Ein Fall für 2

Interaktion von Chlorophyll[1] und β-Carotin bei der Photosynthese

M. W. Tausch, R.-P. Schmitz und N. Meuter

Durch ein echtes Teamwork der beiden Akteure Chlorophyll und β-Carotin gelingt den grünen Pflanzen zweierlei: Sie treiben auch bei schwachen Lichtverhältnissen Photosynthese und sie schützen sich bei sehr starker Sonnenstrahlung gegen photochemischen Abbau. Die Chemie dieser kooperativen Prozesse kann mithilfe einfacher Experimente erschlossen werden.

Stichwörter: Fluoreszenz, Teilchenmodell, Energiestufenmodell, Schwingungsrelaxation, Energietransfer

1 Fluoreszenz – wann tritt sie auf?

Fluoreszenz, die Emission von sichtbarem Licht durch eine Stoffprobe, die beispielsweise durch UV-Licht angestrahlt wird, findet in einer Vielzahl von wissenschaftlichen und technischen Geräten Anwendung. Das Phänomen der Fluoreszenz gehört zum Alltag der Schülerinnen und Schüler und hat mittlerweile auch im Repertoire der Schulversuche einen Stammplatz erobert. In dieser Zeitschrift wird die Fluoreszenz seit über 25 Jahren sowohl auf der Phänomen-, wie auch auf der modelltheoretischen Ebene thematisiert, z. B. in [1 a bis 1 f]. In der Schulbuchreihe [2] ist die Fluoreszenz als Schlüsselschritt, der auch bei der Phosphoreszenz, der Chemolumineszenz und der Elektrolumineszenz sowie der Farbigkeit von Stoffen und der Energieumwandlung eine zentrale Rolle spielt, in die Lehrgänge für die Sekundarstufe II integriert.

Ein Aspekt, der insbesondere in den fachdidaktischen Zeitschriftenartikeln bisher zu kurz kommt, wird durch die Titelfrage dieses Abschnitts angedeutet. Etwas ausführlicher formuliert lautet sie: Welche strukturellen Merkmale von Molekülen bzw. Molekül-Ionen führen dazu, dass ein Stoff fluoresziert? Diese Frage ist von herausragender Relevanz für das Zusammenwirken von Chlorophyll und β-Carotin bei der Erfüllung ihrer biochemischen Funktionen in den grünen Pflanzen.

Einen Hinweis auf eine mögliche Antwort zur gestellten Frage liefert das Beispiel des Stoffpaares Aesculin und Zimtsäureester (Abb. 1). Das blau-weiß fluoreszierende Aesculin ist für den Chemieunterricht durch den Kastanienzweig-Versuch populär geworden. Er wurde bereits in [1 a] beschrieben, ist in allen Büchern der Reihe [2] enthalten, wurde von M. Ducci et al. in [1 d] auf Kastaniensamen ausgedehnt und kann zur Schnellansicht online als Video angeklickt werden (vgl. unter [3] > Vorträge > Photo-LeNa > Videos > Der weinender Kastanienzweig). Die Ester der *trans*-Zimtsäure sind in fast allen Sonnenschutzcremes enthalten (vgl. „Methoxycinnamate“ als Komponenten auf den Verpackungsangaben). Zimtsäureester absorbieren im gleichen Wellenlängenbereich (280 nm < λ < 320 nm) wie Aesculin und andere Cumarin-Derivate, was angesichts der etwa gleich langen Chromophore in den Molekülen auch nicht verwunderlich erscheint. Welcher strukturelle Unterschied mag dann aber dafür verantwortlich sein, dass Aesculin bei UV-Bestrahlung blau-weißes Licht

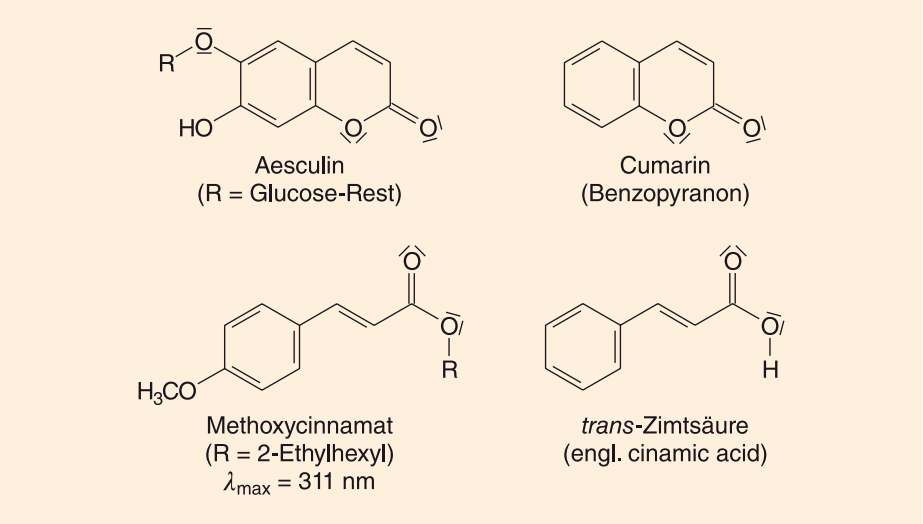

Abb. 1: Aesculin, ein Cumarin-Derivat, fluoresziert im UV-Licht, Derivate der Zimtsäure absorbieren UV-Licht ohne zu fluoreszieren

emittiert, Zimtsäureester dagegen die UV-Strahlung „vernichtet", d.h. in Wärme umwandelt?

Es ist die unterschiedliche „innere Beweglichkeit" in den beiden Molekülen, d.h. die unterschiedlichen Schwingungs- und Rotationsfreiheiten im Cumarin-Gerüst und im Zimtsäure-Gerüst. Die theoretischen Konzepte über die Rotations- und Schwingungsmöglichkeiten bei Einfachbindungen, Doppelbindungen und aromatischen Systemen erlauben folgende Voraussagen: Das Molekülgerüst des Cumarin-Bausteins sollte wegen der beiden kondensierten aromatischen Ringe ziemlich starr sein. Im Gegensatz dazu sollte es im Zimtsäure-Baustein außerhalb des Benzolrings viele rotatorische und vibratorische Freiheiten geben. Veranschaulichen ließen sich diese Aussagen anhand von **Teilchenmodellen** der beiden Molekülgerüste und/oder Computeranimationen mit geeigneten *Molecular-modelling*-Bildern.

Dass solche Teilchenmodelle nicht notwendigerweise die Realität abbilden, sondern „nur" unsere Vorstellung über die Realität, also dass es sich dabei um gegenständliche oder virtuelle Modelle eines **Denkmodells** handelt, soll hier nicht weiter vertieft, wohl aber ausdrücklich erwähnt werden.

Gleiches gilt auch für **Energiestufenmodelle** (Abb. 2), bei denen nicht die atomare Zusammensetzung und die Architektur der Moleküle im Blickpunkt stehen, sondern die Vorstellung über quantifizierte Energiezustände, in denen das Molekül existieren kann. In einem Molekül sind nicht nur die elektronischen Zustände quantifiziert. Da die im Molekül gebundenen Atome und Atomgruppen Schwingungen ausführen, gibt es innerhalb jedes elektronischen Zustands (innerhalb jeder Elektronenstufe) mehrere erlaubte Schwingungszustände (Schwingungsniveaus)[2]. In Abbildung 2 sind die elektronischen Zustände durch die breiten, farbigen Balken, die Schwingungszustände durch die relativ nah beieinanderliegenden schwarzen Striche innerhalb der Balken dargestellt. Übergänge zwischen Schwingungsniveaus derselben elektronischen Energiestufe erfolgen strahlungslos durch Aufnahme oder Abgabe von Wärme. Da zwischen den beiden elektronischen Zuständen prinzipiell mehrere Übergänge – entsprechend den verschiedenen Schwingungsniveaus – möglich sind, können sowohl bei der Lichtabsorption als auch bei der Lichtemission Lichtquanten verschiedener, aber sehr ähnlicher Energien beteiligt sein. Die entsprechenden Linien im Spektrum liegen daher so dicht zusammen, dass sie in der Regel als Bande erscheinen. Das bei der Fluoreszenz emittierte Licht entspricht Übergängen aus dem untersten Schwingungsniveau der „roten" Elektronenstufe (niedrigste, im Grundzustand unbesetzte Energiestufe) in verschiedene Schwingungsniveaus der „blauen" Elektronenstufe (höchsten, im Grundzustand besetzten Energiestufe). Daher ist die Wellenlänge der Fluoreszenzstrahlung größer als die der absorbierten Strahlung (Stokes-Verschiebung).

Die beiden Energiestufenmodelle aus Abbildung 2 beantworten auch die Titelfrage dieses Abschnitts: Bei einem Molekül, in dem es im elektronischen Grundzustand viele Schwingungszustände gibt, die bis nahe an den die im Grundzustand niedrigste, unbesetzte elektronische Energiestufe reichen, kann sich die energetische Situation der Elektronen- und Schwingungsniveaus wie im linken Teil der Abbil-

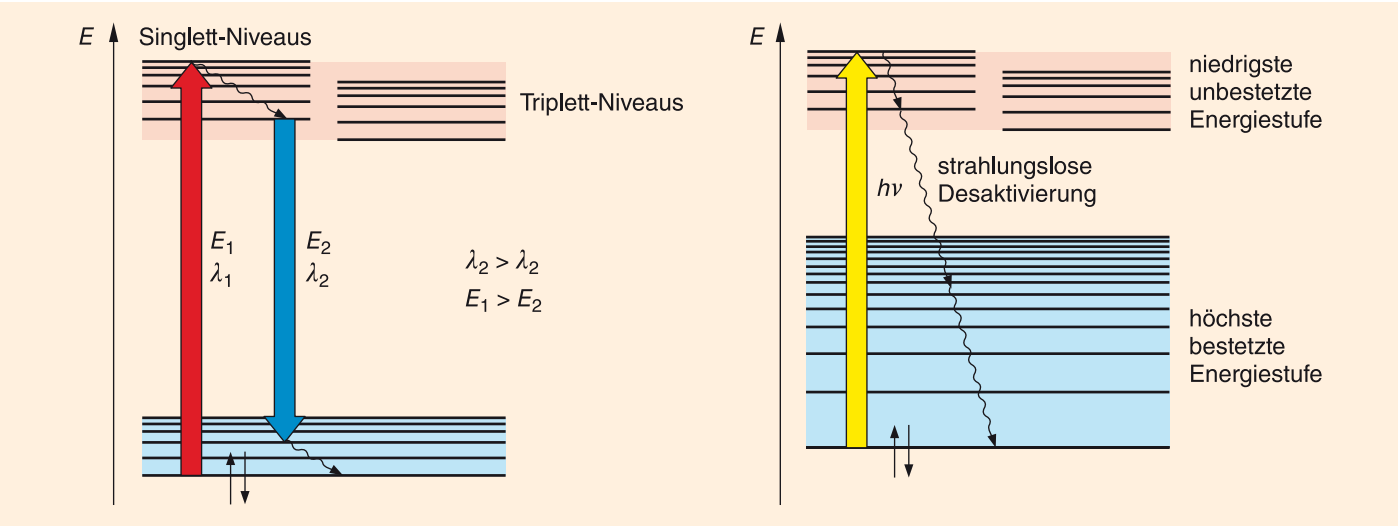

Abb. 2: Aufspaltung der elektronischen Energiestufen in Schwingungsniveaus und mögliche Übergänge bei einem fluoreszierenden Molekül (links) und bei einem nichtfluoreszierenden Farbstoff-Molekül (rechts)

dung 2 darstellen. Wenn ein solches Molekül durch Absorption eines Lichtquants elektronisch angeregt wird, kann es strahlungslos, unter Abgabe von Wärme, über die vielen erlaubten Schwingungsniveaus der beiden elektronischen Energiestufen bis in das unterste Schwingungsniveau des elektronischen Grundzustands „herunterpurzeln". Man spricht in diesem Fall von strahlungsloser Desaktivierung durch **Schwingungsrelaxation.** Die gesamte Energie des absorbierten Lichtquants wird dabei in Wärme umgewandelt[3].

Ähnlich wie bei Aesculin und Zimtsäureestern stellt sich auch die „innere Beweglichkeit" bei Chlorophyll- und β-Carotin-Molekülen dar (Abb. 3).

Das aromatische Porphyrin-System, in dem die Pyrrol-Ringe über das Magnesium-Ion zum Chelat-Komplex überbrückt sind, ist im Vergleich zu dem Polyen-System im β-Carotin-Molekül sehr viel starrer. Das Energiestufenmodell für Chlorophyll sollte also dem von Aesculin (Abb. 2, links) und das von β-Carotin dem von Zimsäureestern (Abb. 2, rechts) ähneln. Das müsste sich in dem unterschiedlichen Fluoreszenzverhalten der beiden Blattpigmente auswirken. Die folgenden Experimente zeigen, dass dies der Fall ist.

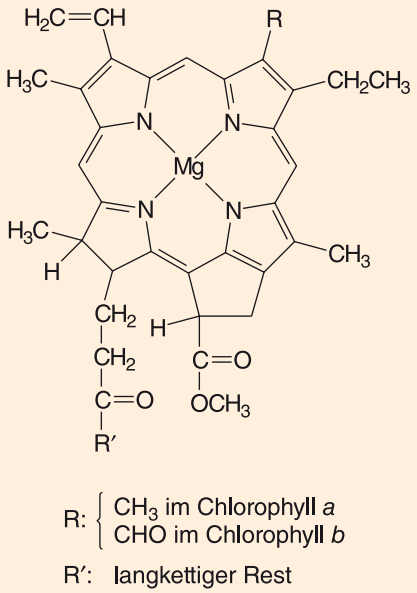

Abb. 3: Chlorophyll und β–Carotin, Blattpigmente mit unterschiedlichen Schwingungs- und Rotationsfreiheiten der Molekülteile mit konjugierten Doppelbindungen (Chromophore) [2]

2 Experimente mit Chlorophyll und β-Carotin

V 1 Fluoreszenz von Chlorophyll und β-Carotin

Die Hälfte eines Rundfilterpapiers wird gemäß Abbildung 4 mit einer Blattgrünextrakt-Lösung in Methanol (T, F) oder Aceton (F, Xi) getränkt, die andere Hälfte mit einer β-Carotin-Lösung in Heptan (F), Toluol (F, Xn) oder Aceton (F, Xi). Statt der Blattgrünextrakt-Lösung kann eine Lösung aus 2 mL grünem Kürbiskernöl (im Supermarkt erhältlich) und 2 mL Aceton (F, Xi) verwendet werden. Die β-Carotin-Lösung kann durch Lösen von käuflichem β-Carotin oder durch Extraktion aus Möhrenschnipseln mit dem entsprechenden Lösemittel hergestellt werden.

Das getränkte Filterpapier wird an der Luft geschwenkt, um die Verdunstung der Lösemittel zu beschleunigen. Das bei Tageslicht halb gelb und halb grün erscheinende Filterpapier wird im Dunkeln ins Licht einer UV-Laborhandlampe ($\lambda = 366$ nm) gehalten. Die mit Blattgrün bzw. Kürbiskernöl getränkte Seite fluoresziert rot, während die mit β-Carotin getränkte Seite nicht fluoresziert (Abb. 4).

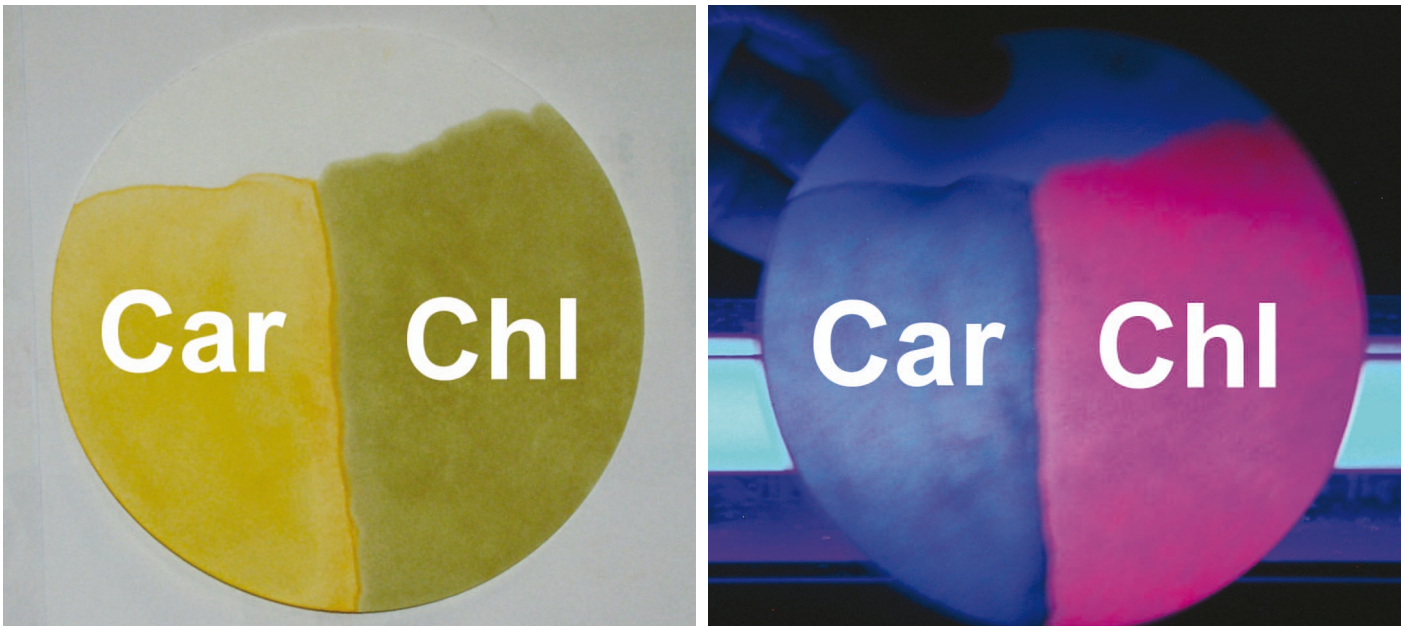

Abb. 4: β–Carotin und Chlorophyll auf Filterpapier im Tageslicht (links) und im UV-Licht (rechts)

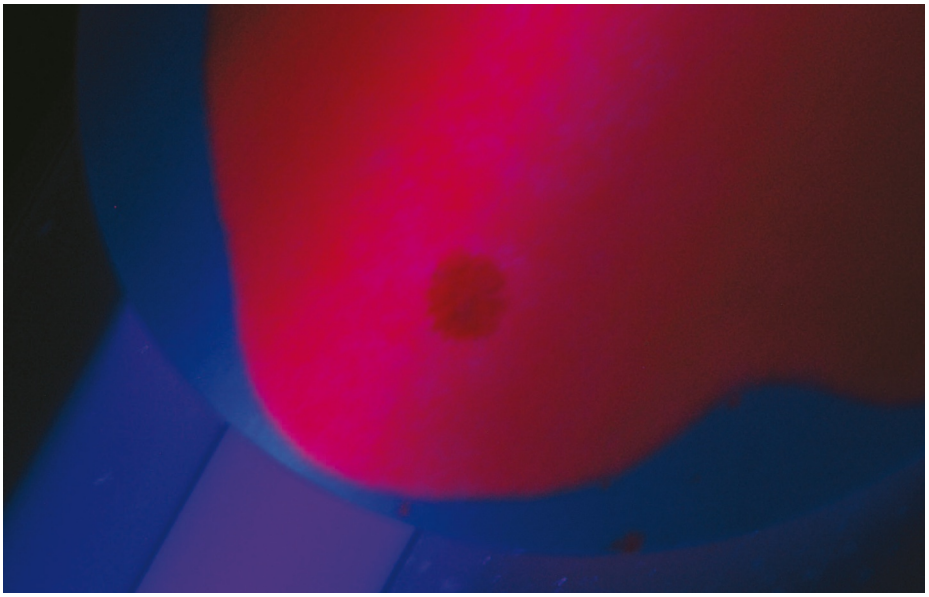

Abb. 5: β–Carotin (dunkler Fleck in der Bildmitte) löscht die Fluoreszenz von Chlorophyll

V 2 Fluoreszenzlöschung von Chlorophyll durch β-Carotin

Ein Rundfilterpapier wird vollständig mit Lösung aus Blattgrünextrakt oder grünem Kürbiskernöl (vgl. V 1) getränkt. Auf das so präparierte Filterpapier wird mit einer Glaskapillare ein Fleck aus gesättigter β-Carotin-Lösung in Aceton (F, Xi) aufgetragen. Der gelb-orange Fleck erzeugt im UV-Licht eine starke Abschwächung der roten Fluoreszenz des Chlorophylls (Abb. 5).

V 3 Photochemischer Abbau von Chlorophyll und Photoprotektion durch β-Carotin

Eine Zone rund um den in V 1 b) erzeugten β-Carotinfleck wird 2 min lang in den Strahlengang eines Diaprojektors mit einer 200-Watt-Halogenlampe gehalten. Die mit der Halogenlampe bestrahlte Fläche erscheint bereits bei Tageslicht stark ausgebleicht und fluoresziert im UV-Licht nicht mehr. Allerdings ist dort, wo der β-Carotinfleck war, noch eine schwache rote Fluoreszenz zu beobachten (Abb. 6).

Alternativ kann mit Sonnenlicht bestrahlt werden. Hierzu bedeckt man den Rundfilter mit einer Aluminiumfolie, in die man eine quadratförmige Öffnung geschnitten hat, sodass der β-Carotinfleck etwa in der Mitte dieser Öffnung liegt. Um ein aussagekräftiges Ergebnis wie in Abbildung 6 zu erhalten, muss die optimale Bestrahlungszeit im Sonnenlicht ermittelt werden. Sie hängt von den Lichtverhältnissen bei der Durchführung der Experimente ab.

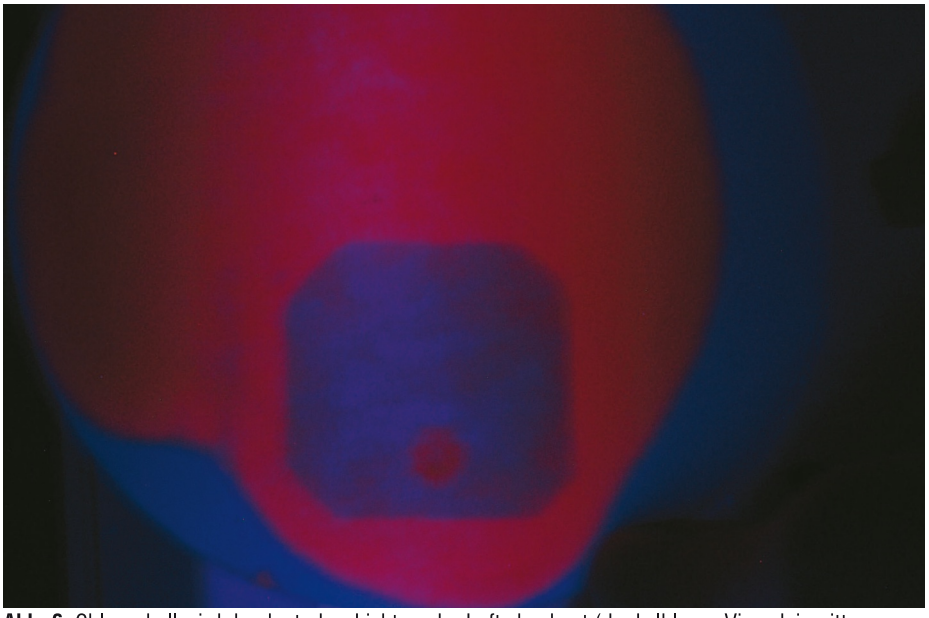

Abb. 6: Chlorophyll wird durch starkes Licht an der Luft abgebaut (dunkelblaues Viereck inmitten der rot fluoreszierenden Fläche); β-Carotin hemmt diesen Abbau (rot fluoreszierender Fleck im blauen Viereck)

3 β–Carotin – ein Multitalent

Unter diesem Titel wurden bereits neun Versuche mit β-Carotin sowie eine Dokumentation dieses häufigsten Naturfarbstoffs und seine biochemischen Funktionen beschrieben [4] und in Lehrgänge der Sek. II eingebunden [2]. Daher werden hier in Kürze die Elementarprozesse wiederholt, die für die Erklärung der Funktionen des β-Carotins als *Photosensibilisator (akzessorisches Pigment)* und als *Photoprotektor* erforderlich sind, um sie dann in Teil 4 dieses Beitrags modelltheoretisch zu erschließen.

β-Carotin absorbiert im Gegensatz zu den beiden Chlorophyllen a und b sichtbares Licht auch im blaugrünen und blauen Bereich und gelangt dabei in den elektronisch angeregten Singulett-Zustand $^1Car^*$:

$$^1Car + h\nu \rightarrow {}^1Car^* \qquad (1)$$

In der Protein-Domaine des photosynthetischen Zentrums (Abb. 7) kann ein effizienter Energietransfer von den angeregten β–Carotin-Molekülen auf Chlorophyll-Moleküle stattfinden:

$$^1Car^* + {}^1Chl \rightarrow {}^1Chl^* + {}^1Car \qquad (2)$$

Die so erzeugten angeregten Chlorophyll-Moleküle $^1Chl^*$ starten im grünen Blatt eine Kette von Elementarvorgängen, die zu dem beitragen, was man als Photosynthese zusammenfasst. Dabei wird $^1Chl^*$ desaktiviert, d. h. es kehrt in den Grundzustand ^1Chl zurück:

$$^1Chl^* \rightarrow {}^1Chl + \text{Photosynthese} \qquad (3)$$

Durch die Prozesse (1) bis (3) wird der Nutzungsgrad des Lichts bei der Photosynthese erhöht. Das β-Carotin wirkt dabei als *Photosensibilisator* für das Chlorophyll.

Das grüne Chlorophyll kann selbstverständlich auch direkt durch Lichtabsorption (Absorptionsmaxima im roten und im blauen Bereich des sichtbaren Spektrums) elektronisch angeregt werden:

$$^1Chl + h\nu \rightarrow {}^1Chl^* \qquad (4)$$

und gemäß (3) die Photosynthese starten. Befinden sich die angeregten Chlorophyll-Moleküle aber nicht in der Protein-Matrix des grünen Blatts, sondern in einer Lösung oder auf Filterpapier wie in V 1, so desaktivieren sie bevorzugt durch Emission von Lichtquanten $h\nu$, d. h. Chlorophyll fluoresziert:

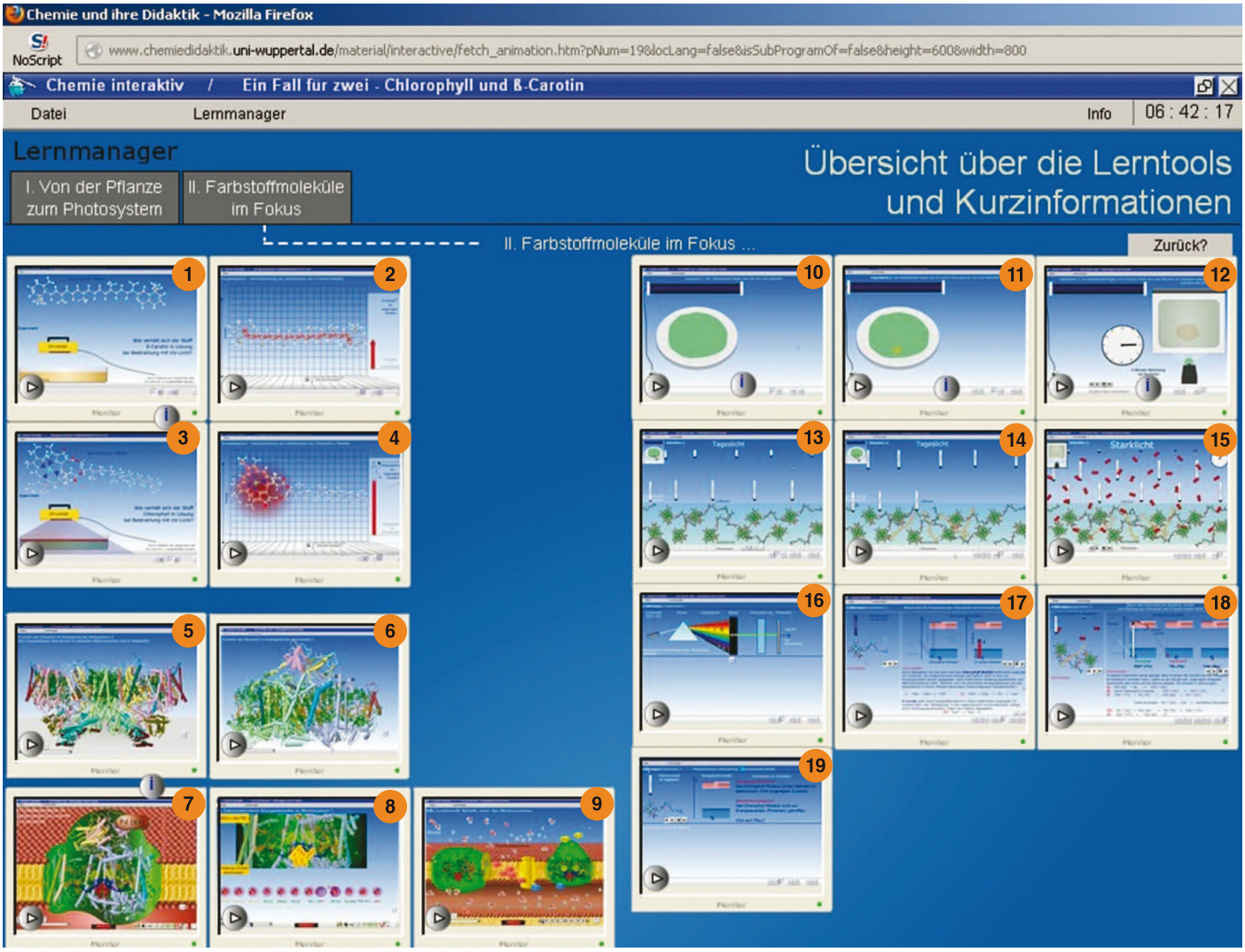

Abb. 7: Lernmanager der Flash-Animation „Ein Fall für 2“ in [3]

$$^1Chl^* \rightarrow {}^1Chl + h\nu \qquad (5)$$

Wenn bei starkem Licht von Chlorophyll mehr Licht absorbiert wird, als in der Photosynthese (insbesondere in den an die „Lichtreaktionen“ anschließenden „Dunkelreaktionen) umgesetzt werden kann, kommt es in den angeregten Chlorophyll Molekülen $^1Chl^*$ durch Spinumkehr zu angeregten Molekülen im langlebigen[4] Triplett-Zustand $^3Chl^*$:

$$^1Chl^* \rightarrow {}^3Chl^* \qquad (6)$$

Daraus kann die Anregungsenergie auf Sauerstoff-Moleküle, die im normalen Zustand ebenfalls Triplett-Elektronenkonfiguration haben, übertragen werden. So werden Sauerstoff-Moleküle $^1O_2^*$ im angeregten Zustand gebildet, so genannter Singulett-Sauerstoff:

$$^3Chl^* + {}^3O_2 \rightarrow {}^1Chl + {}^1O_2^* \qquad (7)$$

Dieser kann als Zellgift betrachtet werden. Moleküle des Singulett-Sauerstoffs greifen insbesondere C=C Doppelbindungen in Molekülen an, beispielsweise ungesättigte Lipid-Moleküle oder auch Chlorophyll-Moleküle. Die C=C Doppelbindung wird dabei in zwei Fragmente mit endständigen Carbonyl-Gruppen gespalten. Im Chlorophyll-Molekül wird so der Chromophor zerstört. Ganz allgemein werden auf diese Weise im Zellgewebe biochemisch unbrauchbare oder gar toxische Verbindungen gebildet.

$$^1O_2^* + \text{Zellsubstanz} \rightarrow \text{Produkte} \qquad (8)$$

Gegenüber dem Zellgift Singulett-Sauerstoff entfaltet β–Carotin sein „Talent“ als Schutzmittel für die Substanzen aus den lebenden Zellen. Dabei laufen folgende Elementarprozesse ab, bei denen zunächst in (9) eine Energieübertragung und in (10) eine strahlungslose Desaktivierung unter Freisetzung von Wärme stattfindet:

$$^1O_2^* + {}^1Car \rightarrow {}^3O_2 + {}^3Car^* \qquad (9)$$

$$^3Car^* \rightarrow {}^1Car + \text{Wärme} \qquad (10)$$

Im Modellversuch V 3, bei dem Chlorophyll und β–Carotin auf dem Filterpapier in Form eines Flecks aufgetragen sind, der von dem Sauerstoff aus der Luft umgeben ist, kann selbstverständlich keine Photosynthese ablaufen. Alle übrigen oben formulierten Elementarprozesse kommen jedoch zum Zuge.

4 Teilchenmodell und Energiestufenmodell zu „Ein Fall für 2“

Die Erklärung der experimentellen Fakten in V 1 bis V 3 durch die Prozesse (1), (2) und (4) bis (10) auf der Modellebene ist auch „Ein Fall für 2“, d.h. ein Sachverhalt, für dessen angemessene Beschreibung zwei verschiedene Arten von Modellen benötigt werden. Wie bei dem in Teil 1 diskutierten Stoffpaar Aesculin-Zimtsäureester sind das auch hier adäquate **Teilchenmodelle** und dazu passende **Energiestufenmodelle**[5]. Für die drei Versuche aus Teil 2 wurden jeweils interaktiv steuerbare Animationen dieser beiden Modelltypen entwickelt. Sie basieren auf wissenschaftlich konsistenten Konzepten und sind auf

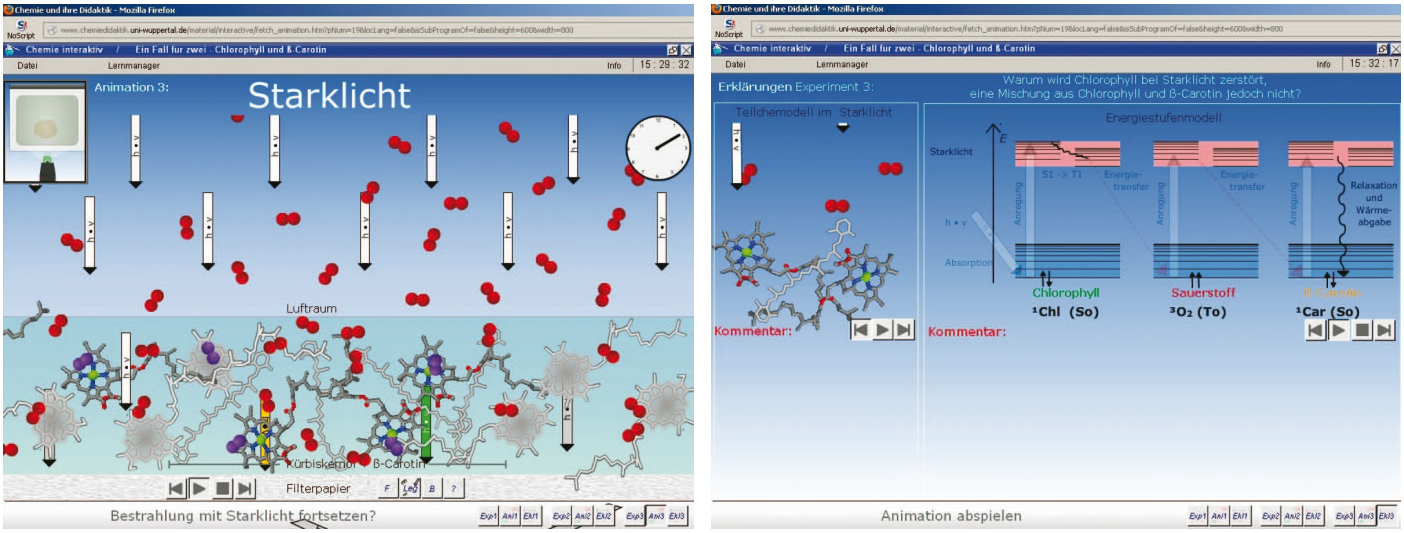

Abb. 8: Screenshots aus den Animationen des Teilchenmodells (links) und des kombinierten Teilchen- und Energiestufenmodells (rechts) zur Photoprotektor-Eigenschaft des β–Carotins in V 2

der Internetseite [3] unter Flash-Animationen im Modul „Ein Fall für 2“ kostenlos verfügbar.

Das Modul kann sowohl online gestartet und erschlossen als auch herunter geladen werden. Beim Start öffnet sich der Lernmanager, der eine Übersicht der 19 Lerntools anzeigt (Abb. 7).

Die Tools 1 bis 4 dienen der modellhaften Beschreibung der Versuche zum Verhalten von β-Carotin und Chlorophyll bei der Bestrahlung mit UV-Licht und können zur Veranschaulichung der in Teil 1 dieses Beitrags erörterten Frage eingesetzt werden. In 2 und 4 werden Teilchen- und Energiestufenmodelle eingesetzt.

In 5 bis 9 werden β-Carotin und Chlorophyll in der Proteinmatrix des Photosystems II in Darstellungen verschiedener Komplexität ohne und mit Animationen der Lichtabsorption sowie des Energie- und Elektronentransfers dargestellt. Diese Tools können besonders im Biologieunterricht hilfreich sein.

In den Tools 10 bis 19 von der rechten Bildhälfte des Lernmanagers werden die beiden Experimente V 2 und V 3 aus Teil 2 dieses Aufsatzes und die in Teil 3 diskutierten Elementarprozesse erschlossen. Die Durchführung und die Beobachtungen der beiden Versuche werden in 10 bis 13 wiederholt. Die Tools 14 und 15 enthalten Animationen mit Teilchenmodellen zur Fluoreszenz und Fluoreszenzlöschung in V 2. Hier sind jeweils mehrere Teilchen dargestellt um dem beobachteten Phänomen möglichst nahe zu kommen. Mit nur zwei Teilchen, aber auch dem dazu gehörigen Energiestufenmodell wird die Löschung der Chlorophyll-Fluoreszenz durch β-Carotin in 17 dargestellt. Das komplexe Zusammenspiel der beiden Protagonisten im „Fall für 2“ mit dem Licht und dem Sauerstoff aus der Luft in V 3, bei dem die Eigenschaft des β-Carotins als Photoprotektor deutlich wird, ist Inhalt der Animationen im Teilchenmodell 15 und im Teilchen- und Energiestufenmodell 18.

Ein Pool mit kompetenzorientierten Aufgaben zu den diskutierten Versuchen und Modellen werden in der Online-Ergänzung zu diesem Beitrag zur Verfügung gestellt. Sie können als Inspirationsquelle für eigene Aufgaben, die der konkreten Unterrichtssituation angepasst sind, dienen. ■

Dank

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft ***DFG*** *wird für die Förderung des Forschungsvorhabens* ***Photo-LeNa*** *(Photoprozesse in der Lehre der Naturwissenschaften) gedankt.*

Anmerkungen

[1] *Unter „Chlorophyll“ werden im gesamten Artikel Chlorophyll a und Chlorophyll b subsummiert.*

[2] *Jedes Schwingungsniveau untergliedert sich in mehrere, ebenfalls quantifizierte Rotationsniveaus. Diese werden weder in Abbildung 2 noch im Text weiter problematisiert, tragen aber auch zur „inneren Beweglichkeit“ eines Moleküls bei.*

[3] *Vgl. für vertiefende theoretische Ausführungen [1a] aus dem Jahr 1988. Der Artikel kann auf [4] unter „Publikationen“ online aufgerufen werden.*

[4] *Die mittlere Lebensdauer eines elektronisch angeregten Singulett-Zustands ist 10^{-9} s bis 10^{-8} s, die eines elektronisch angeregten Triplett-Zustands ist 10^{6}-mal bis 10^{8}-mal länger.*

[5] *Zur Beschreibung von Reaktionsverläufen werden Teilchenmodelle als „Reaktionsmechanismen“ und Energie(stufen)modelle als „Energiediagramme“ verwendet. Die Bedeutung der beiden Arten von Modellen muss stets bewusst gemacht werden.*

Literatur

[1] a) M. Tausch, D. Paterkiewicz: „Fluoreszenz und Phosphoreszenz“ in PdN-ChiS ***36****, 14, (1988); b) M. Tausch, A. Grolmuss, B. Piwek: „Echtfarben-Emissionsspektren EFES – Ein Beitrag zum Verständnis von Licht und Farbe“ PdN-ChiS,* ***47*** *(2) 10, (1998); c) M. Tausch, F. Gärtner: „Fluoreszenzkollektoren“, PdN-ChiS,* ***53*** *(3), 20 (2004); d) M. Thorenz, P. Weber, M. Ducci: „Flavonoide in Rosskastaniensamen“ PdN-Ch* ***57*** *(4), 41 (2008); e) M. W. Tausch, A. Banerji: „Funktionelle Farbstoffe“, PdN-ChiS,* ***60*** *(8), 6 (2010); f) S. Zajonc, M. Ducci „Aperol & Co – Die Spaltung von Mono- und Bisazofarbstoffen, PdN-ChiS,* ***62*** *(4), 24 (2013)*

[2] M. W. Tausch, M. von Wachtendonk (Hrsg.) CHEMIE 2000 +, Sek. II, C. C. Buchner, Bamberg verschiedene Länderausgaben, C. C. Buchner, Bamberg (2007 … 2012)

[3] www.chemiedidaktik.uni-wuppertal.de

[4] M. Tausch, A. Schmidt: „β-Carotin – ein Multitalent“, Chemkon, ***6*** *(3), 135 (1999)*

Anschrift der Verfasser

Prof. Dr. Michael W. Tausch (Korrespondenzautor), Ralf-Peter Schmitz, Nico Meuter, Bergische Universität Wuppertal, FB C – L13.01/04 Gaußstr. 20, 42119-Wuppertal, E-Mail: mtausch@uni-wuppertal.de