungen diese zwei Substanzen vor Eintritt in das MS zu trennen
- Massen von Dianthronen bzw. Dianthronglykosiden konnten nicht detektiert werden. Dies stimmt mit den Ergebnissen der dünnschichtchromatografischen Untersuchungen (6.2.7.1) überein.
- Es handelt sich auch nicht um Flavonolfarbstoffe wie z.B. Quercetin.
- Die Probe enthält die für Genotyp 10 durchaus typischen Rhaponticinderivate. Über die quantitativen Verhältnisse kann jedoch keine Aussage getroffen werden.
- Die Probe scheint somit zu einem beträchtlichen Teil aus Gerbstoffen zu bestehen, der offensichtlich einen nicht unerheblichen Anteil zur Färbung beiträgt.

6.2.8 Untersuchung der Rohstoffe und Extrakte auf ihren Schwermetallgehalt

In Tabelle 8 sind aus der Literatur (siehe unten) entnommene mittlere Häufigkeiten der von uns untersuchten Schwermetalle Chrom, Kupfer, Nickel, Blei und Cadmium zusammengestellt.

Tabelle 8: Mittlere Häufigkeiten der Schwermetalle Chrom, Kupfer, Nickel, Blei und Cadmium im Boden und in der Erdkruste

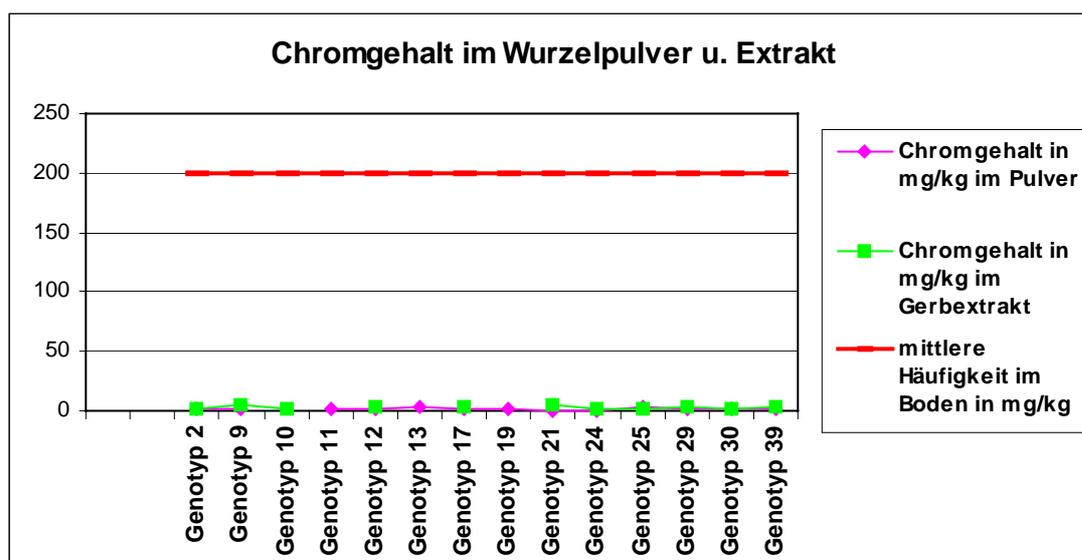
Mittlere Häufigkeit von:	Im Boden	In der Erdkruste
Chrom	200 ppm (1)	64 mg/kg (1) bis 200 mg/kg (3)
Kupfer	10 bis 80 ppm (1)	100 mg/kg (1)
Nickel	40 ppm (1)	150 mg/kg (1)
Blei		2mg/kg (1) bis 16 mg/kg(2)
Cadmium	0,1 ppm (1) bis 0,6 ppm (2)	0,1 mg/kg (1;2)

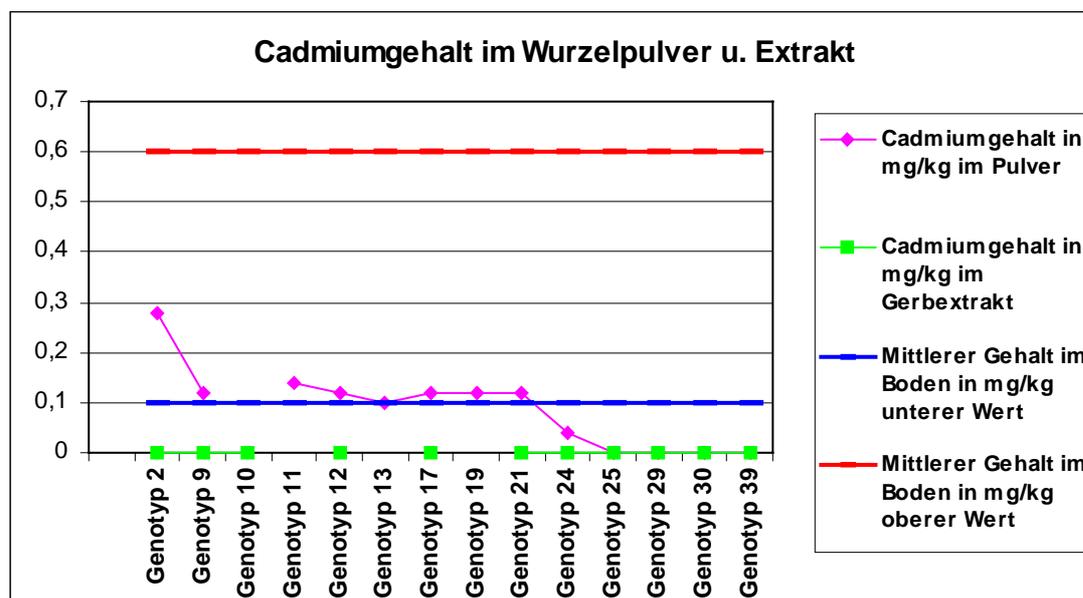
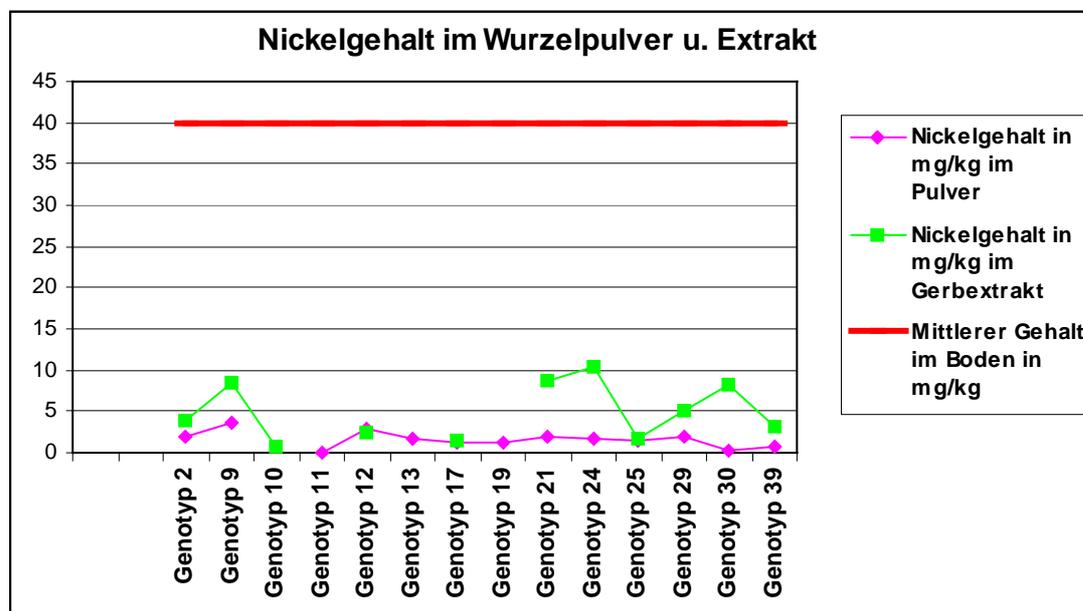
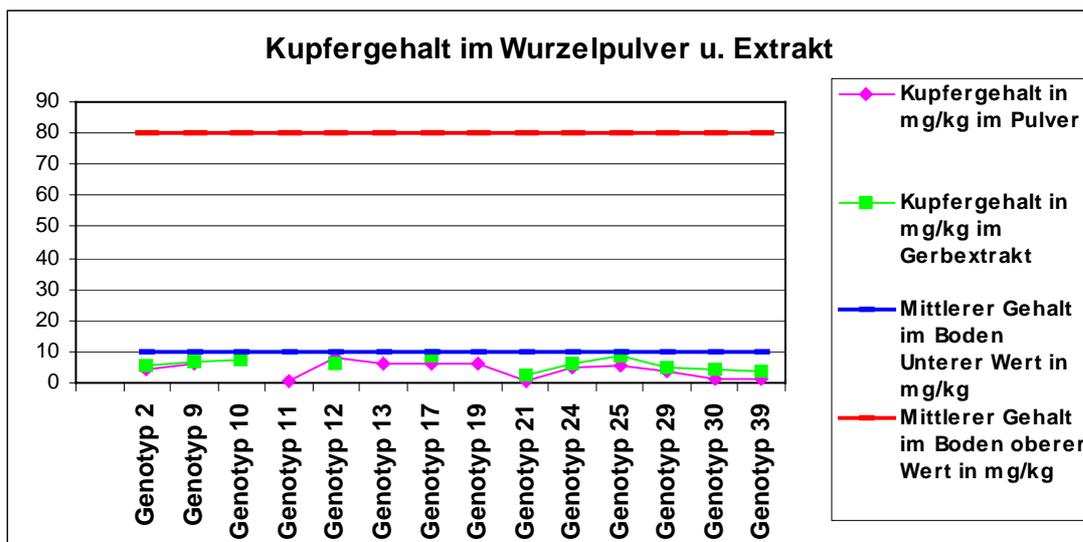
- Lit: (1) Jakubke, H.D., Jeschkeit, H. (Hrsg.): Brockhaus abc Chemie, Bd. 1 u. 2. VEB Brockhaus Verlag Leipzig, 5. Auflage, 1987
 (2) Kümmel, R., Papp, S.: Umweltchemie - Eine Einführung. Dt. Verlag für Grundstoffindustrie, 2. Auflage, 1990
 (3) Roth, L.: Chrom- und Chromverbindungen. ecomed Verlag Landsberg, 1999

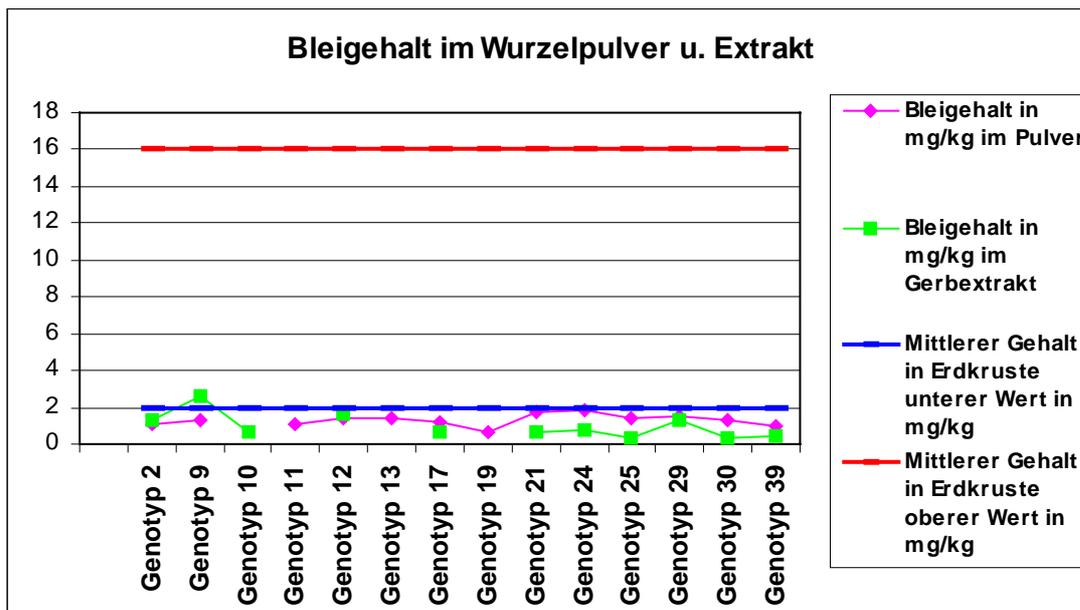
Die Aufarbeitung der zu untersuchenden Proben erfolgte nach der amtlichen LUFA-Methode für Futtermittel. Die Bestimmung der einzelnen Elemente geschah mittels Atomabsorbtionsspektroskopie.

Nachfolgende Abbildungen 36 bis 40 zeigen, dass die Gehalte der Wurzelpulver bzw. der daraus hergestellten Extrakte (hier Gerbextrakte) an den o. g. Schwermetallen deutlich unter den angegebenen Grenzen und in dem für Pflanzen physiologischen Bereich liegen. Die Zusammenstellung der diesen Abbildungen zugrundeliegenden Analyseergebnisse findet sich im Anhang .

Abb. 36 bis 40: Schwermetallgehalte von Wurzelpulvern und Extrakten







6.2.9 Zusammenfassung

Die ökologische Bedenklichkeit bei der Gerbung und Färbung von Häuten resultiert aus dem Einsatz der Chromgerbung und synthetischer chromhaltiger Farbstoffe. Davon betroffen sind derzeit jährlich etwa 1,8 Milliarden m² hochwertiger Leder mit einem Chromgehalt von 36 000 t. Im Rahmen eines durch das BMFT geförderten Verbundvorhabens wurden bereits 3 Gattungen der Knöterichgewächse (Polygonaceae) - Rheum (Rhabarber), Rumex (Ampfer) und Reynoutria (Staudenknöterich) - auf ihre Eignung als Rohstofflieferant zur Gewinnung pflanzlicher Gerbmittel untersucht. Diese Arbeiten wurden mit Rheum und Reynoutria vertiefend fortgeführt und um einen neuen Schwerpunkt erweitert - der Untersuchung, Gewinnung und Nutzung der in den Wurzeln von Rheum (Rhabarber) natürlich vorkommenden Farbstoffe mit dem Ziel der Substitution bislang eingesetzter synthetischer chromhaltiger Metallkomplexfarbstoffe.

Der Anbau der Polygonaceae zur Gewinnung pflanzlicher Gerb- und Farbstoffe könnte mit dazu beitragen, landwirtschaftliche Fläche für den Non - Food - Bereich zu nutzen und damit ein neues Arbeitsfeld für Landwirte zu schaffen.

Die Hochschule Anhalt (FH) hatte im Rahmen dieser Forschungsthemen folgende Aufgabenstellungen zu bearbeiten:

- Vertiefende Untersuchungen zur Gerbstoffproblematik mit größeren Pflanzenmengen der Gattungen Reynoutria und Rheum
- Ermittlung des Einflusses des Erntezeitpunktes auf den Gerbstoffgehalt für die Gattung Reynoutria
- Erweiterung der Untersuchungen auf die Gewinnung der in den Wurzeln verschiedener Genotypen von Rheum (Rhabarber) natürlich vorkommender Farbstoffe
- Entwicklung und Optimierung analytischer Untersuchungsmethoden zur chemischen Charakterisierung der in diesen Wurzeln vorkommenden Farbstoffe
- chemisch-analytische Untersuchung des Pflanzenmaterials auf Begleitstoffe
- Bereitstellung des Pflanzenmaterials an die NIG zur Extraktion, Lieferung des Pflanzenmaterials an das FILK zur Ermittlung des Gerbstoffgehaltes.

Wesentliche Ergebnisse:

- Für einen zukünftigen großflächigen Anbau sind die Rhabarbergenotypen 2, 24, 25 und 10 geeignet.

- Zum Ausgleich der Stickstoffbilanz erwies sich eine Erhaltungsdüngung mit 150 kg/ha im ersten Jahr und 200kg/ha im zweiten Jahr sowie mit Kalium-Gaben von 200-250 kg/ha und Jahr (geteilt zum Wachstumsbeginn und im Juli) als völlig ausreichend zur Ausbildung der Biomasse und zur Bildung der für den jeweiligen Genotyp charakteristischen Gerbstoffgehalte.
- Durch in-vitro-Vermehrungsverfahren kann Pflanzmaterial genetisch identischer Pflanzen in großen Stückzahlen hergestellt werden. Damit sind die Voraussetzungen für eine großflächige landwirtschaftliche Produktion gegeben. Pro Hektar sind bei einem Pflanzabstand von $1,5 \times 1,5$ m ca. 5000 Jungpflanzen erforderlich.
- Erstellung einer „Ganzheitlichen Betrachtung der Gerbstoffgewinnung aus Rhabarberwurzeln“. Diese Betrachtung wurde auf der Grundlage des Genotyps 10 vorgenommen und schließt alle Verfahrensschritte, von der landwirtschaftlichen Produktion - Inhaltsstoffcharakterisierung - Extraktion - Gerbung ein.
- Optimaler Erntezeitpunkt für *Reynoutria sachalinensis* sind - unter Beachtung einer jährlich einmaligen Ernte - die Monate Juli und August. Da die Extraktion von *Reynoutria* bei Verwendung eines Blatt-Stengel-Gemisches bessere Extraktionsausbeuten ermöglicht, kann diese Pflanze mittels Mäh- oder Häckselverfahren geerntet werden. Die Standzeit von *Reynoutria* beträgt ca. 10 Jahre.
- Für den qualitativen und quantitativen Nachweis der Anthrachinonfarbstoffe mittels HPTLC wurden neue chromatografische Bedingungen entwickelt. Parallel dazu wurde ein geeignetes HPLC - Verfahren etabliert. Da die ermittelten Leistungsparameter des HPLC - Verfahrens bzgl. der Nachweis- und Bestimmungsgrenze deutlich besser waren, wurde für die quantitative Bestimmung der Anthrachinonfarbstoffe dieses Analysenverfahren eingesetzt.
- Die durch die Nichtverfügbarkeit entsprechender Referenzsubstanzen resultierenden Unsicherheiten bei der Identifizierung weiterer in den Farbstoffextrakten enthaltener Substanzen konnten durch Einsatz einer Kopplung von HPLC und Massenspektrometrie geklärt werden. Mit dieser Analysetechnik konnten sowohl Anthrachinonglykoside als auch die polymerartige Verteilung höhermolekularer Gerbstoffe nachgewiesen werden. Das unterstützt die Vermutung anderer Autoren /3/, dass auch die Gerbstoffe einen Beitrag zur Färbung leisten.
- Die Ermittlung der Schwermetallgehalte sowohl der Rohstoffe als auch der Extrakte erfolgte atomabsorptionsspektrometrisch und ergab durchweg Gehalte, die deutlich unter den in der Literatur angegebenen Grenzen für mittlere Bodengehalte liegen. Dies gilt neben der Bestimmung von Kupfer, Nickel, Cadmium und Blei vor allem auch für Chrom. Damit ist es auch gerechtfertigt, mit aus Rhabarber hergestellten Gerbstoffen für eine Chromsubstitution zu werben.

7. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die Verwertbarkeit der Forschungsergebnisse ist unter dem Aspekt der Kooperation der drei beteiligten Forschungseinrichtungen Hochschule Anhalt FH), Forschungsinstitut für Leder- und Kunstleder-technologie (FILK) und Nahrungsingenieurtechnik GmbH (NIG) zu betrachten.

Die grundlegende Zielstellung der Forschungsarbeiten, nämlich die Möglichkeit, in Anbetracht von weltweit jährlich 400.000 t eingesetzten Chromgerbstoffen eine zumindest partielle Substitution durch vegetabile Gerbstoffe mittels einer den industriellen Erfordernissen entsprechenden landwirtschaftlichen Produktion zu erzielen, ist erreicht worden.

Insbesondere mit den aus Rheum extrahierbaren Gerbstoffen können Lederqualitäten erzeugt werden, die den Anforderungen der Lederwaren herstellenden Industrie in zunehmendem Umfang genügen. Damit stellen diese vegetabilen Gerbstoffe eine Alternative auch zu den bislang eingesetzten Vegetabilgerbstoffen dar, deren Mengenaufkommen und Variationsbreite absehbar begrenzt ist.

Von Vorteil ist, daß aus den untersuchten Pflanzen neben den Gerbstoffen auch Farbstoffe gewonnen werden können. Damit ergibt sich mit der Möglichkeit, Gerbung und Färbung von Leder in einem Arbeitsgang zu realisieren, ein wichtiges wirtschaftliches Argument.

Insofern haben die durchgeführten Arbeiten mindestens Pilotfunktion bei der mengenmäßigen Begrenzung des Einsatzes schwermetallhaltiger Gerb- und Farbstoffe in der Lederindustrie. Damit kann

ein Beitrag zur Entschärfung der derzeitigen weltweit existierenden Situation bei der Entsorgung chromhaltiger Abfälle der lederverarbeitenden Industrie und der von den Verbrauchern nach Gebrauch zu entsorgenden Lederartikel geleistet werden.

Bedeutung haben die Forschungsergebnisse auch insofern, als daß Knöterichgewächse in Mitteleuropa gut wachsen und somit für die einheimische Landwirtschaft zusätzliche wirtschaftliche Alternativen in der non - food - Produktion angeboten werden können.

Durch die Möglichkeit einer kontrollierten landwirtschaftlichen Produktion in letztlich beliebigen Größenordnungen ist vor allem auch die Qualität der erzeugten Gerbstoffextrakte im Rahmen der üblichen landwirtschaftlichen Streubreiten garantierbar. Somit können der Lederindustrie „Gerbstoffe nach Maß“ bereitgestellt werden. Das vor allem ist ein aus wirtschaftlicher Sicht hoch zu bewertendes Argument.

Das wirtschaftliche Interesse an den Ergebnissen kann zum gegenwärtigen Zeitpunkt durch die Vergabe von zwei Lizenzverträgen belegt werden. Die Fa. Schomisch GmbH, die sich durch eine anteilige Finanzierung am Projekt beteiligt hatte, konnte auf diversen Messen bereits aus Rhabarberleder gefertigte Exponate wie Möbel, Taschen, Schuhe und verschiedene Kleinlederwaren präsentieren.

8. Während der Durchführung des Vorhabens bekanntgewordener Fortschritt auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Es wurden keine wichtigen Ergebnisse auf diesem Gebiet von anderer Seite bekannt.

9. Veröffentlichung der Ergebnisse

- Schellenberg, I.: Pflanzen als Rohstoff für die Gewinnung von Gerb- und Farbstoffen. In: Kurzreferate d. 26. Hauptversammlung der GDCH und 100-Jahrfeier der GÖCH, Wien, 7.-11.9.1997, s. 425, ISBN: 3924763-65-8
- Schellenberg, I. et. al.: Gewinnung von Gerb- und Farbstoffe sowie Fruchtsäuren aus Knöterichgewächsen als nachwachsende Rohstoffe. Tagungsband Symposium "Chemie nachwachsender Rohstoffe, Wien, 9./10.9.1997, s.193, ISBN: 3-901305-71-8
- Schellenberg, I., Kabrodt, K., Schnüber, G.: Rhabarber. In: Leitfaden nachwachsender Rohstoffe. Anbau, Verwertung, Produkte, Hrsg. Katalyse-Inst. f. Angew. Umweltforschung. S.172, ISBN: 3-7880-7596-1
- Schellenberg, I., Kabrodt, K., Schnüber, G.: Anbau und Verwertung gerbstoffhaltiger Pflanzen aus landwirtschaftlicher und industrieller Sicht. Vortrag anl. einer Intern. Konferenz zum Thema: Züchtung, Pflanzenbau, Produktqualität und Innovation für und in der Landwirtschaft. veranstaltet vom Prof. Hellriegel-Institut e.V. Bernburg, Juni 1998
- Schellenberg, I.: Mit Pflanzen gegerbt-mit Pflanzen gefärbt. Möglichkeiten zur Gestaltung von Leder. Vortrag anl. eines Europäischen Symposiums zur Qualitätssicherung für den industriellen Einsatz von Färberpflanzen, veranstaltet von LIVOS Pflanzenchemie Bad Bevensen, April 1999
- Schellenberg, I., Kabrodt, K., Schnüber, G.: The use of agriculturally produced raw materials for producing fruit acids and tanning and colouring agents. Vortrag "Sixth Symposium on Renewable Resources for the Chemical Industry together with the Fourth European Symposium on Industrial Crps and Products", Bonn, Mai 1999, erscheint als Tagungsband im Frühjahr 2000

Teilnahme an Messen

- Forschungsforum 1997
- Biotechnika 1997 und 1999

Beiträge im Fernseh- und Rundfunk

- U. a. im MDR am 27.4.99 in der Sendereihe "Einfach genial"
- U. a. MDR, Deutschlandfunk

10. Literaturverzeichnis:

- /1/ Otto, G.: Das Färben des Leders. E. Roether Verlag Darmstadt. 1962
- /2/ Franke, W.: Nutzpflanzenkunde (Nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen) , 3. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart und New York, 1985
- /3/ Schwappe, H.: Handbuch der Naturfarbstoffe: Vorkommen, Verwendung, Nachweis. Ecomed Verlag, 1993
- /4/ Thomson, R.H.: Natural Occuring Quinones. Second Edition. Academic Press, London and New York, 1971
- /5/ Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis. 4. Auflage, 8 Bde., Herausgeber: P.H.List und L. Hörhammer, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1967-1980), Band 6B: s.96-103
- /6/ Falbe, J., Regitz, M.: Römpf Chemie Lexikon. Thieme-Verlag, Stuttgart-New York, 1990
- /7/ Wachsmann, H.: Paris, Hongkong, Miami und was noch? Das Leder 45 (1994) 5, S. 120
- /8/ Schmidt, H.: Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes von Leder im Automobil", Vortrag VDI-Kongreß 14.10.1992
- /9/ Schellenberg, I., Schnüber, G.: Abschlußbericht zum Fo-Thema "Entwicklung von Verfahren zum Anbau sowie zur biotechnologischen Erzeugung von fruchtsäure-, gerb- und farbstoffhaltigen Pflanzenarten aus der Sicht einer industriellen Verwertung der Inhaltsstoffe". 1998
- /10/ KTBL- Taschenbuch Landwirtschaft 1996/97
- /11/ Wähling, Persönliche Mitteilung, 1997
- /12/ Staufenbiel, W.: Dissertation Münster, 1982
- /13/ Gstirner, F., Flach, G.: Arch. Pharmaz. 302, 1, (1969)
- /14/ Stoll, A., Becker, B.; Kussmaul, W.: Helv. Chim Act. 32, 1892 , (1959)
- /15/ Schnelle, F.J., Schratz, E.: Planta medica 14, 193, (1966)
- /16/ Schratz, E., Witt, H.: Deutsche Apotheker Zeitung 106, 1437 (1966)
- /17/ Baier, S.: Dissertation Münster, 1971
- /18/ Rai, P. P., Shok, M.: Chromatographia 14, 599, (1981)
- /19/ Krauß, Ch.: Dissertation Bonn, 1992
- /20/ Karr, D., Kernan, M.:GPC/MS of Proanthocyanidin Polymers and their Acetylated Dervatives., ASMS Poster Reprint Book, 21, Perkin-Elmer SCIEX Instruments (1997)
- /21/ Siegfried, B.: Pharm. Act. Helv. 18, 531, (1943)

Verzeichnis der Anlagen

- Anhang 1: Anlageplan Versuch X
- Anhang 2: Anlageplan Versuch XI
- Anhang 3: Anlageplan Versuch XII und XIII
- Anhang 4: Biomassen Versuch III
- Anhang 5: Biomassen Versuch VII
- Anhang 6a: Monatsernten *Reynoutria sachalinensis* 1997
- Anhang 6b: Monatsernten *Reynoutria sachalinensis* 1998
- Anhang 7: Monatsernten *Reynoutria japonica* 1997 und 1998
- Anhang 8: Kalibrationsfunktionen der 5 Standard-Anthrachinone für die HPTLC
- Anhang 9: Kalibrationsfunktionen der 5 Standard-Anthrachinone für die HPLC
- Anhang 10: Quantifizierung der 5 Standard-Anthrachinone in den Extrakten der nach ihrer Farbe ausgewählten Genotypen (Bezeichnungsschlüssel siehe Bericht NIG)
- Anhang 11: Experimentelle Bedingungen für die MS-Untersuchungen
- Anhang 12: Massen der Quasimolekülonen von charakteristischen Anthrachinonverbindungen
- Anhang 13: Massen der Quasimolekülonen von charakteristischen Gerbstoffen bzw. monomeren Gerbstoffvorstufen
- Anhang 14: Massen der Quasimolekülonen von charakteristischen Rhaponticinderivaten
- Anhang 15: Inhaltsstoffuntersuchung Genotypensortiment
- Anhang 16: Inhaltsstoffuntersuchung ausgewählte Genotypen

Anhang 1

Anlageplan Versuch X:

Ausgewählte Genotypen, 24 mal vermehrt

Genotyp Nr. →

	2	9	11	12	17	19	21	24	25	29	30	39
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

↑ Reihen Nr:

Anhang 2

Anlageplan Versuch XI

Erhaltung des Genotypensortimentes

Reihen Nr.	1	2	3	4	5	6	
	37	38	39	40	41	42	Genotypenbezeichnungen
	37	38	39	40	41	42	Genotypenbezeichnungen
	31	32	33	34	35	36	Genotypenbezeichnungen
	31	32	33	34	35	36	Genotypenbezeichnungen
	25	26	27	28	29	30	Genotypenbezeichnungen
	25	26	27	28	29	30	Genotypenbezeichnungen
	19	20	21	22	23	24	Genotypenbezeichnungen
	19	20	21	22	23	24	Genotypenbezeichnungen
	13	14	15	16	17	18	Genotypenbezeichnungen
	13	14	15	16	17	18	Genotypenbezeichnungen
	7	8	9	10	11	12	Genotypenbezeichnungen
	7	8	9	10	11	12	Genotypenbezeichnungen
	1	2	3	4	5	6	Genotypenbezeichnungen
	1	2	3	4	5	6	Genotypenbezeichnungen

W E G

Anhang 3

Anlageplan Versuche XII bis XIII**Versuch XIII, Genotypensortiment**

Reihen Nr.	1	2	3	4	5	6	
	27	32	33	34	38	40	Genotypenbezeichnungen
	15	16	18	20	22	26	Genotypenbezeichnungen
	5	6	7	8	13	14	Genotypenbezeichnungen

Versuch XII, Ausgewählte Genotypen zur Biomasse-Berntung oberirdisch

Reihen Nr.	1	2	3	4	5	6	
	35	36	37	41	42	4*	Genotypenbezeichnungen
	35	36	37	41	42	1*	Genotypenbezeichnungen
	3	10	12	23	25	31	Genotypenbezeichnungen
	3	10	12	23	25	31	Genotypenbezeichnungen

* Gehört zum Sortiment

Anhang 4

Biomassen Versuch III

angelegt Frühjahr 1993

kg/Wurzel (Erntegewicht , Erde abgeschüt-
telt)

Genotyp	Wurzel				Mittelwert n=4 Vers III
	4	3	2	1	
1	5,5	25,6	30,8	29,5	22,9
2	18,3	20,5	23,6	13,8	19,1
3	8,9	7,0	7,7	10,3	8,5
4	10,5	7,9	7,5	8,9	8,7
5	30,8	15,5	19,0	23,2	22,1
6	13,5	24,7	20,1	26,8	21,3
7	18,3	16,3	*	22,6	19,1 n=3
8	*	*	*	17,1	17,1 n=1
9	5,7	8,0	*	4,1	5,9 n=3
10	23,2	14,5	10,8	16,9	16,4
11	4,6	2,5	8,1	18,3	8,4
12	20,5	14,5	14,2	25,5	18,7
13	13,1	15,7	13,9	14,1	14,2
14	15,3	10,9	15,8	16,9	14,7
15	7,7	8,4	8,1	9,2	8,4
16	16,1	12,2	12,8	15,8	14,2
17	13,6	16,1	16,0	16,7	15,6
18	19,5	20,3	24,7	24,7	22,3
19	4,9	7,3	5,2	3,9	5,3
20	14,0	11,7	12,0	13,0	12,7
21	15,3	9,4	*	6,7	10,5 n=3
22	15,5	19,5	16,0	18,4	17,4
23	7,8	7,9	10,5	8,3	8,6
24	12,1	27,4	26,7	21,9	22,0
25	33,1	30,7	33,4	41,0	34,6
26	16,2	16,5	19,7	18,8	17,8
27	4,0	4,3	8,1	*	5,5 n=3
28	*	*	*	*	n=0
29	17,0	9,2	10,8	10,8	12,0
30	7,2		11,5	12,6	10,4 n=3
31	18,8	17,1	16,8	8,5	15,3
32	12,5	23,3	33,5	43,9	28,3
33	4,3	6,6	4,5	10,0	6,4
34	14,1	14,2	14,6	13,5	14,1
35	*	*	1,2	*	1,2 n=1
36	1,6	4,6	8,1	4,8	4,8
37	18,2	14,4	22,0	22,4	19,3
38	13,3	10,0	10,3	10,1	10,9
39	5,8	7,6	4,3	4,3	5,5
40	9,9	8,8	10,2	14,1	10,8
41	8,6	7,8	9,3	9,2	8,7
42	45,2	47,4	37,9	40,0	42,6

bei * war keine Wurzel vorhanden oder sie wurde
komplett umgesetzt.

Anhang 5

Biomasse Versuch VII

kg/Wurzel (Erntegewicht , Erde abgeschüt-
telt)

Genotyp	Wurzel						Mittelwert n=6 Vers VII
	1	2	3	4	5	6	
1	17,3	11,5	7,4	7,0	14,1	9,1	11,1
2	5,4	15,0	3,4	6,4	8,6	*	7,8 n=5
3	*	2,5	*	*	*	*	2,5 n=1
4	4,5	2,1	3,1	4,5	4,4	3,0	3,6
5	8,3	6,8	4,8	9,7	10,3	13,3	8,9
6	1,1	3,4	5,6	1,0	1,1	0,5	2,1
7	9,1	10,0	5,1	14,8	5,6	*	8,9 n=5
8	*	*	*	*	*	*	n=0
9	1,5	3,3	1,0	*	*	*	1,9 n=3
10	*	9,0		10,1	9,6	18,5	11,8 n=4
11	4,8	*	8,3	4,8	8,3	8,0	6,8 n=5
12	13,9	*	8,8	16,1	*	*	12,9 n=3
13	10,2	8,0	9,1	9,0	7,4	*	8,7 n=5
14	4,5	5,2	7,8	5,9	6,0	5,7	5,9
15	3,9	2,2	2,7	3,5	3,6	*	3,2 n=5
16	4,1	8,9	8,8	5,8	9,5	7,7	7,5
17	10,2	10,0	10,0	16,0	12,5	*	11,7 n=5
18	4,2	15,2	14,9	13,7	12,5	8,4	11,5
19	2,9	3,7	3,1	2,9	*	*	3,2 n=4
20	6,9	8,1	8,0	9,1	8,1	4,1	7,4
21	7,1	4,4	10,1	7,1	2,9	6,4	6,3
22	12,8	6,2	9,8	18,1	10,1	*	11,4 n=5
23	*	*	*	*	*	*	n=0
24	3,7	2,7	2,7	3,0	2,4	*	2,9 n=5
25	15,5	16,6	18,4	5,8	15,8	*	14,4 n=5
26	1,1	4,1	6,6	3,3	2,5	5,2	3,8
27	2,2	3,3	*	*	*	*	2,8 n=2
28	*	*	*	*	*	*	n=0
29	5,8	4,8	4,1	3,2	2,6	2,3	3,8
30	*	*	*	*	*	*	n=0
31	10,9	11,2	10,0	7,8	*	5,6	9,1 n=5
32	2,1	1,5	4,9	2,3	*	*	2,7 n=4
33	7,6	9,3	9,9	6,4	*	*	8,3 n=4
34	5,5	3,8	2,6	3,3	4,7	5,1	4,2
35	3,3	6,5	5,4	3,1	*	*	4,6 n=4
36	1,5	3,1	2,3	*	*	*	2,3 n=3
37	8,5	11,4	7,8	5,4	3,9	*	7,4 n=5
38	10,4	12,9	7,4	8,1	7,8	8,6	9,2
29	4,1	4,7	*	5,2	2,8	4,2	4,2 n=5
40	3,5	4,6	7,1	7,9	4,1	7,9	5,9
41	3,1	3,7	2,5	2,6	2,1	5,1	3,2
42	12,1	20,8	*	19,9	12,2	16,4	16,3 n=5

bei * war keine Wurzel vorhanden oder sie wurde
komplett umgesetzt.

Anhang 6a

Monatsernten *Reynoutria sacchalinensis* 1997

Pflanze	Monat Mai			Juni			Juli			August			September		
	auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt		
	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)
1	18,5	80,6	0,9	39	58,5	2,5	44,4	55,6	0	40	60	0	46,2	51,2	2,5
2	22,6	76,2	1,2	46	54	0	49,2	49,2	1,6	42,1	57,9	0	47,2	49,1	3,8
3	18,5	80,4	1,1	39,3	54,8	5,9	47,5	52,5	0	47	51,5	1,5	45,7	53,1	1,2
4	20	80	0	36,6	58,6	4,8	36,8	59,6	3,6	37,8	60,8	1,4	36,4	61,8	1,8
5	24,6	75,4	0	37,2	58,5	4,3	53,6	44,6	1,8	39,4	59,1	3,1	36,2	62,1	1,7
6	29,3	70,7	0	31,1	65,6	3,3	41,9	53,2	4,9	45,4	51,5	3,1	32,1	64,3	3,6
7	21,3	78,7	0	35,4	62,5	2,1	44,2	55,8	0	40,2	56,1	3,7	31,4	64,1	3,9
8	21,8	78,2	0	32,1	66,1	1,8	47,5	52,5	0	42,9	55,6	1,5	32,8	65,5	1,7
9	31,7	66,7	1,6	38,5	56,4	5,1	47,8	49,3	2,9	47,9	50	2,1	23	77	0
10	18,2	79,5	2,3	41,3	56,5	2,2	40,7	55,6	3,7	37	58,7	4,3	30,3	66,7	3,1

Anhang 6b

Monatsernten *Reynoutria sachalinensis* 1998

Pflanze	Monat Mai			Juni			Juli			August			September			Oktober		
	auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt			auf den GT vom Extrakt		
	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)
1	37,5	61,1	1,4	42,5	54,5	3	45	52,5	2,5	47,5	50	2,5	43,8	54,2	2	47,6	50	2,4
2	25,8	72,7	1,5	46,3	51,2	2,5	39,5	57,9	2,6	45,7	51,4	2,9	46,8	51,1	2,1	51,7	48,3	0
3	31,1	66,7	2,2	41,2	58,8	0	43,8	53,1	3,1	52,2	45,6	2,2	45,4	54,6	0	44,4	53,7	1,9
4	31,8	68,2	0	37,8	59,5	2,7	50	47,6	2,6	51,5	45,4	3,1	43,9	54,4	1,7	39,2	60,8	0
5	34,9	65,1	0	34,3	62,8	2,9	41,2	55,9	2,9	47,4	52,6	0	43,3	54,7	2	41,8	56,4	1,8
6	34	64,2	1,8	41	56,4	2,6	37,9	62,1	0	41,7	55,6	2,7	42,6	53,7	3,7	37,5	62,5	0
7	33,3	64,7	2	45,7	51,4	2,9	41,5	53,7	5,8	46,2	51,3	2,5	42,6	57,4	0	44,1	52,9	3
8	34,8	63	2,2	35,9	61,5	2,6	39,1	56,5	4,4	45,2	52,4	2,4	36,7	63,3	0	34,1	65,9	0
9	32,5	67,5	0	40,5	56,8	2,7	47,4	50	2,6	48,7	48,7	2,6	38,2	61,8	0	34,6	65,4	0
10	30,2	67,4	2,4	39,5	57,9	2,6	37,9	58,6	3,5	45,9	51,4	2,7	39	58,5	2,5	47,4	50	2,6

Anhang 7

**Monatsernten Reynoutria japonica
1997 und 1998**

1997

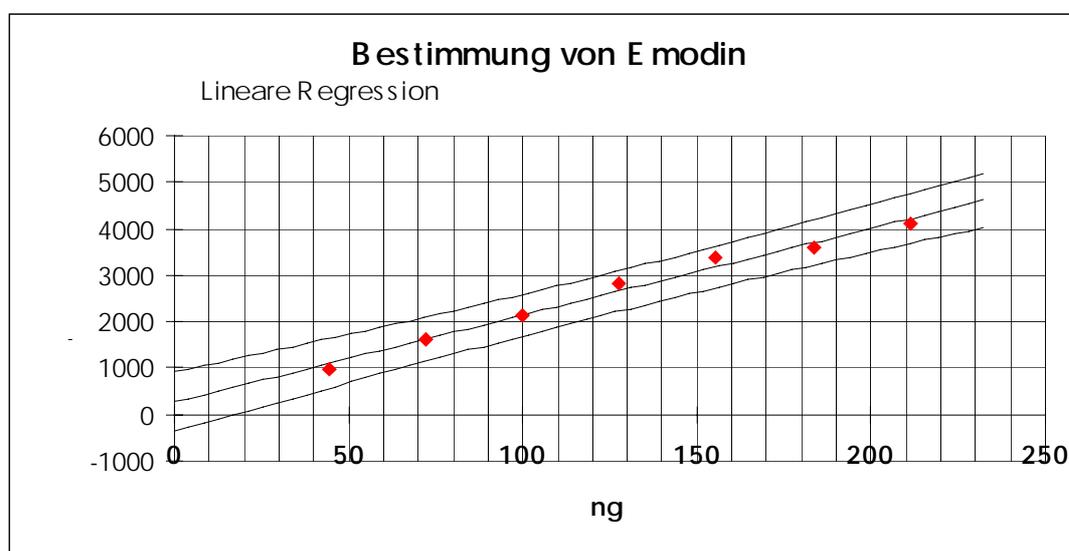
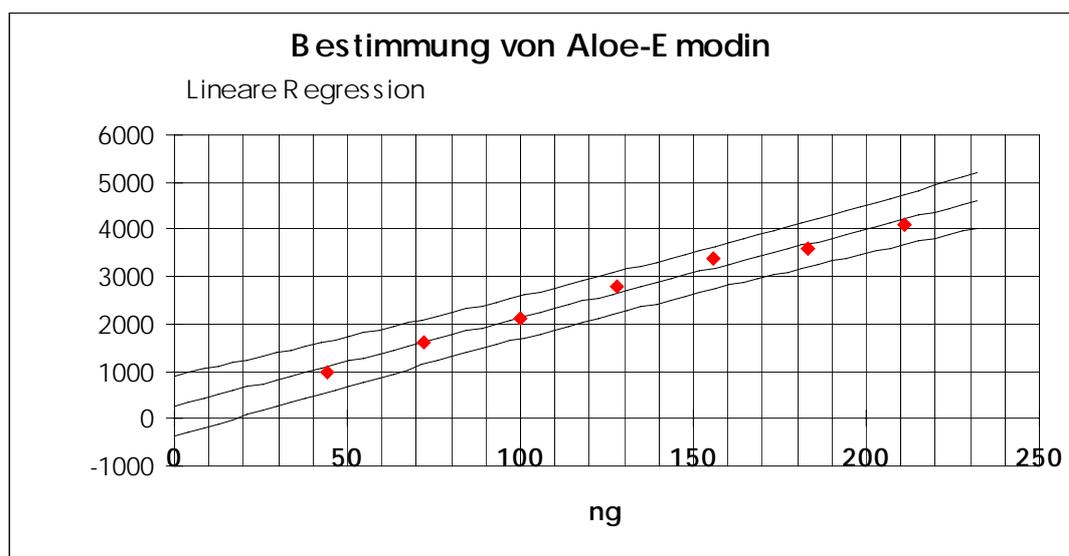
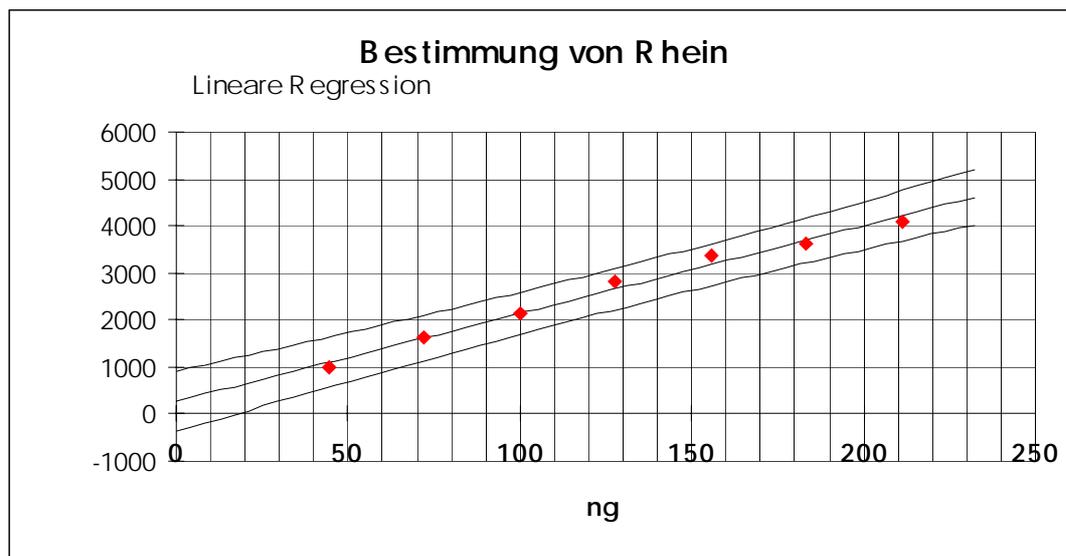
Monat	Mai auf den GT vom Extrakt			Juni auf den GT vom Extrakt			Juli auf den GT vom Extrakt			August auf den GT vom Ex- trakt			September auf den GT vom Extrakt		
	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)
	29	71	0	44,2	51,2	4,6	49,2	49,2	1,6	36,5	60,8	2,7	37,1	61,3	1,6

1998

Monat	Mai auf den GT vom Extrakt			Juni auf den GT vom Extrakt			Juli auf den GT vom Extrakt			August auf den GT vom Ex- trakt			September auf den GT vom Ex- trakt			Oktober auf den GT vom Extrakt		
	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)	RG (%)	NG (%)	UL (%)
	31,5	68,5	0	43,6	53,8	2,6	40,6	56,2	3,2	39,5	58,1	2,4	36,2	61,7	2,1	37,5	62,5	0

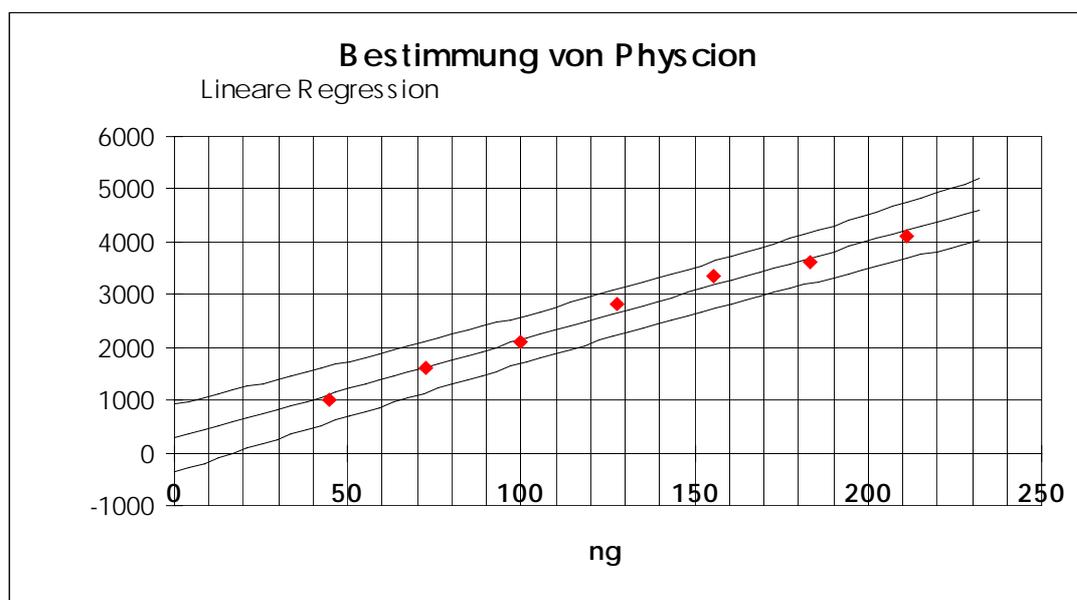
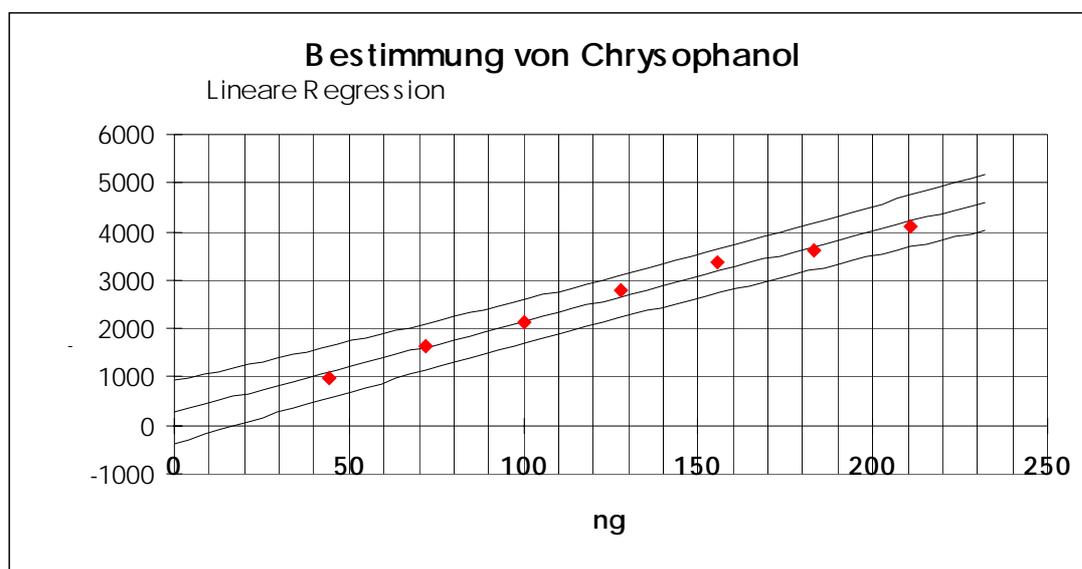
Anhang 8

Lineare Kalibrierfunktionen bei der quantitativen Bestimmung der Aglykone mittels HPTLC
(mit Vertrauensbändern)



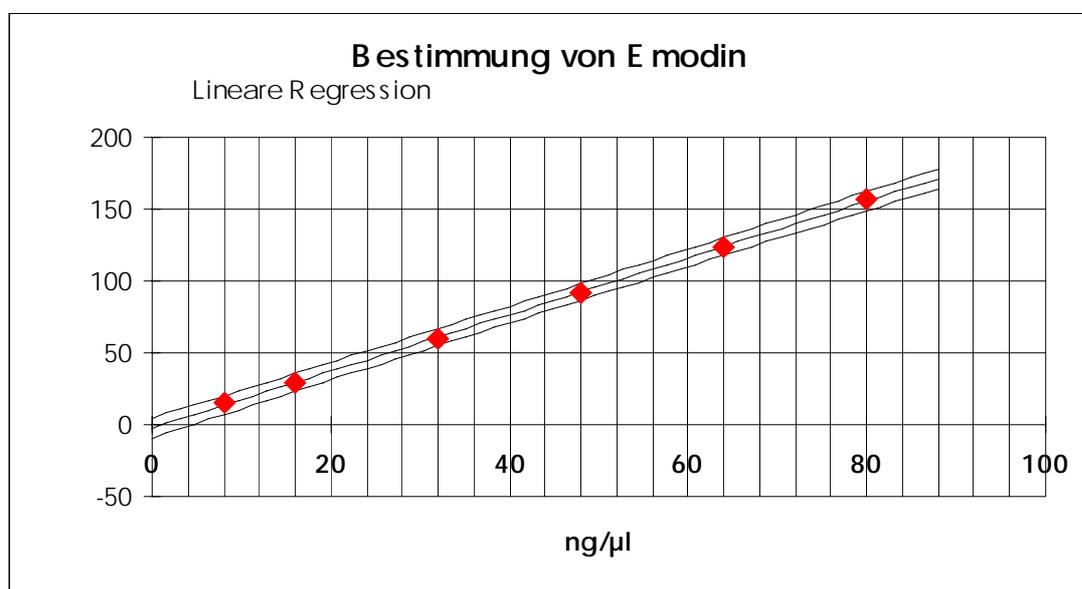
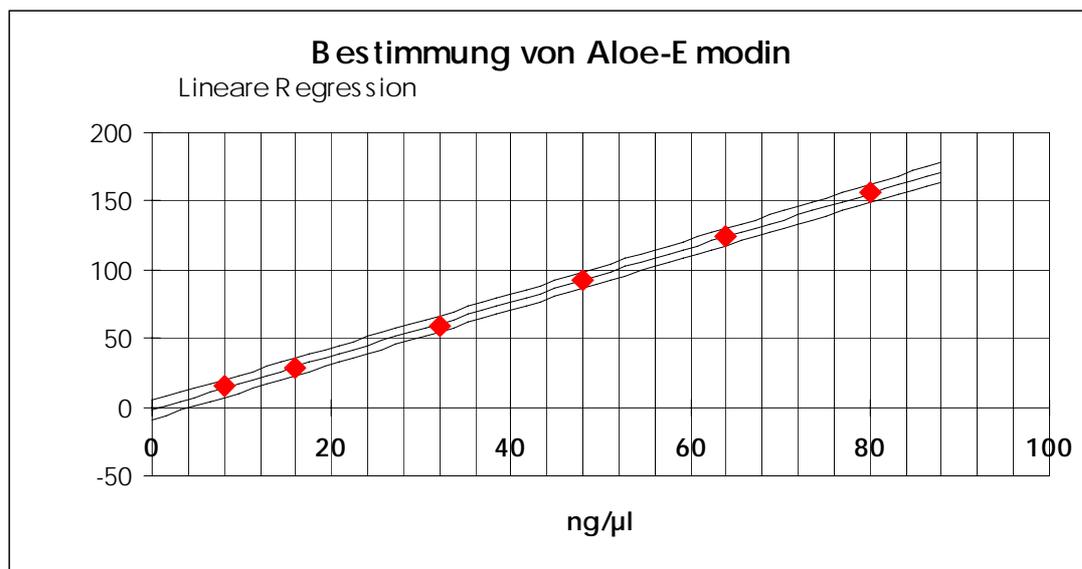
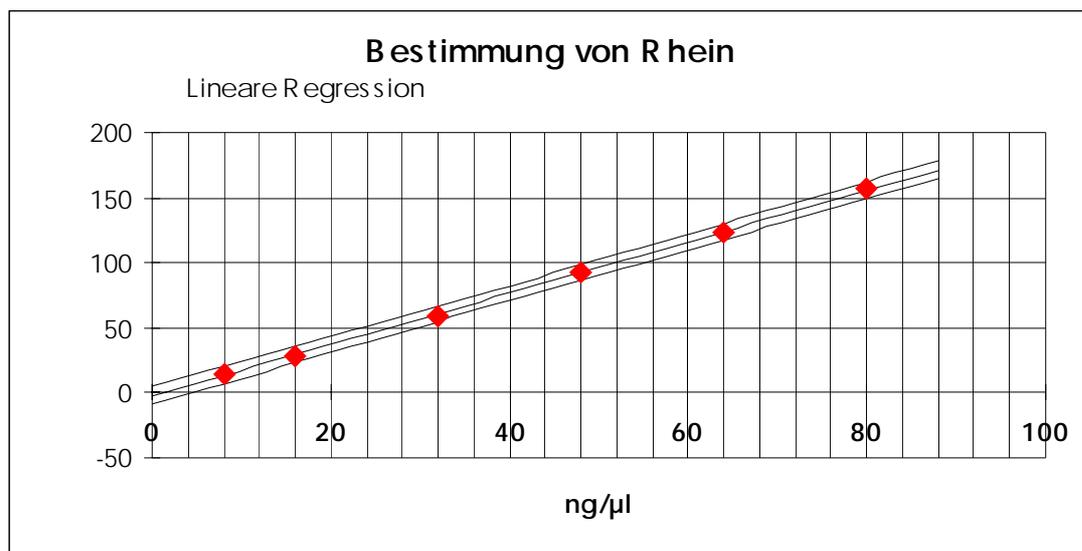
Anhang 8

Lineare Kalibrierfunktionen bei der quantitativen Bestimmung der Aglykone mittels HPTLC
(mit Vertrauensbändern)



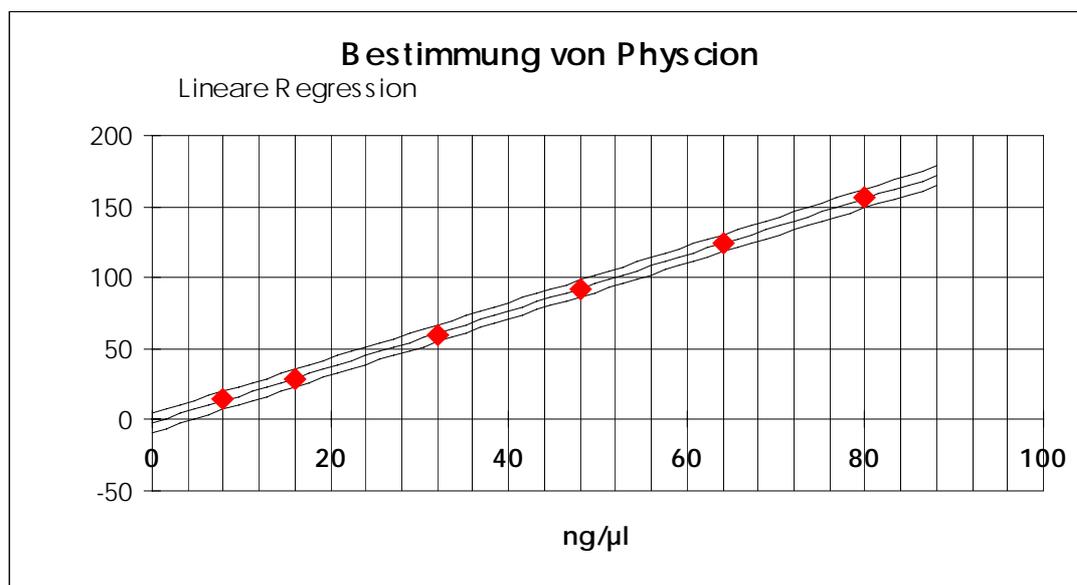
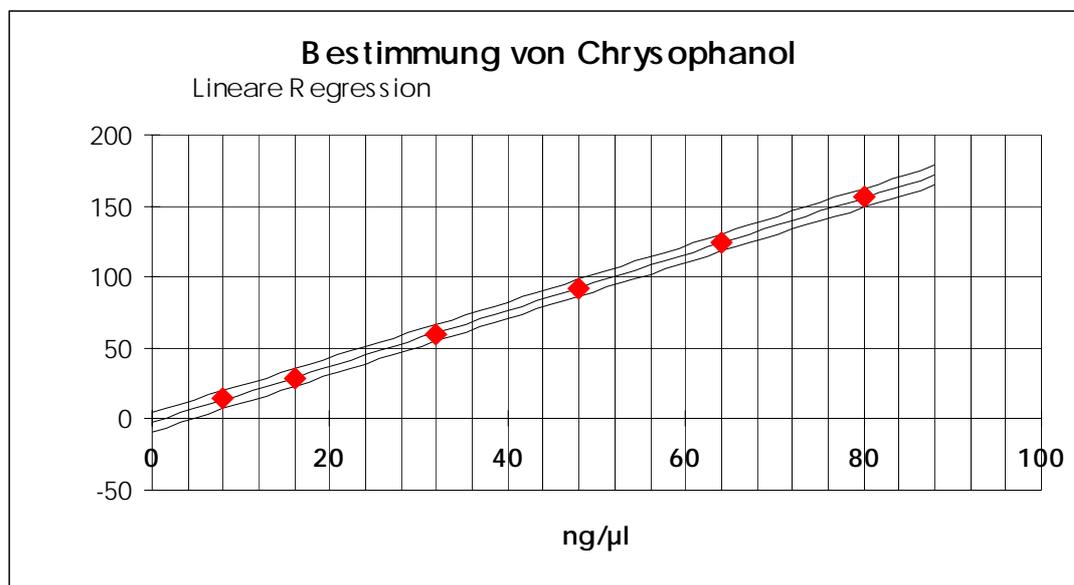
Anhang 9

Lineare Kalibrierfunktionen bei der quantitativen Bestimmung der Aglykone mittels HPLC
(mit Vertrauensbändern)



Anhang 9

Lineare Kalibrierfunktionen bei der quantitativen Bestimmung der Aglykone mittels HPLC (mit Vertrauensbändern)



Anhang 10

**Farbstoffbestimmung Extrakte NIG
vom 4.2.99**

Probenbezeichnung	Einwaage/50 ml in mg (*)	Rhein	Aloe- Emodin	Emodin	Chryso- phanol	Physcion	gesamt	Gehalt im Extrakt	Gehalt im Extrakt
		ng/µl	ng/µl	ng/µl	ng/µl	ng/µl	ng/µl	g/kg	in m%
Gen. 02/98 - Gerbstoff	214,1			12,3834	58,9315	118,472	189,78693	53,5270	4,432
Gen. 02/98 - Farbst.,Fr.2	99,1			12,4461	59,2803	120,2837	192,01013	53,1026	5,310
				4,18354	30,4591	66,92699	101,56958	51,2706	5,127
Gen. 02/98 - Farbst.,Fr.3	203,4			4,23314	30,4036	66,98158	101,61837	51,2460	5,125
				6,67663	43,3496	105,5792	155,60544	45,6962	4,570
Gen. 12/98 - Gerbstoff	201,8		5,1649	5,63663	43,5004	105,542	154,67898	45,6454	4,565
			5,1418	4,98876	51,8621	122,2092	184,22499	44,8412	4,484
Gen. 12/98 - Farbst.,Fr.1	100,8		1,1856	4,35123	51,7874	123,1493	184,42975	44,3220	4,432
			1,1968	1,66722	32,0208	73,03682	107,91042	38,1688	3,817
Gen. 17/98 - Gerbstoff	221			1,74415	31,7935	72,32044	107,05486	38,0233	3,802
				5,12719	46,3737	107,6088	159,10976	36,1607	3,616
Gen. 17/98 - Farbstoff	381,7		0,1504	4,92759	46,3742	108,5287	159,83049	35,9977	3,600
			0,4783	6,29107	96,2089	164,6048	260,96408	34,1844	3,418
Gen. 21/98 - Gerbstoff	205,3			4,39893	49,896	115,0111	169,30603	41,2338	4,123
				4,32747	49,4886	117,4065	171,22264	41,7006	4,170
Gen. 21/98 - Farbst.,Fr.1	101,9			1,25519	31,2561	54,24604	86,757376	42,5699	4,257
				1,36234	31,2929	55,82286	88,478096	43,4142	4,341
Gen. 21/98 - Farbst.,Fr.2	211,6			2,72023	70,93	117,0692	190,7195	45,0660	4,507
				2,55755	71,0636	116,7997	190,42083	44,9955	4,500
Gen. 24/98 - Gerbstoff	223,4			1,13474	31,202	69,08467	101,42139	22,6995	2,270
				1,60112	31,3147	66,77292	99,68872	22,3117	2,231
Gen. 24/98 - Farbst.,Fr.1	109,8			1,06546	40,1182	85,41546	126,5991	57,6499	5,765
				1,04623	40,0982	84,74374	125,88821	57,3261	5,733
Gen. 24/98 - Farbst.,Fr.2	219,2			2,65212	108,541	229,4073	340,60072	77,6918	7,769
				2,95401	108,996	229,3234	341,27321	77,8452	7,785

Probenbezeichnung	Einwaage/50 ml in mg (*)	Rhein	Aloe- Emodin	Emodin	Chryso- phanol	Physcion	gesamt	Gehalt im Extrakt	Gehalt im Extrakt
		ng/µl	ng/µl	ng/µl	ng/µl	ng/µl	ng/µl	g/kg	in m%
Gen. 25/98 - Gerbstoff	200,7			1,42552	17,219		18,644493	4,6449	0,464
				1,44752	17,2413		18,68884	4,6559	0,466
Gen. 25/98 - Farbst.,Fr.1	103			4,86997	54,9966	106,7356	166,60218	80,8748	8,087
				4,47126	55,2678	108,1133	167,85228	81,4817	8,148
Gen. 25/98 - Farbst.,Fr.2	97,8			1,26434	16,706		17,97036	9,1873	0,919
				0,91932	16,7886		17,707872	9,0531	0,905
Gen. 25/98 - Farbst.,Fr.3	99,1			1,57225	49,2568	70,07627	120,90529	61,0017	6,100
				1,70735	49,3042	70,90248	121,914	61,5106	6,151
Gen. 29/98 - Gerbstoff	220,2			2,7854	16,3438		19,12924	4,3436	0,434
				2,50685	16,3535		18,8604	4,2826	0,428
Gen. 29/98 - Farbst.,Fr.1	92,4					4,225312	4,225312	2,2864	0,229
						4,261208	4,261208	2,3058	0,231
Gen. 29/98 - Farbst.,Fr.3	195			4,2988	66,6774	106,8097	177,78589	45,5861	4,559
				4,72373	66,4443	106,1622	177,33025	45,4693	4,547
Gen. 29/98 - Farbst.,Fr.4	216,3			5,62852	90,6327	158,6747	254,93589	58,9311	5,893
				6,82483	90,9538	159,8072	257,5859	59,5467	5,955
Gen. 39/98 - Gerbstoff	202,1				30,2999	71,4786	101,77851	25,1802	2,518
				1,45305	30,8523	71,90353	104,20887	25,7815	2,578
Gen. 39/98 - Farbst.,Fr.1	106,3			0,6784	35,7354	58,33687	94,750691	44,5676	4,457
				0,71706	35,7686	58,17841	94,664065	44,5268	4,453
Gen. 39/98 - Farbst.,Fr.2	206,4			1,62397	80,1512	150,1551	231,93023	56,1847	5,618
				2,6034	80,1093	151,4723	234,18502	56,7309	5,673
Probe "Kaltwasserunlösliche Fraktion"	96,5			1,22422	12,6056		13,829832	7,1657	0,717
				2,11355	12,5132		14,626712	7,5786	0,758

(*) Ausgehend von der bisher üblichen Probenkonzentration von 200 mg/50 ml wurden die Einwaage der orangen bzw. gelben Farbstoff-Fractionen aus Gründen der Löslichkeit halbiert.

Abschlußbericht Anhang 11
Experimentelle Bedingungen für Messungen im Full Scan Mode

Acquisition Experiment Report

Page 1

File: C:\MASSLYNX\9370FACHHOCHSCHULE.PRO\DATA\ANTHRA008.RAW

Instrument ID: OCP -v3.3_0 -NT 4190

Tuning Parameters: ES-

Source Page (ESI)
 Capillary: 3.50 kVolts
 Cone: 40 Volts
 Extractor: 3 Volts
 RF Lens: 0.20 Volts
 Source Block Temp.: 140 °C
 Desolvation Temp.: 300 °C

MS

Entrance: 100.0 Volts
 Exit: 100.0 Volts
 Ion Energy: 1.0 Volts
 Ion Energy Ramp: 0.0 Volts
 LM Resolution: 15.0
 HM Resolution: 15.0

MS2

Ion Energy: 5.0 Volts
 Ion Energy Ramp: 0.0 Volts
 LM Resolution: 15.0
 HM Resolution: 15.0
 Multiplier: 650 Volts

Pressures

Analyser Vacuum: 5.6e-6 mBar
 Gas Cell: 2.0e-5 mBar

Flows

Neb Gas Flow: 113 lit/hr
 Desol Gas Flow: 640 lit/hr

Acquisition Threshold

Profile Data

Data Storage: Standard (Save all intensities)
 Baseline level: 0.0
 Points per Dalton: 16
 Spike Rejection: Off
 Make enhanced TIC: Off

General

Ion count threshold: 10
 Prescan Statistics
 Zero Level: 0
 ADC zero: 6.58
 ADC standard deviation: 0.95

Acquisition Threshold MS2

Profile Data

Data Storage: Standard (Save all intensities)
 Baseline level: 0.0
 Points per Dalton: 16
 Spike Rejection: Off
 Make enhanced TIC: Off

General

Ion count threshold: 10
 Prescan Statistics
 Zero Level: 0
 ADC zero: 6.60
 ADC standard deviation: 1.03

Abschlußbericht Anhang 11
Experimentelle Bedingungen für Messungen im Daughter Ion Scan

Acquisition Experiment Report

Page 1

File: C:\MASSLYNX\9370FACHHOCHSCHULE.PRO\DATA\ANTHRA009.RAW

Instrument ID: OCP -v3.3_0 -NT 4190

Tuning Parameters: ES-

Source Page (ESI)

Capillary:	3.50	kVolts
Cone:	40	Volts
Extractor:	3	Volts
RF Lens:	0.20	Volts
Source Block Temp.:	140	oC
Desolvation Temp.:	300	oC

MS

Entrance:	0.0	Volts
Exit:	0.0	Volts
Ion Energy:	1.0	Volts
Ion Energy Ramp:	0.0	Volts
LM Resolution:	15.0	
HM Resolution:	15.0	

MS2

Ion Energy:	1.0	Volts
Ion Energy Ramp:	0.0	Volts
LM Resolution:	15.0	
HM Resolution:	15.0	
Multiplier:	650	Volts

Pressures

Analyser Vacuum:	2.9e-5	mBar
Gas Cell:	2.4e-3	mBar
Flows		
Neb Gas Flow:	115	lit/hr
Desol Gas Flow:	646	lit/hr

Acquisition Threshold

Profile Data

Data Storage:	Standard (Save all intensities)
Baseline level:	0.0
Points per Dalton:	8
Spike Rejection:	Off
Make enhanced TIC:	Off

General

Ion count threshold:	10
Prescan Statistics	
Zero Level:	0
ADC zero:	6.64
ADC standard deviation:	1.07

Acquisition Threshold MS2

Profile Data

Data Storage:	Standard (Save all intensities)
Baseline level:	0.0
Points per Dalton:	8
Spike Rejection:	Off
Make enhanced TIC:	Off

General

Ion count threshold:	10
Prescan Statistics	
Zero Level:	0
ADC zero:	6.65
ADC standard deviation:	1.05

Abschlußbericht Anhang 11
Experimentelle Bedingungen für Messungen im Daughter Ion Scan

Acquisition Experiment Report

Page 2

File: C:\MASSLYNX\9370FACHHOCHSCHULE.PRO\DATA\ANTHRA009.RAW

ACE Experimental Record

----- Run method parameters -----

Waters Alliance 2690 HPLC Pump Initial Conditions

Solvents

A% 20.0 Water
B% 80.0 Methanol
C% 0.0 Solvent C
D% 0.0 Solvent D
Flow (ml/min) 1.000
Flow Ramp 2.00
Stop Time (mins) 60.0
Column Temperature (°C) 20.0
Column Temperature Limit (°C) 20.0
Min Pressure (Bar) 0.0
Max Pressure (Bar) 300.0
Pre-column Volume (µl) 0.00

Waters Alliance 2690 HPLC Pump Gradient Timetable

No Entries in the gradient Timetable.

Waters Alliance 2690 HPLC Pump External Event Timetable

No Entries in the Pump External Event Timetable. Waters996 PDA

Start Wavelength (nm) 210.00
End Wavelength (nm) 500.00
Resolution (nm) 1.2
Sampling Rate (spectra/s) 1.000
Filter Response 1
Exposure Time (ms) Automatic Interpolate 656 Yes Acquisition stop time (mins) 60.00
Waters996 PDA Analog Channel 1

Output Mode Off

Waters996 PDA Analog Channel 2

Output Mode Off

Waters Alliance 2690 Autosampler Initial Conditions

Needle Depth (mm) 0.00
Sample Temperature (°C) 4.0
Sample Temperature Limit (°C) 1.0

Purge Loop Volumes 0

----- oOo -----

End of experimental record.

Solvent Delay

None

Function 1

Scans in function: 499
Cycle time (secs): 0.600

Abschlußbericht Anhang 11
Experimentelle Bedingungen für Messungen im Daughter Ion Scan

Acquisition Experiment Report

Page 3

File: C:\MASSLYNX\9370FACHHOCHSCHULE.PRO\DATA\ANTHRA009.RAW

Scan duration (secs): 0.50
Inter-scan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Parents of 445.00
Mass range: 50 to 444
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 2
Scans in function: 499
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Inter-scan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 415.00
Mass range: 50 to 414
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 3
Scans in function: 499
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Inter-scan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 431.00
Mass range: 50 to 430
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 4
Scans in function: 499
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Inter-scan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 523.00
Mass range: 50 to 522
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 5
Scans in function: 499
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Inter-scan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 507.00
Mass range: 50 to 506
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Abschlußbericht Anhang 11
Experimentelle Bedingungen für Messungen im Daughter Ion Scan

Acquisition Experiment Report

Page 4

File: C:\MASSLYNX\9370FACHHOCHSCHULE.PRO\DATA\ANTHRA009.RAW

Function 6

Scans in function: 498
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Interscan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 537.00
Mass range: 50 to 536
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 7

Scans in function: 498
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Interscan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 509.00
Mass range: 50 to 508
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 8

Scans in function: 498
Cycle time (secs): 0.600
Scan duration (secs): 0.50
Interscan delay (secs): 0.10
Retention window (mins): 0.000 to 60.000
Ionization mode: ES-
Data type: Accurate Mass
Function type: Daughters of 493.00
Mass range: 50 to 492
Cone Voltage: 40
Collision Energy: 20.0

Function 9

Scans in function: 1623
Function type: Diode Array
Wavelength range (nm) : 210 to 500

Anhang 12

Charakteristische Massen für Anthrachinonverbindungen

<i>Name der Verbindung</i>	<i>[M+H]⁺</i>	<i>[M-H]⁺</i>
Rhein	285	283
Aloe-Emodin	271	269
Emodin	271	269
Chrysophanol	255	253
Physcion	285	283
Rhein-monoglykosiol	447	445
Aloe-Emodin-monoglykosiol	433	431
Emodin-monoglykosiol	433	431
Chrysophanol-monoglykosiol	417	415
Physcion-monoglykosiol	447	445
Rheidin A Heterodianthron des Emodins und Rheins	525	523
Rheidin B Heterodianthron des Chrysophanols und Rheins	509	507
Rheidin C Heterodianthron des Physcions und Rheins	539	537
Palmidin A Heterodianthron des Aloe-Emodins und Emodins	511	509
Palmidin B Heterodianthron des Aloe-Emodins und Chrysophanols	495	493
Palmidin C Heterodianthron des Emodins und Chrysophanols	495	493
Palmidin D Heterodianthron des Chrysophanols und Physcions	509	507
Sennidin C, D Heterodianthron des Aloe-Emodins und Rheins	525	523

Name der Verbindung	$[M+H]^+$	$[M-H]^+$
Rheindianthron	539	537
Aloe-Emodindianthron	511	509
Emodindianthron	511	509
Chrysophanoldianthron	479	477
Physcioldianthron	539	537
Sennosid A u. B	895	893

Anhang 13

Charakteristische Massen für Gerbstoffe

<u>Name der Verbindung</u>	<u>[M+H]⁺</u>
Catechin, Epicatechin	291
Gallocatechin, Epigallocatechin	307
Dimeres Procyanidin (Catechin – (4 α →8) – Catechin)	579
Trimeres Procyanidin Catechin – (4 α →8) - Catechin – (4 α →8) – Catechin	867
Tetrameres Procyanidin	1155
Pentameres Procyanidin	1443
Hexameres Procyanidin	1731
Dimeres Prodelphinidin (Gallocatechin – (4 α →8) –Gallocatechin)	611
Trimeres Prodelphinidin	915
Tetrameres Prodelphinidin	1220
Pentameres Prodelphinidin	1524
Hexameres Prodelphinidin	1828
Prodelphinidin B ₃ (Gallocatechin – (4 α -8) – Catechin	595
Gallocatechin – (4 α -8)– Catechin – (4 α -8) – Catechin ; (1GC + 2C)	883
1 GC + 3C	1171
2 GC + 2C	1187
3 GC + 1C	1203
Epigallocatechingallat	458
Glucogallin (Gallussäure + Glc.)	332
Di-galloyl-Glucose	484
Tri-galloyl-Glucose	636
Tetra-galloyl-Glucose	788
Penta-galloyl-Glucose	940
Hexa-galloyl-Glucose	1092

Anhang 14

Charakteristische Massen für Rhaponticinderivate

<u>Name der Verbindung</u>	<u>[M+H]⁺</u>
Rhaponticin	421
Rhapontigenin	259
Desoxyrhaponticin	405

Anhang 15

Inhaltsstoffuntersuchung Genotypensortiment

Genotyp	% Trockensubstanz	% Rohprotein/TS	% Stärke/TS nach Ewers	% Lävulose
1	91,5	13,2	1,78	3,63
2	92,9	13,9	3,04	6,03
3	91,5	14,2	0,24	1,31
4	93,0	12,1	0,47	1,03
5	91,7	12,8	0,00	4,10
6	92,0	19,0	0,95	1,04
7	91,8	14,8	2,01	1,05
8	91,8	14,4	2,72	4,10
9	92,1	15,9	1,77	2,30
10	92,3	13,0	2,59	5,07
11	92,7	13,9	1,64	2,07
12	91,8	14,1	1,78	1,05
13	92,4	10,1	3,76	7,49
14	93,2	14,8	2,33	6,48
15	93,5	12,0	0,47	4,02
16	92,7	13,0	0,70	0,09
17	92,5	9,2	2,12	3,07
18	93,0	13,3	2,57	2,54
19	92,0	22,8	2,48	4,09
20	93,6	12,0	1,28	3,03
21	92,8	15,0	1,29	1,03
22	92,5	12,9	0,94	1,56
23	91,7	12,9	1,78	1,31
24	92,3	10,0	2,00	3,08
25	93,2	7,9	4,78	2,79
26	92,6	11,6	2,58	3,07
27	92,3	19,7	2,36	2,08
28	kein Material	kein Material	kein Material	kein Material
29	93,1	10,7	2,34	2,79
30	93,1	21,5	3,15	5,50
31	93,4	16,7	0,00	4,03
32	92,3	14,1	2,36	5,07
33	92,7	17,3	1,99	2,55
34	93,3	20,2	1,75	3,04
35	93,1	10,7	1,40	1,55
36	93,1	14,5	3,97	6,96
37	91,3	14,2	0,95	1,05
38	92,2	11,5	1,53	2,08
39	93,4	13,9	2,44	3,55
40	94,1	9,9	1,73	2,51
41	91,8	15,1	3,79	3,36
42	91,9	15,7	3,67	3,09

Anhang 16

Inhaltsstoffuntersuchung der nach ihrer Farbe ausgewählten Genotypen

Proben- bezeichnung	% Trocken- substanz	% Rohasche luftr.	% N luftr.	% Roh- protein luftr.	% Stärke luftr.
GT 2	91,8	11,42	1,78	11,1	6,52
GT 9	92,2	9,98	1,81	11,3	4,24
GT 11	92,0	13,74	1,13	7,1	5,54
GT 12	90,7	11,88	1,77	11,1	3,70
GT 13	91,1	7,88	1,31	8,2	14,56
GT 17	90,9	9,36	1,26	7,9	10,00
GT 19	91,7	11,78	1,93	12,1	9,78
GT 21	92,0	14,96	1,81	11,3	3,70
GT 24	91,3	10,61	1,33	8,3	4,35
GT 25	91,5	10,90	1,12	7,0	3,70
GT 29	92,1	12,50	1,37	8,6	4,89
GT 30	90,6	10,16	1,53	9,6	3,80
GT 39	91,6	15,86	2,03	12,7	8,91

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart: Abschlußbericht
3a. Titel des Berichtes Verbundvorhaben "Abfallvermeidung und -verwertung in der Lederindustrie"; Entwicklung von schwermetallfreien Färb- und Gerbmitteln und -verfahren; TV 6: Rohstoffherzeugung, Rohstoffcharakterisierung	
3b. Titel der Publikation The use of agriculturally produced raw material for producing fruit acids, tanning and colouring agents.	
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname) Kabrodt, Kathrin Schellenberg, Ingo	5. Abschlußdatum des Vorhabens März 1999
	6. Veröffentlichungsdatum geplant I/2000
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname) Schellenberg, Ingo, Kabrodt, Kathrin, Schnüber, Gerhard	7. Form der Publikation Fachzeitschrift
8. Durchführende Institution (en) (Name, Adresse) Hochschule Anhalt (FH) FB Landwirtschaft, Oekotrophologie und Landespflege Strenzfelder Allee 28 06406 Bernburg	9. Ber.Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen *) 1481022 8
	11.a Seitenzahl Bericht 64
	11.b Seitenzahl Publikation 7
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF) <u>53170 Bonn</u>	12. Literaturangaben 21
	14. Tabellen 8
	15. Abbildungen 40
16. Zusätzliche Angaben	16 Anlagen
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Das Ziel des Projektes ist die zumindest partielle Substitution von Chromsalzen bei der Ledergerbung bzw. die der schwermetallhaltigen Metallkomplexfarbstoffe bei der Lederfärbung durch den Einsatz färbender Gerbstoffe aus den Wurzeln von Rhabarber und Gerbstoffe aus der oberirdischen Biomasse des Staudenknöterichs. Das Projekt wurde gemeinsam mit der NIG GmbH Magdeburg (Rohstoffaufbereitung) sowie der FILK gGmbH Freiberg (Gerbung) bearbeitet. An der HS Anhalt wurden die Rohstoffe (42 Genotypen Rhabarber sowie 2 Genotypen Staudenknöterich) angebaut und ihre Inhaltsstoffe charakterisiert. Ergebnisse: <ul style="list-style-type: none"> • Für einen zukünftigen großflächigen Anbau sind die Rhabarbergenotypen 2, 24, 25 und 10 geeignet. • Für eine optimale Wurzelbiomasseausbildung sind bei der Rhizompflanzung mindestens 3, bei der Pflanzung von In-Vitro Pflanzen mindestens 4 Standjahre erforderlich. • Durch in-vitro-Vermehrungsverfahren kann Pflanzmaterial genetisch identischer Pflanzen in großen Stückzahlen hergestellt werden. • Optimaler Erntezeitpunkt für Staudenknöterich sind- unter Beachtung einer jährlich einmaligen Ernte - die Monate Juli und August. Da die Extraktion bei Verwendung eines Blatt-Stengel-Gemisches bessere Extraktionsausbeuten ermöglicht, kann diese Pflanze mittels Mäh- oder Häckselverfahren geerntet werden. • Für den qualitativen und quantitativen Nachweis der Anthrachinonfarbstoffe in den Rhabarberwurzeln wurden ein HPTLC sowie ein HPLC - Verfahren etabliert. Da die ermittelten Leistungsparameter des HPLC - Verfahrens bzgl. Der Nachweis- und Bestimmungsgrenze deutlich besser waren, wurde für die quantitative Bestimmung der Anthrachinonfarbstoffe dieses Analysenverfahren eingesetzt. Auf der Grundlage der im Verbundvorhaben erzielten Ergebnisse wurden an potentielle Nutzer 2 Lizenzen erteilt.	

19. Schlagwörter pflanzliche Gerbung, Knöterichgewächse, Rhabarber, Staudenknöterich, pflanzliche Färbung, Anthrachinonfarbstoffe, HPLC, HPTLC, MS	
20. Verlag	21. Preis

BMBF-Vordr. 383/01.96

*) Auf das Förderkennzeichen des BMBF soll auch in der Veröffentlichung hingewiesen werden

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. Type of Report	Final Report
3a. Report Title "Avoidance and utilization of waste in leather industry";Development of heavy metal free tanning and colouring agents and -processes; Producing and Characterization of raw materials		
3b. Title of Publication The use of agriculturally produced raw materials for producing fruit acids, tanning and colouring agents.		
4a. Author (s) of the Report (Family Name, First Name) Kabrodt, Kathrin Schellenberg, Ingo		5. End of Project March 1999
		6. Publication Date 1/2000
4b. Authors(s) of the Publication (Family Name, First Name) Schellenberg, Ingo, Kabrodt, Kathrin, Schnüber, Gerhard		7. Form of Publication Scientific Journal
8. Performing Organization (s) (Name, Address) University of applied sciences Department of Agriculture, nutrition science and landscape engineering and design Strenzfelder Allee 28 06406 Bernburg		9. Originator's Report No.
		10. Reference No. 1481022 8
		11.a No. Of Pages Report 64
		11.b No. Pages Publication 7
13. Sponsoring Agency (Name, Adress) Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie (BMBF) <u>53170 Bonn</u>		12. No. of References 21
		14. No. of Tables 8
		15. No. of Figures 40
16. Supplementary Notes		
17. Presented at (Title, Place, Date)		
18. Abstract <u>Aim</u> The aim of this project is the at least partially substitution of chrom tanning agents and the heavy metal-free dyeing in leather production by using different tanning agents and pigments found in Rheum, Reynoutria and Rumex. The research project has been conducted in cooperation with NIG GmbH Magdeburg (processing of raw material) and FILK gGmbH (testing the tanning agents on leather). The Anhalt University cultivated the species especially Rheum (42 genotypes) and Reynoutria (2 genotypes) and examined and described the tanning and colouring substances in these plants using chemical-analytical methods. Results: <ul style="list-style-type: none"> • The Rhubarb Genotyps No. 2, 10, 24, and 25 are suitable for agricultural production. • A growth period of at least three years up to four years is necessary for plants to develop enough biomass and tanning agents. • Production of enough genetically identical plants is possible by using in vitro production procedures. • In Reynoutria the tanning substances are located in leaves which are easier to harvest. The leaves can be harvested one time in the year over a period of up to ten years. Reynoutria can optimal be harvested in the months juli and august. • The tanning and colouring substances were studied using HPLC and HPTLC for characterization and quantification. The performance of developed HPLC-Method was better for quantification than HPTLC. That's why the quantification of anthraquinon pigments was happened by using HPLC. Two companies have got licenses.		

19. Keywords vegetable tanning process, Polygonaceae, dyeing tannins, vegetable dyeing, Anthraquinons, HPLC, HPTLC, MS	
20. Publisher	21. Price

BMBF-Vordr. 383/01.96