Aufnahme ausgewählter Metalle in Kompartimente von Solanaceen

D. Riße, H. Lahl* und B. Unterhalt Institut für Pharmazeutische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Hittorfstr. 58-62, D-48149 Münster, Bundesrepublik Deutschland

Uptake of selected metals into the compartments of Solanaceae

The Uptake of several metals into the compartments of Atropa belladonna, Datura stramonium, and Hyoscyamus niger is measured by ICP-AES. In the roots the series Al < Ba < Cr < Cu < Zn < Sr is observed.

(Keywords: Solanaceae, uptake of metals by the compartments of plants, ICP-AES)

Einleitung

Als Folge des technischen Fortschritts werden verstärkt Metalle in die Umwelt freigesetzt, wobei die Atmosphäre die größte Bedeutung als Transportmedium hat. Metalle und deren Verbindungen gelangen meistens in Form von Aerosolen oder mit dem Niederschlagswasser in den Boden, aus dem sie von den Pflanzen aufgenommen werden. Ihre Anreicherung in der Nahrungskette, deren letztes Glied der Mensch ist, fordert zunehmende Aufmerksamkeit. So ist es das Ziel dieser Arbeit, quantitative Aussagen zur Aufnahme von Al, Cr, Cu, Zn, Sr und Ba aus dem Boden durch arzneilich relevante Solanaceen zu machen und die Verteilung der Elemente zu bestimmen. Sämtliche Pflanzen wurden aus Samen angezogen, deren Stammpflanzen in Vorversuchen auf den Parzellen des Arzneipflanzengartens gewachsen waren [1].

Untersuchungen und Ergebnisse

Begonnen wurde mit ICP-AES-Messungen des Boden-Referenzmaterials und der Bodenproben. Die in Tab. 1 aufgeführten Werte werden zur Berechnung von Transferquotienten herangezogen (Tab. 2). Diese beschreiben den Übergang von Metallen aus dem Boden in die Wurzeln [(W/Bo)-Transferquotient] bzw. die Beweglichkeit der Metalle innerhalb der Pflanzen: Blätter/Wurzel(Bl/W)-Transferquotient.

		Al	Cr	Cu	Zn	Sr	Ba
BCR	Analyse	44420 ±	$93,1 \pm 4,2$	$26,7 \pm 2,2$	$94,3 \pm 4,2$	155 ±	510 ±
No.142	•	1570				7	25
BCR	Zertifiziert	48700*	66-97*	27.5 ± 0.6	$92,4 \pm 4,4$	164*	472*
No.142							
Boden	Analyse	19920 ±	219 ±	$26,3 \pm 4,2$	$64,1 \pm 9,4$	$97,7 \pm 4,0$	$368 \pm$
	•	1040	22				79

Tab.1: Elementgehalt an Al, Cr, Cu, Zn, Sr und Ba im Referenzmaterial BCR No. 142, Light sandy soil und im Boden der Versuchsfelder, analysiert mit Hilfe der ICP-AES nach Druckaufschluß, n=3.

Angaben in mg/kg Trockenmasse, *Informationswert des BCR

1. Aluminium- und Chrom-Verteilung

Die gemessene Verteilung von **Aluminium** und **Chrom** in Kompartimenten von Datura stramonium, Hyoscyamus niger und Atropa belladonna im Verlauf der Vegetationsperiode ist in Abb. 1 dargestellt.

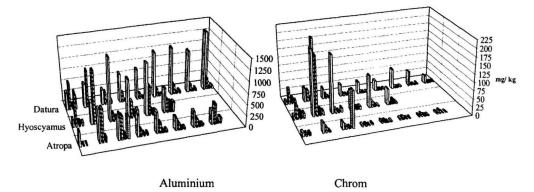


Abb. 1: Aluminium- und Chrom-Konzentrationen in den Kompartimenten Wurzeln, Blätter, Stengel und Blüten/Früchte (Reihenfolge innerhalb einer Ernte von links nach rechts) von Datura stramonium (9 Ernten) und Hyoscyamus niger (6 Ernten) sowie Atropa belladonna im Verlauf von 2 Jahren (3 Ernten im ersten, 5 Ernten im zweiten Jahr); Messwerte [1].

Die höchsten Aluminium- und Chrom-Konzentrationen werden für *Datura* bei den ersten beiden Ernten in den Blättern gefunden; ab der dritten Ernte weisen die Wurzeln die höchsten Gehalte auf. In den Blättern sind die Konzentrationen höher als in der Blüten/Früchte-Fraktion und hier meist doppelt so hoch wie in den Stengeln. 50 % des gesamten in der Pflanze enthaltenen Aluminiums ist gegen Versuchsende in den Wurzeln lokalisiert, deren Anteil an der Gesamttrockenmasse aber nur noch etwa 5 % beträgt. Für Chrom ist die mit 193 mg/kg sehr hohe Konzentration in der Blüten/Früchte-Fraktion der zweiten Ernte auffällig.Bei *Hyoscyamus* werden mit Ausnahme der ersten beiden Ernten die höchsten Aluminium- und Chrom-Konzentrationen ebenfalls in den Wurzeln gefunden, doch sind die Unterschiede zu den übrigen Kompartimenten weniger stark ausgeprägt als bei *Datura*.

Atropa zeigt sich uneinheitlich. Für Aluminium werden bei der Mehrzahl der Proben die höchsten Konzentrationen in den Wurzeln gemessen; bei der 2., 3. und 8. Ernte jedoch weisen die Blätter höhere Gehalte auf. Zwischen 68 und 81 % des Aluminiums findet sich in den Wurzeln. Die Konzentrationen der Organfraktionen von Atropa sind vergleichbar mit denen von Datura, die in den Wurzeln liegen jedoch um etwa die Hälfte niedriger. Für Chrom zeigt sich im ersten Versuchsjahr noch z.T. die typische Verteilung auf die Organfraktionen, im zweiten Versuchsjahr jedoch werden gleichhohe bis leicht erhöhte Konzentrationen in den Blättern gefunden. Transferquotienten sind Tab. 2 zu entnehmen [2].

Tab. 2: Wurzel/Boden (W/Bo)- und Blätter/Wurzel (Bl/W)-Transferquotienten für Aluminium und Chrom bei Datura stramonium, Hyoscyamus niger und Atropa belladonna.

Aluminium								Chrom						
Ernte	Dat	tura	Hyoscyamus		Atropa Datura		tura	Hyoscyamus		Atropa				
	stramonium		niger		belladonna*		stramonium		niger		belladonna*			
	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W		
1	0,020	1,544	0,009	4,247	0,017	0,090	0,041	5,149	0,053	3,559	0,057	0,551		
2	0,027	1,551	0,026	2,326	0,038	1,009	0,195	0,788	0,910	0,896	0,139	0,484		
3	0,017	0,793	0,072	0,116	0,026	1,035	0,150	0,354	0,802	0,067	0,100	0,390		
4	0,033	0,311	0,045	0,429	0,024	0,313	0,164	0,168	0,274	0,186	0,022	0,969		
5	0,035	0,169	0,060	0,566	0,024	0,484	0,169	0,095	0,446	0,165	0,030	0,908		
6	0,053	0,163	0,029	0,519	0,015	0,567	0,144	0,104	0,230	0,056	0,021	1,253		
7	0,055	0,204	-	-	0,018	0,503	0,273	0,068	-	-	0,019	1,602		
8	0,049	0,179	-	-	0,016	1,433	0,203	0,053	-	-	0,025	1,570		
9	0,068	0,195	-	-	_	-	0,190	0,143	-	-	-	-		

^{*1.} Versuchsjahr 1997: Ernte 1 bis 3; 2. Versuchsjahr 1998: Ernte 4 bis 8; Messwerte [1]

2. Kupfer- und Zink-Verteilung

Die Verteilung von Kupfer und Zink in *Datura stramonium*, *Hyoscyamus nig*er und *Atropa belladonna* im Verlauf der Vegetationsperiode ist Abb. 2 zu entnehmen.

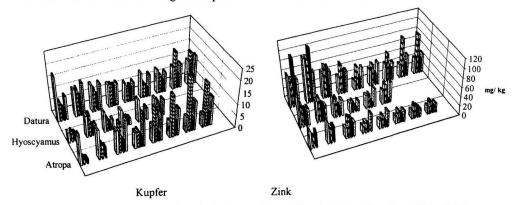


Abb. 2: Kupfer- und Zink-Konzentrationen in den Kompartimenten Wurzeln, Blätter, Stengel und Blüten/Früchte (Reihenfolge innerhalb einer Ernte von links nach rechts) von Datura stramonium (9 Ernten) und Hyoscyamus niger (6 Ernten) sowie Atropa belladonna im Verlauf von 2 Jahren (3 Ernten im ersten, 5 Ernten im zweiten Jahr); Messwerte [1].

Kupfer und Zink zeigen in *Datura* eine ganz andere Verteilung als Aluminium und Chrom. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Organfraktionen sind gering, was auf eine gute Beweglichkeit in der Pflanze schließen läßt. Bei den ersten beiden Ernten ist auffällig, dass die Stengel sehr hohe Zink-Konzentrationen aufweisen. Ab der dritten Ernte enthalten die Blätter den höchsten Anteil an Kupfer und Zink, gefolgt von den Blüten/Früchten.

In *Hyoscyamus* sind die Unterschiede zwischen den Fraktionen generell schwach ausgeprägt. Ab der dritten Ernte weisen die Wurzeln die höheren Kupfer-Werte auf, während Zink vermehrt in den Blättern anzutreffen ist.

Bei *Atropa* werden im ersten Jahr die höchsten Kupfer- und Zink-Konzentrationen, mit Ausnahme der dritten Ernte, in den Wurzeln gefunden. Im zweiten Jahr weisen die Blätter die höchsten Kupfer-Konzentrationen auf, während Zink sich in Blätter und Blüten/Früchte verlagert. Transferquotienten sind Tab. 3 zu entnehmen.

Tab. 3: Wurzel/Boden (W/Bo)- und Blätter/Wurzel (Bl/W)-Transferquotienten für Kupfer und Zink bei Datura stramonium, Hyoscyamus niger und Atropa belladonna.

Kupfer								Zink						
Ernte	Dat	tura	Hyoscyamus		Atropa Datura		tura	Hyoscyamus		Atropa				
	stramonium		niger		belladonna*		stramonium		niger		belladonna*			
	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W		
1	0,738	0,423	0,162	1,127	0,464	0,234	1,086	0,858	0,986	0,720	0,612	0,635		
2	0,449	1,025	0,354	1,030	0,483	0,508	1,495	1,007	0,730	1,100	0,758	0,706		
3	0,449	0,815	0,338	0,655	0,388	1,265	0,872	1,224	0,674	0,965	0,368	1,881		
4	0,375	0,986	0,283	0,616	0,267	1,051	0,605	1,660	0,354	1,057	0,250	1,438		
5	0,323	0,690	0,372	0,461	0,294	1,899	0,323	2,411	0,449	1,035	0,271	1,552		
6	0,418	0,565	0,308	0,852	0,265	2,539	0,562	1,267	0,470	1,399	0,246	1,715		
7	0,395	0,791	-	-	0,254	3,418	0,608	1,564	-	-	0,284	1,588		
8	0,380	1,630	-	-	0,213	3,351	0,459	2,895	-	-	0,276	1,503		
9	0,407	1,327	-	-	-	_	0,537	2,509	-	-	-	-		

^{*1.} Versuchsjahr 1997: Ernte 1 bis 3; 2. Versuchsjahr 1998: Ernte 4 bis 8; Messwerte [1].

3. Strontium- und Barium- Verteilung

Die Verteilung von **Strontium** und **Barium** in Kompartimenten von **Datura stramonium**, **Hyoscyamus niger** und **Atropa belladonna** im Verlauf der Vegetationsperiode ist in Abb. 3 dargestellt.

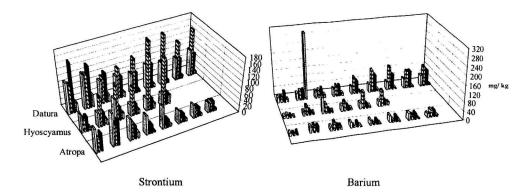


Abb. 3: Strontium- und Barium-Konzentrationen in den Kompartimenten Wurzeln, Blätter, Stengel und Blüten/Früchte (Reihenfolge innerhalb einer Ernte von links nach rechts) von Datura stramonium (9 Ernten) und Hyoscyamus niger (6 Ernten) sowie Atropa belladonna im Verlauf von 2 Jahren (3 Ernten im ersten, 5 Ernten im zweiten Jahr); Messwerte [1].

Bei den Proben der ersten drei Ernten von *Datura* findet man die höchsten Strontium- und Barium-Konzentrationen in den Stengeln - Ausnahme 311 mg/kg Ba in Blüte/Früchte der 2. Ernte- ab der vierten in den Blättern. Die niedrigsten Konzentrationen, etwa 10 mg/kg, werden in den Blüten/Früchten angetroffen. Bis zu 90% Strontium ist während der gesamten Vegetationsperiode in den Blättern und Stengeln lokalisiert. Die Barium-Konzentrationen sind bis zu 50% geringer. Blüten/ Früchte als massenreichste Fraktion enthalten nur ca 10% des Strontiums und Bariums.

Bei *Hyoscyamus* weisen die Blätter die höchsten Konzentrationen auf, mit Ausnahme für Strontium bei der ersten Ernte und für Barium bei der dritten Ernte, die der Blüten/Früchte sind stets am niedrigsten.

Atropa zeigt ein anderes Verhalten. Strontium wird, mit Ausnahme der letzten Ernte, vorwiegend in den Wurzeln gefunden. Barium liegt in allen Fraktionen in gleicher Größenordnung vor. Die Transferquotienten sind Tab. 4 zu entnehmen.

Tab. 4: Wurzel/Boden (W/Bo)- und Blätter/Wurzel (Bl/W)-Transferquotienten für Strontium und Barium bei Datura stramonium, Hyoscyamus niger und Atropa belladonna.

Strontium								Barium						
Ernte	Dat	ura	Hyoscyamus		Atropa		Datura		Hyoscyamus		Atropa			
	stramonium		niger		belladonna*		stramonium		niger		belladonna*			
	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	Bl/W	W/Bo	B1/W	W/Bo	Bl/W		
1	1,064	0,935	0,631	0,732	0,811	0,559	0,066	1,111	0,030	1,482	0,039	0,684		
2	1,187	0,974	0,487	2,034	1,126	0,609	0,094	1,280	0,055	2,178	0,076	1,090		
3	0,799	1,128	0,789	1,518	0,748	0,851	0,086	1,180	0,205	0,575	0,048	2,062		
4	0,802	1,288	0,392	2,410	0,664	0,176	0,104	1,289	0,072	1,617	0,069	0,23		
5	0,721	1,676	0,455	4,184	0,768	0,189	0,096	2,232	0,074	2,846	0,066	0,33		
6	0,846	1,947	0,405	3,965	0,445	0,506	0,108	2,620	0,067	2,948	0,083	0,31		
7	0,775	2,193		-	0,454	0,709	0,108	2,771		-	0,085	0,72		
8	0,776	1,675	-	-	0,348	1,085	0,126	1,767		-	0,046	1,95		
9	0,909	1,745	-	-	-	-	0,141	1,832		-	-	-		

^{*1.} Versuchsjahr 1997: Ernte 1 bis 3; 2. Versuchsjahr 1998: Ernte 4 bis 8; Messwerte [1].

Diskussion

Die sechs untersuchten Metalle sind nach ihrem Verhalten gegenüber *Datura stramonium* und *Hyoscyamus niger* in drei Gruppen aufzuteilen. Aluminium und Chrom werden in den Wurzeln angereichert. Nur in geringem Umfang findet ein Transport in oberirdische Kompartimente statt.

Kupfer und Zink sind innerhalb der untersuchten Pflanzen gut beweglich. Es fallen relativ hohe Gehalte in den Blüten/Früchten auf, in denen sonst oft die geringsten Metallanteile zu finden sind. Eine mögliche Erklärung besteht darin, dass Kupfer und Zink für Pflanzen essentielle Elemente sind, die in ausreichender Menge in den Samen vorhanden sein müssen, um dem Keimling für seine Entwicklung zur Verfügung zu stehen. Für die anderen untersuchten Elemente besteht offensichtlich eine Transportbarriere zu den Früchten.

Strontium und Barium werden hauptsächlich in den Blättern angereichert; auch ist ein Ansteigen der Konzentrationen über die Vegetationsperiode hinweg zu verzeichnen. Strontium ist dabei am Ende der Vegetationsperiode sogar gegenüber dem Boden angereichert. Auffällig sind die niedrigen Konzentrationen in den Blüten/Früchten im Vergleich zu den übrigen Kompartimenten.

Atropa belladonna zeigt insbesondere im zweiten Versuchsjahr ein anderes Verhalten. Ob diese Abweichungen pflanzenspezifisch sind - es handelt sich im Gegensatz zu den anderen untersuchten Arten um ein mehrjähriges Gewächs - oder ob sich das Verhalten im zweiten Jahr auf insgesamt veränderte Wachstumsbedingungen zurückführen läßt, kann mit den geringen Datenmengen nicht entschieden werden.

Hinsichtlich der Aufnahme der Metalle aus dem Boden in die Pflanze und der Beweglichkeit innerhalb der Pflanze lassen sich vergleichbare Aussagen machen. Aluminium wird in geringem Umfang aufgenommen, obwohl das höchste Angebot vorliegt. Für die drei Pflanzenarten läßt sich nach den Transferquotienten die Reihenfolge Al < Ba < Cr < Cu < Zn < Sr angeben, in der die Elemente von den Wurzeln aus dem Boden aufgenommen werden. Chrom und Aluminium sind innerhalb der Pflanze recht unbeweglich, dagegen zeigen Zink, Barium und Strontium eine gute Beweglichkeit. Von den drei untersuchten Pflanzenarten vermag Atropa Aluminium, Kupfer und Chrom am leichtesten in die Blätter zu verlagern, für Strontium und Barium ist dies bei Hyoscyamus der Fall.

Allgemein fällt bei den Transferquotienten auf, dass sie sich insbesondere im Jugendstadium der Pflanze von den später ermittelten unterscheiden; offenbar werden in diesem Enwicklungsstadium Elemente verstärkt aus dem Boden in die Wurzeln aufgenommen bzw. in die Blätter umgelagert.

Experimenteller Teil

Geräte und Methoden

Die ICP-AES wird als sequentielle Analyse mit dem ICP-5500, Perkin Elmer, durchgeführt. Boden und Pflanzenmaterial werden einem Druckaufschluss in edelstahlummantelten PTFE-Gefäßen, ausgestattet mit Druckfedern und Berstscheiben, unterzogen. Zur Vermeidung externer Kontaminationen finden Probenvorbereitung und Messungen, soweit möglich, in einer Reinstraumanlage statt. Alle Gefäße, Pipetten und Gegenstände, mit denen die Proben in Kontakt kommen, werden vorbehandelt, indem sie mindestens 10 Tage lang in 10proz. HNO3 eingelegt, kurz vor der Verwendung dreimal mit AquaMilliQ gespült und bei 60 °C getrocknet werden. Zur Parameteroptimierung und Kalibrierung des Spektrometers wird aus den Einzelelement-Standardlösungen durch entsprechende Verdünnung mit 1proz. HNO3 ein Mehrelementstandard mit Endkonzentrationen von 20 mg/l Al und Ba, 2 mg/l Cu, 10 mg/l Cr und Zn sowie 5 mg/l Sr hergestellt. Zur Bestimmung von Al werden die Probelösungen 1+99 mit 1proz. HNO3 verdünnt. Die Auswertung erfolgt direkt gegen die Bezugslösungen.

Zur Qualitätskontrolle des Druckaufschlusses der Bodenmatrix wird das zertifizierte Referenzmaterial BCR No. 142, light sandy soil [3], und für die Pflanzenmatrix SRM 1573a, tomato leaves, analysiert [4]. Es werden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

Zur Probenvorbereitung wurden Keramikmesser (Boker ceramic) und eine Gartenschere mit teflonbeschichteten Schneidflächen verwendet, Pipettierungen erfolgten mit Eppendorf-Pipetten, die Aufbewahrung in 20 ml Polyvials der Firma Zinsser.

Chemikalien und Standards; Analysenbedingungen

Alle verwendeten Chemikalien haben, soweit nicht anders angegeben, den Reinheitsgrad p.a.. Es finden Verwendung: 65proz. HNO₃, 70proz. HClO₄, 40proz. H₂F₂ Merck, AquaMilliQ Waters mit einem Widerstand von 18 MegOhm x cm sowie 1g/l Einzelelementstandards Merck von Cr, Zn, Al, Cu, Sr und Ba. Die Analysenbedingungen zur ICP-AES sind bereits früher beschrieben [5].

Probenvorbereitung

Der Anbau der Pflanzen erfolgte, nach Arten getrennt, auf Versuchsfeldern im Arzneipflanzengarten des Instituts für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der WWU Münster*. Es handelt sich um Parzellen von 25 m Länge und 1,5 m Breite. Sie liegen durch je ein 1 m breites Rasenstück getrennt direkt nebeneinander. Räumliche Nähe und Gleichbehandlung veranlaßten uns, Teilproben der Böden einzelner Felder zu einer Gesamtprobe zu vereinigen. Von Parzellen, auf denen *Datura stramonium* und *Atropa belladonna* wachsen sollten, wurden jeweils 10 Teilproben, von den Feldern, die für *Hyoscyamus niger* vorgesehen waren, je 5 Teilproben genommen. Zur Entnahme der Proben wurde jeweils ein 100 ml Meßzylinder aus Polypropylen mit einer Einstichtiefe von 20 bis 25 cm senkrecht in den Boden gedrückt und der Inhalt samt außen anhaftenden Boden in einen Polyethylenbeutel übergeführt. Nach manueller Zerkleinerung und Trocknen bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz wurde der Boden durch ein 2 mm-Kunststoffsieb gestrichen und durch Vierteilen auf etwa 100 g verjüngt [6], in der Analysenmühle pulverisiert und bis zum Gebrauch in Polyethylen-Schraubgefäßen bei 20°C dunkel und trocken gelagert.

Die Bodenproben wurden Mitte Mai 1997 genommen. Nach Anzucht im Warmbereich des Gewächshauses erfolgte die Aussaat im Frühjahr 1997 (100 Exemplare Datura stramonium, 25 Hyoscyamus niger, 60 Atropa belladonna). Zuvor waren alle Parzellen umgepflügt und mit 100 g Blaukorn/m² gedüngt worden. Anfang August erfolgte eine Nachdüngung mit 200 g Blaukorn/m². Die erste Probennahme von *Datura stramonium* und *Hyoscyamus niger* wurde 10 Tage nach dem Auspflanzen ins Freiland vorgenommen. Die weiteren Ernten fanden bis zum Versuchsende jeweils am gleichen Tag im Abstand von 2 Wochen statt. Die ersten Exemplare von *Atropa belladonna* wurden unmittelbar vor der Aussaat entnommen, die weiteren Probenahmen erfolgten aufgrund der langsameren Entwicklung dieser Pflanze jeweils im Abstand von 4 Wochen. In der Regel wurden 3 Exemplare jeder Art geerntet, wobei jeweils nur solche ausgewählt wurden, die den durchschnittlichen Entwicklungsstand des Versuchsfeldes repräsentierten. Darüber hinaus fanden nur solche Pflanzen Berücksichtigung, die über die Parzelle verstreut wuchsen.

Zur Analyse der Bodenmatrix werden 90 bis 110 mg je Probe, genau gewogen, mit 500 μ l 65proz. HNO₃ sowie 600 μ l 40proz. H₂F₂ versetzt und bei 170°C 6 h lang einem Druckaufschluß unterzogen. Die Aufschlußsäuren werden bei 150 °C unter den üblichen Vorsichtsmaßnahmen bis zur Trockne abgeraucht, mit 3 ml 1proz. HNO₃ versetzt und 5 min lang erneut erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 1proz. HNO₃ quantitativ in einen 10 ml Meßkolben übergeführt, bis zur Eichmarke aufgefüllt und in Polyvials® bei 20 °C aufbewahrt. Die Aufschlußbedingungen für die Pflanzenmatrix sind bereits früher beschrieben [5].

Literatur

- Wir danken Herrn Prof. Dr. A. Nahrstedt für seine Unterstützung.
- 1 Riße, D. (2000), Diss., Universität Münster.
- 2 Farago, M. E. in Farago, M. E. (Hrsg.), Plants and the Chemical Elements, 1st Edition, S. 227, Verlag Chemie, Weinheim 1994.
- 3 Colinet, E., Gonska, H., Griepink, B., Muntau, H. (1983), BCR Information Reference Material BCR No. 142, Commission of the European Communities/Community Bureau of Reference.
- 4 National Institute of Standards & Technology, Certificate of Analysis Standard Reference Material 1573a tomato Leaves, NIST Gaithersburg, MD 20899, USA, 1995.
- 5. Lahl, H., Riße, D., Unterhalt, B. (2000), Sci. Pharm. 68, 435.
- 6 Lewandowski, J., Leitschuh, S., Koß, V. (1997), Schadstoffe im Boden, 1. Auflage, Springer Verlag Berlin.