

Ein Beitrag zur Neufassung des Stanley-Miller-Experiments zur abiogenen Aminosäuresynthese

Von Gerhard Sextl und Robert Schwankner in Traunstein

1. Einleitung

„Sie haben Recht, *Eisenlohr*. Es bewegt sich. Vielleicht . . . , es könnte vielleicht . . . “

„Was könnte es sein?“ fiel *Eisenlohr* ins Wort.

Bruck zuckte die Achseln. „Man kann noch nicht sagen. Wir wissen noch nicht genug . . . “

„Wenn es die Urzeugung wäre, *Bruck*?“

„Wenn der tote Stoff tatsächlich unter der Strahlung Leben gewonnen hätte?“

„ . . . wenn wir tatsächlich dem Geheimnis des Lebens auf der Spur wären?“

Dieser Satz aus dem Zukunftsroman „Lebensstrahlen“ von *Hans Dominik* [1], einem Klassiker der Science-fiction Literatur, ist heute „prinzipiell“ seiner Verwirklichung näher gerückt. Die Chemie wendet sich wieder, jedoch mit komplizierterem Instrumentarium, dem Problem der „Urzeugung“ zu, das mit Beginn der wissenschaftlichen Chemie seit *Wöhlers* Harnstoffsynthese (1828) und dem damit verbundenen Fall der „vis vitalis“ als unwissenschaftlich galt. Zu sehr verurteilt man als Mensch unseres Jahrhunderts die Ideen der Alchemie, besonders die des „lapis philosophorum“ — des Steins der Weisen, zu einem namhaften Beitrag menschlicher Narrheit. Aber Begriffe wie der Homunculus in *Goethes* Faust, geprägt von der Alchemistin *Maria der Jüdin*, von *Albertus Magnus* und nicht zuletzt von *Paracelsus* leben hartnäckig nicht nur in alchemistischen Traktaten, sondern auch in der Literatur weiter. So unheimlich

war der Glaube an ein „lebendes“ Resultat aus der Phiole in der alchemistischen Blütezeit, daß dieses uns in *Goethes* Faust, in *Gustav Meyrinks* „Der Golem“ und schließlich in *Aldous Huxleys* „Brave New World“ entgegentritt [2].

2. Umriß des Themas

Die wissenschaftliche Lösung der „Urzeugung“ wurde nur zu gerne in die Weiten des Weltalls verlegt, denke man nur an die „Panspermie“ des Chemikers *Arrhenius* (1908), die als Grund für die Lebensentstehung auf der Erde „kosmische Keime“, die sich entwickelten, ansah. Zur Problemlösung trugen dann schon eher Theorien einer chemischen Evolution bei, wie sie der Russe *Oparin* (1924) vertrat.

Oparin und später auch *Urey*, der die Arbeit *Oparins* fortsetzte, gingen bei der Aufstellung ihrer Hypothesen von der kosmischen Elementhäufigkeit aus ($H > He > O > N > C \dots$) [3] und stellten dabei fest, daß am häufigsten diejenigen Elemente auftreten, die zum Aufbau organischer Moleküle unbedingt notwendig sind. Dem Schüler *Ureys*, *Stanley L. Miller* (University of California, San Diego, La Jolla, California [4]) glückte 1953 in Chicago erstmals der Versuch einer experimentellen Ausführung einer Synthese von organischen Stoffen, auf denen sich das Leben aufbaut (wie z. B. Aminosäuren), aus einfachen anorganischen

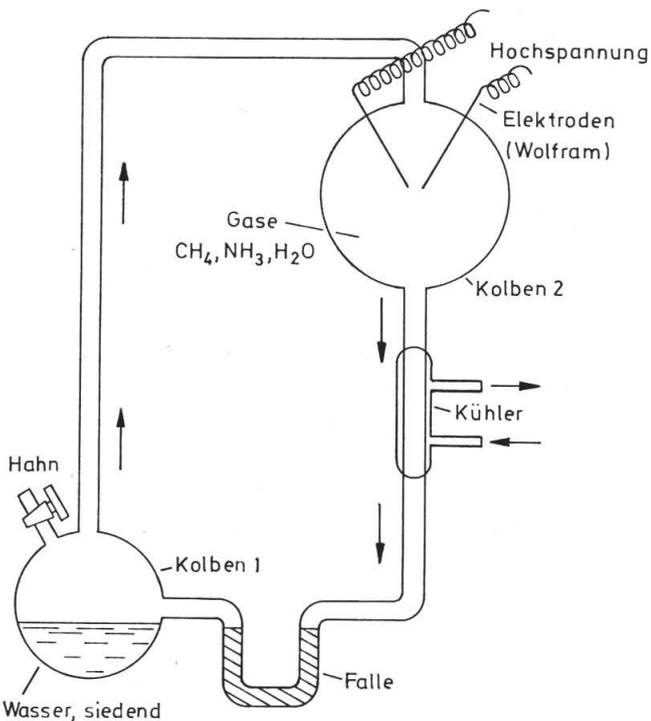
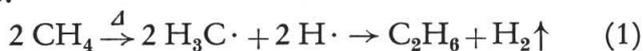


Abb. 1. Apparatur, die *Miller* für seine Synthesen verwendete

Stoffen. Er verwendete dazu die in Abb. 1 gezeigte Apparatur. Als Ausgangsstoffe dienten ihm Methan, Ammoniak und Wasserdampf. Freien Wasserstoff (die „Ur-atmosphäre“ war reduzierend! [3, 4, 5, 6, 7]) fügte er nicht hinzu, da dieser durch thermische Zerlegung (Ionisierung, Radikalisierung) der Ausgangssubstanzen (hervorgerufen durch die Funkenentladungen) in ausreichendem Maße gebildet wird:

z. B.



Durch Erhitzen des Wassers im Kolben 1 (s. Abb. 1) erreichte er, daß im Reaktionsgefäß ständig Wasser verdampfte, die Apparatur durchlief und wieder kondensierte (Kreislauf!). Die entscheidenden Reaktionen der Synthese liefen im Kolben 2 ab, in dem ein Hochspannungsfunke zwischen zwei Wolfram-Elektroden überschlug und die Gase in Radikale, bzw. Ionen spaltete. Diese Radikale lagern sich wegen ihrer Kurzlebigkeit sofort wieder unter Bildung von neuen Stoffen zusammen, die sich zum Teil im kondensierenden Wasser lösen und sich in der „Falle“ anreichern oder die sich als Gase in der „Atmosphäre“ des Systems anreichern (siehe Gleichung (1)).

Miller arbeitete in seinen Versuchen bei Temperaturen um 100 °C und legte damit seiner „Ur-Synthese“ Bedingungen zugrunde, wie sie auf der

Erde vor etwa 4 Milliarden Jahren bestanden haben sollen [4].

In dieser Arbeit wird ein Versuch vorgestellt, bei dem die Apparaturen wesentlich vereinfacht sind. Damit diese Aufgabe, die bisherigen Reaktionsapparaturen zu vereinfachen, erreicht werden konnte, mußte teilweise unter neuen Bedingungen gearbeitet werden. So wurden alle Synthesen bei einer Temperatur von „nur“ 25–30 °C und ohne Wasserdampfkreislauf ausgeführt und damit erreicht, daß die Apparatur nicht zusätzlich beheizt werden mußte. Als Reaktionsgefäß diente die in Abb. 2 gezeigte, für diesen Zweck entwickelte Glasapparatur. Die Ausgangsstoffe waren, wie bei *Miller*, Methan, Ammoniak und Wasser. Die einzige Abänderung bestand darin, daß Ammoniak

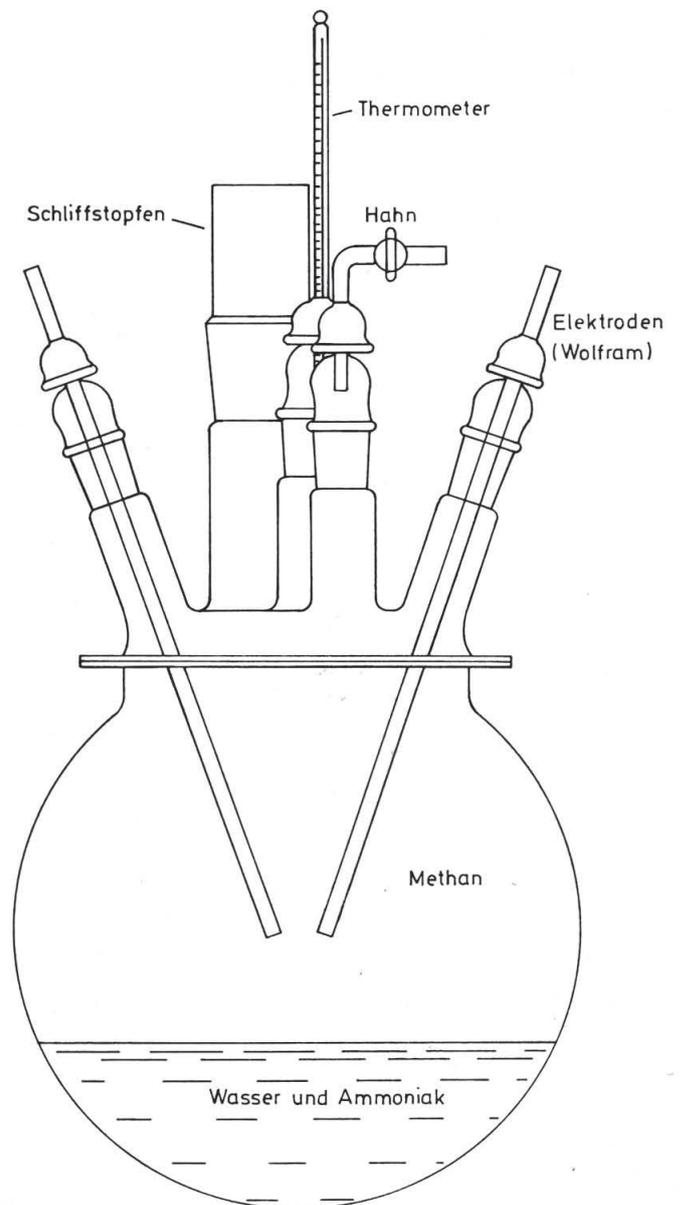


Abb. 2. Entwickelte Apparatur (Schemazeichnung)

nicht als Gas, sondern in Form einer 25⁰/oigen Lösung zugegeben wurde.

Diese Veränderungen verlangten es, zuerst genau zu überprüfen, ob man damit überhaupt Ergebnisse erzielen kann, die im Einklang mit denen stehen, die in „Originalapparaturen“ erreicht wurden. Dazu war es notwendig, die entstandenen organischen Verbindungen genau zu analysieren und anschließend die Ergebnisse mit denen zu vergleichen, die von anderen Autoren erzielt wurden. Stimmen dann die Ergebnisse mit den unter Originalbedingungen erhaltenen überein, kann man davon ausgehen, daß man mit der neuen Apparatur, trotz der veränderten Bedingungen, entsprechende Ergebnisse erreichen kann, die es erlauben, das Reaktionsgefäß im Schulunterricht einzusetzen. Dazu war es unbedingt notwendig, daß die Synthesen mehrfach unter standardisierten Bedingungen wiederholt wurden, um statistischen Schwankungen Rechnung tragen zu können. Die Zusatzgeräte, die zur Standardisierung nötig waren (z. B. Temperaturüberwachungsanlage), sind darum für die Durchführung dieses Versuches an Schulen nicht mehr notwendig.

Ziel der weiteren Arbeit war es also, die Ergebnisse von anderen Autoren (z. B. *S. L. Miller*) mit der vereinfachten Apparatur darzustellen. Dabei wurde untersucht, welche Verbindungsklassen von organischen Stoffen gebildet werden und nach welchen Reaktionsmechanismen diese gebildet werden könnten. Die synthetisierten Aminosäuren konnten anschließend mit dem Dansyl-Verfahren (s. 3.3.1.2.) eindeutig analysiert werden. Ergebnis einer Prüfung auf optische Aktivität der Endprodukte war, daß diese in racemischen Gemischen vorliegen (viele Substanzen in der Ursuppe, wie Aminosäuren oder Zucker, sind optisch aktiv) (s. 3.3.2.2.). Zuletzt wurde noch untersucht, ob ein Stoff wie Aluminiumoxid, welcher auf der Uerde auf der Oberfläche vorgekommen sein soll, einen Einfluß auf die Aminosäurebildung hat.

Ein anschließender Vergleich der Ergebnisse mit den in der Fachliteratur beschriebenen ergab, daß die vereinfachte Apparatur zur Darstellung der präbiotischen Aminosäuresynthese im Schulunterricht geeignet ist und mit ihr sogar neuere wissenschaftliche Erkenntnisse erarbeitet werden können. Damit ist der Versuchsaufbau auch für Kollegstufenarbeiten an Schulen in der Sekundarstufe II geeignet.

Dieses neu konzipierte Verfahren bietet dabei folgende Vorteile:

- a) einfacher und übersichtlicher Versuchsaufbau
- b) relativ geringer Kostenaufwand.

3. Experimenteller Teil

3.1. Die Versuchsanordnung

3.1.1. Beschreibung des Reaktionsgefäßes

In der Versuchsanordnung besteht das Reaktionsgefäß aus einem 2-l-Weithals-Rundkolben mit Planschliff (s. Bezugsquellenverzeichnis Anhang I) und einem dazu passenden Deckel mit 5 NS-Hülsen unterschiedlicher Weite (s. Abb. 2 und 3). In einer dieser Hülsen befindet sich ein Schliffstopfen (Möglichkeit zum Einhängen einer UV-Tauchlampe als alternative photochemische Energiequelle für die Synthesen). In den weiteren 4 befinden sich Schliffverbindungen mit Schraubkappen, um die 2 Wolfram-Elektroden (s. Bezugsquellenverzeichnis), einen Hochvakuumhahn und ein Thermometer bzw. eine Thermosonde in das Reaktionsgefäß einführen zu können. Da die Schliffverbindungen mit den Schraubkappen sehr gut schließen, bildet das Reaktionsgefäß, wenn sowohl die Elektroden als auch die Glasröhren von Hahn und Thermometer genau diesen Verbindungsstücken angepaßt sind, ein in sich abgeschlossenes System und ermöglicht es so, in ihm die „Ur-atmosphäre“ längere Zeit zu erhalten. Vor jedem Versuch müssen sämtliche Schliffe auf Schäden (Kratzer) untersucht werden, weil etwaige Leckstellen einen Gasaustausch durch Diffusion ermög-

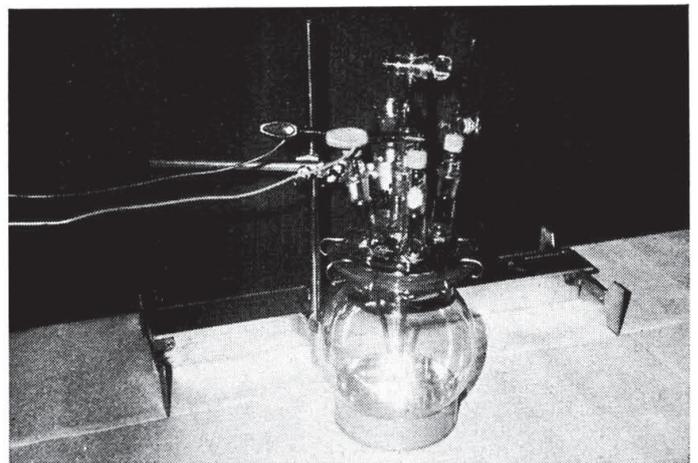


Abb. 3. Entwickelte Apparatur mit Probeentnahmevorrichtung (Photo Verfasser)



Abb 4. Hochspannungsanlage (Photo Verfasser)

lichen. Dadurch kann Luft in das Gefäß eindringen, was bis zu einer Explosion der Apparatur führen kann (Methan-Luftgemische sind sehr explosiv!).

3.1.2. Energiequelle

Als Energiequelle diente bei allen Versuchen ein Funkeninduktor (s. Abb. 4), der die für die Synthesen notwendige Überschlagsspannung von ca. 50—100 kV lieferte (Gewittersimulation). Der Funkeninduktor wurde durch eine Zeitschaltuhr täglich ca. 2—3 Stunden zur gleichen Zeit eingeschaltet.

3.1.3. Besondere Vorrichtungen

Bei einigen Versuchen wurde anstelle des Thermometers eine Probeentnahme-Vorrichtung in das Gefäß eingeführt, die es ermöglichte, während des Versuchsablaufs Proben zu entnehmen. Dieses Zusatzteil besteht aus einem Glasrohr, das bis zum Boden des Reaktionsgefäßes reicht und am anderen Ende außerhalb des Reaktionsraumes mit einem Hahn verschlossen ist. Die Proben wurden nach Öffnen des Hahnes in ein sorgfältig gereinigtes Reagenzglas gesaugt.

Um die Temperatur im Reaktionsgefäß nicht immer vom Thermometer ablesen zu müssen, wurde aus einem temperaturabhängigen Widerstand (NTC) (s. Bezugsquellenverzeichnis), der in chemikalienresistentes Kunstharz (s. Bezugsquellenverzeichnis) eingegossen wurde, eine Thermosonde gebaut, die anstelle des Thermometers in den Versuchsraum eingehängt wurde (s. Abb. 5). Diese Sonde war über eine geeignete Widerstandsschaltung mit einem Meßschreiber verbunden, der wäh-

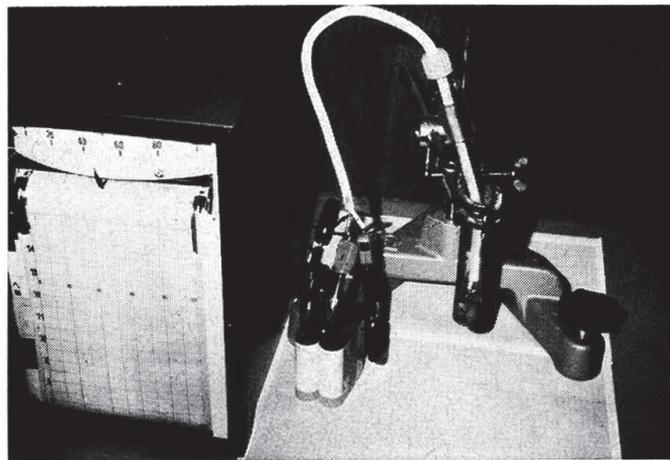


Abb. 5. Thermosonde mit Meßschreiber (Photo Verfasser)

rend des gesamten Versuchsablaufs sämtliche Temperaturänderungen aufzeichnete. Nach Aufstellen einer Eichkurve erlaubte diese Vorrichtung eine *qualitative* Beobachtung der Thermodynamik des Systems.

3.2. Versuchsdurchführung

3.2.1. Reinigung der Apparatur

Vor jedem Versuchsansatz ist es notwendig, alle Teile der Versuchsanlage gründlich zu reinigen und zu desinfizieren. Besonders wichtig ist die vollständige Entfernung aller organischer Substanzen. Dazu werden alle Glasteile, falls sie stark verunreinigt sind, zuerst mit Lösemitteln wie Benzin oder Alkohol vorgereinigt, um größere Abscheidungen zu entfernen. Darauf werden sie mit Natronbleichlauge gut ausgespült (alle organischen Reste werden dadurch oxidativ zerstört) und noch mit heißer Chromschwefelsäure nachgereinigt. Um alle Reste der Reinigungsmittel zu entfernen, werden die Teile zuerst mit destilliertem, dann mit bidestilliertem Wasser gut ausgespült.

3.2.2. Versuchsansatz

Bei Versuchsbeginn werden die gesäuberten Glasteile vorsichtig zum Reaktionsgefäß zusammengesetzt und in dieses genau 500 ml bidestilliertes Wasser und 50 ml 25%ige Ammoniaklösung p. A. (entspricht ca. 30 l Ammoniakgas) eingemessen (s. Abb. 6). Das Schliffett (Hochvakuumschliffett, hochviskos) wird so aufgetragen, daß nichts davon ins Innere des Gefäßes gelangen kann, da dies sonst die Ergebnisse beeinträchtigen könnte. Um weiter zu verhindern, daß während des Versuchs



Abb. 6. Ausgangsstoffe Methan, Ammoniaklösung und Wasser für die Synthesen (Photo Verfasser)

Bakterien ins Gefäß gelangen, die durch ihre aminosäurehaltigen Ausscheidungsprodukte ebenfalls den Versuch stören würden, werden dem Ansatz zusätzlich noch 2 Tropfen verdünnte Quecksilber-(II)-chlorid-Lösung beigelegt (das Quecksilber beeinflusst die Enzym-Reaktionen der Bakterien und tötet sie so ab). Jetzt wird das Gefäß verschlossen und mit einer Wasserstrahlpumpe oder einer anderen Vakuumpumpe auf $2 \cdot 10^3$ — $2,6 \cdot 10^3$ Pa (ca. 15—20 Torr) evakuiert. Nun läßt man vorsichtig so viel Methan ins Gefäß strömen, bis in diesem wieder Atmosphärendruck herrscht*). Dieser letzte Vorgang wird ein zweites Mal wiederholt, um sicher sein zu können, daß sich kein störender Luftsauerstoff (oxidierend!) mehr in der Apparatur befindet. Die Versuchsanordnung kann jetzt an die Hochspannungsanlage angeschlossen werden. Zwischen den beiden Elektroden muß nach Anschalten der Hochspannung ein kräftiger Funke überspringen. Hier ist zu beachten, daß der Elek-

trodenabstand nicht zu klein gewählt werden darf, denn während der Synthese wird im Gefäß laufend aus den Ausgangsstoffen der nötige reduzierende Wasserstoff [4, 5], der nicht extra zugegeben wurde, gebildet. Erreicht der H_2 -Druck dabei einen Wert von $6 \cdot 10^{-6}$ at, so ist Kohlenstoff stabil, d. h. es scheidet sich aus der Atmosphäre Kohlenstoff ab [4]. Ist nun der Elektrodenabstand zu klein gewählt, kann sich zwischen den Elektroden so viel Kohlenstoff abscheiden, daß diese davon kurzgeschlossen werden, was zur Zerstörung der Hochspannungsanlage führen kann. Es empfiehlt sich daher, die gesamte Anlage ausreichend mit Feinsicherungen zu versehen.

Ein Großteil des abgeschiedenen Kohlenstoffes verschwindet bereits nach kurzer Zeit wieder (wenn H_2 -Druck größer als 10^{-4} at wird [4]). Um während des Betriebs der Anlage weitreichende Funkstörungen zu vermeiden, ist es angebracht, die Synthesen in einem geerdeten Faradayschen Käfig durchzuführen. Ein solcher Käfig kann leicht selbst aus einem geeigneten Holz- oder Drahtgestell (eventuell auch Abzug), das sorgfältig mit nicht zu dünner Aluminiumfolie (Bratfolie) bespannt wird, gefertigt werden. Bei diesem Reaktionsansatz und der unten beschriebenen Analyse erreicht man durch weitgehende Standardisierung der einzelnen Schritte ein hohes Maß an Genauigkeit.

3.2.3. Versuchsablauf

Die Gesamtversuchsdauer (die Zeit, während der die Atmosphäre im Reaktionsgefäß abgeschlossen von äußeren Einflüssen bleibt) betrug bei allen Versuchen eine Woche (s. Abb. 7). Pro Tag war

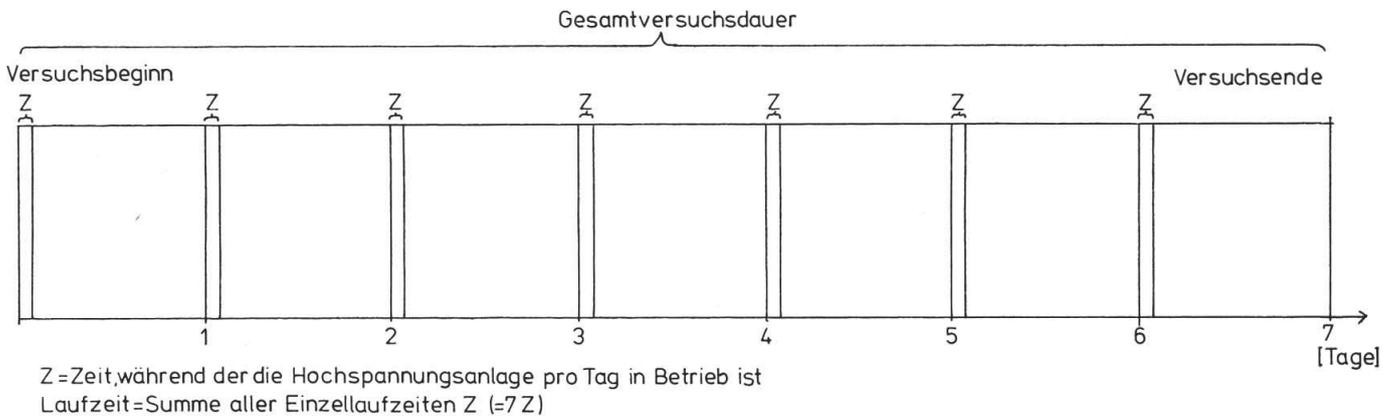


Abb. 7. Flußdiagramm des Versuchsablaufs

*) Überprüfung durch Manometer!

dabei die Hochspannungsanlage 2 bis 3 Stunden in Betrieb (= Laufzeit), je nachdem welche Energiemenge zugeführt werden sollte. Während dieser Zeit schied sich an den Wänden der Reaktionsapparatur etwas Kohlenstoff ab, und die „Ursuppe“ verfärbte sich zunehmend gelb. Nach Beendigung eines Versuches (nach genau einer Woche) wurde die entstandene aminosäurehaltige Lösung in eine sorgfältig gereinigte Flasche gefüllt und bei +4 °C im Kühlschrank bis zur Analyse aufbewahrt.

3.3. Analyse (s. Abb. 8)

3.3.1. Chemische Analyse der entstandenen Substanzen

3.3.1.1. Analyse mit Gruppenreagenzien

Da es leider nicht möglich ist, eine vollständige Analyse der entstandenen Substanzen mit einfachen Mitteln auszuführen, muß man sich darauf beschränken, die wichtigsten Verbindungsgruppen wie z. B. Aldehyde, Aminosäuren, Zucker und andere relativ leicht nachweisbare Stoffe in der Ursuppe zu bestimmen. Nur die Analyse der entstandenen Aminosäuren kann ohne größeren Aufwand qualitativ durchgeführt werden. Um nun herauszufinden, welche Verbindungsgruppen im Reak-

tionsendprodukt einer Synthese vorhanden sind, werden organische Gruppenreagenzien benutzt (Reinheit: für die Analyse).

a) Aminosäuren und eiweißartige Stoffe werden mit der Biuret-Reaktion nachgewiesen. Dazu werden 5 ml der Probe in einem sauberen Reagenzglas mit 2–3 Tropfen einer verdünnten Kupfersulfatlösung versetzt und anschließend 2 ml Kalilauge zugegeben. Eine rot- bis blaugraue Färbung zeigt Peptide und Proteine an. Wenn die Ursuppe stark gelb gefärbt ist, kann man unter Umständen eine grüne Mischfarbe beobachten, die durch Überlagerung der Farben gelb und blau entsteht [5]. Da bei der Biuret-Reaktion der in der Ursuppe enthaltene Ammoniak stören würde, ist es notwendig, daß dieser vorher entweder durch Erwärmen auf ca. 30 °C im Vakuum oder im Trockenschrank bei 100 °C ausgetrieben wird (dabei werden jedoch auch eventuell vorhandene Amine ausgetrieben).

b) Aldehyde können einfach mit fuchsin-schwefliger Säure nachgewiesen werden. Dazu werden 5 ml der Probe mit 3 ml fuchsin-schwefliger Säure versetzt. Eine Rotfärbung, die besonders deutlich beim Erhitzen hervortritt, zeigt Aldehyde an.

c) Nitrile können durch Umsetzen der Probe mit Hydroxylammoniumchlorid (Hydroxylaminhydro-

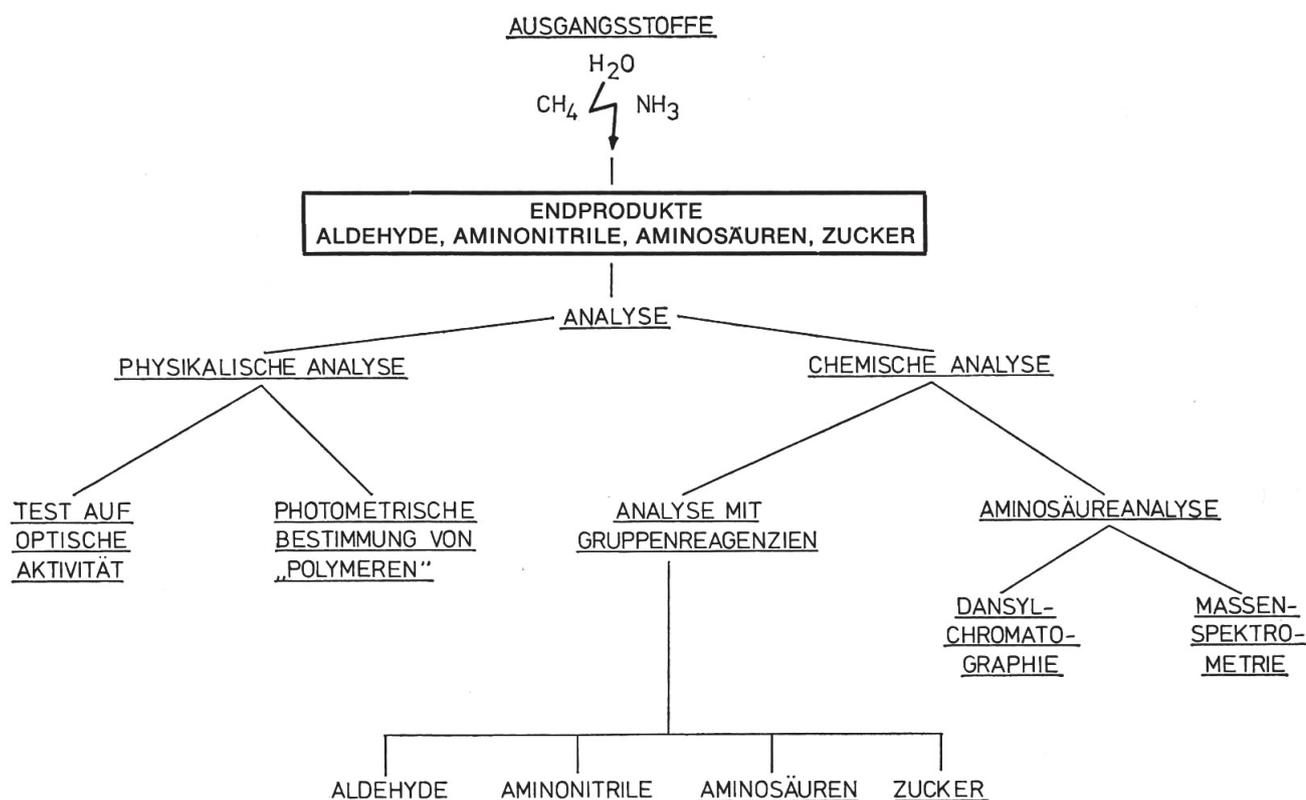


Abb. 8. Flußdiagramm der Analyse der entstandenen Stoffe

chlorid) nachgewiesen werden. Dazu versetzt man 2 ml der Probe mit 1 ml 0,5 M Hydroxylammoniumchloridlösung und 0,2 ml Natronlauge (6 M). Die Mischung wird zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen 4 ml 1 M Salzsäure zugetropft. Nach weiterer Zugabe einer 5%igen wäßrigen Eisen(III)-chloridlösung tritt schließlich eine grünblaue bis violette Farbtonung auf, die Aminonitrile anzeigt [8]. Wenn beim Zufügen der Eisen(III)-chloridlösung Eisenhydroxid ausfallen sollte, so ist die Probe zu wiederholen, wobei man die Salzsäuremenge verdoppelt.

d) Gelöste Blausäure wird mit Reagenzpapieren, die mit einem Gemisch aus gleichen Teilen 1%iger äthanolischer Benzidinlösung und einer 0,3%igen wäßrigen Kupfer(II)-acetatlösung getränkt sind, nachgewiesen. Dazu wird die gelöste Blausäure aus der Probe (10 ml) durch Zufügen von einigen ml konzentrierter Salzsäure ausgetrieben und mit den darübergehaltenen Reagenzpapieren nachgewiesen. Eine Blaufärbung zeigt Blausäure an [9].

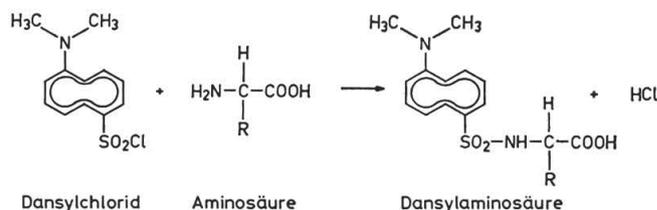
e) Zucker kann man mit einer basischen Lösung von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) nachweisen. Dazu werden vor Gebrauch gleiche Volumina einer 4%igen Triphenyltetrazoliumchloridlösung in Methanol mit 1 M Natronlauge vermischt. Zu 5 ml dieses Reagenz werden 5 ml der Probe zugegeben. Eine Rotfärbung zeigt reduzierende Zucker an.

Ein Nachteil einiger hier aufgeführter Gruppenreagenzien liegt darin, daß diese Reaktionen nicht vollkommen spezifisch sind.

3.3.1.2. Qualitativer Nachweis der entstandenen Aminosäuren

Als äußerst schwierig erwies es sich, die verschiedenen gebildeten Aminosäuren mit der üblichen Methode der Papier-, bzw. Dünnschichtchromatographie eindeutig zu analysieren. Es hat sich bei zahlreichen Versuchen herausgestellt, daß man mit Ninhydrin als Reagenz bei der Chromatographie keine eindeutigen Ergebnisse erzielt. Dies ist einerseits darauf zurückzuführen, daß das Analysengemisch aus zu vielen einzelnen Komponenten besteht, die bei der Chromatographie nicht vollständig getrennt werden, andererseits ist Ninhydrin kein auf Aminosäuren spezifisches Reagenz. So reagiert es mit Ammoniak, der in der Ursuppe im Überschuß vorhanden ist, ebenfalls unter Rotfärbung [10].

Eine bessere Methode zur Identifizierung der Aminosäuren ist das Dansyl-Verfahren. Bei diesem Verfahren werden Aminosäuren nach folgender Reaktionsgleichung mit Dansylchlorid [1-(Dimethylamino)naphthalin-5-sulfonylchlorid] (s. Bezugsquellenverzeichnis) zur Reaktion gebracht [11, 12]:



Die gebildeten Dansyl-Aminosäuren, die unter UV-Licht eine intensiv gelbgrüne Fluoreszenz zeigen, können leicht auf Mikropolyamid-Dünnschichtchromatographie-Folien, die sowohl auf der Vorderseite als auch auf der Rückseite beschichtet sind, getrennt werden (s. Bezugsquellenverzeichnis).

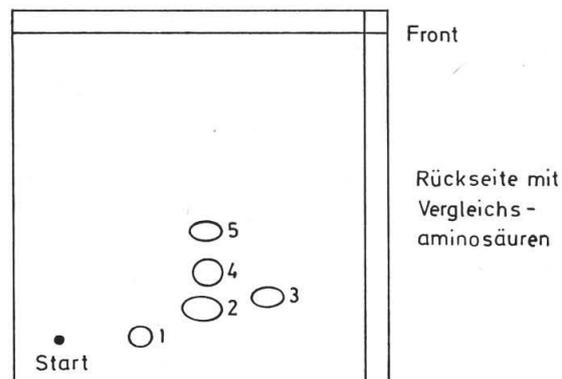
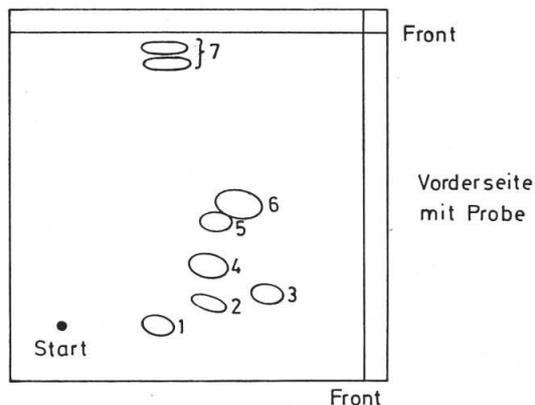
Dansylierung der Aminosäuren [11, 13, 14]:

1. Zur Dansylierung einer Probe wird vorher der Ammoniak nach dem oben beschriebenen Verfahren vollständig ausgetrieben.
2. 2,0 ml der zu dansylierenden Probe werden mit einer Pipette in ein sorgfältig gereinigtes Reagenzglas pipettiert.
3. 0,5 ml einer Pufferlösung (pH 10,05), die 1,6 g Natriumcarbonat (Na_2CO_3) und 0,8 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) auf 200 ml Wasser enthält, werden zugegeben (bindet die bei der Reaktion freiwerdende Salzsäure).
4. 0,6 ml einer heißgesättigten Dansylchloridlösung in Aceton (2,7 mg/ml) werden nun zupipettiert.
5. Das Reagenzglas wird sorgfältig mit Aluminiumfolie verschlossen und der Inhalt durch mehrmaliges Umschwenken gemischt.
6. Jetzt werden die Proben im Wärmeschrank 30 Minuten bei *genau* 37 °C gehalten (am besten im Wasserbad). Dabei ist weiter zu beachten, daß sie während dieser Zeit keinerlei Lichteinwirkung ausgesetzt sein dürfen, denn Licht stört den Ablauf der Reaktion. Wer keinen Wärmeschrank bzw. Trockenschrank zur Verfügung hat, kann sich behelfen, indem er die zu dansylierende Probe in ein nicht zu kleines Becherglas stellt, das mit Wasser von 37—38 °C

gefüllt ist und in einer passenden, gut schließenden Styropor-Schachtel steht. Mit einem Thermometer, welches durch eine geeignete Öffnung im Deckel in das Becherglas eintaucht, wird alle 5 Minuten die Temperatur, die nicht unter 36 °C fallen soll, kontrolliert und gegebenenfalls durch Zugießen von etwas heißem Wasser erhöht.

Chromatographische Trennung der Aminosäuren [11, 13]:

1. Die käuflichen Mikropolyamidfolien der Größe 15×15 cm werden auf die Größe 3×3 cm zurechtgeschnitten. Dabei ist unbedingt zu vermeiden, die Schichten mit den Fingern zu berühren, da diese Aminosäuren auf die Platten abgeben (s. Abb. 10).
2. In eine Ecke der Folie, jeweils mindestens 4 mm vom Rand entfernt, wird mit Hilfe einer Kapillare so viel der dansylierten Probe aufgetragen, daß der Auftragspunkt den Durchmesser von 1 mm nicht überschreitet. Nach dem Eintrocknen der Probe wird dieser Vorgang noch einige Male wiederholt, je nachdem wie groß die Aminosäureausbeute bei der Synthese war*).
3. Der Startfleck wird mit Bleistift markiert.
4. Das Chromatogramm wird jetzt in einem 100-ml-Becherglas möglichst senkrecht aufgestellt (Halterung am besten durch eine geeignet zugebogene Klammer), ohne den Rand des Glases zu berühren (Verhinderung eines kapillaren Randeffekts). Im Becherglas befindet sich maximal 2 mm hoch das Laufmittel für die erste Dimension, das aus einem Gemisch aus 1,5 Volumenteilen Ameisensäure und 100 Volumenteilen Wasser besteht. Um eine Verdunstung des Lösemittels zu verhindern (wichtig vor allem beim Laufmittel der 2. Dimension) wird das Becherglas mit einer Glasplatte verschlossen. Nach ungefähr 3 Minuten kann das Chromatogramm aus dem Fließmittel genommen und mit einem Fön oder im Trockenschrank bei ca. 40 bis 50 °C getrocknet werden.
5. Das Chromatogramm wird um 90° gedreht und in ein Becherglas mit dem Fließmittel für die 2. Dimension gestellt, das sich aus 9 Volumen-



- 1=Dans-OH (Nebenprodukt bei der Dansylierung)
 2= Glutaminsäure; 3= Threonin;
 4= Glycin; 5= Alanin; (7= Amine?)
 6= Dans-NH₂

Abb. 9. Dansyl-Chromatogramm (Vorder- und Rückseite) mit den erhaltenen Aminosäuren (Maßstab 2 : 1)

teilen Benzol und 1 Volumenteil Eisessig zusammensetzt. Nach ungefähr 5 Minuten kann das Chromatogramm herausgenommen und getrocknet werden.

6. Jetzt kann das Chromatogramm unter UV-Licht (254 bzw. 366 nm) ausgewertet werden.

Abb. 9 zeigt die Lage der gefundenen Aminosäuren (in [11], Seite 308, ist die Lage aller wichtigen Dansyl-Aminosäuren angegeben). Auf der Rückseite des Chromatogramms können dansylierte Vergleichsaminosäuren aufgetragen werden. Es ist dabei zu beachten, daß der Auftragspunkt auf der Rückseite genau über dem auf der Vorderseite liegt. Stimmt nach dem Entwickeln des Chromatogramms dann die Lage eines Aminosäureflecks auf der Vorderseite mit einem auf der Rückseite überein, so kann man im allgemeinen davon ausgehen, daß es sich hier um dieselbe Substanz handelt.

* Die geeignete Menge muß durch Probieren ermittelt werden.

10 : 1/v : v) gemessen werden. Da sich die Ursuppe während des Versuches gelb färbt, was auf die Bildung peptidähnlicher Stoffe zurückzuführen ist [5, 16], wird am besten bei ca. 490 nm (im blauen Bereich, Komplementärfarbe zu gelb) gemessen. Die bei diesen Messungen erhaltenen Ergebnisse können dann in Abhängigkeit von der Laufzeit (s. 3.2.3.) graphisch dargestellt werden.

Die Ergebnisse zeigten, daß die Transmission (Lichtdurchlässigkeit) der entnommenen Proben bis zu der Laufzeit von 6—8 Stunden ab- und die Extinktion zunimmt. Auffallenderweise nimmt aber dann die Konzentration dieser gelbgefärbten Substanzen wieder ab. Nach S. L. Miller [4] ist die Gelbfärbung des Reaktionsgemisches auf die Bildung von peptidähnlichen Substanzen („Polymere“) zurückzuführen. Für die Messung bedeutet dies aber, daß sich anfangs Polymere in zunehmender Konzentration gebildet haben, die darauf entweder mit anderen gebildeten Stoffen zu farblosen Substanzen reagierten und sich so der photometrischen Messung entzogen, oder aber sich wieder zersetzten (eventuell durch Verschieben von Gleichgewichten in der „Uratmosphäre“). Eine genauere Untersuchung dieser „Polymerbildung“ wurde bis jetzt aus Zeitgründen nicht vorgenommen. Diese Problematik eignet sich aber gut als Kollegiatenthema (Anhang II, 7).

3.3.2.2. Test auf optische Aktivität

Aminosäuren und Zucker können die Schwingungsebene des polarisierten Lichtes um einen bestimmten Winkel drehen. Stoffe mit dieser Eigenschaft heißen optisch aktiv. Verantwortlich dafür ist das besondere Ladungssystem des sp^3 -Hybrids eines Kohlenstoffatoms im Molekül, das man, wenn es mit vier verschiedenen Liganden verknüpft ist, ein asymmetrisches Kohlenstoffatom (C^*) nennt (jedoch ist das asymmetrische Kohlenstoffatom für die optische Aktivität eine hinreichende, aber keine notwendige Bedingung).

Bringt man zwischen zwei senkrecht zueinander stehende Linearpolarisations-Filter (Polarisator, Analysator), die von einer geeigneten Lichtquelle bestrahlt werden und durch die kein Licht auf einen dahinter aufgestellten Schirm fallen darf, eine optisch aktive Substanz, so tritt jetzt eine Aufhellung auf dem Beobachtungsschirm auf.

Der Winkel, um den man den Analysator aus seiner senkrechten Lage zum Polarisator verdrehen

muß, ist substanz- und konzentrationscharakteristisch und wird als Drehwinkel α bezeichnet.

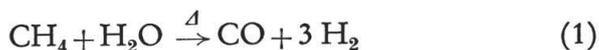
Zur Bestimmung, besonders von kleinen Drehwinkeln, ist die Verwendung eines He-Ne-Lasers als Lichtquelle, wie er fast in jeder Physiksammlung vorhanden ist, vorteilhaft [17, 18], da sich diese Lichtquelle durch seine Kohärenz, seine Monochromasie und der Strahlungsintensität für solche Messungen hervorragend eignet. Vorteilhaft sind diese Eigenschaften auch für Demonstrationen vor großem Auditorium (z. B. Kollegiatenreferat), da man den Strahl einfach auf die Wand (in mäßig verdunkeltem Raum) anstelle des Beobachtungsschirmes fallen lassen kann.

Vor jeder Messung der optischen Aktivität ist es notwendig, eine möglichst große Menge der Ursuppe (ca. 0,5 l) im Trockenschrank bei 110 bis 120 °C oder im Exsikkator über Schwefelsäure auf ca. 30 ml (= Inhalt einer Küvette mit $l=1$ dm) einzuengen, um eine möglichst konzentrierte Lösung der optisch aktiven Substanzen zu bekommen. Es empfiehlt sich außerdem, die Lösung vor dem Einfüllen ins Polarimeter zu filtrieren, um unlösliche Verunreinigungen zu entfernen. Ergebnis der Messungen war, daß die gebildeten Substanzen keine (meßbare) optische Aktivität zeigten. Da in der Lösung aber optisch aktive Aminosäuren sicher vorhanden sind, bedeutet dies, daß diese in racemischen Gemischen vorliegen müssen und bei der Synthese L(+)- und D(-)-, bzw. L(-)- und D(+)-Aminosäuren gleichberechtigt entstanden. Damit ist aber auch ausgeschlossen, daß die nachgewiesenen Aminosäuren auf Bakterientätigkeit zurückzuführen sind, die aminosäurehaltige Abscheidungsprodukte in die Ursuppe hätten bringen können, denn es haben zahlreiche Untersuchungen ergeben [19], daß alle Aminosäuren, auf denen sich Leben aufbaut, L-Konfiguration besitzen. Wären nun die Aminosäuren durch Bakterien in die Analysenlösung gelangt, so müßte diese optische Aktivität zeigen, während bei Synthesen rechts- bzw. linksdrehende Aminosäuren gleichberechtigt entstehen und diese somit keine Drehung des polarisierten Lichtes zeigen dürfen. Jedoch ist dabei zu beachten, daß, besonders wenn der Versuchsansatz nicht sorgfältig genug durchgeführt wurde, die Aminosäurenbildung verzögert werden kann und die Konzentration der optisch aktiven Substanzen dann für die Messung zu klein sein könnte. (Kontrollreaktion!).

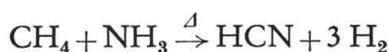
4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse mit Gruppenreagenzien

Bei der Analyse mit den Gruppenreagenzien gewinnt man einen Überblick über die entstandenen Verbindungsklassen. Es konnten auf diese Weise im Reaktionsendprodukt Aldehyde, Nitrile, Blausäure und Aminosäuren, aber nur relativ wenig Zucker nachgewiesen werden. Dabei fiel auf, daß je nach Laufzeit diese Stoffe, die sicherlich Zwischenprodukte der Aminosäuresynthese sind, in unterschiedlichen Konzentrationen vorlagen. Aufgabe von Kollegiaten könnte es nun sein, aufgrund der unterschiedlichen Konzentration dieser Zwischenprodukte zu einer bestimmten Laufzeit, Rückschlüsse auf eventuelle Reaktionsmechanismen, die zur Bildung von Aminosäuren führen, zu machen. Es könnte so ein vollständiges Schema der einzelnen Reaktionsschritte ausgearbeitet werden. In der Fachliteratur [3, 4] wird als Vorschlag für die Aminosäurebildung die „Strecker-Synthese“ aufgeführt, die ausgehend von Aldehyden, Ammoniak und Blausäure über Aminonitrile zu Aminosäuren führt. Aldehyde entstehen relativ leicht aus Methan und Wasser (beides Ausgangsstoffe für die Synthese) beim Zufügen von Energie nach folgender Gleichung [4]:



Blausäure kann entsprechend aus Methan und Ammoniak nach folgender Gleichung gebildet werden [4]:



(Jedoch reichert sich die Blausäure nur relativ langsam an, da zur Bildung eines Moles Cyanwasserstoff 100 kcal Energie nötig sind.)

Somit können alle Edukte für die Strecker-Synthese leicht aus den Ausgangsstoffen Methan, Ammoniak und Wasser gebildet werden. Da darüberhinaus Zwischenprodukte der Strecker-Synthese mit den Gruppenreagenzien nachgewiesen werden können, erscheint es als ziemlich sicher, daß die Aminosäuresynthese in der beschriebenen Apparatur nach der Strecker-Synthese abläuft.

4.2. Ergebnisse der Aminosäurenanalyse

Die gebildeten Aminosäuren wurden mit der Dansyl-Methode und massenspektrometrisch bestimmt. Dabei konnten eindeutig Alanin, Glycin, Threonin und Glutaminsäure nachgewiesen werden (s. Abb. 9, 10). Bei der massenspektrometrischen Analyse wurden „Peaks“ bei den Molekülmassen 192 (= PTH-Glutaminsäure) festgestellt. Somit wurden mit beiden Methoden dieselben Ergebnisse erzielt. Serin und α -Aminobuttersäure konnten nicht eindeutig analysiert werden, aber Anzeichen deuteten auf ihr Vorhandensein in der Analysenlösung hin.

4.3. Ergebnis einer Versuchsreihe mit Aluminium als Katalysator

In einer abschließenden Versuchsreihe wurde der Einfluß von Aluminiumoxid (reinst) auf die Aminosäurebildung untersucht (Aluminiumoxid soll auf der „Uerde“ an der Oberfläche vorgekommen sein und könnte Reaktionen katalysiert haben). Dazu wurde dem herkömmlichen Reaktionsansatz (s. 3.2.2.) zusätzlich noch so viel Aluminiumoxid, das vorher auf Aminosäuren geprüft wurde, zugegeben, bis die Flüssigkeit im Reaktionsgefäß vollständig von diesem aufgesogen war (dicker Brei). Nach Beendigung des Versuches wurden die gebildeten Substanzen durch Extraktion in einem

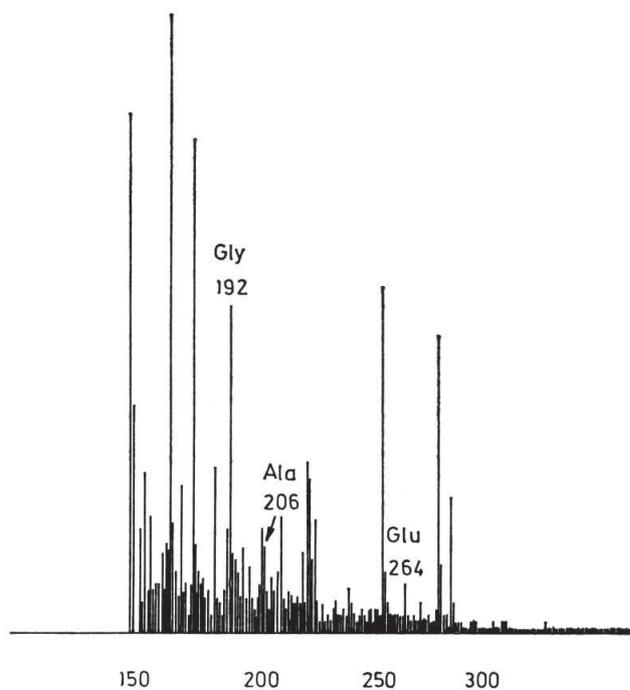


Abb. 12. Massenspektrum (Aluminiumoxid als „Katalysator“) mit den gefundenen Aminosäuren (freundlicherweise von Dr. W. Schäfer, MPI für Biochemie, aufgenommen)

Soxhlet-Extraktor vom Aluminiumoxid getrennt (Lösemittel: Wasser oder Methanol) und anschließend die erhaltene Lösung auf ca. 10 ml eingengt. Die massenspektrometrische Untersuchung (s. Abb. 12) zeigte, daß sich bei diesem Versuch auch wieder Aminosäuren gebildet haben, jedoch in geringerer Konzentration als bei den anderen Experimenten. Bei diesen Versuchen muß auf besonders sorgfältige Durchführung von Kontrollreaktionen geachtet werden, da man mit dem Aluminiumoxid relativ viele Verunreinigungen in die Apparatur bringt. So muß man *jedesmal*, bevor man in der „Ursuppe“ etwaig gebildete Stoffe nachweisen will, prüfen, ob diese Substanzen nicht als Verunreinigung des Aluminiumoxids in die Analysenlösung gelangt sind. Dazu empfiehlt es sich, mit dem verwendeten Aluminiumoxid genauso zu verfahren, wie es oben zur Gewinnung der Analysenlösung nach dem Versuch beschrieben ist (Extraktion im Soxhlet-Extraktor). Auf die gleiche Weise kann der Einfluß von anderen „Katalysatoren“ auf die Aminosäurebildung untersucht werden (siehe Anhang II).

5. Ausblick

Trotz der in der letzten Zeit immer wieder gemachten Abstriche des wissenschaftlichen Anspruchs der Kollegstufe legen wir diese Arbeit vor. Denn wir sind der Meinung, daß nur das fortwährende *selbständige* Durchlaufen von Forschungsellipsen den wahren Wert der Kollegstufe in unserem bisher ausschließlich an Notenkommastellen orientierten Bildungssystem darstellt. Die Facharbeit darf nicht schon in der Durchführung zu einer rein reproduzierenden Leistung werden (etwa wie „Literaturchemie“). Sie soll vielmehr den Fähigkeiten des Schülers der reformierten Oberstufe gerecht werden. Erst dann erhält der Begriff „Kollegiat“ seinen tieferen Sinn.

Mit der eigenständigen Auseinandersetzung mit Problemen unter Zuhilfenahme einfacher und überschaubarer Mittel, die sich aber nicht am „Chemiekastenniveau“ orientieren, soll der Schüler die Studierfähigkeit erwerben. Dies ist mit einer „basic chemistry“, wie sie bisweilen schon wieder gefordert wird, nicht zu erreichen. Unbedingte Voraussetzung für eine Facharbeit ist noch immer die experimentelle Grundlage, weshalb wir im Anhang II einige Themen für mögliche Facharbeiten zusammengestellt haben. Diese können an Zweier- oder Dreiergruppen vergeben werden und erfordern keinen allzu großen finanziellen Aufwand. Unsere bisherige Erfahrung beweist reges Interesse der Schüler an diesen aktuellen wissenschaftlichen Fragen, die durch neue Theorien, wie etwa der Selbstorganisation der Materie oder der Evolution von Cytochromen, von Hämoglobin oder von Kollagen [20], ergänzt werden können. Möge diese Arbeit dazu beitragen, die meist reine „Kreidebiochemie“ auflockern zu helfen.

Unser herzlicher Dank gilt Herrn Privat-Dozent Dr. W. Schäfer am Max-Planck-Institut für Biochemie in München, Herrn Dr. Greull am biochemischen Institut der Universität München, Herrn Armin Wagner in Marburg und Herrn Alphons Fakler in Traunstein, der Firma CORNING GLAS GMBH Wiesbaden, der Firma EPPENDORF GERÄTEBAU Hamburg, der Firma W. C. HERAEUS GMBH Hanau, der Firma LEYBOLD-HERAEUS München, der Firma AEG-TELEFUNKEN Ulm, der Firma KRÜSS Hamburg, der Firma PHYWE AG Göttingen, der Firma WOLFRAMINDUSTRIE Traunstein, der Firma AMERSHAM BUCHLER Braunschweig und der Firma SERAL E. ALLHÄUSER GMBH Ransbach für ihre freundliche Unterstützung.

Anhang I: Bezugsquellenverzeichnis

1. Reaktionsgefäß:

CORNING GLAS GMBH, Quickfit Laborglas, Hüttenstr. 8, Wiesbaden-Schierstein

Genaue Bezeichnung der Einzelteile

- a) Weithals-Reaktionskolben 2 l mit Planschliff
- b) Planschliffdeckel mit 5 NS-Hülsen (3 Hülsen mit NS 19/26, 1 Hülse NS 24/29 und eine Hülse NS 34/35)
- c) Klemme (zur Befestigung des Deckels auf dem Kolben)
- d) NS-Stopfen, Kern NS 34/35
- e) Schliffverbindungen mit Schraubkappe, Kern NS 19/26, 6 mm Schraubkappenweite (3 Stück)
- f) Schliffverbindung mit Schraubkappe, Kern NS 24/29, 6 mm Schraubkappenweite
- g) Hochvakuumhahn, 6 mm Rohrdurchmesser

Preis der gesamten Glasapparatur: ca. 280 DM

2. Wolframelektroden:

WOLFRAMINDUSTRIE Traunstein, Permanederstr. 34, Traunstein
2 Stäbe 300×6 mm

3. NTC (temperaturabhängiger Widerstand):

SIEMENS AG, Balanstr. 73, München 80
Typ: K 15 K 500-M, Lagernummer 72 071,
Preis ca. 2 DM

4. Poly-Gießharz:

In Farbengeschäften und Heimwerkerzentralen (Poly-Gießharz, glasklar mit Härter)

5. Dansylchlorid:

ALDRICH EUROPE, Leopoldstr. 16, Düsseldorf 32;
Firma MERCK Darmstadt
Preis ca. 30 DM/g

6. Mikropolyamidfolien:

Mikropolyamidfolien, beidseitig beschichtet,
15×15 cm

Firma SCHLEICHER & SCHÜLL GMBH, Postfach 4,
Dassel

Preis ca. 50 DM/10 Folien

Anhang II: Kollegienthemen

1. Versuch, radioaktive Isotope (C-14) bei der Analyse der entstandenen Stoffe anzuwenden [21, 22].
2. Untersuchung über die Einwirkung ionisierender Strahlung (radioaktive Schulpräparate; gut geeignet Eingußpräparate) auf das Reaktionsgemisch.
3. Verwendung von UV-, bzw. IR-Strahlung als Energiequelle für die Synthesen.
4. Versuch, Laserlicht als Energiequelle für die Synthesen anzuwenden.
5. Abänderung der Ausgangsstoffe für die Synthesen (z. B. Zugabe von SO₂, CO₂ in die imitierte Uratmosphäre) und anschließende Analyse der entstandenen Stoffe (z. B. Prüfung auf schwefelhaltige Aminosäuren).
6. Spektroskopische und kolorimetrische Untersuchung auf Metallverunreinigungen in der Ursuppe (z. B. von den Elektroden gelöstes Wolfram oder Quecksilber), die eventuell die Bildung von bestimmten Stoffen katalytisch fördern.
7. Photometrische Untersuchungen der gelbgefärbten peptidähnlichen Verbindungen [3, 16] in der Ursuppe (eventuell auf Konzentration).
8. Zugabe von bestimmten Katalysatoren, die, wie man annimmt, auf der Urerde an der Oberfläche vorhanden waren (z. B. Aluminiumoxid, Calciumoxid) zum Reaktionsgemisch und anschließende Analyse der entstandenen Stoffe.
9. Versuch, eine noch einfachere Apparatur zur Synthese von Aminosäuren in einer imitierten Planetenuratmosphäre zu entwickeln mit anschließender Überprüfung auf die Einsatzfähigkeit in Schulen.
10. Untersuchungen über die optische Aktivität der entstandenen Aminosäuren und Zucker.
11. Versuche in schwach oxidierender Atmosphäre.

Weitere Anregungen können noch aus der Literatur [23] und [24] entnommen werden.

Literatur

- [1] *Hans Dominik*, Lebensstrahlen. Heyne-Taschenbuch
- [2] *Reinhard Federman*, Die königliche Kunst. Paul Neff Verlag, Wien 1964
- [3] *Reinhard W. Kaplan*, Der Ursprung des Lebens. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972
- [4] *Stanley L. Miller and Leslie E. Orgel*, The Origins of Life on the Earth. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey 1974
- [5] *Stanley L. Miller*, Production of Some Organic Compounds under Possible Primitive Earth Conditions. Journal of the American Chemical Society 9, 2351 to 2361 (1955)
- [6] *Uwe Körner*, Probleme der Biogenese. VEB Gustav Fischer, Jena
- [7] *Hoimar v. Ditfurth*, Im Anfang war der Wasserstoff. Hoffmann und Campe Verlag, Hamburg
- [8] Autorenkollektiv, Organikum. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1975
- [9] *Souci*, Ausführung qualitativer Analysen. Verlag von J. F. Bergmann, 8. Aufl. 1966
- [10] Privatmitteilung von Dr. Greull (Universität München)
- [11] *N. N. Osborne*, The Analysis of Amines and Amino Acids in Micro-Quantities of Tissue, Progress in Neurobiology Vol 1 (1973) S. 299—309
- [12] *Römpp Chemie Lexikon* (1973) unter Aminosäuren, DANS-Aminosäuren, DANS-Chlorid, DANS-Methode
- [13] Privatmitteilung von *Armin Wagner*, Marburg (Jugend-forscht Arbeit 1975)
- [14] *D. J. Neadle, R. J. Pollitt*, Biochem. J. (1965), Seite 607
- [15] *V. Neubhoff u. a.*, Hoppe-Seyler's Zeitschrift Physiol. Chemie 350, 121 (1969)
- [16] *H. Molzer*, PRAXIS (Chemie) 25 (1976), S. 334 bis 335
- [17] *R. Schwankner*, PRAXIS (Chemie) 25 (1976), S. 243—250
- [18] *R. Schwankner* in: *Brauner/Bukatsch*, Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum. 9. überarbeitete Auflage, Fischer Verlag Jena und Stuttgart 1977
- [19] *F. Vester*, Asymmetrie. Bild der Wissenschaft 12, 68 (1974)
- [20] *U. Hayduk*, Beiträge zur Evolution des Kollagens. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München 1969
- [21] *R. Schwankner*, Ausgewählte Geräte, Versuche und Methoden zur Demonstration radiochemischer Experimente in der reformierten Oberstufe. PRAXIS (Chemie) 26, 57 und 85 (1977)
- [22] *B. Heinrich*, Radiochemische Demonstrationsversuche (PRAXIS-Schriftenreihe Chemie, Band 18). Aulis Verlag Deubner & Co, Köln 1968
- [23] „Evolution“, Naturwissenschaftliche Rundschau 11 (1974) S. 433—447
- [24] *J. F. Cordes*, Chemie und ihre Grenzgebiete — Extraterrestrisches Leben?, Bibliographisches Institut, Mannheim/Wien/Zürich 1970, S. 145—165