

**EMERGENTE STRUKTURIERUNG DURCH
GETRIEBENE, CHEMISCHE REAKTIONEN IN
KOMPLEXEN, SELBSTORGANISIERTEN GEMISCHEN**

DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES GRADES DER
DOKTORIN DER NATURWISSENSCHAFTEN
DER NATURWISSENSCHAFTLICH-TECHNISCHEN FAKULTÄT II
- PHYSIK UND MECHATRONIK -
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

von

Dipl. Phys. Eva Wollrab

SAARBRÜCKEN

2013

TAG DES KOLLOQUIUMS: 07.05.2014

DEKAN: Univ-Prof. Dr. Christian Wagner

MITGLIEDER DES PRÜFUNGS AUSSCHUSSES:

Univ-Prof. Dr. Ralf Seemann

Univ-Prof. Dr. Albrecht Ott

Univ-Prof. Dr. Karsten Kruse

Univ-Prof. Dr. Ulrich Gerland

Zusammenfassung

Das Prinzip der Musterbildung ist aus nichtlinearen und dissipativen Systemen, die in der Physik ausführlich behandelt wurden (z.B. Laser), bekannt. Es ist unklar, unter welchen Bedingungen in einem organischen, chemischen System spontan eine Strukturbildung einsetzt. Diese Frage ist fundamental für das Verständnis der Entstehung des Lebens auf der Erde.

In dieser Arbeit wurden verschiedene komplexe, chemische Mischungen untersucht. Sie entstanden unkontrolliert aus einfachen organischen Verbindungen. Die zeitliche Entwicklung der getriebenen Gemische wurde mittels Massenspektrometrie kontinuierlich verfolgt. Es wurde reproduzierbar eine spontane, aperiodische Oszillation mehrerer oligomerer Spezies beobachtet. Die Oligomere tauchten mehrfach innerhalb von Sekunden auf und blieben einige Sekunden oder Minuten in den Massenspektren sichtbar, bevor sie verschwanden. Die Gesamtheit der Ergebnisse spricht für eine auto- oder kreuzkatalytische Bildung der Oligomere.

Der hier vorgestellte Reaktor erzeugt zufällig neue Moleküle und legt auf diese Weise selbstständig neue Reaktionswege fest. In einem Laser relaxiert ein angeregter Zustand in einer selbstreproduzierenden optischen Mode. Analog relaxieren in dem Reaktor angeregte Zustände durch spontane Ausbrüche autokatalytischer, chemischer Moden.

Das selbstreproduzierende Verhalten ist in der organischen Chemie offenbar bereits eingebaut. Es führt unter verschiedenen Bedingungen zur Bildung autokatalytischer, dynamischer Oligomere.

Summary

Pattern formation is well-known from non-linear, dissipative systems (e.g. lasers) and was intensively studied in physics. However, the conditions needed for structure formation in an organic, chemical system are not known. This question is fundamental for the understanding of the origin of life on Earth.

In this thesis many complex, chemical mixtures were analysed. They evolved unregulated from simple, organic compounds. We continuously monitored the temporal development of the mixture by mass spectrometry.

We observed the spontaneous, aperiodic oscillation of several oligomeric species. The oligomers appeared repeatedly within seconds, stayed for minutes until they disappeared. The observations can be explained by auto- or cross-catalytic chemical reaction mechanisms.

The presented reactor produces randomly new molecules. It redefines autonomously possible reaction pathways. In a laser, an excited state relaxes through a self-reproducing optical mode. In analogy, in the reactor the excited states relax through spontaneous bursts of autocatalytic, chemical modes.

This self-reproducing behaviour is obviously built into the rules of organic chemistry. It delivers autocatalytic, dynamic oligomers under various conditions.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Grundlagen	5
2.1	Reaktionskinetik	5
2.1.1	Reaktionsablauf	5
2.1.2	Katalyse	6
2.1.3	Reaktionsordnungen	7
2.1.4	Rück-, Parallel- und Folgereaktion	9
2.2	Musterbildung	10
2.2.1	Nichtlineare Dynamik	10
2.2.2	Modenselektion	11
2.2.3	Chemische Oszillationen	12
2.2.4	Evolutionäre Systeme	13
2.3	Chemische Netzwerke	16
2.3.1	Netzwerkcharakteristika	16
2.3.2	Zufällige Netzwerke	16
2.3.3	Evolution in Netzwerken	17
2.4	Präbiotische Evolution	17
2.4.1	Bedingungen auf der Urerde	18
2.4.2	Miller-Urey-Experiment	19
2.4.3	Experimente zur präbiotischen Evolution	21
2.4.4	Informationsspeicher in einem präbiotischen Gemisch	24
3	Methoden	27
3.1	Experimentelle Aufbauten	27
3.1.1	Miller-Experimente	27
3.1.2	Elektrolyse und Redoxgradient	29
3.2	Probenentnahme	30
3.2.1	Probenentnahme (diskret)	31
3.2.2	Probenentnahme (kontinuierlich)	33
3.2.3	Trocknung der Proben	34
3.3	Analyse der Proben	35
3.3.1	Massenspektrometrie	35
3.3.2	Kernspinresonanzspektroskopie	43
3.4	Größenausschluss-Chromatographie	46

4	Experimentelle Ergebnisse	47
4.1	Elektrolyse von Gemischen organischer Säuren	47
4.1.1	Aminosäuremischung	47
4.1.2	Citronensäurelösung	49
4.1.3	Zusammenfassung	54
4.2	Maillard-Reaktion	54
4.3	Formose-Reaktion	55
4.4	Cyanidgemische	57
4.5	Cyanid-Formaldehyd-Mischungen	59
4.5.1	Reaktion von Formaldehyd mit dem Cyanidgemisch	59
4.5.2	Kontinuierliche Mischung von Formaldehyd und dem Cyanidgemisch	62
4.5.3	Zusammenfassung der Reaktionen des Formaldehyds und des Cyanidgemisches	73
4.5.4	Analyse der chemischen Netzwerke	74
4.5.5	Cyanid-Formaldehyd-Mischung unter Kohlenstoffdioxidatmosphäre	77
4.6	Miller-Experiment	79
4.6.1	Entwicklung des pH-Werts	88
4.6.2	Blitzen auf das Gemisch	88
4.6.3	Kapillaritron	90
4.6.4	Hochauflösende Massenspektrometrie am Miller-Gemisch	93
4.6.5	Versuche mit schwerem Wasser	102
4.6.6	Zusatz von möglichen Monomeren	104
4.6.7	Zusatz von Palladium	110
4.6.8	Dotierung	111
4.6.9	Redoxgradient	116
4.6.10	Thermisches Zirkulieren	118
4.6.11	IR-Spektroskopie	119
4.6.12	Hochauflösende Massenspektrometrie der Oligomere	120
4.6.13	Stabilität der Oligomere	125
4.6.14	Langzeitmessung von PEG	125
4.6.15	Massendefekt	126
4.6.16	Auflösung des Q-Tof	126
4.6.17	NMR-Spektroskopie	130
4.6.18	Zusammenfassung	133
5	Diskussion	135
5.1	Elektrolyse	135
5.2	Maillard- und Formose-Reaktion	136
5.3	Cyanid-Formaldehyd-Gemische	137
5.4	Miller-Experiment	138
5.4.1	Chemische Zusammensetzung	138
5.4.2	Energiezufuhr	142
5.4.3	Chemische Oszillationen der Oligomere	143
5.5	Vergleich der Experimente	153
5.6	Ausblick	154

5.7	Zusammenfassung	158
6	Zusammenfassung	159
A	Anhang	161
A.1	Abschätzung der Diffusionsverbreitung des Messsignals bei der kontinuierlichen Massenspektrometrie	161
A.2	Dynamischer Bereich des Massenspektrometers	162
A.3	Elektrolyse von Gemischen organischer Säuren	163
A.3.1	Elektrolyse einer Citronensäurelösung mit Fe und FeCl ₃	163
A.4	Cyanid-Formaldehyd-Mischungen	165
A.4.1	Netzwerke mit positiver Korrelation	165
A.4.2	Netzwerke mit negativer Korrelation	166
A.5	Miller-Experiment	168
A.5.1	Blitzen auf das Gemisch	174
A.5.2	Hochauflösende Massenspektrometrie am Miller-Gemisch	176
A.5.3	Zusatz von Palladium	180
A.5.4	Dotierung	181
A.5.5	Hochauflösende Massenspektrometrie der Oligomere	182
A.5.6	NMR-Spektroskopie	183
	 Literaturverzeichnis	 189

1 | Einleitung

Biologische Organismen sind hochgradig organisierte, chemische Systeme. Sie können sich selbst reproduzieren und sind ungleich komplexer als synthetisch herstellbare Systeme. Die Prozesse, die zu der Entstehung der ersten Organismen geführt haben, sind nicht bekannt.

Erste Lebensformen entstanden auf der Urerde vor 4 Milliarden Jahren innerhalb von etwa 100 Millionen Jahren. Nach heutigem Wissensstand lag auf der frühen Erde ein komplexes Gemisch organischer und anorganischer Substanzen in allen Aggregatzuständen vor, das mit zahlreichen Formen von Energie (z.B. elektrische Entladungen durch Blitze, Licht und Hitze durch Sonneneinstrahlung und hydrothermale Quellen - *black smokers*) versorgt wurde.

Es wurden viele Erkenntnisse zu den Bedingungen auf der präbiotischen Erde gewonnen und darauf aufbauend sind viele Reaktionswege vorgeschlagen worden, welche die Bildung wichtiger Biomoleküle erklären.

Bereits in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts zeigten Stanley Miller und Harold Urey, dass Biomoleküle unter präbiotischen Bedingungen entstehen können. In ihrem Experiment kochten sie Wasser in einer möglichen präbiotischen Atmosphäre mit elektrischen Entladungen. Bereits nach wenigen Tagen war eine komplexe Mischung organischer Substanzen entstanden, unter ihnen auch Aminosäuren. Sie sind die Bausteine der Proteine und haben daher in allen lebenden Organismen eine zentrale Bedeutung.

In den folgenden Jahrzehnten wurden in Experimenten Zucker und Nukleobasen (die Bausteine des Erbguts, der RNA und DNA), Lipide (Bausteine der Zellmembran) und weitere zentrale Biomoleküle unter präbiotischen Bedingungen synthetisiert. Es gilt als sicher, dass die Moleküle, aus denen heutige Lebewesen aufgebaut sind, auf der Urerde entstehen konnten. Ungelöst bleibt jedoch, wie sich in dieser „Ursuppe“ die molekularen Bausteine des Lebens so organisieren konnten, dass sich Einheiten ausbildeten, die sich selbst erhielten und vermehrten und die zu dem führten, was wir als Leben bezeichnen.

Selbstorganisierte Strukturbildung ist aus vielen Bereichen der Natur bekannt: Luftströme erzeugen Wolkenmuster, in einem Laser führen quantenmechanische Selektionsprozesse zur Emission von Licht einer Wellenlänge, und in chemischen Mischungen können sich Muster bunter Wellenfronten bilden. Diese Phänomene wurden intensiv studiert und können weitgehend analytisch erfasst werden. Sie bedürfen nichtlinearer Wechselwirkungen, die sich durch eine Energiequelle treiben lassen. In der Sprache der nichtlinearen Dynamik bilden sich „Moden“, gekoppelte Interaktionen, aus, die Energie aufnehmen. Einige Moden verstärken sich, während andere aussterben. Auf langen Zeitskalen dominiert eine Mode (z.B. die Emissionswellenlänge eines Lasers) das System, das sich nun durch wenige

Parameter beschreiben lässt.

Ein komplexes chemisches Gemisch beinhaltet viele und vielfältige Substanzen. Dadurch werden zahlreiche Reaktionen möglich und das Gemisch entzieht sich *a priori* der Vorhersage durch wenige chemische Formeln. Die Komplexität des Gemisches lässt sich nicht kardinal messen, da es dazu der chemischen Strukturformeln aller beteiligter Substanzen bedürfte.

Hier werden komplexe Mischungen mit Energie versorgt. Nichtlinearitäten, geringe Energiebarrieren und flexible chemische Strukturen erlauben es dem Gemisch, stochastisch verschiedene Reaktionswege einzuschlagen. Es organisiert selbstständig seine Zusammensetzung und redefiniert damit die möglichen Reaktionswege. Ziel dieser Arbeit ist es, ein komplexes, chemisches Gemisch so zu konfigurieren, dass es eigenständig eine Struktur- bildung hervorbringt.

Der hier verfolgte Ansatz hat explorativen Charakter. In der Literatur existieren wenige Analysen der Dynamik komplexer Gemische. Eine spontane Musterbildung in einem rein organischen, selbstorganisierten System wurde in der Literatur nach dem Wissen der Autorin bisher nicht beschrieben.

In Experimenten wurden in dieser Arbeit komplexe Mischungen organischer Moleküle synthetisiert und mit verschiedenen Formen von Energie (z. B. Wärme, reaktive Substanzen) versorgt. Oft erfolgte die Anregung periodisch, um die Herausbildung eines zyklischen Reaktionsweges zu fördern. Chemische Zyklen werden als frühe Elemente präbiotischer Evolution erachtet und könnten sich zu selbstreproduzierenden Einheiten entwickeln. Die zeitliche Entwicklung der Gemische wurde anhand von Massenspektrometrie verfolgt.

Komplexe organische Gemische konnten bereits durch die Kombination weniger ausgesuchter, einfacher Moleküle erzeugt werden. Allein die Zufuhr von Wärme ließ eine Vielzahl von Reaktionen zur Bildung neuer Substanzen ablaufen.

In einigen der Experimente wurde die Herausbildung zeitlicher Muster in Form des aperiodischen Auftauchens und Verschwindens oligomerer Spezies beobachtet. Dazu sind starke Nichtlinearitäten erforderlich. Sie werden in den Systemen durch einen auto- oder kreuzkatalytischen Reaktionsmechanismus hervorgerufen. Ein solcher Mechanismus wird von seinem Produkt katalysiert und ist damit selbstverstärkend.

2 | Grundlagen

2.1 Reaktionskinetik

Es lassen sich verschiedene Arten chemischer Reaktionen anhand ihres Ladungstransfers unterscheiden [1]:

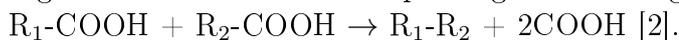
- **Redoxreaktion:** Bei einer Redoxreaktion laufen gleichzeitig die Oxidation und Reduktion von Substanzen ab. Bei einer Reduktion nehmen Substanzen Elektronen auf, bei der Oxidation geben sie sie ab.

Die Neigung einer Substanz zur Reduktion oder Oxidation wird als Potential bezüglich eines Standardpotentials angegeben. Häufig wird dabei die Reaktion $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$ als Referenz gewählt, deren Potential als 0 V definiert ist.

- **Säure-Base-Reaktion:** Nach der Definition von Brønsted geben Säuren Protonen ab und Basen nehmen sie auf. Eine Säure-Base-Reaktion ist eine Reaktion, bei der Protonen zwischen Substanzen übertragen werden (Protolyse).

- **Elektrolyse:** „Elektrolyse heißt die Gesamtheit der chemischen Veränderungen (Oxidation, Reduktion, Zersetzung) einer Substanz beim Hindurchfließen eines elektrischen Gleichstroms.“ [1]

Eine Elektrolyse kann in einer Lösung zu der Bildung von radikalischen Molekülen führen, die frei weiter reagieren können [2]. Die Kolbe-Elektrolyse verknüpft zwei organische Säuren unter Abspaltung ihrer Säuregruppen:



Bei einer Elektrolyse treten oft Nebenreaktionen auf. In der präparativen Chemie werden daher Diaphragmen zur Trennung der Reaktionsräume an Anode und Kathode verwendet. Außerdem werden das Lösungsmittel, das Elektrodenmaterial (z. B. Eisen, Platin, Graphit) und die Spannung auf die gewünschte Reaktion abgestimmt [2].

Die weiteren Erläuterungen orientieren sich an den Lehrbüchern [3] und [4].

2.1.1 Reaktionsablauf

Damit zwei Moleküle *A* und *B* miteinander zu einem oder mehreren Produkten reagieren können, müssen bestehende Bindungen aufgebrochen werden und es müssen sich Neue bilden. Dafür müssen die Moleküle mit ausreichend hoher kinetischer Energie gegeneinander stoßen. Die Geschwindigkeit *r*, mit der eine Reaktion (pro Volumen) abläuft, ist von

der Konzentration der Moleküle (c_A , c_B) sowie der Temperatur abhängig $r = k(T)c_Ac_B$. $k(T)$ ist der Geschwindigkeitskoeffizient der Reaktion. Für ihn gilt die Arrheniusgleichung $k = Ae^{\frac{E_A}{k_B T}}$. E_A bezeichnet die Aktivierungsenergie, die notwendig ist, um eine Reaktion ablaufen zu lassen.

Neben der Energie zweier Teilchen entscheidet ihre gegenseitige Orientierung darüber, ob sie bei einem Stoß reagieren können. Die Wege, die zu einer Reaktion führen, müssten daher in einem mehrdimensionalen Energiediagramm in einem Raum, der die relative Orientierung und den Abstand der Moleküle fasst, dargestellt werden. Häufig wird der Energieverlauf nur anhand einer einzigen Koordinate dargestellt (Abb. 2.1). Die Reaktionskoordinate entspricht dem Fortschritt auf einem Pfad durch die „Energiewelt“, der die geringste Energiebarriere hat.

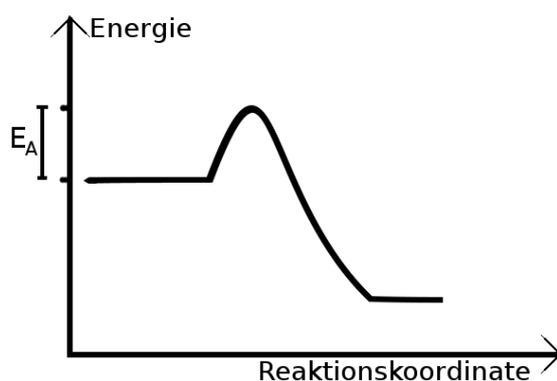


Abbildung 2.1: Energie einer exothermen Reaktion mit Aktivierungsenergie in Abhängigkeit der Reaktionskoordinate. Die Reaktionskoordinate gibt den Fortschritt der Reaktion an. Die Bindungsenergie der Edukte befindet sich auf einem höheren Energieniveau als die der Produkte. Es muss jedoch mindestens die Aktivierungsenergie E_A hinzugefügt werden, damit die Reaktion abläuft.

2.1.2 Katalyse

Mit Katalysatoren kann die Höhe der Aktivierungsenergie herabgesetzt werden, so dass die Reaktion schneller abläuft. Katalysatoren sind Stoffe, die in einer Reaktion in Zwischenstufen an die Edukte binden, jedoch unverändert wieder freigesetzt werden und damit in der Reaktion nicht verbraucht werden.

Eine spezielle Form der Katalyse ist die Autokatalyse. Hier katalysiert das Produkt einer Reaktion die Reaktion selbst wieder. Eine Autokatalyse ist damit selbstverstärkend und zeichnet sich durch ein anfänglich exponentielles Wachstum aus. Bei begrenzter Zahl an Edukten folgt einem sigmoidalen Wachstum eine Sättigung (Abb. 2.2). In realen Systemen läuft eine Autokatalyse oft in mehreren Stufen ab. Eine einfache Reaktion dieses Typs ist jedoch



Die Substanz B ist autokatalytisch. Für ihre Konzentration gilt $\dot{c}_B = kc_A c_B$, wobei k der Geschwindigkeitskoeffizient der Reaktion ist. Mit den Anfangskonzentrationen $c_{A,0}$, $c_{B,0}$

der Substanzen A und B und $c_A = c_{A,0} - (c_B - c_{B,0})$ folgt für die Konzentrationen c_A , c_B der Substanzen A und B [5]

$$c_B = \frac{c_{A,0} + c_{B,0}}{1 + \frac{c_{A,0}}{c_{B,0}} e^{-(c_{A,0} - c_{B,0})kt}} \quad (2.2)$$

$$c_A = \frac{c_{A,0} + c_{B,0}}{1 + \frac{c_{B,0}}{c_{A,0}} e^{+(c_{A,0} - c_{B,0})kt}} \quad (2.3)$$

Bei einer Kreuzkatalyse katalysieren zwei Substanzen gegenseitig ihre Bildung. Dies ist beispielsweise bei der DNA-Replikation der Fall, in der ein Strang die Bildung seines Komplements katalysiert [6].

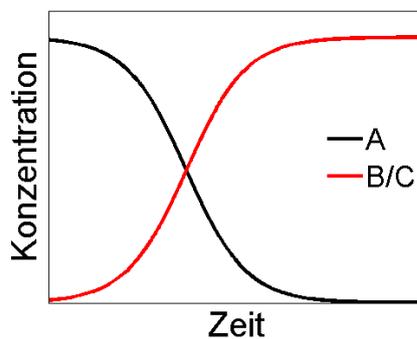


Abbildung 2.2: Konzentrationsverläufe der Edukte und Produkte einer autokatalytischen Reaktion (hier $A + B \rightarrow C + 2B$).

2.1.3 Reaktionsordnungen

Für die Geschwindigkeitsdichte r einer Reaktion mit n Reaktanden der Konzentrationen c_i gilt

$$r = k(T) \cdot \prod_{i=1}^n c_i^{a_i} \quad (2.4)$$

Die Geschwindigkeitsdichte kann mit der zeitlichen Änderung der Konzentration c eines Produkts gleichgesetzt werden ($\dot{c} = r$). Die Ordnung der Reaktion bezüglich eines Stoffes wird durch die Exponenten a_i gegeben. Die Gesamtordnung der Reaktion ist durch die Summe der Exponenten gegeben. Im Folgenden werden Reaktionen der Ordnung null, eins und zwei dargestellt. Höhermolekulare Reaktionen sind unwahrscheinlich, da dabei mehrere Moleküle gleichzeitig aufeinander treffen müssten.

Reaktion nullter Ordnung

Bei einer Reaktion nullter Ordnung ist die Geschwindigkeit der Reaktion bei gleich bleibender Temperatur konstant. Ein Beispiel für eine Reaktion nullter Ordnung ist ein Adsorptionsprozess, in dem sich die Konzentration des adsorbierten Stoffes mit $\dot{c} = -k$ verändert.

Reaktion erster Ordnung

In einer Reaktion erster Ordnung wird eine Substanz A in einer monomolekularen Reaktion zu einem Produkt B umgesetzt ($A \rightarrow B$). Ein Beispiel hierfür ist der Zerfall eines Moleküls. Der zeitliche Verlauf der Konzentration von A folgt dem Zerfallsgesetz $\dot{c}_A = -kc_A$ und hat daher exponentiellen Charakter $c_A = c_{A,0} \cdot e^{-kt}$ (Abb. 2.3 a). Dabei ist die Halbwertszeit des Eduktes A durch $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$ gegeben und damit nur von dem Geschwindigkeitskoeffizienten k abhängig. Die Konzentration von B steigt wegen $c_B = c_{A,0} - c_A$ mit $c_B = c_{A,0} (1 - e^{-kt})$ an.

Reaktion zweiter Ordnung

Eine typische Reaktion zweiter Ordnung ist $A + B \rightarrow C$. Bimolekulare Reaktionen sind die häufigste Art chemischer Reaktionen. Die Konzentration c_C des Produkts erhöht sich dabei mit $\dot{c}_C = kc_{A,C}$. Es gilt

$$c_C(t) = \frac{c_{A,0}c_{B,0} \left(1 - e^{(c_{B,0}-c_{A,0}) \cdot kt} \right)}{c_{A,0} - c_{B,0}e^{(c_{B,0}-c_{A,0}) \cdot kt}}. \quad (2.5)$$

Die Konzentration der Edukte fällt wie bei einer Reaktion erster Ordnung exponentiell ab (Abb. 2.3 b). Im Gegenteil dazu ist jedoch die Halbwertszeit des Abfalls kein Charakteristikum der Reaktion, sondern hängt auch von den Anfangskonzentrationen der Edukte ab. Bei gleicher Ausgangskonzentration der Edukte ($c_{B,0} \approx c_{A,0}$) und gleicher Reaktionsgeschwindigkeit, verläuft die Reaktion erster Ordnung unter den gleichen äußeren Bedingungen schneller als die zweiter Ordnung (Abb. 2.4).

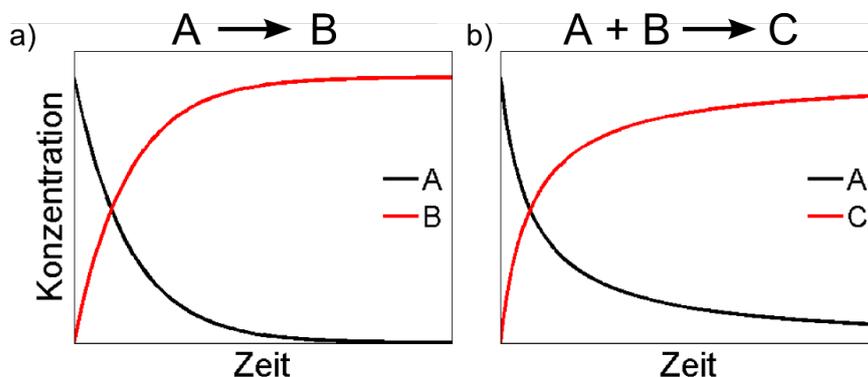


Abbildung 2.3: Konzentrationsverläufe eines Edukts und des Produkts der Reaktion a) erster Ordnung $A \rightarrow B$ und b) zweiter Ordnung $A + B \rightarrow C$.

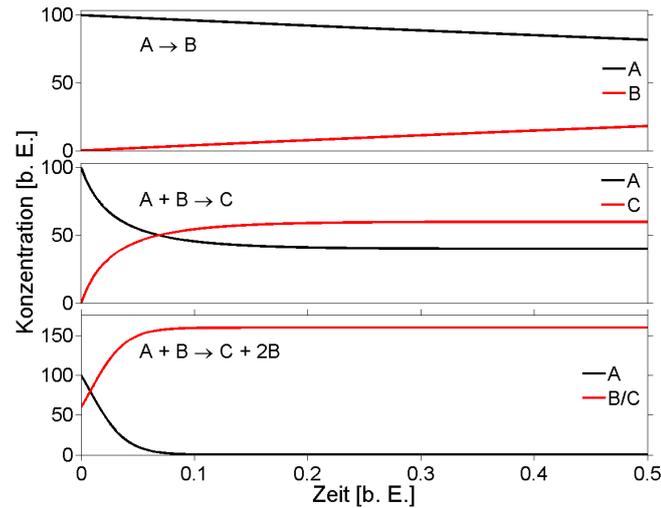


Abbildung 2.4: Vergleich der Konzentrationsverläufe der Edukte und Produkte einer Reaktion erster und zweiter Ordnung sowie einer Autokatalyse für gleiche Ausgangskonzentrationen der Edukte und gleiche Reaktionsgeschwindigkeiten ($k = 0,4$, $c_{A,0} = 100$, $c_{B,0} = 60$, in beliebigen Einheiten). Eine Autokatalyse (unten) erfolgt schneller als eine Reaktion zweiter Ordnung (mitte), die wiederum sehr viel schneller ist als eine Reaktion erster Ordnung (oben).

2.1.4 Rück-, Parallel- und Folgereaktion

In einem chemischen System aus mehreren Komponenten können sich Reaktionen gegenseitig beeinflussen und so dass die Gesamtreaktionen sind nicht mehr in die obigen Kategorien einzuordnen sind.

Rückreaktion

Kann eine Reaktion auch rückwärts ablaufen, hängt die Konzentration eines Produkts neben den Anfangskonzentrationen der Edukte und der Geschwindigkeitskonstanten der Hinreaktion k_+ auch von der Geschwindigkeitskonstanten der Rückreaktion k_- ab. Die Reaktion

$\sum_i E_i \xrightleftharpoons[k_-]{k_+} \sum_i P_i$ hat die Geschwindigkeitsdichte $r = k_+ \prod_i E_i - k_- \prod_i P_i$. Im Gleichgewicht ($r = 0$) folgt $K = \frac{k_+}{k_-} = \frac{\prod_i P_i}{\prod_i E_i}$ (Abb. 2.5 a). Dies ist das bekannte Massenwirkungsgesetz und K ist die Gleichgewichtskonstante.

Parallelreaktion

Bei Nebenreaktionen wird ein Edukt in verschiedenen Reaktionen umgesetzt. Für n monomolekulare Reaktionen ohne Rückreaktion gilt $E \xrightarrow{k_i} P_i$ mit $i \in 1, \dots, n$. Die Konzentration von E verändert sich gemäß $\dot{c}_E = -\sum_i k_i c_E = -k c_E$ und damit gilt $c_E(t) = c_{E,0} e^{-kt}$.

Die Produkte der Konzentrationen c_i bilden sich mit $\dot{c}_i = k_i c_A$ und für ihre Konzentrationen gilt $c_i = \frac{k_i}{k} c_{E,0} (1 - e^{-kt})$. Die Verhältnisse der Endkonzentrationen der Produkte entsprechen denen der Geschwindigkeitskonstanten ihrer Bildung (Abb. 2.5 b).

Folgereaktion

Folgereaktionen beschreiben die Umsetzung von Stoffen in mehrstufigen Mechanismen. Sie lassen sich für den monomolekularen Fall ohne Rückreaktionen als $E_0 \xrightarrow{k_1} E_1 \xrightarrow{k_2} \dots \xrightarrow{k_n} E_n$ schreiben.

Für das Beispiel von zwei aufeinanderfolgenden Reaktionen $E_0 \xrightarrow{k_1} E_1 \xrightarrow{k_2} E_2$ entwickelt sich die Konzentration des Endprodukts E_2 mit $c_2 = c_{0,0} \left(1 - \frac{k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}}{k_2 - k_1} \right)$ (Abb. 2.5 c). Läuft eine Reaktion sehr viel schneller ab als die andere (z. B. $k_1 \gg k_2$), so kann genähert werden $c_2 \approx c_{0,0} (1 - e^{-k_2 t})$. Da hier die Konzentration des Produkts nur noch von der Geschwindigkeitskonstanten der zweiten Reaktion bestimmt wird, wird sie der geschwindigkeitsbestimmende Schritt genannt.

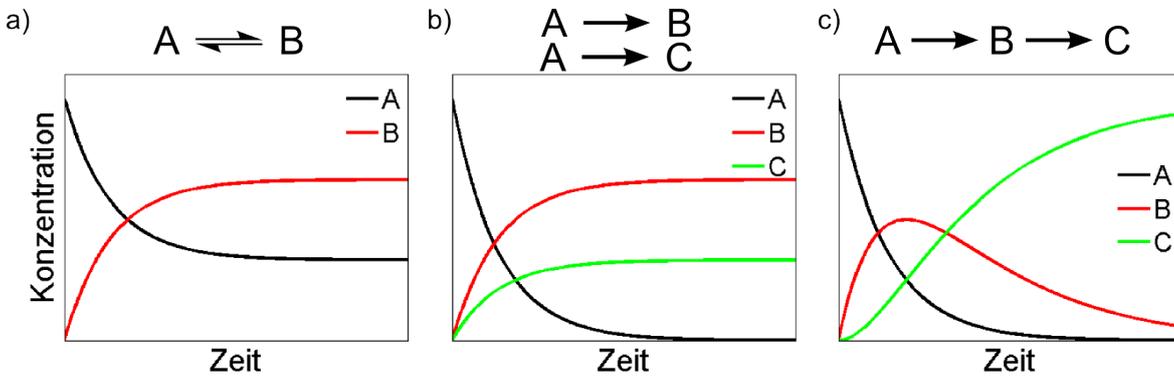


Abbildung 2.5: Konzentrationsverläufe der Edukte und Produkte **a)** einer Reaktion mit Rückreaktion (hier $A \rightleftharpoons B$), **b)** zweier Parallelreaktionen (hier $A \xrightarrow{k_B} B$ und $A \xrightarrow{k_C} C$ mit $k_B = 2k_C$) und **c)** einer Folgereaktion (hier $A \xrightarrow{k_B} B \xrightarrow{k_C} C$ mit $k_B = 2k_C$)

2.2 Musterbildung

2.2.1 Nichtlineare Dynamik

Betrachtet wird die Dynamik eines Systems aus n Variablen x_i . Die Variablen können zu allen anderen Variablen in einem funktionellen Zusammenhang stehen. Das System heißt nichtlinear, wenn nichtlineare Funktionen auftreten.

$$\begin{aligned} \dot{x}_1 &= f_1(x_1, \dots, x_n) \\ &\vdots \\ \dot{x}_n &= f_n(x_1, \dots, x_n) \end{aligned} \tag{2.6}$$

Das System lässt sich mit $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n)$ und $\mathbf{f} = (f_1, \dots, f_n)$ kompakter in einer vektoriellen Schreibweise notieren: $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}(\mathbf{x})$. \mathbf{x} repräsentiert einen Punkt im n -dimensionalen Phasenraum. Ein stationärer Zustand ($\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{0}$) heißt Fixpunkt. Es existieren stabile Fixpunkte (Attraktoren) und instabile Fixpunkte (Repulsoren). In nichtlinearen Systemen sind auch mehrdimensionale Attraktoren und Repulsoren (z.B. Grenzzyklen) möglich. Das System bewegt sich auf einen Attraktor hin, während es sich von einem Repulsor wegbewegt. In der Nähe der Fixpunkte verläuft die Bewegung zeitlich exponentiell¹. Falls die Veränderung eines Parameters bewirkt, dass ein Fixpunkt seine Stabilität verändert oder verschwindet, wird dies als Bifurkation bezeichnet.

In einem deterministischen System hängt jeder Zustand ausschließlich von dem vorherigen Zustand ab. Bei deterministischem Chaos liegt in einem nichtlinearen System kein gewöhnlicher Attraktor vor. Die Entwicklung des Systems ist nicht in einem geschlossenen Ausdruck beschreibbar. Die Systeme sind oft sensitiv auf veränderte Anfangsbedingungen, so dass kleine Änderungen der Anfangsbedingungen starke Auswirkungen auf die Entwicklung des Systems haben.

[7, 8]

2.2.2 Modenselektion

Allen musterbildenden Systemen ist gemeinsam, dass sie mit Energie versorgt werden, Energie dissipieren und nichtlineare Interaktionen auftreten. In einem einfachen System wirkt eine Kraft F auf eine Variable q [9].

$$\dot{F} = -\gamma_1 F - aFq \tag{2.7}$$

$$\dot{q} = -\gamma_2 q + bF^2 \tag{2.8}$$

bF^2 stellt die Energieversorgung dar und aFq und bF^2 beschreiben die (nichtlinearen) Kopplungen. Die Dissipation ist durch die Dämpfung $\gamma_2 > 0$ berücksichtigt. Ein Abschalten der Energieversorgung ($F = 0$) bringt das System zum Stillstand ($q \rightarrow 0$ für $t \rightarrow \infty$). Es soll $\gamma_2 \gg \gamma_1$ gelten, d. h. das System soll schnell auf Änderungen der Kraft reagieren ($\gamma_1 < 0$ und $\gamma_1 > 0$ möglich). Es wird $\dot{q} \approx 0$ genähert und für die Variable gilt damit

$$q(t) \approx \gamma_2^{-1} bF^2(t). \tag{2.9}$$

Die Variable q folgt damit der treibenden Kraft F . F wird als Ordnungsparameter bezeichnet, der das System „versklavt“.

Dieses Prinzip ist auch gültig für ein System vieler Variablen q_i , $i = 1 \dots n$,

$$\begin{aligned} \dot{q}_1 &= -\gamma_1 q_1 + g_1(q_1, \dots, q_n) \\ \dot{q}_2 &= -\gamma_2 q_2 + g_2(q_1, \dots, q_n) \\ &\vdots \\ \dot{q}_n &= -\gamma_n q_n + g_n(q_1, \dots, q_n), \end{aligned} \tag{2.10}$$

¹ In linearer Näherung und nach Transformation auf den Ursprung kann das Gleichungssystem 2.6 als Matrixgleichung $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{x}$ geschrieben werden. Der Eigenvektor \mathbf{y} zum Eigenwert λ des Systems entwickelt sich gemäß $\mathbf{y} = \mathbf{y}_0 e^{\lambda t}$. Für durchgehend negative Realteile der Eigenwerte liegt ein Attraktor vor. Das System nähert sich damit exponentiell dem Fixpunkt $\mathbf{x} = 0$, denn $\mathbf{x} = \sum c_i \mathbf{y}_i e^{\lambda_i t}$.

das dissipiert (einige $\gamma_i > 0$) und nichtlinear koppelt (g_i nichtlineare Funktionen). Wie in dem obigen Fall ($n = 2$) kann in stark und schwach gedämpfte Variablen oder „Moden“ unterschieden werden. Eine Mode kann nicht mehr zwangsläufig einer Variablen zugeordnet werden, sondern stellt in der Regel eine Kombination verschiedener Variablen dar². Es kann gezeigt werden, dass in Systemen mit geeigneten Dämpfungen einige Moden anderen untergeordnet sind. Die dominanten Moden werden als Ordnungsparameter bezeichnet [9]. Sie wachsen exponentiell an und bestimmen auf lange Sicht die Dynamik des Systems.

Dieses musterbildende Verhalten lässt sich in den unterschiedlichsten Systemen wie Lasern, Konvektionsmustern oder Sandmustern in Dünen wiederfinden [10]. Es ist ein physikalisches Prinzip, das es häufig ermöglicht, ein nichtlineares System außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts mit wenigen Parametern zu beschreiben. Das Beispiel der chemischen Oszillationen wird im Folgenden erläutert.

2.2.3 Chemische Oszillationen

Chemische Oszillatoren sind chemische Gemische, in denen ein komplexer, mehrstufiger Reaktionsablauf zur Oszillation der Konzentration einer oder mehrerer Substanzen führt. In einem ungerührten System lässt sich die Ausbreitung wellenförmiger Muster beobachten.

Chemische Oszillationen sind ein Beispiel für raumzeitliche Musterbildung in einem chemischen System, die durch den Antrieb starker Nichtlinearitäten hervorgerufen werden. Das System hat einen attraktiven Grenzyklus und kehrt damit periodisch wieder zu einem Zustand zurück. Veränderte Konzentrationen der Chemikalien führen dazu, dass der Grenzyklus instabil wird und verschwindet. Es liegt eine Bifurkation vor.

Die bekanntesten und am längsten studierten chemischen Oszillationen werden durch große Oxidationspotentiale von Halogeniden (z. B. Brayschen Reaktion, Briggs-Rauscher-Reaktion) oder Metallen (z. B. Belousov-Zhabotinsky-Reaktion) getrieben. Die Reaktion ist beendet, wenn alle Edukte in Produkte umgewandelt sind. Die Konzentrationen der intermediären Spezies oszilliert, solange das System fern des Gleichgewichts ist. [11]

Die genauen Reaktionsabläufe chemischer Oszillatoren sind komplex und nicht vollständig aufgeklärt. Die wesentlichen Eigenschaften dieser Systeme wurden durch Modellgleichungen reproduziert (FKN-Mechanismus, Oregonator, Brüsselator). Sie liefern Gleichungssysteme der Art (2.10). Dabei müssen in den Gleichungen nichtlineare Terme auftreten, die von einer Autokatalyse oder einer Autoinhibition rühren [12]. Anhand dieser Modelle wurden Bistabilität, Bifurkationsparameter und Grenzyklen analysiert. [11]

Läuft die chemische Oszillation in einem Becherglas ab, so kann die Oszillation nie als ein stationärer Zustand erreicht werden, da in jedem Zyklus eine kleine Änderung der Produkt- und Eduktmenge vorliegt. Damit weichen die chemischen Bedingungen jedes Zyklus leicht von denen des vorangegangenen Zyklus ab. Um diesen Effekt zu umgehen, wurden Flussreaktoren untersucht, in denen Edukte kontinuierlich dazugegeben werden und das Gemisch ständig abgepumpt wird. [11]

Chemische Oszillationen können periodisch und aperiodisch verlaufen. Aperiodizitäten können einerseits durch die nichtlineare Verstärkung von Fluktuationen hervorgerufen

² Mathematisch gesehen handelt es sich bei Moden um die Amplitudenfunktionen der Fouriertransformierten Eigenvektoren des Gleichungssystems 2.10 [9].

werden, andererseits können sie eine Eigenschaft des Systems sein (deterministisches Chaos). [11]

Die Analyse chemischer Oszillatoren und ihre Modellierung erlaubte es, chemische Oszillatoren zu konstruieren, so dass heute zahlreiche Oszillatoren bekannt sind [11, 13]. Außerdem existieren weitere (nicht-stöchiometrische) Kategorien chemischer Oszillatoren: In elektrochemischen Systemen können Oszillationen durch rückkoppelnde Elektrodenprozesse hervorgerufen werden, indem sich auf den Elektroden spannungsabhängig eine Deckschicht bildet oder auflöst. Auch in der Heterogenität eines Systems kann der Ursprung von Oszillationen begründet liegen. Die Rückkopplung erfolgt hier z.B. durch Gasbildung auf einem Katalysator, die seine Oberflächenaktivität einschränkt. Auch das periodische Ausgasen führt zu Oszillationen [14]. [12]

In Organismen tauchen chemische Oszillationen in elektrophysiologischen Prozessen, in rein chemischen Enzymprozessen wie der Mitose oder der circadianen Rhythmik auf [12].

2.2.4 Evolutionäre Systeme

Zur Erklärung des Übergangs von unbelebter Materie zu hochgradig organisierter Materie wurden konzeptionelle Ideen entwickelt, die sich mit Selbstorganisation und Entstehung von Information beschäftigen.

Ein früher (1951) Beitrag dazu stammt von Erwin Schrödinger [15]. Für ihn war ein Kennzeichen von Leben der aktive Austausch von Materie auf einer Zeitskala, die für unbelebte Materie nicht möglich wäre. Lebewesen erhielten damit dauerhaft einen Nichtgleichgewichtszustand und ihr Stoffwechsel verringerte die Entropie. Schrödinger wies darauf hin, dass diese Schaffung und Beibehaltung von Ordnung zunächst den thermodynamischen Gesetzen zu widersprechen scheine. Leben stelle eine Anordnung von Molekülen dar, die so noch nicht in der Physik untersucht worden sei. Da Physik und Chemie bis dahin molekulare Ensemble betrachtet hatten und damit Mittelwerte über viele Moleküle beschrieben, sahen sie sich in Lebewesen Systemen gegenüber, in denen einzelne Makromoleküle (DNA als „aperiodischer Kristall“ [15]) das System bestimmten und sich thermischen Fluktuationen entzögen.

Ilya Prigogine ordnete die Entstehung des Lebens ebenfalls in diesen Zusammenhang ein [16]. Lebewesen bewahrten einen geordneten Zustand über einen Zeitraum aufrecht, der sehr viel länger als die Zeit der chemischen Zersetzung ihrer molekularen Bausteine sei. Die Erhaltung der chemischen Ordnung scheine die Gesetze der Thermodynamik zu verletzen. Prigogine nannte chemische Oszillatoren als erste Beispiele für Musterbildung in der Chemie (Abschnitt 2.2.3). Er zog die Parallele zwischen der Entstehung des Lebens und der Selbstorganisation chemischer und physikalischer Systeme fern des Gleichgewichts. Fluktuationen würden nichtlinear verstärkt und breiteten sich im gesamten System aus, so dass langreichweitige Korrelationen aufträten - das System verhielte sich kollektiv. Während Nichtlinearitäten in anorganischen Systemen selten zu beobachten seien, tauchen sie in biologischen Systemen gehäuft auf. Er folgerte, dass sobald die Voraussetzungen für die Selbstorganisation gegeben waren, Leben entstand und es damit eine Notwendigkeit sei. Manfred Eigen [17] fokussierte die Frage nach der Entstehung des Lebens ebenfalls auf die Frage nach den Gesetzmäßigkeiten für die Entstehung und Erhaltung einer komplexen

Ordnung, die zu einem regelmäßigen Verhalten der Materie führen. Eigen, der als Biochemiker 36 Jahre nach Schrödinger die Biochemie des genetischen Apparats von Zellen kannte, suchte die Ordnungsprinzipien zur Entstehung des Lebens in der Produktion und Reproduktion von Informationen.

Evolutionsgleichung nach Eigen

Aufgrund der Schlüsselrolle des universellen, genetischen Codes entwickelte Manfred Eigen ein Modell zur Evolution eines Systems aus Informationsträgern [18, 19, 20]. In einem „Informationskasten“ befinden sich polymere Informationsträger, die aufgebaut werden und zerfallen können. Dem System wird Energie in Form von reaktiven Monomeren zugeführt. Sie wird durch das Verknüpfen der Monomere dissipiert. Dabei wird die Sequenz eines Informationsträgers kopiert. Die semipermeablen Wände des Kastens erlauben die Zu- und Abfuhr der Monomere.

In dem Kasten befinden sich n Spezies, d. h. Informationsträger verschiedener Sequenzen. Sie werden in dem Modell mit der Rate F_i spontan erzeugt und mit der Rate D_i abgebaut. Die Erzeugung hängt dabei von der Geschwindigkeit A_i und der Qualität Q_i der Replikation ab ($F_i = A_i Q_i$). Ein weiterer Anteil Φ_i beschreibt eine Verdünnung. Eine Spezies l kann mit der Rate ϕ_{il} fehlerhaft kopiert werden, wodurch die Spezies i entsteht. Damit ergibt sich für die Konzentration x_i der Spezies i

$$\dot{x}_i = (F_i - D_i) x_i - \Phi_i + \sum_{l \neq i} \phi_{il} x_l. \quad (2.11)$$

Für kleine Mutationsraten ist die Evolution des Systems trivial. Die Populationsgrößen der Spezies, von denen mehr geboren als zerstört werden ($(F_i - D_i) > 0$), nehmen exponentiell zu; gilt das Gegenteil ($(F_i - D_i) < 0$), so nehmen sie exponentiell ab und die Spezies stirbt aus.

Die Situation ändert sich, wenn ein Selektionsdruck ausgeübt wird, der z. B. darin besteht, dass die Konzentration jedes Monomers konstant gehalten wird. Mit $\Phi_i = \frac{\sum_l (A_l - D_l) x_l}{\sum_l x_l} \cdot x_i$ wird der Abfluss so eingestellt, dass die Überschussproduktivität $(A_i - D_i)$ mit einer für alle Spezies gleichen Rate herausfließt. Damit ergibt sich nach einigen Umformungen [18] die Eigen'sche Evolutionsgleichung

$$\dot{x}_i = (W_i - \bar{E}) x_i + \sum_{l \neq i} \phi_{il} x_l. \quad (2.12)$$

Dabei ist $W_i = A_i Q_i - D_i$ der Selektionswert der Spezies i , $\bar{E} = \frac{\sum_i E_i x_i}{\sum_i x_i} = \frac{1}{n} \sum_i E_i x_i$ entspricht der mittleren Überschussproduktivität ($E_i = A_i - D_i$). Durch die Nebenbedingung wird mit $\bar{E} x_i$ die Evolutionsgleichung nun nichtlinear. Es gilt zwar zunächst auch, dass alle Spezies mit $(W_i - \bar{E}) > 0$ überleben, jedoch verschiebt das Wachstum und Aussterben von Spezies den Schwellenwert \bar{E} . Er erreicht erst einen konstanten Wert, wenn die Konzentrationen der Spezies sich nicht weiter verändern. Es kann immer nur ein metastabiler Zustand erreicht werden, da die Mutationen die Konzentrationen weiter fluktuieren

lassen. Es bilden sich Gruppen ähnlicher Spezies heraus, die auf lange Sicht einzig überleben. [18, 19]

Der Vergleich mit dem Gleichungssystem (2.10) zeigt die strukturelle Gleichheit der Systeme. Die Dämpfung bzw. Amplifikation wird beschrieben durch den Selektionswert der Spezies ($\gamma_i \rightarrow W_i = A_i Q_i - D_i$). Die Kopplung der Spezies ist wegen $\bar{E}x_i$ nichtlinear ($g_i(q_1, \dots, q_n) \rightarrow -\bar{E}x_i + \sum_{l \neq i} \phi_{il} x_l$). Analog zu den Überlegungen zur Musterbildung lassen

sich dominante Moden finden. Sie entsprechen der Gruppe verwandter Spezies. In der Eigen'schen Theorie werden sie „Quasispezies“ genannt. [18, 19]

Die Evolution der „Quasispezies“ kann in der „Fehler-Katastrophe“ münden. Damit ist gemeint, dass es eine kritische Größe der Spezies gibt, ab derer die Mutation der Spezies zu groß wird um ihre Information weiter zu bewahren [19]. Für ein System aus RNA oder DNA Molekülen ohne Enzyme würde die kritische Länge bereits bei 50 bis 100 Basen liegen [21]. Ein Ausweg aus dieser Situation ist ein System aus Hyperzyklen.

Hyperzyklen

In einem Hyperzyklus sind Autokatalyten zyklisch verknüpft, so dass sie ihre Reproduktion katalysieren und gleichzeitig zur Produktion des nächsten Glieds des Zyklus beitragen [19]. Der Hyperzyklus kann als Population einer Quasispezies betrachtet werden, die als koexistierendes Ensemble gleichmäßig anwächst. Während in den oben beschriebenen Evolutionsmodellen Replikatoren konkurrieren, kooperieren sie, wenn sie in einem Zyklus vernetzt sind. So übertragen sich vorteilhafte Mutationen eines Glieds auf den gesamten Zyklus und werden exponentiell verstärkt, während unvorteilhafte Mutationen aussterben. Replikatoren mit hohen Mutationsraten können integriert werden und den Informationsfundus erweitern. Der Hyperzyklus weist eine nichtlineare Wachstumsrate auf, da seine Reproduktion von der Populationsgröße abhängt [21]. Damit kann es neuen Hyperzyklen kaum gelingen, sich gegen etablierte Hyperzyklen durchzusetzen. In einem System konkurrierender Hyperzyklen wird nur ein Hyperzyklus auf lange Sicht bestehen. Die Selektion eines Hyperzyklus ist damit eine „Ein-für-allemal-Entscheidung“, wie sie in der Evolution z. B. bei der Selektion des genetischen Codes oder der Chiralität von biologischen Molekülen vorgekommen sein muss [17]. Eigen schlug vor, dass in einem frühen Stadium der Evolution, ein System aus RNA und Aminosäuren sich in Hyperzyklen organisiert haben könnte und sich zu Vorläufern heutiger Lebewesen entwickelte [22].

Die Selektion eines Hyperzyklus verhindert eine weitere Evolution des Systems. Eine Entwicklung zu einer größeren Artenvielfalt wäre möglich, wenn ein Hyperzyklus durch Mutation weitere Mitglieder erhielte. Außerdem würde eine Kompartimentierung des Systems in Zellen die Koexistenz verschiedener Hyperzyklen zulassen [20].

2.3 Chemische Netzwerke

Die Reaktionsabläufe in komplexen Gemischen können oft nicht mit einfachen Methoden analysiert werden, da sich viele Interaktionen gegenseitig beeinflussen können. Diese Herausforderungen sind aus den Analysen des Stoffwechsels und der Genexpression bekannt. Eine Möglichkeit, die Eigenschaften eines komplexen, chemischen Systems zu untersuchen, erfolgt durch die Interpretation als Netzwerk [23]. Die Knoten stellen die verschiedenen chemischen Substanzen dar. Die Kanten repräsentieren die Verknüpfung über chemische Prozesse.

2.3.1 Netzwerkcharakteristika

Gradverteilung

Der Grad eines Knotens k ist die Anzahl der Kanten, die von ihm abgehen. Die Verteilungen der Grade ist oft ein Charakteristikum eines Netzwerks und kann Aufschluss über die zugrunde liegenden Prozesse geben [23].

Clusterkoeffizient

Als Cluster oder Gruppe in einem Netzwerk wird eine Kombination aus drei Knoten (A, B, C) verstanden, die alle miteinander verknüpft sind (A und B, B und C, A und C). Die Häufigkeit der Cluster wird mit dem Clusterkoeffizienten gemessen. Der Clusterkoeffizient C_i des Knotens i mit k_i Nachbarn ist gegeben als $C_i = \frac{2n_i}{k_i(k_i-1)}$, wobei n_i die Anzahl der Kanten angibt, die zwischen den Nachbarn des Knotens i verlaufen. Der mittlere Clusterkoeffizient bzw. die Häufigkeitsverteilung der Clusterkoeffizienten sind ein Maß für die Verknüpfung des Netzwerks. [23]

Wege

Die mittlere Weglänge sowie der kürzeste Weg zwischen zwei Knoten sind zwei weitere Parameter, welche die Stärke der Vernetzung eines Netzwerks beschreiben [23].

2.3.2 Zufällige Netzwerke

Erdős-Rényi Netzwerke

Bei einem Erdős-Rényi-Netzwerk werden N Knoten vorgegeben. Zwei Knoten werden mit der Wahrscheinlichkeit p verknüpft. Dadurch gehorchen die Grade einer Poissonverteilung. Die Verteilung der Clusterkoeffizienten ist unabhängig vom Grad und verläuft parallel zur Gradachse. Die mittlere Weglänge l ist proportional zum Logarithmus der Anzahl der Knoten N ($l \propto \log N$).

Skalenfreie Netzwerke

In skalenfreien Netzwerken folgt die Gradverteilung einem Potenzgesetz ($P(k) \propto k^{-\gamma}$). Für die mittlere Weglänge gilt $l \propto \log \log N$.

Barabási-Albert-Netzwerke sind zufällig erzeugte, skalenfreie Netzwerke. Ihre Verteilung der Clusterkoeffizienten ist unabhängig vom Grad und verläuft damit parallel zu Gradachse.

In hierarchischen Netzwerken ist der Clusterkoeffizient mit $C(k) \propto k^{-1}$ von dem Grad abhängig. Hierarchische Netzwerke werden in einem iterativen Verfahren durch Replikation eines Keimnetzwerks erzeugt.

In biologischen Systemen werden skalenfreie Netzwerke mit einem Exponenten der Gradverteilung von $2 < \gamma < 3$ gefunden.

2.3.3 Evolution in Netzwerken

Netzwerke wurden untersucht, um die Bedingungen für eine Selbstreproduktion in einem komplexen Gemisch zu finden. Stuart Kauffman untersuchte Netzwerke aus katalytischen Polymeren und organischen Molekülen [24]. Ein komplexes Netzwerk chemischer Reaktionen könnte aus sich heraus eine Ordnung hervorgebracht haben. Sie unterlag möglicherweise einer Selektion, die das Netzwerk zu den heutigen biologischen Metabolismen vereinfachte. Eine Voraussetzung für diese Evolution liegt nach Kauffman darin, dass das Netzwerk energetisch angetrieben wird und einen Zustand nahe eines chaotischen Zustands erreiche. Nur so bliebe das System ausreichend entwicklungsfähig und könne andererseits eine komplexe Dynamik aufweisen. Damit wäre die Ordnung, die heute in Organismen herrscht, das Resultat einer natürlichen, in der organischen Chemie verankerten Ordnung und nicht das Ergebnis eines Selektionsprozesses. Selbstreproduktion entstünde, wenn sich eine ausreichend große Anzahl katalytischer Polymere in einem Netzwerk organischer Moleküle befinde. Die Forderung an autokatalytische Polymere und eines Genoms zur Etablierung eines präbiotischen Stoffwechsels seien daher nicht notwendig. In diesem Aspekt unterscheidet sich Kauffmans Konzept von anderen Konzepten, welche die Existenz von Informationsträgern voraussetzen (Abschnitt 2.2.4).

2.4 Präbiotische Evolution

Jahrtausendlang sprachen Schöpfungsmythen wie die der Genesis einer Leben erschaffenden, transzendenten Figur die Fähigkeit zu, Lebewesen aus unbelebter Materie erschaffen zu können [25]. Bereits während der Frühgeschichte existierte ebenfalls die Vorstellung, dass die spontane Entstehung des Lebens eine natürliche Gesetzmäßigkeit sei, z. B. entstünden demnach Frösche aus Humus nach einer Überschwemmung des Nils. Die altgriechische Vorstellung der „Ätherkeime“, die wie die Atome der unbelebten Materie zu allen Zeiten existierten und das Leben in fruchtbaren Bereiche wachsen ließen („Panspermie“), wurde erst durch Louis Pasteur in der Mitte des 19. Jahrhunderts widerlegt. [26]

In den zwanziger Jahren des 20. Jh. entwickelten A. I. Oparin (1924) und J. Haldane (1929) die Vorstellung, dass der biologischen Evolution eine chemische Evolution vorausgegangen sei, welche die ersten organischen Moleküle entstehen ließ. Diese sollten dann

auf einem molekularen Niveau einer natürlichen Selektion ausgeliefert sein. Es folgten eine Reihe von Experimenten, z. B. das Miller-Urey Experiment (Abschnitt 2.4.2), in denen die Bedingungen auf der Urerde nachgestellt wurden, um die Prozesse der chemischen Evolution nachzuvollziehen.

2.4.1 Bedingungen auf der Urerde

Die Erde entstand vor etwa 4,5 Milliarden Jahren aus der Akkretion von Feststoffen aus dem Sonnennebel [6, 27]. Die Spuren erster Lebensformen werden auf vor 3,8 - 4 Milliarden Jahre datiert [6, 28]. Da Wasser in flüssiger Form erst einige hundert Millionen Jahre nach der Entstehung der Erde vorlag, beläuft sich der Zeitraum, in dem das Leben in einer flüssigen Phase entstanden ist, auf etwa 100 Millionen Jahre [29]. Die Indizien für mehrzelliges Leben stammen von vor 3,5 Milliarden Jahren [30], Eukaryoten sind frühestens vor etwa 2 Milliarden Jahren entstanden [6], Dinosaurier lebten vor 228 - 65 Millionen Jahren [31] und die frühesten menschlichen Fossilien sind rund 200.000 Jahre alt [32].

Die Temperaturen waren aufgrund verschiedener Prozesse wie Meteoriteneinschläge, Akkretion und Radioaktivität bei und nach der Formation der Erde sehr hoch. Als die Erde abkühlte, bildete sich eine feste Oberfläche. Die Erdoberfläche bestand zunächst aus einer Gestein-Schmelze und wurde später durch hohe Vulkanaktivität gezeichnet. Die Zusammensetzung der Erdoberfläche veränderte sich kontinuierlich, da dichtere Materie stärker von der Gravitation in das Erdinnere gezogen wurde als weniger dichte Materie. Zunächst bestand die Oberfläche demnach wohl vor allem aus Eisenverbindungen und Silikaten, später nahm der Eisengehalt an der Oberfläche ab.

Der geringe Anteil an Edelgasen in der heutigen Atmosphäre im Vergleich zu deren Vorkommen im Weltraum, lässt darauf schließen, dass sich die Atmosphäre der Erde nach ihrer Entstehung stark veränderte. Hohe Temperaturen, Sonnenwinde und eine unzureichende Gravitation der Erde führten dazu, dass Edelgase und Wasserstoff (H_2) die Atmosphäre verließen [29, 33, 34].

In der Akkretionsphase durchlief die Erde eine Zeit ständiger Meteoriteneinschläge, die auch gasförmige Substanzen im Gestein oder in Eis auf die Erde brachten. Dabei handelte es sich im Wesentlichen um Kohlenstoffdioxid (CO_2) und Stickstoffmonoxid (NO). Weitere Bestandteile der frühen Erdatmosphäre stammten von Vulkanausbrüchen, Ausgasungen des Erdmantels und chemischen Prozessen. Dazu gehören Witterungsreaktionen des Wassers mit dem Gestein des Erdmantels, photochemische Reaktionen durch die Einstrahlung von UV-Licht sowie Reaktionen an Eisenbestandteilen der Meteoriten oder durch deren Einschlag ausgelösten Schockerwärmung. [6, 28, 29]

Obwohl die genaue Zusammensetzung der Erdatmosphäre weiterhin unklar und umstritten ist, deuten die Analysen von Sedimentgestein auf eine Atmosphäre hin, die sich im Wesentlichen aus Kohlenstoffdioxid (CO_2), Stickstoff (N_2) und Spuren von Kohlenstoffmonoxid (CO), Wasserstoff (H_2) und Schwefelgasen zusammensetzte (CO_2 - N_2 -These). Damit war die Atmosphäre schwach reduzierend und es lag kein freier Sauerstoff vor. [6, 28, 29]

Einer der Hauptkritikpunkte an dieser These ist, dass sich mit einer schwach reduzierenden Atmosphäre nicht die Vielfalt organischer Substanzen erklären lässt, die für die Entstehung des Lebens gefordert wird. Insbesondere Cyanwasserstoff (HCN), dem eine große

Bedeutung in der Entstehung der Aminosäuren zugeschrieben wird (Abschnitt 2.4.3), wäre nur in geringem Maß gebildet worden. Der Metabolismus der ersten Lebensformen scheint auf der Chemie mit Wasserstoff beruht zu haben. Damit könnte mehr Wasserstoff in der Uratmosphäre vorhanden gewesen sein, als die $\text{CO}_2\text{-N}_2$ -These behauptet [28].

Die Zusammensetzung des Gesteins der Urerde hat auch Auswirkungen auf die Annahmen zur Atmosphäre der Urerde: War die Erdkruste mit metallischem Eisen durchsetzt, so würde es Ausgasungen zu Methan (CH_4), Ammoniak (NH_3) und Wasserstoff (H_2) reduziert haben. Falls das Eisen jedoch schon im Erdkern angesammelt war, oxidierte verbleibendes Eisenoxid die Exhalation zu Kohlenstoffdioxid (CO_2) und Wasser (H_2O). Eine stark reduzierende Erdoberfläche kann erklären, warum sich auf der Erde auch in einer nur schwach reduzierenden Atmosphäre eine Vielzahl von organischen Substanzen bilden konnte. [6, 28]

Wasserhaltige Ausgasungen und Meteoriten führten dazu, dass sich Wasser auf der Erde sammelte. Dieses lag auf einer heißen Erde als Gas vor, regnete aber mit der Abkühlung der Erde ab (vor etwa 3,8 Milliarden Jahren). Es ist ungewiss, wie lange die Erde mit einem flüssigen Ozean bedeckt war. Aufgrund einer im Vergleich zu heute 20 - 30 % geringeren Strahlung der jungen Sonne, müsste die Oberflächentemperatur der Erde eigentlich unter dem Gefrierpunkt gelegen haben („faint young sun paradox“). Ohne ein genaues Wissen über die Zusammensetzung der Uratmosphäre lässt sich nicht sagen, ob der Anteil an Treibhausgasen (z. B. CO_2 und CH_4) ausreichend hoch war, um Temperaturen über dem Gefrierpunkt zu erreichen. [6, 28, 29]

Neben der Zusammensetzung der Erdatmosphäre sind auch andere essentielle Parameter wie der pH-Wert eines Ozeans und dessen Aggregatzustand nicht sicher beantwortet. Sie sind jedoch wiederum mit allen anderen Parametern des Systems Urerde verknüpft, so dass neue Erkenntnisse in einem Bereich auch die Thesen in anderen Bereichen beeinflussen. Sicher lagen an verschiedenen Orten der Urerde zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedliche Bedingungen vor [6].

Diese verschiedenen Aspekte der Prozesse auf der Urerde, machen die Bedingungen, die bei der Entstehung des Lebens vorlagen, weiter ungewiss. Die Theorien dazu haben sich in den letzten Jahrzehnten verändert, so dass heute im Allgemeinen von einer sehr viel schwächer reduzierenden Atmosphäre ausgegangen wird als in den 50er Jahren des 20. Jh., als Stanley Miller sein berühmtes Experiment durchführte (Abschnitt 2.4.3) [35].

2.4.2 Miller-Urey-Experiment

Das bekannteste Experiment zur Simulation von Bedingungen auf der Urerde wurde 1953 von Stanley Miller und Harold Urey durchgeführt [35]. Das Miller-Urey-Experiment ist für diese Arbeit von zentraler Bedeutung und wird daher genauer beschrieben.

Miller und Urey gingen von einer heißen, wasserbedeckten Erde und einer stark reduzierenden Atmosphäre aus. In einer abgeschlossenen Glasapparatur wurde eine Atmosphäre aus Ammoniak (NH_3), Methan (CH_4) und Wasserstoff (H_2) geschaffen. Wasser (H_2O) wurde in der Apparatur zum Kochen gebracht und das Gemisch aus Gasen und Wasserdampf zirkulierte darin an zwei Elektroden vorbei, zwischen denen Funken überschlügen (Abb. 2.6). In dem Aufbau wurden mehrere Energiequellen eingesetzt, um eine möglichst komplexe Mischung zu generieren [36]. Nach einer Versuchsdauer von einer Woche stellten

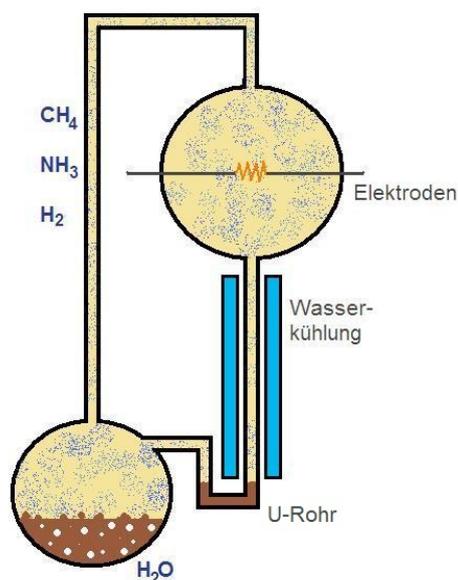


Abbildung 2.6: Schematischer Aufbau des Miller-Experiments. In einer abgeschlossenen Glasapparatur wurde Wasser in einer Atmosphäre aus Ammoniak (NH_3), Methan (CH_4) und Wasserstoff (H_2) gekocht. Zwei Elektroden erzeugen eine Funkenentladung. Das Wasserdampf-Gas-Gemisch zirkulierte in der Apparatur durch Kondensation an einem Wasserkühler.

Miller und Urey eine Verfärbung der Lösung fest. Mittels Dünnschichtchromatographie wurden einige Aminosäuren (Glycin, Alanin) nachgewiesen [35]. In späteren Versuchen mit veränderten Aufbauten und Gasgemischen detektierte Miller weitere Aminosäuren (z. B. Sarcosine) sowie weitere organische Säuren (z. B. Ameisen- und Essigsäure) [36]. In Experimenten, in denen Schwefelwasserstoff (H_2S) eingesetzt wurde, konnten auch schwefelhaltige Aminosäuren erzeugt werden [37]. In allen Experimenten führten schon kleine Mengen Sauerstoff dazu, dass keine Aminosäuren mehr produziert wurden. Ein Austausch von Kondensator und Funkenentladung lieferte deutlich weniger Aminosäuren und sehr viel mehr Kohlenwasserstoffe [36]. Um die höchste Ausbeute an Aminosäuren zu erreichen, wurde der Gehalt an Wasserstoff in der Atmosphäre so angepasst, dass sie auch bei höheren Oxidationszuständen des Kohlenstoffs (z. B. CO und CO_2) ausreichend reduzierend war [6].

Die Funkenentladung in der Methan-Ammoniak-Wasserstoff-Atmosphäre lieferte hauptsächlich Aldehyde ($-\text{CHO}$) und Cyanwasserstoff (HCN). Weitere wahrscheinliche Produkte der Funkenentladung waren Amine ($-\text{NH}_2$), Nitrile/Cyanide ($-\text{C}\equiv\text{N}$) und Isonitrile ($-\text{N}\equiv\text{C}$) [36, 38]. Dabei entstanden die Gase Kohlenstoffmonoxid (CO) und Wasserstoff (H_2). Wasserstoff wurde dem Experiment anfänglich hinzugefügt, um reduzierende Bedingungen zu schaffen. Jedoch wurden keine Unterschiede festgestellt, wenn kein Wasserstoff hinzugefügt wird [36].

Neben der direkten Bildung von Aminosäuren aus den Radikalen und Ionen des Funken wurde die Strecker-Synthese zur Bildung von Aminosäuren vorgeschlagen [36, 39].

Aldehyde und Cyanide reagieren dabei Aminosäuren. In Experimenten, in denen Miller das Experiment nur mit Wasserstoff, Cyanwasserstoff und Aldehyden startete, erhielt er ähnliche Ergebnisse wie zuvor. Die Strecker-Synthese scheint damit die wesentliche Lieferantin von Aminosäuren zu sein [39].

Kohlenwasserstoffe können im Funken durch Kondensation von Formaldehyd entstanden sein [36].

Es wurden verschiedene organische Säuren gefunden, die durch die Hydrolyse von Nitrilen entstehen konnten. Dies ist auch ein möglicher Syntheseweg für Alanin, das nicht in der Strecker-Synthese gebildet werden kann [36, 39].

Miller fügte dem Experiment Ammoniumeisen(II)-sulfat $((\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2)$ hinzu, um mögliche Katalysen des Eisens zu untersuchen. Ein Einfluss der Eisenverbindungen ließ sich in den Ergebnissen nicht eindeutig belegen [39].

In Experimenten, in denen über eine Woche Proben aus der kondensierten Phase des Experiments extrahiert wurden (U-Rohr), wurde eine Entwicklung auf der Zeitskala von Tagen beobachtet. Aminosäuren entstanden kontinuierlich bis zu einem Sättigungswert, Ammoniak wurde kontinuierlich abgebaut und Cyanwasserstoff und Formaldehyd wurden in den ersten Tagen gebildet und dann wieder abgebaut [39].

In einem zweiten Aufbau erhöhte ein Aspirator die Zirkulationsgeschwindigkeit der Gase und die Entladungen fanden direkt über dem kochenden Wasser statt [36]. Das Experiment lieferte ähnliche Mengen an Aminosäuren und anderer organischer Substanzen [40]. Es wurden jedoch überwiegend hydroxylierte Substanzen (-OH) gefunden, die möglicherweise aus der erhöhten Wasserdampfdichte in der Region des Funkens resultierten [41].

Ein dritter Aufbau verwendete eine stille Entladung anstatt der Funkenentladung [36]. In den Experimenten wurden deutlich weniger Aminosäuren detektiert [40]. Es wurden ähnlichen Mengen an Aldehyden aber kein bzw. sehr viel weniger Cyanwasserstoff gefunden als in den Experimenten mit den anderen Aufbauten [39].

2.4.3 Experimente zur präbiotischen Evolution

Es gibt verschiedene Theorien, wie komplexe, organische Moleküle auf der frühen Erde entstehen konnten. Sie schließen sich nicht aus, sondern bewerten die Einflüsse der Prozesse auf der Urerde unterschiedlich. Den Theorien ist gemein, dass sie reduzierende Bedingungen zur Bildung der Substanzen fordern [27]. Oxidation von organischen Molekülen führt zu ihrer Zersetzung unter Bildung von Kohlenstoffdioxid.

Nach der Einschlag-Hypothese wurden organische Substanzen durch Meteoriteneinschläge auf die Erde gebracht. Sie wird durch die Tatsache gestützt, dass auf der frühen Erde in kurzer Zeit zahlreiche Meteoriten einschlugen (Abschnitt 2.4.1). Außerdem gibt es Belege für die Existenz organischen Materials im interstellaren Raum sowie auf Meteoriten [42, 43, 44, 45].

Eine andere Idee verortet die Entstehung erster organischer Moleküle auf der Erde an Tiefseevulkanen an denen u. a. Schwefelwasserstoff austritt (H_2S). Hier könnten Mineralien katalytisch wirken und die exergonische Reaktion von Eisen(II)-sulfid und Schwefelwasserstoff könnte die nötige chemische Energie liefern, um Kohlenstoffmonoxid oder -dioxid zu reduzieren und damit komplexere organische Moleküle zu erzeugen [46].

Einer weiteren These zufolge sind erste organische Moleküle auf der Erde durch Reaktio-

nen in einem wässrigen Medium oder mit Gasen der Atmosphäre (z. B. Kohlenstoff CO, Kohlenstoffdioxid CO₂, Methan CH₄, Stickstoff N₂, Ammoniak NH₃) entstanden. Als Energiequellen für die Reaktionen kommen z. B. Lichtenergie der Sonne, Energie durch Meteoriteneinschläge, durch radioaktive Zerfälle, elektrische Entladung, chemische Energie durch Reaktionen und Hitze der Erdoberfläche in Frage.

Präbiotische Synthese von Aminosäuren

Aminosäuren sind die Bausteine von Proteinen und spielen damit eine entscheidende Rolle in allen lebenden Zellen. In verschiedenen Experimenten, welche die Bedingungen auf der präbiotischen Erde nachstellen, entstehen Aminosäuren [6, 47]. Die Experimente unterscheiden sich im Wesentlichen durch die Zusammensetzung der Ausgangsstoffe, die Energiequellen, aber auch in ihren Ausbeuten der verschiedenen Aminosäuren.

In einem Glaskolben, gefüllt mit Wasser und einer Atmosphäre aus Kohlenstoffmonoxid (CO), Kohlenstoffdioxid (CO₂) und Stickstoff (N₂), wurden Partikel (Protonen, Heliumkerne und Elektronen) mit Energien von 2,5 MeV bis 1 GeV eingestrahlt. In der gelblichen Lösung wurden verschiedene Aminosäuren (vornehmlich Glycin, Asparaginsäure, Serin und Alanin) nachgewiesen. [48]

Die Photosynthese von Aminosäuren wurde in einer wässrigen Lösung aus 3 % Paraformaldehyd, die in Anwesenheit von anorganischen Katalysatoren mit Licht (500 W, Wolframlampe) bestrahlt wurde, nachgewiesen [49]. Auch im Gasgemisch des Miller-Experiments wurden Aminosäuren durch UV-Bestrahlung gebildet, wenn hier das Methan durch Ethan ersetzt wurde [50].

Schockwellen sind eine weitere Energiequelle, die auf der Urerde aufgrund von Meteoriteneinschlägen und Blitzen vorhanden waren. Einer schnellen Kompression von Gas, die es rasch erhitzt, folgt eine Ausdehnung und damit Abkühlung. In Experimenten mit Gasmischungen verschiedener kohlenwasserstoffhaltiger Gase (z. B. Methan, Ethan), Ammoniak und Wasser in einem Stoßrohr wurden u. a. Aminosäuren nachgewiesen [51]. Weitere Produkte waren Aldehyde und Cyanwasserstoff.

Aminosäuren wurden auch als Ergebnis chemischer Energie durch die Reaktion einfacher Substanzen gefunden. Mischungen aus Cyanwasserstoff und Ammoniak bei 90 °C [52] sowie Paraformaldehyd und Hydroxylaminhydrochlorid (ClH₄NO) bei 80 - 100 °C [47] ergaben zahlreiche Aminosäuren (u. a. Asparaginsäure, Threonine, Glycin, Alanin). Des Weiteren entstanden organische Säuren wie Ameisensäure, Milchsäure, Glycolsäure [47] und Harnsäure [52].

Die Entstehung von Aminosäuren durch thermische Energie wurde auch berichtet [53].

Präbiotische Synthese von Nukleobasen

Die Nukleobasen Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin und Uracil sind als Bausteine der DNA und RNA von besonderem Interesse [54].

Adenin wurde durch das Erwärmen einer Lösung von Ammoniumhydroxid und Cyanwasserstoff auf 90 °C synthetisiert [55]. Genauere Untersuchungen und Modifikationen brachten die Synthese weiterer Purine hervor [56]. Pyrimidine konnten durch Reaktionen von Cyanoacetylen (C₃HN) mit Cyanat (CHON) hergestellt werden [57]. Cyanoacetylen

kann das Produkt eines Funkens in einer präbiotischen Atmosphäre sein [58] und die Bildung von Cyanaten unter präbiotischen Bedingungen wurde gezeigt [57]. Nukleobasen wurden auch auf Meteoriten gefunden [6].

Präbiotische Synthese von Kohlenhydraten

Kohlenhydrate sind aus Monosacchariden (z. B. Glucose $C_6H_{12}O_6$) aufgebaut. Monosaccharide sind Aldehyde ($-CH=O$) oder Ketone ($-C=O-$), die mindestens zwei Hydroxylgruppen ($-OH$) haben. [59]

Bereits Ende des 19. Jh. wurde die Formose-Reaktion entdeckt, in der bis zu 40 Zucker aus einfachen Bausteinen entstehen [6]. In einer alkalischen Lösung aus Formaldehyd (CH_2O) laufen in Anwesenheit von Metallhydroxiden eine Vielzahl von Parallel- und Folgereaktionen (Abschnitt 2.1.4) ab, deren genaue Abläufe sowie Produkte noch nicht vollständig identifiziert sind [60].

Calcium bildet in dem Formose-Gemisch Komplexe mit den organischen Substanzen und wirkt katalytisch. In der Reaktion konkurrieren zunächst zwei Reaktionswege. Zum einen reagieren zwei Aldehyde ($R-COH$) zu einer Säure ($R-COOH$) und einem Alkohol ($R-CHOH$) (Cannizzaro-Reaktion). Zum anderen kann ein autokatalytischer Prozess (Formose-Primärreaktion) einsetzen, der aus zwei Formaldehyd-Molekülen Glycolaldehyd ($C_2H_4O_2$) produziert. Die folgenden Sekundärreaktionen bilden Kohlenhydrate wie Hexosen und Heptosen, die wiederum weitere Reaktionen katalysieren [61, 62]. Welche der beiden Reaktionspfade überwiegt, hängt von den Konzentrationen der Formose und des Calciums ab. Sind die Konditionen so, dass die Formose-Reaktion überwiegt, so verläuft die Cannizzaro-Reaktion verhältnismäßig langsam, kann aber weiter Formaldehyd sowie später entstehende Aldehyde umwandeln. Das Gemisch wird daher mit der Zeit saurer. In einer späteren Phase erfolgt die Zuckerbildung nicht mehr über weitere Formaldehyd-Additionen sondern durch Selbst- und Mischadditionen der niederen Zucker. [61, 62]

Neben der Formose-Reaktion wurden Kohlenhydrate auch in Experimenten zu präbiotischen Synthesewegen gefunden. In Experimenten mit Glimmentladungen in einer Atmosphäre aus Wasser, Methan und Ammoniak konnten Monosaccharide sowie polysaccharid-ähnliche Moleküle identifiziert werden [63].

Von besonderem Interesse sind Zucker, die in der RNA und DNA vorkommen. Die Synthese der Ribose ist für die Entstehung der RNA-Welt (Abschnitt 2.4.4) von Bedeutung. Zwar entsteht z. B. in der Formose-Reaktion auch Ribose, jedoch ist sie instabil [64], so dass sie in der präbiotischen Synthese entweder sofort zu einem Nukleotid weiter reagieren musste oder stabilisiert wurde. Wird Ribose in einem Gemisch aus Formaldehyd und Glycolaldehyd hergestellt (wie in der Formose-Reaktion), ergibt sich nach einiger Zeit ein bräunliches, polymeres Gemisch, das schwer zu charakterisieren ist. Die Zugabe von Boraten (Salze der Borsäure) verhindert diese Reaktionen und stabilisiert damit die Ribose [64].

Zuckeralkohole und Zuckersäuren wurden außerdem auf Meteoriten nachgewiesen [6].

Präbiotische Synthese von Lipiden

Biomembranen sind aus Lipiden aufgebaut. Fettsäuren, die Bausteine der Lipide, sind Kohlenwasserstoffketten (verschiedener Längen, verschiedener Sättigungen) mit Carbonsäuregruppe (-COOH) am Ende [59].

Buttersäure wurde als einfachste Fettsäure ebenfalls in den Experimenten mit Cyanwasserstoff, in denen auch Aminosäuren gebildet wurden, nachgewiesen [52]. In anderen Experimenten wurde Cyanwasserstoff zur Bildung von Lipiden verwendet [65].

In einer Lösung aus Ameisen- und Oxalsäure bilden sich über einen breiten Massenbereich Lipide (2 bis 35 Kohlenstoffatome) bei 150 °C in einem Druckgefäß [66].

Cyanwasserstoff

Cyanwasserstoff (HCN) wird eine wesentliche Bedeutung in der chemischen Evolution zugeschrieben. Er ist wahrscheinlich eines der ersten Moleküle, die sich unter präbiotischen Bedingungen gebildet haben. Er wurde in Experimenten zur chemischen Evolution (z. B. dem Miller-Experiment) aber auch im interstellaren Raum nachgewiesen [6, 36, 65] und in Simulationen zur Chemie der Uratmosphäre vorhergesagt [67].

Es wird angenommen, dass Cyanwasserstoff ein wesentlicher Baustein für die Bildung von Biomolekülen wie Adenin [68] und anderer Purine [6] und Aminosäuren [39] war. Cyanwasserstoff ist außerdem bekannt für Selbstkondensation, wobei viele verschiedene Polymere entstehen, deren Synthesewege nur für die Anfangsstadien geklärt sind [69, 70]. Adenin ist dabei das Pentamer des Cyanwasserstoffs. Außerdem entstehen längere Polymere, u. a. Heteropolypeptide und polymerisierte Dimere ($(\text{H}_2\text{C}_2\text{N}_2)_n$) [71, 72]. Glycolonitril, ein Produkt von Formaldehyd (CH_2O) mit Cyanwasserstoff, fördert die Polymerisation [73]. Es gibt Hinweise auf die Bildung cyclischer Polymere [70]. Unter einfachen Bedingungen entstehen aus einer wässrigen Lösung aus Ammoniumcyanid bereits Aminosäuren, Fettsäuren und Purine [52]. Das Gemisch wurde ausführlich studiert und beinhaltet über 1600 Substanzen [69, 70].

2.4.4 Informationsspeicher in einem präbiotischen Gemisch

Es wurden theoretische Modelle vorgeschlagen, die es einem ausreichend komplexen chemischen Gemisch erlauben würden, Nichtlinearitäten und Autokatalyse zu erzeugen [19, 24]. Diese könnten zu einer Musterbildung in einem chemischen System geführt haben, die als ein Speicher von Information aufgefasst werden kann (Abschnitte 2.2.4 und 2.3.3).

Die „Metabolismus-zuerst-Hypothese“ sieht die Ursprünge heutiger Lebensformen in einer zunehmenden Diversifikation eines chemischen Netzwerks, das selbstreproduzierende Einheiten ohne ein zugrunde liegendes Genom hervorbrachte [74]. Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (engl. *polycyclic aromatic hydrocarbon*, PAH) können Licht im nahen UV-Bereich absorbieren und werden als präbiotische Lichtsammelkomplexe diskutiert, die in einem Reaktionsnetzwerk Energie zur Verfügung stellen konnten [70].

Die Hypothese der RNA-Welt hingegen geht von einem System von RNA-Molekülen aus, die Reaktionen katalysieren und gleichzeitig Informationen speichern konnten [75]. Die

Polymerisation von Uracil-Nukleotiden konnte in zyklisch temperiertem Eis nachgewiesen werden [76] und es gibt weitere Experimente, welche die Verknüpfung von Nukleotiden unter präbiotischen Bedingungen zeigen [27]. Wie sich jedoch RNA bilden konnte, ist nicht geklärt. Wegen der Instabilität der Ribose, werden Vorgängermoleküle der RNA und DNA diskutiert. In diesen Peptidnucleinsäuren (engl. *peptide nucleic acid*, PNA) könnten Peptidketten als Rückgrat dienen und Nukleobasen tragen [77].

Es gibt viele weitere Beispiele für Polymerisierung unter präbiotischen Bedingungen. Aminoacetonitril, das auch im interstellaren Raum gefunden wurde [78], polymerisiert und könnte eine Vorstufe zu Polyglycin darstellen, woraus in weiteren Schritten komplexere Polypeptide entstanden sein könnten [26]. In einem Gemisch aus Methan, Ammoniak und Wasserdampf wurde die Bildung von Polysaccharid-ähnlichen und Polypeptid-ähnlichen Substanzen als Ergebnis einer Glimmentladung gefunden [63]. Cyanwasserstoff, das in wässrigen Medien auf vielfältige Weise polymerisiert, wird als Präkursor sowohl für Polypeptide als auch Polynukleotide diskutiert [72].

3 | Methoden

Es wurden verschiedene Aufbauten entworfen, die es erlaubten, komplexe organische Gemische herzustellen. Dabei wurden vor allem Abwandlungen des Miller-Experiments eingesetzt.

Um die zeitliche Entwicklung dieser Gemische zu verfolgen, wurden Systeme zur automatischen Probenentnahme entwickelt. Die Proben wurden mit verschiedenen Techniken analysiert, wobei die Massenspektrometrie als Standardinstrument eingesetzt wurde.

3.1 Experimentelle Aufbauten

3.1.1 Miller-Experimente

In einem, im Vergleich zum Originalexperiment modifizierten, Aufbau wurde ein Vierhalskolben (4 bzw. 5l, Maßanfertigung, Gauer Glas) mit zwei Wolframelektroden (WHS Sondermetalle) direkt auf einen 0,5 bzw. 1l Kolben gesetzt, welcher die kochende Lösung enthielt (Abb. 3.1). Es stellte sich ein Druck von etwa 1,2 bar ein.

Das Hochspannungsbauteil (Zeilentransformator) wurde von einem Netzteil (LSP-1403, Voltcraft) mit 20 W versorgt und erzeugte eine Sägezahnspannung mit einer Amplitude von etwa 10 kV.

Die Apparatur war im Vergleich zum originalen Aufbau leichter zu bauen und die Gefahr von Lecks war geringer. Außerdem lief der Versuch schneller ab. Typische Laufzeiten lagen bei 48 h. Allerdings konnten hier während des Experiments keine Proben aus einer kondensierten Lösung entnommen werden sondern nur aus der kochenden Lösung. Nach Abschalten des Experiments wurde der Vierhalskolben abmontiert und mit Wasser oder einem organischen Lösungsmittel gespült. Die Proben der Ablagerungen im Vierhalskolben wurden ebenfalls im Massenspektrometer gemessen.

Bei dem Aufbau des Experiments wurde darauf geachtet, Kunststoff- und Gummiverbindungen zu eliminieren, um mögliche Kontaminationen auszuschließen. Es wurde daher auf Bauteile aus Teflon oder PEEK zurückgegriffen. Zur Dichtung der Schliffe wurde Teflonpaste (PTFE-Paste, Carl Roth) verwendet. Die Elektroden wurden über Teflonführungen in die Schliffe der Glasapparatur eingefügt. Kapillaren wurden über Teflonbeschichtete Septen in das Experiment eingeführt.

Die Elektroden stumpften während der Experimente ab. Sie wurden daher regelmäßig in der Werkstatt der Universität oder auf der Drehbank in der Arbeitsgruppe (Biologische Experimentalphysik, Universität des Saarlandes) angespitzt.

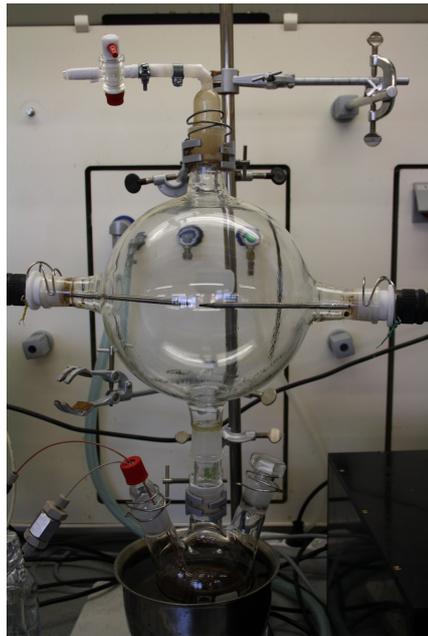


Abbildung 3.1: Aufbau des Miller-Experiments. Der Aufbau unterschied sich vom ursprünglichen Experiment dadurch, dass ein zusätzlicher Kondensator und ein U-Rohr zum Auffangen des Kondensats fehlten.

Miller-Experiment mit Blitzen auf die Oberfläche der Lösung

In einem weiteren Aufbau wurden die Elektroden nicht in der Gasphase sondern auch in der flüssigen Phase eingesetzt. Dabei tauchte die Kathode in die Lösung, während sich die Anode einige Millimeter über der Oberfläche befand. Das Gesamtvolumen betrug weiterhin etwa 5-6 l. Manche Versuche wurden mit kochendem, andere mit Wasser bei Raumtemperatur durchgeführt.

Kapillaritron

In Anlehnung an das Miller-Experiment wurde eine miniaturisierte Form entworfen, in der einem Reaktionsraum (Glas, Gesamtvolumen 25 ml) ständig positiv und negativ ionisiertes Gas (Methan, Ammoniak) hinzugefügt wurde (Abb. 3.2). Dazu wurde ein Kapillaritron [79, 80] gebaut. Es bestand aus einer konisch zulaufenden Quarzkapillare (\varnothing_i 1,0 mm, \varnothing_a 3,0 mm, Vogelsberger Quarzglasstechnik), in die ein angespitzter Wolframdraht (\varnothing 1,0 mm, Wolfram-Elektroden W-grün, Drumm-GmbH) wenige Millimeter vor der Spitze eingesetzt war. Dieser wurde an den Pluspol der Hochspannungsquelle (wie im Miller-Experiment) gelegt und die Spitze ragte wenige Millimeter über der Wasseroberfläche. Als Gegenpol wurde ein baugleiches Kapillaritron in das Wasser gesetzt. Der Gasstrom verhinderte, dass Wasser in die Kapillare gelangte. Die Hochspannung erzeugte am Ausgang des Kapillaritrons ein Plasma und Überschläge zwischen Kapillaritron und Wasser. Die Gaszufuhr wurde an Feindosierventilen (SS-SS2-VH, Swagelok) geregelt. Ein Edelstahlrohr verband die Reaktionskammer mit der Gaszuleitung. Damit konnten gasförmige Produkte aus der Reaktionskammer erneut durch das Kapillaritron fließen. Die Verbindungsstücke und Roh-

re ($\text{\O} 1/8''$) bestanden aus Edelstahl und waren mit Klemmverschraubungen (Swagelok) verbunden. Für die Zuleitung der elektrischen Leitungen wurden nicht leitende Verschraubungen aus PFA (Swagelok) gewählt, da hier blanke Kontakte verbunden wurden. Der Deckel des Reaktionsgefäßes ist ein Schraubverschluss mit einer PTFE beschichteten Siliconkautschuk-Dichtung. Es sind Löcher eingestanz, welche die Zuleitungen zu der Kammer führen und luftdicht abschließen.

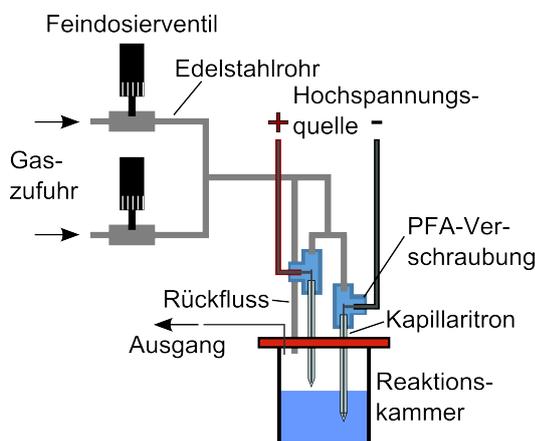


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des Aufbaus eines Experiments mit einem Kapillaritron als Ionen- und Radikalquelle. Edelstahlrohre mit zwei Gasanschlüssen führen die Gase in zwei Kapillaritronquellen, die an den Plus- bzw. Minuspol der Hochspannungsquelle angeschlossen waren. Ein Rückfluss bewirkt eine Zirkulation der Gase durch die Apparatur.

3.1.2 Elektrolyse und Redoxgradient

Zur Erzeugung und dem Antrieb komplexer Gemische wurden (elektrochemische) Spannungen an organische Lösungen angelegt. Als Pole wurden entweder eine Anode und eine Kathode oder chemische Redoxpole gewählt.

Elektrolyse

Bei der Elektrolyse treibt die Spannung zwischen Anode und Kathode chemische Prozesse an. Zwei Elektroden wurden dazu in ein Glasgefäß mit einer Lösung getaucht und es wurde eine Spannung zwischen den Elektroden angelegt. Es wurden Spannungen oberhalb der üblichen Potentialbereiche gewählt ($-2,4\text{ V} - +2,4\text{ V}$), um viele Reaktionen zuzulassen [2]. Als Lösungsmittel wurden Wasser oder Methanol eingesetzt und als Elektrodenmaterial wurde Graphit gewählt. In einigen Versuchen wurden Eisenverbindungen als Katalysator hinzugegeben.

Eine Stärke dieses Verfahrens ist, dass Spannungen stufenlos eingestellt werden können und damit ein breiterer Bereich an Redoxpotential möglich ist. Jedoch ist die Elektrolyse in der Regel langsamer als Reaktionen an chemischen Redoxpolen [2].

Redoxpole

Ein organisches Gemisch wurde zwischen einem oxidierenden Pol und einem reduzierenden Pol gelagert. Die chemischen Mischungen wurden dazu in ein U-Rohr aus Glas gefüllt. Die beiden Enden wurden über Teflonschläuche mit Glaskolben verbunden (Abb. 3.3). Der eine Kolben wurde mit Wasserstoff gefüllt. Der andere Kolben war mit Luft gefüllt und enthielt zwei Elektroden zwischen denen ein Funke u. a. Ozon als oxidierendes Reagenz erzeugte. Ozon wurde durch eine chemische Nachweisreaktion als ein Produkt des Funkens nachgewiesen¹.

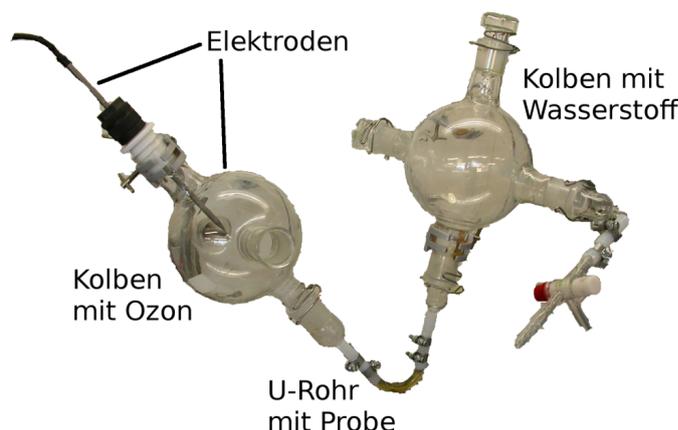


Abbildung 3.3: Aufbau des Experiments zum Redoxpotential. An eine komplexe organische Mischung wird ein Redoxpotential angelegt, das durch die Pole eines reduzierenden Gases (Wasserstoff) und eines oxidierenden Gases (Ozon) gebildet wird. Das Ozon wurde mithilfe eines Funkenüberschlags in Luft erzeugt.

Zur Detektion eines räumlichen Musters wurden einzelne Fraktionen im U-Rohr entnommen. Um eine Vermischung zu verhindern, wurde das U-Rohr in Eis eingepackt, so dass die Lösung darin gefror. Dann wurde das U-Rohr ausgebaut. Mit einem Spatel wurden die Fraktionen abgetragen und in Probengefäßen aufbewahrt bis sie im Massenspektrometer gemessen wurden.

3.2 Probenentnahme

Um die zeitliche Entwicklung einer chemischen Lösung zu untersuchen, wurden während eines Versuches regelmäßig Proben entnommen. Es wurden automatische Probenentnahmesysteme entwickelt, die es erlaubten, zu exakten Zeitpunkten oder kontinuierlich Proben zu entnehmen.

Zunächst wurden die Proben durch ein System aus zeitgesteuerten Ventilen und Pumpen zu diskreten Zeitpunkten in Probenröhrchen abgefüllt (Abschnitt 3.2.1). Zur Verbesserung

¹ Ein Gewebetuch wurde in einer Lösung aus jeweils 0,83 % Kaliumiodid und Stärke getränkt. Das Tuch verfärbte sich als Reaktion auf das Ozon dunkel.

der zeitlichen Auflösung wurden die Proben später kontinuierlich ins Massenspektrometer gepumpt (Abschnitt 3.2.2).

3.2.1 Probenentnahme (diskret)

Bei der Probenentnahme zu diskreten Zeitpunkten wurden Proben von einer Pumpe in Probenröhrchen gepumpt. Dabei gaben zwei Zeitschaltungen das Intervall der Probenentnahme sowie die Dauer des Pumpvorgangs vor. Sie steuerten ein Magnetventil, das die Verbindung zum Experiment öffnete und schloss (Abb. 3.4).

Für diesen Aufbau wurde ein Probenfraktionierer modifiziert. Die Konstruktion wurde zweimal mit jeweils leicht unterschiedlichen Fraktionierern aufgebaut (Frac-920, Amersham Biosciences bzw. Frac-100, Amersham Pharmacia). Fraktionierer werden in der Flüssigchromatographie verwendet, um die aufgetrennten Fraktionen eines Gemisches zur weiteren Analyse aufzufangen. Die Modelle, die hier verwendet wurden, haben einen Drehteller, in den Probenröhrchen gestellt wurden. Über den Teller bewegte sich ein Arm, der die probenführende Kapillare hielt.

Hier diente der Fraktionierer dazu, in regelmäßigen Abständen das Probenröhrchen zu wechseln. Diese Abstände konnten eingestellt werden und mussten aufgrund der Vorgabe des Fraktionierers mindestens eine Minute lang sein. Der Fraktionierer erzeugte bei jeder neuen Fraktion ein Ausgabesignal. Dieses löste bei einem elektronischen Zeitrelais (Universal Zeitrelais, H-Tronic) die Monoflop-Funktion aus. Das Relais wurde dabei für eine einstellbare Zeit geschlossen und schaltete ein Magnetventil (Series 411, 3/2U - Universal Operation, Asco). Dieses ließ dann die Probenlösung passieren, die von einer Peristaltikpumpe (Alitea) in die Röhrchen des Fraktionierers gepumpt wurde. Die Zeit, in der das Ventil geöffnet war, die Geschwindigkeit der Pumpe und die verwendeten Kapillare bestimmten die Menge der entnommenen Probe. Sie belief sich in der Regel auf wenige Milliliter.

Im Anschluss an die Entnahme konnte der pH-Wert der Proben gemessen werden, sie konnten zur Messung im Massenspektrometer vorbereitet werden und für weitere Messungen aufbewahrt werden. Für die Messung im Massenspektrometer wurden die Proben mit einer Mischung aus Acetonitril (Rotisol, $\geq 99,95\%$, Carl Roth) und Wasser (Sartorius stedim biotech, arium 611UV oder GENO, Grünbeck) im Verhältnis 1:100 - 10:100 verdünnt.

Das Kapillarstück, welches das Experiment mit dem Ventil verband, bildete ein Totvolumen. Das Volumen enthielt Probenflüssigkeit, die zum Zeitpunkt t dem Reaktionsraum entnommen wurde, jedoch erst zum Zeitpunkt $t + 1$ einem Probenröhrchen zugefügt wurde. Die Kapillaren hatten einen Innendurchmesser von wenigen hundert Mikrometern. Die Länge der Kapillare wurde daher so kurz wie möglich gehalten (wenige Dezimeter), um ein Totvolumen von $< 1 \mu\text{l}$ zu erreichen, das gegenüber dem Probenvolumen vernachlässigbar ist.

Die Proben waren durch die Entnahme der Luft ausgesetzt und wurden auf Raumtemperatur gebracht. Sie trafen damit auf Bedingungen, die anders als im Reaktionsgefäß sind. Dies konnte möglicherweise weitere chemische Reaktionen auslösen, die zu Artefakten führen konnten.

Die Proben standen bis zu einigen Stunden im Fraktionierer, bevor sie weiter analysiert

werden. Dies konnte zusätzlich die Vergleichbarkeit der Proben beeinflussen, wenn diese unterschiedlich lang stehen. Der pH-Wert konnte sich verändern, weil z. B. gelöstes Ammoniak aus den Proben ausgaste.

Ob und wie stark diese Aspekte der Probenentnahme Einfluss auf die Ergebnisse hatten, wird in einer abschließenden Diskussion erläutert (Kapitel 5).

Ein Probenvolumen von wenigen Millilitern war zur Messungen des pH-Werts, aufgrund der Größe der pH-Sonde, notwendig. Zwar konnten mit diesem Verfahren minütlich Proben entnommen werden, jedoch wäre damit dem Experiment ein zu großes Probenvolumen entnommen worden. Bei einer Laufzeit des Experiments von zwei Tagen wurden meistens nicht mehr als 100 - 150 Proben entnommen und deswegen ein Entnahmeintervall von 15 min bis 30 min eingestellt.

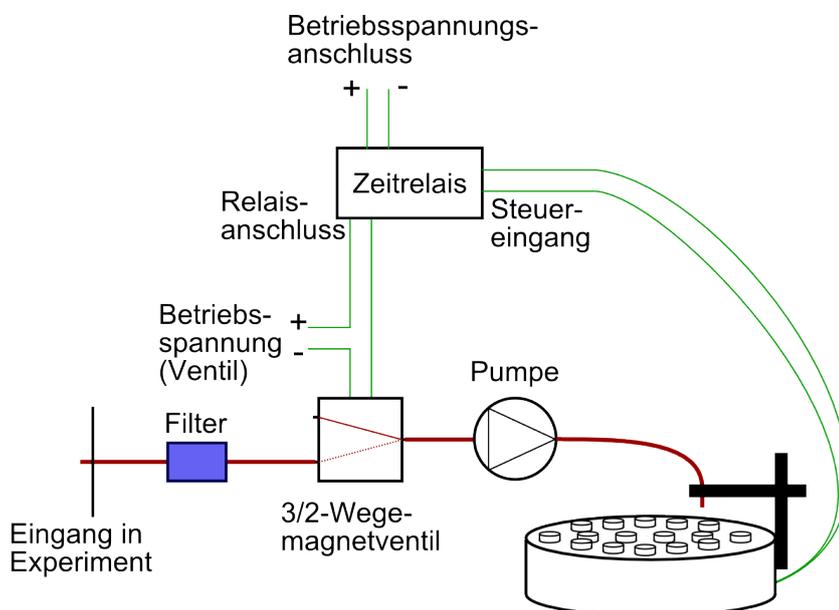


Abbildung 3.4: Schema des Aufbaus zur Probenentnahme zu festgelegten Zeitpunkten. Eine 1/16"-PEEK-Kapillare (rot) tauchte in die Lösung des Experiments. Ein nachgeschalteter Filter (SEMI-PREP Filter 10 μm , Upchurch Scientific) verhinderte das Verstopfen des Entnahmesystems. Die Kapillare war über ein Magnetventil mit einer Peristaltikpumpe und den Probenröhrchen im Fraktionierer verbunden. Die Periode der Probenentnahme wurde im Fraktionierer programmiert. Dieser gab in Abständen der Periodendauer ein Signal an das Zeitrelais, das ein Ventil schaltete (elektrische Leitungen in grün). Das 3/2-Wegeventil hatte drei Kapillaranschlüsse und ließ sich zwischen zwei Positionen schalten. Wenn das Zeitrelais schloss, war der Ausgang zur Pumpe mit dem zum Experiment verbunden und es wurde eine Probe abgepumpt. Im Grundzustand war der Ausgang zur Pumpe mit dem offenen Ausgang verbunden. Damit wurde Probeflüssigkeit, die sich beim Schließen des Ventils noch im Schlauch befand, abgepumpt und das Totvolumen verringert.

3.2.2 Probenentnahme (kontinuierlich)

Die zeitliche Auflösung der Messungen zur Entwicklung eines chemischen Gemisches wurde verbessert, indem das Experiment über Kapillaren direkt mit dem Massenspektrometer verbunden wurde.

Eine Probe wurde mit einer geringen Flussrate (wenige $\mu\text{l}/\text{min}$) dem Experiment entnommen, mit dem Lösungsmittel verdünnt und zum Massenspektrometer gepumpt (Abb. 3.5 a). Dazu mussten die verschiedenen Kapillardurchmesser und -längen angepasst und eine Sequenz von Pumpen und Flussreglern derart gefunden werden, dass ein konstanter Fluss und ein konstantes Mischungsverhältnis gewährleistet ist. Eine Peristaltikpumpe (120U/D1, Watson-Marlow) erlaubte eine Flussrate bis zu $1 \mu\text{l}/\text{min}$. Sie pumpte kontinuierlich die Lösung aus dem Experiment ab. Über den Flussregler und die Mikroliterpumpe wurde die Flussrate und die Stärke des Unterdrucks geregelt, mit dem Proben aus dem Experiment entnommen wurden. In einem T-Stück wurde die Probe mit dem Lösungsmittel gemischt. Dieses wurde von einer HPLC-Pumpe (ProStar 220, Varian) mit fest einstellbarer Flussrate aus einem Reservoir gepumpt. Dabei wurde eine Verdünnung in einem Verhältnis von 1:100 angestrebt. Ein Rückschlagventil verhinderte, dass das Lösungsmittel in die Reaktionskammer des Experiments gepumpt wurde. Die verdünnte Probe wurde in das Massenspektrometer gepumpt. Die gesamte Flussrate ergab sich additiv durch die Rate der HPLC-Pumpe (üblicherweise $50 \mu\text{l}/\text{min}$) und zu einem geringen Anteil durch die Mikroliterpumpe (etwa $1 \mu\text{l}/\text{min}$).

Für eine zusätzliche Messung des pH-Werts enthielt der modifizierte Aufbau eine Abzweigung zu einem pH-Meter (PHR-146S Ultra M micro, Lazar Research Labs) vor Verdünnung der Probe (Abb. 3.5 b). Ein zweiter Flussregler bestimmte, mit welcher Flussrate Probe zur Messung des pH-Werts abgezweigt wurde. Das pH-Meter war in eine Flusskammer (PEEK) eingebaut, die einen Ausgang zu einem Abfallbehälter hatte. Die Flusskammer wurde in der Werkstatt des Fachbereichs Physik, Universität des Saarlandes, angefertigt und bei ihrem Entwurf wurde auf ein möglichst geringes Totvolumen geachtet. Der anfängliche Versuch, das pH-Meter zwischen die Entnahme und dem T-Stück zur Mischung mit dem Lösungsmittel zu stellen, erwies sich als nicht praktikabel. Es zeigte sich, dass die Probenflüssigkeit die Elektrolytlösung (KCl) aus dem pH-Meter ausspülte, die ein starkes Messsignal im Massenspektrometer lieferte und damit die Messung der Probe unmöglich machte. Das pH-Meter musste im Abstand von einigen Dezimetern von den Hochspannungsleitungen der Elektroden des Experiments angebracht werden, da ansonsten das Messsignal gestört war. Die Leitungen wurden zusätzlich mit einem geerdeten Metalldrahtgewebeschauch (Scotch) ummantelt.

Das Verfahren der kontinuierlichen Messung der Proben verbesserte die zeitliche Auflösung der Proben und vermied zudem mögliche Quellen von Artefakten (z. B. Kontakt mit Luft) der diskreten Probenentnahme. Da es kein Totvolumen mehr gab, beschränkte sich eine Vermischung von Proben auf Diffusion während des Transfers. Eine Berechnung des Effekts zeigte, dass dieser für die hier relevanten Zeitskalen zu vernachlässigen ist (Anhang, Abschnitt A.1). Eine Reduktion der zeitlichen Auflösung der Messung durch Adsorption von Substanzen im Inneren der Kapillare wird auch ausgeschlossen, da verschiedene Materialien der Kapillaren (PTFE und PEEK) keine Unterschiede zeigten.

Im Vergleich mit der diskreten Probenentnahme stellte die kontinuierliche Entnahme ei-

ne Verbesserung der zeitlichen Auflösung der Prozesse des Experiments dar. Damit fiel die Probenpräparation im Anschluss an das Experiment weg. Nachteile sind darin zu sehen, dass die optimale Abstimmung der Flüsse die genaue Justage mehrerer Parameter (Flussregler, Pumpen) erforderte und das Mischungsverhältnis der Probe mit dem Lösungsmittel nicht exakt bestimmt werden konnte. Die Proben verschiedener Zeitpunkte des Experiments konnten nicht aufbewahrt werden.

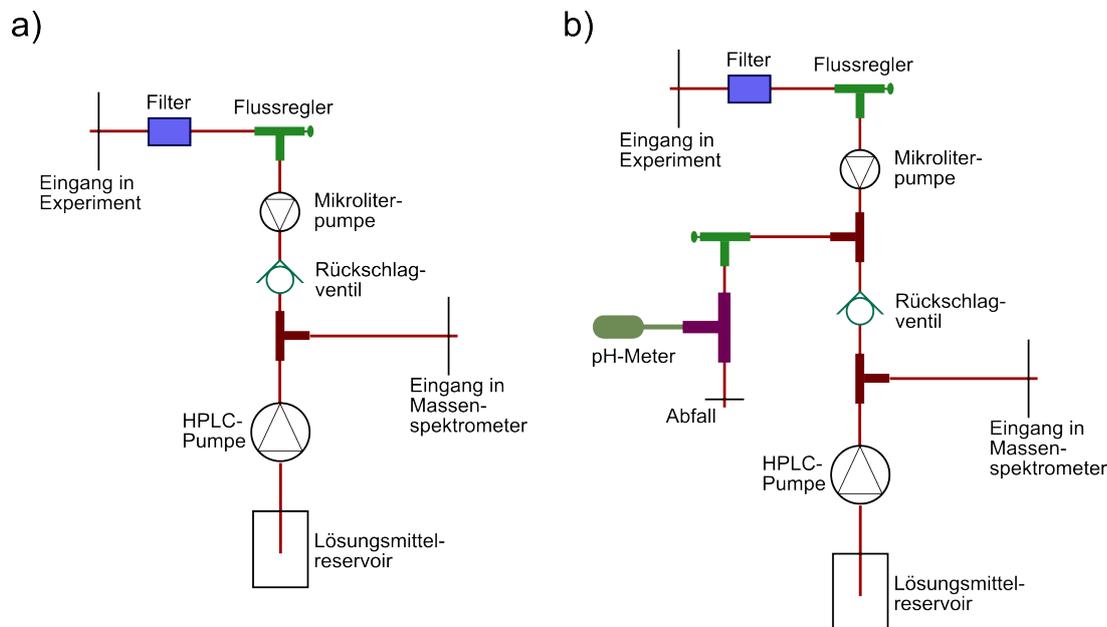


Abbildung 3.5: Schema des Aufbaus der kontinuierlichen Probenentnahme ohne **a)** und mit **b)** zusätzlicher pH-Messung. **a)** Eine 1/16"-PEEK-Kapillare tauchte in die Lösung des Experiments. Ein nachgeschalteter Filter verhinderte das Verstopfen des Entnahmesystems. Über den Flussregler und die Mikroliterpumpe wurde die Flussrate und die Stärke des Unterdrucks geregelt, mit dem Proben aus dem Experiment entnommen wurden. In einem T-Stück wurde die Probe mit dem Lösungsmittel gemischt. Dieses wurde von einer HPLC-Pumpe mit fest einstellbarer Flussrate aus einem Reservoir gepumpt. Ein Rückschlagventil verhinderte, dass das Lösungsmittel in die Reaktionskammer des Experiments gepumpt wurde. Die verdünnte Probe wurde in das Massenspektrometer gepumpt. **b)** Für eine zusätzliche Messung des pH-Werts enthielt der modifizierte Aufbau eine Abzweigung zu einem pH-Meter vor Verdünnung der Probe. Ein zweiter Flussregler bestimmte, mit welcher Flussrate Probe zur Messung des pH-Werts abgezweigt wurde. Das pH-Meter war in eine Flusskammer eingebaut, die einen Ausgang zu einem Abfallbehälter hatte.

3.2.3 Trocknung der Proben

Um Proben zu konservieren und zu verhindern, dass chemische Prozesse auch nach Entnahme bzw. Beenden des Experiments eintraten, wurden die Proben teilweise in einem Konzentrador (Concentrator 5301, Eppendorf) bei 30 °C getrocknet.

3.3 Analyse der Proben

In den Experimenten wurden zufällig neue chemische Substanzen erzeugt. Es wurden daher unspezifische Nachweismethoden eingesetzt. Während der Experimente wurden teilweise über hundert Proben entnommen bzw. Proben wurden kontinuierlich aus dem Experiment gepumpt (Abschnitt 3.2). Daher war eine schnelle Analysemethode notwendig, die eine Echtzeit-Messung der Gemische erlaubte. Die Analyse musste darüber hinaus für wässrige Lösungen geeignet sein.

Die Methode der Massenspektrometrie (Abschnitt 3.3.1) erfüllt diese Anforderungen und wurde für diese Arbeit daher als Standardmethode gewählt. Mit ihr lassen sich die Summenformeln der Substanzen ermitteln, es können jedoch nur bedingt Aussagen über die molekularen Strukturen getroffen werden.

Zur Strukturaufklärung werden in der Analytik oft spektroskopische Methoden eingesetzt. Chemische Bindungen absorbieren die elektromagnetischen Wellen bei für die Bindung charakteristischen Wellenlängen (Infrarotbereich: IR-Spektroskopie, ultravioletter und sichtbarer Bereich: UV/Vis-Spektroskopie). Das Verfahren der IR-Spektroskopie wurde auch für Proben, die im Zusammenhang mit dieser Arbeit angefertigt wurden, verwendet (Abschnitt 4.6.11). Frühere Versuche hatten gezeigt, dass die UV/Vis-Spektroskopie nur bedingt geeignet ist, komplexe organische Mischungen zu untersuchen [81]. Wenn viele verschiedene Verbindungen in den Proben vorliegen, überlagern sich die Absorptionsspeaks der einzelnen Verbindungen. Das Auflösungsvermögen der verwendeten Spektrometer reichte nicht aus, einzelne funktionelle Gruppen sicher zu identifizieren.

Darüber hinaus wurden einige Proben zur Strukturaufklärung mit der Methode der NMR-Spektroskopie gemessen (Abschnitt 3.3.2). Dabei wird die Anregungsfrequenz des Kernspins der Atome eines Moleküls gemessen, die von der elektronischen Umgebung der Atome im Molekül abhängt.

Der Einsatz chemischer Nachweisreaktionen zeigte für viele chemische Gruppen (z. B. Mehrfachbindungen) negative Ergebnisse [82]. Vermutlich gab es zu viele konkurrierende Nebenreaktionen in den Proben, so dass diese Methoden keine verlässlichen Ergebnisse lieferten. Außerdem ist der Arbeitsaufwand hoch, so dass diese Methoden nicht weiter verfolgt wurden.

3.3.1 Massenspektrometrie

In ein Massenspektrometer wird eine flüssige oder gasförmige Probe eingespritzt. Flüssige Proben werden meist zuvor in einem organischen Lösungsmittel verdünnt. Die Substanzen der Probe werden an der Ionenquelle ionisiert und können dann mit elektromagnetischen Feldern gemäß ihres Verhältnisses von Masse zu Ladung (m/z -Verhältnis) aufgetrennt werden. z ist die auf die Elementarladung normierte Ladung der Substanzen. Ein Detektor misst die Auftrennung und erzeugt ein Signal, das in ein Massenspektrum umgewandelt wird. Darin ist die Signalintensität, die von verschiedenen Parametern abhängt, gegen das m/z -Verhältnis aufgetragen. Die verbreitete Notation der x-Achse eines Massenspektrums ist die Angabe m/z [83]. Die Genauigkeit der Messung wird oft relativ in Teilen pro Million (engl. *parts per million*, ppm) angegeben. Molekülmassen werden in der atomaren Masseneinheit *Dalton* (Da) oder u angegeben ($1\text{ Da} = 1\text{ u} \approx 1,66 \cdot 10^{-27}\text{ kg}$).

Massenspektrometer unterscheiden sich in dem Bereich des Masse-Ladungsverhältnisses, in dem sie Moleküle nachweisen können. Die Genauigkeit der Messung sowie das Auflösungsvermögen sind weitere Unterscheidungsmerkmale. Das Auflösungsvermögen bezeichnet das Verhältnis des Masse-Ladungsverhältnisses eines Signals im Massenspektrum zu der Breite des zugehörigen Peaks bei halber Höhe (engl. *full width half maximum*, FWHM). Mit der Massenspektrometrie können Aussagen über die Quantitäten von Substanzen getroffen werden. Dies ist vor allem möglich, solange das Messsignal proportional mit der Menge der Substanzen steigt. Es wird von dem dynamischen linearen Bereich des Detektors gesprochen.

Neben ihrer Masse kann die Zusammensetzung einer Substanz über ihr Isotopenmuster im Massenspektrum ermittelt werden. Zu einem bestimmten Anteil werden in die Moleküle bei ihrer Synthese Isotope von Elementen eingebaut. Neben den Hauptpeaks sind in den Spektren dann benachbarte Peaks geringerer Intensität zu sehen. Da der natürliche Isotopenanteil ein Charakteristikum jedes Elements ist, können die Intensitätsverhältnisse und die Lage der Nebenpeaks die Identifikation der Substanz unterstützen.

Der Massendefekt ist die Differenz zwischen der exakten Masse einer Substanz und ihrer gerundeten nominalen Masse. Er entsteht durch den Einbau von Wasserstoff-, Stickstoff- und Sauerstoffatomen. Die Masse eines Kohlenstoffatoms ist definiert als 12,00 Da, es hat damit einen Massendefekt von null. Ein positiver Massendefekt deutet auf die Entstehung organischer Moleküle hin, da Wasserstoff (1,00783 Da) und Stickstoff (14,00307 Da) positive Massendefekte haben. Anorganische Substanzen wie z. B. Natrium (22,98977 Da) und Chlor (34,96885 Da) aber auch Sauerstoff (15,99492 Da) haben oft negative Massendefekte. In einem Massendefekt-Masse-Diagramm liegen Substanzen, die repetitiv aus den selben Grundeinheiten zusammengesetzt sind, auf einer Geraden.

Die Massenspektrometrie (MS) wird häufig mit chromatographischen Methoden wie der Gaschromatographie (GC), der Flüssigchromatographie (engl. *liquid chromatography*, LC) oder der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC) kombiniert. Die Chromatographie bezeichnet die Auftrennung des Probengemisches in seine einzelnen Substanzen gemäß Eigenschaften wie z. B. der Größe oder Polarität. Damit lassen sich weitere Aussagen über Eigenschaften wie funktionelle Gruppen oder die Polarität der Substanzen der Probe treffen.

Das Verfahren der HPLC wurde in vorherigen Versuchen für komplexe organische Gemische angewandt [81]. Es zeigte sich, dass es für wässrige Proben nur einen eingeschränkten Markt an Chromatographiesäulen gibt. Oft konnten die Proben nur unzureichend aufgetrennt werden. Da in der Chromatographie viele Parameter wie das Lösungsmittel, die Temperatur und die Flussgeschwindigkeit eine Rolle spielen, ist die Optimierung der Methode ein aufwändiger Prozess und es konnten nur bedingt Aussagen über das Retentionsverhalten getroffen werden. Die Messung einer Probe dauert mehrere Minuten. Damit ist die Methode angesichts von über hundert Proben pro Experiment für den standardisierten Gebrauch im Rahmen dieser Arbeit zu aufwändig. Eine kontinuierliche Messung ist nicht möglich, da die Messung der Retentionszeiten eine Injektion der Probe (Probenaufgabe) zu einem diskreten Zeitpunkt erfordert.

Ionisation

Für die m/z -Separation müssen die Moleküle des Analyten geladen vorliegen. Sie werden daher am Eingang des Massenspektrometers ionisiert und mit elektrischen Feldern in das Gerät transferiert. Dabei können entweder positiv oder negativ geladene Substanzen gemessen werden. Die Ionisierung geschieht bei den hier vorgestellten Verfahren durch die Anlagerung oder Abgabe eines Ladungsträgers. Der Ladungsträger ist dabei in der Regel ein Proton (H^+), es kann sich aber auch um Metallionen wie Natrium (Na^+) oder Kalium (K^+) bzw. Addukte wie das Ammoniumion (NH_4^+) handeln. Je nach molekularer Struktur lassen sich einige Substanzen besser positiv oder negativ ionisieren und sind damit teilweise nur in einem Ionisationsmodus sichtbar. Im Analyten kommt es zu Konkurrenzeffekten bei der Ionisierung, da manche Substanzen besser als andere zu ionisieren sind. Dies kann dazu führen, dass Signale von Molekülen in der Präsenz anderer Substanzen unterdrückt werden. Eine Veränderung des pH-Werts kann darüber hinaus die Ionisierbarkeit beeinflussen und Ionisation bestimmter Substanzen bevorzugen.

Elektrospray-Ionisation Die Elektrospray-Ionisation (ESI) wird bei flüssigen Proben angewandt und ist eine der am weitesten verbreiteten Ionisationsmethode. Sie gilt als eine „weiche“ Ionisierung, da sie die Substanzen nicht fragmentiert.

Die Probe (Analyt) wird dazu in einem Lösungsmittel verdünnt. ESI ist mit den meisten Lösungsmitteln anwendbar. Das Prinzip bei dieser Ionisierung besteht darin, dass eine flüssige Probe als ein geladenes Spray verdampft wird und Ionen zurück lässt, die weiter im Massenspektrometer analysiert werden. ESI ist geeignet für größere (bis zu 85000 Da), nichtflüchtige Moleküle und wird oft für Proteine und Nukleinsäuren angewandt, die mehrere Ladungen pro Molekül tragen können. Kleinere Moleküle (< 1000 Da), sind in der Regel einfach geladen. Das Masse-Ladungsverhältnis ist dann mit der Masse gleichzusetzen. Dies ist in dieser Arbeit für alle Messungen der Fall. Die Daten der Spektren werden daher auch oft direkt in *Dalton* (Da) angegeben. [84, 85]

Die Probe tritt in das Massenspektrometer durch eine Kapillare ein, die gegenüber einer Gegenelektrode auf einem Hochspannungspotential von 2,5 - 4kV liegt (Abb. 3.6). Das starke elektrische Feld führt zu einer Ionisierung der Moleküle des Analyten. Das Vorzeichen der Ladung richtet sich dabei nach dem Vorzeichen des Hochspannungspotentials, so dass sowohl negative als auch positive Ionen des Analyten erzeugt werden können (ES-/ES+-Modus).

Stickstoff wird als Zerstäubergas eingesetzt, so dass die Probe die Kapillare als geladenes Spray verlässt. Ein Fluss von geheiztem Stickstoff (Desolvatisierungsgas) umströmt die Tröpfchen und verdampft das Lösungsmittel. Die Ionisierung findet bei atmosphärischem Druck statt (im Gegenteil zur z. B. Elektronenionisation). Die geladenen, nichtflüchtigen Analyten bleiben im Tröpfchen und damit erhöht sich durch das Verdampfen des Lösungsmittels die Oberflächenladungsdichte der Tröpfchen. Wenn die Abstoßung durch die Ladungen der Analyten größer ist als die kohäsiven Kräfte der Probe (Rayleigh-Limit), kommt es zu einer „Coulomb-Explosion“ und das Tröpfchen zerplatzt in mehrere kleinere Tröpfchen. Dadurch ist die gesamte Oberfläche wieder erhöht und das Rayleigh-Limit wieder unterschritten. Der Prozess des Verdampfens des Lösungsmittels und die Coulomb-Explosionen finden abwechselnd statt, bis nur noch die ionisierten Analyten übrig bleiben.

[84, 85, 86]

In einer „Z-Spray“-Quelle werden die Ionen auf eine „Z“-förmige Flugbahn gelenkt (Abb. 3.6). Zwei kegelförmige Elektroden (Eingangs- und Extraktionskegel) sorgen für eine zweifache Ablenkung der Ionen um etwa 90°. Damit können ungeladene Moleküle nicht ins Innere des Massenspektrometers gelangen und sich dort als Verunreinigungen ablagern. Sie setzen sich vor dem Eingangskegel auf einer leicht zu reinigenden Blende ab oder werden über das Vakuumsystem entfernt. [84, 85, 86]

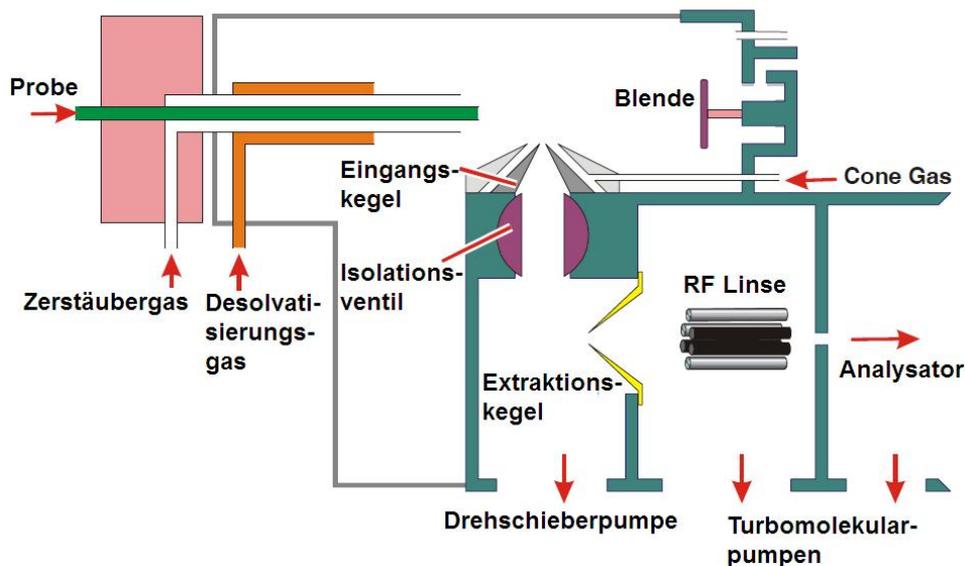


Abbildung 3.6: Schema des Aufbaus der Elektrospray-Quelle, wie sie am Q-ToF micro verwendet wird („Z-Spray“). Modifiziert nach [86].

(Matrix unterstützte) Laser Desorption/Ionisation Bei der Laser Desorption/Ionisation (engl. *laser desorption/ionization*, LDI) wird die Probe auf einem Trägerplättchen aufgetragen. Dieses wird Laserpulsen ausgesetzt, welche die Probe lokal stark erhitzen und ein Plasma erzeugen. Die ionisierten Moleküle werden mit Hilfe elektrischer Felder ins Innere des Massenspektrometers geleitet. Die Moleküle sind in der Regel einfach geladen. Die LDI funktioniert effizient bei Substanzen, die das Licht des Lasers stark absorbieren. Dies ist für einige Moleküle (viele Biomoleküle) nicht der Fall. Daher werden der Probe in diesen Fällen Stoffe hinzugegeben, die zusammen mit dem Analyt auf dem Trägerplättchen kristallisieren. Sie bilden eine Matrix, in die der Analyt eingebettet ist. Diese absorbiert das Laserlicht und unterstützt damit die Ionisierung der Moleküle des Analyten. Diese Methode heißt Matrix unterstützte LDI (engl. *matrix-assisted LDI*, MALDI). [84, 85]

m/z-Analysator

Flugzeit-Analysator Das Masse-Ladungsverhältnis ionisierter Moleküle kann mit einer Flugzeitmessung (engl. *time of flight*, ToF) bestimmt werden. Ein Pakete von Ionen wird durch eine gepulste Spannung U (engl. *pusher*) auf die Geschwindigkeit v beschleunigt.

nigt. Gemäß

$$\begin{aligned} E_{kin} &= E_{pot} \\ \Leftrightarrow \frac{1}{2}mv^2 &= zeU \\ \Rightarrow v &= \sqrt{\frac{2zeU}{m}} \end{aligned}$$

hängt die Geschwindigkeit z-fach ionisierter Moleküle nur von dem Masse-Ladungsverhältnis $\frac{m}{z}$ ab.

In ToF-Instrumenten wird die Geschwindigkeit der Ionen durch die Messung der Zeit, die sie zum Durchlaufen einer definierten Strecke benötigen, bestimmt. Dies geschieht durch Abgleich des pusher-Impulses mit dem Signal, das die Ionen beim Auftreffen auf den Detektor erzeugen.

[84, 86]

Quadrupol Quadrupole dienen in der Massenspektrometrie als Analysatoren und als Filter. Filter werden in Kollisionsexperimenten eingesetzt. Dort lässt er einzelne Substanzen in eine gasgefüllte Kollisionszelle passieren, wo sie beschleunigt werden und durch die Stöße mit dem Gas fragmentieren. Die Fragmente werden in den Analysator weitergeleitet und detektiert.

Ein Quadrupol ist aus vier hyperbolischen oder zylindrischen Stabelektroden aufgebaut, die quadratisch angeordnet sind und parallel verlaufen (Abb. 3.7). Die gegenüberliegenden Elektroden liegen jeweils auf dem gleichen Potential. Benachbarte Elektroden liegen auf einem betragsmäßig gleichen Potential jedoch mit entgegengesetztem Vorzeichen. Die Potentiale werden durch die Überlagerung einer Gleich- und einer Wechselspannung (U und $V \cos(\omega t)$) generiert. Die Ionen passieren den Quadrupol entlang der Längachse der Elektroden. Sie bewegen sich entlang komplizierter Trajektorien, die von der Höhe der Gleichspannung sowie der Amplitude und Frequenz der Wechselspannung abhängen. Nur Ionen eines bestimmten Masse-Ladungsverhältnisses können den Quadrupol passieren. Die anderen Ionen haben Trajektorien, die sie weit von der Längsachse auslenken, so dass sie an den Elektroden haften bleiben. Wenn alle Ionen den Filter passieren sollen, werden die Spannungen und die Wechselspannungsfrequenz schnell variiert.

[85, 87, 88]

Fourier Transformation Ionen Zyklotron Resonanz Massenspektrometer In einem Fourier Transformation Ionen Zyklotron Resonanz Massenspektrometer (engl. *Fourier transform ion cyclotron resonance*, FTICR) werden die ionisierten Moleküle in einer Ionenfalle durch ein Magnetfeld auf einer Kreisbahn gehalten. Die Kreisfrequenz entspricht dem Inversen des Masse-Ladungsverhältnisses multipliziert mit der magnetischen Flussdichte ($\omega = m/z \cdot B$). Die Detektion erfolgt über die Messung dieser Zyklotronfrequenz. Dabei sind starke Magnetfelder (einige Tesla) erforderlich, um ein ausreichend hohes Messsignal und eine hohe Auflösung zu erreichen. Die Ionen werden durch ein elektrisches Feld mit ihrer Zyklotronfrequenz angeregt und nehmen Energie auf, wodurch sie sich auf einer größeren Kreisbahn bewegen. Die Ionen unterschiedlicher Masse-Ladungsverhältnisse

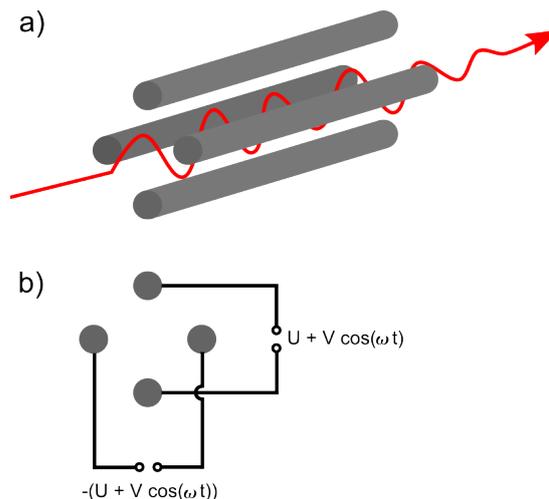


Abbildung 3.7: Schema des Aufbaus eines Quadrupolfilters. **a)** Die Ionen passieren den Filter entlang der Längsachse der Elektroden auf einer komplizierten Trajektorie. **b)** Die gegenüberliegenden Elektroden liegen auf dem gleichen Potential, die benachbarten Elektroden auf entgegengesetztem. Nur Ionen eines passenden Masse-Ladungsverhältnisses können den Filter passieren.

bewegen sich auf unterschiedlichen Bahnen und mit unterschiedlichen Frequenzen. Sie induzieren in einem Detektor einen Spiegelstrom gemäß ihrer Zyklotronfrequenz, der verstärkt wird und damit das Messsignal liefert. Eine Fourier-Transformation wandelt das Signal in ein Frequenzspektrum um, das gemäß der obigen Relation in ein Massenspektrum konvertiert werden kann. [84, 88]

FTICR Massenspektrometer können Masse-Ladungsverhältnisse mit einer sehr hohen Auflösung ($m/\Delta m$) in der Größenordnung 10^5 messen. Die Technik eignet sich daher gut für komplexe Mischungen, da auch geringe Massenunterschiede aufgelöst werden können. Um ein ausreichend hohes Messsignal zu erhalten, werden Ionen zunächst in der Messzelle gespeichert und akkumuliert. [84, 88]

Das Speichern erlaubt es, Kollisionsexperimente in der Messzelle durchzuführen. Durch Anlegen einer zusätzlichen Wechselspannung können einzelne Substanzen in der Messzelle isoliert und angeregt werden. Das Einlassen eines inerten Kollisionsgases führt zu Stößen der Substanz und ihrer Fragmentierung. Die Bruchstücke werden detektiert. Prinzipiell kann dieser Vorgang beliebig wiederholt werden (MS_n). [84, 88]

Orbitrap Ein Orbitrap dient ebenfalls der Bestimmung des Masse-Ladungsverhältnisses geladener Moleküle. Es besteht aus zwei ineinander geschachtelten Elektroden (Abb. 3.8). Die Äußere hat etwa die Form eines Fasses und hat eine kleine Öffnung, durch welche die Moleküle in die Kammer gelangen. Sie liegt auf Erdpotential. Die innere Elektrode hat die Form einer Spindel und liegt auf einem Potential von mehreren Kilovolt mit der entgegengesetzten Ladung des Analyten. Ionen werden mit einer Energie von einigen Kiloelektronenvolt in die Kammer injiziert. Aufgrund der Geschwindigkeit senkrecht zur Achse der Spindelelektrode rotieren die Ionen um die innere Elektrode. Die Bewegung wird überlagert von einer Oszillation entlang der Längsachse des Orbitrap. Die Frequenz dieser

axialen Oszillation ist proportional zur Wurzel aus dem Masse-Ladungsverhältnis. Wie bei der Detektion mittels FTICR wird auch hier ein induzierter Spiegelstrom gemessen und Fourier-transformiert.

Das Orbitrap operiert mit elektrostatischen Feldern. Im Gegenteil zum FTICR ist kein magnetisches Feld nötig. Es müssen daher keine starken Magnete gekühlt werden, was den Betrieb günstiger macht. Durch die Wurzelabhängigkeit ist die Auflösung im Gegenteil zum FTICR jedoch in der Regel geringer.

[84, 88]

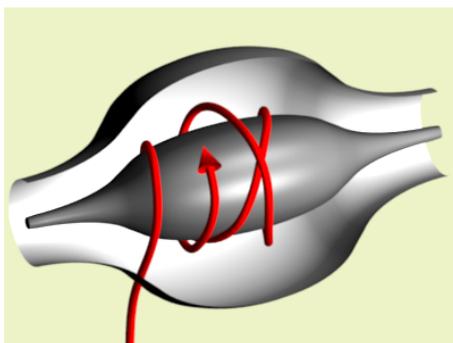


Abbildung 3.8: Schema eines Orbitrap-Analysators. Ein Orbitrap besteht aus zwei achsensymmetrischen Elektroden, die eine Kammer bilden. Die Äußere ist wie ein Fass geformt und hat eine Öffnung senkrecht zur Symmetrieachse, durch welche die Ionen in die Kammer gelangen. Die innere Elektrode hat die Form einer Spindel. Der rote Pfeil deutet die Bewegung von geladenen Molekülen in der Kammer an. [89]

Microchannel plate-Detektor

Die Detektion der Ionen erfolgt im Q-ToF micro über ein „*multichannel plate*“ oder „*microchannel plate*“ (MCP). In ein wenige Millimeter dünnes Plättchen eines Durchmessers von 2-5 cm sind 10^4 - 10^7 Kanäle mit einem Durchmesser von wenigen Mikrometern eingelassen (Abb. 3.9). Ähnlich wie parallel geschaltete Dynoden verstärken sie das Signal eines eintreffenden Ions um drei bis vier Größenordnungen. Der MCP besteht aus bleidotiertem Glas, das mit einer hochohmigen Halbleiterschicht überzogen ist und damit Spannungen von 1-2 kV standhält. Ein Ion, das auf die Wand eines Kanals im MCP trifft, löst Sekundärelektronen aus. Diese werden durch die Hochspannung beschleunigt, treffen wieder auf die Wand des Kanals und lösen dort erneut Elektronen aus. Die entstehende Elektronenkaskade erzeugt ein elektronisches Signal. Die Kanäle sind leicht schräg zur Flugbahn der eintreffenden Ionen ausgerichtet, um den Weg der Kaskade zu verlängern. [84, 85, 90]

Das Signal kann auf verschiedene Weisen erzeugt werden. Transientenschreiber (engl. *transient recorder*, TR) wandeln den Strom in ein analoges Signal um. In einem Zeit/digital-Wandler (engl. *time-to-digital converter*, TDC) löst der verstärkte Strom des MCP ein Signal aus, das vom TDC registriert wird. Es wird die Zeit relativ zum Start der ToF-Messung gespeichert. Der Start wird durch einen Takt des Signalgebers am ToF vorgegeben. Jedes Signal führt zu einer Liste von Ankunftszeiten von Ionen am MCP. Einige

Tausend dieser Listen werden zu einem Spektrum zusammengefasst.

Bei einem TR ist das Signal umso stärker, je größer der Strom ist, der von dem Eintreffen der Ionen ausgelöst wird. Bei einem TDC lösen zeitgleich auftreffende Ionen das gleiche Signal aus (Sättigung). Damit verfügt ein TR über einen größeren dynamischen linearen Bereich als der TDC. [91]

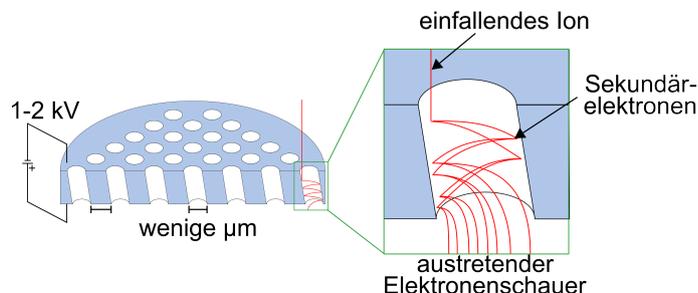


Abbildung 3.9: Schema des Aufbaus des MCP, wie er am Q-Tof micro verwendet wird. Eine Matrix aus Mikrokanälen verstärkt das elektronische Signal eines auftreffenden Ions durch eine Kaskade aus Sekundärelektronen. Modifiziert nach <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mcp-de.svg>

Verwendete Massenspektrometer

In dieser Arbeit wurde standardmäßig ein Q-Tof micro verwendet. Für zusätzliche Messungen wurden ein Fouriertransformations-Ionenzyklotronresonanz- (FT-ICR) und ein Orbitrap-Massenspektrometer eingesetzt.

Q-Tof micro Der Großteil der Messungen wurde mit dem Massenspektrometer Micro-mass Q-Tof micro (Waters/MS Vision) durchgeführt, das am Lehrstuhl von Prof. Dr. Albrecht Ott (Biologische Experimentalphysik), Universität des Saarlandes, zur Verfügung stand. Es hat eine ESI-Quelle (Z-Spray), einen Quadrupolfilter und einen ToF-Analysator. Die Detektion erfolgt über einen MCP-Detektor mit einem TDC. Das Gerät kann in einem Bereich von m/z 50 bis 20000 Da messen. Die Auflösung des Geräts liegt für eine Masse von m/z 556 bei 5000 FWHM. Die Genauigkeit des Geräts kann 10 ppm erreichen. Der quantitative dynamische Bereich erstreckt sich auf vier Größenordnungen (Anhang, Abschnitt A.2) [92].

IonSpec FT-ICR-MS Für einzelne Messungen bzw. eine Messreihe wurde ein Fourier Transformation Ionen Zyklotron Resonanz Massenspektrometer FT-ICR-MS (IonSpec, Varian Corporation) mit einem 9,4 T Magneten verwendet. Die Messungen geschahen in Kooperation mit Laboratoire de Spectrométrie de Masse et de Chimie Laser (LSMCL) der Université Paul Verlaine (später Laboratoire de Chimie et de Physique - Approche Multi-Echelles des Milieux Complexes (LCP-A2MC), Université de Lorraine) unter der Betreuung von Prof. Dr. Frédéric Aubriet und Dr. Vincent Carré. In den Messungen wurden sowohl mit einer ESI- als auch einer (MA)LDI-Quelle ionisiert. Dabei wurde bei

der MALDI DHB (2,5-Dihydroxybenzoesäure) zur Matrixbildung hinzugesetzt. Außerdem konnten Kollisionsexperimente durchgeführt werden.

Orbitrap Wenige Kontrollmessungen wurden am Orbitrap-Massenspektrometer (LTQ Orbitrap, Thermo Scientific) mit optionaler LC-Auftrennung (RSLC 3000, Dionex) durchgeführt. Das Gerät wurde vom Lehrstuhl von Prof. Dr. Rolf Müller (Pharmazeutische Biotechnologie), Universität des Saarlandes, zur Verfügung gestellt. Die Messungen wurden von Dr. Daniel Krug und Eva Luxenburger durchgeführt. Das Gerät hat eine nano-ESI-Quelle (Nanomate, Advion), die für einigen Mikrolitern Probenvolumen ausgelegt ist [93].

Datenauswertung

Mit der Software MassLynx 4.0 (Micromass/Waters) können die Daten des Q-Tof geöffnet werden. Es wurden damit Spektren als Textdateien für die weitere Bearbeitung exportiert. Diese wurden weiter mit der Software mmass [94] bearbeitet. Das Programm bietet verschiedene Werkzeuge zur Auswertung. Es können z. B. die Isotopenmuster berechnet und mit den Daten verglichen werden. Sind einige Massen in den Spektren bekannt, so lassen sich die Spektren anhand der bekannten Substanzen nachträglich kalibrieren. Eine weitere Funktion ermöglicht es, die gaußförmigen Massenpeaks auf eine Masse zu zentrieren. Diese Funktion wurde genutzt, um Massen anzugeben und Abstände zu berechnen. Dabei verfügt das Programm über einen Glättungsmechanismus, der auch in Bereichen niedriger Intensität eine gute Zuordnung der Peaks zu ihren Massen vornimmt.

Zur Extraktion von Zeitreihen wurden .raw Dateien aus MassLynx mit der Software ProteoWizard 3.0.3643 [95] in das open-source-Format .mzXML konvertiert. Es kann in MATLAB [96] eingelesen werden und es wurde ein Skript zur Gewinnung der Zeitreihen geschrieben.

Die Daten der FT-ICR-Messungen wurden mit der Software Omega (Version 9.1.18, Varian Inc./Agilent Technologies) betrachtet und kalibriert. Bei der Kalibrierung werden gemessene Massen aus dem Spektrum von der Anwenderin oder dem Anwender den exakten Massen zugeordnet. Dies geschieht entweder aus dem Wissen um bekannte Substanzen in der Probe oder auf der Basis von Annahmen. Es werden mehrere Substanzen vorgegeben und das Programm erstellt eine Kalibrierungskurve und berechnet die Abweichung zwischen den vorgegebenen und den gemessenen Massen.

Die Software XCalibur (Version 2.0.7, Thermo Fisher Scientific) wurde zur Betrachtung der Chromatogramme und Spektren der Orbitrap-Messungen verwendet. Auch sie ermöglicht die Konvertierung von Spektren in Textdateien, die mit mmass weiter ausgewertet wurden.

Für das Auslesen und den Vergleich der Daten wurden Skripte in der Software MATLAB [96] geschrieben.

3.3.2 Kernspinresonanzspektroskopie

Die Kernspinresonanzspektroskopie (engl. *nuclear magnetic resonance spectroscopy*, NMR) wird in der analytischen Chemie zur Aufklärung chemischer Strukturen verwendet. Die folgenden Ausführungen orientieren sich an Lehrbüchern [97, 98].

Der Kernspin \vec{P} von Atomen ist gequantelt und wird durch die Kernspinquantenzahl I angegeben $|\vec{P}| = \sqrt{I(I+1)}\hbar$ (z. B. ^1H : $I = 1/2$; ^2H : $I = 1$; ^{12}C : $I = 0$; ^{13}C : $I = 1/2$). Das magnetische Moment der Kerne wird durch den Kernspin bestimmt $\vec{\mu} = \gamma\vec{P}$. Wird ein externes magnetisches Feld ($|\vec{B}| = B_0$) angelegt, so richten sich die Spins am Feld aus. Es resultiert eine Präzessionsbewegung des magnetischen Moments des Kerns um die Achse der Ausrichtung des externen Feldes. Die Frequenz dieser Bewegung heißt Lamor-Frequenz ($\nu_L = |\frac{\gamma}{2\pi}| B_0$). Aufgrund des Zeeman-Effektes tritt eine Aufspaltung der Energieniveaus in $E = -m\gamma\hbar B_0$ auf, wobei $m = -I, -I+1, \dots, I$ gilt. Die verschiedenen Niveaus werden gemäß der Boltzmann-Statistik besetzt $\frac{N_{\text{hoch}}}{N_{\text{niedrig}}} = e^{(E_{\text{hoch}} - E_{\text{niedrig}})/k_B T}$.

Bei einer NMR-Spektroskopie wird an die Probe ein konstantes magnetisches Feld angelegt, das die Zeeman-Aufspaltung hervorruft. Es werden senkrecht dazu elektromagnetische Wellen verschiedener Frequenzen eingestrahlt. Treffen sie die Lamorfrequenz eines Atomkerns, so wird ein Übergang zwischen den Energieniveaus hervorgerufen und die Strahlung wird absorbiert. In der modernen NMR-Spektroskopie werden Pulse mit elektromagnetischen Wellen einer Bandbreite an Frequenzen eingestrahlt. Sie regen gleichzeitig alle Atome in der Probe an. Das Signal wird mittels Fourier-Transformation in ein Spektrum umgewandelt. Die Energieabsorption ist proportional zu der Konzentration der Atome. Damit können mit der NMR-Spektroskopie auch quantitative Aussagen getroffen werden.

In einem Molekül herrschen für die Atomkerne, was die elektronische Umgebung und die Atomkerne der Nachbarschaft betrifft, verschiedene Bedingungen. Das externe Magnetfeld regt einen Strom der Elektronen an, der ein magnetisches Gegenfeld erzeugt. Dies führt dazu, dass die Atomkerne eines Moleküls gemäß dieser Umgebung unterschiedlich stark von dem externen Magnetfeld abgeschirmt werden. Das effektive Magnetfeld an den Kernen eines Moleküls ist damit verschieden von dem angelegten Feld. Dies führt zu einer veränderten Resonanzfrequenz $\nu = \frac{\gamma}{2\pi}(1 - \sigma)B_0$ (chemische Verschiebung). Da die Frequenz von der Stärke des Magnetfeldes abhängt, wird in den NMR-Spektren eine relative Verschiebung angegeben $\delta_{\text{Substanz}} = \frac{\nu_{\text{Substanz}} - \nu_{\text{Referenz}}}{\nu_{\text{Referenz}}}$. Sie bezieht sich auf die Substanz Tetramethylsilan (TMS) und wird in Teilen pro Million (engl. *parts per million*, ppm) angegeben.

Die Atomkerne eines Moleküls können sich gegenseitig in ihrem magnetischen Moment beeinflussen und damit die Resonanzfrequenz verschieben. Dies wird als Spin-Spin-Kopplung bezeichnet. Beispielsweise ruft die Kopplung mit einem Nachbarkern die Aufspaltung in ein Dublett hervor. Es resultiert daraus, dass der Spin des Nachbarkerns in oder gegen die Feldrichtung ausgerichtet sein kann. Die skalare Kopplungskonstante J bezeichnet den Abstand zwischen den Resonanzlinien des Dubletts und hängt nicht vom Magnetfeld ab. Sie wird in Hertz (Hz) angegeben. Für andere Konfigurationen und Kopplungen über mehrere Bindungen sind Aufspaltungen in Triplets und kompliziertere Muster möglich. Miteinander koppelnde Kerne werden als Spinsystem bezeichnet. Neben dieser skalaren Kopplung wird auch eine Kopplung durch die räumliche Nähe von Kernen hervorgerufen. In einem eindimensionalen NMR-Spektrum (1D-NMR) ist die Intensität des Messsignals gegen die chemische Verschiebung aufgetragen. In der Analyse organischer Substanzen werden häufig die Verschiebungen der ^1H - und ^{13}C -Kerne betrachtet. Die zweidimensionale NMR-Spektroskopie (2D-NMR) misst die Kopplung zwischen den Atomkernen eines

Moleküls und erlaubt damit eine weitere Strukturaufklärung. Für ihre Messungen werden Folgen von magnetischen Impulsen angewandt, welche die Spins ausgewählter Kerne ausrichten oder Gradientenfelder verwenden. Dadurch können Signale erzeugt werden, die weitere Informationen der molekularen Struktur der Substanzen enthalten.

Im Folgenden werden die Verfahren vorgestellt, die auch in den späteren Analysen benutzt werden (Abschnitt 4.6.17).

COSY Die korrelierte NMR-Spektroskopie (engl. *correlated spectroscopy, COSY*) misst die Korrelation des NMR-Signals zweier Kerne. Dabei werden die Signale eines ^{13}C - und ^1H -Atoms oder zweier ^1H -Atome korreliert. Die Darstellung erfolgt in einem Diagramm, in dem die Signale der Atomkerne gegeneinander aufgetragen sind. Mit der COSY NMR-Spektroskopie lassen sich Aussagen darüber treffen, welche chemischen Gruppen in Nachbarschaft liegen. Mit der langreichweitigen COSY können die Nachbarschaften über mehrere Bindungen nachgewiesen werden.

TOCSY Mit der totalen Korrelations-NMR-Spektroskopie (engl. *total correlated spectroscopy, TOCSY*) können, wie bei COSY, skalare Korrelationen detektiert werden. Es ist auch möglich, Korrelationen über mehrere Bindungen nachzuweisen.

ROESY Die ROESY-NMR-Spektroskopie (von engl. *rotating frame Overhauser enhancement spectroscopy*) betrachtet die Korrelationen zwischen Atomkernen, die aufgrund ihrer räumlichen Nähe miteinander koppeln. Diese Dipol-Dipol-Wechselwirkung wird als Kern-Overhauser-Effekt bezeichnet. Die Stärke der Wechselwirkung fällt mit r^{-6} ab, wobei r den Abstand zwischen Kernen bezeichnet.

HMQC Die HMQC-NMR-Spektroskopie (von engl. *heteronuclear multiple quantum coherence*) liefert wie die heteronukleare COSY auch die Korrelationen der Signale der Atomkerne. Dabei sind die Atomkerne durch eine Bindung voneinander getrennt. Jedoch ist das Verfahren sensitiver.

HMBC Die HMBC-NMR-Spektroskopie (von engl. *heteronuclear multiple bond coherence*) ist ähnlich der HMQC. Sie weist jedoch Korrelationen über mehrere Bindungen nach.

DOSY Mithilfe der DOSY-NMR-Spektroskopie (von engl. *diffusion-ordered spectroscopy*) können Substanzen sowohl mittels NMR untersucht werden, als auch Informationen über ihre Größe gewonnen werden. Dies geschieht durch eine gleichzeitige Messung des NMR-Signals und der Diffusion der Moleküle. In den gewonnenen 2D-Spektren wird der Diffusionskoeffizient gegen die chemische Verschiebung aufgetragen. Die Signalintensität wird dabei z. B. durch Konturlinien dargestellt. Die räumliche Auflösung erfolgt durch das Anlegen eines räumlichen Gradienten des Magnetfeldes an die Probe. [99]

Für die NMR-Spektroskopie müssen die Analyten in hohen Konzentrationen (etwa 1 mg pro 100 μl) vorliegen und Proben müssen daher gegebenenfalls aufkonzentriert werden. Eine genaue Messung dauert mehrere Stunden. Wegen des großen Aufwands wurde die Methode nur für wenige Proben von besonderem Interesse eingesetzt.

Es wurden Proben mittels Kernspinresonanzspektroskopie am European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in der Gruppe von Dr. Teresa Carlomagno am EMBL, Heidelberg von Dr. Luca Codutti gemessen und ausgewertet (gelöst in deuteriertem PBS-Puffer, 290 K, Bruker Avance II (600 und 800 MHz)).

3.4 Größenausschluss-Chromatographie

Für die Analyse mit NMR ist es teilweise notwendig, Proben aufzureinigen. Dafür wurde das Verfahren der Größenausschluss-Chromatographie (engl. *size exclusion chromatography*, SEC) genutzt. Hier werden Analyten durch eine Säule gepumpt, die sie gemäß ihrer Größe auftrennt (Abb. 3.10). Die Säule ist gefüllt mit einer porösen Matrix. Kleine Partikel können in kleine Poren eindringen. Damit steht ihnen ein größeres Diffusionsvolumen zu Verfügung und sie haben längere Retentionszeiten als große Moleküle. Im Gegenteil zu HPLC-Säulen finden bei der SEC keine chemischen Wechselwirkungen zwischen Analyten und Säulenmaterial statt.

Für diese Arbeit wurde eine Chromatographiesäule eines Volumens von 120 ml (Highload XK 16/60, Amersham Biosciences/GE Healthcare) mit einem Polyacrylamidgel (Bio-Gel P-2 Gel, extra fine, Bio-Rad) befüllt. Mittels einer HPLC-Pumpe konnten Proben durch das Gel gepumpt werden, in welchem sie gemäß ihrer Größe aufgetrennt wurden.

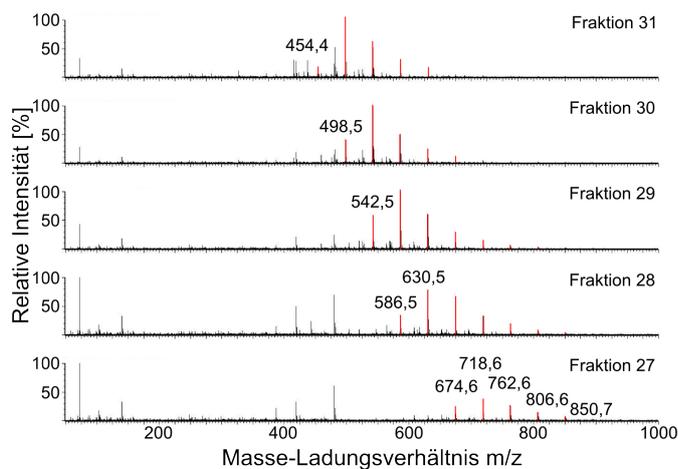


Abbildung 3.10: Massenspektren der Fraktionen einer Probe, die Polymere verschiedener Längen enthält. Sie wurden durch die SEC nach ihrer Größe aufgetrennt.

4 | Experimentelle Ergebnisse

Mit den Experimenten sollten zunächst komplexe chemische Mischung mit möglichst vielen verschiedenen Substanzen erzeugt werden. In den komplexen Gemischen wurden durch Energiezufuhr Reaktionen angeregt. Vorangegangene Versuchsreihen hatten gezeigt, dass sich organische Gemische mit wenigen Komponenten bereits kollektiv und nichtlinear verhalten [100]. Das Ziel war es, mit einem Energieeintrag die Nichtlinearitäten in den Gemischen zu verstärken und selbstreproduzierende, chemische Prozesse zu entwickeln. Um eine räumliche Strukturierung zu provozieren, wurden Experimente mit räumlichen Reaktionsgradienten durchgeführt und Proben an verschiedenen Orten entnommen.

4.1 Elektrolyse von Gemischen organischer Säuren

Es wurden Elektrolysen an einfachen Gemischen von organischen Säuren durchgeführt, da hier Elektrolysereaktionen bekannt sind (Abschnitt 2.1). Dadurch sollte die Komplexität des Gemisches erhöht werden.

4.1.1 Aminosäuremischung

An zwei Graphitelektroden in einer wässrigen Lösung verschiedener Aminosäuren (10 mM, Amino Acids (100x), Non Essential, PAA) (Tab. 4.1) wurde eine Spannung von 5,3 V über etwa 18 h angelegt.

Eine Probe, die vor dem Beginn des Experiments entnommen wurde, zeigte im Massenspektrum die Peaks der Aminosäuren. Aufgrund ihrer Amphoterie waren sie teils im positiven, teils im negativen Ionenmodus zu sehen (Abb. 4.1). Die übrigen Substanzen, die in den Spektren auftauchten, sind Verunreinigungen der Aminosäuremischung. Sie tauchten im Spektrum des Lösungsmittels nicht auf.

Die Elektrolyse hatte nur einen geringen Einfluss auf das Gemisch. Die Peaks der Aminosäuren blieben bei gleicher Intensität erhalten. Lediglich Serin war nicht mehr zu detektieren. Es tauchten wenige neue Substanzen auf, z. B. im Bereich von m/z 600 bis 800. Eine Identifizierung war im Rahmen der Messgenauigkeit nicht möglich.

Ein Nachweis für eine Kolbe-Elektrolyse wurde nicht gefunden. Zwischen den sieben Aminosäuren der Ausgangslösung sind 28 paarweise Kopplungen möglich. Keine ließ sich eindeutig im Spektrum identifizieren. 22 Kopplungen konnten sicher nicht in den Spektren gefunden werden. Sechs der Kopplungen sind möglich, doch war ein anderer Peak des Ausgangsgemisches bei etwa gleichem Masse-Ladungsverhältnis sichtbar.

Experimentelle Ergebnisse

Aminosäure	Konzentration [mmol/l]	Summenformel	Masse [Da]
L-Alanin (Ala)	9,98878	$C_3H_7NO_2$	89,04768
L-Asparagin (Asn)	9,99092	$C_4H_8N_2O_3$	132,05351
L-Asparaginsäure (Asp)	9,99249	$C_4H_7NO_4$	133,03752
L-Glutaminsäure (Glu)	9,99116	$C_5H_9NO_4$	147,05318
L-Glycin (Gly)	9,99068	$C_2H_5NO_2$	75,03204
L-Prolin (Pro)	9,98871	$C_5H_9NO_2$	115,06334
L-Serin (Ser)	9,99144	$C_3H_7NO_3$	105,04260

Tabelle 4.1: Zusammensetzung der Aminosäuremischung, die einer Elektrolyse ausgesetzt wurde.

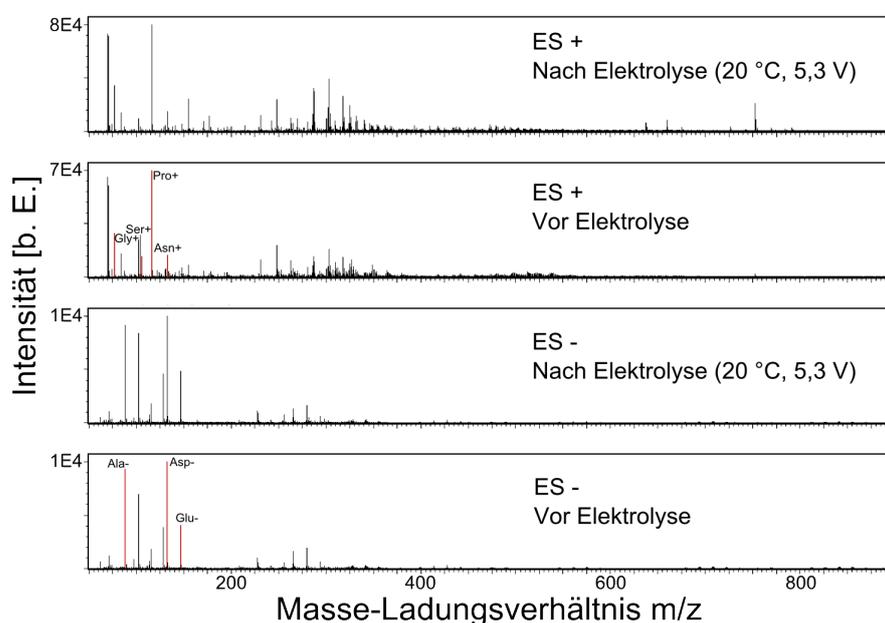


Abbildung 4.1: Spektren der Aminosäuremischung vor und nach Elektrolyse gemessen im positiven und negativen Ionisierungsmodus. In den Ausgangslösungen ließen sich die sieben Aminosäuren des Gemisches identifizieren. Bis auf Serin blieben sie auch nach der Elektrolyse in etwa gleicher Intensität erhalten. Es entstanden wenige neue Substanzen. Die Produkte einer Kolbe-Elektrolyse wurden nicht gefunden.

Bei diesem Versuch wurde das Ziel der Erzeugung eines komplexen Gemisches aus einfachen Ausgangssubstanzen nicht erreicht. Daher wurden in weiteren Versuchen andere Ausgangssubstanzen verwendet sowie die Versuchsparameter Lösungsmittel, Spannung und Katalysatoren variiert.

4.1.2 Citronensäurelösung

Eine Citronensäurelösung (2 M) wurde elektrolysiert. Die Citronensäure ($C_6H_8O_7$) hat drei Säuregruppen und könnte somit mehrfach in einer Kolbe-Elektrolyse reagieren. Da die Kolbe-Elektrolyse im wässrigen Medium nicht erfolgreich war, wurde in diesen Experimenten Methanol als Lösungsmittel verwendet. Es ist ein übliches Lösungsmittel für die Kolbe-Elektrolyse [2]. Außerdem wurden Eisen (Fe) bzw. Eisen(III)-chlorid ($FeCl_3$) als Katalysatoren eingesetzt und verschiedene Spannungen und Temperaturen angelegt.

Eisen als Katalysator

Elektrolysen mit Eisen als Katalysator wurden bei den Temperaturen $20^\circ C$ und $55^\circ C$ durchgeführt. Als Spannungen wurden 10 V und 100 V gewählt. Im Vergleich zu dem Versuch mit Aminosäuren wurden die Spannungen erhöht, um mehr Reaktionen anzutreiben. Es wurde auch eine Citronensäurelösung ohne Spannung angesetzt. Nach Anlegen der Spannung wurde eine Gasentwicklung an den Elektroden beobachtet.

Im Spektrum (ES +) der Probe vor der Elektrolyse ließen sich Peaks mit ganzzahligen Abständen von 192 Da ausmachen (Abb. 4.2). Sie stammten von Clustern der Citronensäure (192,02704 Da). Nach der Elektrolyse waren diese Peaks verschwunden und im Bereich von etwa m/z 350 bis 450 hatten sich neue Substanzen gebildet. Diese Entwicklung ließ sich vor allem bei den Proben bei $55^\circ C$ ausmachen (Abb. 4.3). Sie traten auch dann auf, wenn keine Spannung angelegt wurde. Es handelte sich also um ausschließlich thermisch induzierte Reaktionen. Im negativen Ionisationsmodus waren deutlich weniger Veränderungen zu erkennen (Abb. 4.2, Anhang, Abb. A.2). Auch sie waren im Wesentlichen auf die erhöhte Temperatur zurückzuführen.

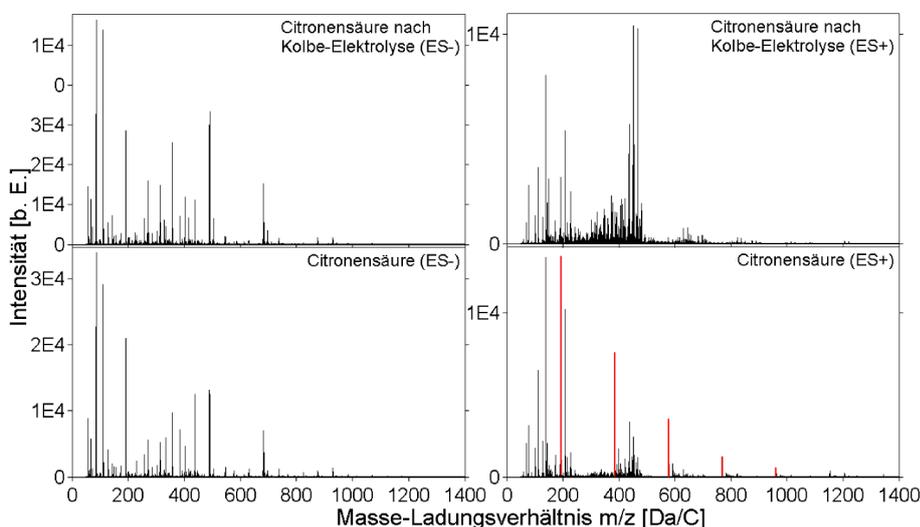


Abbildung 4.2: Spektren (ES+ und ES-) der Citronensäurelösung vor und nach der Elektrolyse (etwa 3,5 h) bei $55^\circ C$ und 100 V. Während keine deutlichen Veränderungen im negativen Modus zu erkennen waren, verschwanden die Peaks des Clusters der Citronensäure (rot markiert) in den Spektren des positiven Modus zugunsten einer breiteren Massenverteilung zwischen m/z 350 und 450.

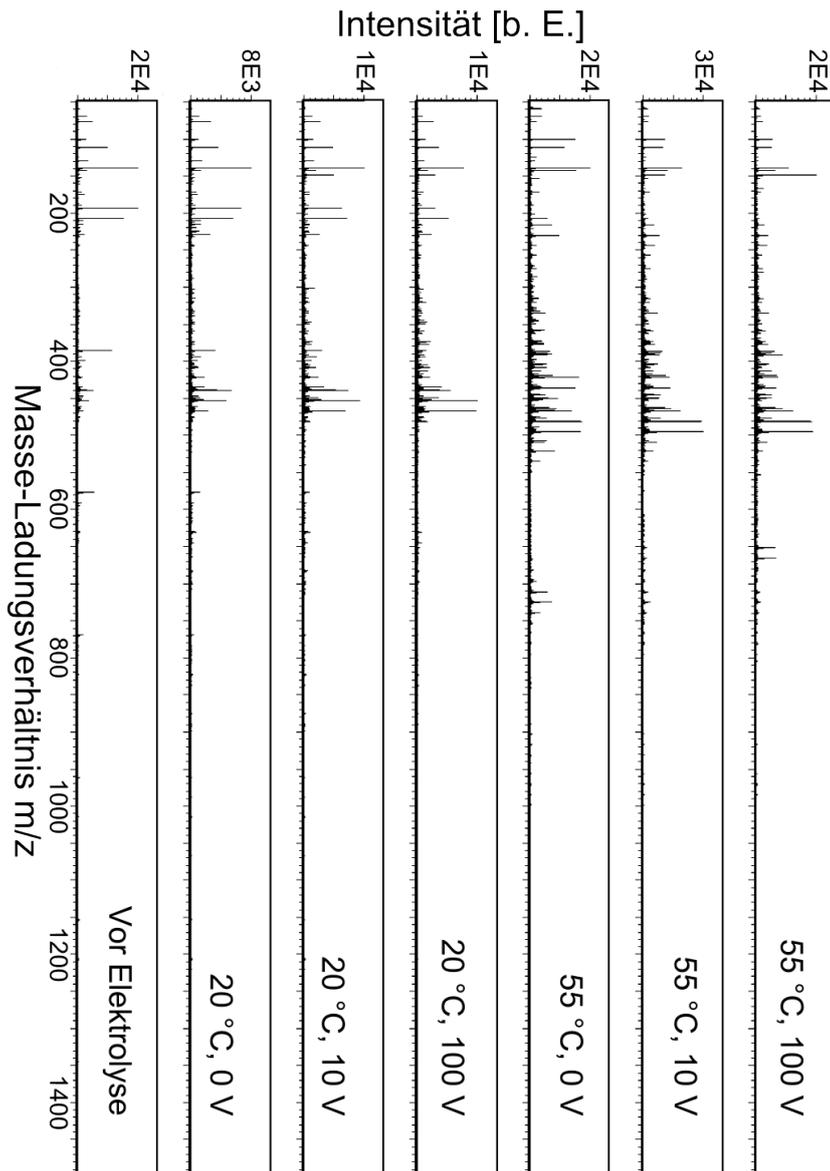


Abbildung 4.3: Spektren (ES +) der Citronensäurelösung vor und nach der Elektrolyse mit Eisen als Katalysator. Die Elektrolysen wurden bei verschiedenen Bedingungen (Temperatur und Spannung) durchgeführt. Die Spektren zeigen, dass im Wesentlichen die Temperatur einen Einfluss auf die Bildung neuer Substanzen hatte.

Das Gemisch bei 55 °C enthielt zwar mehr Peaks als die Ursprungslösung, jedoch zeigten genauere Analysen, dass es sich dabei um Verbindungen mit Eisen handelte. Es wurde anhand seines charakteristischen Isotopenmusters identifiziert (Abb. 4.4). Die Spektren, die im positiven Modus gemessen wurden, wiesen mehr Eisenverbindungen auf. Sie überlagerten sich, so dass eine Identifikation nicht möglich war.

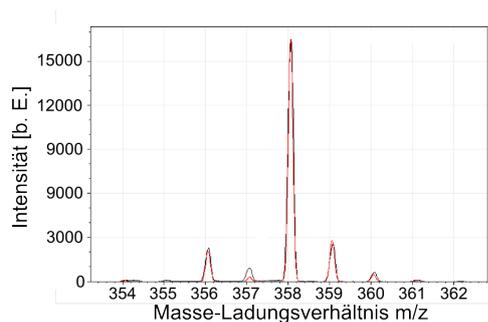


Abbildung 4.4: Ausschnitt aus dem Spektrum (ES⁻) einer Probe nach der Elektrolyse bei 20 °C und 10 V. Die rote Linie ist die Simulation eines Isotopenmusters von $C_{11}H_{34}O_5Fe_2$. Es zeigt eine gute Übereinstimmung mit dem gemessenen Spektrum. Eine Veränderung der Anteile des Kohlenstoffs, Sauerstoffs und Stickstoffs änderten das Muster nur geringfügig. Damit ist kein Nachweis der Substanz erbracht, wohl aber zeigt sich, dass es sich um eine Verbindung mit zwei Eisenatomen handelte. Die Simulation wurde mit dem Programm mmass durchgeführt [94].

Während des Experiments wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Proben entnommen. Abbildung 4.5 stellt die zeitliche Entwicklung der Citronensäurelösung dar. Das Wachstum von Spezies im Bereich von m/z 300 bis 500 ist deutlich. Es handelte sich dabei um Eisenverbindungen. Die prominentesten Spezies bildeten eine Reihe mit dem Abstand $14,018 \pm 0,014$ Da. Nur CH_2 (14,01565 Da) kommt dafür als mögliche Summenformel in Frage.

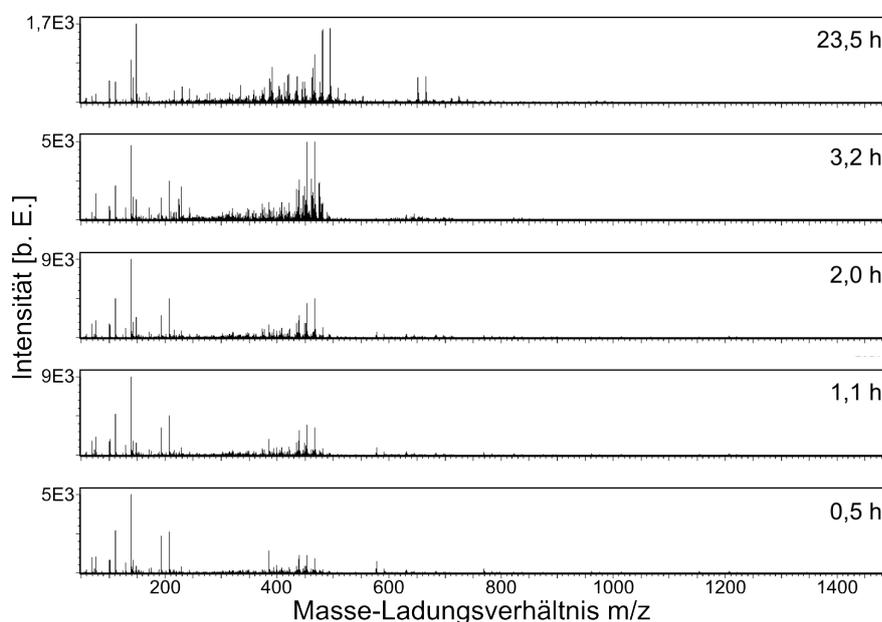


Abbildung 4.5: Spektren (ES⁺) der Elektrolyse von Citronensäure (55 °C, 100 V) zu verschiedenen Zeitpunkten. Es ist ein Anwachsen von Substanzen im Bereich von m/z 300 bis 500 zu sehen.

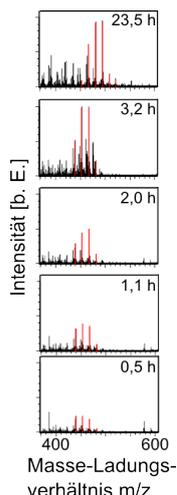


Abbildung 4.6: Ausschnitte der Spektren (ES+) der Elektrolyse von Citronensäure (55°C , 100 V) zu verschiedenen Zeitpunkten. Die roten Striche markieren organische Eisenverbindungen, die sich um eine CH_2 -Gruppe unterscheiden. Mit der Zeit verschob sich das Muster äquidistanter Peaks zu schwereren Massen. Es deutete auf eine Polymerisierung hin.

Mit der Zeit verschob sich die Reihe äquidistanter Peaks zu schwereren Massen (Abb. 4.6). Auf der Skala von Stunden lagerten sich somit CH_2 -Gruppen an eine organische Eisenverbindung an. Dies kann die Polymerisierung einer CH_2 -Kette bedeuten.

Zu verschiedenen Zeitpunkten wurde die Stromstärke des Stroms durch die Zuleitungen der Elektroden gemessen. Sie ist ein Indiz dafür, wie viele Reaktionen an den Elektroden ablaufen. Abbildung 4.7 zeigt die zeitliche Entwicklung der Stromstärke mit der Zeit. Je höher die Temperatur war, desto höher war die Stromstärke. Außerdem stieg die Stromstärke mit der angelegten Spannung. Allein das Experiment bei 55°C und 100 V zeigte einen fallenden Verlauf der Stromstärke mit der Zeit. Hierbei stieg die Anzahl der Reaktionen in den ersten Stunden stärker an als danach.

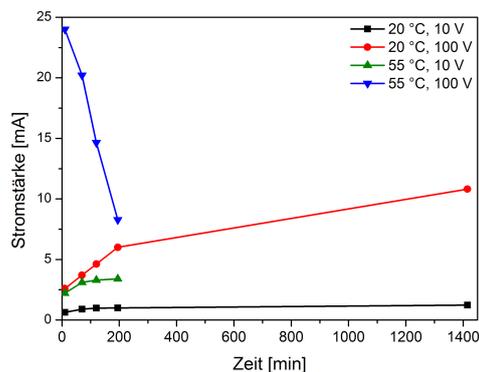


Abbildung 4.7: Verlauf der Stromstärke bei der Elektrolyse mit Eisen. Bei 55°C und 100 V fiel die Stromstärke innerhalb weniger Stunden ab. In den anderen Versuchen wurde ein abflachender Anstieg der Stromstärke beobachtet.

Eisen(III)-chlorid als Katalysator

Als weiterer Katalysator für die Elektrolyse der Citronensäurelösung wurde Eisen(III)-chlorid (FeCl_3) eingesetzt. Die Lösung wurde auf 55°C geheizt und es wurde eine Spannung von 10 V angelegt während bei einer anderen Citronensäurelösung keine Spannung angelegt wurde. Dabei wurde eine starke Gasentwicklung an den Elektroden nach Anstellen der Spannung beobachtet. Während der Versuchsdauer von etwa 45 h bzw. 72 h wurden mehrere Proben entnommen und die Stromstärke gemessen. Da die Lösung, an die eine Spannung angelegt wurde, verdampfte, dauert hier der Versuch nur 45 h. Die Spektren mit und ohne angelegter Spannung wurden nach einigen Stunden von einer Substanz bei einer ganzzahligen Masse von m/z 161 dominiert (Abb. 4.8). Mit Hilfe des charakteristischen Isotopenmusters ließ sich diese Substanz als Eisen(III)-chlorid identifizieren (Abb. A.3). Auch Eisen(III)-chlorid, das mit einem Chlorid-Ionen (Cl^-) ionisiert wurde, bildete einen prominenten Peak bei etwa m/z 198. Es entstanden nur vereinzelt neue Substanzen. Ihre Isotopenmuster deuten hier ebenfalls auf Chlorverbindungen hin. Die Intensitäten waren vergleichsweise niedrig. Ionensuppression bei der Messung könnte ein möglicher Grund sein.

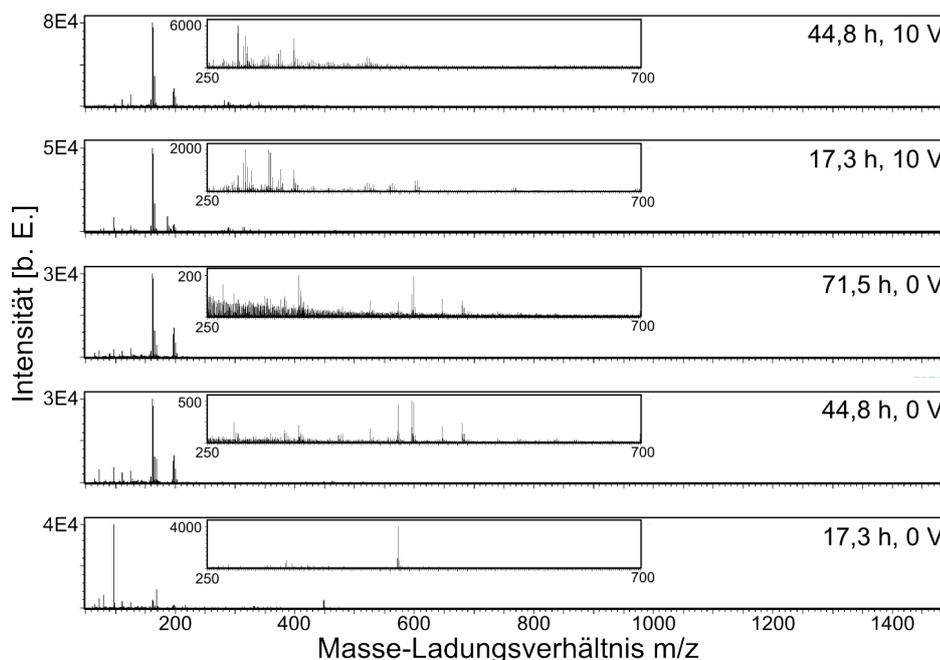


Abbildung 4.8: Spektren (ES-) der Probe einer Elektrolyse einer Citronensäurelösung mit Eisen(III)-chlorid bei 55°C und für Spannungen von 10 V und 0 V. Die Spektren werden dominiert von dem Peak des Eisen(III)-chlorids. Es sind ansonsten nur geringe Unterschiede festzustellen und es entstanden wenige neue Substanzen.

Die Stromstärke lag etwa zwei Größenordnungen über der in dem Versuch mit Eisen und 10 V (Abb. 4.9). Es scheinen mehr Reaktionen an den Elektroden stattgefunden zu haben. Da die Spektren jedoch nur wenige neu gebildete Substanzen aufwiesen und eine starke Gasbildung beobachtet wurde, ist eine naheliegende Erklärung für die hohe Stromstärke,

die Bildung von Chlorgas (Cl_2) an den Elektroden ($2 \text{FeCl}_3 + 6\text{e}^- \rightarrow 2 \text{Fe} + 3 \text{Cl}_2$). Dies würde zu einem Abbau des FeCl_3 führen, der nicht beobachtet wurde (Abb. 4.8).

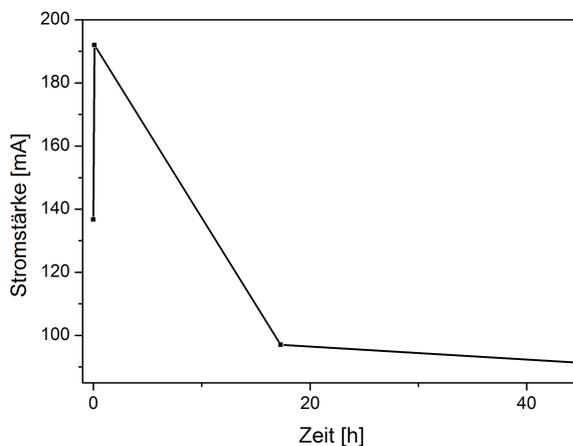


Abbildung 4.9: Verlauf der Stromstärke bei der Elektrolyse mit Eisen(III)-chlorid. Nach einem anfänglichen Anstieg innerhalb von Minuten, fiel die Stromstärke in den nächsten Stunden ab.

4.1.3 Zusammenfassung

Die Elektrolyse erzeugte nur wenige organische Substanzen. Eine Kolbe-Elektrolyse von organischen Säuren wurde nicht beobachtet. Jedoch zeigten die Messungen der Stromstärken, dass an den Elektroden chemische Prozesse abliefen. Durch den Einsatz von potentiellen Katalysatoren wurde das Ziel der Erzeugung eines komplexen organischen Gemisches nicht erreicht. Sowohl elementares Eisen als auch Eisen(III)-chlorid reagierten mit den organischen Substanzen. Zwar trug dies zur Erzeugung neuer chemischer Substanzen bei, jedoch war das Gemisch damit nicht mehr rein organisch.

4.2 Maillard-Reaktion

Die Maillard-Reaktion erzeugt eine komplexe Mischung aus Aminosäuren und Zuckern. Sie ist neben anderen Reaktionen verantwortlich für die Bräunung von Speisen bei erhöhten Temperaturen [101].

In dem Versuch wurde eine wässrige Lösung mit dem Zucker Glucose (2 M) und den Aminosäuren Arginin (3 M) und Prolin (3 M) angesetzt. Die Lösung wurde für mehrere Stunden auf Temperaturen von 57°C bzw. 70°C gehalten. Dieses Vorgehen entstammt in modifizierter Form der Anleitung der Chemiedidaktik der Universität Wuppertal [102]. Im Abstand von wenigen Stunden wurden Proben der Lösung genommen.

Es zeigte sich, dass in der Maillard-Reaktion eine Vielzahl neuer Substanzen entstand. Dabei führte eine höhere Temperatur schneller zu einem Abbau der Ausgangsstoffe zu zahlreichen, kleineren Substanzen (Abb. 4.10). Die Probe bei 70°C hatte in einem Mas-

senbereich von m/z 50 bis 1400 bei jeder ganzzahligen Masse mindestens einen Massenpeak.

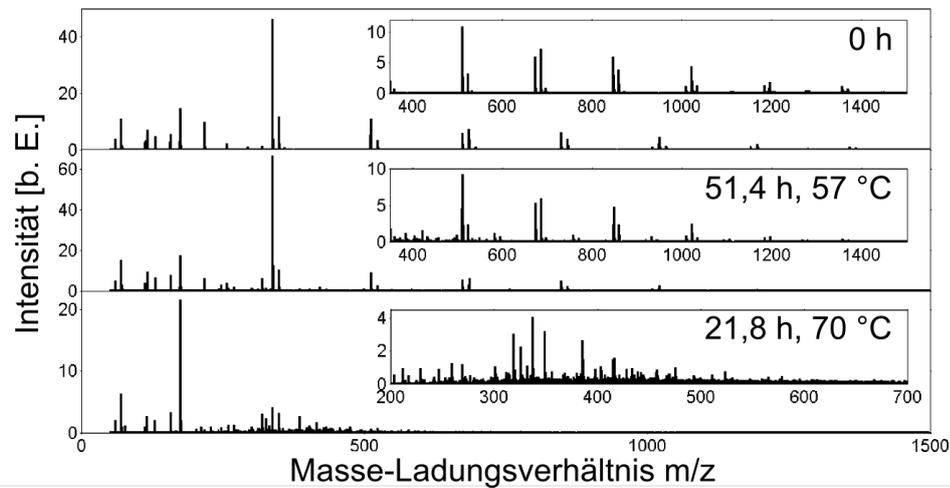


Abbildung 4.10: Vergleich der Massenspektren (ES+) der Ausgangsprobe mit Proben, die für mehrere Stunden geheizt wurden. Im Ausgangsgemisch waren Cluster der Aminosäuren zu erkennen. Es zeigte sich, dass eine höhere Temperatur zu einer größeren Vielfalt an Substanzen führte. Alle Proben, die nach diesen Proben entnommen wurde, zeigten ein nahezu unverändertes Spektrum.

4.3 Formose-Reaktion

Es wurden 300 ml einer 0,2 M Formaldehyd-Lösung mit 0,03 M Calciumoxid auf 50 °C erhitzt [61] und in regelmäßigen Abständen Proben mit dem Fraktionierer (Abschnitt 3.2.1) entnommen. Die Versuchsdauer betrug 19,5 h.

Während des Versuchs entstanden fast tausend Substanzen (Abb 4.11 b). Dabei durchlief das Gemisch verschiedene Phasen, die sich deutlich an ihren Spektren unterscheiden ließen (Abb 4.11 a). Die Übergänge zwischen den Phasen ließen sich an dem Verlauf charakteristischer Peaks veranschaulichen (Abb 4.11 c). Das Wachstum einiger Peaks konnte mit einer sigmoidalen Funktion, die den Konzentrationsverlauf des Produkts einer autokatalytischen Reaktion darstellt (Abschnitt 2.1.1), angepasst werden (Abb 4.11 d). Im Rahmen der Messgenauigkeit wurde kein Nachweis für entstandene Zucker erbracht. Jedoch sind möglicherweise einige Peaks wie z. B. bei m/z 113 auf Monosaccharide wie Triosen ($C_3H_6O_3Na^+$, 113,02092 Da) zurückzuführen. In den Spektren fielen Gruppen von äquidistanten Peaks auf. Im Spektrum der Probe nach 390 min ließen sich mindestens sechs Reihen von Peaks mit einem Abstand von $30,025 \pm 0,011$ Da unterscheiden, was mit guter Übereinstimmung auf Formaldehyd (oder Isomere) schließen lässt ($30,01057$ Da).

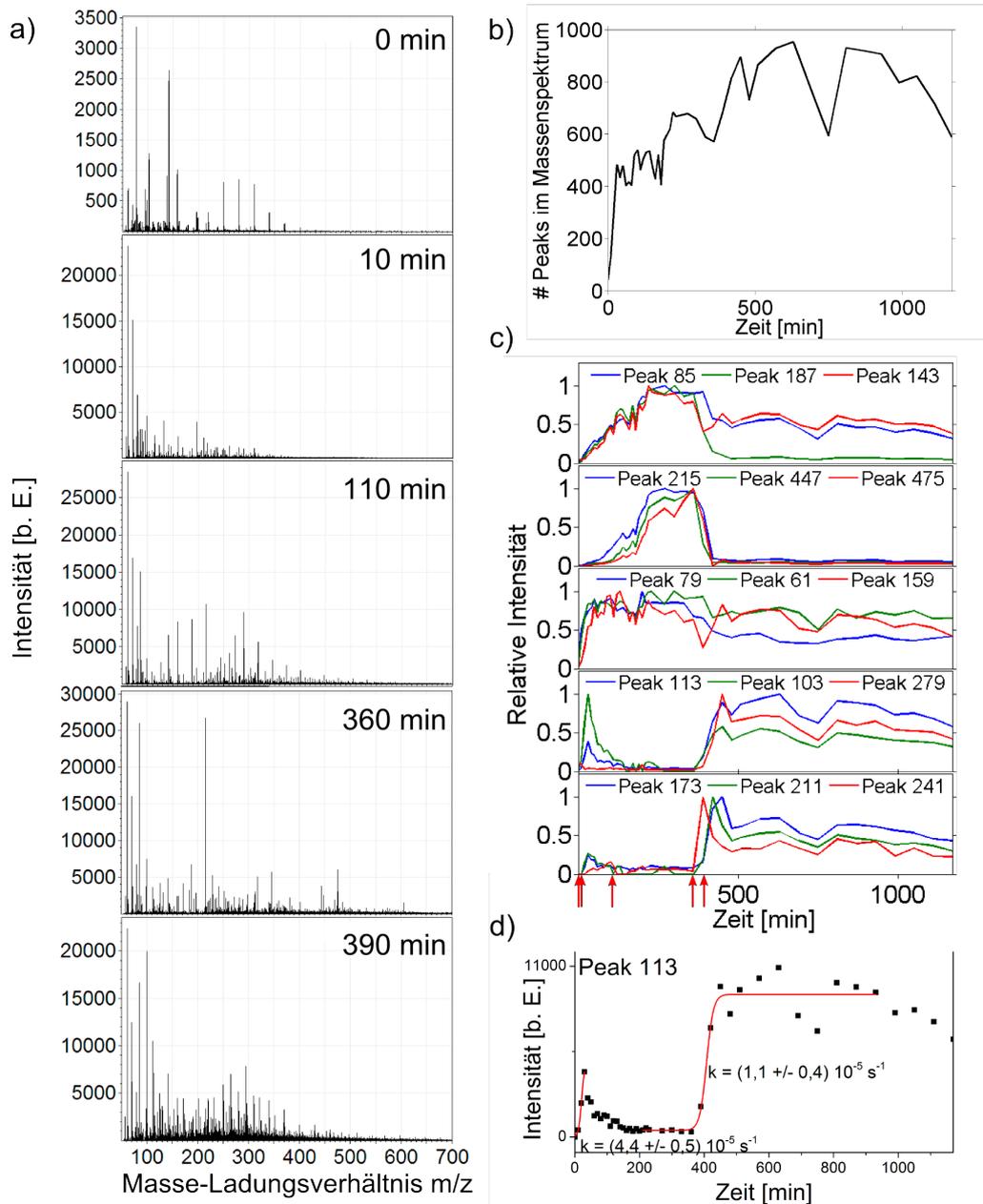


Abbildung 4.11: Zeitliche Entwicklung des Formose-Gemisches. **a)** Während des Experiments ließen sich unterschiedliche Spektren (ES+) beobachten. Die Übergänge zeichneten sich durch das teilweise abrupte Auftauchen und Verschwinden einiger Substanzen aus. **b)** Die Anzahl der detektierten Peaks nahm dabei in den ersten 3,5 h stark zu und schwankte danach um ein Niveau von etwa 800 bis 900 Substanzen. Die Spektren veränderten sich danach nicht mehr wesentlich. **c)** Für jede Phase des Experiments wurden einige charakteristische Substanzen gefunden, deren Wachstum nichtlinear verlief und **d)** teilweise durch eine sigmoidale Funktion, wie sie bei Autokatalysen auftritt, angepasst werden konnten. Der eigentlich Anstieg der Konzentration der Substanz war steiler, da der Detektor bei der Messung im Sättigungsbereich war.

4.4 Cyanidgemische

Cyanwasserstoff wird eine zentrale Bedeutung in der chemischen Evolution zugesprochen. Cyanidlösungen können komplexen Gemische liefern (Abschnitt 2.4.3).

Eine wässrige Lösung aus Natriumcyanid (NaCN , 1,5 M, zur Synthese, Zentrales Chemikalienlager der Universität des Saarlandes), Ammoniumchlorid (NH_4Cl , 1,5 M, VWR, p. a.) und Ammoniumhydroxid (NH_4OH , 1,5 M, purum p. a., Zentrales Chemikalienlager der Universität des Saarlandes) wurde auf 90°C geheizt. Innerhalb von Sekunden wurde die Lösung dunkelbraun. Die Proben wurden mit Massenspektrometrie analysiert.

Die ersten Spektren ließen sich nachträglich kalibrieren (Abschnitt 3.3.1), da immer eine Probe vor Hinzugabe des Natriumcyanids aufgenommen wurde, die Ammoniumchloridkomplexe als bekannte Substanz enthielt ($(\text{NH}_4\text{Cl})_n\text{NH}_4^+$). Die Spektren der Proben zeigten sowohl im positiven als auch negativen Ionisationsmodus dominante Gruppen von Peaks im Abstand von rund 58 Da (Abb. 4.12 a). Dabei handelte es sich um Cluster von Natriumchlorid (NaCl , 57,9586 Da), welche mit einem Natriumion positiv ($(\text{NaCl})_n\text{Cl}^+$) bzw. einem Chlorion negativ geladen ($(\text{NaCl})_n\text{Cl}^-$) waren. Auch diese Information wurde genutzt, um die Spektren nachträglich zu kalibrieren. Damit wurde die Genauigkeit von teilweise 500 ppm auf unter 20 ppm verbessert. Sie reichte dennoch nicht aus, um die anderen Substanzen des Gemisches zu identifizieren.

Die zeitliche Entwicklung der Spektren wies im Folgenden ein nahezu unverändertes Bild auf (Abb. 4.12 b). Die Spektren blieben dominiert von den Natriumchlorid-Clustern. Doch verschob sich über die Dauer des Experiments die Massenverteilung zu kleineren Massen (Abb. 4.13).

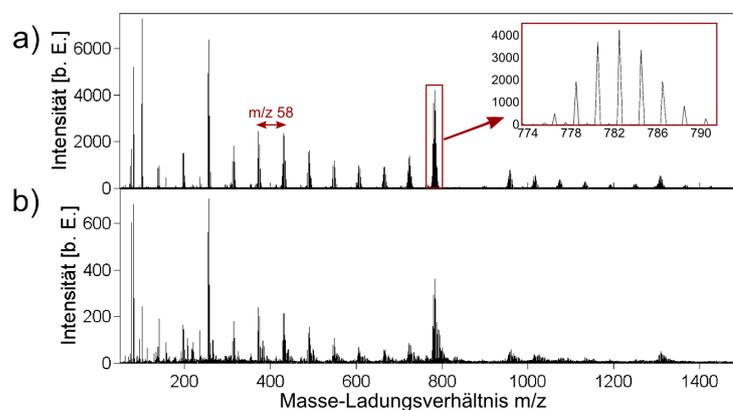


Abbildung 4.12: Vergleich der Massenspektren (ES+) von Proben, die am Anfang und am Ende des Experiments entnommen wurden. Innerhalb der Laufzeit des Experiments (6,5 h) änderten sich die Spektren nur geringfügig. Hier werden daher nur die Spektren vom Anfang und Ende des Experiments dargestellt. **a)** Die erste Probe enthielt eine Serie äquidistanter Peakgruppen, die einen ganzzahligen Abstand von 58 Da hatten. Diese Muster wurden auf Natriumchlorid-Cluster zurückgeführt. **b)** Mit der Zeit nahmen die Intensitäten der Komplexe stark ab. Es tauchten mehrere neue Substanzen, vor allem im Bereich kleinerer Massen (etwa bis m/z 400), auf.

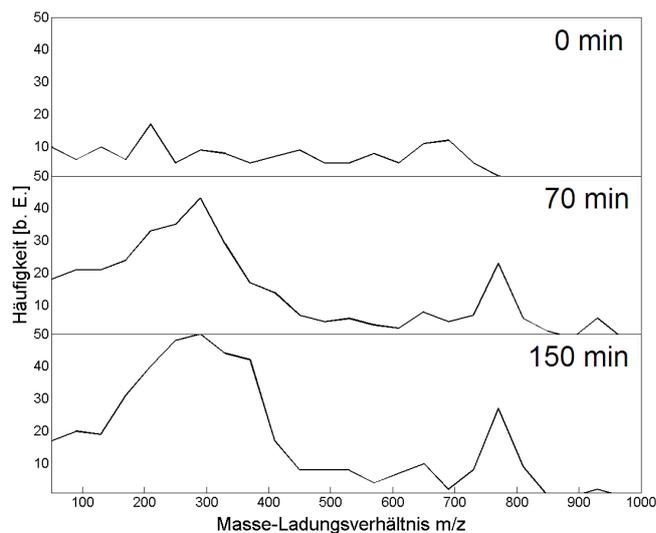


Abbildung 4.13: Vergleich der Massenverteilung von Proben zu Beginn (0 min), in der Mitte (70 min) und am Ende (150 min) des Experiments. Während des Experiments entstanden mehr kleinere Substanzen. Die Häufigkeit ist die Anzahl der Substanzen in Intervallen von m/z 40. Die NaCl-Agglomerate wurden nicht berücksichtigt. Rechnungen und die graphische Darstellung erfolgte mit der Software MATLAB [96].

In den Spektren tauchten Reihen von Peaks auf, die einem Oligomer der Art $(\text{HCN})_n$ bis zu $n = 13$ entsprechen konnten. Trotz nachträglicher Kalibrierung war eine eindeutige Identifizierung nicht möglich, da die Kalibrierungssubstanzen in einem höheren Massenbereich angeordnet waren als die HCN-Oligomere. Die Messungen waren auch durch Konkurrenzeffekte bei der Ionisierung (Abschnitt 3.3.1) beeinflusst, da vor allem das Natriumchlorid ionisiert wurde. Die niedrige Intensität führte zu einer reduzierten Genauigkeit.

Der Massendefekt deutete auf die Entstehung organischer Moleküle hin, da Natrium und Chlor negative Massendefekte haben, während organische Verbindungen in der Regel positive Massendefekte aufweisen. In den Experimenten folgten die Massendefekte der gemessenen Substanzen zwei Tendenzen (Abb. 4.14). Eine der Tendenzen lässt sich auf die NaCl-Cluster zurückführen, die andere ist möglicherweise HCN-Oligomeren zuzuordnen. Die Experimente wurden mehrfach durchgeführt und die präsentierten Resultate sind charakteristisch für alle Experimente. Das Experiment wurde mit und ohne kontinuierlichem Rühren der Lösung gemacht. Dabei wurden keine Unterschiede festgestellt. In Experimenten, die bei geringerer Temperatur (50°C) liefen, entstanden neue Moleküle zwar langsamer, jedoch mit den gleichen Massen wie in Experimenten bei 90°C .

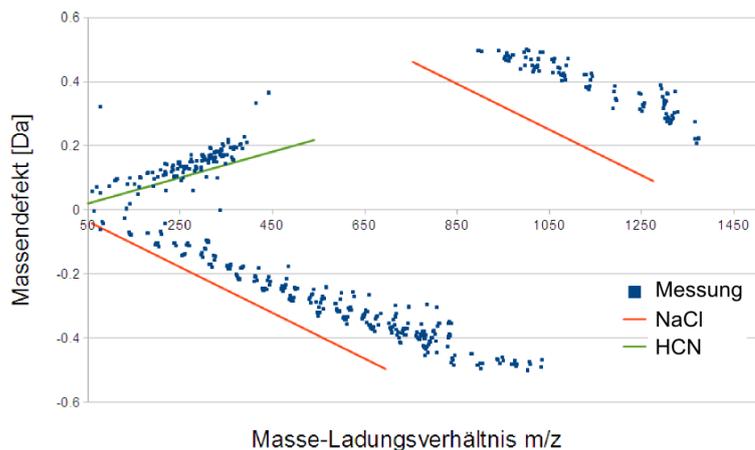


Abbildung 4.14: Massendefekt einer Probe des Cyanidgemisches. Es lassen sich zwei Systematiken ausmachen, wovon eine auf NaCl-Agglomerate zurückzuführen ist und die andere auf organische Verbindungen, wie z. B. HCN.

4.5 Cyanid-Formaldehyd-Mischungen

Aufgrund der monotonen Dynamik des Cyanidgemisches, wurden weitere Experimente auf Grundlage eines Cyanidgemisches unter Zugabe von Formaldehyd (CH_2O) durchgeführt, da dies die Polymerisation des Cyanwasserstoffs unter Bildung von Glycolonitril beschleunigen kann (Abschnitt 2.4.3).

In verschiedenen Versuchen wurde Formaldehyd entweder nach einiger Zeit in ein Cyanidgemisch gegeben, oder es wurde direkt zu Beginn des Experiments hinzugegeben oder kontinuierlich hinzutropft. Auch wurde das Cyanidgemisch in Formaldehyd getropft oder beide Substanzen wurden kontinuierlich in Wasser hinzugegeben.

4.5.1 Reaktion von Formaldehyd mit dem Cyanidgemisch

Ein Cyanidgemisch wurde, wie in Abschnitt 4.4 beschrieben, angesetzt. Ihm wurde zu verschiedenen Zeitpunkten eine 37%ige Formaldehyd-Lösung (zur Synthese, Zentrales Chemikalienlager der Universität des Saarlandes) hinzugesetzt. Bei der Zugabe von Formaldehyd wurde ein Blasenschlagen der Lösung beobachtet. Dies kann die Bildung eines Gases oder eine exotherme Reaktion bedeuten, die zu einem Aufkochen der Lösung führte. Es wurden über den gesamten Verlauf Proben der Lösung entnommen und im Massenspektrometer gemessen.

Die Spektren zeigten deutliche Veränderungen, die sich durch den Abbau der Natriumchlorid-Verbindungen und dem Entstehen neuer Substanzen ausdrückten (Abb. 4.15).

Die Entstehung von Glycolonitril wurde nicht eindeutig nachgewiesen. Es tauchte nach der Hinzugabe von Formaldehyd ein Peak im Massenspektrum bei m/z 58,088 auf. Für Glycolonitril, ionisiert mit einem Proton, würde ein Wert von m/z 58,02874 erwartet. Es wurde keine Entstehung von Polymeren des Cyanwasserstoffs beobachtet.

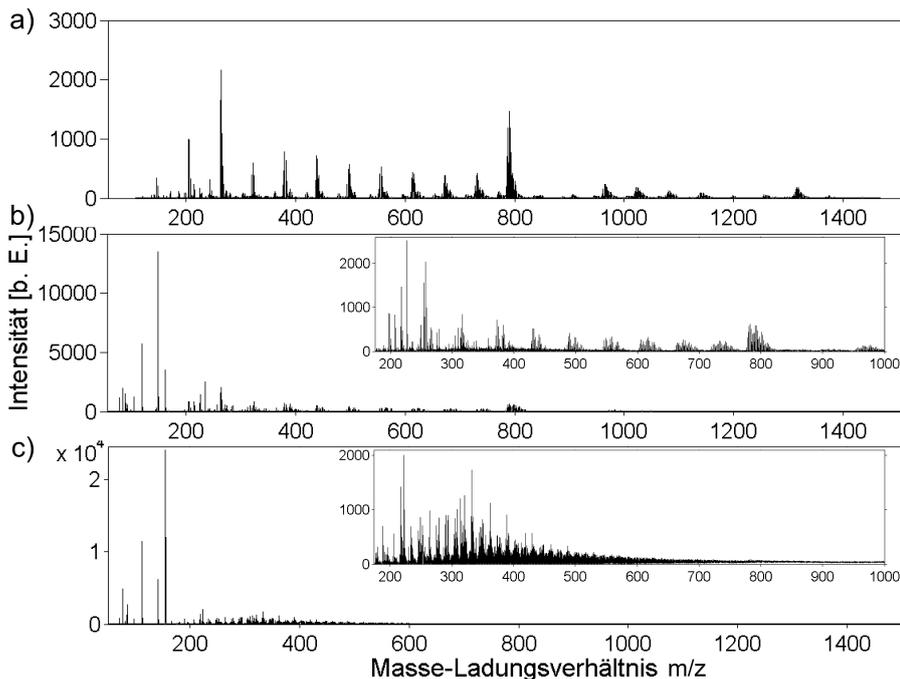


Abbildung 4.15: Änderung der Spektren des Cyanidgemisches bei Hinzugabe von Formaldehyd. **a)** Das Spektrum (194 min) des Cyanidgemisches, wie es in Abschnitt 4.4 eingeführt wurde, ist dominiert von Clustern aus Natriumchlorid. **b)** Nach der Hinzugabe von Formaldehyd (Endkonzentration etwa 5 %) tauchten diese Komplexe nur noch mit stark verminderter Intensität auf (582 min). **c)** Weiteres Zuführen von Formaldehyd (Endkonzentration etwa 9 %) ließ die Salzcluster komplett verschwinden. Es entstand eine Vielzahl neuer Substanzen im unteren Massenbereich. Die Bildung eines Polymers des Cyanwasserstoffs ließ sich nicht nachweisen (1740 min).

Ein sprunghafter Anstieg der Anzahl an Substanzen im Gemisch war vor allem durch die Entstehung kleinerer Substanzen im Bereich von m/z 300 begründet. Weitere Zugabe von Formaldehyd führte zu einer breiteren Massenverteilung und machte das Gemisch komplexer (Abb. 4.16).

In einem anderen Experiment wurde der Cyanidlösung direkt zu Beginn des Experiments Formaldehyd hinzugesetzt. Einige prominente Substanzen wurden herausgegriffen, da sie eine auffällige Reaktion auf das Formaldehyd zeigten.

Abbildung 4.17 stellt den zeitlichen Verlauf der Intensitäten der Substanzen mit ganzzahligen Massen von m/z 71, 85, 98, 112, 141 und 155 dar. Sie können anhand ihrer Reaktion auf die Hinzugabe von Formaldehyd in zwei Gruppen unterschieden werden. Substanzen der einen Gruppe (m/z 71, 98, und 141) bildeten sich bei geringer Formaldehydkonzentration, wurde jedoch eine Schwelle überschritten, verschwanden sie exponentiell. Substanzen der anderen Gruppe (m/z 85, 112, und 155) reagierten gegenteilig. Sie wurden zwar auch bei geringen Formaldehydkonzentrationen in kleinen Mengen gebildet, bei einer Formaldehydkonzentration von 12,5 % wuchs ihre Konzentration jedoch stark bis zu einem Sättigungswert an. Die exponentiellen Verläufe entsprachen einem Wachstum/einer Zersetzung, wie es für Reaktionen zweiter Ordnung erwartet würde.

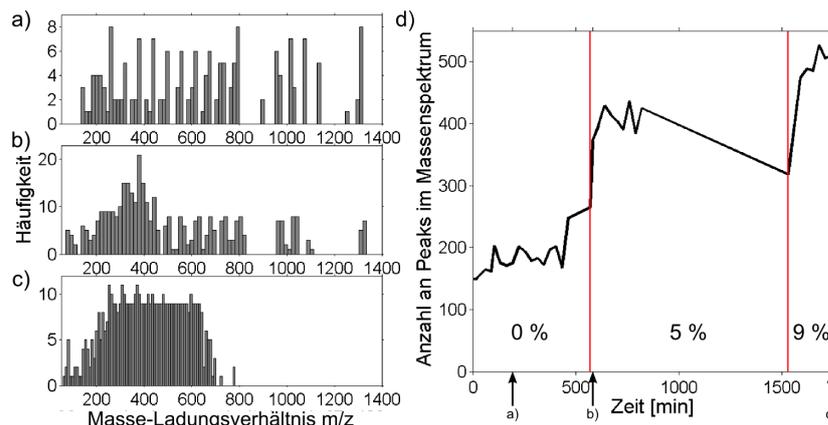


Abbildung 4.16: Änderung der Massenverteilung des Cyanidgemisches bei Hinzugabe von Formaldehyd. Die Massenverteilungen sind als Histogramm dargestellt. Dabei wurde die Anzahl der Säulen auf 80 festgelegt. **a)** Die Massenverteilung des Cyanidgemisches war breit und es lagen insgesamt wenige Massen vor. **b)** Nach der Hinzugabe von Formaldehyd entstanden mehr Substanzen in einem Massenbereich um etwa m/z 300. **c)** Weiteres Zuführen von Formaldehyd verbreiterte die Massenverteilung. **d)** Die Zugabe von Formaldehyd (Konzentration als Prozentangabe) führte erst zu einem sprunghaften Anstieg neuer Substanzen, dann fiel die Anzahl an Substanzen leicht ab, wobei in dem Bereich zwischen 850 min und 1530 min Messpunkte fehlen. Eine weitere Steigerung der Formaldehydkonzentration erhöhte erneut die Anzahl an Substanzen. Die Pfeile an der Zeitachse ordnen die Massenverteilungen ihren Zeitpunkten zu (194 min, 582 min und 1740 min).

Gemittelt über die Messreihen aus drei Versuchen ergaben sich die genauen Werte $71,09 \pm 0,02$ Da, $85,10 \pm 0,02$ Da, $98,09 \pm 0,02$ Da, $112,11 \pm 0,02$ Da, $141,09 \pm 0,08$ Da und $155,12 \pm 0,03$ Da.

Es waren Paare mit einer Massendifferenz von $14,02 \pm 0,04$ Da auszumachen. Sie konnten einer CH_2 -Gruppe ($14,01565$ Da) zugeordnet werden. Es wurden die einfach ungesättigten Kohlenwasserstoffketten $C_5H_{11}^+$ ($71,08553$ Da) und $C_6H_{13}^+$ ($85,10118$ Da) identifiziert. Die Addition von HCN lieferte $C_6H_{12}N^+$ ($98,09643$ Da) und $C_7H_{14}N^+$ ($112,11208$ Da). Die Bildung dieser Moleküle ist wegen der hohen Cyanidkonzentration wahrscheinlich. Für die anderen beiden Substanzen gab es im Rahmen der Messtoleranz zu viele mögliche Kombinationen, um eine Identifizierung vorzunehmen.

Diese Regelmäßigkeit der Abstände von rund 14 Da zwischen zwei Paaren legt nahe, dass die Hinzugabe von Formaldehyd eine Reaktion auslöste, die netto eine Angliederung einer CH_2 -Gruppe bewirkt. Jedoch stimmten die Reaktionskonstanten aus dem Fit der Intensitätsverläufe nicht paarweise überein. Sie entstammten möglicherweise unterschiedlichen Reaktionen.

Auffallend ist, dass es einen Schwellenwert der Formaldehydkonzentration zu geben scheint, ab dem molekulare Spezies gebildet wurden (z. B. Peak 155). Gleichzeitig wurden bei Erreichen dieser Schwellenkonzentration andere Spezies, die bei geringen Formaldehydkonzentrationen entstanden, nun abgebaut (z. B. Peak 141).

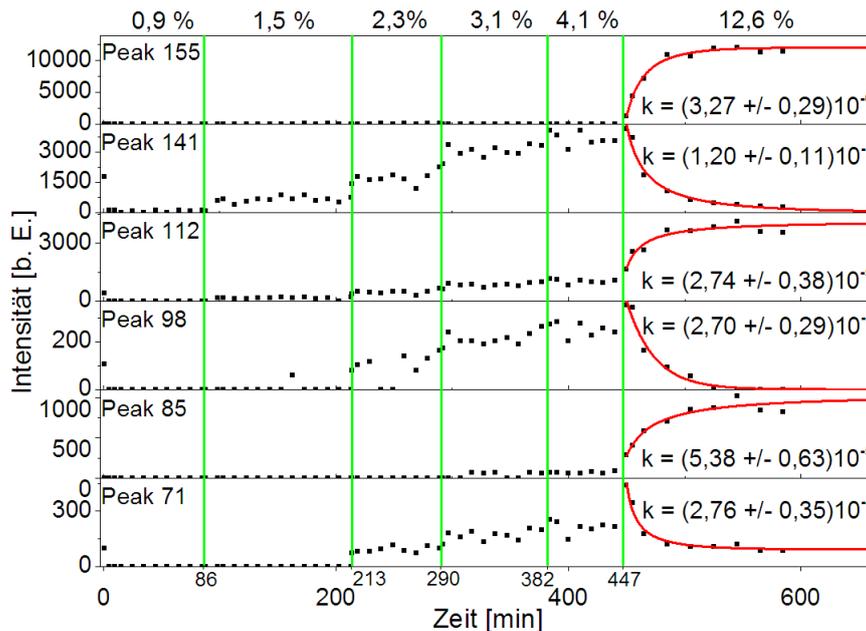


Abbildung 4.17: Zeitlicher Verlauf der Intensität verschiedener Peaks. In der Legende steht die ganzzahlige Masse der Substanzen, die zu den Peaks gehören. Die grünen Striche markieren die Zeitpunkte der Hinzugabe von Formaldehyd. Der jeweilige Anteil an Formaldehyd ist darüber notiert.

Es sind zwei charakteristische Verläufe zu unterscheiden. Bei den Substanzen der ganzzahligen Masse m/z 71, 98, und 141 folgte einem Ansteigen der Konzentration bei geringen Formaldehydkonzentrationen ein exponentieller Abfall bei einer erhöhten Formaldehydkonzentration. Die Konzentrationen der Substanzen mit den ganzzahligen Massen m/z 85, 112, und 155 stiegen bei geringen Formaldehydkonzentrationen leicht an und wuchsen bei einer erhöhten Formaldehydkonzentration stärker bis sie in einem Sättigungsverlauf mündeten. Das Wachstum und die Zersetzung folgten Exponentialgesetzen wie sie für eine Reaktion zweiter Ordnung erwartet würden. Das Signal des Peaks 155 war so hoch, dass der Detektor nicht mehr im linearen Bereich gemessen hat. Bei den anderen Substanzen ist der Intensitätsverlauf proportional zum Verlauf der Konzentrationen.

4.5.2 Kontinuierliche Mischung von Formaldehyd und dem Cyanidgemisch

Die Entwicklung eines Cyanidgemisches bei kontinuierlicher Hinzugabe von Formaldehyd wurde untersucht. In darauf folgenden Experimenten wurde der Mischvorgang umgedreht und ein Cyanidgemisch kontinuierlich in eine Formaldehydlösung gegeben. In weiteren Experimenten erfolgte eine gemeinsame Zugabe entweder gleichzeitig oder wechselseitig.

Kontinuierliche Zugabe von Formaldehyd in das Cyanidgemisch

Ein Cyanidgemisch wurde, wie in Abschnitt 4.4 beschrieben, angesetzt. Eine Pumpe führte dem Gemisch kontinuierlich eine 37%ige Formaldehyd-Lösung (zur Synthese, Zentrales Chemikalienlager der Universität des Saarlandes) zu. Es wurden über den gesamten Verlauf Proben der Lösung mit dem Fraktionierer entnommen und im Massenspektrometer gemessen.

Die Hinzugabe von Formaldehyd in das Cyanidgemisch erzeugte über 200 neuer Substanzen (Abb. 4.18 d). Ab einem Wert von etwa 7,5 % Formaldehyd und 80 % Cyanidgemisch (der Rest ist Wasser aus der Formaldehyd-Lösung) nahm die Zahl der Substanzen wieder leicht ab. Die anfänglich sehr breite Massenverteilung wurde enger und konzentrierte sich um eine Masse von etwa m/z 300 bis 350 (Abb. 4.18 a-c).

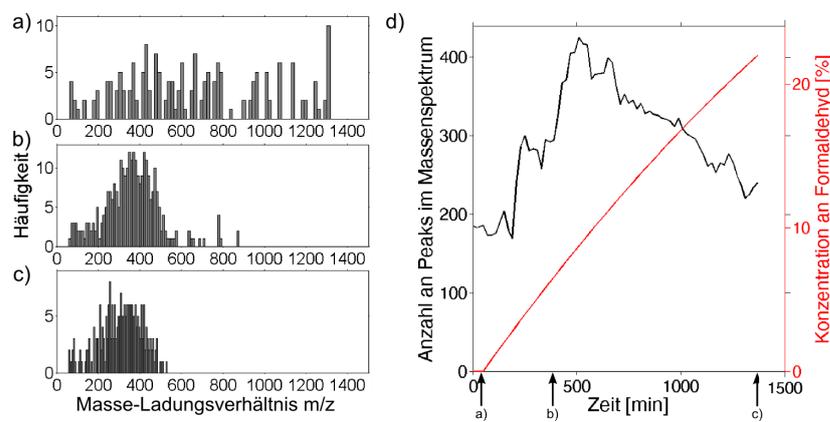


Abbildung 4.18: Änderung der Massenverteilung des Cyanidgemisches bei kontinuierlicher Hinzugabe von Formaldehyd. Die Massenverteilungen sind als Histogramm dargestellt. Dabei wurde die Anzahl der Säulen auf 80 festgelegt. **a)** Die Massenverteilung des Cyanidgemisches war breit und es lagen insgesamt wenige Massen vor. **b)** Nach Starten der Hinzugabe von Formaldehyd entstanden mehr Substanzen in einem Massenbereich um etwa m/z 350. **c)** Weiteres Zuführen von Formaldehyd verbreiterte die Massenverteilung leicht und verschob sie etwas zu kleineren Massen. **d)** Die Zugabe von Formaldehyd führte zu einem Anstieg an neuen Substanzen. Deren Anzahl fiel bei höheren Formaldehydkonzentrationen leicht ab. Die Pfeile an der Zeitachse ordnen die Massenverteilungen ihren Zeitpunkten zu.

Die Spektren wurden auch in diesen Versuchen dominiert von Massenpeaks bei rund m/z 141 und m/z 155 (Abb. 4.19). Für hohe Formaldehydkonzentrationen tauchte eine Reihe äquidistanter Peaks auf, die einen Abstand von rund 30 Da hatten. Sie tauchten auch in Proben mit reinem Formaldehyd auf. Es handelte sich dabei um Paraformaldehyd ($\text{HO}(\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}$), die polymerisierte Form des Formaldehyds.

Anhand einiger charakteristischer Konzentrationsverläufe (Abb. 4.20) ist zu sehen, dass es Klassen von Substanzen gab, die erst ab einer bestimmten Formaldehydkonzentration gebildet wurden, aber teilweise wieder verschwanden, wenn die Konzentration zu hoch war. Das Wachstum geschah innerhalb weniger Minuten, während der Abbau langsamer

Experimentelle Ergebnisse

erfolgte. Einige Substanzen erreichten bei weiterer Zufuhr von Formaldehyd eine konstante Konzentration. Das Vorhandensein von Formaldehyd in den letzten Proben weist darauf hin, dass hier Substanzen im Cyanidgemisch vollständig verbraucht wurden, so dass keine weiteren Reaktionen erfolgten.

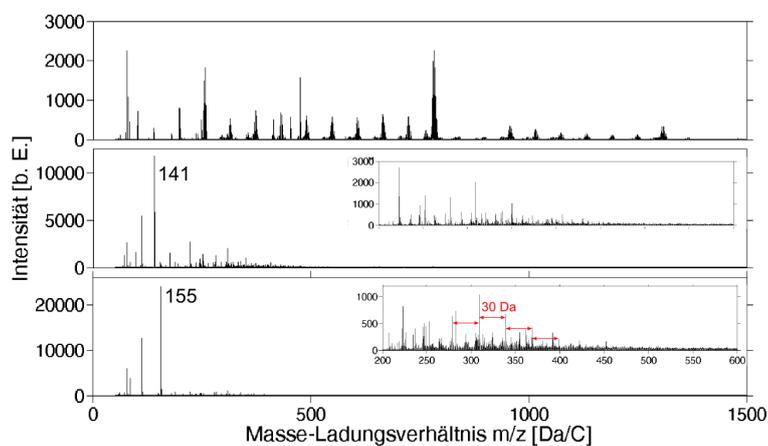


Abbildung 4.19: Spektren des Cyanid-Formaldehyd-Gemisches nach (von oben nach unten) 20 min, 6,5 h und 22,8 h kontinuierlicher Zugabe von Formaldehyd. Zu Beginn des Experiments waren noch deutlich die Natriumchlorid-Cluster, die charakteristisch für das Cyanidgemisch sind, zu erkennen (oben). Die späteren Spektren wurden dominiert von Substanzen bei rund m/z 141 und m/z 155. Im letzten Spektrum (unten) ließen sich die Massenpeaks des Paraformaldehyds an ihren äquidistanten Peaks mit Abständen von rund m/z 30 erkennen.

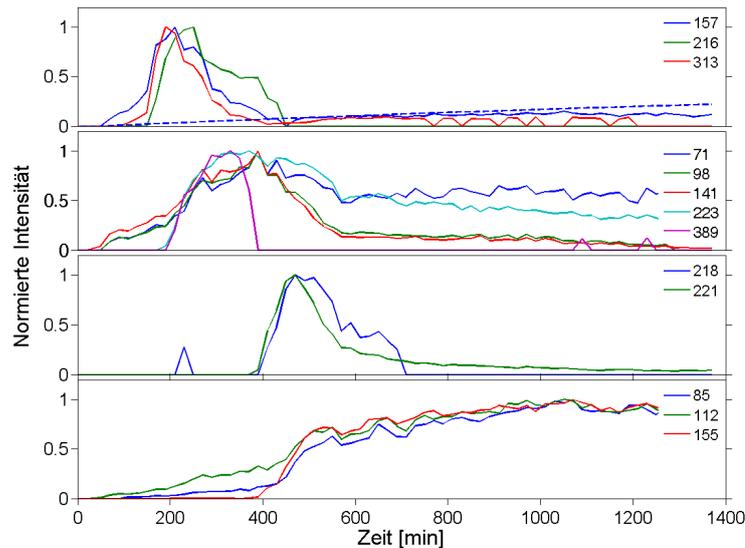


Abbildung 4.20: Normierte Intensitätsverläufe von Substanzen unter Zugabe von Formaldehyd. In der Legende steht die ganzzahlige Masse der Substanzen. Es fällt auf, dass viele Substanzen gleichzeitig und in gleicher Weise auf das Formaldehyd reagierten. Weiter ist ein Zerfall der Substanzen auf eine Restkonzentration bei höheren Formaldehydkonzentrationen festzustellen. Andere Substanzen (m/z 85, 112, 155) entstanden erst bei höheren Formaldehydkonzentrationen und blieben erhalten. Die Messungen waren nicht im linearen Bereich des Detektors.

Kontinuierliche Zugabe des Cyanidgemisches in Formaldehyd

Einer 37%igen Formaldehydlösung wurde ein Cyanidgemisch, wie in Abschnitt 4.4 beschrieben, kontinuierlich hinzugegeben. Es wurden über den gesamten Verlauf Proben der Lösung mit dem Fraktionierer entnommen und im Massenspektrometer gemessen.

In der Lösung ließen sich nach Hinzugabe des Cyanidgemisches über 200 Substanzen entdecken (Abb. 4.21 d). Ihre Anzahl nahm zu, bis die Formaldehydkonzentration bei etwa 8% lag. Danach schwankte die Anzahl der Moleküle um einen Wert von etwa 180.

Zunächst waren die Massen der neu entstandenen Substanzen um etwa m/z 380 verteilt. Die Verteilung wurde jedoch mit abnehmender Formaldehydkonzentration breiter und verschob sich zu schwereren Massen (Abb. 4.21 a-c). Im Vergleich zum vorherigen Versuch fällt auf, dass sich am Ende eine breitere Massenverteilung einstellte. Die Umkehrung der Hinzugabe der Reaktanden führte offenbar zu anderen Reaktionen.

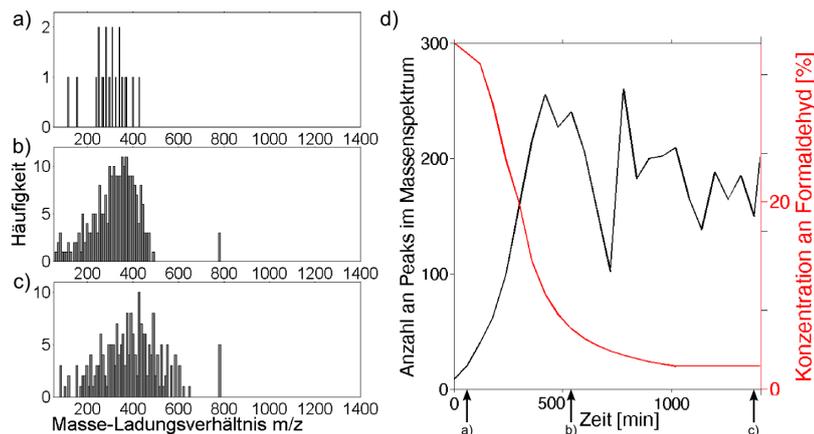


Abbildung 4.21: Änderung der Massenverteilung des Formaldehydgemisches bei kontinuierlicher Hinzugabe eines Cyanidgemisches. Die Massenverteilungen sind als Histogramm dargestellt. Dabei wurde die Anzahl der Säulen auf 80 festgelegt. **a)** Zu Beginn des Experiments sind in dem Formaldehydgemisch nur wenige Substanzen vorhanden. **b)** Nach Starten der Hinzugabe des Cyanidgemisches entstanden mehr Substanzen in einem Massenbereich um etwa m/z 350. **c)** Weiteres Zuführen des Cyanidgemisches verbreiterte die Massenverteilung und verschob sie zu größeren Massen. **d)** Die Zugabe des Cyanidgemisches führte zu einer Bildung neuer Substanzen. Deren Anzahl fiel bei höheren Cyanidkonzentrationen leicht ab. Die Pfeile an der Zeitachse ordnen die Massenverteilungen ihren Zeitpunkten zu.

Zu Beginn des Versuchs waren in den Spektren im Wesentlichen die Peaks des Formaldehyds zu erkennen (Abb. 4.22). Die Peaks bei m/z 141 und 155 tauchten weniger markant als in den vorherigen Versuchen auf. Es ist auffallend, dass in den Spektren am Ende des Versuchs, bei hohen Konzentrationen des Cyanidgemisches, die Natriumchlorid-Cluster nur schwach zu sehen waren.

Der Vergleich der Intensitätsverläufe (Abb. 4.23) einiger charakteristischer Peaks über die Dauer des Experiments zeigte hier tendenziell ein entgegengesetztes Verhalten zu den Verläufen der gleichen Substanzen bei einer Erhöhung der Formaldehydkonzentration (vgl. Abb. 4.20). Die Verläufe waren jedoch teilweise weniger scharf.

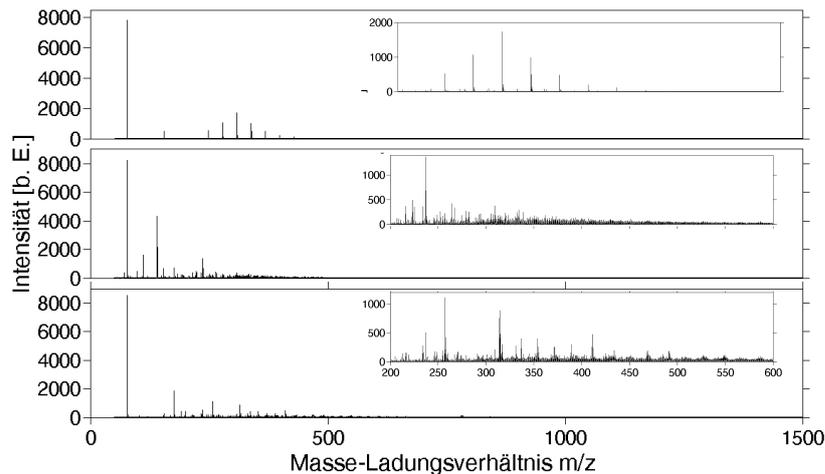


Abbildung 4.22: Spektren des Cyanid-Formaldehyd-Gemisches nach (von oben nach unten) nach 1 h, 9 h und 23 h kontinuierlicher Zugabe des Cyanidgemisches in die Formaldehydlösung. Zu Beginn des Experiments waren noch deutlich die Massenpeaks des Paraformaldehyds zu erkennen (oben). In den späteren Spektren tauchten einige neue Substanzen auf.

Kontinuierliche Zugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds in Wasser

In diesem Versuch wurde als dritte Abwandlung der Reaktionen des Formaldehyd-Cyanid-Gemisches untersucht, welchen Einfluss eine parallele Zugabe der Reaktanden hat.

In 100 ml Wasser (90 °C) wurden mit zwei Peristaltikpumpen gleichzeitig eine 37%ige Formaldehydlösung und ein Cyanidgemisch, wie in Abschnitt 4.4 beschrieben, kontinuierlich hinzugegeben. Die Pumpen wurden dabei so eingestellt, dass die Formaldehydkonzentration zunächst auf einen Wert von etwa 8 % anstieg und danach wieder auf etwa 4 % abfiel. Es wurden über den gesamten Verlauf des Experiments Proben der Lösung mit dem Fraktionierer entnommen und im Massenspektrometer gemessen.

In der Lösung entstanden über 400 neue Substanzen. Dabei fällt auf, dass bei einer Formaldehydkonzentration von 8 % die Anzahl an Substanzen zurückgegangen war und bei niedrigeren Konzentrationen wieder anstieg (Abb. 4.24 d). Dies steht im Gegensatz zu vorangegangenen Versuchen, in denen die Formaldehydkonzentration von 8 % die meisten Substanzen hervorbrachte. Ein Abfall der Formaldehydkonzentration änderte die Anzahl an Substanzen nicht weiter. Sie stellte sich bei etwa 600 ein und lag damit deutlich über dem der vorangegangenen Versuche. Die Verteilung der Massen war breiter als in den vorangegangenen Versuchen. Damit scheinen die zusätzlichen Substanzen vor allem in den Bereichen unterhalb von m/z 250 und oberhalb von m/z 400 entstanden zu sein (Abb. 4.24 a-c).

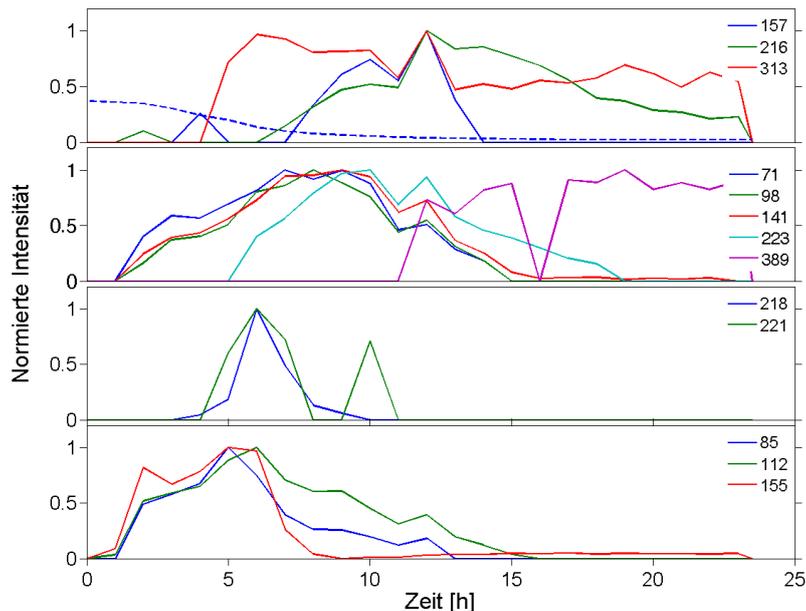


Abbildung 4.23: Normierte Intensitätsverläufe von einigen Substanzen mit der Zeit unter Zugabe von Formaldehyd. In der Legende steht die ganzzahlige Masse der Substanzen. Das oberste Diagramm beinhaltet außerdem den Verlauf der Formaldehydkonzentration (gestrichelte Linie). Es fällt auf, dass viele Substanzen gleichzeitig und in gleicher Weise auf das Formaldehyd reagierten. Weiter ist ein Zerfall der Substanzen auf eine Restkonzentration bei niedrigen Formaldehydkonzentrationen festzustellen (m/z 85, 112, 155). Nur für die Substanz bei m/z 155 hatte der Detektor bei der Messung den linearen Bereich verlassen. Für die anderen Substanzen entspricht die normierte Intensität den normierten Konzentrationsverläufen.

Bereits die ersten Spektren zeigten eine Vielzahl an Substanzen. Mit fortschreitendem Versuchsverlauf bildete sich ein dichtes Spektrum heraus, in dem gegen Ende in einem breiten Bereich bei fast jeder ganzzahligen Masse mindestens eine Substanz zu detektieren war (Abb. 4.25).

Die Substanzen, die aufgrund ihrer Reaktion auf Formaldehyd schon in den letzten Versuchen betrachtet wurden, zeigten auch in diesem Versuch eine Empfindlichkeit auf das Formaldehyd (Abb. 4.26). Sie schienen nur bei bestimmten Konzentrationen aufzutreten. Jedoch gab es Substanzen, die unabhängig von der Konzentration des Formaldehyds im Experiment anwuchsen (z. B. Peak 221). Diese Beobachtung passt zu der Verbreiterung der Massenverteilung. Der Effekt wurde in einem weiteren Versuch näher untersucht.

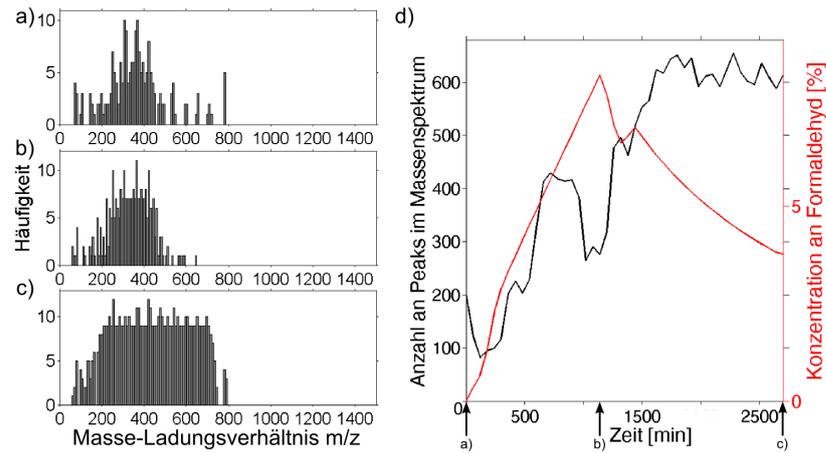


Abbildung 4.24: Änderung der Massenverteilung des Formaldehyd-Cyanid-Gemisches bei kontinuierlicher Hinzugabe von Formaldehyd und des Cyanidgemisches. Die Massenverteilungen sind als Histogramm dargestellt. Dabei wurde die Anzahl der Säulen auf 80 festgelegt. **a)** Die erste Probe wies bereits einige Substanzen auf, die um eine Masse von etwa m/z 350 verteilt waren. **b)** Weitere Hinzugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds verbreiterte die Massenverteilung. **c)** Am Ende des Experiments war die Massenverteilung stark verbreitert und zu größeren Massen verschoben. **d)** Die Zugabe des Cyanidgemisches und Formaldehyd führte zu einem Anstieg der Anzahl an Substanzen, die nach etwa 30 h konstant war. Die Pfeile an der Zeitachse ordnen die Massenverteilungen ihren Zeitpunkten zu.

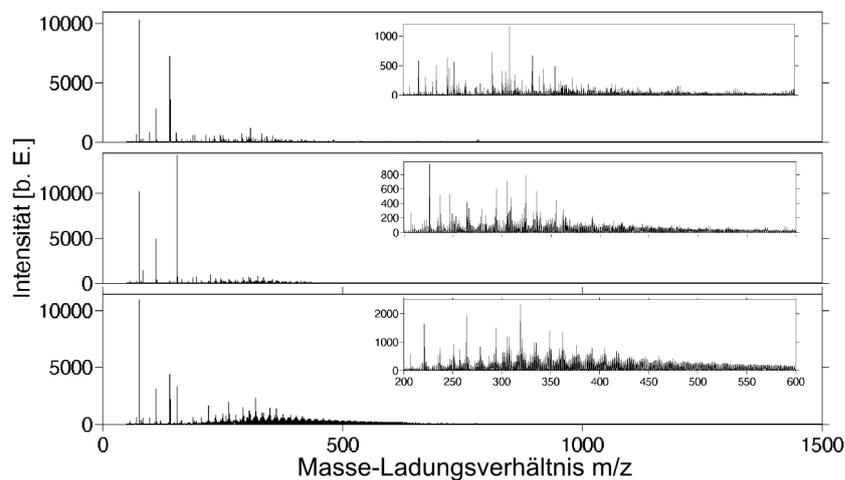


Abbildung 4.25: Spektren des Cyanid-Formaldehyd-Gemisches nach (von oben nach unten) 0 h, 19 h und 45 h kontinuierlicher Zugabe des Cyanidgemisches und der Formaldehydlösung in ein wässriges Medium. Bereits die ersten Spektren zeigten eine Vielzahl an Substanzen. Im weiteren Verlauf bildeten sich dichte Spektren heraus. Am Ende war dort in einem Bereich von etwa m/z 200 bis 600 bei fast jeder ganzzahligen Masse mindestens eine Substanz zu detektieren.

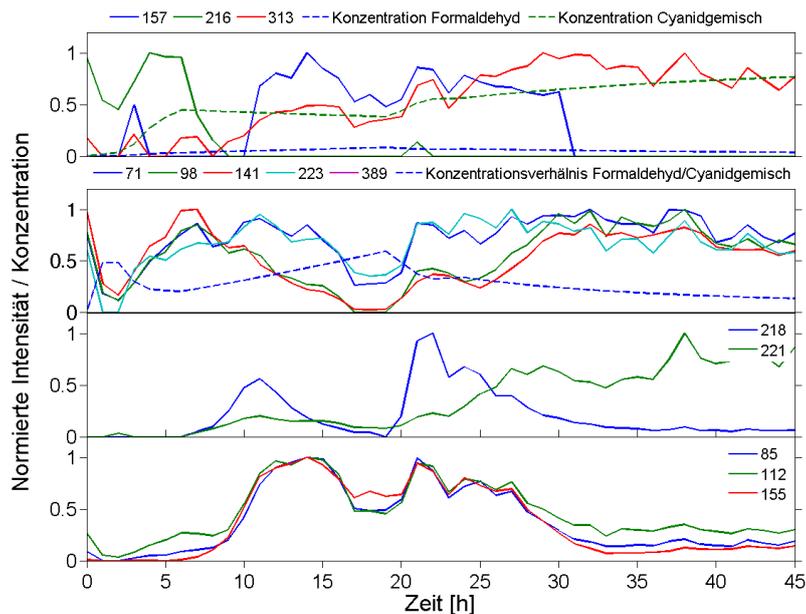


Abbildung 4.26: Normierte Intensitätsverläufe von einigen Substanzen unter Zugabe von Formaldehyd und eines Cyanidgemisches. In der Legende steht die ganzzahlige Masse der Substanzen. Das oberste Diagramm beinhaltet außerdem den Verlauf der Formaldehyd- und Cyanidgemischkonzentration. Im zweiten Diagramm von oben ist das Verhältnis der beiden Lösungen dargestellt. Es fällt auf, dass viele Substanzen gleichzeitig und in gleicher Weise auf die Änderung des Konzentrationsverhältnisses reagierten (m/z 85, 112, 155). Einige Substanzen entstanden jedoch unbeeinflusst vom Konzentrationsverhältnis (m/z 313, 218). Die Messungen waren nicht im linearen Bereich des Detektors.

Wechselnde Zugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds

Es wurde ein Formaldehyd-Cyanid-Gemisch durch abwechselnde Hinzugabe der 37 %igen Formaldehydlösung und des Cyanidgemisches erzeugt.

Dazu wurden zwei Peristaltikpumpen mit einer elektronischen Zeitschaltuhr so eingestellt, dass sie jeweils 15 min lang pumpen. Zwischen den Pumpphasen wurde 15 min lang nicht gepumpt. Am Ende dieser Pausen wurden die Probe entnommen. Der Versuch startete mit der Cyanidlösung.

Zu Beginn des Versuchs zeigten die Spektren deutlich die Natriumchlorid-Cluster des Cyanidgemisches (Abb. 4.27). Die Massenverteilung erstreckte sich über den gesamten Messbereich (Abb. 4.28 a). Unter Zugabe von Formaldehyd entwickelten sich neue Substanzen im Bereich von m/z 200 bis 400 (Abb. 4.28 b, c). Die Anzahl der Substanzen stieg stark an, pendelte sich jedoch zum Ende des Versuchs auf etwa 300 ein (Abb. 4.28 d). Dabei führte eine kurzzeitige Stagnation der Formaldehydkonzentration (nach etwa 50 min) bei etwa 5 % auch zu einer Stagnation der Bildung neuer Substanzen. Die Massenverteilung verbreiterte sich etwas und verschob sich zu größeren Massen. Am Ende des Experiments war in den Spektren ein „Wellenmuster“ zu erkennen. Die Anwendung einer Fourier-Analyse ergab eine Periode von 14,3 Da. Dies deutet auf Serien von Molekülen,

die sich durch CH_2 -Gruppen (14,01565 Da) unterscheiden, hin.

Wie zuvor waren hier Substanzen zu beobachten, deren Konzentrationen sich genau an der Konzentration des Formaldehyds orientierten und sogar kleinen Schwankungen der Konzentration folgten (z. B. Peak 71) (Abb. 4.29). Andere Substanzen entstanden unabhängig von den Schwankungen der Konzentration des Formaldehyds über die gesamte Laufzeit des Experiments.

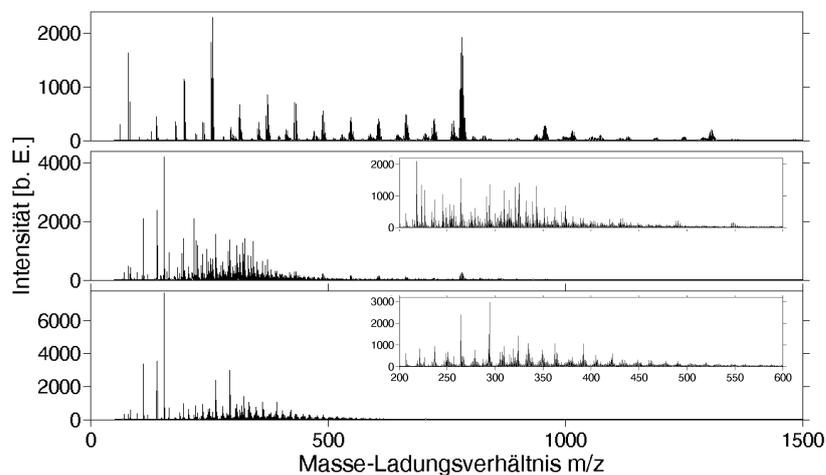


Abbildung 4.27: Spektren des Cyanid-Formaldehyd-Gemisches nach (von oben nach unten) 0 h, 10,7 h und 23,8 h wechselnder Zugabe des Cyanidgemisches und der Formaldehydlösung. Das erste Spektrum ist das Spektrum des Cyanidgemisches. Zugabe von Formaldehyd ließ die Natriumchlorid-Cluster verschwinden und es entstanden neue Substanzen in einem Massenbereich um m/z 300. Bei weiterem Verlauf des Versuchs bildete sich ein wellenartiges Muster im Spektrum aus. Dabei handelte es sich um Peakgruppen, die sich um CH_2 -Gruppen unterschieden.

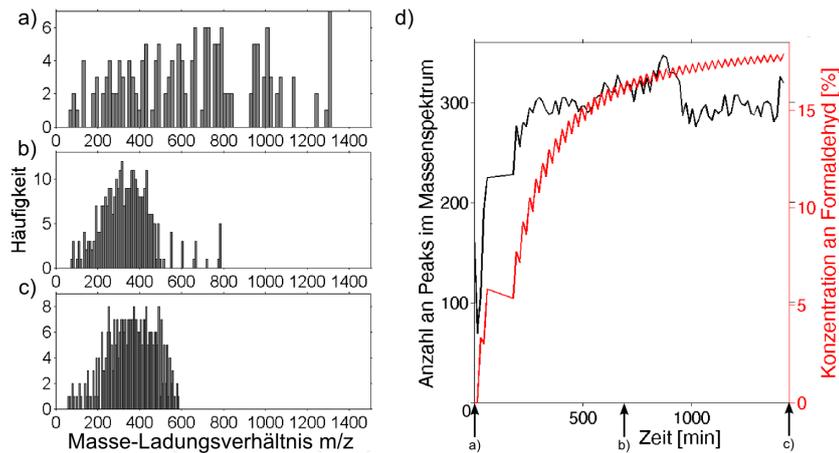


Abbildung 4.28: Änderung der Massenverteilung des Formaldehyd-Cyanidgemisches bei wechselnder Hinzugabe von Formaldehyd und eines Cyanidgemisches. Die Massenverteilungen sind als Histogramm dargestellt. Dabei wurde die Anzahl der Säulen auf 80 festgelegt. **a)** Die erste Probe wies bereits im gesamten Messbereich Substanzen auf. **b)** Nach wechselnder Hinzugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds verteilten sich die Massen in einem Bereich um m/z 350 **c)** Am Ende des Experiments war die Massenverteilung etwas verbreitert. **d)** Die wechselnde Zugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds führte zu einem Anstieg an neuen Substanzen, deren Anzahl nach etwa 5 h konstant blieb. Die Pfeile an der Zeitachse ordnen die Massenverteilungen ihren Zeitpunkten zu.

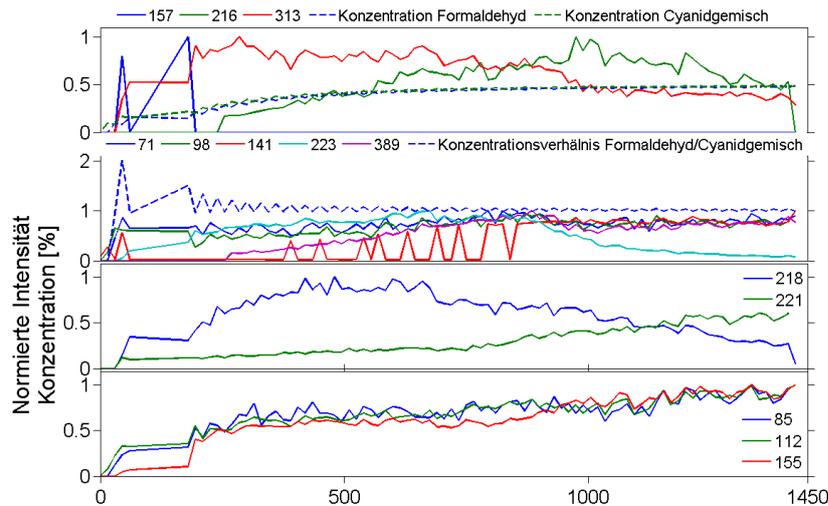


Abbildung 4.29: Normierte Intensitätsverläufe von einigen Substanzen mit der Zeit unter wechselnder Zugabe von Formaldehyd und eines Cyanidgemisches. In der Legende stehen die ganzzahligen Massen der Substanzen. Das oberste Diagramm beinhaltet den Verlauf der Formaldehyd- und Cyanidgemischkonzentration. Das zweite Diagramm von oben stellt zudem das Verhältnis der beiden Lösungen dar. Es fällt auf, dass viele Substanzen gleichzeitig und in gleicher Weise auf die Änderung des Konzentrationsverhältnisses reagierten (m/z 85, 112, 155). Manche Substanzen waren deutlich von den Schwankungen des Konzentrationsverhältnisses beeinflusst (m/z 71), andere zerfielen trotz nahezu gleichbleibendem Verhältnis von Formaldehyd und Cyanidgemisch (m/z 218) oder wurden aufgebaut (m/z 221). Nur für die Substanz bei m/z 155 hatte der Detektor bei der Messung den linearen Bereich verlassen. Für die anderen Substanzen entspricht die normierte Intensität den normierten Konzentrationsverläufen.

4.5.3 Zusammenfassung der Reaktionen des Formaldehyds und des Cyanidgemisches

Hier wurden eine Formaldehyd-Lösung und ein Cyanidgemisch in verschiedenen Verhältnissen und zeitlichen Abfolgen miteinander gemischt und auf 90°C erhitzt. Die zeitliche Entwicklung der resultierenden Lösungen wurde mithilfe der Massenspektrometrie verfolgt. Die Entwicklung des Gemisches wurde anhand der Spektren, der Massenverteilungen, der Anzahl entstehender Substanzen sowie der Konzentrationsverläufe einiger charakteristischer Substanzen analysiert.

Die Spektren zeugten von einer Vielzahl an Reaktionen, die in dem Gemisch abliefen. Es entstanden den Experimenten über 200 bis 600 neue Substanzen. Sie verteilten sich um eine Masse von etwa m/z 350 in einer symmetrischen Verteilung. Es war mit der Genauigkeit und Auflösung des Massenspektrometers nicht möglich, alle Substanzen zu identifizieren. Das Verhalten des Gemisches wurde anhand einiger charakteristischer Substanzen verdeutlicht. Die Konzentrationen einiger Substanzen folgten genau der Konzentration des Formaldehyds. Eine Reihe anderer Substanzen entstand, unabhängig von der Konzen-

tration des Formaldehyds, aber erst, wenn dieses dem Gemisch hinzugeführt wurde. Sie machten das Gemisch zunehmend komplexer.

Abbildung 4.30 zeigt die Spektren von Proben, bei denen die Formaldehydkonzentration gleich war (etwa 4,4%). Die Proben wurden verschiedenen Experimenten entnommen, sodass ihre chemische Geschichte unterschiedlich war. Zunächst fällt auf, dass die Substanzen bei rund m/z 141 und 155 in verschiedenen Versuchen in unterschiedlichen Verhältnissen vorlagen. Ihre Konzentrationsverläufe verhielten sich in den Versuchen gegenläufig und waren abhängig von der Formaldehydkonzentration.

In einigen Versuchen bildete sich mindestens eine Substanz bei jeder ganzzahligen Masse. Die Spektren dieser Proben sind dicht und zeigen oft eine Periodizität von rund 14 Da, die auf CH_2 -Ketten deutet.

Bei einem Niveau von etwa 8 - 9% Formaldehyd wurden die meisten Substanzen produziert. In dem Versuch unter kontinuierlicher Zugabe der Reagenzien entstanden mehr Substanzen als bei der wechselnden Zugabe. Das Antreiben eines chemischen Reaktionszyklus wurde nicht nachgewiesen. Aufgrund des (anti-)korrelierten Auftretens einiger Substanzen wurde zur weiteren Untersuchung der Reaktionsvorgänge Methoden der Netzwerkanalyse angewandt (Abschnitt 4.5.4).

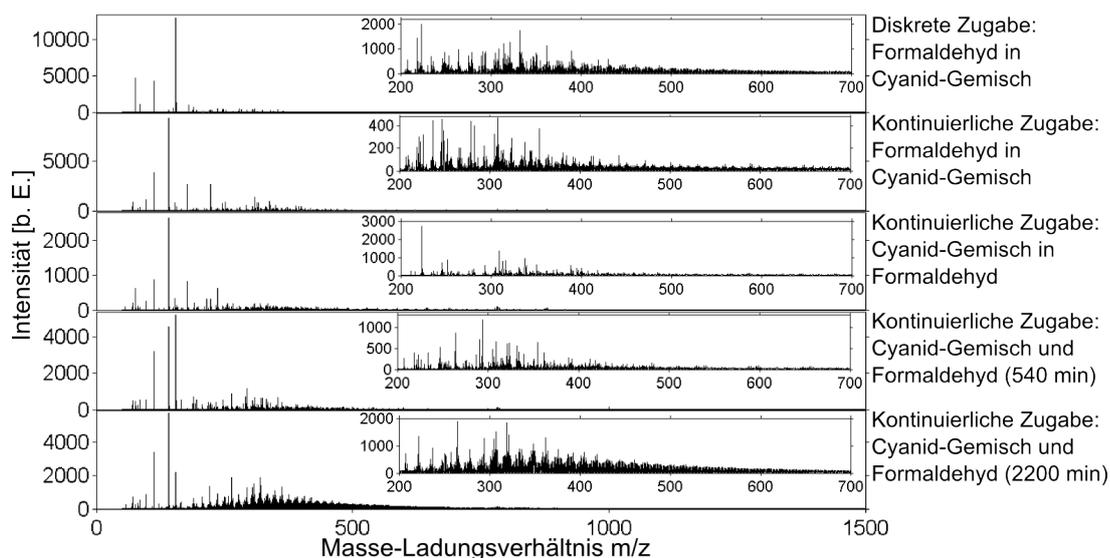


Abbildung 4.30: Spektren von Proben des Cyanid-Formaldehyd-Gemisches bei einer Formaldehydkonzentration von etwa 4,4%. Die Proben wurden verschiedenen Experimenten entnommen. Sie zeigen deutliche Unterschiede und wiesen damit darauf hin, dass die Komplexität des Gemisches in einem hohen Maß von seiner Vergangenheit abhängig war.

4.5.4 Analyse der chemischen Netzwerke

Es wurden die Zeitreihen der Konzentrationen der einzelnen Substanzen korreliert. Daraus wurden zur weiteren Untersuchung Netzwerke erstellt. Die Knoten stellen die verschiedenen chemischen Substanzen dar. Die Kanten repräsentieren die beobachteten Korrelationen.

Die Knoten des Netzwerks wurden durch Kanten verbunden, wenn zwischen den Konzentrationsverläufen der Substanzen partielle Korrelationen bestanden. Bei einer positiven Korrelation tauchten zwei Substanzen gemeinsam auf und verschwanden gemeinsam. Sie wurden ähnlich auf- und abgebaut oder reagierten miteinander und verschwanden daher gemeinsam. Sind zwei Substanzen negativ miteinander korreliert, so tauchte die eine Substanz auf, während die andere verschwand. Dies ist ein Hinweis auf eine Umwandlung des einen Stoffs in den anderen.

Datenbearbeitung

Ein Skript (MATLAB) wandelte die einzelnen Spektren in Zeitreihen von Substanzen um und schrieb sie in eine Tabelle. Diese wurde weiter mit dem Paket GeneNet [103] in der Programmiersprache R [104] bearbeitet. Aus den Korrelationen der Intensitätsverläufe der Substanzen wurden die partiellen Korrelationen errechnet. Dadurch wurden Verknüpfungen zweier Variablen durch die gemeinsame Abhängigkeit von einer dritten Variablen ausgeschlossen. Aus der Matrix der partiellen Korrelationen wurde ein Netzwerk unter der Verwendung eines Lernalgorithmus erstellt. Hypothesentests ermittelten die Signifikanz der gesetzten Verknüpfungen [103]. GeneNet wurde für Datensätze konzipiert, in denen die Anzahl an gemessenen Variablen sehr viel größer ist als die Anzahl der Messpunkte. Dies ist für die vorliegenden Datensätze, in denen die Anzahl der chemischen Substanzen sehr viel größer als die Zahl der Spektren ist, auch der Fall.

Die auf diese Weise erstellten Netzwerke wurden bezüglich verschiedener Charakteristika analysiert und mit natürlichen Netzwerken verglichen [105].

Gleichzeitiges einmaliges Auftauchen zweier Substanzen führte zu starken Korrelationen. Um einen möglicherweise zufälligen Prozess nicht zu stark zu gewichten, wurden nur solche Peaks ausgewählt, die in mindestens 10 % der Spektren enthalten waren. Außerdem wurden für ein Netzwerk nur solche Kanten berücksichtigt, bei denen es sich mit einer Wahrscheinlichkeit von 90 % nicht um eine falsch positive Kante handelt [106]. Stichprobenartige Vergleiche der Peakverläufe und der Netzwerkstruktur zeigten gute Übereinstimmung.

Ergebnisse

Die Netzwerke verschiedener Experimente zeigten Gemeinsamkeiten in der Gradverteilung, Häufigkeitsverteilung der Clusterkoeffizienten und der mittleren Weglänge.

In den Netzwerken ist die Gradverteilung für kleine Grade fast konstant und folgt danach einem Potenzgesetz. Abbildung 4.31 zeigt dies exemplarisch für den Versuch mit kontinuierlicher Zugabe eines Cyanid- und eines Formaldehydgemisches (Abschnitt 4.5.2). Dieser Verlauf ist ebenfalls für die Verteilung des Clusterkoeffizienten zu beobachten (Abb. 4.32). Die Ergebnisse weiterer Experimente sind im Anhang abgebildet (Anhang, Abbn. A.4 - A.9).

Es ließen sich keine funktionalen Zusammenhänge zwischen der mittleren Weglänge und des (doppelten) Logarithmus der Knotenzahl N finden. Die Zusammenhänge wie sie für die Modellnetzwerke gelten (Abschnitt 2.3.2), wurden in den vorliegenden Netzwerken nicht bestätigt (Abb. 4.33).

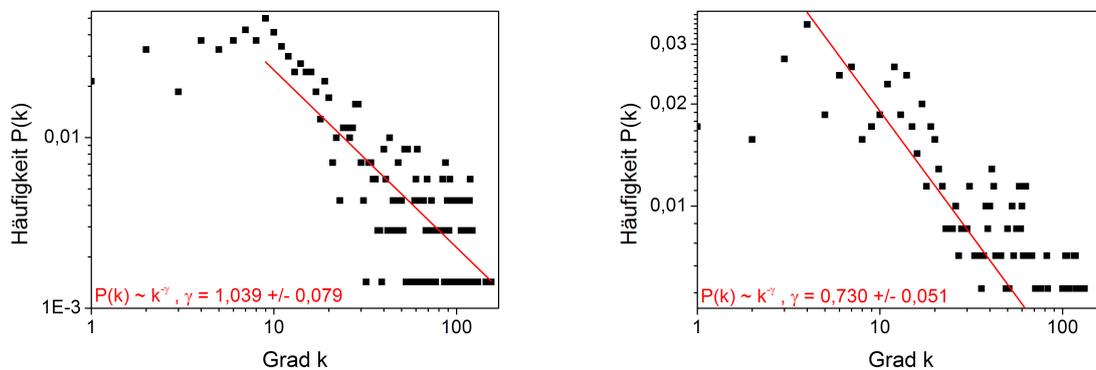


Abbildung 4.31: Gradverteilung des chemischen Netzwerks aus dem Versuch mit kontinuierlicher Zugabe eines Cyanid- und eines Formaldehydgemisches. Die Netzwerke stammen aus der Ermittlung der positiven Korrelationen (links) und negativen Korrelationen (rechts). Die Knoten geringen Grades (bis etwa 10 bzw. 4) sind etwa gleich häufig, während die Verteilung für größere Grade in beiden Fällen einem Potenzgesetz gehorcht.

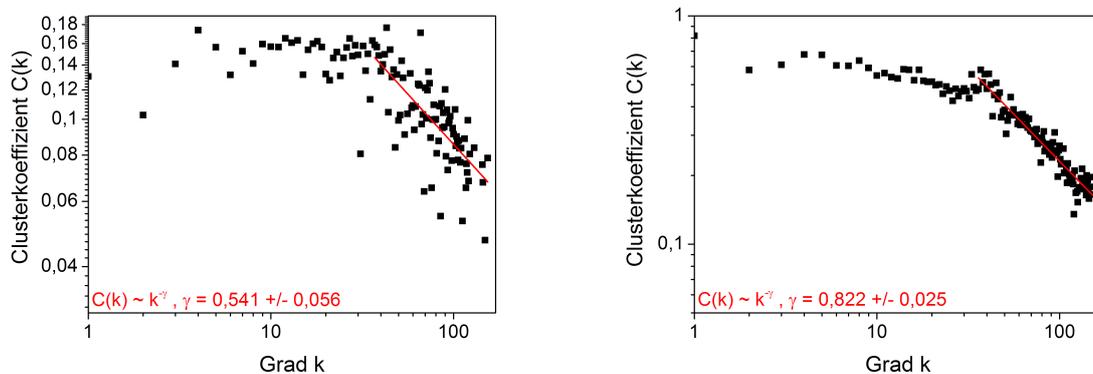


Abbildung 4.32: Verteilung des Clusterkoeffizienten des chemischen Netzwerks aus dem Versuch mit kontinuierlicher Zugabe eines Cyanid- und eines Formaldehydgemisches. Die Netzwerke stammen aus der Ermittlung der positiven Korrelationen (links) und negativen Korrelationen (rechts). Die Knoten geringen Grades (bis etwa 40) haben ähnliche Clusterkoeffizienten, während diese gemäß eines Potenzgesetzes mit höherem Grad abfallen.

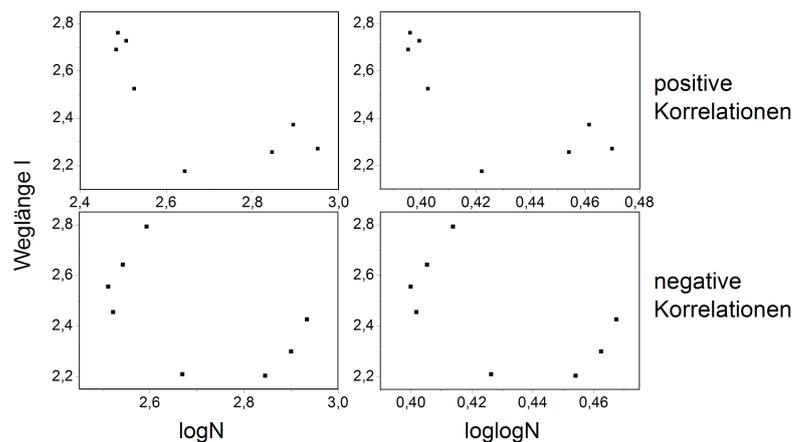


Abbildung 4.33: Mittlere Weglänge der Netzwerke aus positiver und negativer Korrelation in Abhängigkeit des einfachen bzw. doppelten Logarithmus der Knotenzahl N . Es können keine funktionalen Zusammenhänge ausgemacht werden.

4.5.5 Cyanid-Formaldehyd-Mischung unter Kohlenstoffdioxidatmosphäre

Mit dem Ziel, eine Vielzahl von Reaktionen in der Cyanid-Formaldehyd-Mischung der obigen Experimente (Abschnitt 4.5.1) zu induzieren, wurde das Gemisch in einem Miller-Aufbau mit Blitzen in der Gasphase (Abschnitt 3.1.1) unter Kohlenstoffdioxidatmosphäre (CO_2) gekocht. Das Gas CO_2 wurde gewählt, da es ein weiterer Kohlenstofflieferant ist und den pH-Wert der basischen Lösung ins Saure verschieben kann und damit weitere chemische Reaktionen provozieren könnte. Es wurden alle 30 min Proben mit dem Fraktionierer entnommen und im Massenspektrometer gemessen.

In Abbildung 4.34 ist ein Vergleich der Massenspektren zu Beginn und am Ende des Experiments dargestellt. Dazwischen wurde eine kontinuierliche Veränderung der Spektren beobachtet. Es ist eine Abnahme der Intensität sowie eine leichte Verschiebung der Massenverteilung zu kleineren Massen zu beobachten.

Abbildung 4.35 zeigt den Verlauf einiger Substanzen, deren Entwicklung bereits in den vorangegangenen Experimenten beobachtet wurde. Die Konzentrationen der Substanzen bei einer Masse von m/z 112, 141, 155 nahmen nach einem leichten anfänglichen Anstieg über die Dauer des Experiments ab. Anders als in den Experimenten zu Mischungen von Formaldehyd und dem Cyanidgemisch, war hier ein gleichartiges Verhalten dieser Substanzen zu beobachten. Es ist weiter zu sehen, dass die Substanzen sehr unterschiedlich reagierten. Einige schwankten in ihrer Konzentration, andere wuchsen an und wieder andere nahmen ab.

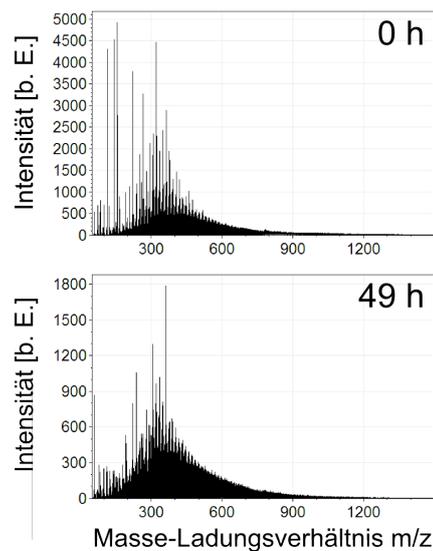


Abbildung 4.34: Massenspektren der Cyanid-Formaldehyd-Mischung unter Kohlenstoffdioxidatmosphäre zu Beginn (0 h) und am Ende des Experiments (49 h). Es ist eine Abnahme der Intensität sowie eine leichte Verschiebung der Massenverteilung zu kleineren Massen zu beobachten.

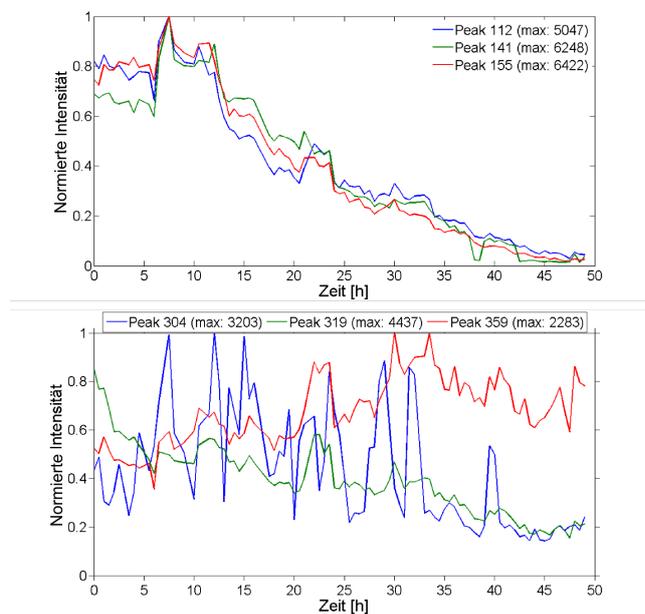


Abbildung 4.35: Die Intensitätsverläufe der Substanzen bei einer Masse von m/z 112, 141, 155 verhielten sich gleichartig und nahmen nach einem leichten anfänglichen Anstieg über die Dauer des Experiments ab (oben). Bei anderen Substanzen waren deutliche Schwankungen der Konzentration über den Verlauf des Experiments zu beobachten (m/z 304) oder die Konzentration der Substanzen nahm ab (m/z 319) oder zu (m/z 359) (unten). Die Messungen erfolgten außerhalb des linearen Bereichs des Detektors.

4.6 Miller-Experiment

Während des Miller-Experiments (Abschnitt 3.1.1) wurden entweder mit dem Fraktionierer Proben genommen oder die Lösung wurde kontinuierlich im Massenspektrometer gemessen. Außerdem wurde in einigen Experimenten zusätzlich der pH-Wert des Gemisches gemessen (Abschnitt 3.2).

Im Miller-Experiment entstanden innerhalb der ersten Stunde einige hundert Substanzen, deren Massen über einen Bereich von etwa m/z 50 bis 600 breit verteilt waren (Abb. 4.36). Während der nächsten Stunden erhöhten sich die Konzentrationen der Substanzen, die Verteilung verschob sich jedoch nur noch leicht.

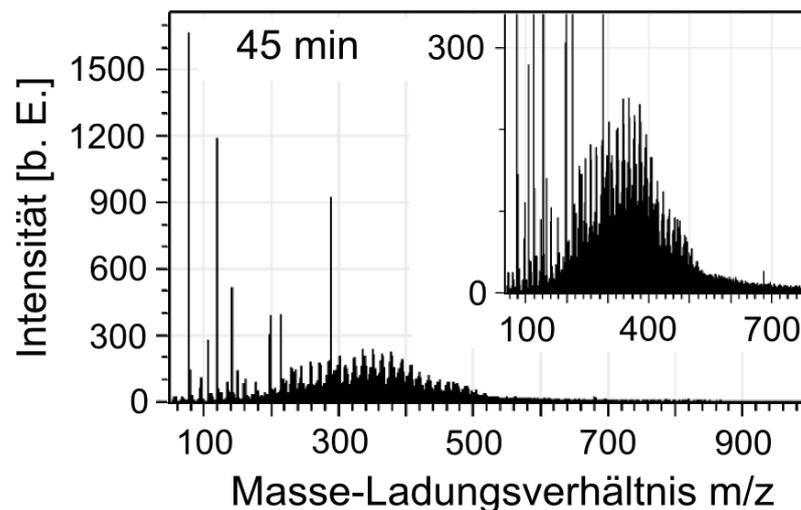


Abbildung 4.36: Spektrum eines Miller-Gemisches nach einer Laufzeit des Experiments von 45 min. Es ist eine breite Massenverteilung von m/z 50 bis etwa m/z 600 zu sehen. Die höchsten Peaks, die aus der gleichmäßigen Verteilung herausragen, sind auf Kontaminationen im Lösungsmittel zurückzuführen.

In einigen Experimenten wurde das Auftauchen und anschließende Verschwinden mehrerer Reihen äquidistanter Peaks im Massenspektrum beobachtet (Abb. 4.37). Der Prozess wiederholte sich teils mehrfach und war aperiodisch (Abb. 4.38). Es tauchten mehrere Reihen äquidistanter Peaks auf. In verschiedenen Experimenten wurden möglicherweise die gleichen Reihen gebildet (Tab. 4.2 - 4.4). Sichere Zuordnungen der Reihen zwischen den einzelnen Experimenten konnten im Rahmen der Messgenauigkeit nicht gemacht werden. Die Tabellen mit den mittleren gemessenen Massen aller Serien und deren Standardabweichungen befinden sich im Anhang (Anhang, Tab. A.1 - A.6).

Die Peaks wuchsen innerhalb von Sekunden exponentiell an (Abb. 4.39), bis sie einen Sättigungswert erreichten, auf dem sie Sekunden bis Stunden blieben und dann exponentiell auf einer Zeitskala verschwanden, die oft größer war als die ihres Wachstums. Außerdem wurden Regime beobachtet, in denen die Oligomere mit geringer und stark schwankender Intensität auftauchten (Abb. 4.40).

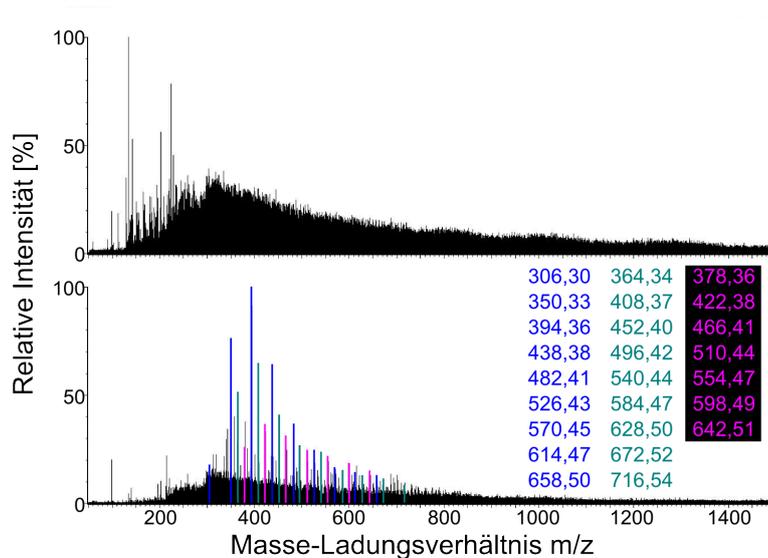


Abbildung 4.37: Zwei Massenspektren der Proben eines Miller-Experiments (Experiment 2). Zunächst (27,8 h, oben) wiesen die Spektren eine für das Experiment typische Massenverteilung auf. 5,8 h später (unten) wurde das Spektrum von den Signalen mehrerer Reihen äquidistanter Peaks dominiert. Hier sind der Übersicht halber nur drei der fünf Reihen farblich hervorgehoben.

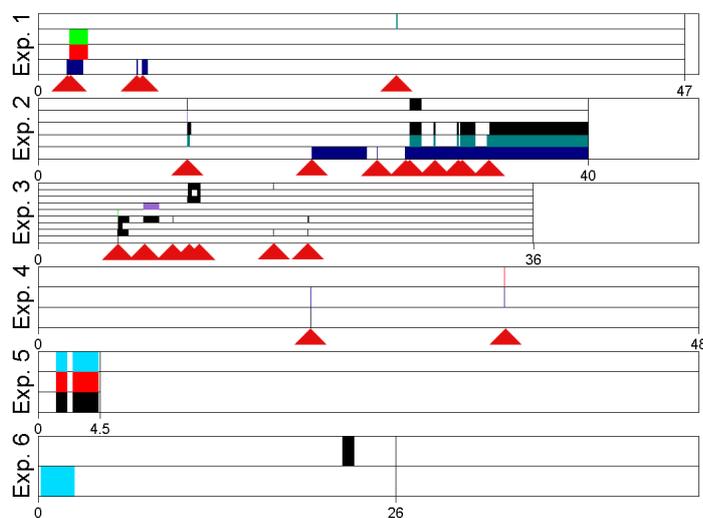


Abbildung 4.38: Auftauchen und Verschwinden der Oligomere im Miller-Experiment. Für sechs Experimente ist die Zeit des Auftauchens einer Reihe an Oligomeren durch bunte Balken dargestellt. Die Farben repräsentieren die verschiedenen Reihen. Sie entsprechen denen in den Tabellen 4.2 - 4.4. Die Peaks tauchten oft gemeinsam auf und verschwanden gemeinsam. Teilweise waren sie nur wenige Minuten zu sehen, andere Oligomere blieben über Stunden. Reihen, die nur einmal auftauchten, sind schwarz markiert.

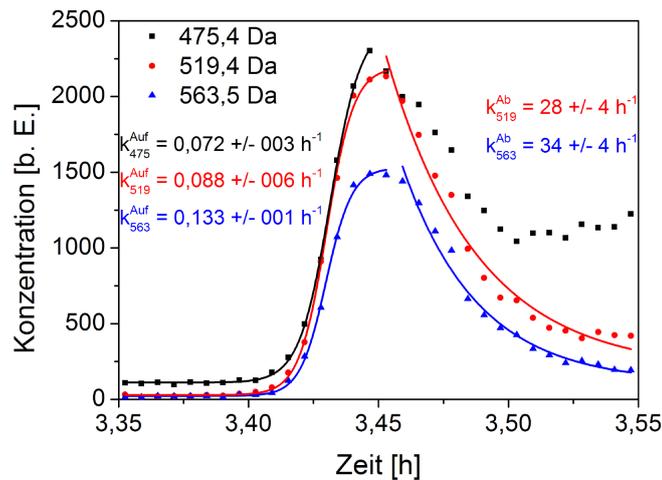


Abbildung 4.39: Konzentrationsverlauf der Oligomere eines Miller-Experiments (Experiment 5). Das Auftauchen folgte einem sigmoidalen Verlauf der Gestalt $B = \frac{A_0+B_0}{1+A_0/B_0 e^{-(A_0+B_0) \cdot k \cdot (x-x_0)}} + y_0$, der den Konzentrationsanstieg eines Autokatalyten ($A + B \rightarrow 2B$) beschreibt (A_0 , B_0 Anfangskonzentrationen, x_0 , y_0 Fitparameter) (Abschnitt 2.1.2). Das Verschwinden der Substanz folgte einem exponentiellen Verlauf ($B = B_0 + B_1 \cdot e^{-(x-x_0)k}$) wie er bei einer Reaktion erster Ordnung auftritt (Abschnitt 2.1.3). Es wurde im linearen Bereich des Detektors gemessen.

Die gleichmäßigen Abstände zwischen den Peaks lassen auf Oligomere schließen, deren Monomere eine Masse haben, die dem Abstand zweier Peaks entspricht. Die Analysen der Peaks zeigten bei den am häufigsten vertretenen Oligomeren einen mittleren Abstand von $44,035 \pm 0,031$ Da. Die Monomermassen sind über einen breiten Bereich verteilt (Abb. 4.41). Die Standardabweichung war etwa eine Größenordnung höher als die Genauigkeit des Q-Tof. Sie lässt keine eindeutige Identifikation der Monomere zu.

Als Monomere kommen Verbindungen der Summenformeln CH_2NO (44,0136 Da), $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (44,0262 Da), CH_4N_2 (44,0375 Da), $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ (44,0500 Da) und C_3H_8 (44,0626 Da) in Frage. CH_2NO ähnelt der Grundstruktur einer Peptidbindung. Das Polymer des Ethylenglycols ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$) ist als Polyethylenglycol (PEG, $\text{HO}-(\text{C}-\text{C}-\text{O})_n-\text{H}$) bekannt. Prominente Vertreter von Polymeren der Monomere CH_4N_2 und $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ existieren nicht. Polyethylenimin (PEI, $-(\text{C}-\text{C}-\text{NH})_n-$) ist jedoch ein bekanntes, verwandtes Polymer. Ketten aus C_3H_8 sind wegen ihres hohen Wasserstoffgehalts nicht möglich.

Die Verteilung der gemessenen Monomermassen lässt sich nicht durch eine einzelne Normalverteilung beschreiben (Anhang, Abb. A.10). Sie wird gut durch eine Mischverteilung aus drei Normalverteilungen wiedergegeben (Abb. 4.42). Der Fit mit fünf Gauß-Verteilungen lieferte keinen Anteil des Monomers $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ und die Anpassung wird durch die Annahme von fünf Gaußkurven nur unwesentlich verbessert (Anhang, Abb. A.11).

Neben Reihen von Oligomeren mit Monomermassen von rund 44 Da wurden in einem Experiment (Exp. 2) Oligomere mit der Monomermasse $98,002 \pm 0,019$ Da beobachtet (Abb. 4.43). Dies entspricht $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_3$ (98,0004 Da), z. B. das Anhydrid der Maleinsäure.

Experiment 1				Experiment 2				
Reihe 1	Reihe 2	Reihe 3	Reihe 4	Reihe 1	Reihe 4	Reihe 5	Reihe 6	Reihe 7
306					320	334	369	392
350					364	378	413	436
394					408	422	457	480
438		267			452	466	501	524
482	512	311		350	496	510	545	568
526	556	355		394	540	554	589	612
570	600	399	408	438	584	598	633	656
614	644	443	452	482	628	642	677	700
658	688	487	496	526	672	686		744
702	732	531	540	570	716	730		788
746		575	584	614	760	774		832
790					804	818		
834								
878								
922								
966								

Tabelle 4.2: Reihen der 44er-Oligomere, die in den Experimenten 1 und 2 gefunden wurden. Die Farben entsprechen denen der Darstellungen in den Abbildungen 4.38 und 4.37. Reihen, welche die gleichen ganzzahligen Massen haben, sind in den gleichen Farben dargestellt. Der Übersicht halber sind nur ganzzahlige Massen angegeben. Tabellen mit den exakten Massen befindet sich im Anhang (Tab. A.1 und A.2)

Experiment 3

Reihe 8	Reihe 9	Reihe 10	Reihe 11	Reihe 3	Reihe 6	Reihe 12	Reihe 13	Reihe 14
	409		351		413			
	453	427	395		457	476	462	446
	497	471	439		501	520	506	490
	541	515	483		545	564	550	534
	585	559	527		589	608	594	578
	629	603	571		633	652	638	622
	673	647	615	663	677	696	682	666
711	717	691	659	707	721	740	726	710
755	761	735	703	751		784	770	754
799	805	779	747	795		828	814	
843	849	823	791	839		872		
887	893	867	835	883		916		
931	937	911	879	927		960		
	981	955		971				
	1025	999		1015				
	1069	1043		1059				
	1113	1087		1103				
	1157			1147				
	1201			1191				
	1245			1235				
	1289							

Tabelle 4.3: Reihen der 44er-Oligomere, die im Experiment 3 gefunden wurden. Die Farben entsprechen der Darstellung in Abbildung 4.38. Reihen, welche die gleichen ganzzahligen Massen haben, sind in den gleichen Farben dargestellt. Der Übersicht halber sind nur ganzzahlige Massen angegeben. Eine Tabelle mit den exakten Massen befindet sich im Anhang (Tab. A.3)

Experiment 4			Experiment 5		Experiment 6	
Reihe 15	Reihe 1	Reihe 2	Reihe 16	Reihe 2	Reihe 17	Reihe 18
283			387		542	
283			431		542	
327			475		542	
371	394	380	519		586	582
415	438	424	563		630	626
459	482	468	607		674	670
503	526	512	651		718	714
547	570	556			762	758
591	614			556	806	802
635	658			600	850	846
679	702			644		
723	746					
767	790					
811	834					

Tabelle 4.4: Reihen der 44er-Oligomere, die in den Experimenten 4, 5 und 6 gefunden wurden. Die Farben entsprechen der Darstellung in Abbildung 4.38. Reihen, welche die gleichen ganzzahligen Massen haben, sind in den gleichen Farben dargestellt. Der Übersicht halber sind nur ganzzahlige Massen angegeben. Tabellen mit den exakten Massen befindet sich im Anhang (Tab. A.4 und A.6)

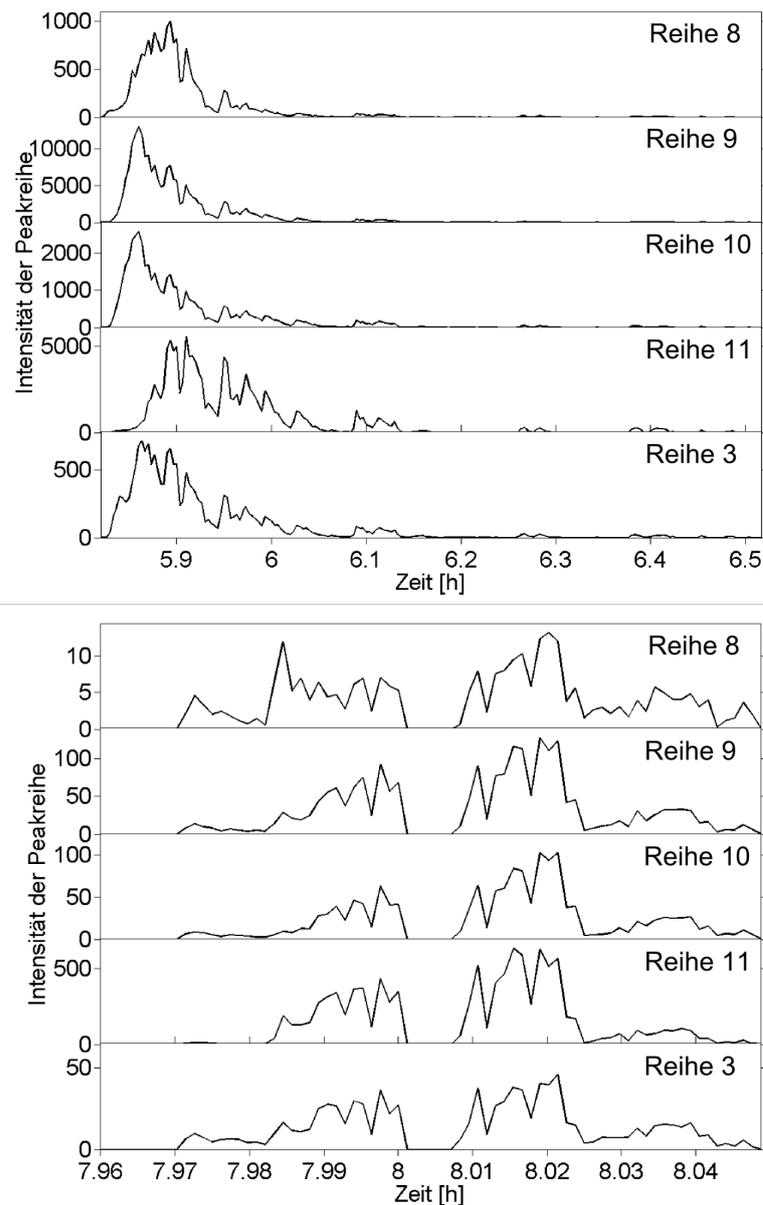


Abbildung 4.40: Auftauchen und Verschwinden der Oligomere in einem Miller-Experiment (Experiment 3). Die Summe der Intensitäten aller Peaks einer Reihe ist gegen die Dauer des Experiments aufgetragen. Während beim ersten Auftauchen der Reihen (oben) ein deutlich nichtlinearer Verlauf zu beobachten war, konnte das zweite Auftauchen (unten) wegen der geringeren Intensität nicht ausreichend aufgelöst werden, um den Verlauf zu charakterisieren. Die Lücke in der zweiten Messung ist einem Ausfall des Messsignals geschuldet. Die Intensität der Reihe 9 war beim ersten Auftauchen so hoch, dass die Messung den linearen Bereich verließ. Der Verlauf der Konzentrationen war damit sogar steiler. Die Intensität der anderen Reihen war im linearen Bereich des Detektors und sind damit proportional zur ihrer Konzentration.

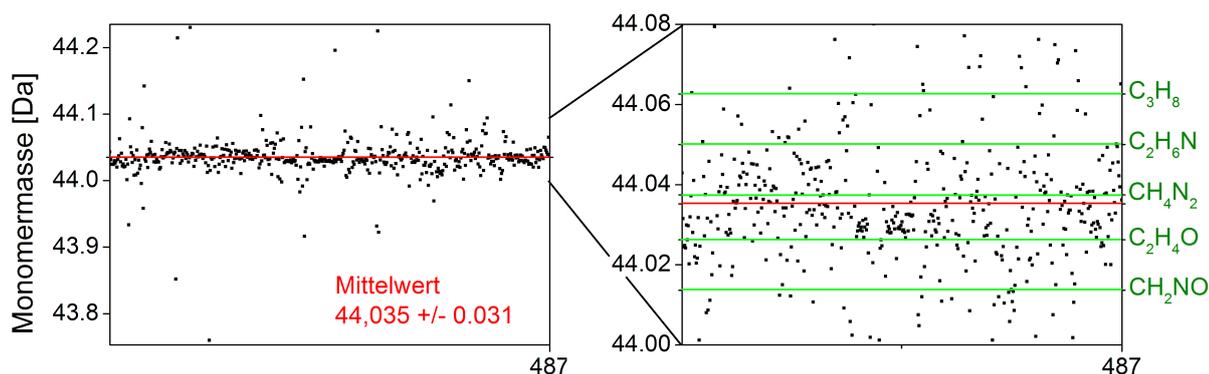


Abbildung 4.41: Streudiagramm der Monomermassen der 44er-Oligomere (487 Messungen). Der Mittelwert (rote Linie) lag bei 44,035 Da mit einer Standardabweichung von 0,031 Da. Sie war etwa eine Größenordnung höher als die Genauigkeit des Geräts. Die Positionen der Monomere mit Massen innerhalb der Standardabweichung sind durch die grünen Linien visualisiert (CH_2NO (44,0136 Da), $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (44,0262 Da), CH_4N_2 (44,0375 Da), $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ (44,0500 Da) und C_3H_8 (44,0626 Da)). Die Zuordnung zu einem einzigen Monomer war nicht möglich.

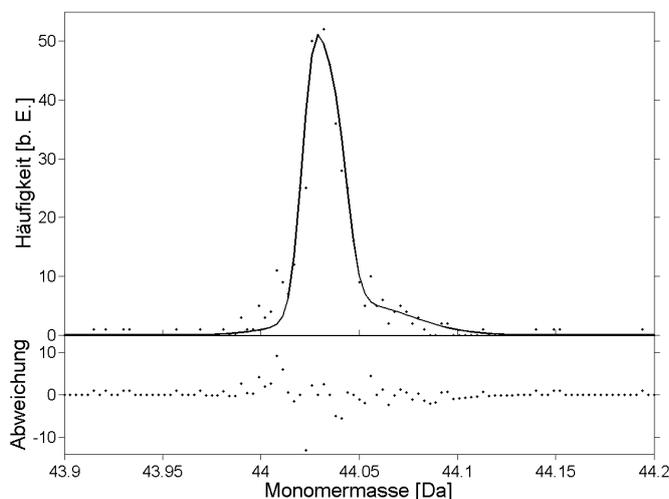


Abbildung 4.42: Fit einer Mischverteilung aus drei Gauß-Verteilungen an die Verteilung der gemessenen Monomermassen. Die Mittelwerte der Gauß-Verteilungen wurden auf den Massen der möglichen Monomere festgehalten, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ($\mu_1 = 44,02622$ Da), CH_4N_2 ($\mu_2 = 44,03745$ Da) und $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ ($\mu_3 = 44,05002$ Da). Die Standardabweichungen des Fits sind $\sigma_1 = 0,0059$ Da, $\sigma_2 = 0,0065$ Da und $\sigma_3 = 0,027$ Da. Als relative Häufigkeit ergab sich $a_1 = 39\%$, $a_2 = 37\%$, $a_3 = 24\%$. Die Residuen sind gleichmäßig um null verteilt. Die Fits wurden mit der Software MATLAB durchgeführt [96].

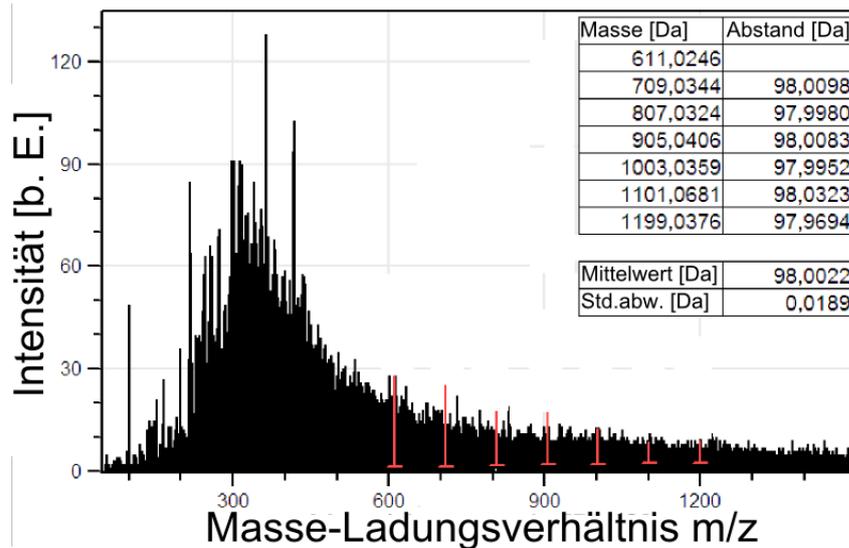


Abbildung 4.43: Spektrum einer Probe, die Substanzen mit einem mittleren Abstand von $98,002 \pm 0,019$ Da enthielt. Die Oligomere waren für etwa eine Minute sichtbar. In diesem Experiment wurde auch das Auftauchen der 44er-Oligomere beobachtet.

Spätere Experimente lieferten darüber hinaus Oligomere mit Monomeren einer Masse von 54 Da (Abschnitt 4.6.6) und 27 Da (Abschnitt 4.6.7). Sie wurden nur in Experimenten beobachtet, in denen auch die 44er-Oligomere auftauchten.

Der Form der Elektroden spielte für das Auftauchen der Oligomere eine große Rolle. Die Elektroden stumpften während der Experimente etwas ab. In Versuchen mit stumpfen Elektroden entstanden keine Oligomere. Nach dem Anspitzen der Elektroden tauchten sie wieder auf. Während des Übergangs von angespitzten zu stumpfen Elektroden wurde keine kontinuierliche Änderung der Oszillationen beobachtet. Im Folgenden wurde das Auftreten der Oszillationen der Oligomere untersucht. Das Miller-Experiment wurde auf verschiedene Arten modifiziert, um die Natur der Oligomere und ihre Dynamik zu untersuchen. Dazu wurden der experimentelle Aufbau (Abschnitte 4.6.2, 4.6.3) sowie die Ausgangsstoffe der Experimente variiert. Das Gemisch wurde mit hochauflösender Massenspektrometrie charakterisiert (Abschnitt 4.6.4). Durch die anfängliche Hinzugabe möglicher Monomere und in Experimenten mit schwerem Wasser wurde die chemische Natur der Oligomere untersucht (Abschnitte 4.6.5, 4.6.6). Es wurde auch der Einfluss eines möglichen Katalysators geprüft (Abschnitt 4.6.7). Durch Dotieren des Gemisches mit einer „Impf-Lösung“ aus Oligomeren wurden katalytische Effekte der Oszillationen untersucht (Abschnitt 4.6.8). Weitere Experimente, die mit der Lösung des Miller-Experiments gemacht wurden, sollten klären, ob die Bildung der Oligomere in der komplexen Mischung induziert werden kann (Abschnitte 4.6.9, 4.6.10). Mit Analysen des Gemisches wurden zusätzliche Informationen z. B. zur Struktur der Oligomere gewonnen (Abschnitte 4.6.1, 4.6.11, 4.6.15, 4.6.12, 4.6.17). Es wurden außerdem Kontrollexperimente durchgeführt (Abschnitte 4.6.13, 4.6.14, 4.6.16).

4.6.1 Entwicklung des pH-Werts

Im Miller-Experiment löste sich das Ammoniak im Wasser, so dass das Experiment mit einem basischen Milieu startete. Während des ersten Tages fiel der pH-Wert kontinuierlich bis zu einem etwa neutralen Wert ab, wo er verblieb (Abb. 4.44). Als Endwerte des pH-Werts wurden Werte um pH 7 gemessen, die teilweise leicht sauer oder leicht basisch waren. Parallel zu dem Auftauchen der 44er-Oligomere schwankte der pH-Wert. Die Veränderung bewegte sich jedoch im Rahmen der Schwankungen des Messsignals und war nicht eindeutig auf die Bildung des Oligomers zurückzuführen. Das Auftauchen der Oligomere zu verschiedenen Zeitpunkten im Experiment zeigte, dass sie bei unterschiedlichen pH-Werten gebildet wurden.

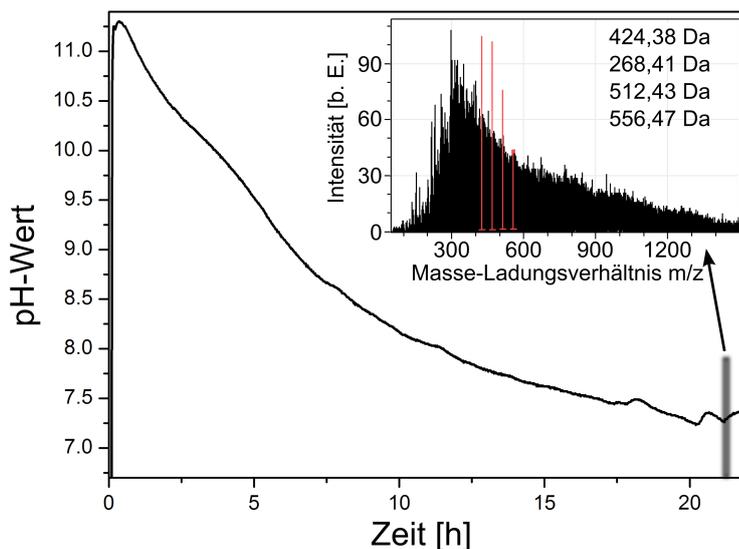


Abbildung 4.44: Kontinuierliche Messung des pH-Werts im Miller-Experiment. Von einem basischen Niveau bei etwa pH 11,5 fiel der pH-Wert bis auf einen fast neutralen Wert. Einige Stunden später (nicht in Graphik) stellte sich ein konstanter pH-Wert von etwa 6,7 ein. In dem Experiment tauchten nach etwa 22 h die 44er-Oligomere auf. Die Schwankungen des pH-Werts in dieser Phase lagen im Rahmen der normalen Schwankungen des Messwerts. Es konnte kein eindeutiger Zusammenhang nachgewiesen werden.

4.6.2 Blitzen auf das Gemisch

Bei Miller-Versuchen, bei denen auf die Oberfläche der Lösung geblitzt wurde, ergab sich ebenfalls eine komplexe Mischung mit fast tausend Substanzen. Im Vergleich zu den Experimenten mit Funkenentladungen in der Gasphase wurden hier mehr Substanzen kleinerer Massen detektiert (Abb. 4.45). Die Spektren zeigten im Bereich niedriger Massen einen „wellenartigen“ Verlauf einer Periode von rund 14 Da. Sie wiesen auf CH₂-Gruppen hin. Teilweise wurden die Spektren von Wolframverbindungen dominiert (Abb. 4.46), die sich leicht an ihren Isotopenmustern identifizieren ließen. Eine Oszillationen von Oligomeren war nicht festzustellen. Andere Experimente, die in der Arbeitsgruppe der Biologischen

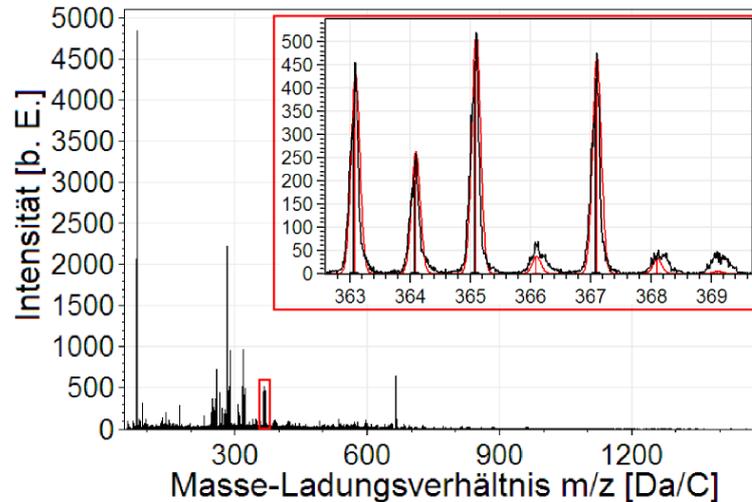


Abbildung 4.46: Spektrum nach etwa 6 h Laufzeit des Experiments. Die Lösung kochte nicht und es wurde eine Gasmischung von $\text{CH}_4:\text{NH}_3:\text{H}_2$ im Verhältnis 2:2:1 verwendet. Die Vergrößerung zeigt den Vergleich von Peaks im Spektrum mit dem Isotopenmuster von $\text{C}_6\text{H}_{22}\text{NaO}_4\text{W}$. Die gute Übereinstimmung ließ sich auch mit leichten Abwandlungen der Anzahl an Kohlenstoff-, Wasserstoff-, Natrium- und Sauerstoffatomen erreichen. Jedoch zeigte die Untersuchung des Isotopenmusters, dass in dem Molekül genau ein Wolframatom eingebaut war.

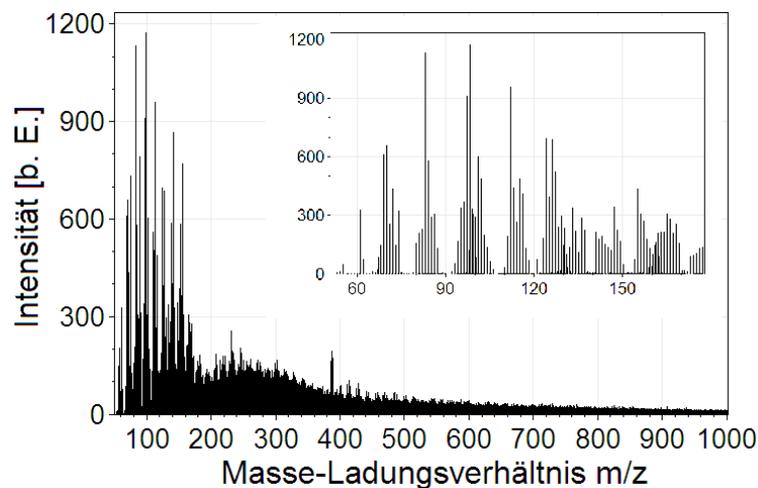


Abbildung 4.45: Spektrum einer Probe des Miller-Experiments mit Blitzen auf die Lösung nach etwa 23,5 h Laufzeit des Experiments. Das Wasser kochte und es wurde eine Gasmischung von $\text{CH}_4:\text{NH}_3$ im Verhältnis 1:1 verwendet.

Experimentalphysik, Prof. Ott, Universität des Saarlandes, gemacht wurden, zeigten jedoch, dass dies möglich ist [107].

In zwei Experimenten mit Blitzen auf das Gemisch, wurde der wässrigen Lösung zu Beginn des Experiments Phosphorsäure hinzugesetzt (12,4 mM). Hier waren zu Beginn Reaktionen mit der Phosphorsäure zu beobachten, da neue Substanzen im Abstand charakteristi-

scher Phosphorsäure-Cluster auftauchten. Jedoch verschwanden diese Substanzen wieder und die Spektren wiesen am Ende des Experiments keine Unterschiede mehr zu Experimenten ohne Phosphorsäure auf. Sie zeigten ebenfalls die Wolframverbindungen.

Während des Experiments wurde beobachtet, dass sich Partikel und feste Ablagerungen bildeten. Diese wurden gesammelt und mit einem Rasterelektronenmikroskop durch Jörg Schmauch, Mitarbeiter des Lehrstuhl von Prof. Dr. Birringer, Universität des Saarlandes, untersucht. Es zeigten sich körnige und filamentartige Strukturen, die poröse aber auch glatte Oberflächen haben konnten (Anhang Abbn. A.12, A.13).

Bei der Rasterelektronenmikroskopie erzeugen Elektronen, die auf das Substrat treffen, angeregte Atome, die ihre Energie in Röntgenquanten dissipieren. Sie erlauben mittels Röntgenspektroskopie Rückschlüsse auf die Elemente der Probe zu ziehen. Dabei wurden neben den unmittelbaren Inhaltsstoffen des Miller-Experiments (Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff) Wolfram und Silizium gefunden. Das Wolfram wurde auch in der Massenspektrometrie entdeckt und stammte von den Elektroden im Experiment, das Silizium ist wahrscheinlich aus dem Glas der Apparatur gelöst worden.

4.6.3 Kapillaritron

In den Versuchen mit dem Kapillaritron ($\text{CH}_4:\text{NH}_3$ 1:1, 15 ml Wasser) entstand ebenfalls ein komplexes, organisches Gemisch, ähnlich dem aus einem Miller-Experiment mit Blitzen auf die Wasseroberfläche (Abb. 4.47). Auch hier wurden intensive Signale in einem Massenbereich von unter m/z 150 beobachtet und es entstanden Wolframverbindungen. Mit diesem Aufbau wurden sowohl ebenfalls Substanzen der 44er-Oligomerreihe erzeugt. Sie erschienen und verschwanden im Experiment mehrfach in den ersten fünf Stunden und waren bereits nach einer Stunde Laufzeit des Experiments zu beobachten (Abb. 4.48).

Die Substanz der Masse m/z $527,42 \pm 0,01$ gehörte zu den intensivsten Oligomerpeaks. Im Bereich der Messgenauigkeit können verschiedene Summenformeln zu der Masse korrespondieren. Der zeitliche Verlauf ist repräsentativ für den Verlauf der anderen Spezies. Das Wachstum der Substanz folgte einem sigmoidalen Verlauf einer autokatalytischen Reaktion (Abb. 4.49). Dabei waren die Wachstumsraten bei jedem Auftauchen verschieden. Der Abbau der Substanz verlief exponentiell und war dabei teilweise langsamer und teilweise schneller als der Aufbau der Substanz.

Es ließen sich drei verschiedene Reihen an Oligomeren beobachten. Sie konnten nicht auf gleiche Reihen mit unterschiedlicher Ionisierung zurückgeführt werden. Es fällt auf, dass die Reihen fast zeitgleich erschienen und verschwanden.

Tabelle 4.5 gibt die Massen der Reihen an, die in dem Experiment mit kontinuierlicher Probenentnahme gefunden wurden. Es ergab sich ein mittlerer Abstand von $43,977 \pm 0,013$ Da. In diesem Massenbereich sind die Monomere N_2O (44,00106 Da) und CO_2 (43,98983 Da) denkbar. Es liegen hier andere Oligomere vor als in den Miller-Experimenten. In einem anderen Experiment erschien eine Reihe der 44er-Oligomere. Es wurden hier manuell Proben entnommen, weswegen nur eine Messung vorliegt. Die Abstände ermittelten sich zu $44,0272 \pm 0,007$ Da. Mögliche Monomere sind $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (44,02622 Da) und H_2N_3 (44,02487 Da). Das Kapillaritron lieferte hier auch die Oligomere, die im Miller-Experiment gefunden wurden.

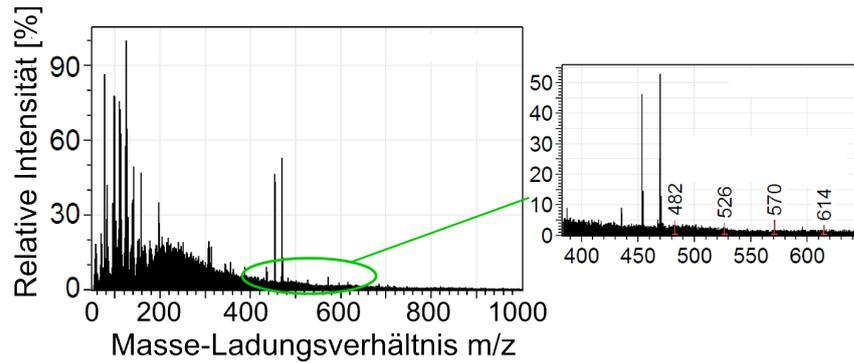


Abbildung 4.47: Spektrum eines Gemisches aus dem Versuch mit dem Kapillaritron-Aufbau (nach etwa 15 h). Das Spektrum wies große Ähnlichkeit mit den Spektren der Lösungen aus Versuchen mit dem Blitzen auf die Oberfläche des Gemisches auf. Es wurden außerdem Peaks mit dem ganzzahligen Abstand von 44 Da entdeckt. Ihre Intensität war jedoch gering und die Signale waren überlagert von anderen Substanzen des Gemisches. Eine genaue Massenbestimmung war daher nicht möglich.

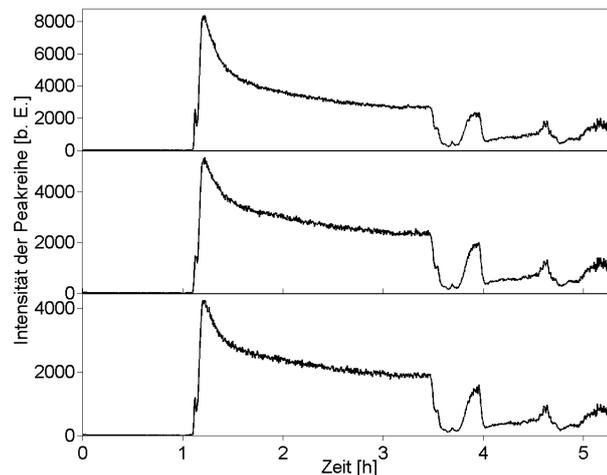


Abbildung 4.48: Im Miller-Experiment mit Kapillaritron wurde das Auftauchen und Verschwinden von drei Reihen äquidistanter Peaks mit einem Abstand von rund 44 Da beobachtet. Hier ist der Verlauf der Summen der Einzelintensitäten der Peaks einer Reihe als Repräsentation des Verlaufs der Reihe dargestellt. Sie zeigen einen ähnlichen Verlauf. Nach fünf Stunden tauchten die Reihen nicht mehr auf.

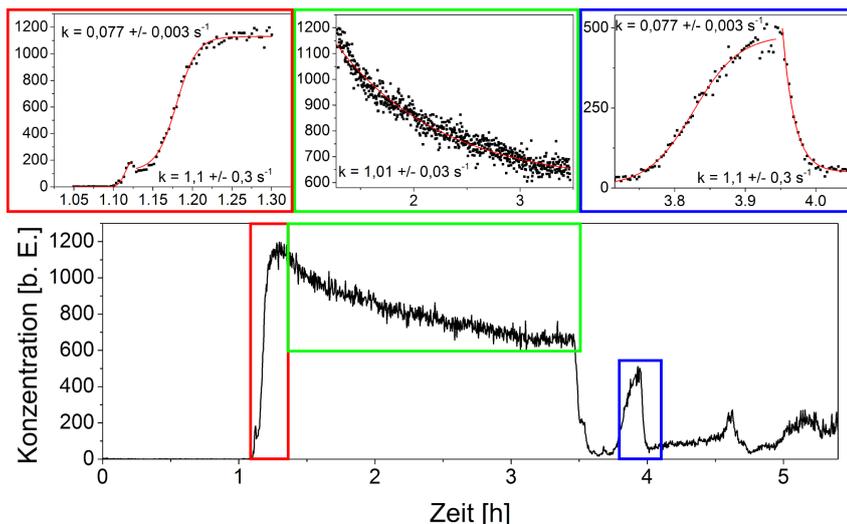


Abbildung 4.49: Der Verlauf der Substanz $m/z\ 527,42 \pm 0,01$. Während der ersten fünf Stunden tauchte die Substanz zweimal deutlich auf und verschwand wieder. Das Auftauchen folgte einem sigmoidalen Verlauf einer Autokatalyse (Abschnitt 2.1.2). Das Verschwinden der Substanz folgte einem exponentiellen Verlauf wie er bei einer Reaktion erster Ordnung auftritt (Abschnitt 2.1.3). Bei den letzten beiden Intensitätsanstiegen ließ sich nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich um das Oligomer handelte, da hier das Signalniveau der Lösung insgesamt zunahm und die Auflösung des Massenspektrometers keine Unterscheidung zu ähnlichen Substanzen zuließ. Die Signalintensität bewegte sich im linearen Bereich des Detektors und war damit proportional zu der Konzentration der Substanz.

Reihe 1		Reihe 2		Reihe 3	
μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	σ [Da]
395,461	0,01	397,431	0,01	457,420	0,01
439,410	0,01	441,419	0,008	501,412	0,01
483,412	0,009	485,420	0,009	545,395	0,01
527,421	0,01	529,411	0,009	589,362	0,009
571,376	0,01	573,385	0,009	633,336	0,01
615,350	0,008	617,361	0,009	677,314	0,01
659,320	0,009	661,333	0,01	721,285	0,01
703,29	0,01	705,305	0,01	765,260	0,01
747,27	0,01	749,279	0,01	809,238	0,01
791,24	0,01	793,250	0,01		
835,22	0,01	837,221	0,01		

Tabelle 4.5: Mittelwerte μ und Standardabweichungen σ der Massen der Oligomere, die für die verschiedenen Reihen im Experiment mit Kapillaritron gefunden wurden.

4.6.4 Hochauflösende Massenspektrometrie am Miller-Gemisch

Am Laboratoire de Spectrométrie de Masse et de Chimie Laser (LSMCL) der Université Paul Verlaine in Metz wurden Messungen mehrerer Proben der Lösung eines Miller-Experiments an einem hochauflösenden Massenspektrometer (Varian, 910-MS Fourier Transform Mass Spectrometer (LC/ESI-FTMS)) durchgeführt (Abschnitt 3.3.1). Mit diesem Instrument war es möglich, die genaue Summenformel der Moleküle des Gemisches sicher festzustellen. Im LSMCL werden komplexe organische Gemische untersucht [108]. In der Gruppe besteht somit eine Expertise auf diesem Gebiet.

Um ein hohes Messsignal zu erhalten, konnte eine Messung mehrere Minuten in Anspruch nehmen. Für eine Genauigkeit von unter 1 ppm, mussten die gemessenen Spektren kalibriert werden (Abschnitt 3.3.1).

Für diese Versuchsreihe wurde am LSMCL ein Miller-Experiment aufgebaut ($\text{CH}_4:\text{NH}_3:\text{H}_2$ 2:2:1) und mit dem Fraktionierer kontinuierlich Proben entnommen. Die Proben wurden eingefroren und erst für die Messung wieder aufgetaut und mit Acetonitril im Verhältnis 1:1 verdünnt. In der zur Verfügung stehenden Zeit am Massenspektrometer wurden zwölf Proben des Experiments im positiven und negativen Modus gemessen. Die Parameter der Ionisierung und des Ionentransfers wurden anhand der letzten Probe auf ein möglichst hohes Gesamtsignal optimiert. Es stellte sich heraus, dass eine Kontamination am Gerät vorlag. In einigen Messungen tauchten Substanzen auf, die nicht Teil der Probe waren. Diese Kontaminationen wurden während der Messdauer stärker und konnten auch von den zuständigen Technikern nicht in der gegebenen Zeit behoben werden. Die hier präsentierten Ergebnisse sind vor diesem Hintergrund zu interpretieren.

Die hochauflösende Massenspektrometrie liefert für komplexe Gemische große Datenmengen. Um diese zu analysieren wurden in den letzten Jahrzehnten Methoden entwickelt, die Daten auf chemisch interessante Aspekte untersuchen. Dies erfolgt anhand von Indices, die Aussagen über die Sättigung oder Aromatizität einer Probe treffen oder anhand von graphischen Darstellungen, die chemische Zusammenhänge auf einen Blick verdeutlichen [84]. Anhand dieser Methoden orientiert sich auch die folgende Analyse.

Massenspektren

In den Massenspektren der Proben tauchten vor allem Substanzen in einem Bereich zwischen m/z 150 und 300 auf (Abb. 4.50). Im negativen Modus ließen sich einige Wolframverbindungen ausmachen. Dabei war der Peak des Wolframoxids WO_3OH^- (m/z 248,93896) am intensivsten. Wolframoxid entstand durch Korrosion der Wolframelektroden im Experiment. Im positiven Spektrum stach eine Substanz bei der Masse von m/z 173,0807 hervor. Sie wurde als $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_4^+$ (173,08084 Da) identifiziert. Diese Summenformel entspricht der Formel der Korksäure. Da im Miller-Experiment organische Säuren entstehen [36], ist dies eine plausible Lösung. Die Spektren der anderen Proben zeigten teils deutlich die angesprochenen Kontaminationen (Anhang, Abbn. A.14, A.15). Für den negativen Modus wurden sie als Fettsäuren ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COO}^-$) identifiziert, die eine bekannte Verunreinigung darstellen. Für den positiven Modus konnten keine eindeutigen Bezeichnungen angegeben werden, da die Substanzen am Rand des kalibrierten Bereichs lagen und ihre gemessenen Massen mit einer größeren Unsicherheit behaftet sind.

Die Entwicklung der Massenverteilung (Abb. 4.51) zeigte eine anfangs enge Verteilung

Experimentelle Ergebnisse

um m/z 200, die sich im Verlauf des Experiments verbreiterte. Die Verteilung war damit gegenüber der aus den Messungen am Q-Tof (Abschnitt 4.36) zu kleineren Massen verschoben. Dies ist auf veränderte Einstellungen am Massenspektrometer zurückzuführen, da der Messbereich auf die Messung kleiner Substanzen optimiert wurde.

Die Anzahl an Substanzen hatte über die gesamten Dauer des Experiments eine steigende Tendenz (Abb. 4.52). Es wurden maximal 1015 Substanzen in einer Probe detektiert. Die Schwankungen nach oben sind das Resultat der Spektren mit Kontaminationen. Sie machten etwa 400 Substanzen aus.

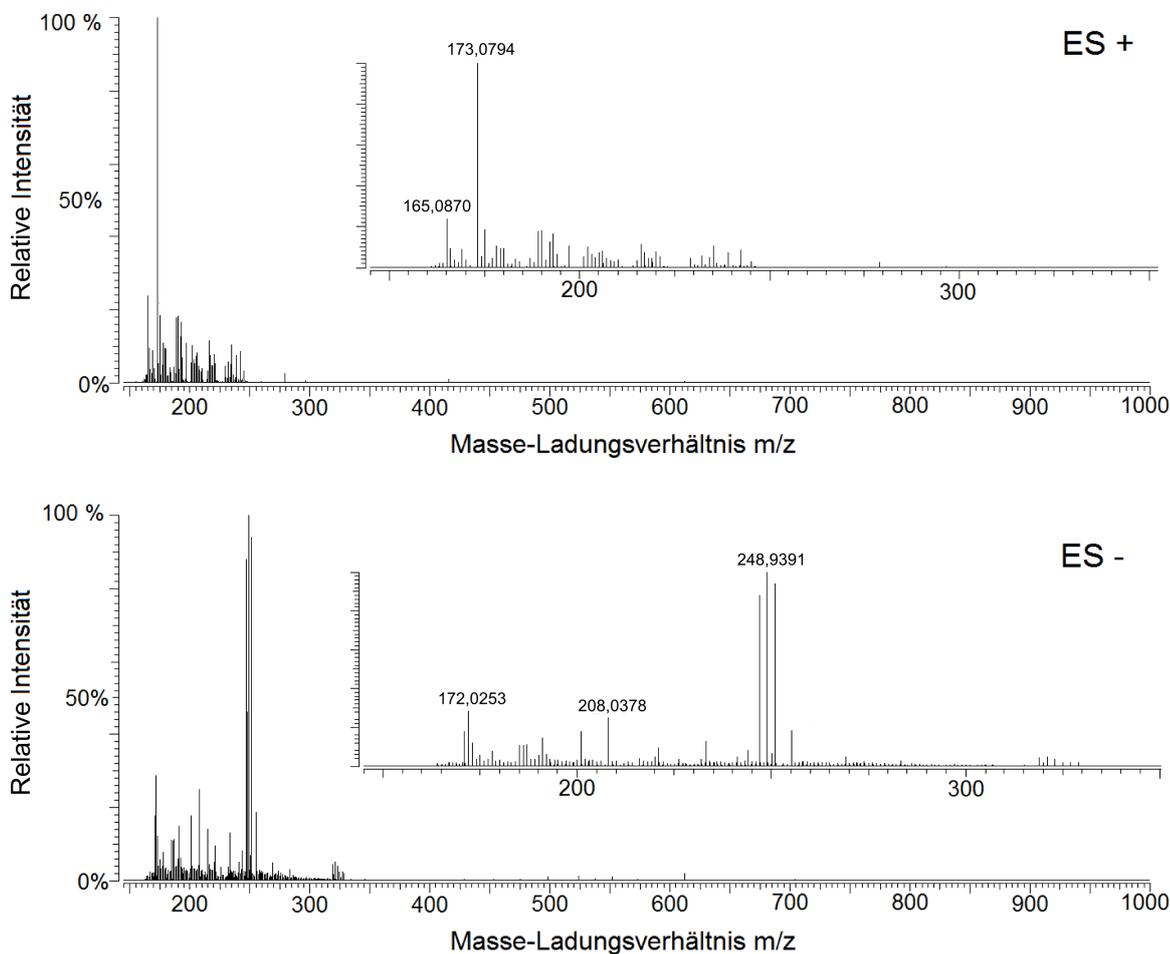


Abbildung 4.50: Spektren der letzten Probe des Miller-Experiments (nach 123 h) im positiven und negativen Modus gemessen. Es waren vor allem Substanzen im Bereich bis etwa m/z 300 auszumachen. Das positive Spektrum wurde von der Substanz $C_8H_{13}O_4^+$ (z. B. Korksäure) dominiert, das negative Spektrum von einer Wolframoxidverbindung.

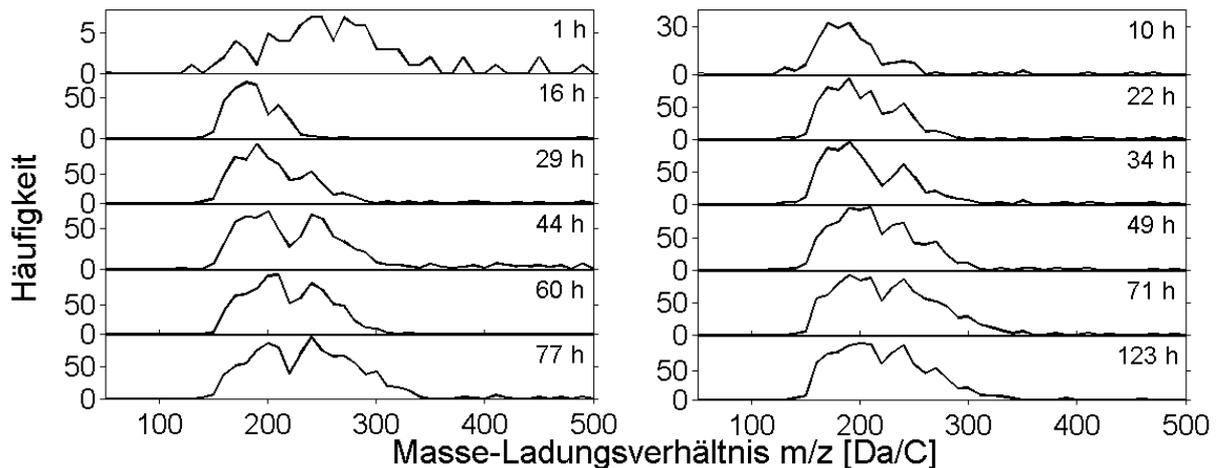


Abbildung 4.51: Entwicklung der Massenverteilung im Miller-Experiment. Eine anfänglich breite Massenverteilung um etwa m/z 250 verschob sich zunächst zu kleineren Massen und wurde schmaler. Ab etwa 34 h war eine erneute Verbreiterung zu beobachten.

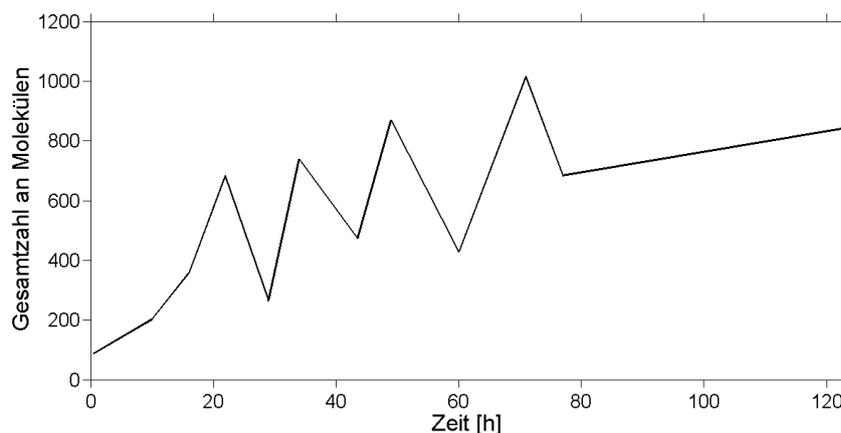


Abbildung 4.52: Die Anzahl an Substanzen im Miller-Experiment nahm während des Verlaufs des Experiments zu. Es wurden über 1000 Substanzen detektiert. Die Schwankungen sind auf Kontaminationen zurückzuführen.

In Abbildung 4.53 ist der Verlauf der prozentualen Anteile der vier Elemente des Miller-Experiments in den Proben zu sehen. Bereits nach den ersten 12 h stellten sich Werte ein, die sich im Verlauf des Experiments nicht mehr stark änderten. Es ergaben sich als mittlere Konzentrationen für Kohlenstoff $\bar{c}_C \approx 36\%$, Wasserstoff $\bar{c}_H \approx 40\%$, Stickstoff $\bar{c}_N \approx 16\%$ und Sauerstoff $\bar{c}_O \approx 8\%$. Der Wasserstoffanteil der Moleküle des Gemisches war viel geringer als in den Gasen und dem Wasser. Dies ist plausibel, da die Bausteine in ihrer vollständig abgesättigten Form ins Experiment gegeben wurden und neue Moleküle nur unter Abspaltung von Wasserstoff entstehen konnten.

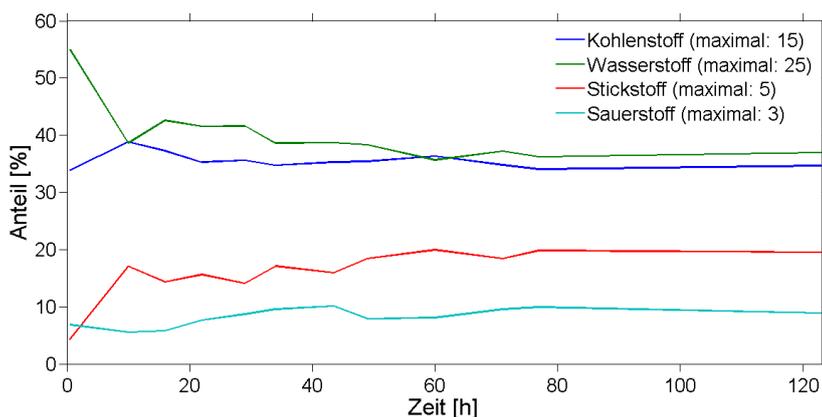


Abbildung 4.53: Durchschnittliche Anteile der elementaren Bausteine in den Proben des Miller-Experiments über die Dauer des Experiments. Die maximalen Durchschnittswerte sind angegeben. Bereits nach den ersten Stunden des Experiments veränderten sich die Werte nicht mehr.

Chemische Indices

Doppelbindungsäquivalent Das Doppelbindungsäquivalent (engl. *double bond equivalent*, DBE) oder Grad der Nicht-Sättigung gibt die Anzahl an Doppelbindungen und Ringen in einem Molekül an. Es errechnet sich für Moleküle, die nur aus Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff bestehen mit der Formel

$$DBE = 1 + c + \frac{n - h}{2}. \quad (4.1)$$

wobei c , n und h jeweils für die Anzahl an Kohlenstoff-, Stickstoff- und Wasserstoffatomen in dem Molekül steht [84]. Bei mit Natrium oder Kalium kationisierten Molekülen reduziert sich das DBE ebenfalls um $1/2$. Falls das DBE halbzahlig ist, so liegt das Molekül entweder in protonierter oder kationisierter Form oder als Fragment vor [85].

Abbildung 4.54 zeigt, dass die durchschnittliche Anzahl an Doppelbindungen und Ringen mit der Dauer des Experiments zunahm und zum Ende hin einen konstanten Wert bei knapp 7,5 hatte. Es lagen damit im Schnitt über sieben Doppelbindungen oder Ringe pro Molekül in den Substanzen der letzten Proben vor.

Aromatenindex Der Aromatenindex (AI) misst die Dichte der Doppelbindungen zwischen Kohlenstoffatomen in einem Molekül [109]. Er bildet sich als Quotient des Doppelbindungsäquivalents und der Anzahl der Kohlenstoffatome abzüglich der Anzahl der Heteroatome, die ebenfalls Doppelbindungen eingehen können.

$$AI = \frac{1 + c - o - \frac{h}{2}}{c - o - n} \quad (4.2)$$

Der AI ist korrigiert um mögliche Doppelbindungen mit Heteroatomen, daher können aus dem AI zwei Minimumkriterien abgeleitet werden. Für $AI > 0,5$ liegt mindestens eine aromatische Verbindung vor. Ist $AI \geq 0,67$, so sind in dem Molekül kondensierte

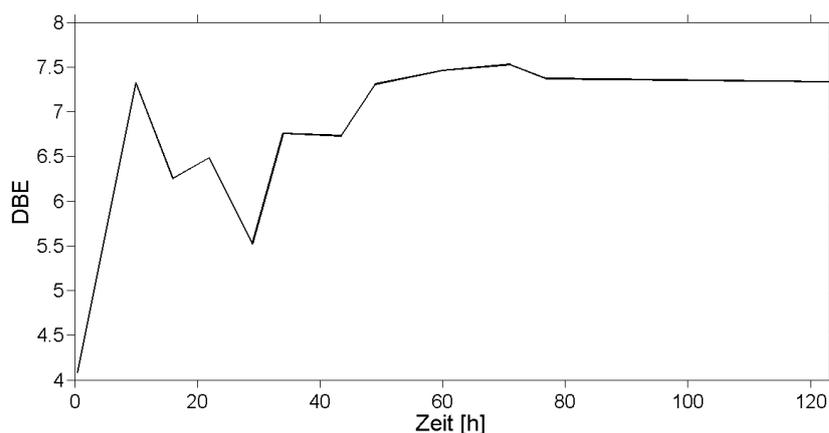


Abbildung 4.54: Verlauf des mittleren Doppelbindungsäquivalents über die Dauer des Experiments. Das DBE stieg während des Experiments an und blieb ab 49 h auf einem konstanten Niveau von etwas unter 7,5.

Aromaten vorhanden.

Der Aromatenindex nahm schon in den ersten Stunden des Experiments im Durchschnitt einen Wert größer als eins an. In den folgenden Stunden schwankte der Wert um eins (Abb. 4.55). Damit wurden schon in den ersten Stunden des Experiments hochgradig aromatische Verbindungen erzeugt. Abbildung 4.56 zeigt, dass schon nach zwölf Stunden ein Anteil von etwa 40 % kondensierter Aromaten erreicht wurde, der in den folgenden Stunden in etwa konstant blieb.

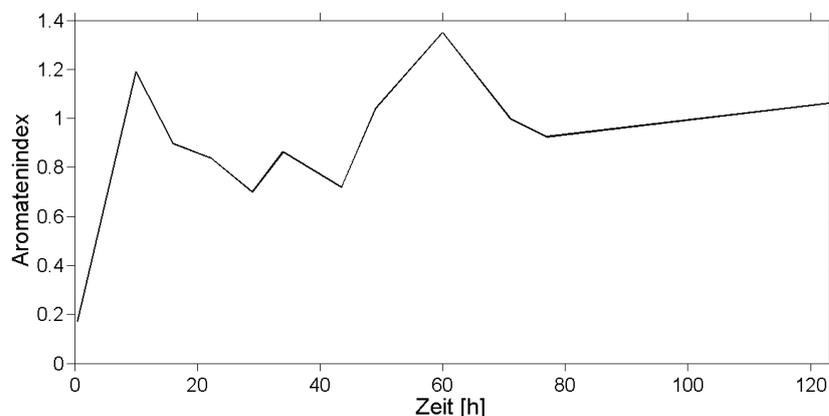


Abbildung 4.55: Verlauf des durchschnittlichen Aromatenindex über die Dauer des Experiments. Der Wert nahm in den ersten Stunden stark zu und schwankte im Folgenden um einen Wert von etwa eins.

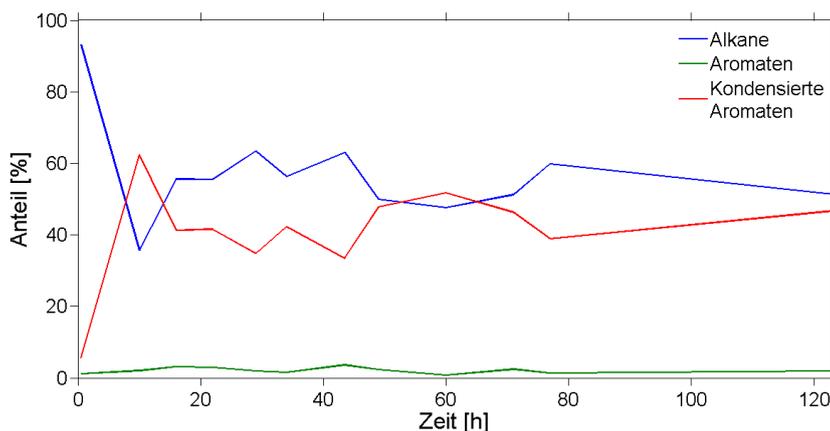


Abbildung 4.56: Zeitlicher Verlauf der Anteile an Alkanen, Aromaten und kondensierten Aromaten im Miller-Experiment. Die Einteilung in die Gruppen erfolgte nach der Mindestabschätzung durch den Aromatenindex. Bereits nach den ersten Stunden des Experiments veränderten sich die Anteile nicht mehr stark und schwankten nur noch um einen mittleren Wert.

Van-Krevelen-Diagramme

In Van-Krevelen-Diagrammen werden die Anteile der Elemente (hier Stickstoff, Wasserstoff, Sauerstoff) eines Moleküls verglichen. Die Anteile werden relativ zur Anzahl der Kohlenstoffatome angegeben. So können die Moleküle einer komplexen Mischung anhand ihrer N/C, H/C oder O/C Verhältnisse in ein Diagramm eingetragen werden. Van-Krevelen-Diagramme werden zur Darstellung komplexer Gemische, z. B. in der Erdölindustrie eingesetzt [84]. Sie machen die Häufigkeit bestimmter Stoffklassen übersichtlich und veranschaulichen mögliche Reaktionswege [110]. Verschiedene Bereiche im Van-Krevelen-Diagramm lassen sich bestimmten Stoffklassen zuordnen (Abb. 4.57).

Hier werden die Van-Krevelen-Diagramme der letzten Probe des Experiments abgebildet (Abbn. 4.58, 4.59). Ein Vergleich mit der Übersicht einiger Stoffklassen zeigt, dass sich nur wenige Moleküle des Gemisches im Bereich der Lipide, Proteine und Cellulose befanden. Im Bereich der kondensierten Kohlenwasserstoffe lagen hingegen viele Substanzen. Auch die Farbkodierung aus der Berechnung des Aromatenindex verrät, dass hier kondensierte Aromaten vorlagen. Die eingezeichneten Linien verbinden Punkte, die durch gleichartige Veränderungen der Summenformeln entstehen. Dabei wurden Geraden der Steigungen eingezeichnet, die chemische Reaktionen repräsentieren können. Wird beispielsweise eine C-C-Doppelbindung aufgebrochen und durch eine einfache Bindung ersetzt ($\text{R-CH=CH-R}' \rightarrow \text{R-CH}_2\text{-CH}_2\text{-R}'$, R: organischer Rest), so steigt die Anzahl der Wasserstoffatome in der Summenformel des Moleküls um zwei. Derartige Veränderungen spiegeln sich in einem Van-Krevelen-Diagramm durch eine Gerade parallel zur H/C-Achse wider (Abb. 4.58). Dabei ist zu unterstreichen, dass es sich bei Molekülen, die auf einer Linie liegen, nicht um Moleküle handelt, die gemäß der besprochenen Reaktion ineinander umgewandelt wurden. Vielmehr wird dadurch z. B. ein Sättigungsgrad indiziert.

Die Van-Krevelen-Diagramme aller Proben sind im Anhang abgebildet (Abbn. A.16 - A.19). Sie zeigen, dass sich die Verhältnisse O/C und N/C im Wesentlichen zwischen 0

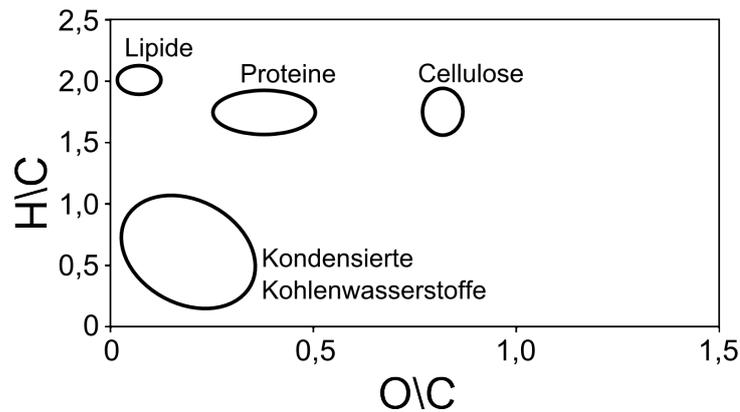


Abbildung 4.57: Bestimmte Stoffklassen befinden sich im Van-Krevelen-Diagramm in typischen Bereichen. Adaptiert nach [110, 111].

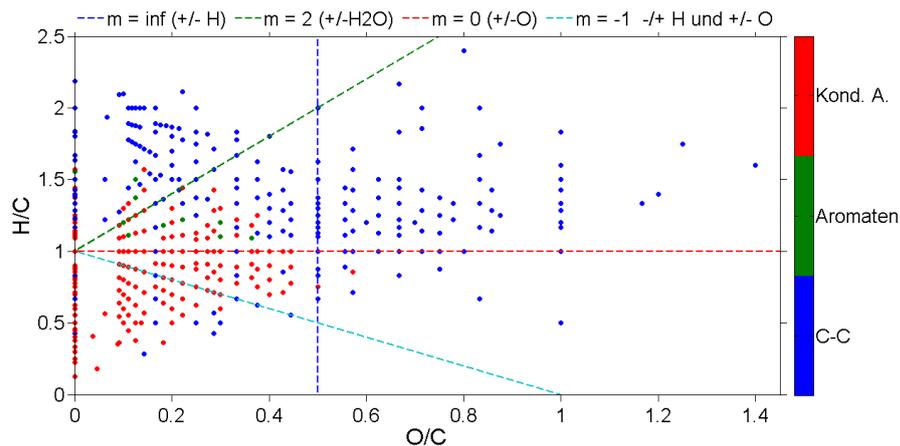


Abbildung 4.58: Van-Krevelen-Diagramm der Verhältnisse der Wasserstoff- und Sauerstoffatome zu den Kohlenstoffatomen eines Moleküls (H/C und O/C). Die Moleküle auf einer Senkrechten unterscheiden sich lediglich durch ihren Wasserstoffanteil (z. B. Kohlenwasserstoffe verschiedener Sättigungen). Die Gerade der Steigung $m = 2$ markiert Moleküle, die sich um ein Wassermolekül unterscheiden und damit möglicherweise durch De-/Hydratisierungen miteinander verknüpft sind. Bei der Gerade der Steigung $m = 0$ kann die Reaktion $\text{R-CH}_2\text{-R}' \rightarrow \text{R-C(OH)H-R}'$ zugrunde liegen. Die Gerade der Steigung $m = -1$ repräsentiert beispielsweise die Reaktion $-\text{R-CH}_3 \rightarrow -\text{R-COOH}$. Einige Moleküle liegen außerhalb des dargestellten Bereichs. Ein vollständiges Diagramm ist daher im Anhang abgebildet (Abb. A.16)

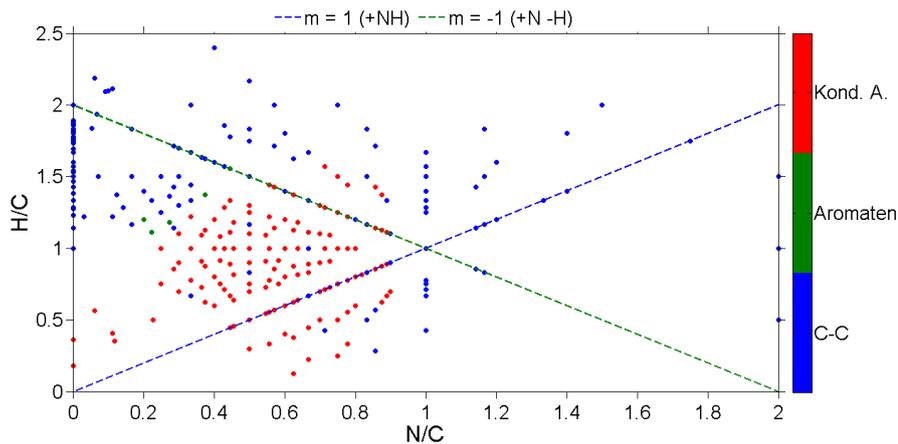


Abbildung 4.59: Van-Krevelen-Diagramm der Verhältnisse der Wasserstoff- und Stickstoffatome zu den Kohlenstoffatomen eines Moleküls (H/C und N/C). Bei der Geraden der Steigung $m = 1$ kann die Reaktion $R-CH_3 \rightarrow -R-CH_2-NH_2$ zugrunde liegen. Die Gerade der Steigung $m = -1$ repräsentiert möglicherweise die Reaktion $R-CH_2-R' \rightarrow R-NH-R'$. Einige Moleküle liegen außerhalb des dargestellten Bereichs. Ein vollständiges Diagramm ist daher im Anhang abgebildet (Abb. A.17)

und 1 bewegten und das von H/C zwischen 0 und 2. Für reine Alkane ($H_3C-(CH_2)_n-CH_3$) wäre das H/C -Verhältnis etwas größer als zwei. Die hohen Anteile an Sauerstoff und Stickstoff erklären, wieso dieses Verhältnis kaum erreicht wurde. Außerdem führen aromatische Ringe zu einem verringerten H/C -Verhältnis.

Kendrick-Diagramme

Eine weitere Darstellungsform von Massenspektren, die in der Analyse komplexer Gemische verwendet wird, sind die Kendrick-Diagramme.

Es erfolgt für die Darstellung zunächst eine Transformation der Massen auf eine neue Basis. Im System der Kendrick-Diagramme, wird die Kendrick-Masse so definiert, dass ein CH_2 -Molekül genau 14 Einheiten wiegt. Im Standardsystem wiegt sie 14,01565 Da. Die gemessenen Massen m werden gemäß $m_K = m \cdot \frac{14}{14,01565}$ in die Kendrick-Masse m_K transformiert. Der Kendrick-Massendefekt ergibt sich als Differenz aus nominaler Masse m_n und der Kendrick-Masse $KMD = m_n - m_K$.

Heute wird die Darstellung in Kendrick-Diagrammen dazu verwendet, um Spektren zu vergleichen und homologe Reihen zu identifizieren. Diese haben nach der Transformation den gleichen Massendefekt und liegen somit auf einer horizontalen Linie. Ursprünglich waren Limitierungen der Computerkapazitäten der Grund für diese Transformation, da exakte Massen anhand Tabellen ihren Summenformeln zugeordnet wurden und durch die Transformation homologe Reihen (hier mit CH_2 als Motiv) schneller gefunden werden konnten [112].

Abbildung 4.60 stellt das Kendrick-Diagramm für die letzte Probe des Miller-Experiments dar. Eine Punktwolke verläuft ansteigend, eine andere horizontal. In beiden Bereichen las-

sen sich Punkte, die entlang einer Horizontalen verlaufen, ausmachen. Der Anstieg der Punktwolke zeigt, dass mit zunehmender nominaler Masse der Anteil an Gruppen mit einem positiven Kendrick-Massendefekt zunimmt. Jeder Einbau von Heteroatomen wie Stickstoff (14,00307 Da) oder Sauerstoff (15,99491 Da) sowie die Bildung von Aromaten ($m(\text{CH}) = 13,00783 \text{ Da}$) führt zu einer positiven Kendrick-Massendifferenz. Die steigende Punktwolke repräsentiert aromatische Verbindungen und Moleküle mit Heteroatomen.

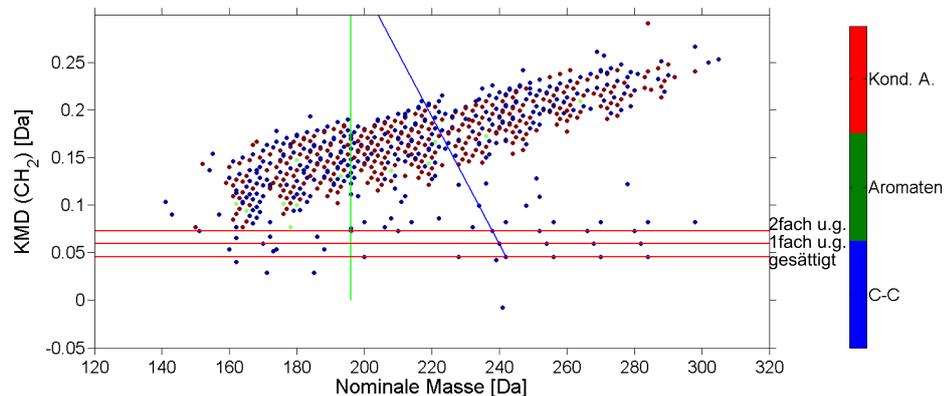


Abbildung 4.60: Kendrick-Diagramme der letzten Probe des Miller-Experiments. Als Basismasse wurde die Masse von CH_2 gewählt (14,01565 Da). Punkte, die auf einer horizontalen Linie (rot) liegen unterscheiden sich damit durch eine CH_2 -Gruppe. Die Punkte auf den eingezeichneten roten Geraden können ungesättigten und gesättigten Fettsäuren zugeordnet werden. Die blaue Gerade verbindet Kohlenwasserstoffe der gleichen Länge aber unterschiedlicher Sättigungsgrade. Weitere Substanzen, die auf einer horizontalen Linie liegen, lassen sich in der Punktwolke finden. Stickstoff und CH_2 -Gruppen haben dieselbe nominale Masse, unterscheiden sich jedoch durch ihren Kendrick-Massendefekt. Sie liegen damit auf einer Vertikalen (grüne Linie).

Eine Reihe von Punkte liegt fast horizontal im Diagramm und bei einem geringen Massendefekt. Einige Punkte liegen auf einer Geraden parallel zur Abszisse. Alkane ($\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$) haben einen negativen Kendrick-Massendefekt ($KMD_{\text{Alkane}} = -0,0133$). Damit lagen kaum oder keine Alkane in den Proben vor (Abb. 4.60, Anhang, Abb. A.20). Fettsäuren ($\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{COOH}$) bilden homologe Reihen mit einem CH_2 -Motiv. Sie ließen sich anhand ihres Massendefekts in der letzten Probe des Miller Experiments identifizieren. Je stärker die Fettsäure ungesättigt ist (mehr Doppelbindungen), desto weiter verschiebt sich die Reihe zu höheren Kendrick-Massendefekten. In Abbildung 4.60 sind mehrere Fettsäuren verschiedener Sättigungen zu sehen (rote Linien). Die Fettsäuren können aus Kontaminationen stammen oder im Experiment entstanden sein.

An der Übersicht der Kendrick-Diagramme im Anhang (Abb. A.20) lässt sich das Auftauchen der Verunreinigungen nachvollziehen. Sie tauchten in den Diagrammen der Proben auf, die auch in den Spektren die Verunreinigungen aufweisen und bildeten eine zusätzliche Punktwolke in einem Massenbereich ab m/z 350. Sie liegen nicht auf einer gemeinsamen Geraden und können damit keiner homologen Reihe zugeordnet werden.

4.6.5 Versuche mit schwerem Wasser

Hinweis auf den Ursprung der Oligomere können Miller-Experimente mit schwerem Wasser (Deuteriumoxid (D_2O), 99,9 %, Deutero GmbH) geben. Falls das Oligomer mit (schwerem) Wasserstoff aus dem Wasser gebildet wird, ist eine Verschiebung des Isotopenmusters zu schwereren Isotopen zu beobachten. Dies würde einen Hinweis darauf geben, ob die Oligomere aus einer Reaktion mit Wasser entstehen. Dies würde Sauerstoffhaltige Monomere wahrscheinlicher machen.

In dem Experiment mit schwerem Wasser tauchten Serien von äquidistanten Peaks mit einem ganzzahligen Abstand von rund 44 Da auf. Die Spektren zeigten außerdem, dass die Intensitäten bei dem ersten Isotop etwa so hoch wie das des Hauptpeaks (Abb. 4.61) waren. Für eine quantitative Analyse sind die Intensitäten der 44er-Serie zu gering und der Untergrund des Signals durch andere Substanzen des Gemisches zu hoch. Es waren damit keine Rückschlüsse auf den Gehalt an Wasserstoffmolekülen aus dem Wasser zu ziehen.

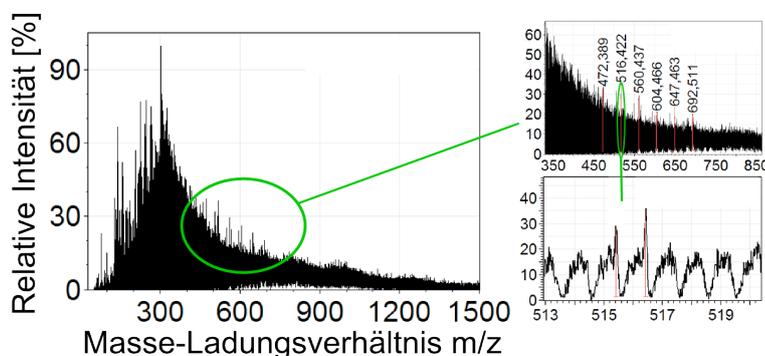


Abbildung 4.61: Spektrum einer Probe des Miller-Experiments mit schwerem Wasser. Auch hier tauchen die Oligomere mit dem Abstand rund 44 Da auf. Der erste Isotopenpeak ist dabei deutlich stärker als in den Experimenten mit natürlichem Wasser. Dies ist ein Hinweis dafür, dass Wassermoleküle in die Monomere eingebaut werden.

Die Wasserstoffatome eines Moleküls tauschen in deuteriertem Wasser gegen Deuteriumionen aus. Dieser Effekt wird z.B. in der HDX-Analyse (engl. *hydrogen-deuterium exchange*) genutzt, um die Konformation eines Proteins zu identifizieren [113]. Um den Einfluss dieses Effekts auf die Oligomere des Miller-Experiments zu untersuchen, wurde Polyethylenglycol einer mittleren Masse von 400 Da (PEG 400, Alfa Aesar) im Verhältnis 1 : 5000 mit schwerem Wasser (D_2O) bzw. destilliertem Wasser (H_2O) verdünnt (pH 6,7). Einer Probe wurde zusätzlich etwas Ammoniakwasser (Ammoniumhydroxid, NH_4OH , zur Synthese, Zentrales Chemikalienlager der Universität des Saarlandes) hinzugefügt und ein pH-Wert von 11,2 eingestellt. Damit wurden die basischen Anfangsbedingungen im Miller-Experiment nachgestellt, die einen Einfluss auf die Austauschbarkeit von Protonen haben können. Die Proben wurden nach 24 h im Verhältnis 1:100 mit einer Mischung aus Acetonitril und Wasser (1:1) verdünnt und im Massenspektrometer gemessen. Die Spektren der Proben mit H_2O und D_2O zeigten keine Unterschiede bezüglich des Isotopenmusters des PEG (Abb. 4.62). Ein Austausch der Wasserstoffatome hat daher entweder kaum stattge-

gefunden oder erfolgte so schnell, dass die Wasserstoffatome im Acetonitril-Wasser-Gemisch wieder zurück getauscht wurden.

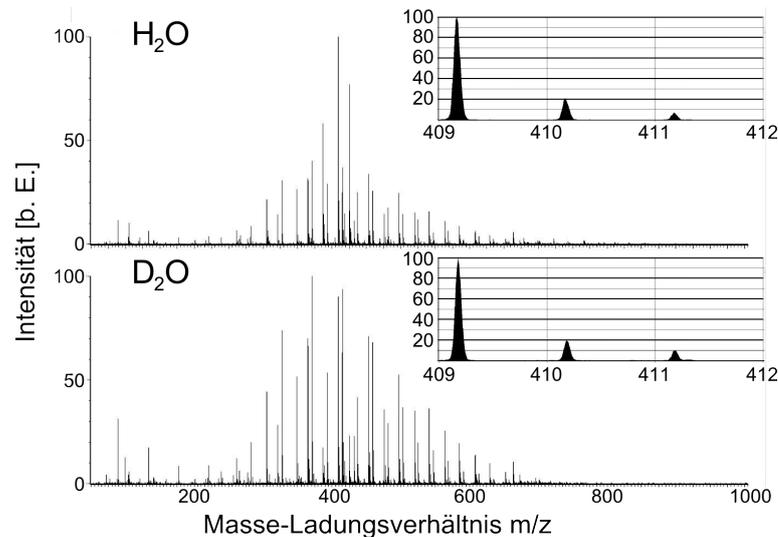


Abbildung 4.62: Vergleich der Spektren von Polyethylenglycol einer Probe, die in schwerem Wasser und in normalem Wasser aufbewahrt wurde. Anhand der Isotopenmuster konnte kein Austausch von Wasserstoffatomen nachgewiesen werden.

Dies wurde untersucht, indem die Proben in einem Lösungsmittel aus Acetonitril und schwerem Wasser gelöst wurden. Hier waren deutliche Veränderungen der Spektren zu beobachten. Für alle Oligomerpeaks ließ sich eine Verschiebung um 2 Da erkennen, wobei die Isotopenanteile gleich blieben (Abb. 4.63). Da dies für alle Oligomere der Fall war, scheinen jeweils nur zwei Wasserstoffatome ausgetauscht worden zu sein. Dies geschah so schnell, dass der Wechsel des Lösungsmittels innerhalb von wenigen Minuten bereits alle Austauschreaktionen ablaufen ließ. Eine Erklärung für die Verschiebung um 2 Da ist, dass nur die endständigen Wasserstoffatome ausgetauscht wurden. In einem PEG-Molekül sind nur diese zwei Wasserstoffatome an ein Sauerstoffatom gebunden. Die anderen Wasserstoffatome binden an Kohlenstoff.

Für die Beobachtung im Miller-Experiment bedeutet das, dass die Wasserstoffatome des Oligomers, falls es sich um PEG handelte, nicht von dem Austausch betroffen waren. Es ist jedoch möglich, dass Austauschreaktionen an den unbekanntenden Endgruppen abliefen. Aus den Versuchen mit dem PEG ist jedoch anzunehmen, dass ein Rücktausch der Wasserstoffatome erfolgt wäre, sobald die Probe aus dem Experiment in das Lösungsmittel gelangte. Das doppelte Auftauchen der Oligomerpeaks lässt darauf schließen, dass tatsächlich ein Einbau von Deuterium in das Molekül an Stellen erfolgte ist, an denen kein Rücktausch stattfand.

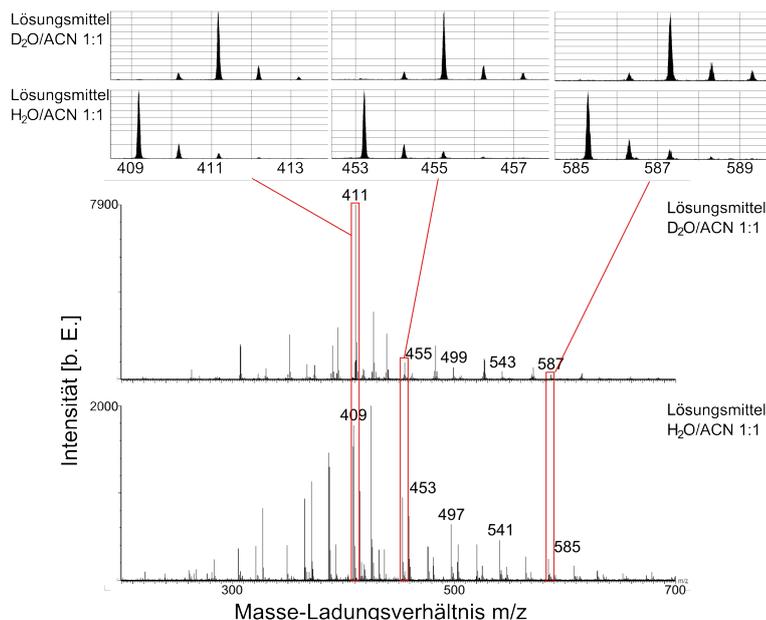


Abbildung 4.63: Vergleich der Spektren von Polyethylenglycol einer Probe, die in schwerem Wasser aufbewahrt wurde und anschließend in einem Lösungsmittel (ACN/Wasser 1:1) verdünnt wurde, das schweres (oben) bzw. normales (unten) Wasser enthielt. Es fällt auf, dass alle Polyethylenglycol-Peaks um 2 Da verschoben sind. Es sind drei Oligomere, die mit Kaliumionen geladen waren ($[\text{HO}-(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{-H}]\text{K}^+$, mit $n = 8 \dots 12$) dargestellt.

4.6.6 Zusatz von möglichen Monomeren

Die Analysen des Miller-Gemisches zeigten, dass verschiedene Monomere für die beobachteten oszillierenden Oligomere in Frage kommen. Es liegt die Vermutung nahe, dass in einem Gemisch, welches die passenden Monomere beinhaltet, die Oligomere schneller gebildet werden könnten. Daher wurden in einem Miller-Experiment ($\text{CH}_4:\text{NH}_3$ 1:1, 200 ml H_2O) mögliche Monomere oder deren mögliche Präkursoren hinzugegeben. Es wurden Ethylenglykol, $\text{HO}-(\text{CH}_2)_2\text{-OH}$, (0,33 mM), Acetonitril $\text{H}_3\text{C-C}\equiv\text{N}$, (0,97 mM) und Acetaldehyd, $\text{H}_3\text{C-CH=O}$, (1,36 mM) hinzugegeben. Die Konzentrationen wurden dabei jeweils so bemessen, dass Oligomere aus den Bausteinen kein oder maximal ein sehr geringes Signal geben sollten.

Das Gemisch in dem Experiment färbte sich schnell dunkel und es tauchten bereits nach etwa 30 min Oligomerpeaks auf, die verschwanden und wieder auftauchten. Dabei wurden sechs verschiedene Oligomerreihen identifiziert, die nicht immer gemeinsam auftraten. Das Experiment lief etwa 67 h. Die Oligomere wurden nur in den ersten 7 h entdeckt. Danach war teilweise das Messsignal unterbrochen, weil die Ionenquelle des Massenspektrometers verunreinigt war. Am Ende des Experiments glich das Spektrum dem der Proben des Miller-Experiments ohne Zusätze (Abb. 4.64).

Während des Experiments wurden fünf Reihen von Oligomeren mit einer ganzzahligen Monomermassen von m/z 44 gebildet (Tab. 4.6). Außerdem wurde das Auftauchen und Verschwinden eines Oligomers mit ganzzahligen Monomermasse von m/z 54 detektiert

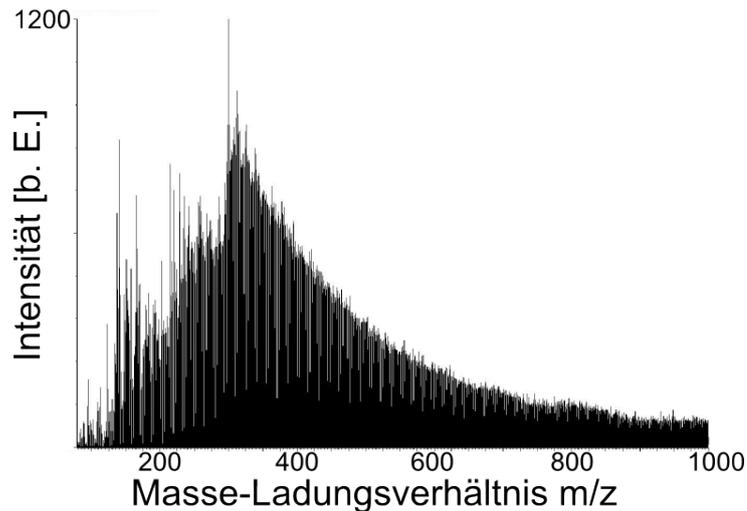


Abbildung 4.64: Spektrum der letzten Probe des Miller-Experiments unter Zusatz von möglichen Monomeren (nach ca. 67h). Es ist eine breite Verteilung an Massen zu beobachten. Es fallen keine Unterschiede zum Miller-Experiment ohne Zusätze auf.

(Tab. 4.7). Abbildung 4.65 zeigt den zeitlichen Verlauf der 44er-Reihen. Dabei ist die Summe der Intensitäten der Peaks einer Reihe gegen die Dauer des Experiments aufgetragen. Es können zwei typische Verläufe unterschieden werden. Zwei Oligomere (Reihe 1 und 5) tauchten sehr intensiv nach 36 min auf und verschwanden nach Erreichen einer maximalen Intensität wieder. Im weiteren Verlauf war die Reihe nicht wieder zu entdecken. Weitere Anstiege der Summe der Intensitäten resultierten aus einem Anstieg der Gesamtsignalintensität des Gemisches, ohne dass dabei ein Oligomer entdeckt wurde, das sich vom restlichen Signal absetzte.

In Abbildung 4.66 repräsentiert der Konzentrationsverlauf einer einzelnen Substanz (hier $409,240 \pm 0,007$ Da) den Verlauf der Reihe 1. Innerhalb der Messtoleranz des Massenspektrometers sind über zwanzig Summenformeln möglich. Die Konzentration der Substanz stieg sigmoidal, ihr Abbau Substanz folgte einem exponentiellen Verlauf.

Die Reihen 2 bis 4 tauchten ebenfalls ab 36 min auf, jedoch verschwanden sie nie oder nur kurzzeitig in den nächsten vier Stunden und ihre Intensitäten waren geringer als in den Reihen 1 und 5. Hier zeigte der Konzentrationsverlauf einer einzigen Substanz ($762,77 \pm 0,01$ Da) (Abb. 4.67) für das anfängliche Wachstum und den Abbau ebenfalls einen sigmoidalen bzw. exponentiellen Verlauf. Er verlief schneller als der des Peaks der Reihe 1. Im Folgenden tauchte der Peak so schnell auf und verschwand, dass die Menge der Messpunkte nicht ausreichte, um eine Funktion an den Verlauf anzupassen.

Neben den 44er-Oligomeren erschienen und verschwanden Oligomere mit Monomeren einer ganzzahligen Masse von 54 Da nach etwa 1,5 h Versuchslaufzeit (Abb. 4.68). Es ließ sich ein sigmoidaler Verlauf des Wachstums und ein exponentieller Abbau beobachten. Für die Abstände ergab sich ein mittlerer Wert von $54,038 \pm 0,018$ Da. Es kommen mehrere Monomere in Frage (C_3H_4N ($54,03437$ Da), H_6O_3 ($54,03170$ Da), C_4H_6 ($54,04695$ Da), $C_2H_2N_2$ ($54,02180$ Da), H_8NO_2 ($54,05550$ Da)).

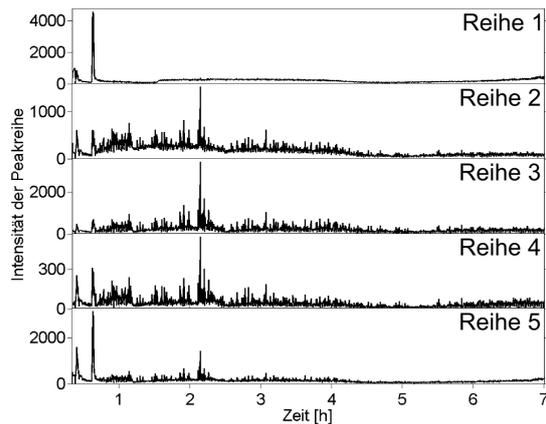


Abbildung 4.65: Intensitätsverlauf von fünf verschiedenen Reihen von Oligomeren mit einer ganzzahligen Monomermassen von m/z 44. Hier sind die Summen der Einzelintensitäten der Substanzen der Reihen dargestellt. Es lassen sich zwei typische Verläufe ausmachen. Reihe 1 und 5 tauchten zusammen nach 36 min auf und erreichten eine hohe Intensität. Sie verschwanden schnell wieder und tauchten danach nicht mehr auf. Weitere Schwankungen (z.B. bei etwa 20 min) sind auf Schwankungen der Gesamtintensität in Folge von veränderter Pumpeneinstellung oder Veränderung der Quelle z.B. durch Verunreinigung zurückzuführen.

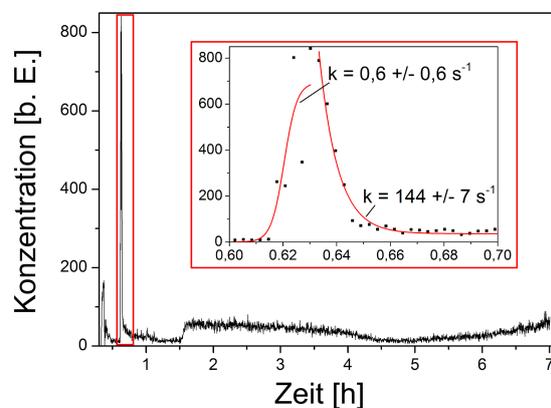


Abbildung 4.66: Zeitlicher Verlauf der Konzentration der Substanz von $409,240 \pm 0,007 \text{ Da}$ aus der Reihe 1. Die Genauigkeit des Massenspektrometers reichte zur Identifikation der Substanz nicht aus. Das Anwachsen der Substanz ließ sich durch eine sigmoide Funktion beschreiben (Abschnitt 2.1.2). Der Abbau folgte einem exponentiellen Verlauf der Konzentration (Abschnitt 2.1.3). Im Verlauf des Experiments wurde das Oligomer nicht wieder detektiert. Entweder wurde es nicht erneut gebildet oder hob sich gegenüber dem Signal der restlichen Moleküle des Miller-Gemisches nicht ab. Die Messungen erfolgten im linearen Bereich des Detektors, nur das Signal des größten Ausschlags verließ den linearen Bereich.

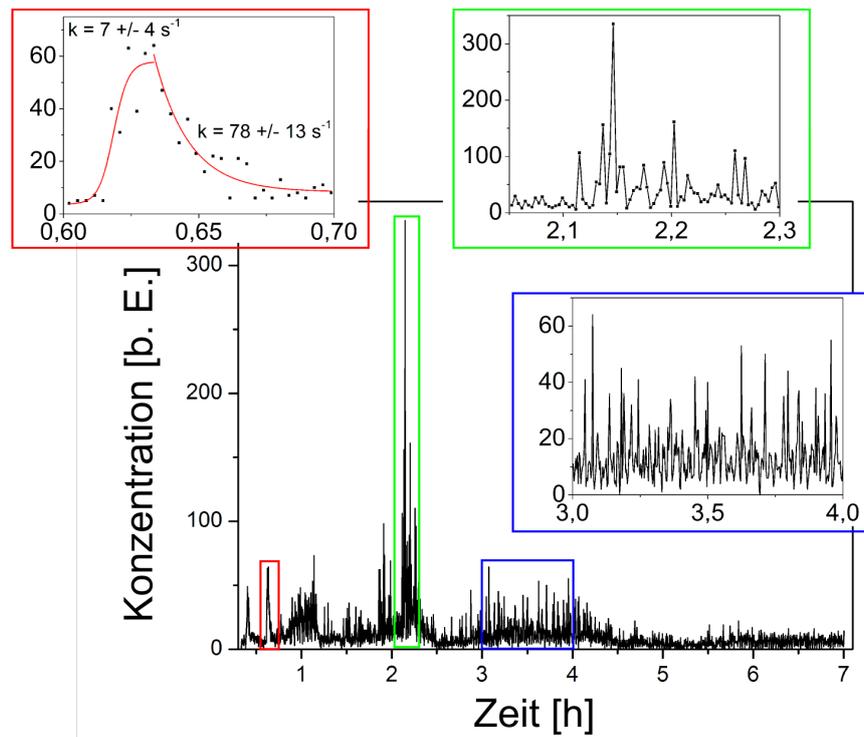


Abbildung 4.67: Zeitlicher Verlauf der Konzentration der Substanz von $762,77 \pm 0,01$ Da aus der Reihe 2. Die Genauigkeit des Massenspektrometers reichte zur Identifikation der Substanz nicht aus. Die Substanz tauchte nach 36 min das erste mal auf. Das Anwachsen der Substanz ließ sich durch eine sigmoide Funktion beschreiben (Abschnitt 2.1.2). Der Abbau folgte einem exponentiellen Verlauf der Konzentration (Abschnitt 2.1.3). Für die nächsten vier Stunden verschwand sie nur kurz und tauchte so schnell wieder auf, dass die Messpunkte (Abstand 10 s) nicht ausreichten, um einen funktionalen Verlauf zu bestimmen. Die Messungen erfolgten im linearen Bereich des Detektors.

Reihe 1		Reihe 2		Reihe 3		Reihe 4		Reihe 5	
μ [Da]	σ [Da]								
277,149	0,007	424,438	0,008	380,401	0,009	498,50	0,01	371,292	0,007
321,174	0,005	468,473	0,008	424,438	0,008	542,55	0,01	415,334	0,009
365,191	0,005	542,527	0,012	468,473	0,008	586,66	0,01	459,36	0,01
409,240	0,007	586,57	0,01	512,514	0,009	630,62	0,01	503,39	0,01
453,269	0,008	630,60	0,01	556,53	0,01	674,67	0,01	547,42	0,01
497,27	0,01	674,67	0,01	600,62	0,01			591,48	0,02
541,31	0,01	718,68	0,01	644,61	0,01			635,49	0,02
585,37	0,01	762,77	0,01	688,67	0,01			679,53	0,02
629,38	0,01			732,72	0,01			723,54	0,02
673,43	0,02			776,76	0,01			767,60	0,02
547,34	0,01			820,76	0,01			811,65	0,02
591,46	0,01			864,79	0,02				
535,48	0,02			908,87	0,02				

Tabelle 4.6: Tabelle der mittleren Massen der Substanzen der 44er-Reihen so wie ihrer Standardabweichungen. Die Signale wurden mit ihren Intensitäten gewichtet.

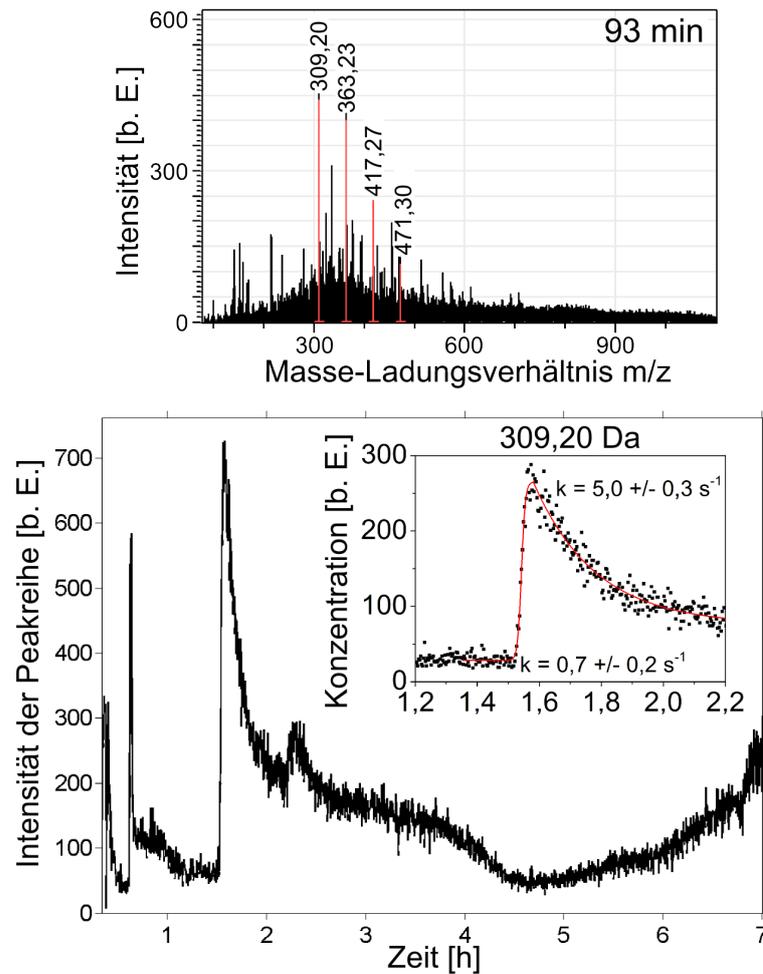


Abbildung 4.68: Spektrum mit 54er-Oligomeren sowie der zeitliche Verlauf der Intensität der Oligomerreihe. Die Peaks tauchten nach etwa 1,5h auf. Weitere Anstiege der Intensität waren auf den Anstieg des Gesamtsignals zurückzuführen. Der Konzentrationsverlauf des intensivsten Peaks bei m/z 309,20 ist gesondert dargestellt. Der Anstieg hatte einen sigmoidalen Verlauf, während der Abbau exponentiell erfolgte.

54-Reihe	
μ [Da]	σ
309,191	0,004
363,228	0,005
417,245	0,007
471,305	0,009

Tabelle 4.7: Tabelle der mittlere Massen der Substanzen der 54er-Reihe sowie ihrer Standardabweichungen. Die Signale wurden dabei mit ihren Intensitäten gewichtet.

4.6.7 Zusatz von Palladium

In ein Miller-Experiment (200 ml Wasser, $\text{CH}_4:\text{NH}_3:\text{H}_2$ 3:3:1) wurde Palladium (56,5 mg) zu Beginn hinzugegeben, da dieses organische Reaktionen in wässrigen Medien katalysieren kann [114]. Proben wurden alle 30 min mit dem Fraktionierer gesammelt. Die Proben wurden im Verhältnis 1:5 mit destilliertem Wasser gemischt und im Massenspektrometer gemessen.

Zu Beginn des Experiments unterschieden sich die Spektren deutlich von denen ohne Palladium durch „wellenförmige“ Strukturen. Am Ende des Experiments ähnelten sich die Spektren jedoch wieder (Abb. 4.69). Bei den „Wellen“ handelte es sich um Palladiumverbindungen. Sie ließen sich mit der Auflösung des Massenspektrometers deutlich von den rein organischen Substanzen trennen (Anhang, Abb. A.21). Zum Ende des Experiments nahm die Intensität dieser Substanzen gegenüber den rein organischen Substanzen des Experiments ab (Anhang, Abb. A.22).

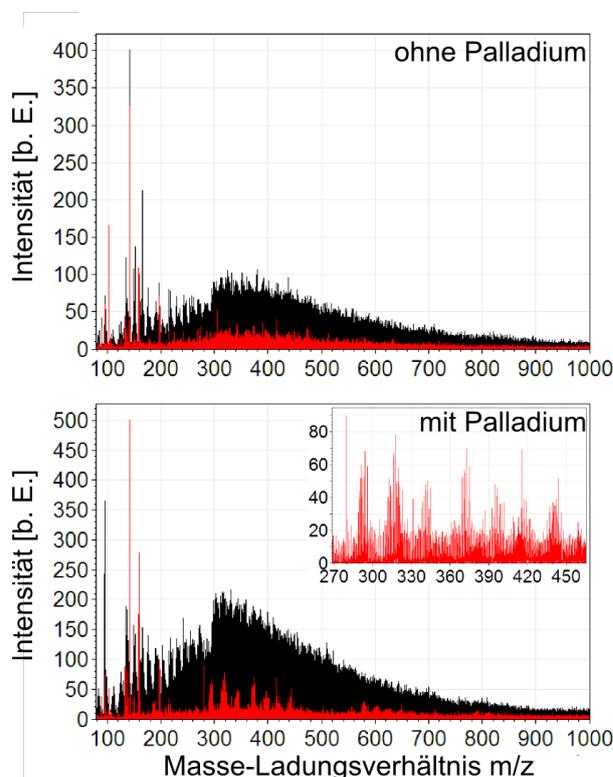


Abbildung 4.69: Vergleich von Spektren früher (nach 2 h 40 min, unten) und später (24 h 10 min, oben) Proben im Miller-Experiment ohne und mit Palladium. Während sich die Spektren am Ende des Experiments ähnelten, unterschieden sie sich zu Beginn des Experiments durch „wellenförmigen“ Strukturen in dem Spektrum des Experiments mit Palladium. Es handelte sich um Palladiumverbindungen, die anhand ihres Isotopenmusters identifiziert wurden.

Auch in diesem Experiment verschwanden und erschienen 44er-Oligomere. Sie traten nicht intensiver auf. Die Oligomere waren in der ersten Probe nach 75 min (Tab. 4.9, Reihen 1-3) und blieben mindestens 30 min. In dem Spektrum der Probe nach 2,75 h war eine

Reihe mit langen Oligomeren (Reihe 4) zu erkennen, die aber im Verlauf des Experiments nicht wieder auftauchte. Weitere, deutlich kürzere Oligomere (Reihe 5) erschienen nach 4,75 h und blieben mindestens 16,5 h. Im Verlauf des Experiments verschwanden die Oligomere und ein weiteres Auftauchen wurde in den entnommenen Proben nicht mehr entdeckt. Gleichzeitig stieg jedoch auch das gesamte Signalniveau des Gemisches, so dass die Oligomere möglicherweise nicht mehr zu erkennen waren. In den Spektren ließ sich nach 24,25 h ebenfalls das Auftauchen von Oligomeren mit einem Abstand von $27,015 \pm 0,006$ Da ausmachen (Tab. 4.8). Die Oligomere verschwanden nach 22 h wieder. Cyanwasserstoff (HCN, 27,01090 Da) ist das einzige mögliche Monomer, das im Rahmen der Messtoleranz in Frage kommt. Dies ist plausibel, da HCN ein Produkt des Funkens im Miller-Experiment ist.

Reihe 1	
μ [Da]	σ
148,077	0,006
175,087	0,005
202,099	0,004
229,12	0,01

Tabelle 4.8: Tabelle der mittleren Massen der Substanzen der 27er-Reihe sowie ihrer Standardabweichungen.

Die Proben wurden auch im negativen Ionisationsmodus des Massenspektrometers gemessen. Hier ließen keine Oligomere detektieren.

Proben der Ablagerungen im Vierhalskolben wurden im Massenspektrometer sowohl im positiven als auch negativen Modus gemessen. In den Messungen des positiven Modus ließen sich ebenfalls Oligomere der Reihe 4 detektieren (Abb. 4.70). Das deutet darauf hin, dass die Bildung der Oligomere entweder in der Gasphase erfolgte oder sie mit dem Kochen des Gemisches in die Gasphase gelangten und an der Glaswand der Apparatur kondensierten. Dieser Befund ist zudem ein Hinweis auf den Einfluss der Temperatur auf die Stabilität der Oligomere. Während sie in der kochenden Lösung ab 20,75 h nicht mehr gefunden wurden, tauchten sie im Vierhalskolben auch nach einer Laufzeit des Experiments von 48 h noch auf. Eine Erklärung dafür ist, dass die Reaktionen zum Abbau der Oligomere an der kühleren Wand des Glaskolbens langsamer ablaufen.

4.6.8 Dotierung

Zur Aufklärung der Reaktionsabläufe, die zu der aperiodischen Entstehung der Oligomere führten, ist es von Interesse herauszufinden, welchen Einfluss das Oligomer auf seine Entstehung hat. Damit könnten Hinweise auf einen katalytischen Prozess gefunden werden. In einigen Experimenten wurde daher dem laufenden Miller-Experiment mehrfach eine gesättigte Lösung des Gemisches eines früheren Miller-Experiments hinzugegeben, das die Oligomere enthielt.

In zwei Experimenten tauchten während des gesamten Verlaufs des Experiments ($\text{CH}_4:\text{NH}_3$

Reihe 1		Reihe 2	Reihe 3	Reihe 4	Reihe 5	
μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	σ [Da]
516,37		499,34	530,38	710,50	261,146	0,004
560,40	0,01	543,36	574,41	754,54	305,185	0,007
604,44	0,01	587,4	618,44	798,61	349,21	0,01
648,46	0,01		662,46	842,61	393,248	0,009
692,48				886,65	481,31	0,02
					525,290	0,007
					569,31	
					613,33	

Tabelle 4.9: Tabelle der mittleren Massen der Substanzen der 44er-Reihen im Experiment mit Zusatz von Palladium sowie ihrer Standardabweichungen. Wenn die Peaks nur in einer Probe auftauchten, ist keine Standardabweichung angegeben.

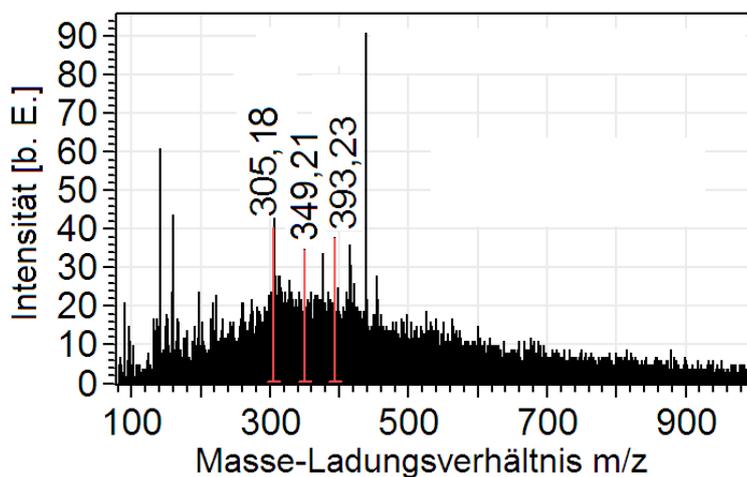


Abbildung 4.70: Spektrum der Probe, die mit Wasser aus dem Vierhalskolben gespült wurde. Es enthielt die 44er-Oligomere, die auch in Proben aus der kochenden Lösung gefunden wurden.

1:1 bzw. $\text{CH}_4:\text{NH}_3$ 3:2, 250 ml Wasser) keine Oligomere auf (Zugabe der Lösung nach 20,72 h und 25,63 h bzw. 19,2 h). Es ist davon auszugehen, dass in dem Experiment auch ohne das Hinzugeben der konzentrierten Lösung das Oligomer nicht aufgetaucht wäre. Andernfalls würde das Oligomer seine eigene Entstehung hemmen. Ein solcher Mechanismus ist nicht vereinbar mit dem beobachteten exponentiellen Anstieg der Konzentration des Oligomers.

Aus früheren Beobachtungen war bekannt, dass die Form der Elektroden Spitzen einen Einfluss auf das Auftauchen des Oligomers hat. Nachdem die abgestumpften Elektroden gegen Spitzere ausgetauscht wurden, tauchte das Oligomer erneut auf. In dem Experiment ($\text{CH}_4:\text{NH}_3$ 1:1, 200 ml Wasser) wurde zu sieben verschiedenen Zeitpunkten (2,95 h, 5,78 h, 20,28 h, 22,67 h, 24,87 h, 28,03 h, 30,12 h) jeweils 250 μl der gesättigten Lösung eines früheren Miller-Experiments (Probe 1 aus Abschnitt 4.6.12) dazugegeben (Abb. 4.71). Das Experiment lief 44,82 h. Die Menge der hinzugegebenen Lösung wurde dabei so gewählt, dass sie nicht ausreichte, um ein Signal in der verdünnten Lösung, die vom Experiment in das Massenspektrometer gepumpt wurde, zu liefern.

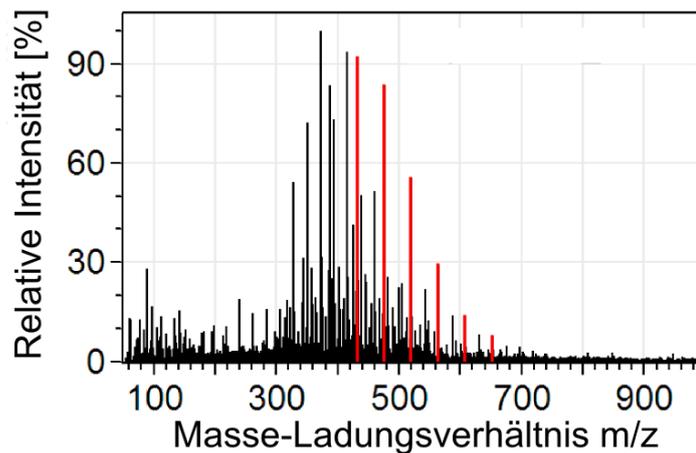


Abbildung 4.71: Massenspektrum der Impf-Lösung, die in das Miller-Experiment injiziert wurde. In der Lösung sind mehrere Reihen an Oligomeren zu finden. Exemplarisch sind nur einige der Oligomere rot markiert.

Bereits vor der Hinzugabe der Lösung war ein Auftauchen zwei verschiedener Reihen von Oligomeren nach etwa einer Stunde zu beobachten (Abb. 4.72). Es war langsam und erfolgte über mehrere Minuten. Während des Anstiegs der Konzentration des Oligomers wurde die Lösung dazugegeben. Sofort ließ sich auch ein steilerer Anstieg der Konzentration einiger Oligomere feststellen. Dieser kann für die am höchsten konzentrierten Moleküle durch zwei sigmoidale Funktionen angepasst werden, die in dem Moment der Hinzugabe der Impf-Lösung enden bzw. beginnen (Abb. 4.73). Für die weniger konzentrierten Oligomere ließ sich diese Beobachtung nicht sicher machen. Wegen eines geringeren Messsignals ließ sich ein Trend hier schwieriger erkennen. Eine andere Möglichkeit ist, dass die Hinzugabe der Lösung das Wachstum der Oligomere zu unterschiedlichen Zeitpunkten erreicht hatte. Abbildung 4.74 zeigt, dass die kürzeren Oligomere zuerst und dann die Schwereren

wuchsen. Dieses Verhalten war auch für die Oligomere der zweiten Reihe zu beobachten (Anhang, Abbn. A.23, A.24).

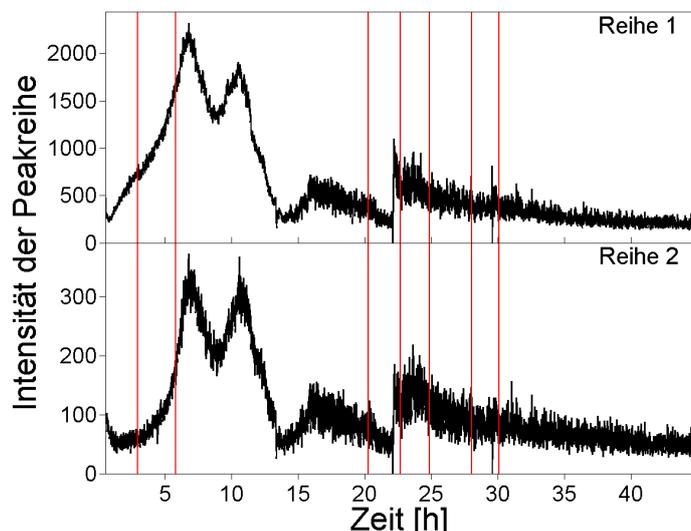


Abbildung 4.72: Zeitlicher Verlauf der aufsummierten Intensitäten der Oligomere der beiden Reihen. Die Hinzugabe der Impf-Lösung ist durch die roten Striche markiert. Schon nach etwa einer Stunde tauchten die Oligomere der Reihe 1 in den Spektren auf. Ihr Wachstum erfolgte über mehrere Stunden und wurde durch die Hinzugabe der Lösung beschleunigt. Danach war kein Einfluss mehr zu erkennen. Bei Reihe 2 ist es ebenfalls möglich, dass das Wachstum der Oligomere durch das erste Zusetzen der Lösung beschleunigt wurde. Für die weiteren Zugaben war allerdings kein Einfluss auf den Verlauf der Intensitäten der Oligomere zu erkennen.

Das Dotieren hatte einen verstärkenden Einfluss auf die Bildung der Oligomere. Dabei ist auffallend, dass die Oligomere, die im Experiment gebildet wurden, nicht die gleichen Massen hatten wie die, welche hinzugegeben wurden (Tab. 4.10). Innerhalb der Genauigkeit des Geräts ist es möglich, dass die gleichen Reihen vorhanden waren. Dafür müsste Reihe 1 in der Impf-Lösung protoniert und in der Probe aus dem Experiment mit NH_4^+ ionisiert vorgelegen haben. Jedoch waren die Oligomere der Impf-Lösung kleiner und endeten für Reihe 1 bei etwa 600,5 Da während die Reihe 1 im Experiment bis zu einer Masse von 908,6 Da verfolgt werden konnte. Reihe 2 war ebenfalls in der Impf-Lösung vorhanden, jedoch nur bis zu einer Masse von etwa 651,5 Da. Dies deutet auf eine kreuzkatalytische Bildung der Oligomere hin.

Die Oligomere der beiden Reihen hatten einen mittleren Abstand von $44,024 \pm 0,007$ Da. Es kommen innerhalb der Messtoleranz nur die Moleküle H_2N_3 (44,02487 Da) und $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (44,02621 Da) als mögliche Monomere in Frage.

Mit dieser Serie an Experimenten wurde bestätigt, dass die Form der Elektroden einen entscheidenden Einfluss auf die Bildung der Oligomere hat. Wurden die Oligomere nicht im Experiment gebildet, so wurde dies auch nicht durch die Hinzugabe einer Lösung mit Oligomeren induziert. Wurden jedoch Oligomere im Experiment gebildet, verstärkte sich

dieser Prozess durch den Zusatz der Impf-Lösung. Dabei wurde auch die Entstehung von Oligomeren verstärkt, die nicht in der zugesetzten Lösung enthalten waren.

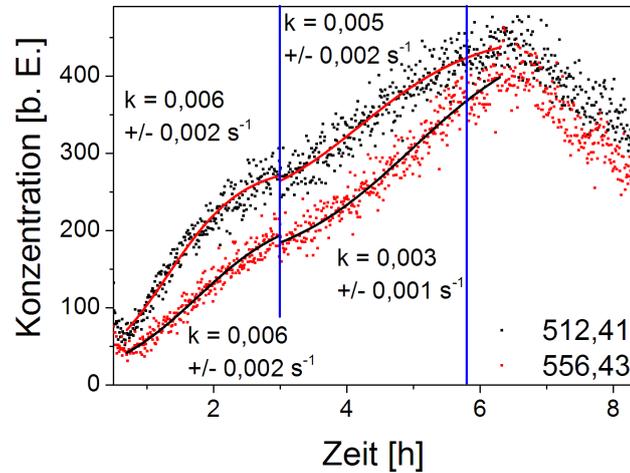


Abbildung 4.73: Verlauf der Konzentrationen zweier Oligomere der Reihe 1 während der ersten acht Stunden des Experiments. Sie stiegen über mehrere Stunden kontinuierlich an. Die erste Hinzugabe (blaue Linie bei 2,95 h) der Lösung eines früheren Miller-Experiments, die ebenfalls Oligomere enthielt, führte zu einem stärkeren Anstieg der Konzentration. Dies ließ sich für die zweite Hinzugabe (5,78 h) nicht beobachten. Die Anstiege wurden jeweils mit sigmoidalen Funktionen, wie sie für einen autokatalytischen Prozess zu erwarten sind, angepasst (Abschnitt 2.1.2). Dabei ergaben sich für die Reaktionskonstanten k verschiedene Werte, die allerdings gegenseitig in der ermittelten Toleranz lagen.

Reihe 1		Reihe 2	
μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	σ [Da]
512,410	0,003	651,391	0,006
556,434	0,003	695,413	0,007
600,451	0,004	739,431	0,008
644,478	0,004	783,45	0,01
688,504	0,004	827,50	0,01
732,521	0,005	871,52	0,01
776,549	0,007		
820,571	0,007		
864,601	0,008		
908,63	0,01		

Tabelle 4.10: Tabelle der mittleren Massen der Substanzen der 44er-Reihe sowie ihrer Standardabweichungen.

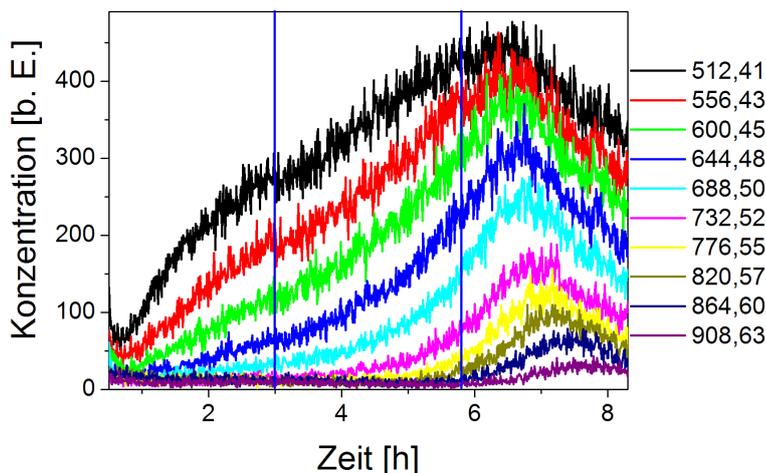


Abbildung 4.74: Verlauf der Konzentrationen der Oligomere der Reihe 1 während der ersten acht Stunden des Experiments. Sie stiegen über mehrere Stunden kontinuierlich an. Die Hinzugabe der Lösung eines früheren Miller-Experiments, die ebenfalls Oligomere enthielt, ist durch die blauen Linien bei 2,95 h und 5,78 h gekennzeichnet. Die erste Hinzugabe der Lösung führte bei den Oligomeren mit dem intensivsten Signal zu einem verstärkten Anstieg der Oligomere. Für die zweite Hinzugabe und für die anderen Oligomere der Reihe lässt sich dies nicht mit Sicherheit sagen. Die einzelnen Oligomere der Reihe bildeten sich nacheinander, wobei die kürzesten Oligomere zuerst erschienen und das intensivste Signal im Massenspektrum lieferten. Der Abbau der kurzen Oligomere begann vor dem der Längeren.

4.6.9 Redoxgradient

Das Gemisch des Miller-Experiments (ohne 44er-Oligomere) wurde zwischen einem oxidierenden Pol und einem reduzierenden Pol gelagert (Abschnitt 3.1.2). Das Experiment wurde dreimal durchgeführt und lief jeweils über zwei Tage, dabei traten unterschiedliche Ergebnisse auf.

Die Abbildungen 4.75 und 4.76 vergleichen die Spektren der Proben, die vor dem Experiment entnommen wurden, mit denen, die am Ende des Experiments auf der Seite des Ozons und auf der des Wasserstoffs entnommen wurden. In zwei der drei Experimente weisen diese Spektren kaum Unterschiede auf und gleichen auch den Spektren der fünf anderen Proben (Abb. 4.75). Die Reaktionen, die erwartet worden waren, sind maximal nur in einem geringen Maß abgelaufen.

In einem der drei Experimente lassen sich deutliche Unterschiede zwischen den Fraktionen ausmachen (Abb. 4.76). In den Spektren der mittleren Fraktionen tauchte die Serie eines Oligomers auf. Dabei konnte über die Abstände der Peaks eine Monomermasse von $44,0358 \pm 0,0086$ Da ermittelt werden. Dies ergibt als einzige Möglichkeit innerhalb der Messgenauigkeit ein Monomer von CH_4N_2 (44,03745 Da).

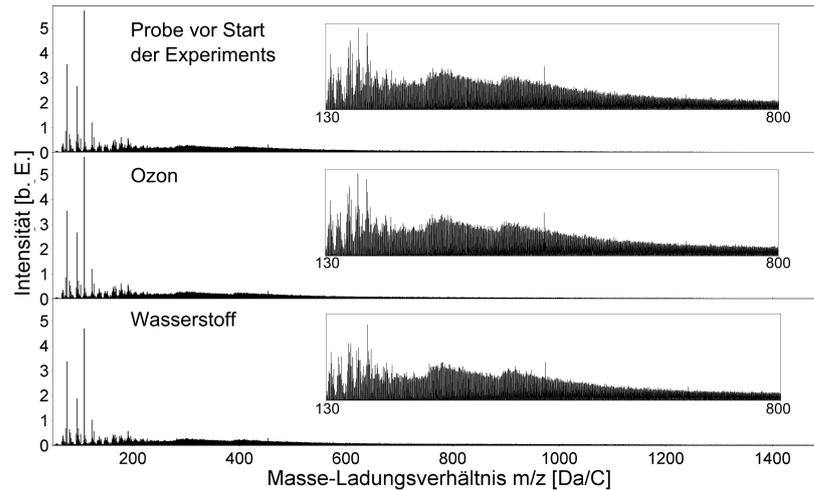


Abbildung 4.75: Vergleich der Spektren der Proben, die vor dem Experiment (oben) und nach dem Experiment auf der Seite des Ozons (mitte) und des Wasserstoffs (unten) entnommen wurden. Die eingesetzten Bilder sind vergrößerte Ausschnitte der Spektren. Die Spektren lassen nur geringe Unterschiede erkennen.

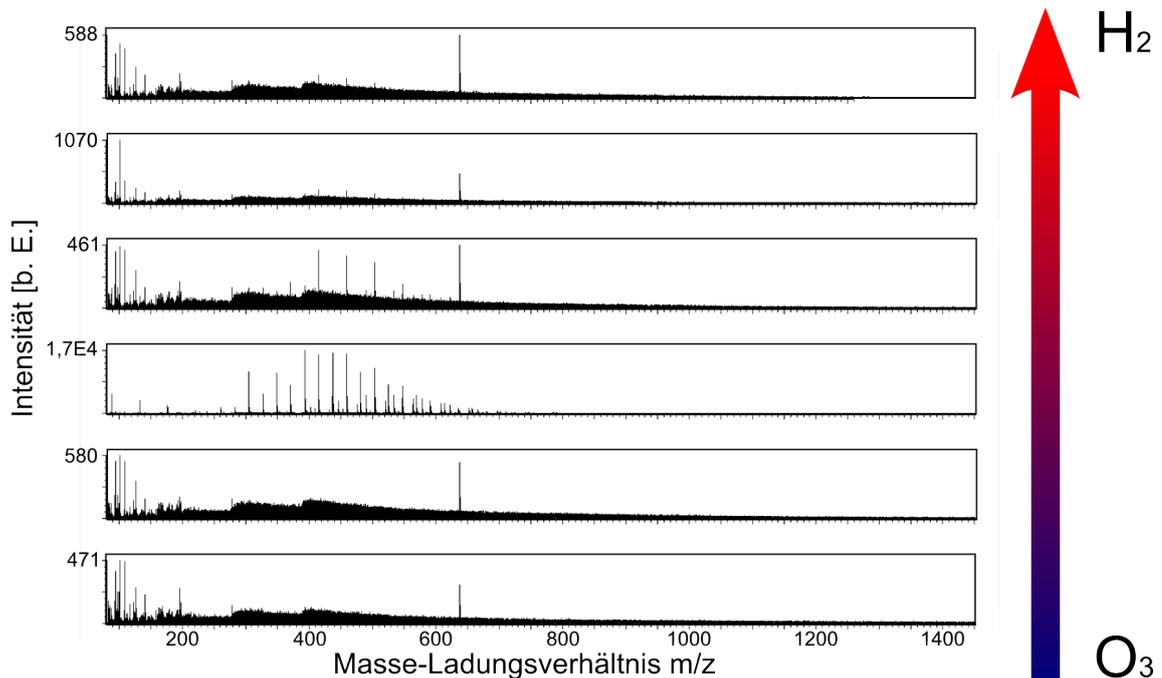


Abbildung 4.76: Vergleich der Spektren der einzelnen Fraktionen, die dem U-Rohr entnommen wurden. Dabei sind die unteren Proben auf der Seite des oxidierenden Pols und die oberen auf der Seite des reduzierenden Pols entnommen worden (vgl. Pfeil). In den mittleren zwei Proben hat sich ein Oligomer gebildet, wie es auch in den Miller-Experimenten beobachtet wurde.

4.6.10 Thermisches Zirkulieren

Ein Gemisch aus dem Miller-Experiment wurde in einem Thermocycler (Progr, HLC und MultiGene, Labnet International, Inc.) abwechselnd Temperaturen von 10 °C und 95 °C für jeweils 30 min ausgesetzt, um Reaktionen periodisch anzuregen. Einigen Proben wurden verschiedene Substanzen hinzugefügt. Vergleichsproben der gleichen Mischungen wurden während des Versuchszeitraums von 4 Tagen im Kühlschrank bei 4 °C verwahrt. Es wurden die Substanzen Ammoniakwasser (NH₄OH) und Salzsäure (HCl) hinzugesetzt, um ein saures bzw. basisches Milieu zu erzeugen. Weitere Proben wurden mit Ethanol (C₂H₆O) und Acetonitril (C₂H₃N) versetzt, um mögliche Einflüsse von Alkoholen bzw. Nitrilen auf das Gemisch zu testen. Tabelle 4.11 stellt die Versuchsbedingungen zusammen. Für die verschiedenen Thermocycler wurden verschiedene Mikroreaktionsgefäße verwendet. Die Proben wurden im positiven und negativen Ionisationsmodus gemessen.

Zusatz	Konzentrationen		
NH ₄ OH	5 %	10 %	20 %
HCl	0,01 %	0,1 %	0,5 %
C ₂ H ₆ O	5 %	10 %	20 %
C ₂ H ₃ N	10 %	20 %	50 %

Tabelle 4.11: Substanzen, die den Proben des Miller-Experiments in den angegebenen Konzentrationen hinzugegeben wurden. Die Proben wurden anschließend Temperaturzyklen ausgesetzt bzw. zum Vergleich bei 4 °C gelagert.

Die Proben ohne Zusätze wiesen in ihren Spektren keine Veränderungen auf.

Auch bei den Versuchen mit Ethanol ließen sich keine Veränderungen in den Spektren erkennen. Zwar tauchten einige Peaks neu auf (m/z 221,18, 267,22, 317,28, 409,29, 462,32), jedoch erschienen sie nur bei einer Art von Mikroreaktionsgefäßen und auch bei den Versuchen mit Acetonitril in den gleichen Gefäßen. Damit handelte es sich bei diesen Substanzen wahrscheinlich um Kontaminationen aus dem Kunststoff der Gefäße. Bei den Experimenten mit Acetonitril wurden neben den genannten Substanzen intensive Peaks in der Proben des Cyclers MultiGene bei m/z 219,23 (ES+) und m/z 162,49 (ES-) für eine Konzentration von 50 % Acetonitril detektiert. Auch diese Substanzen tauchten vor allem in einer Gefäßsorte auf und lassen damit eine Kontamination vermuten.

Die Hinzugabe von Ammoniakwasser lieferte nur drei Substanzen (ES-, m/z 102,33, 196,20), die nur in einem Reaktionsgefäß vorkamen. Daneben waren keine Änderungen in den Spektren auszumachen.

Die Zugabe von Salzsäure (0,5 %) führte zu deutlichen Veränderungen und dem Entstehen neuer Substanzen (Abb. 4.77). Diese Substanzen ließen sich anhand ihres Isotopenmusters als Chlorverbindungen identifizieren.

In den Experimenten wurden keine Veränderungen des Miller-Gemisches detektiert, die auf Reaktionen der Substanzen des Gemisches zurückzuführen sind. Veränderungen in den Spektren der Proben resultierten entweder aus Kontaminationen des Kunststoffs der Probengefäße oder aus Reaktionen mit der Salzsäure.

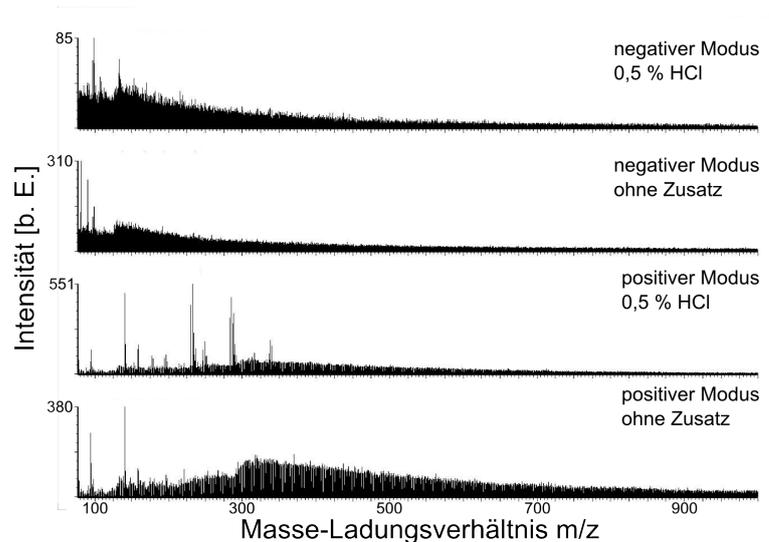


Abbildung 4.77: Spektren der Proben ohne Zusatz und mit 0,5 % Salzsäure im positiven und negativen Modus. Die Zahlen an der Intensitätsachse geben die maximalen Ausschläge an. Es traten in den Spektren neue Peaks hervor, deren Isotopenmuster sie als Chlorverbindungen identifizierten.

4.6.11 IR-Spektroskopie

Eine Probe des Miller-Experiments, die keine Oligomere enthielt, wurde mittels Infrarot-Spektroskopie (IR-Spektroskopie) untersucht. Die Messungen erfolgten an einem FTIR-Spektrometer (System 2000, Perkin-Elmer) in der Arbeitsgruppe von Prof. Rolf Pelster, Universität des Saarlandes, unter der Anleitung von Mitarbeiter Klaus Schappert. Die Absorptionspeaks wurden mit Literaturdaten verglichen [115]. Die Absorptionsbereiche der chemischen Gruppen sind in Klammern angegeben.

In dem Spektrum (Abb. 4.78) überlagerten sich die Signale der chemischen Gruppen zu Peaks, die zu breit waren, um chemische Gruppen eindeutig zu identifizieren.

Der Peak mit der größten Fläche liegt um 3416 cm^{-1} . Hier absorbieren im Wesentlichen Alkohole ($-\text{OH}$, $3200 - 3600\text{ cm}^{-1}$), Amine ($-\text{N}-$) und Amide ($-(\text{C}=\text{O})-\text{N}-$) ($3300 - 3500\text{ cm}^{-1}$) und/oder Alkine ($\text{C}\equiv\text{C}$, 3300 cm^{-1}). Die leichte Schulter des Peaks bei kleineren Wellenzahlen deutet auf Aromaten ($(\text{CH})_6$, $3010 - 3100\text{ cm}^{-1}$), Alkene ($-\text{CH}=\text{CH}-$, $3010 - 3095\text{ cm}^{-1}$) und/oder Alkane ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $2850 - 2970\text{ cm}^{-1}$) hin, wobei letztere sicher nur einen kleinen Teil ausmachten. Der Peak bei 1639 cm^{-1} wurde wahrscheinlich hauptsächlich durch Alkene ($1610 - 1680\text{ cm}^{-1}$) hervorgerufen. Eine Verbreiterung kann von $\text{C}=\text{O}$ -Bindungen ($1690 - 1760\text{ cm}^{-1}$), Alkanen ($1340 - 1470\text{ cm}^{-1}$) und/oder Nitrogruppen ($-\text{NO}_2$, $1300 - 1370\text{ cm}^{-1}$) stammen, die aber aufgrund der geringeren Intensität schwächer vertreten waren. Der Peak bei 560 cm^{-1} kann sicherlich teilweise auf Alkene zurückgeführt werden ($675 - 995\text{ cm}^{-1}$). Die Verbreiterung zu kleinen Wellenzahlen ist unklar. Es gibt ein Signal um 1100 cm^{-1} , das durch $\text{C}-\text{O}$ -Bindungen ($1050 - 1300\text{ cm}^{-1}$), Amide und Amine ($1180 - 1360\text{ cm}^{-1}$) und/oder Nitrogruppen ($1500 - 1570\text{ cm}^{-1}$) entstanden sein kann. Der Peak bei 2088 cm^{-1} spricht für Alkine ($2100 - 2260\text{ cm}^{-1}$), die Schulter zu größeren Wellenlängen kann auf Cyanide ($-\text{C}\equiv\text{N}$, $2210 - 2280\text{ cm}^{-1}$) zurückgeführt werden.

Es zeigte sich, dass die Methode der IR-Spektroskopie nur bedingt zur Analyse komplexer chemischer Mischungen geeignet ist. Es kann jedoch geschlussfolgert werden, dass es viele Alkohole, Alkine, Amine, Amide und/oder Alkene gibt. Auch C-O-Bindungen und/oder Moleküle mit Nitrogruppen in der Probe vertreten waren. Für Alkane und Cyanide ist das Signal schwach.

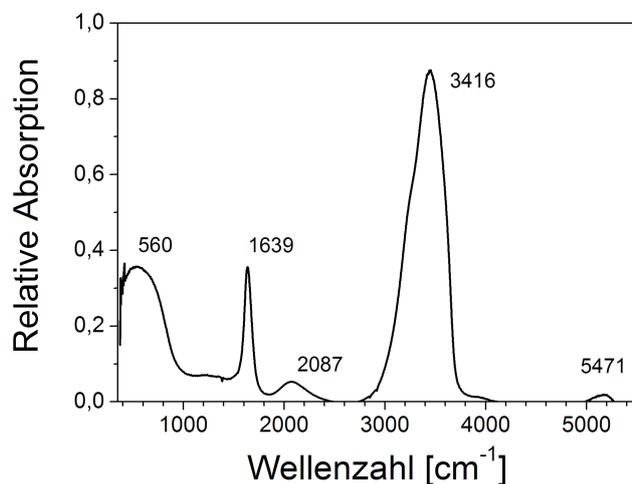


Abbildung 4.78: Infrarot-Spektrum einer Probe des Miller-Experiments. Die Peaks sind breit und können durch verschiedene chemische Gruppen hervorgerufen werden. Eine Identifizierung ist nicht möglich.

4.6.12 Hochauflösende Massenspektrometrie der Oligomere

Durch die Trocknung der Proben des Miller-Experiments wurden die instabilen Oligomere konserviert und standen damit für weitere Analysen zur Verfügung. An dem Laboratoire de Spectrométrie de Masse et de Chimie Laser (LSMCL) der Université Paul Verlaine in Metz wurde die Lösung des Miller-Experiments an einem hochauflösenden Massenspektrometer (Varian, 910-MS Fourier Transform Mass Spectrometer (LC/ESI-FTMS)) gemessen.

Es wurden zwei Proben aus Miller-Experimenten (durchgeführt von Sabrina Scherer, Mitarbeiterin Lehrstuhl Prof. Albrecht Ott, Universität des Saarlandes, [107]) untersucht. Die Messungen wurden mit einer ESI-Quelle und einer LDI-Quelle mit und ohne Matrixunterstützung gemacht (Abschnitt 3.3.1). Außerdem wurden Kollisionsexperimente an den Oligomeren im ESI-Modus durchgeführt. Die Spektren wurden zur Identifikation der Summenformeln der Moleküle des Gemisches der Probe 1 von Prof. Dr. Frédéric Aubriet, LSMCL, kalibriert. Eine der Proben (Probe 1) wurde zusätzlich an einem hochauflösenden Orbitrap Massenspektrometer (LTQ Orbitrap, Thermo Scientific) in der Arbeitsgruppe Pharmazeutische Biotechnologie von Prof. Dr. Rolf Müller, Universität des Saarlandes, durch Eva Luxenburger und Dr. Daniel Krug gemessen.

Die Spektren der einzelnen Geräte unterschieden sich deutlich in den Intensitäten der Peaks der Oligomere und teilweise tauchten Oligomere nicht in allen Spektren auf (Abb. 4.79). Oligomerreihen, die in den Spektren des Q-Tof sichtbar waren, wurden nicht immer

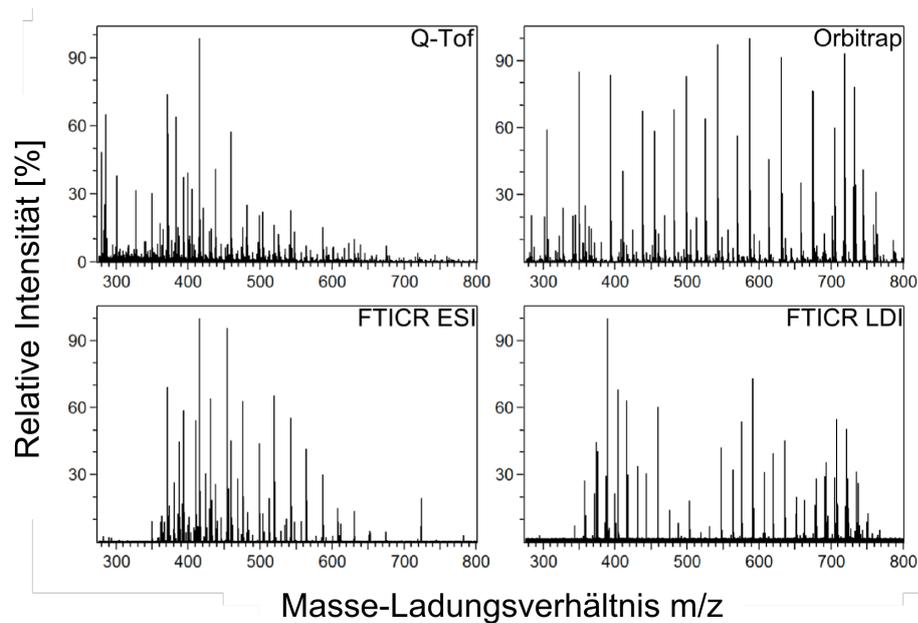


Abbildung 4.79: Massenspektren der Probe 1, die an verschiedenen Massenspektrometern bzw. mit verschiedenen Ionisierungen gemessen wurden. Die Spektren unterscheiden sich deutlich in den Intensitäten der einzelnen Peaks. Einige Peaks sind nicht in allen Spektren sichtbar. Oft lässt sich dies auf ein anderes Addukt der Ionisierung zurückführen.

in den hochauflösenden Massenspektrometern detektiert, können jedoch durch andere Ionisierungen begründet werden, wobei es aufgrund der Messtoleranz des Q-ToF möglich ist, dass dort zusätzliche Reihen sichtbar waren. In den hochauflösenden Spektren wurden mehrere eng benachbarte Peaks identifiziert, die in den Messungen mit dem Q-ToF nur einen Peak lieferten (Anhang, Abb. A.25).

In Probe 1 wurden 14 Reihen an Oligomeren identifiziert (Tab. 4.12). In Probe 2 waren es sieben (Tab. 4.13). Es gibt eine Reihe (Reihe 3), die in beiden Proben auftauchte. Alle 20 Reihen sind Oligomere von C_2H_4O . Es handelte sich wahrscheinlich um Ketten des Polyethylenglycols (PEG, $-(C_2H_4O)_n-$). Die Proben wurden ein zweites Mal in einem sauren Lösungsmittel gemessen, um die Ionisierung von Stickstoffverbindungen zu fördern. Es wurden jedoch keine neuen Oligomere gefunden.

In der Tabelle 4.12 sind die 14 Oligomere der Probe 1 aufgelistet, die in den Messungen an den hochauflösenden Massenspektrometern und am Q-ToF gefunden wurden. Es sind die Summenformeln der kleinsten Oligomere in der Reihe und die Anzahl der weiteren gefundenen Oligomere jeder Reihe aufgeführt. Die Summenformeln wurden teilweise in mögliche Halbstrukturformeln umgewandelt. Die ersten sechs Reihen lassen sich als Alkanketten schreiben, die durch Polyethylenglycol verlängert sind. Die weiteren Reihen enthielten deutlich mehr Sauerstoff in ihrer Grundstruktur. Stickstoff war nur gering mit maximal zwei Atomen pro Molekül vertreten. Hier sind viele Strukturformeln möglich, die sich durch Kombinationen von Ethern (-O-), Estern (-COO-), Carboxylen (-COOH), Ketonen (-CO-) oder Alkoholen (-CHOH-) bzw. Aminen (-NH- oder $-NH_2$), Cyaniden (-CN) usw. darstellen lassen. Auch Peptidbindungen (-CONH-) sind möglich. Beispielhaft

H+	Reihe	M	+ (C ₂ H ₄ O) _n n _{max}	mgl. Halbstrukturformel	FTICR		Q-ToF	Orbi-trap
					ESI	LDI		
371,23	Reihe 1	C ₁₆ H ₃₄ O ₉	6	H-(C ₂ H ₄ O) _{m=8..14} -OH	X	X		
335,28	Reihe 2	C ₁₈ H ₃₈ O ₅	5	H-(CH ₂) ₁₀ -(C ₂ H ₄ O) _{m=4..9} -OH	X	X	X	X
349,29	Reihe 3	C ₁₉ H ₄₀ O ₅	8	H-(CH ₂) ₁₁ -(C ₂ H ₄ O) _{m=4..12} -OH	X	X	X	X
319,28	Reihe 4	C ₁₈ H ₃₈ O ₄	7	H-(CH ₂) ₁₂ -(C ₂ H ₄ O) _{m=3..10} -OH	X	X	X	X
377,33	Reihe 5	C ₂₁ H ₄₄ O ₅	1	H-(CH ₂) ₁₃ -(C ₂ H ₄ O) _{m=4..5} -OH	X		X	
391,31	Reihe 6	C ₂₁ H ₄₂ O ₆	1	(CH ₂) ₉ -(C ₂ H ₄ O) _{m=6..7}	X		X?	
349,15	Reihe 7	C ₁₀ H ₂₄ N ₂ O ₁₁	6	H-(CHOHO) ₅ -CH ₂ O-(CH ₂ NH) ₂ -(C ₂ H ₄ O) _{m=4..5} -H		X		
321,09	Reihe 8	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₉	7			X	X	
365,27	Reihe 9	C ₂₂ H ₃₆ O ₄	7			X	X	X
227,12	Reihe 10	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₇	3			X	X?	
217,23	Reihe 11	C ₁₂ H ₂₈ N ₂ O ₁₁	4				X	X?
317,20	Reihe 12	C ₁₆ H ₂₈ O ₆	8			X	X	X
221,14	Reihe 13	C ₁₀ H ₂₀ O ₅	7				X	X
Na+		C ₁₁ H ₂₀ NO ₂						
395,33	Reihe 14	C ₂₃ H ₄₂ N ₂ O ₃	9				X	X

Tabelle 4.12: In Probe 1 wurden 14 Oligomerreihen gefunden. Die Masse der jeweils kleinsten Oligomere in der Reihe ist angegeben. Aufgrund der hochaufgelösten Messungen wurden eindeutige Summenformeln gefunden (für Reihe 13 gibt es zwei Möglichkeiten). In Spalte vier ist notiert, wie viele weitere Oligomere in der Reihe gefunden wurden. Die letzten Spalten geben an, in welchen Messungen die Reihen beobachtet wurden. Nicht alle Reihen tauchten in allen Messungen auf. Vermutlich lassen sich jedoch alle Reihen, die im Q-ToF gemessen wurden, auch in den hochaufgelösten Spektren sehen. Die Zuordnung ist allerdings aufgrund der begrenzten Auflösung des Q-ToF nicht immer sicher (x?).

ist nur für Reihe 7 eine mögliche Struktur angegeben. Die letzten Spalten markieren, in welchen Messungen die Oligomere gefunden wurden.

In Tabelle 4.13 sind die sieben Oligomere der Probe 2 aufgeführt, die in der Messung am FTICR (ESI) und am Q-Tof gefunden wurden. Es tauchte auch die Reihe 3 aus der Probe 1 auf. Die Summenformel des kleinsten Oligomers und die Anzahl der weiteren gefundenen Oligomere der Reihe stehen in Spalte drei und vier. Die Summenformeln ließen sich nicht eindeutig in Strukturformeln umwandeln. Die große Anzahl an Sauerstoffatomen und wenige Stickstoffatome lassen viele Strukturen zu. Die letzten Spalten markieren, in welchen Messungen die Oligomere gefunden wurden.

H+		M	+ (C ₂ H ₄ O) _n n _{max}	FTICR	Q-Tof
349,29	Reihe 3	C ₁₆ H ₃₄ O ₉	7	x	x
318,28	Reihe 15	C ₁₆ H ₃₆ N ₃ O ₃	5	x	x
394,33	Reihe 16	C ₁₆ H ₃₄ O ₉	6	x	
Na +		C ₁₆ H ₃₉ N ₁₀			
408,37	Reihe 17	C ₂₃ H ₄₅ N ₅ O	4	x	x
Na+		C ₂₃ H ₄₉ N ₂ O ₂			
412,35	Reihe 18	vier Möglichkeiten	6	x	x
350,28	Reihe 19	sechs Möglichkeiten	5	x	x
205,18	Reihe 20		4	x	x?

Tabelle 4.13: In Probe 2 wurden sieben Oligomerreihen gefunden. Die Masse der jeweils kleinsten Oligomere ist angegeben. Für zwei Reihen wurden eindeutige Summenformeln gefunden. Vier Reihen lassen mehrere Möglichkeiten zu. Reihe 20 konnte nicht identifiziert werden. Eine der Reihen entspricht der Reihe 3 aus Probe 1. In Spalte vier ist notiert, wie viele weitere Oligomere in der Reihe gefunden wurden. Die letzten Spalten geben an, in welchen Messungen die Reihen beobachtet wurden. Es fällt auf, dass nicht alle Reihen in allen Messungen auftauchten. Vermutlich ließen sich jedoch alle Reihen, die im Q-Tof gemessen wurden, auch in hochaufgelösten Spektren sehen. Die Zuordnung ist allerdings aufgrund der Auflösung des Q-Tof nicht immer sicher (x?).

Oligomere der Reihe 3 wurden im FTICR für Kollisionsexperimente isoliert. Es wurden die Oligomere gewählt, bei denen eine Ionisierung mit NH₄⁺ vermutet wurde. Die Fragmentierung unter Abspaltung des Ammoniumions bestätigte diese Annahme. Tabelle 4.14 stellt die gefundenen Massen und Summenformeln der Fragmente dar. Es traten als Fragmente Ketten der Monomere mit und ohne Wasser ((C₂H₄O)_n-H₂O bzw. (C₂H₄O)_n) sowie die dazu komplementären Fragmente auf.

In Kapitel 5 werden die Ergebnisse diskutiert.

Experimentelle Ergebnisse

Basismasse [Da]	Fragmentmasse [Da]	Summenformel	mgl. Halbstrukturformel
410,3476	239,15	$C_{10}H_{22}O_6H^+$	$(C_2H_4O)_5(H_2O)H^+$
	379,31	$C_{20}H_{42}O_6H^+$	$M - (CH_2) + H^+$
	393,32	$C_{21}H_{44}O_6H^+$	$M + H^+$
	410,35	$C_{21}H_{44}O_6NH_4^+$	$M + NH_4^+$
454,3740	57,07	$C_4H_8H^+$	$(CH_2)_4H^+$
	71,09	$C_5H_{10}H^+$	$(CH_2)_5H^+$
	89,06	$C_4H_8O_2H^+$	$(C_2H_4O)_2H^+$
	177,11	$C_8H_{16}O_4H^+$	$(C_2H_4O)_4H^+$
	243,23	$C_{15}H_{30}O_2H^+$	$M - (C_2H_4O)_4 - H_2O + H^+$
	265,16	$C_{12}H_{24}O_6H^+$	$(C_2H_4O)_6H^+$
	283,18	$C_{12}H_{26}O_7H^+$	$(C_2H_4O)_6(H_2O)H^+$
	349,29	$C_{19}H_{40}O_5H^+$	$M - (C_2H_4O)_2 + H^+$
	363,31	$C_{20}H_{42}O_5H^+$	$M - (CH_2O) - (C_2H_4O) + H^+$
	437,35	$C_{23}H_{48}O_7H^+$	$M + H^+$
	454,37	$C_{23}H_{48}O_7NH_4^+$	$M + NH_4^+$
	498,4002	57,07	$C_4H_8H^+$
89,06		$C_4H_8O_2H^+$	$(C_2H_4O)_2H^+$
327,20		$C_{14}H_{30}O_8H^+$	$(C_2H_4O)_7(H_2O)H^+$
481,37		$C_{25}H_{52}O_8H^+$	$M + H^+$
498,40		$C_{25}H_{52}O_8NH_4^+$	$M + NH_4^+$
542,4262	57,07	$C_4H_8H^+$	$(CH_2)_4H^+$
	177,11	$C_8H_{16}O_4H^+$	$(C_2H_4O)_4H^+$
	221,14	$C_{10}H_{20}O_5H^+$	$(C_2H_4O)_5H^+$
	243,23	$C_{15}H_{30}O_2H^+$	$M - (C_2H_4O)_6 - H_2O + H^+$
	265,16	$C_{12}H_{24}O_6H^+$	$(C_2H_4O)_6H^+$
	283,18	$C_{12}H_{26}O_7H^+$	$(C_2H_4O)_6(H_2O)H^+$
	287,26	$C_{17}H_{34}O_3H^+$	$M - (C_2H_4O)_5 - H_2O + H^+$
	309,19	$C_{14}H_{28}O_7H^+$	$(C_2H_4O)_7H^+$
	353,22	$C_{16}H_{32}O_8H^+$	$(C_2H_4O)_8H^+$
	371,23	$C_{16}H_{34}O_9H^+$	$(C_2H_4O)_8(H_2O)H^+$
	437,35	$C_{23}H_{48}O_7H^+$	$M - (C_2H_4O)_2 + H^+$
	481,37	$C_{25}H_{52}O_8H^+$	$M - (C_2H_4O) + H^+$
	495,39	$C_{26}H_{54}O_8H^+$	$M - (CH_2O) + H^+$
	525,40	$C_{27}H_{56}O_9H^+$	$M + H^+$
	542,43	$C_{27}H_{56}O_9NH_4^+$	$M + NH_4^+$

Tabelle 4.14: Vier Kollisionsexperimente wurden an Probe 1 durchgeführt. Die Experimente wurden an vier Oligomeren einer Reihe, die mit einem Ammoniumion ionisiert waren, durchgeführt. Die detektierten Fragmente sind zusammen mit ihren Summenformeln aufgeführt. M bezeichnet das Basismolekül „+“ und „-“ geben Addukte bzw. Verluste durch Kollisionen an.

4.6.13 Stabilität der Oligomere

In Proben des Miller-Gemisches, die getrocknet gelagert wurden, ließen sich nach Auflösung in Wasser oder Acetonitril und Wasser auch noch nach Monaten (mindestens sechs) die Oligomere detektieren. Eine Veränderung der Proben war nicht zu beobachten.

Die Oligomere in flüssigen Proben verschwanden nach einigen Tagen. Es wurde untersucht, ob sich die Stabilität bei Lagerung in verschiedenen Lösungsmitteln verbessern ließ. Dazu wurde aus einer getrockneten Probe eine gesättigte Lösung erstellt, die im Verhältnis 1:1 mit den Lösungsmitteln Acetonitril, Methanol und Wasser gemischt wurde. Die Proben wurden direkt und nach vier Tagen gemessen. In der Zwischenzeit wurden sie bei Raumtemperatur gelagert.

Nach vier Tagen waren die Oligomere in den Spektren zwar noch zu erkennen, ihre Intensität hatte jedoch in allen Lösungsmitteln im Verhältnis zu den anderen Substanzen der Probe abgenommen (Abb. 4.80). Das zeigt, dass in dem Gemisch auch nach Beendigung des Experiment an Raumtemperatur und Luft Prozesse abliefen, die zu einem Abbau der Oligomere führten.

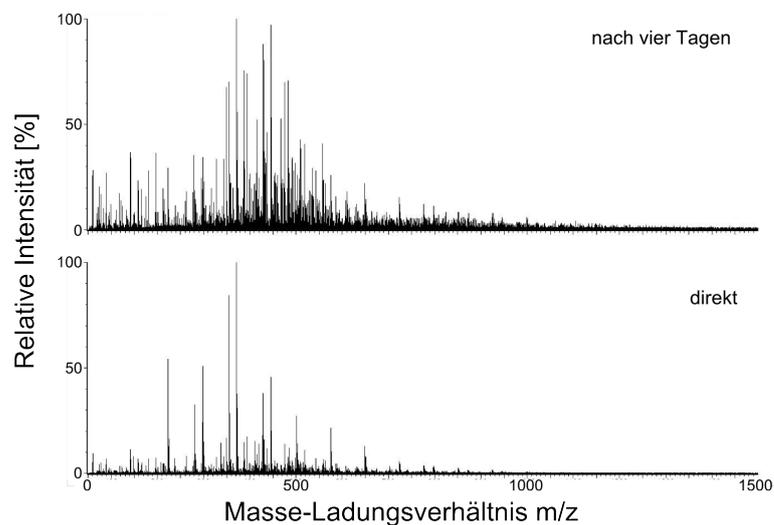


Abbildung 4.80: Spektren eines Miller-Gemisches direkt nach der Lösung in Acetonitril und Wasser (1:1) und nach vier Tagen Lagerung. Die Oligomere sind nach der Lagerung deutlich schwächer zu erkennen.

4.6.14 Langzeitmessung von PEG

In den Miller-Experimenten wurde eine breite Verteilung der Monomermassen gemessen. Diese Ergebnisse müssen mit der Entwicklung der Messgenauigkeit des Q-ToF bei längeren Messungen verglichen werden. Dazu wurde über 44 h eine Polyethylenglycol-Lösung (PEG 600, Alfa Aesar, 0,056 ng/ μ l in ACN/H₂O 1:1) gemessen. Vor Beginn des Experiments wurde das Gerät gemäß der üblichen Prozedur kalibriert. Nach den ersten Minuten (17 Messungen) ergab sich ein Mittelwert von $44,0256 \pm 0,0035$ Da, der von der exakten Masse der (44,02422 Da) nur 13,97 ppm abwich. Innerhalb der ersten zwei Stunden verschoben sich die gemessenen Monomermassen zu höheren Werten und zeigten eine große

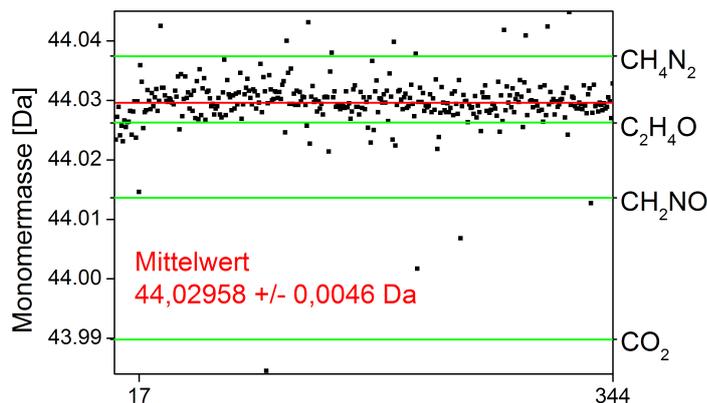


Abbildung 4.81: Darstellung der Monomermassen für 344 Messungen. Die ersten 17 Messungen, die wenige Minuten nach der Kalibrierung erfolgten, geben noch sehr gut die Monomermasse des PEG wieder. Innerhalb von zwei Stunden (ab Messung 17) verschob sich die Masse jedoch. Ein längerfristiger Trend war nicht auszumachen.

Streuung, die vor allem auf Schwankungen der Peaks geringer Intensität zurückzuführen waren (Abb. 4.81). Über die gesamte Messzeit hinweg ergab sich damit ein Mittelwert von $44,02958 \pm 0,0046$ Da, der bereits 76 ppm von der korrekten Masse abwich. Zwar zeigte das Experiment, dass sich innerhalb kurzer Zeit die Genauigkeit des Q-Tof reduzieren kann, sie reichte jedoch immer noch aus, um die Summenformel der Monomere mit C_2H_4O korrekt zu bestimmen. Das nächste mögliche Monomer weicht mit 179 ppm (CH_4N_2 , 44,03745 Da) deutlich weiter von dem hier bestimmten Mittelwert ab.

4.6.15 Massendefekt

In den Miller-Experimenten folgte der Massendefekt oft einer Systematik (Abb. 4.82). Dies deutet darauf hin, dass die Moleküle der Gemische in ihrer atomaren Zusammensetzung ähnlich beschaffen waren. Die Vergleiche zwischen verschiedenen Miller-Experimenten zeigten deutliche Unterschiede im Verlauf des Massendefekts. Möglicherweise lagen andere Reaktionsmechanismen zugrunde.

4.6.16 Auflösung des Q-Tof

Die Auflösung des Q-Tof Massenspektrometers beträgt 5000 FWHM bei einer Masse von m/z 556. Diese Auflösung wird üblicherweise in der Kalibrierung erreicht. In der komplexen Mischung des Miller-Experiments hatten die Substanzen häufig ähnliche Massen und verbreiterten die Peaks im Massenspektrum. Dies führte zu einer etwa halbierten Auflösung (Abb. 4.83). In einem Spektrum mit 44er-Oligomeren wurden Einbrüche der Auflösung mit einer Periodizität von m/z 44 beobachtet (Abb. 4.84). Die Periodizität in

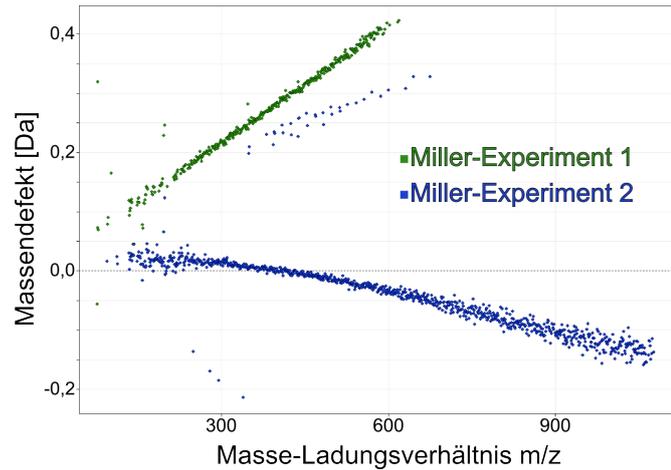


Abbildung 4.82: Massendefekt der Substanzen zweier Miller-Experimente in Abhängigkeit vom Masse-Ladungsverhältnis. Für beide Experimente unterlag der Massendefekt einer systematischen Veränderung. In den beiden Experimenten wichen diese Veränderungen deutlich voneinander ab und wiesen unterschiedliche Vorzeichen auf. Dies lässt sich nicht durch eine Verschiebung der Kalibrierung begründen.

der Auflösung deutet darauf hin, dass weitere Reihen vorlagen, deren Intensität zu gering war, um sich von dem Restsignal des Gemisches abzusetzen.

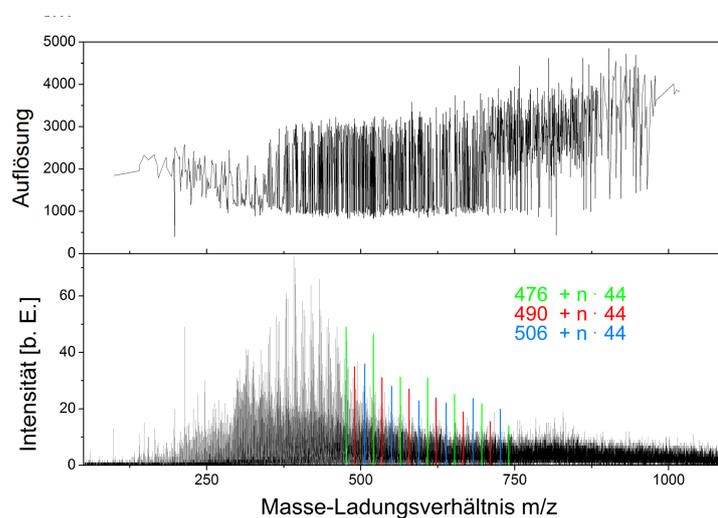


Abbildung 4.83: Massenspektrum und zugehörige Auflösung der Probe eines Miller-Experiments. Die Probe enthielt Substanzen, die oft eine ähnliche Masse hatten. Die Massenpeaks waren daher verbreitert und erlaubten nur die Messung bei einer Auflösung in einem Bereich von 1000 FWHM um einen Mittelwert von etwa 2200 FWHM. Damit war sie nur etwa halb so groß wie die Auflösung, die das Gerät liefern kann (5000 FWHM).

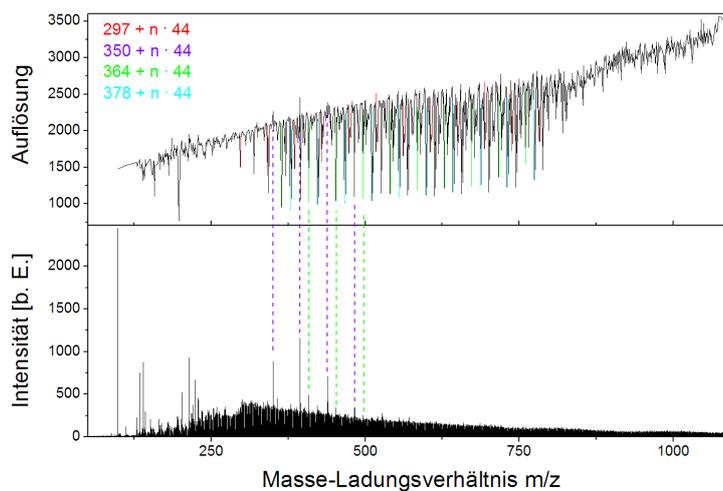


Abbildung 4.84: Massenspektrum und zugehörige Auflösung der Probe eines Miller-Experiments. Neben einer breiten homogenen Verteilung verschiedener Substanzen waren in dem Spektrum zwei Reihen der 44er-Oligomere sichtbar. Die Auflösung ist deutlich geringer als die nominale Auflösung des Geräts (5000 FWHM). Die Einbrüche in der Auflösung haben eine Periodizität von m/z 44. Davon sind auch teilweise die sichtbaren Peaks betroffen (grüne Reihe). Die Beobachtung deutet darauf hin, dass mehr Reihen an Oligomeren in der Probe vorlagen, als unmittelbar sichtbar waren. Sie lagen jedoch in einer geringen Konzentration vor.

Für Oligomere, die einen größeren Massendefekt hatten als die anderen Substanzen des Gemisches, reichte die Auflösung des Q-Tof, um Oligomere zu identifizieren, auch wenn sie in ihrer Intensität unter dem Signal der anderen Substanzen des Gemisches lagen (Abb. 4.85). Die Oligomere verschwanden damit nicht vollständig, sondern lagen in geringerer Konzentration vor.

Der Vergleich der Auflösung eines Massenspektrums des Cyanidgemisches mit dem aus einem Miller-Experiment zeigte, dass die Auflösung im Miller-Experiment etwa 30 % geringer war (Abb. 4.86). In beiden Experimenten wurde die nominale Auflösung des Massenspektrometers nicht erreicht.

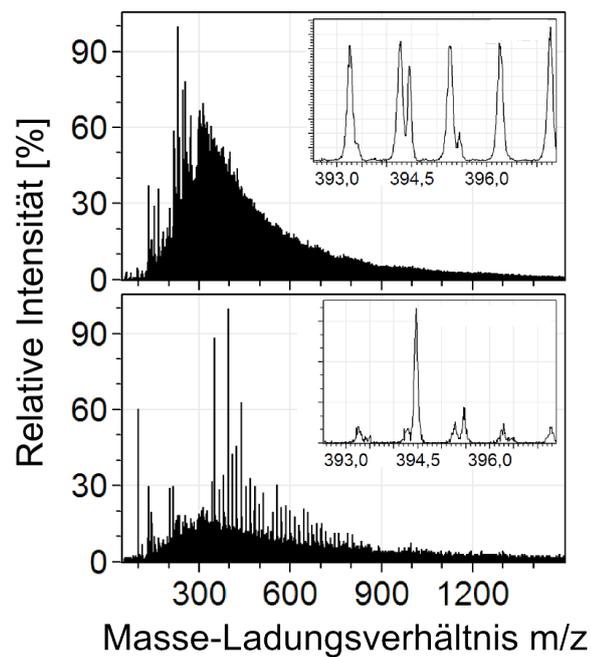


Abbildung 4.85: Massenspektrum zweier Proben eines Miller-Experiments in denen die Intensitäten der Oligomere über und unter der Intensität der anderen Substanzen des Gemisches lagen. Die Vergrößerungen zeigt den Peak eines Oligomers. Die Oligomere lagen in geringer Konzentration auch in dem Gemisch vor, in dem ihr Signal nicht das Spektrum dominierte.

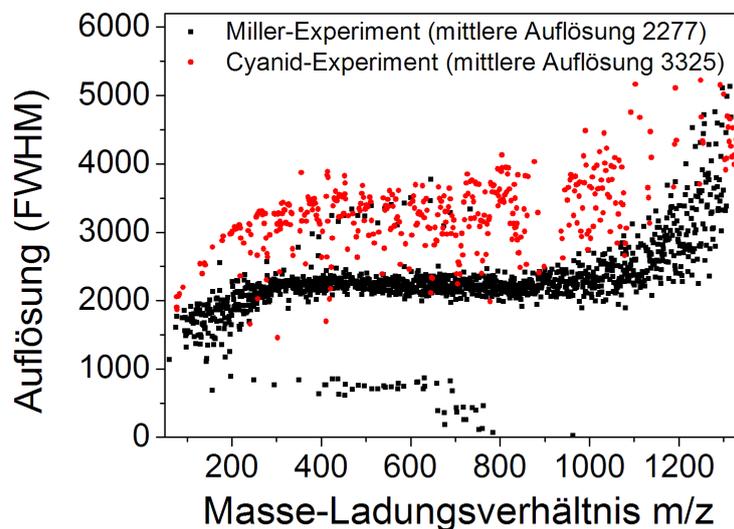


Abbildung 4.86: Vergleich der Auflösung der Massenpeaks einer Probe des Miller-Experiments mit der eines Cyanidgemisches. Die Auflösung für das Miller-Gemisch lag deutlich unterhalb der des Cyanidgemisches. Für beide Messungen wurde die nominale Auflösung des Q-ToF (5000 FWHM) nur selten erreicht.

4.6.17 NMR-Spektroskopie

Für die NMR-Spektroskopie (Abschnitt 3.3.2) sind aufgereinigte und konzentrierte Proben (einige 100 μM) notwendig. Von einer getrockneten Probe wurde eine gesättigte Lösung erstellt. Von ihr wurden 600 μl mittels SEC aufgereinigt (Flussgeschwindigkeit 165 $\mu\text{l}/\text{min}$) (Abschnitt 3.4). Die Proben wurden mit dem Fraktionensammler aufgefangen. Fraktionen mit Oligomeren einer Reihe wurden für die NMR in eine Probe zusammengefasst und erneut getrocknet. Es wurden zwei Proben hergestellt (Abb. 4.87), die in der Gruppe von Dr. Teresa Carlomagno am European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg, von Dr. Luca Codutti gemessen und ausgewertet wurden (gelöst in deuteriertem PBS-Puffer, 290 K, Bruker Avance II (600 und 800 MHz)). Bei den Proben handelte es sich um zwei Fraktionen der Probe 1, die auch in der hochauflösenden Massenspektrometrie gemessen wurden (Abschnitt 4.6.12).

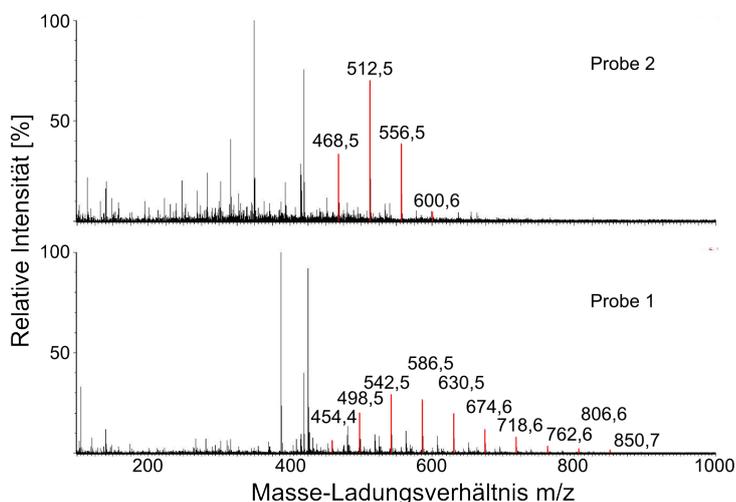


Abbildung 4.87: Massenspektren der Proben 1 und 2, die mit NMR-Spektroskopie untersucht wurden. Jedes Spektrum ist dominiert von einer Reihe von Oligomeren.

Die eindimensionalen ^1H -Spektren zeigten für beide Proben ähnliche chemische Verschiebungen, wobei in Probe 2 mehr Signale detektiert wurden (Probe 1: 3,20 ppm, 3,07 ppm, 2,75 ppm, 2,59 ppm, 2,57 ppm, 2,55 ppm, Probe 2: 3,58 ppm, 3,20 ppm, 3,07 ppm, 2,75 ppm, 2,60 ppm, 2,58 ppm, 2,57 ppm, 2,56 ppm, 2,45 ppm, 2,09 ppm, 1,11 ppm) (Anhang, Abbn. A.26, A.27).

Mit Hilfe eines HMQC-Experiments wurden Korrelationen zwischen ^1H und ^{13}C bestimmt und damit Spinsystemen zugeordnet (Anhang, Abbn. A.28, A.29). Der Peak bei 3,07 ppm in Probe 1 ist in zwei Peaks aufgespalten. Die Tabellen 4.15 und 4.16 stellen die Ergebnisse der Messungen für die Proben 1 und 2 zusammen. Die Spinsysteme 1 bis 7 wurden in beiden Proben detektiert. Sie unterschieden sich in den Verhältnissen des Signalvolumens und damit der Häufigkeit der Atomkerne. Die Spinsysteme 8 und 9 wurden nur in Probe 2 detektiert.

Die COSY-Messung stellte für beide Proben eine skalare Kopplung der Spinsysteme 2 und

3 fest (Anhang, Abbn. A.30, A.31).

ROESY-Experimente lieferten für beide Proben die gleichen Ergebnisse. Während das System 1, 8 und 9 keine dipolare Korrelation zeigten, wurden sie zwischen den Systemen 2 und 5/6 und 3 und 6/7 gefunden (Anhang, Abbn. A.32, A.33).

Ein TOCSY-Experiment an Probe 2 wies eine Verbindung der Systeme 2 und 3 nach (Anhang, Abb. A.34).

Wie ein HMBC-Experiment zeigte, gab es für beide Proben Kopplungen zwischen den Systemen 6/7 und dem System 3 sowie den Systemen 5 und 2 (Anhang, Abbn. A.35, A.36). Dieses Resultat lässt sich zusammen mit der Lage der chemischen Verschiebung als die Verknüpfung von Methyl (-CH₃) oder Methylengruppen (-CH₂-) mit Stickstoff deuten. In Probe 2 wurde außerdem die Kopplung des Systems 9 mit einem Kohlenstoffatom gefunden. Dazu passt eine Alkoholgruppe (-OH). Das HMBC-Experiment ist nicht sehr sensibel, weswegen möglicherweise weitere Kopplungen bestanden. Die Tabelle 4.17 fasst alle Kopplungen zusammen.

DOSY-Experimente wurden an bekannten Molekülen der Massen 200, 500 und 2000 Da durchgeführt (Anhang, Abb. A.37). Damit konnten die Moleküle der Proben in späteren Messungen grob einer Masse zugeordnet werden. Das System 9 kam in Molekülen eines sehr breiten Massenbereichs (etwa 200 bis über 2000 Da) vor und war mit geringer Intensität auch in Probe 1 sichtbar. Die Systeme 8 und 9 gehören zu anderen Molekülen, da ihre Diffusionskonstanten mit keinem anderen System übereinstimmten. Die konzentriertesten Spezies der Proben beinhalteten die Systeme 2 bis 7. Außerdem wurden im DOSY weitere Substanzen entdeckt, die chemische Verschiebungen bei 3,56, 2,75, 2,22 und 1,30 ppm aufwiesen und im oberen Bereich des Intervalls 200 bis 500 Da auftauchten.

Spinsystem	δ		Volumen	J
	¹ H	¹³ C		
1	3,58	59,38	0,26	s
2	3,20	44,23	1	t: 6,6
3	3,07	52,63	1,92	t: 6,6, s
		53,35		
5	2,59	32,91	1,38	s
6	2,56	43,22	2,92	s
7	2,57	43,22	2,78	s

Tabelle 4.15: Sieben Spinsysteme aus Probe 1 mit dem intensivsten Signal. Chemische Verschiebungen δ sind sowohl für die ¹H- als auch ¹³C-Spektren angegeben. Das Volumen des Signals ist proportional zur Häufigkeit der zugehörigen Kerne. Im Falle einer Aufspaltung in Triplets (t) ist die skalare Kopplungskonstante J angegeben. Singulets sind mit s notiert.

In beiden Proben gab es eine dominante molekulare Spezies, die durch die Spinsysteme 2 bis 7 repräsentiert wird. Weitere Spezies wurden zwar detektiert, aber sie waren für weiteren Analysen nicht konzentriert genug. Der kleine Bereich, in dem chemische Verschiebungen detektiert wurden, spricht für eine geringe Komplexität der molekularen

Spinsystem	δ	δ	Volumen	J
	^1H	^{13}C		
1	3,58		1,3	s
2	3,2	43,98	1	t: 6,7
3	3,07	53,4	1,3	t: 6,7, s
		52,69		
5	2,6	32,91	0,99	s
6	2,56	43,21	1,04	s
7	2,57	43,21	1,85	s
8	2,09		1,36	s
9	1,13	29,28	3,18	s

Tabelle 4.16: Neun Spinsysteme aus Probe 2 mit dem intensivsten Signal. Die Systeme 1 - 7 entsprechen denen aus Probe 1. Chemische Verschiebungen δ sind sowohl für die ^1H - als auch ^{13}C -Spektren angegeben. Das Volumen des Signals ist proportional zur Häufigkeit der zugehörigen Kerne. Im Falle einer Aufspaltung in Triplets (t) ist die skalare Kopplungskonstante J angegeben. Singulets sind mit s notiert.

Spinsystem	2	3s	3t	5	6	7
2		s	s	s, d	d	
3s					s, d	s, d
3t					d	d
5						
6						
7						

Tabelle 4.17: Übersicht der Kopplungen zwischen den Spinsystemen der Proben 1 und 2. Die Spinsysteme sind gemäß der Darstellung im Text nummeriert, wobei 3s und 3t für das Singulett bzw. Triplett des Systems 3 stehen. Falls Korrelationen beobachtet wurden, so sind diese mit s für skalare Kopplungen (über Bindungen) bzw. d für dipolare Kopplungen (räumlich) gekennzeichnet. Die Tabelle ist spiegelsymmetrisch bezüglich der Diagonalen, deswegen wurde nur die obere Hälfte der Tabelle ausgefüllt. Zwischen den Systemen 5 - 7 wurden keine Kopplungen festgestellt. Diese Systeme lagen aufgrund der ähnlichen chemischen Verschiebung eng beieinander und Korrelationen sind damit schwerer zu erkennen.

Strukturen und deutet auf Alkanreste mit eingebauten Heteroatomen hin. Die Messungen der Spinsysteme der Proben ähnelten sich stark. Kleine Unterschiede in den chemischen Verschiebungen und den Verhältnissen der Signalvolumina sind ein Hinweis unterschiedliche interne Strukturen der Moleküle, die jedoch aus den gleichen „Bausteinen“ bestehen. Es lag daher ein Oligomer vor.

Die Systeme 2 und 3t wurden den Wasserstoffatomen von 1,2-Diaminoethan ($\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$) zugeordnet. Das System 3s korrespondiert zu dem Wasserstoff des Diaminomethans ($\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$). Das System 5 entspricht einem methylierten primären Amin ($\text{R}-\text{NH}-\text{CH}_3$) und die Systeme 6 und 7 einem methylierten sekundären Amin ($\text{R}^1-\text{N}(\text{R}^2)-\text{CH}_3$).

Das System 9 der Probe 2 wurde einer 2-Methyl-2-Propanol-Gruppe zugeordnet. Es ist aber wahrscheinlich Teil eines größeren Moleküls, da es im DOSY ein Signal bei über 2000 Da lieferte.

Der Vergleich der Kopplungen von Spinsystemen mit ihrer Zuordnung zu chemischen Gruppen legte ein Oligomer der Art, wie es in Abbildung 4.88 dargestellt ist, nahe. Dabei kann die Anordnung der Bausteine aus den oben genannten Gründen variieren. Das Resultat spricht für ein Oligomer aus Diaminomethan-Bausteinen, die mit einer Masse von 44,03745 Da geeignete Kandidaten für die beobachteten Oligomere sind.

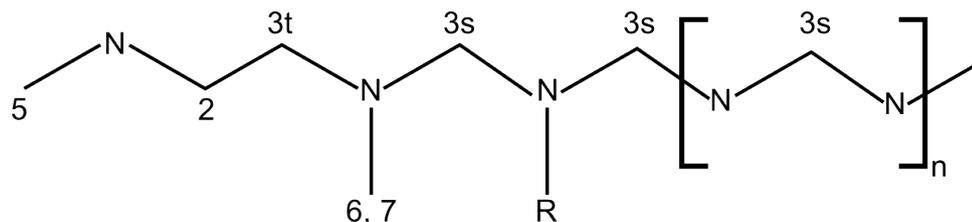


Abbildung 4.88: Ein Oligomer dieser Struktur erklärt die Ergebnisse der NMR-Experimente. Die Kohlenstoffatome sind mit den Nummern der zugehörigen Spinsysteme markiert.

4.6.18 Zusammenfassung

Im Miller-Experiment entstanden durch einen Funken Ionen und Radikale der Gase Methan, Ammoniak, Wasserstoff und des Wasserdampfs. Sie rekombinierten und bildeten neue Substanzen. Die Temperaturen lagen zwischen 20 °C (oberer Teil) und 100 °C (unterer Teil). In dem hier verwendete Aufbau (Abschnitt 3.1.1) wurden schneller und mehr Substanzen erzeugt als einem früheren Aufbau des Miller-Experiments [81]. Innerhalb einiger Stunden entstand ein Gemisch aus tausenden Substanzen, das überwiegend aus stark ungesättigten Verbindungen bestand, in die Sauerstoff und Stickstoff eingebaut waren. Es wurden Substanzen in einem Massenbereich von etwa 50 bis 600 Da detektiert. Ihre Verteilung hatte ihr Maximum im Bereich von 300 bis 400 Da. Experimente mit Blitzen auf die Wasseroberfläche oder mit einem Kapillaritron als Quelle der elektrischen Entladung (Abschnitt 3.1.1) lieferten mehr kleinere Substanzen (um 100 Da).

Im Miller-Experiment und in Experimenten mit dem Kapillaritron trat eine aperiodische Oszillation von Oligomeren auf. Weder auf die Massenverteilung noch auf die Oszillati-

on hatte der Zusatz von Palladium oder Phosphorsäure einen Einfluss. Änderungen der Gasmischung spielten keine Rolle.

Die Konzentration der Oligomere stieg meist schnell in einem sigmoidalen Verlauf bis das Oligomer wieder verschwand. Die Oligomere waren teilweise einige Minuten präsent bis sie auf Zeitskalen von Sekunden oder Minuten verschwanden. Möglicherweise hatte die Zugabe potentieller Monomere zu Beginn des Experiments einen unterstützenden Einfluss. Die Zugabe von Oligomeren ließ die Konzentration schneller anwachsen, so dass kreuz- oder autokatalytische Bildungsprozesse der Oligomere vorliegen.

Die sigmoidalen Verläufe der Konzentrationen von Substanzen im Experiment wurden durch die Verläufe der Konzentration einer Autokatalyse gefittet, da das schnelle Auftauchen und die Experimente zur Dotierung einen autokatalytischen Reaktionsmechanismus nahe legten. Bei der den Zeitkonstanten der Fits fällt auf, dass diese sich teilweise um Größenordnungen unterscheiden. Dies kann daran liegen, dass in der autokatalytischen Reaktion, die dem Fit zugrunde liegt, die Anfangskonzentration der Oligomere eine große Rolle spielt. Ein variierendes Anfangsniveau der Edukte hat starke Auswirkungen auf die errechneten Reaktionskonstanten. Sie wurden der Vollständigkeit halber angegeben, haben aber nur eine geringe Aussagekraft und werden im Folgenden nicht weiter diskutiert. Die Oligomere hatten Monomermassen von $27,015 \pm 0,006$ Da, $43,98 \pm 0,01$ Da, $54,04 \pm 0,02$ Da, $98,00 \pm 0,02$ Da. Sie tauchten während eines Experiments auf und verschwanden wieder aus den Spektren. In allen Experimenten, in denen Oszillationen beobachtet wurden, erschienen und verschwanden Oligomere mit Monomeren einer Masse von $44,035 \pm 0,031$ Da. Es handelte sich dabei um Oligomere aus Ethylenglycol, aber wahrscheinlich traten noch andere Monomere auf, die nur aus Kohlenstoff und Stickstoff zusammengesetzt waren und deren Massenunterschied nicht aufgelöst werden konnte.

Das Gemisch wurde in einem Redoxgradienten gelagert. Es wurden räumlich aufgelöst Proben entnommen. In einigen Proben wurden Oligomere gefunden. Sie zeigten, dass eine räumliche Strukturierung des Gemisches durch Antrieb mit einem Redoxpotential möglich ist.

Polyethylenglycol ist auch Bestandteil von Kunststoff und eine bekannte Kontamination in der Massenspektrometrie. Im Miller-Experiment wurden deswegen nur Bauteile aus Glas, Teflon und PEEK verwendet. Verschiedene Aufbauten und Systeme der Probenentnahme lieferten vergleichbare Ergebnisse. Alle anderen Experimente zu komplexen Gemischen zeigten trotz gleicher Bauteile und ähnlicher chemischer Bedingungen (z. B. pH-Wert) keinerlei Signale von PEG. Sogar Proben aus Experimenten, in denen der Einsatz von Kunststoff in Kauf genommen wurde (Experiment mit thermischem Zirkulieren des Miller-Gemisches, Abschnitt 4.6.10), zeigten keine PEG-Signale. Eine Lagerung der Proben des Miller-Experiments führte zu einem Verschwinden der PEG-Signale.

Im Miller-Experiment war die Beschaffenheit der Spitze der Elektroden für das Auftauchen der Oligomere entscheidend. Kontaminationen würden unabhängig von der Form der Elektroden auftauchen.

Es wurden zwanzig verschiedene Reihen von Oligomeren gefunden, die sicher PEG enthielten (Abschnitt 4.6.12). Übliche Kontaminationen beschränken sich auf wenige Reihen. In Experimenten mit schwerem Wasser wurde Deuterium in die Oligomere eingebaut. Austauschreaktionen von schwerem Wasser mit einer Kontamination erklären die beobachteten Spektren nicht (Abschnitt 4.6.5). Eine Kontamination durch PEG ist ausgeschlossen.

5 | Diskussion

In dieser Arbeit konnte in Miller-Experimenten die Emergenz einer raumzeitlichen Musterbildung gezeigt werden. Andere getriebene, komplexe Mischungen mit Substanzen, die auch im Miller-Experiment produziert wurden, lieferten keine Strukturbildung. Es stellt sich die Frage, wie sich die Gemische unterscheiden und was die entscheidenden Faktoren für eine Musterbildung sein können.

Dazu werden zunächst die einzelnen Experimente zur Erzeugung komplexer Mischungen diskutiert. Dabei werden vor allem die Ergebnisse der Miller-Experimente angesprochen und mögliche Reaktionswege und Prozesse zur Erzeugung der beobachteten Oszillationen vorgeschlagen. Die verschiedenen Experimente werden verglichen, um die Einflussfaktoren für die Musterbildung in chemischen Gemischen zu charakterisieren. Es folgt ein Ausblick mit Anregungen für zukünftige Experimente.

5.1 Elektrolyse

Mit der Elektrolyse sollten die Prozesse von Redoxreaktionen, dem Austausch von Elektronen zwischen Substanzen, nachgestellt werden. Die Mischungen wurden weniger komplex als in den anderen Experimenten. Die erwartete Verknüpfung von Carbonsäuren (Kolbe-Elektrolyse) wurde nicht beobachtet, doch es fand eine Polymerisation von Eisen-Alkan-Verbindungen statt.

Die Stromstärke in den Zuleitungen der Elektroden gibt die Menge der Elektronen an, die mit dem chemischen System getauscht werden. Die Messung der Stromstärke zeigte, dass Reaktionen an den Elektroden ablaufen müssen. Höhere Temperaturen und Spannungen führten zu größeren Stromstärken und damit zu mehr Reaktionen und höherer Komplexität.

Um den Umsatz der Citronensäure durch Elektrolyse zu quantifizieren sei angenommen, dass an den Elektroden Reaktionen abliefen, die ein Elektron benötigten. Eine Stromstärke von 1 mA würde einem Umsatz von 10^{-8} mol/s entsprechen¹. Die Konzentration der Citronensäure lag zu Beginn des Experiments bei 20 mM. Eine Konzentration von 0,1 mM wäre noch gut im Massenspektrometer sichtbar gewesen. Bei 55 °C verringerte sich die Konzentration der Citronensäure schon nach etwa einer halben Stunde um den Faktor sechs. Bei einer Messung im linearen Bereich des Detektors entspräche das etwa 3 mM. Da die Messung bereits im Sättigungsbereich lag, ist der tatsächliche Wert

¹ $1\text{mA} = 1\text{mC/s} = 6,2 \cdot 10^{15} e/s = 1,0 \cdot 10^{-8} \text{mol/s}$

wahrscheinlich höher. Das bedeutet, dass die direkten chemischen Prozesse zwischen zwei Substanzen schneller abliefen als die Reaktionen an den Elektroden. Diese Überlegung erklärt, warum keine Verknüpfungen von Carbonsäuren beobachtet wurden.

In den Experimenten wurde meistens ein Ansteigen des Stroms in den ersten Stunden festgestellt. Dies spricht dafür, dass das Gemisch reaktiver wurde. Möglicherweise bildeten sich in der Lösung neue Moleküle (z.B. Eisenverbindungen), die leichter als die Ausgangssubstanzen in einer Elektrolyse reagierten. Ein Anstieg der Kurve bekräftigt in diesem Fall die Überlegung, dass die chemischen Prozesse schneller abliefen als die elektrolytischen.

Eine Elektrolyse bei hoher Temperatur und Spannung zeigte einen fallenden Verlauf der Stromstärke. Eine Ursache kann die Bildung einer Schicht von Ablagerungen auf den Elektroden sein. Hier genügen schon wenige Lagen von Molekülen, um Reaktionen zu verhindern. Eine solche Schicht wäre mit bloßem Auge möglicherweise nicht zu erkennen. Ablagerungen erklären außerdem das Abflachen der ansteigenden Kurven. Dieser Effekt ist bei Elektrolysen bekannt [2]. Gase können ebenfalls die Elektroden besetzt und die Elektrolyse damit gehemmt haben.

5.2 Maillard- und Formose-Reaktion

Bei der Maillard-Reaktion bildeten Reaktionen zwischen Aminosäuren und Zuckern, die auch unter präbiotischen Bedingungen entstehen können (Abschnitt 2.4.3), ein komplexes Gemisch.

Die Maillard-Reaktion benötigte große Konzentrationen an Ausgangssubstanzen. Es entstand ein Gemisch, das weniger komplex war als Gemische aus anderen Experimenten. Einige Substanzen wurden gar nicht umgesetzt. Erhöhte Temperaturen führten auch in diesen Experimenten zu einem größeren Umsatz der Ausgangssubstanzen.

Die Formose-Reaktion wird als ein möglicher Weg zur Bildung von Zuckern auf der Urerde vorgeschlagen. In den Spektren der hier durchgeführten Experimente wurden Oligomere gefunden, die auf polymerisiertes Formaldehyd schließen ließen. Dies ist plausibel, da die Addition von Aldehyden eine wichtige Reaktion der Formose-Reaktion ist [61, 62]. Die nichtlinearen Prozesse der Formose-Reaktion ließen sich mit Hilfe der regelmäßigen Probenentnahme und der Massenspektrometrie nachvollziehen. Der sigmoidale Anstieg der Konzentration einer Substanz deutete dabei auf einen autokatalytischen Prozess hin, der in der Formose-Reaktion bekannt ist. Eine genaue chemische Analyse war innerhalb der Genauigkeit des Massenspektrometers und aufgrund der zahlreichen Isomere der Monosaccharide nicht möglich. In den Massenspektren wurden fast eintausend weitere Produkte gefunden. Diese Anzahl ist insofern beeindruckend, als dass die Substanzen nur aus den Elementen Wasserstoff, Sauerstoff und Kohlenstoff entstanden und das Gemisch lediglich drei einfache Ingredienzien hatte, wovon Calciumoxid nur katalytisch wirkte. Es ist zu erwarten, dass Experimente, die mindestens noch Stickstoff enthalten, noch mehr Substanzen produzieren können.

Die kontinuierliche Messung im Massenspektrometer ist kein standardmäßiges Vorgehen bei der Analyse komplexer Mischungen, da meist die Identifikation einzelner Substanzen im Vordergrund steht. Hier wurde gezeigt, dass sich die Entstehung komplexer Mischungen

in der Maillard- als auch der Formose-Reaktion mit dem Massenspektrometer verfolgen lässt und dass so die Entwicklung zahlreicher Substanzen einzeln dargestellt und verglichen werden kann.

5.3 Cyanid-Formaldehyd-Gemische

In Experimenten mit einem Cyanidgemisch bildete sich innerhalb von Sekunden eine tiefbraune Lösung. Die Prozesse ließen sich nur bedingt im Massenspektrometer nachvollziehen, da die Spektren von den Signalen der Natriumchlorid-Agglomerate überlagert waren. Die in der Literatur beschriebene Polymerisierung des Cyanwasserstoffs ließ sich nicht sicher nachweisen.

Es wurden komplexe Gemische aus einfachen Substanzen und thermischer Energie sowie chemischer Energie der Reaktionen von Formaldehyd und Cyaniden erzeugt. Dabei wurden Prozesse auf verschiedenen Zeitskalen beobachtet. Die Konzentrationen einiger Substanzen folgten genau der Konzentration des Formaldehyds. Sie entstanden bei einer bestimmten Konzentration und zersetzten sich oder reagierten weiter, wenn diese Konzentration über- oder unterschritten wurde. Dieses Verhalten entspricht dem Verhalten einer Gleichgewichtschemie, in der die Konzentration von Produkten gemäß des Masse-Wirkungsgesetzes von der Gleichgewichtskonstanten der Reaktion bestimmt wird. Es ist davon auszugehen, dass diese Substanzen aus einer direkten Reaktion des Formaldehyds entstanden. Eine Reihe anderer Substanzen entstand unabhängig von der Konzentration des Formaldehyds, aber erst, wenn dieses dem Gemisch hinzugeführt wurde. Die Spektren verschiedener Experimente zeigten trotz gleicher Formaldehydkonzentration Unterschiede. Die Entwicklung des Gemisches hing damit von seiner Vorgeschichte ab und das System war nicht im Gleichgewicht.

Die Konzentrationen einiger Substanzen wuchs zunächst bei Hinzugabe von Formaldehyd, bis ein Wert erreicht wurde, ab dem bei weiterer Zugabe des Formaldehyds ein Abbau der Substanzen erfolgte. Hier schien es eine Schwellenkonzentration des Formaldehyds zu geben, ab der andere chemische Prozesse einsetzten. Dies spricht für ein kooperatives Verhalten von Reaktionen verschiedener Geschwindigkeiten.

Bei der kontinuierlichen Hinzugabe des Formaldehyds und des Cyanidgemisches in Wasser entstanden am meisten Substanzen und es stellte sich eine breitere Massenverteilung ein als in den anderen Experimenten. Möglicherweise ist die ständige Zufuhr von reaktiven Substanzen die Quelle vielfältigerer Reaktionspfade.

Durch die periodische Zufuhr von Formaldehyd und Cyaniden sollten zyklische Reaktionen angetrieben werden, die sich möglicherweise zu selbstreproduzierenden Zyklen weiterentwickeln könnten. Dies wurde nicht beobachtet, doch führte ein ständiger Wechsel der Konzentrationen der Reagenzien zu einem zunehmend komplexer werdenden Gemisch. Dafür können ebenfalls verschiedene Zeitskalen der Reaktionen verantwortlich sein. Verlaufen die Reaktionen langsamer als die Veränderung der äußeren Bedingungen, so befindet sich das System nicht im Gleichgewicht. Eine wechselnde Zugabe von Formaldehyd und des Cyanidgemisches hatte bei einigen Substanzen ein stetiges Wachstum zur Folge. Hier kann eine Reaktion auf einer Zeitskala abgelaufen sein, die länger als die Dauer der Zufuhr der Reagenzien war. Es kann auch eine mehrstufige Reaktion zugrunde gelegen haben, welche

die beiden Reagenzien in den verschiedenen Reaktionsschritten benötigte.

Im Miller-Experiment sind Cyanwasserstoff und Formaldehyd die ersten Produkte des Funkens [38]. Möglicherweise liefen in diesen Experimenten Reaktionen ab, die auch im Miller-Experiment früh ablaufen. Cyanwasserstoff und Formaldehyd wurden im interstellaren Raum nachgewiesen [6, 36, 65, 116]. Es ist wahrscheinlich, dass sie auch auf der Urerde vorlagen.

Die Zeitreihen der Spektren der Cyanid-Formaldehyd-Gemische und der Formose-Reaktion wurden mit Methoden der Netzwerkanalyse untersucht. Die chemischen Netzwerke unterschieden sich deutlich von zufällig erzeugten Erdős-Rényi Netzwerken durch ihre Gradverteilung und von zufällig erzeugten skalenfreien Netzwerken durch die Verteilung ihrer Clusterkoeffizienten. Die beiden Verteilungen zeigten sowohl für die positiven als auch für die negativen Korrelations-Netzwerke das Vorliegen eines hierarchisch strukturierten Netzwerks [117].

Die Netzwerke aus positiven und aus negativen Korrelationen ähnelten sich jeweils in ihrem Exponenten der Gradverteilung und der mittleren Weglänge, die für alle Netzwerke zwischen 2 und 3 lag. Für den Exponenten der Verteilung des Clusterkoeffizienten konnte keine einheitliche Aussage getroffen werden. Auffallend ist, dass der mittlere Clusterkoeffizient bei den Netzwerken aus positiver Korrelation um eine Größenordnung über dem der Netzwerke aus negativer Korrelation lag. Letztere lagen dabei nur leicht über dem mittleren Clusterkoeffizient eines zufällig erzeugten Erdős-Rényi Netzwerks. Ein Vergleich mit realen Netzwerken zeigte einen ähnlichen Verlauf der Gradverteilung und des Clusterkoeffizienten. Der hohe durchschnittliche Clusterkoeffizient der Netzwerke positiver Korrelation lag in dem Bereich eines metabolischen Netzwerks von *E. coli* Bakterien [118]. Damit ist eine hohe Vernetzung in einem Metabolismus eventuell bereits in der Natur der organischen Chemie begründet und weniger in der evolutionären Geschichte des Stoffwechsels. Die Zusammenhänge der mittleren Weglänge und des (doppelten) Logarithmus der Knotenzahl N , wie sie für die Modellnetzwerke gelten (Abschnitt 2.3.2), wurden in den vorliegenden chemischen Netzwerken nicht bestätigt.

Ein Grund für eine stärkere Clusterbildung in positiv korrelierten Netzwerken kann darin liegen, dass alle Substanzen zusammen mit ihren Isotopen das gleiche Verhalten aufweisen. Bei dem Auflösungsvermögen des Q-Tof können Isotopenpeaks in einem komplexen Gemisch nicht von den Peaks anderer Substanzen getrennt werden. Damit ließe sich dieser Effekt hier nur unzureichend untersuchen bzw. herausrechnen. Chemisch betrachtet, bedeutet eine stärkere Vernetzung des Netzwerks aus positiver Korrelation, dass bestimmte Substanzklassen simultan gebildet oder zerstört wurden. Hier könnte beispielsweise ein „globaler“ Parameter wie der pH-Wert Einfluss nehmen.

5.4 Miller-Experiment

5.4.1 Chemische Zusammensetzung

Im Miller-Experiment produzierte die elektrische Entladung bindungsfreudige Radikale und Ionen. Da die Energien bei diesem Prozess viel höher als die Bindungsenergien

waren, erfolgten die Reaktionen unspezifisch und ließen eine Vielfalt von Substanzen entstehen [119]. Die Prozesse waren stochastisch, doch das Miller-Experiment lieferte immer eine ähnliche Massenverteilung. Sie ähnelte der natürlich vorkommenden Verteilung organischer Substanzen und ließ sich durch unspezifische Prozesse bei der Erzeugung neuer Substanzen erklären [81].

Veränderte Gasmischungen beeinflussten die Ergebnisse im Miller-Experiment nicht. Auch ein drastischer Wechsel der Proportionen der Apparatur und eine kontinuierliche Gaszufuhr im Experiment mit Kapillaritron zeigten kaum Unterschiede. Der Zusatz von Palladium als Katalysator oder organischen Chemikalien führte zu keinen Veränderungen in den Spektren.

Im Vergleich zu Experimenten mit Blitzen in der Gasphase wurden in Experimenten, bei denen auf die Oberfläche der Lösung geblitzt wurde, kleinere Substanzen gebildet. Höhere Konzentrationen des Wassers im Plasma könnten zu mehr bindungsfreudigen Verbindungen mit Sauerstoff und Wasserstoff führen. Der Einbau dieser Substanzen würde kleinere Moleküle bilden, wenn verhältnismäßig weniger Kohlenstoff vorhanden ist, der organische Moleküle vergrößert.

In den komplexen Gemischen lagen oft mehrere Substanzen so eng beieinander, dass die Auflösung des Q-Tof keine Unterscheidung der Substanzen zuließ. Dies beeinflusste in den vorgestellten Experimenten auch die Genauigkeit der Massenbestimmung. Der Wert von 10 ppm, den das Q-Tof erlaubt, wurde nicht erreicht. Es zeigten sich bei Messungen mit anderen Massenspektrometern Unterschiede in den Massenverteilungen und in der Sichtbarkeit der Substanzen. Dies ist auf verschiedene Ionenquellen, Einstellungen des Ionentransfers und verschiedene Messmethoden zurückzuführen. Der Ionentransfer ließ sich so einstellen, dass er für verschiedene Massenbereiche besonders effizient war. Damit wurde eine Auswahl der Substanzen getroffen, die detektiert wurden. Da die Mehrheit der Messungen mit dem Q-Tof durchgeführt wurden und hier die Einstellungen nicht verändert wurden, lassen sich diese Ergebnisse vergleichen. Aus Messungen von Kalibrationsstandards mit Substanzen eines breiten Massenbereichs ist bekannt, dass das Q-Tof eine Massenverteilung gut wiedergibt.

Die Ergebnisse des kontinuierlichen Abpumpens von Proben und der Probenentnahme mit dem Fraktionierer waren vergleichbar. Das Miller-Gemisch veränderte sich außerhalb des Experiments damit auf längeren Zeitskalen als die Messung der Proben. In einem Zeitraum weniger Stunden konnte kein Einfluss auf die Proben durch den Kontakt mit Luft nach Verlassen der experimentellen Bedingungen nachgewiesen werden.

Durch die Messungen der Proben des Miller-Experiments an einem hochauflösenden Massenspektrometer wurden die Summenformeln der Substanzen des Gemisches gefunden. Mit Indices und graphischen Darstellungen wurden die bis zu 1000 Substanzen einer Probe zusammenfassend abgebildet. Nach den ersten etwa 24 h ließen sich in dem Gemisch kaum noch Veränderungen nachweisen. Der im Vergleich zum original Miller-Experiment kompaktere Aufbau schien eine schnellere Entwicklung des Gemisches zu fördern. Die Anzahl der Substanzen lag bei mittleren Werten von 600 bis 800 und ihre Massen lagen zwischen 150 und 350 Da. Aufgrund hoher Werte des Doppelbindungsäquivalents und des Aromatenindex konnte gefolgert werden, dass in den Proben viele aromatische und ungesättigte Verbindungen vorlagen. Dies ist bereits in der zweiten Probe nach 10 h der Fall. Dabei erreichte der Anteil kondensierter Aromaten über 50 %.

In dem Miller-Gemisch stellten sich die Mengenverhältnisse der Elemente C:H:N:O als 4:4:2:1 ein. Dies muss mit den Anteilen der Elemente verglichen werden, die zu Beginn in das Experiment eingefüllt wurden. Für die Bildung neuer Substanzen spielten vor allem die Reaktionen der Gasphase eine große Rolle. Für ein Gemisch aus N idealen Gasen gilt $pV = \sum_{i=1}^N n_i RT$, wobei n_i die Stoffmengen der Gase angibt [120]. Die Stoffmengen der Gase, die in die Apparatur eingefüllt wurden, sind bekannt ($n_{\text{CH}_4} \approx 0,090 \text{ mol}$, $n_{\text{NH}_3} \approx 0,086 \text{ mol}$, $n_{\text{H}_2} \approx 0,045 \text{ mol}$). Die des Wassers in der Gasphase wird durch eine Abschätzung unter der Kenntnis des Drucks p , des Volumens V und der Temperatur T ermittelt.

Der Druck im Miller-Experiment lag bei 1,2 bar. Die Temperatur im Experiment war nicht einheitlich. Im unteren Glaskolben kochte Wasser bei etwa 100°C , die oberen Teile der Apparatur hatten Raumtemperatur. Als durchschnittliche Temperatur wird 30°C angenommen. Es ergibt sich eine Stoffmenge von 0,0173 mol für Wasser in der Gasphase und damit lassen sich die Mengenverhältnisse der Elemente C:H:N:O auf rund 5:42:5:1 abschätzen.

Dies sind keine exakten Werte. Effekte wie die Löslichkeit der Gase in Wasser, das Verhalten realer Gase und die Inhomogenität der Temperatur wurden vernachlässigt. Jedoch zeigt die Abschätzung, dass sich die Anteile der Elemente in den Substanzen des Gemisches stark von den Anteilen der Elemente im Experiment unterschieden. Vor allem der Wasserstoffanteil lag unter dem realen Anteil des Elements im Experiment.

Das Verhältnis von Kohlenstoffanteil und Stickstoffanteil in den detektierten Substanzen war doppelt so hoch wie das, welches sich durch die eingefüllten Gase und das Wasser ergab. Der Sauerstoffanteil lag jedoch höher als in der obigen Abschätzung. Der hohe Sauerstoffanteil lässt sich damit begründen, dass Reaktionen nicht nur in der Gasphase erfolgten, sondern auch in der wässrigen Lösung. Hier war der elementare Anteil des Sauerstoffs viel höher als in der Gasphase. Allerdings müssten Reaktionen mit Wasser unter Abgabe von Wasserstoffatomen verlaufen, um weiterhin einen kleinen Wasserstoffanteil zu gewährleisten.

Ein im Gegensatz zum Stickstoff hoher Kohlenstoffgehalt lässt sich mit stochastischen Überlegungen plausibilisieren. So geht Kohlenstoff bis zu vier Bindungen ein, während Stickstoff nur drei eingeht. Kohlenstoff kann damit, in mehr Konfigurationen auftauchen. Es spielen auch Eigenschaften wie die Elektronegativität oder Bindungsenergien eine Rolle. Die einfachste Stick-Wasserstoffverbindung, Diimin (N_2H_2) beispielsweise ist instabil, da die Bildung von molekularem Stick- und Wasserstoff (N_2 und H_2) energetisch vorteilhaft ist [121]. Andere Stickstoff-Stickstoffverbindungen wie z. B. Triazane (N_3H_5) werden durch die freien Elektronenpaare des Stickstoffs destabilisiert [122]. Diese Überlegungen machen verständlich, warum die Gasmischung über einen breiten Bereich variiert werden konnte, ohne dass Änderungen in der Zusammensetzung des Gemisches zu entdecken waren. Außerdem erklärt dies, dass trotz eines hohen Anteils an Wasserstoff viele ungesättigte und aromatische Kohlenwasserstoffe entstanden.

Die Darstellungen der Proben in Van-Krevelen- und Kendrick-Diagrammen zeigte Zusammenhänge zwischen den Verhältnissen von Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff mit Kohlenstoff auf. Es ließen sich Vermutungen zu chemischen Reaktionen anstellen und ho-

mologe Reihen wie Fettsäuren wurden schnell identifiziert. Damit lieferten die Diagramme Informationen, die sich auch schon aus den Spektren ableiten ließen, doch stellten sie sie anschaulich dar und ließen auch das ungeübte Auge schnell Gesetzmäßigkeiten erkennen, die in den Spektren nicht sofort ersichtlich waren.

Während über die Dauer des Experiments im H/C-N/C-Diagramm keine Verschiebungen in der Lage der Moleküle zu erkennen waren, ließ sich im H/C-O/C-Diagramm eine Zunahme des O/C-Verhältnisses ausmachen. Dabei konzentrierte sich für höhere Sauerstoffanteile der Wasserstoffanteil auf Werte von H/C 1. Dies kann beispielsweise durch die Bildung von Carboxylgruppen (-COOH) erklärt werden, die den Wasserstoffgehalt eines Moleküls zugunsten des Sauerstoffgehalts sinken lassen. Diese Erklärung ist plausibel, da organische Säuren zu den prominentesten Produkten des Miller-Experiments zählen. Auch würde dies das Absinken des pH-Werts erklären, das in anderen Experimenten gemessen wurde.

Die Sauerstoffanteile veränderten sich im Gegensatz zu den Stickstoffanteilen während des Experiments. Dies kann dadurch erklärt werden, dass das Wasser als Sauerstofflieferant etwas später als das Ammoniak in die Gasphase eintrat. Es ist außerdem möglich, dass der Sauerstoff auf dem Weg chemischer Reaktionen in die Moleküle eingebaut wurde und weniger durch Prozesse in dem Funken. Dies wäre sicherlich ein langsamerer Prozess gewesen, der in der flüssigen Phase, in der ein Überschuss an Wasser vorhanden war, abgelaufen wäre.

In einigen der Spektren waren Kontaminationen zu entdecken, die während der Messzeit auch bei anderen Proben auftauchten. Die stark schwankende Anzahl an detektierten Substanzen lässt vermuten, dass die Kontaminationen bis zu 400 Substanzen ausgemacht haben können. Die Schwankungen des AI, des DBE sowie der Anteile der Elemente fielen hingegen gering aus, so dass diese Daten Aussagen über das Miller-Gemisch zuließen. In den Van-Krevelen-Diagrammen ließen sich die Kontaminationen keinen Stoffklassen zuordnen. Bei den, in den Kendrick-Diagrammen gefundenen, Fettsäuren könnte es sich um solche Kontaminationen handeln. Der Ursprung der Kontamination wurde während der Zeit des Aufenthalts am LSMCL, Metz, nicht geklärt.

Die Ergebnisse der IR-Spektroskopie sprachen ebenfalls für ungesättigte Kohlenwasserstoffe mit sauerstoffhaltigen Restgruppen (z. B. Alkohole) und Stickstoff (z. B. Amine, Amide) und bestätigten damit die Ergebnisse der hochauflösenden Massenspektrometrie. Die Auflösung der IR-Spektroskopie reichte nicht aus, um das Gemisch des Miller-Experiments exakt zu analysieren. Es lagen zu viele verschiedene chemische Gruppen vor. Sie waren wahrscheinlich auch in unterschiedlichen chemischen Konfigurationen aufgebaut, so dass die Signale der Spektroskopie verbreitert wurden.

Die NMR-Spektren ergaben, dass die konzentriertesten Substanzen im Miller-Experiment verzweigte Ketten aus Kohlenstoffen mit eingebauten Stickstoffatomen sind. Sauerstoffverbindungen wurden nur in Spuren nachgewiesen. Aromatische Verbindungen wurden nicht detektiert. Im DOSY-Experiment waren Moleküle bis über 2 kDa sichtbar. In den zugehörigen Massenspektren wurden nur Massen bis etwa 850 Da detektiert. Dieses Ergebnis zeigte, dass im Massenspektrometer einige Moleküle nicht detektiert werden konnten. Möglicherweise ließen sich diese Moleküle schlecht ionisieren oder wurden von gut ioni-

sierbaren Substanzen unterdrückt.

Sauerstoffverbindungen scheinen sich besser im positiven Modus ionisieren zu lassen und waren daher häufig in der Analyse mit Massenspektrometrie vertreten. Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen waren konzentrierter jedoch nur geringer Intensität sichtbar. Der fehlende Nachweis von Sauerstoff-Verbindungen in der NMR-Spektroskopie ist darauf zurückzuführen, dass die NMR-Spektroskopie im Gegensatz zu Massenspektrometrie hohe Konzentrationen benötigt. Die Proben der NMR-Spektroskopie waren aufgereinigt und aufkonzentriert. Möglicherweise sind dabei sauerstoffhaltige Substanzen verloren gegangen oder ihre Konzentration reichte nicht aus, um in mit der NMR-Spektroskopie detektiert zu werden.

5.4.2 Energiezufuhr

Die Bildungsenthalpien organischer Substanzen folgt einer symmetrischen Verteilung. Die meisten Bildungsenthalpien liegen in der Größenordnung von ± 100 kJ/mol (Abb. 5.1). Typische Aktivierungsenergien liegen im Bereich von 30 bis 300 kJ/mol [4]. Diese Energien müssen mit den Energien, die im Miller-Experiment zur Verfügung stehen, verglichen werden.

Die Funkenentladung wurde von einem Hochspannungsbauteil erzeugt, das mit einem Netzgerät versorgt wurde, welches eine Leistung von 20 W lieferte. Nur ein Teil der Energie des Funkens wurde in elektrische Energie umgewandelt. Der Rest dissipierte in Wärme, Licht und Prozessen an der Elektrode. Die Leistung, welche die chemischen Prozesse trieb, lag in der Größenordnung von 1 W. Sie wurde nur in eine eng begrenzte Zone des Experiments abgegeben. Bei einem Volumen V des Blitz von einem Zylinder des Durchmessers 0,1 mm und einer Länge von 5 mm ($V \approx 4 \cdot 10^{-11} \text{ m}^3$) wurden, unter Annahme eines idealen Gases ($V = 22,4141/\text{mol}$), etwa $2 \cdot 10^{-6}$ mol Gas von dem Blitz getroffen. Die Leistung pro Mol lag in der Größenordnung von 10^5 W/mol.

Der Leistungseintrag durch Heizen lässt sich durch die Leistung der Heizplatte abschätzen. Abzüglich von Verlusten und nicht durchgehender Heizung (Regelung) liegt sie im Bereich von einigen Watt. Hier verteilte sich die Energie jedoch auf die flüssige Phase (etwa 200 ml). Wenn davon ausgegangen wird, dass es sich dabei im Wesentlichen um Wasser handelte (18 g/mol), so lag die Leistung pro Mol in einer Größenordnung von 10^{-1} W/mol.

Während des Experiments verringerte sich der pH-Wert von etwa 11,5 auf 7,5. Die Konzentration der H^+ -Ionen erhöhte sich damit um $10^{-7,5}$ mol/l, was etwa $6 \cdot 10^{-9}$ mol entspricht. Die Energie durch den pH-Wert lässt sich nicht berechnen, da dafür die genauen Reaktionen und deren Energien bekannt sein müssten. Hier werden zwei Abschätzungen gemacht. Bei einer Bindungsenergie von 100 kJ/mol lag die Energie des H^+ -Potentials in der Größenordnung von 10^{-7} kJ. Ein ähnlicher Wert ergibt aus einer biochemischen Abschätzung. In *E. coli* werden 4 Protonen für die Produktion eines ATP unter Ausnutzung eines pH-Gradienten benötigt. ATP liefert bei Dephosphorylierung rund 40 kJ/mol [123]. Nach dieser Abschätzung wäre die Energie des H^+ -Potentials in der Größenordnung von 10^{-8} kJ. Die Änderung des pH-Werts erfolgte in den ersten 20 h des Experiments. Damit lag der Leistungseintrag im Bereich 10^{-9} bis 10^{-10} W/mol.

Die Abschätzungen machen deutlich, dass das Gemisch im Miller-Experiment mit Energien verschiedener Größenordnungen versorgt wurde. Dies geschah auf unterschiedlichen Zeitskalen und führte zu Leistungseinträgen in einem breiten Bereich von etwa 15 Größenordnungen. Weitere Mechanismen des Energietransfers sind, exotherme Reaktionen von Molekülen, die im Funken des Experiments entstanden. Sie konnten die Aktivierungsenergie für andere Reaktionen liefern. Die Energieeinträge können auf verschiedenen Kanälen im System relaxiert worden sein. Radikale, die im Funken entstehen, sind reaktive Moleküle. Sie haben typischerweise sehr kurze Halbwertszeiten (Nanosekunden) [124], können aber auch monatelang bestehen bleiben [125]. Sie können durch chemische Reaktionen auf verschiedenen Zeitskalen abgebaut worden sein.

Aus der Trocknung der Proben konnten Pulver einer Masse der Größenordnung 0,1 g gewonnen werden. Bei einer mittleren Molmasse von etwa 350 g/mol, die in den Massenspektren beobachtet wurde, entspricht das rund 0,3 mol und einer Konzentration des organischen Materials von etwa 1 mM. Die Stoffmenge der eingefüllten Gase ist um einen Faktor 100 höher. Die Moleküle des Pulvers sind dabei etwa 10mal größer als die eingefüllten Moleküle. Wird der Großteil der Substanzen innerhalb des ersten Tages gebildet, lässt sich die Bildungsrate auf 3 nmol/s abschätzen.

Bei einer Anregung des Gemischs von einigen Watt und Bildungsenthalpien in der Größenordnung von 100 kJ/mol, wären Bildungsraten im Bereich von 10 μ mol/s erwartet worden. In der obigen Rechnung wurde davon ausgegangen, dass der Blitz eine Stoffmenge von 2 μ mol trifft. Da dies im Takt von Millisekunden geschieht, wären auch nach dieser Überlegung Bildungsraten im Bereich von mmol/s zu erwarten. Auch bei der Elektrolyse wurde der Stoffumsatz mit 10 nmol/s eine Größenordnung höher abgeschätzt.

Die Abschätzung deutet daraufhin, dass ein Großteil der entstandenen Substanzen als Gas vorlag oder flüchtig war und während der Trocknung verdampfte.

5.4.3 Chemische Oszillationen der Oligomere

Struktur der Oligomere

In den Miller-Experimenten wurde die Oszillation verschiedener Oligomere beobachtet. Einige Oligomere (Monomermassen 27,02 Da, 43,98 Da, 54,04 Da, 98,00 Da) wurden nur in einzelnen Experimenten beobachtet.

Bei dem Monomer der Masse von rund 27 Da handelte es sich um Cyanwasserstoff.

Das Monomer von rund 54 Da war möglicherweise ein Dimer des Cyanwasserstoffs. Im Bereich der Messtoleranz lagen noch andere Monomere, sie sind jedoch teilweise chemisch unwahrscheinlich oder nicht möglich (C_3H_4N , H_6O_3 , H_8NO_2). C_4H_6 ist ein weiteres mögliches Monomer.

Für das Monomer der Masse von rund 98 Da kommt nur die Summenformel $C_4H_2O_3$ in Frage. Es lässt sich nicht durch die Verbindung eines 44er und eines 54er Monomers darstellen.

Bei dem Peakabstand von 43,98 Da sind innerhalb der Messtoleranz zwei Monomere, N_2O und CO_2 , möglich. Nur für CO_2 existieren Oligomere eines Motivs $-(C=O)-O-$ [127].

Am häufigsten und reproduzierbar traten Oligomere mit einem Abstand von $44,035 \pm$

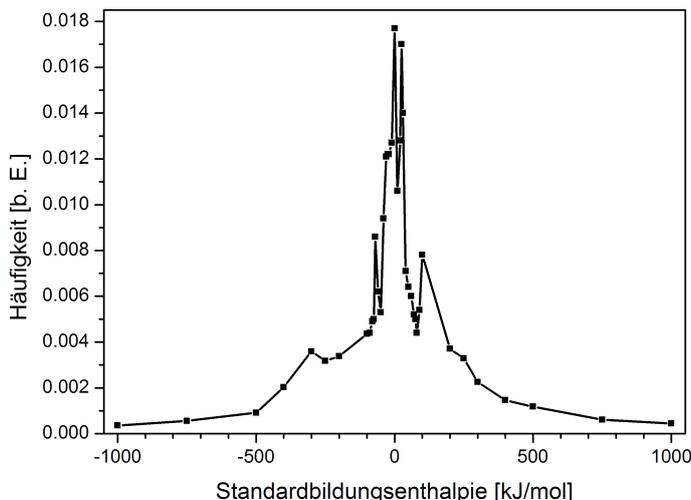
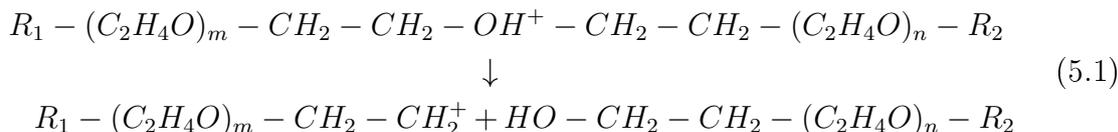


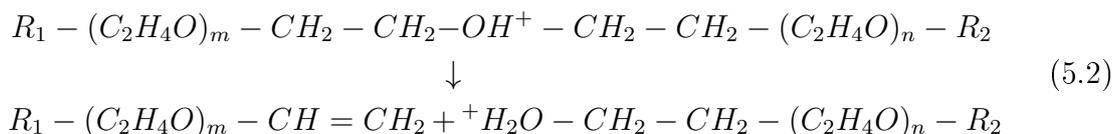
Abbildung 5.1: Verteilung der Bildungsenthalpien organischer Moleküle, die in der Datenbank Beilstein [126] aufgeführt sind.

0,031 Da auf. Die Standardabweichung lag etwa eine Größenordnung über der Genauigkeit des Geräts und war nicht allein durch einen Drift der Messgenauigkeit bei einem Dauerexperiment zu begründen. Die breite Verteilung der Monomermassen deutete darauf hin, dass mehrere Monomere mit einer ganzzahligen Masse von 44 Da in den Experimenten auftraten und ein Heterooligomer bildeten. Aus den Mischverteilungen wurde gefolgert, dass die Oligomere aus drei oder vier Monomeren aufgebaut waren, wobei die Monomere C_2H_4O und CH_4N_2 die häufigsten Monomere darstellten.

Mit der hochauflösenden Massenspektrometrie wurden ausschließlich Monomere mit der Summenformel C_2H_4O bestimmt. Bei der Probe, die in vier verschiedenen massenspektrometrischen Anordnungen gemessen wurde, fiel auf, dass einige Peakreihen nicht in allen Massenspektren gefunden wurden. Dieser Effekt war teilweise dadurch begründet, dass die Oligomerreihen in unterschiedlichen Ionisierungen vorlagen. Beispielsweise sind in der LDI Ionisierungen durch NH_4^+ selten. In den hochauflösenden Messungen ließen sich aber auch in jeder Ionisierung und bei beiden Geräten Reihen finden, die in den Spektren aus Messungen mit anderen Anordnungen nicht nachgewiesen wurden. Einigen Oligomerreihen, die im Q-Tof sichtbar waren, konnten nicht sicher Oligomerreihen in den hochaufgelösten Spektren zugeordnet werden. Möglicherweise lagen hier weitere Oligomere vor.

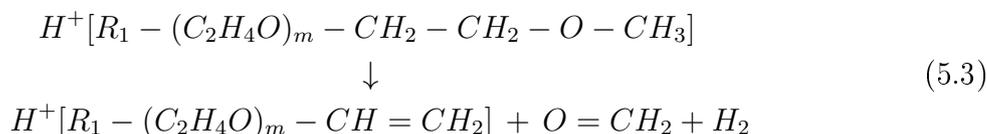
Die Kollisionsexperimente zeigten, dass die Oligomere teilweise aus Polyethylenglycolen (PEG, $-(CH-CH-O)_n-$) bestanden. Bei den detektierten Bruchstücken handelte es sich um typische PEG-Fragmentierungen [128, 129, 130] gemäß der Mechanismen (5.1) bzw. (5.2).



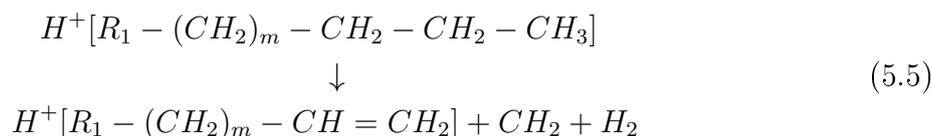
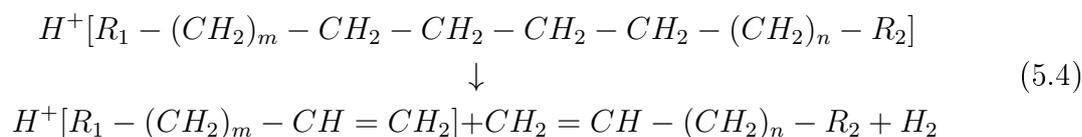


Die Spektren zeigten außerdem Bruchstücke des Monomers (M - (CH₂) + H⁺, M - [(CH₂O)-(C₂H₄O)] + H⁺, M - (CH₂O) + H⁺, M ist das fragmentierte Molekül). Sie wurden so in der Literatur nicht beschrieben, lassen sich aber durch bekannte PEG-Fragmentierung erklären, wenn angenommen wird, dass eine Seitenkette des Oligomers als Monomethylether endete -(C₂H₄O)-CH₃ (Gleichung (5.3)).

Die Ladung musste hier nicht direkt am Sauerstoff sitzen. Die Ladung des Moleküls bewirkte Umlagerungen der Bindungen, die ein Aufbrechen des Moleküls zur Folge hatten (*charge-remote fragmentation*) [131].



Kurze Alkanketten (-(CH₂)_n-) wurden auch in den Spektren der Kollisionsexperimente gefunden. Sie lassen sich ebenfalls durch eine *charge-remote fragmentation* erklären (Mechanismen (5.4) und (5.5)).



Die Ergebnisse der Fragmentierung des Oligomers lassen sich damit alle auf Fragmentierungsmuster von PEG als Monomethylether und mit einer Kette von Alkanen zurückführen. In dem alternativen Isomer von C₂H₄O, Polyvinylalkohol (-(CH₂-CHOH)_n-, PVA), wären aufgrund von Abspaltungen der Alkohole (CHOH) Massendifferenzen von m/z 30 zu erwarten [132].

Es ist wahrscheinlich, dass das untersuchte Oligomer in der Konfiguration H-(CH₂)₁₀-(C₂H₄O)_m-CH₃ vorlag. Möglicherweise bildeten die verschiedenen Oligomere unterschiedliche Anordnungen der Gruppen aus, so dass z. B. der Monomethylether nicht in allen Molekülen vorhanden war oder Verzweigungen auftraten.

Die Fragmentierungen bestätigten außerdem die Annahme, dass es sich bei den äquidistanten Peaks in den Massenspektren um Oligomere handelte. Ansonsten wären sie auch durch die Anlagerungen gleicher chemischer Gruppen an ein Molekül zu erklären gewesen.

Die NMR-Untersuchungen der gleichen Proben zeigten, dass hauptsächlich Kohlenstoff-Stickstoff-Oligomere vorlagen. Die NMR-Spektren sprechen für das Monomer Diaminomethan (CH_6N_2) als Baustein der Oligomere. Ein, neben Ethylenglycol, zweites Monomer erklärt die breite Massenverteilung der Monomermassen, die mit dem Q-Tof ermittelt wurden.

Das Oligomer, welches auf Grundlage der Ergebnisse der NMR-Spektroskopie postuliert wurde, kann in dieser Form nicht in der Datenbank Reaxys [127] gefunden werden. Auch ein lineares Oligomer der Form $-(\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH})_n-$ wurde nicht gefunden. Es existieren jedoch Moleküle, die dieselben Motive beinhalten oder Ringstrukturen aufweisen. Beispiele sind in Abbildung 5.2 gezeigt.

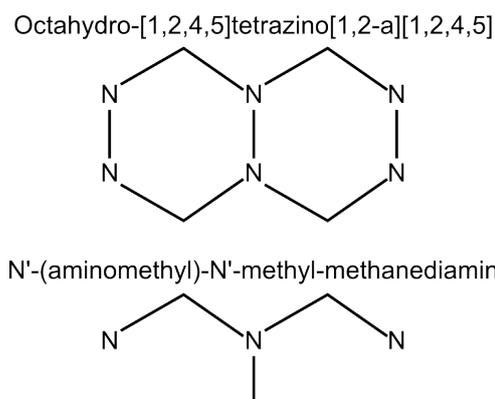


Abbildung 5.2: Strukturen von existierenden Substanzen, die dieselben Motive haben, wie die Oligomere des Miller-Experiments [127].

Die Messungen am Q-Tof, an den hochauflösenden Massenspektren und die NMR-Spektroskopie sprechen dafür, dass Oligomere aus verschiedenen 44er-Monomeren vorlagen. Sicher ist, dass einige dieser Oligomere Polyethylenglycole waren. Darüber hinaus lagen wahrscheinlich Oligomere aus Stickstoff- und Kohlenstoffketten vor, die keinen Sauerstoff enthielten. Nach den Messungen am Q-Tof sind auch Heterooligomere, die sowohl Sauerstoff als auch Stickstoff enthielten, wahrscheinlich.

Polyethylenglycole lassen sich sehr gut ionisieren und sind bereits in geringen Mengen deutlich in den Massenspektren sichtbar. Die konzentriertesten Substanzen, die Kohlenstoff-Stickstoff-Ketten, waren in den hochaufgelösten Spektren jedoch nicht zu detektieren. Die identifizierten Oligomere hatten nur einen geringen Anteil an Stickstoffatomen. Ob es sich dabei um die Heterooligomere handelte, kann nicht sicher gesagt werden.

Aufgrund von Konkurrenzeffekten bei der Ionisierung war das Signal der Kohlenstoff-Stickstoff-Oligomere vermutlich von Polyethylenglycolen unterdrückt. Bei den Messungen am FTICR fiel insbesondere auf, dass die Spektren im Vergleich zu denen, die am Q-Tof gemessen wurden, insgesamt weniger Substanzen aufwiesen. Dies lässt sich durch eine andere Ionenquelle und den Ionentransfer im Gerät begründen. Der Effekt der Konkurrenz bei der Ionisierung war bei diesen Messungen anscheinend stärker. Dadurch wird plausibel, dass einige Substanzen und möglicherweise auch weitere Oligomere nicht in den hochauflösenden Messungen zu sehen waren.

Reaktionswege zum Auf- und Abbau der Oligomere

Die Oszillation von Oligomeren in den hier vorgestellten Miller-Experimenten war reproduzierbar und es ließen sich über zwanzig Reihen identifizieren, die teilweise ähnlich aufgebaut waren und aus Alkanketten und Ketten aus Polyethylenglycol bestanden. Darüber hinaus wurden in verschiedenen Experimenten die gleichen Reihen an Oligomeren gefunden. Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass der Mechanismus zur Bildung der Oligomere robust ist und trotz der stochastischen Prozesse zur Bildung neuer Moleküle reproduzierbar gleiche oder ähnliche Oligomere liefert.

Der Funke im Miller-Experiment wird als Lieferant reaktiver Substanzen erachtet. Bei den, für diese Arbeit durchgeführten, Miller-Experimenten war er ein entscheidendes Kriterium für das Auftauchen der Oszillationen. In Experimenten mit stumpfen Elektroden wurden keine Oszillationen beobachtet. Es wurde mehrfach festgestellt, dass sie nach dem Anspitzen der Elektroden wieder auftauchten.

Dabei erfolgte sowohl das Anspitzen der Elektroden als auch die Justage der Länge des Funkens nach Augenmaß. Diese Parameter schienen keinen Einfluss auf die Bildung der Oligomere zu haben. Auch das Kapillaritron mit seinen anderen Dimensionen und Proportionen der Elektroden lieferte oszillierende Oligomere. Es gibt gleichwohl einen breiten Bereich in der Konfiguration des Funkens, in dem das Phänomen der Oszillation auftrat. Wenn Oszillationen detektiert wurden, war weder ein eindeutiger Einfluss des Grades der Anspitzung noch des Abstandes der Elektroden festzustellen. Bei den Oszillationen scheint es sich um Schwellenprozesse zu handeln. Möglicherweise konkurriert eine Reaktion, welche die Oligomere abbaut, mit einer autokatalytischen, aufbauenden Reaktion. Für eine Autokatalyse ist dann eine kritische Ausgangskonzentration an Autokatalyten notwendig, damit sich die Reaktion durchsetzen kann.

Ein Teil der elektrischen Energie eines Funkens kann in der Verdampfung des Elektrodenmaterials verloren gehen [133]. Hier spielt die Fläche des Funkens auf der Oberfläche eine Rolle. Es ist möglich, dass in den vorgestellten Miller-Experimenten durch eine stumpfere Elektrodenoberfläche, die Energie zur Ionisierung der Gase geringer ausfiel und dadurch weniger reaktive Substanzen erzeugt wurden, die später für die Polymerisierung verantwortlich waren.

Das Unterbrechen der Entladung führt zu einem „Abschrecken“ (engl. *quenching*) der Reaktionen von einigen Tausend Grad Kelvin auf Raumtemperatur. Damit kommen Reaktionen zum Erliegen. Für die Plasmasynthese bestimmter Verbindungen ist das ein wichtiger Prozess [134]. Verschieden geformte Elektroden können einen Funkenüberschlag unterschiedlich abreißen lassen. Damit ändert sich das Temperaturprofil in der Plasmaregion und dies kann die Ausbeute der Substanzen beeinflussen.

In der Literatur wurden für Miller-ähnliche Experimente verschiedene Energiequellen diskutiert. Es wurde dabei zwischen stiller Entladung und Funkenentladung differenziert [39]. Die Charakteristik des Funkens wurde jedoch als ein unkritischer Parameter betrachtet und nicht näher definiert [39, 135, 136]. Dies war dadurch gerechtfertigt, dass der Einfluss auf die Bildung spezieller Substanzen wie z. B. Aminosäuren gering zu sein scheint.

In einigen Spektren, in denen sich der Massendefekt der Oligomere von dem der rest-

lichen Moleküle des Gemisches stärker unterschied, wurden Oligomere geringer Intensität anhand der vergrößerten Auflösung der Massenpeaks gefunden. Es scheinen über einen längeren Zeitraum „Keime“ der Oligomere im Gemisch gewesen zu sein, die sich plötzlich vermehrten und in ihrer Konzentration exponentiell anwuchsen. Dabei muss es einen Mechanismus geben, der zu einem gemeinsamen Auftauchen verschiedener Oligomere führte. Die Entstehung der 44er-Oligomere schien mit der Entstehung von Oligomeren anderer Massen verknüpft zu sein. Sie wurden nur in Experimenten beobachtet, in denen auch die 44er-Oligomere auftauchten. Jedoch erschienen sie nicht zusammen mit diesen sondern zu unterschiedlichen Zeitpunkten.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass Dotierung mit geringen Mengen eines Miller-Gemisches mit Oligomeren das Wachstum der Oligomere verstärkte. Die wachsenden Oligomere waren nicht Teil der zugeführten Substanz. Wie auch das parallele Auftauchen von Oligomeren deutet dies auf eine Kreuzkatalyse der Oligomere hin.

Der umgekehrte Mechanismus trat nicht auf, die Oligomere der Impf-Lösung wurden nicht durch die Oligomere des Gemisches verstärkt. Hier kann ein Wettbewerb der Oligomere während ihrer Synthese eine Rolle gespielt haben. Möglicherweise müssen Oligomere in kritischen Konzentrationen vorhanden sein, damit sie sich durchsetzen können oder Oligomere, die bereits in höherer Konzentration vorliegen, können sich in ihrer Entstehung gegenüber weniger konzentrierten Oligomeren durchsetzen.

In Impf-Experimenten an Gemischen, die keine 44er-Oligomere von selbst hervorbrachten, konnten auch keine induziert werden. Das lässt sich dadurch erklären, dass in dem Gemisch nicht genügend Keime vorlagen, die verstärkt wurden. Es ist auch möglich, dass weitere Substanzen, die in den Massenspektren nicht hervortraten, nötig sind, um die Entstehung der Oligomere zu ermöglichen. Die Funkenentladung kann als Lieferant für Monomere, Keime für eine Polymerisation oder Produzent der Kofaktoren interpretiert werden.

Möglicherweise führten elektrostatische Interaktionen von PEG und den Kohlenstoff-Stickstoff-Oligomeren zu einer matrixgestützten Polymerisation, die den Mechanismus einer Kreuzkatalyse darstellen würde. Beispielsweise liegt eine negative Teilladung auf dem Sauerstoff des Motivs $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$. Die Kohlenstoffatome sind leicht positiv polarisiert. Hier könnten die freien Elektronenpaare des Stickstoffs des Monomers $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-$ angezogen werden und polymerisieren (oder umgekehrt). Damit würde auch eine Stabilisierung der stickstoffreichen Kette erreicht.

Für diesen Prozess sind ähnliche Monomergrößen erforderlich. Dies erklärt, warum sich Oligomere ähnlicher Längen (27, 44 und evtl. 54 Da) gegenseitig verstärken. Die Bildung von Oligomeren mit Monomeren der doppelten Länge würden auch verstärkt. Dies macht die Bildung der Oligomere mit Monomeren der Massen von rund 98 Da und evtl. 54 Da in Experimenten, in denen auch die 44er-Oligomere auftauchten, verständlich. Eine schlechtere molekulare Erkennung erklärt das seltenere Auftauchen dieser Oligomere. Aus der Polymerisation von Phenolen ist bekannt, dass diese durch PEG katalysiert wird und dass PEG hier als Matrix dient [137].

Einige Reihen von Oligomeren wurden als Polyethylenglycole identifiziert, die an Alkanketten gebunden waren. Die Kette der Monomere war dabei nicht unterbrochen. Es fand möglicherweise zuerst eine Oligomerisation statt und dann banden die Oligomere an be-

reits bestehende Moleküle. Der letzte Schritt könnte eine Abbruchreaktion der Polymerisation darstellen. Es ist ebenso der Mechanismus denkbar, dass sich an den Restketten Keime für die Oligomerisation bilden.

In den Experimenten wurden immer nur einige Oligomerreihen gefunden. Wäre das Anlagern eines Polymers an ein Restmolekül ein zufälliger chemischer Prozess, wären sehr viel mehr Ketten zu erwarten, die unter Umständen gering konzentriert und nicht als Reihen in den Massenspektren sichtbar würden. Diese Überlegung spricht dafür, dass die Restgruppen auch an der selbstverstärkenden Entstehung der Oligomere beteiligt sind. Es ist auffällig, dass die Reste häufig aus Alkanketten aufgebaut sind. Diese Verbindungen sind nach anderen Analysen ungewöhnlich für das Gemisch. Dies könnte dazu führen, dass sich die (hydrophoben) Alkanketten zusammenlagerten und damit für eine räumliche Nähe sorgten, die eine matrixgestützte Katalyse fördern würde. Eine matrixgestützte Kreuz- oder Autokatalyse wäre damit möglicherweise ein frühes Produkt der chemischen Evolution.

Ethylenglycol ist das Produkt einer Seitenreaktion der Formose-Reaktion und entsteht dort aus Glycolaldehyd (Gleichung (5.7)) [138]. Glycolaldehyd ist das erste Zwischenprodukt aus einer Kondensation von zwei Formaldehydmolekülen ($\text{H}_2\text{C}=\text{O}$) und ist autokatalytisch (Gleichung (5.6)). Formaldehyd wird im Funken des Miller-Experiments hergestellt [38]. Damit kann Ethylenglycol das Nebenprodukt einer autokatalytischen Reaktion darstellen.



Für die Reduktion von Glycolaldehyd zu Ethylenglycol (Gleichung (5.7)) wird in der Literatur eine Katalyse vorgeschlagen [138]. Möglicherweise wird die Reaktion im Miller-Experiment durch andere Moleküle des Gemisches katalysiert oder läuft unter den reduzierenden Bedingungen des Experiments selbstständig ab. Ethylenglycol würde produziert, bis die Formaldehyd Moleküle aufgebraucht sind. Damit lässt sich der sigmoidale Anstieg der Oligomere erklären. Dafür müsste die Polymerisation der Monomere auf der gleichen Zeitskala wie die Bereitstellung der Monomere verlaufen. Die hohen Anteile an ungesättigten Kohlenwasserstoffen im Miller-Gemisch sprechen dafür, dass es Kondensationsmechanismen gibt, die auch für die Polymerisation verantwortlich gemacht werden können.

Das aperiodische Auftreten der Oligomere lässt sich dadurch erklären, dass Glycolaldehyd nur in geringen Mengen vorhanden war und die kritische Konzentration zum Starten des autokatalytischen Prozesses nur selten überschritten wurde.

In den Restgruppen der Oligomere tauchte kaum Stickstoff auf und der hohe Wasserstoffanteil spricht für eine fast vollständige Sättigung. Verglichen mit den Ergebnissen anderer Analysen sind diese Substanzen ungewöhnlich für das Miller-Gemisch. Unter Umständen reagierten sie gut mit den Monomeren, weil sie sich in einer energetisch ungünstigen Konfiguration befanden und dadurch eine hohe Reaktivität hatten. Da die Bedingungen des Miller-Experiments ungesättigte Verbindungen (wenig Wasserstoff) fördern, ist auch zu erklären, warum die Oligomere zerfielen. Eine sukzessive Oxidation der Substan-

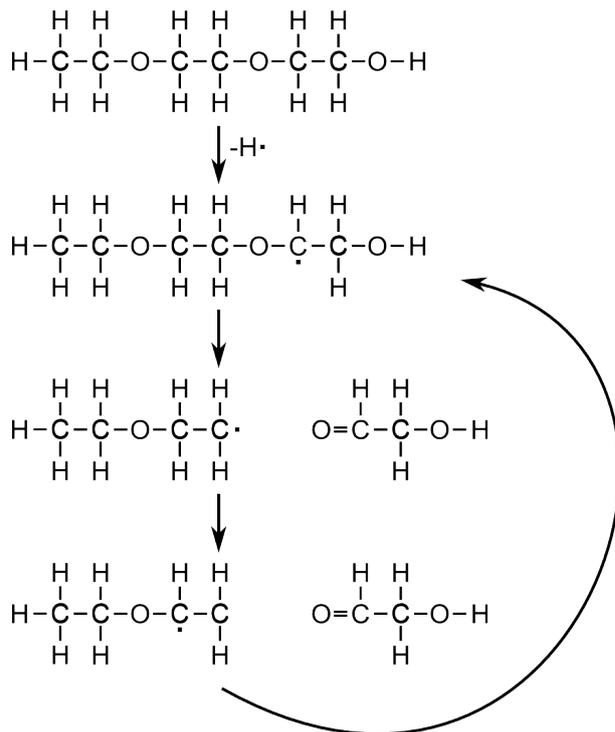


Abbildung 5.3: Vorschlag für den Zerfall des PEG in einer Kettenreaktion, der durch die Abgabe eines Wasserstoffatoms ausgelöst wird. Die Bedingungen des Miller-Experiments, die ungesättigte Kohlenwasserstoffe bevorzugen, können zu einem Zerfall von PEG führen.

zen unter Abgabe von Wasserstoff würde zunächst den Aufbau und dann den Abbau der Oligomere erklären. Ein autokatalytischer Schritt in der Kette erklärt die starken Nicht-linearitäten.

Das Schema in Abbildung 5.3 zeigt einen Reaktionsmechanismus, der vorschlägt, dass die Abgabe eines Wasserstoffatoms zu dem Zerfall der ganzen Kette führen kann. Abspaltungen von Wasserstoffatomen würden zu einem Aufbrechen der Bindungen des Oligomers führen. Dies sollte mit einer schnellen Verringerung des pH-Werts einhergehen, die nicht beobachtet wurde. Vergleichsmessungen mit PEG zeigten, dass dieses bereits in Konzentrationen im nanomolaren Bereich im Massenspektrometer nachweisbar ist. Eine Verringerung des pH-Werts würde sich nur bei stark basischen pH-Werten bemerkbar machen, da hier die Protonenkonzentrationen deutlich unterhalb einer nanomolaren Konzentration liegen.

Oligomere sind in der kondensierten Phase stabiler als in der kochenden Lösung. Für den schnellen Zerfall der Oligomere ist also die erhöhte Temperatur mitverantwortlich. Auch in Proben, die mehrere Tage oder Wochen bei Raumtemperatur, im Kühlschrank oder gefroren aufbewahrt wurden, waren die Oligomere oft verschwunden. Hier erfolgte die Zersetzung jedoch langsamer. Die 44er-Oligomere wurden in einigen Experimenten auch in den Proben des Vierhalskolbens gefunden. In Experimenten, in denen Polyethylenglycol in einem Kolben gekocht wurde, konnte kein PEG im Vierhalskolben nachgewiesen

werden. Es wurde daher nicht durch den Wasserdampf in den oberen Kolben getragen, sondern bildete sich dort in der kondensierten Phase. Die erhöhten Temperaturen der kochenden Lösung schienen für die Bildung nicht notwendig zu sein. Diese Beobachtung wurde auch von den Experimenten mit dem Kapillaritron gestützt, in denen ebenfalls Oligomere gebildet wurden und die Lösung nicht geheizt wurde.

Für Polyethylenglycol sind darüber hinaus Mechanismen bekannt, wie es in einem Plasma sowohl synthetisiert als auch abgebaut werden kann [139, 140]. Die drei Isomere von C_2H_4O (Ethylenglycol, Vinylalkohol, Acetaldehyd) wurden im interstellaren Raum gefunden [141, 142]. Es ist wahrscheinlich, dass sie auch in Miller-Experimenten entstehen können.

Es wurden verschiedene Experimente gemacht, um eine Musterbildung im Miller-Gemisch durch energetische Reize nach der Synthese hervorzurufen. Im Miller-Gemisch nach dem thermischen Zirkulieren unter starker Veränderung des pH-Werts wurden keine Veränderungen ausgemacht. Entweder reagierten hier nur wenige Moleküle oder die Reaktionen verteilten sich über den gesamten Bereich der Substanzen und schlugen sich nicht in den Massenspektren nieder.

Das Experiment mit einem Redoxgradienten lieferte die 44er-Oligomere. Es ist daher möglich, in das Miller-Gemisch eine räumliche Musterbildung zu induzieren. Dies war nur dem Aufbau mit Redoxgradient möglich. Die Prozesse, die zu der Bildung der Oligomere führten, schienen nur durch bestimmte Formen des Energieeintrags und Größe der Energie hervorgerufen zu werden. Die Beobachtung bestärkt die obige These, dass durch bestimmte Oxidationspotentiale die Oligomere aufgebaut und in anderen Bereichen abgebaut werden oder nicht entstehen. Der Redoxgradient aus Wasserstoff und Ozon führte im Miller-Gemisch dazu, dass sich in einem Bereich des Gemisches das Potential einstellte, das zur Bildung der Oligomere führte. In Bereichen eines etwas oxidierenderen oder reduzierenderen Potentials konnten keine oder weniger Oligomere detektiert werden.

Im Kolben, der mit Wasserstoff gefüllt war, konnte eine Spaltung des Wasserstoffs unter Abgabe von Elektronen ablaufen. Die Substanzen des Gemisches würden damit reduziert. Der Wasserstoffkolben kann damit als Referenzpunkt mit dem Potential von 0 V interpretiert werden (Abschnitt 2.1). Im Kolben, der mit Luft gefüllt war, erzeugte ein Funke Ozon und vermutlich auch Stickoxide. Sie sind oxidierend und haben (bezüglich der Referenz) Potentiale zwischen +0,80 V ($NO_3^- + 2H^+ + e^- \rightarrow NO_2 + H_2O$) und +2,07 V ($O_3 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow O_2 + H_2O$) [3]. Die genauen Reaktionen im Experiment sind nicht bekannt, da die Zusammensetzung des Gemisches nicht genau geklärt ist. Werden Ein-Elektronenprozesse angenommen, so entspricht die Energie, die dem Gemisch durch eine Reaktion eines Redoxpotentials von 2 V zugeführt wird $2eV/mol \approx 100 kJ/mol$ und liegt in der Größenordnung typischer Aktivierungsenergien. Damit ist plausibel, dass Oxidationen die Bildung der Oligomere hervorrufen können.

Elektrolysen am Miller-Gemisch, die im Rahmen dieser Arbeit und einer Bachelor-Arbeit [143] am Lehrstuhl durchgeführt wurden, lieferten keine Oligomere. Hier wurden die Spannungen nicht bezüglich einer Wasserstoff-Standardelektrode gemessen. Damit wurden möglicherweise Potentiale außerhalb des Bereichs, der für die Bildung der Oligomere eine Rolle spielt, angelegt.

Modelle zur chemischen Oszillation

In den Miller-Experimenten wurden die Oligomere in verschiedenen, dynamischen Regimen beobachtet. Sie wuchsen exponentiell an, verschwanden exponentiell und es gab Phasen, in denen sie in mittleren, schwankenden Intensitäten sichtbar waren. Oligomere verschiedener Reihen erschienen oft gleichzeitig, wobei teilweise beobachtet wurde, dass kürzere Oligomere vor den längeren auftauchten und auch früher wieder verschwanden. Diese Beobachtungen zeigen, dass eine einfache Erklärung der Dynamik der Oligomere nicht möglich ist.

Eine triviale (nicht-stöchiometrische) Erklärung für Oszillationen könnte in elektrochemischen Reaktionen auf der Oberfläche der Elektroden liegen, auf denen sich Oberflächenlagen auf- und abbauen. Dies müsste jedoch mit Änderungen der Stromstärke korrelieren, die nicht beobachtet wurden.

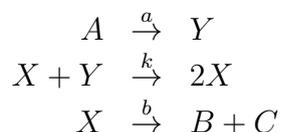
Radikale in der Gasphase könnten eine verzweigte Kettenreaktion auslösen, die selbstverstärkend ist und zu einem exponentiellen Wachstum von Oligomeren führte. Radikale Kettenreaktionen sind z.B. von der Knallgasexplosion bekannt. Diese Spezies müssten sich jedoch erst im Wasser lösen. Dieser Prozess sollte zu langsameren Zeitkonstanten führen.

Im Miller-Experiment könnte das Abtropfen von Kondensat, das sich in den Schläufen der Glasverbindungen gesammelt hatte, für das plötzliche Auftreten der Oligomere verantwortlich gemacht werden. Hier wurden keine Korrelationen beobachtet. Außerdem spricht die Beobachtung der Oligomere in den Experimenten des Kapillaritrons gegen diese These.

Es wurde kein Zusammenhang zwischen der Intensität des Blasenwurfs des kochenden Miller-Gemisches, der Menge der Flüssigkeit oder der Position der Kapillare in dem Kolben beobachtet. Ein Experiment, in dem zeitgleich an verschiedenen Stellen Proben entnommen wurden, lieferte die gleichen Spektren für beide Entnahmepunkte. Damit werden Konvektionsrollen als Grund für die Oszillation ausgeschlossen.

Damit scheinen chemische Reaktionsabläufe die Oszillationen hervorzurufen.

Periodische und aperiodische chemische Oszillationen sind bekannt wurden ausführlich untersucht. Gleichungssysteme wie der Brüsselator, der Oregonator oder das Modell von Lotka und Volterra beschreiben Oszillationen mit wenigen Variablen. Neben einem Ein- und Ausfluss von Substanzen, benötigen Oszillationen einen nichtlinearen Term [12]:



Die Konzentration der Substanzen A , B , C , X , Y ist durch c_A , c_B , c_C , c_X , c_Y gegeben. Bei konstanter Zufuhr ($a' = a \cdot c_A$) verändert sich die Konzentration von X mit

$$\dot{c}_X = kc_Xc_Y - bc_X \quad (5.8)$$

Für passende Parameter a' , b und k oszilliert die Konzentration von X . Das obige Gleichungssystem ruft jedoch nur gedämpfte Oszillationen hervor (Abb. 5.4 a). Anhaltende

Oszillationen, die rein chemischer, stöchiometrischer Natur sind, benötigen stärkere Nichtlinearitäten, die entweder durch einen trimolekularen Reaktionsschritt ($2X + Y \rightarrow 3X$) oder eine weitere Autokatalyse ($Y \rightarrow 2Y$) hervorgerufen werden können (Abb. 5.4 b).

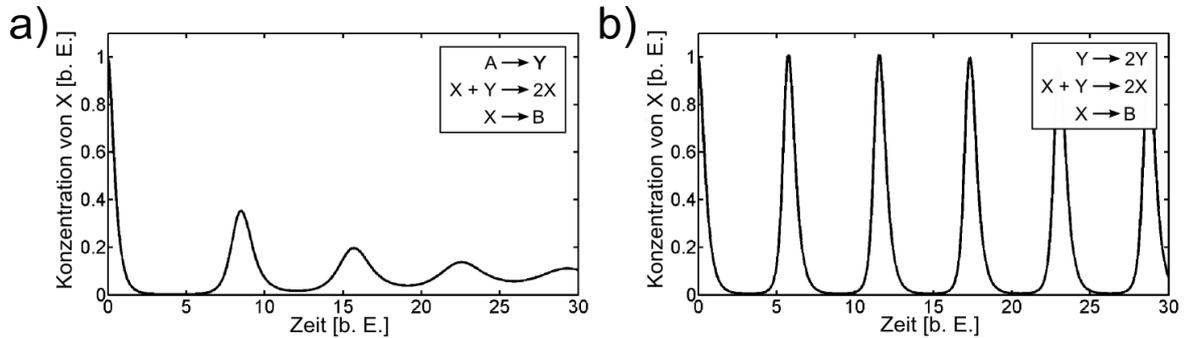


Abbildung 5.4: Verlauf der Konzentration von X in chemischen Oszillationen der abgebildeten Reaktionsgleichungen. **a)** Die Oszillation ist bei einer einfachen bimolekularen Autokatalyse gedämpft. **b)** Für eine anhaltende Oszillation bedarf es eines zweiten autokatalytischen Schritts.

Die dargestellten Gleichungen reproduzieren eine chemische Oszillation, beschreiben aber nicht notwendigerweise die exakten Reaktionen, die der Oszillation zugrunde liegen. Eine Reaktionsgleichung im Modell kann eine Kette von Reaktionen widerspiegeln. Es ist bekannt, dass ein Reaktionsnetzwerk als Ganzes starke Nichtlinearitäten produzieren kann [19] und in hoch komplexen Netzwerken werden Autokatalysen erwartet [24]. Je mehr Substanzen produziert werden, desto mehr Reaktionen sind möglich. Damit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit eines selbstverstärkenden Reaktionsmechanismus. Hier könnten die beobachteten Kreuzkatalysen für die Nichtlinearitäten verantwortlich sein.

5.5 Vergleich der Experimente

Die vorgestellten Experimente lieferten aufgrund der vielfältigen Verknüpfungsmöglichkeiten der Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Sauerstoff komplexe Mischungen. Nur im Miller-Experiment (auch mit Kapillaritron) konnte eine Strukturbildung beobachtet werden. In den vorgestellten Experimenten wurden komplexe Mischungen erzeugt, die jeweils hunderte bis tausende Substanzen beinhalteten. Eine genaue Anzahl kann nicht angegeben werden, da die Substanzen meist so eng beieinander lagen, dass sie mit dem Q-Tof nicht aufgelöst werden konnten. In den Spektren lag die Auflösung in der Regel unter der nominalen Auflösung des Geräts, so dass davon auszugehen ist, dass die Anzahl der gebildeten Substanzen eher in der Größenordnung von 10^3 lag. Dabei war die Auflösung in den Miller-Experimenten geringer als in den Cyanid-Experimenten. Dies weist darauf hin, dass im Miller-Experiment mehr Substanzen entstanden als in den Cyanid-Experimenten.

Das Miller-Experiment unterscheidet sich von den anderen Experimenten durch ein mannigfaltiges Energieangebot. Energie wurde auf einer Skala über mehrere Größenordnungen

bereitgestellt. Sie wurde von den Molekülen des Gemisches chemisch durch Radikale, heraufgesetztes kinetisches Energieniveau durch erhöhte Temperatur und erleichterten Protonentransfer durch den variierten pH-Wert aufgenommen.

In den Experimenten zur Elektrolyse, der Formose-Reaktion und mit Cyaniden wurden auch Oligomere detektiert. Im Gegensatz zum Miller-Experiment verschwanden sie jedoch nicht mehr. Das Novum in den Miller-Experimenten stellt damit der Abbau und Wiederaufbau der Oligomere dar. Die Oligomere des Miller-Experiments sind damit dynamisch und bieten somit ein größeres Potential für weitere Entwicklungen. Sie interagieren wahrscheinlich mit anderen Oligomeren und könnten damit eine Koevolution durchlaufen. In biologischen Systemen steuern aufeinander angepasste Polymere (DNA, RNA, Proteine) die Prozesse aller Zellen.

Das Phänomen der Polymerisation unter präbiotischen Bedingungen ist bekannt und wurde intensiv studiert [52, 144] (Abschnitt 2.4.4). Oligomeren und Polymeren wird für den Ursprung des Lebens eine wichtige Rolle zugeschrieben [145]. In den vorgestellten Experimenten bilden sie sich spontan in einem selbstverstärkenden Prozess. Ihre Struktur ist heterogen und enthält alle Bausteine für Peptidbindungen. Dieses Ergebnis unterstützt die Hypothese, dass autokatalytische Polymere zuerst in der chemischen Evolution entstanden und spezialisierte Polymere (DNA, RNA, Proteine) sich aus diesen Vorläufermolekülen entwickelten [27, 71, 77]. In der „konstitutionalen dynamischen Chemie“ (engl. *constitutional dynamic chemistry*) können sich Polymere in einem Reservoir adäquater Monomere an einen Selektionsdruck anpassen. Ihre reversiblen Bindungen erlauben es ihnen, verschiedene Konfigurationen dynamisch zu erkunden [146]. Auch die hier präsentierte Oligomerisation ist reversible und könnte evolutionäre Eigenschaften entwickeln.

Eine Vielzahl und -falt organischer Substanzen, die an einen breitskaligen Energieeintrag gekoppelt werden, sind notwendig, um ein getriebenes chemisches Netzwerk zu erzeugen, welches selbstreproduzierende Strukturen hervorbringt. Die offenen Randbedingungen erlauben es dem System dabei, sich in alle Richtungen zu entwickeln. Es findet selbstständig einen Zustand der Reproduktion.

5.6 Ausblick

Die Integration weiterer analytischer Methoden zur kontinuierlichen Analyse, wird ein besseres Verständnis der Reaktionen schaffen. Optische Spektroskopien (z. B. Infrarot, Raman) würden genauere Informationen zu der Entwicklung der molekularen Strukturen liefern.

Mit einer getakteten HPLC-Analyse können die Prozesse analysiert werden, die zur Zeit unauffällig sind, da sie sich in dem Massenbereich abspielen, der in den Spektren durch eine homogene Verteilung und hoher Peakbreite gekennzeichnet ist.

Bisher konnte die Entwicklung kleiner Moleküle ($m/z < 50$) nicht verfolgt werden. Der Massenbereich ist jedoch von großem Interesse, da die 44er-Monomere dort liegen. Ein Gaschromatographie-Massenspektrometer (GC-MS) könnte zusätzlich an das Experiment angeschlossen werden. Frühe Versuche zur Messung komplexer Gemische an einem GC-

MS, die im Rahmen dieser Arbeit gemacht wurden, erwiesen sich als kompliziert, da die Ionisierung Bruchstücke produzierte, welche die Analyse von Gemischen vieler Substanzen erschwerten. Die geringe Auflösung des GC-MS führte dabei zu zahlreichen überlagerten Signalen. Eine intensivere Beschäftigung mit der Gaschromatographie sowie die Analyse der Spektren mit Fragmentierungsdatenbanken ist erforderlich. Eine direkte Analyse der Produkte des Funkens des Miller-Experiments kann Aufschluss über die Entstehung der ersten Spezies im Miller-Experiment geben. Dazu könnte der Aufbau des Kapillaritrons in das GC-MS integriert werden.

Für die Prozesse in komplexen chemischen Gemischen sind Radikalreaktionen verantwortlich (z. B. in der Maillard-Reaktion [101]). Wahrscheinlich laufen sie auch im Miller-Experiment ab, da der Funke eine direkte Quelle von Radikalen darstellt. Die Elektronenspinresonanz (ESR) bietet die Möglichkeit, radikalische Prozesse zu verfolgen [147]. Hier können möglicherweise Reaktionsmechanismen im Experiment aufgeklärt werden.

Für zukünftige Experimente bietet sich der Aufbau des Kapillaritrons an. Es wurde gezeigt, dass dieser Aufbau ähnliche Ergebnisse wie das Miller-Experiment liefert, jedoch ist der Aufbau schneller zu realisieren. Parameter wie z. B. der Gasfluss oder die Temperatur lassen sich besser kontrollieren und auch während des Experiments ändern. Das kleinere Volumen und die geringen Gasflüsse machen den Aufbau darüber hinaus sicherer.

Die Thesen, die zu den Mechanismen der Polymerisation aufgestellt wurden, müssen überprüft werden. Dazu können Mischungen erstellt werden, welche die Monomere und potentielle Matrizen beinhalten. Dann muss herausgefunden werden, wie die Verknüpfung der Monomere erfolgen kann. Hier könnten z. B. Radikalreaktionen durch die Hinzugabe von Wasserstoffperoxid hervorgerufen werden.

Weitere Experimente zur Dotierung können bei der Aufklärung der Mechanismen der Bildung der Oligomere helfen. Dabei könnten beispielsweise als Impf-Lösungen verschiedene Formen des Polyethylenglycols verwendet werden, die sich durch die Polarität und Länge ihrer Restgruppen unterscheiden. So könnte überprüft werden, welchen Einfluss diese Gruppen bei der Kreuzkatalyse haben.

Mit der Elektrolyse konnten hier keine komplexen Gemische hergestellt werden, während ein Redox-Gradient zu einer räumlichen Musterbildung im Miller-Gemisch führte. Dies motiviert eine weitere Untersuchung des Einflusses eines elektrochemischen Gradienten. Dabei könnten die Dimensionen, das Elektrodenmaterial, das Lösungsmittel und die Spannungen variiert werden, um zu verstehen, welche Bedingungen eine Musterbildung liefern. Mit einer apparativen Weiterentwicklung kann es möglich werden, räumlich aufgelöst und kontinuierlich Proben zu messen. Ein „Abscannen“ des Potentialbereichs wäre damit möglich. Die Verwendung einer chemischen Standardelektrode als Referenzpunkt würde es erlauben, die Spannungen mit den Tabellen zu Redoxpotentialen abzugleichen, um einschätzen zu können, welche Reaktionen möglich sind.

Die Formose-Reaktion motiviert, weitere Katalysatoren zu testen. Als Alternative zu einer erhöhten Energiezufuhr, bewirken sie, dass bei gleichbleibendem Energieeintrag mehr Reaktionen ablaufen können. Katalysatoren könnten diese bei einem fortgeschrittenen Verständnis zu den Prozessen in komplexen Gemischen gezielter eingesetzt werden. Wäre bekannt, welche Substanzen welche Reaktionen katalysieren, könnten sie benutzt werden,

um bestimmte Reaktionspfade zu bevorzugen.

Die Van-Krevelen-Diagramme und die Netzwerke geben Anregungen, wie die Substanzen des Miller-Gemisches möglicherweise über Reaktionspfade verknüpft sind. Diese Reaktionen könnten z. B. durch Änderung des pH-Werts angeregt und gezielt überprüft werden. Auf diese Weise könnte ein besseres Verständnis für die Reaktionen und die Beeinflussbarkeit des Gemisches erlangt werden.

In der Literatur wurden andere Experimenten unter präbiotischen Bedingungen beschrieben, die zeigten, dass der Partialdruck des Wasserdampfs eine große Rolle bei der Synthese organischer Moleküle spielt [63]. Für die hier beschriebenen Ergebnisse stellt sich insbesondere die Frage, ob durch eine Reduktion des Partialdrucks des Wasserdampfes andere Oligomere favorisiert werden können. Es könnten dazu Experimente mit drastisch reduzierten Wassermengen oder Eis durchgeführt werden.

Höhere Temperaturen ermöglichen mehr chemische Reaktionen. Beispielsweise bilden sich Peptidbindungen ab etwa 180 °C [148]. Ein Temperaturgradient der Größenordnung 10² °C kann zu einem Zersetzen und Rekombinieren der organischer Moleküle führen und auf einer breiten Energieskala das entstehende Gemisch treiben. Hohe Temperaturen und Drücke sind Teil jener Theorie, welche die Prozesse zur Entstehung des Lebens an hydrothermalen Quellen ansiedeln. In Experimenten mit Autoklaven können solche Bedingungen nachgestellt werden. Erste Aufbauten und Experimente, die für diese Arbeit dazu gemacht wurden, waren von fabrikationsbedingten Kontaminationen betroffen. Hohe Drücke und Temperaturen erfordern eine intensive Auseinandersetzung mit der Apparatur, bis eine kontinuierliche Analyse des Gemischs und eine Zufuhr von Reagenzien in das Experiment möglich ist.

Die Kopplung von Mikrowellenstrahlung an einen geeigneten Suszeptor kann lokal Temperaturen von über 1000 °C zu erzeugen [149]. Auch Funkenüberschläge können erzeugt werden und die Zu- und Abfuhr von Substanzen ist leicht zu realisieren. Das Abschalten der Mikrowelle beendet sofort die Energiezufuhr. Der Aufbau ist damit potentiell sicherer und energieeffizienter als ein Autoklav. Ein Aufbau mit einem Mikrowellenofen, der im Rahmen dieser Arbeit angefertigt wurde, lieferte bisher nur die Zersetzung der organischen Substanzen [150]. Die Apparatur muss für weitere Experimente von Sauerstoff abgeschlossen werden.

Eine Konsequenz der Ergebnisse des Miller-Experiments liegt in einem vergrößerten Angebot von Energie in zukünftigen Experimenten. Eine räumliche Anordnung dieser energetischen Reize (pH-Wert, Kapillaritron, Elektroden, Wärmegradienten) könnte an verschiedenen Orten des Experiments unterschiedliche Autokatalyten entstehen lassen, die in Zwischenbereichen interagieren und gegebenenfalls in Konkurrenz oder Koevolution treten. Experimente dieser Art können die Bedingungen für die Entstehung von Selbstreproduktion in organischen Gemischen aufklären und höhere Stufen der Selbstorganisation schaffen.

Neben der Gewinnung weiterer Informationen durch weitere Analysen oder Experimente, kann auch die Auswertung der bisherigen Daten weiterentwickelt werden. In den Peakbreiten stecken Informationen über die Anzahl der Substanzen, die durch Dekonvolutionsalgorithmen näher charakterisiert werden können.

Aus den Massendefekten können möglicherweise Informationen über die Entstehung der

Substanzen gewonnen werden.

Der homogene, breit verteilte Massenbereich erschien im Miller-Experiment nach einigen Stunden fast statisch, es waren jedoch kleine Fluktuationen bei Betrachtung der Spektren auszumachen, die auf weitere Prozesse hinwiesen. Automatisierte Methoden der Auswertung können entwickelt werden, die auch für kleine Veränderungen sensitiv sind.

Die Übertragungen der Prozesse des Gemisches auf Netzwerke waren erste Schritte in diese Richtung. Sie müssen chemisch weiter interpretiert werden. So bleibt zu klären, warum die Netzwerke aus positiver und negativer Korrelation Unterschiede aufwiesen. Dafür müssen die chemischen Ursprünge für positive und negative Korrelationen näher untersucht werden. Intensivere Beschäftigung mit dieser Methode könnte die Reaktionswege des Gemisches aufklären und zum Verständnis der Evolution von der „Ursuppe“ zum Metabolismus beitragen.

Weitere Analysen könnten an bekannten Reaktionsnetzwerken gemacht werden, um ein besseres Verständnis davon zu erlangen, was die Abbildung auf ein Netzwerk liefert und wo Grenzen liegen. Wenn dies gelingt, kann aus einem breiten Fundus der Methoden zur Netzwerkanalyse geschöpft werden [23, 105, 117, 118, 151]. So könnten Motive identifiziert werden, die auf autokatalytische Zyklen schließen lassen. Umgekehrt könnten Netzwerke dergestalt entworfen werden, dass sie Autokatalysen zulassen oder entwickeln. Dabei könnten Simulationen auf Basis von Datenbanken über chemische Interaktionen oder Bindungsaffinitäten erfolgen. Diese ließen sich leicht experimentell überprüfen.

In einem weiteren Schritt könnten dynamische Netzwerke entwickelt werden, die selbst neue Knoten und Kanten nach vorgegebenen Regeln schaffen. Auch damit wäre es möglich, der Frage nach der Entstehung von Autokatalyse in einem komplexen chemischen System nachzugehen.

In späteren Experimenten kann die Frage der Separation von chemischen Systemen untersucht werden. Für eine Evolution muss ein chemisches Netzwerk eine hohe Flexibilität aufweisen, ohne dabei beliebig zu sein. Die klassischen Kriterien der Evolution fordern u. a. Mutation und Adaptation. Ein flexibles System muss dafür an eine verhältnismäßig langsam verändernde Umgebung gekoppelt sein. Für die chemische Evolution bedeutet dies, dass sich in einem komplexen chemischen Gemisch Prozesse auf verschiedenen Zeitskalen herausgebildet haben, aus denen sich im schnellen Skalenbereich die Metabolismen von Lebewesen gebildet haben, während sich auf einer langsamen Zeitskala Veränderungen der Bedingungen des Gemisches abspielten [24].

Eine ähnliche Situation liegt im Miller-Experiment durch die verschiedenen Energieskalen vor. Eine Kompartimentierung von Reaktionsräumen würde die Skalenseparation unterstützen. Auch hier können netzwerktheoretische Überlegungen aufgegriffen werden.

Eine weitere Frage ist, ob sich die Abgrenzung von Prozessen unterschiedlicher Zeitskalen bereits aus der Struktur der organischen Chemie ableiten lassen. Beispielsweise wäre zu untersuchen, wie sich die Dynamik in hierarchischen Netzwerken von einfachen skalenfreien Netzwerken unterscheidet. Stark vernetzte Cluster in Reaktionsnetzwerken könnten Prozesse ausbilden, welche die Anpassung an Veränderungen der Umgebung beschleunigen. Möglicherweise sind auch die heutigen Biomoleküle so beschaffen, dass sie in einem organischen Gemisch stark vernetzte Knoten darstellen.

5.7 Zusammenfassung

Musterbildung in energetisch getriebenen Systemen wird seit langem in entworfenen Systemen wie Lasern eingesetzt. Dort relaxiert ein angeregter Zustand in einer selbstreproduzierenden optischen Mode. Hier wurde ein Reaktor vorgestellt, der zufällig neue Moleküle erzeugt. Sie verändern die chemischen Bedingungen in dem System, das auf diese Weise selbstständig mögliche Reaktionswege festlegt. Im Unterschied zum Laser verändern sich damit die Interaktionen der Komponenten. In Analogie zum Laser relaxieren in dem Reaktor angeregte Zustände durch spontane Ausbrüche autokatalytischer chemischer Moden. Das selbstreproduzierende Verhalten scheint in der organischen Chemie bereits enthalten zu sein und dort die Bildung autokatalytischer Oligomere zu bevorzugen.

Wenn Bedingungen für chemische Selbstorganisation verstanden werden, können neue Syntheseverfahren entwickelt werden [146] und das Verständnis der Stabilität der Dynamik eines chemischen Gemisches könnte Denkanstöße für die Biologie und Medizin liefern. In den heutigen Organismen bestimmen molekulare Rhythmen (z. B. Circadiane Rhythmen) große Teile des Metabolismus und Verhaltens. Hier werden sie von Nichtlinearitäten eines komplexen chemischen Netzwerks verursacht. Molekulare Rhythmen sind möglicherweise ein konstitutives Element der chemischen Evolution und kein fortgeschrittenes Resultat der Evolution.

Die hier beobachteten Nichtlinearitäten sind ausreichend stark für raumzeitliche Musterbildung. In räumlichen Mustern würden sich verschiedene Autokatalyten lokal aufkonzentrieren und Nischen bilden. Sie könnten in Konkurrenz treten und sich dann zusammen zu selbstreplizierenden chemischen Einheiten weiterentwickeln.

6 | Zusammenfassung

In dieser Arbeit sollte eine Strukturbildung in komplexen, organischen Systemen erzeugt werden. Es ist bekannt, dass Systeme, die sich selbst organisieren, nichtlinear und dissipativ sind und mit Energie versorgt werden müssen. Dies trifft auf getriebene chemische Systeme in der Regel zu. Für diese Arbeit wurden organische Gemische untersucht, da hier bereits aus wenigen atomaren Bausteinen eine große Anzahl an Substanzen gebildet werden kann. Es ist unklar, welche Bedingungen in einem organischen System vorherrschen müssen, damit eine Strukturbildung einsetzt.

Hier wurden möglichst komplexe, organische Systeme gesucht, die viele Komponenten beinhalten und damit viele potentielle Reaktionswege eröffnen. In einem ersten Schritt wurden auf verschiedene Weisen komplexe organische Systeme hergestellt, indem wenige reaktive Komponenten gemischt wurden und das Gemisch mit Energie versorgt wurde. Die Mischungen wurden teilweise in einem zweiten Schritt kontinuierlich weiteren Energieformen ausgesetzt oder zyklisch angeregt. Eine zyklische Anregung wurde durch periodisches Heizen, wechselnde Hinzugabe reaktiver Substanzen oder räumliche Redoxgradienten realisiert. Damit sollten Reaktionszyklen angetrieben werden, die sich zu selbstreproduzierenden Einheiten weiterentwickeln könnten.

Die zeitliche Entwicklung der Gemische wurde durch die kontinuierliche Messung mittels Massenspektrometrie verfolgt. Die Massenspektrometrie wurde gewählt, da sie eine hohe zeitliche Auflösung hat, sensitiv ist und über mehrere Größenordnungen quantitative Bestimmungen zulässt. Damit konnte gleichzeitig die Entwicklung hunderter Substanzen verfolgt werden. Es wurden Aufbauten entwickelt, die eine automatische Entnahme von Proben ermöglichten. Die zeitliche Auflösung der Aufzeichnungen konnte von Stunden auf Sekunden verbessert werden.

Redoxreaktionen wurden in Elektrolysen angeregt. Die Diffusion der Substanzen in der Lösung bot die Möglichkeit, abwechselnd zu oxidieren und zu reduzieren und damit möglicherweise zyklisch komplexer zu werden. Auch bei Versuchslaufzeiten von Tagen, dem Einsatz von Katalyten und unterschiedlicher Lösungsmittel wurde nur eine geringe Erhöhung der Komplexität festgestellt.

In den nächsten Schritten wurden Reaktionen durchgeführt, von denen bekannt ist, dass sie zu komplexen Mischungen führen. Gemische weniger kleiner, organischer Substanzen (Aminosäuren, Formaldehyd und Cyanidverbindungen) wurden dazu erhitzt. Mit Hilfe der Maillard-Reaktion, der Formose-Reaktion und dem Erhitzen eines Cyanidgemisches, konnten komplexe Mischungen erzeugt werden. Die Formose-Reaktion, die nur mit Formaldehyd und einem Katalysator startet, erzeugte fast tausend Substanzen aus drei atomaren Bausteinen. Sie beinhaltet eine Autokatalyse als einen der ersten Schritte und zeichnete

sich in einer über Stunden zu beobachtenden Dynamik aus. In diesen Experimenten reichten die Stimulationen nicht aus, um eine raumzeitliche Strukturbildung hervorzurufen. Strukturbildung sollte provoziert werden, indem die Reaktionen von Formaldehyd mit dem Cyanidgemisch ausgenutzt wurden. Dazu wurden in verschiedenen (periodischen) Sequenzen ein Cyanidgemisch und eine Formaldehydlösung gemischt. Es wurden komplexere Reaktionsmechanismen, die z. B. zu Schwellenwerten führten, verfolgt. Sie wiesen auf Verzweigungen in Nebenreaktionen, verschiedene Zeitskalen der Reaktionen und gegenseitige Katalyse hin. Das System befand sich außerhalb des Gleichgewichts. In diesen Mischungen konnten damit neben der Vielfalt an Substanzen verschiedene Reaktionskinetiken beobachtet werden.

Das Miller-Experiment setzte neben Wärme auch elektrische Entladungen als Energiequelle ein. Es startete mit den vier Substanzen Methan (CH_4), Ammoniak (NH_3), Wasserstoff (H_2) und Wasser (H_2O) und stellte damit die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff in einfachen Verbindungen bereit. Die elektrischen Entladungen erzeugten ein Plasma, das die Moleküle des Wasserdampfs und der Gase ionisierte oder radikalisierte. Diese Spezies sind sehr reaktiv und konnten zu neuen Substanzen rekombinieren. Im Miller-Experiment entstanden innerhalb von Stunden tausende Substanzen, die über einen Massenbereich von 50 bis etwa 800 Da verteilt waren. Es wurde eine Strukturbildung in Form der aperiodischen Oszillation mehrerer oligomerer Spezies beobachtet. Die Oligomere tauchten innerhalb von Sekunden auf, blieben einige Sekunden oder Minuten in den Massenspektren sichtbar, bevor sie verschwanden. Nach einigen Minuten oder Stunden wiederholt sich der Prozess teilweise mehrfach.

Das Dotieren mit einem Gemisch, in dem die Oligomere vorhanden waren, lieferte ein gesteigertes Wachstum der Substanzen. Die Ergebnisse sprechen für eine auto- oder kreuzkatalytische Bildung der Oligomere. Hochauflösende Massenspektrometrie konnte einige der Oligomere als Polyethylenglycole identifizieren. Andere Massenspektren und Ergebnisse der NMR-Spektroskopie sprechen für weitere Oligomere aus Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen. Die Oligomere konnten auch in einem Gemisch des Miller-Experiments durch das Anlegen eines Redoxgradienten induziert werden.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass eine spontane Strukturierung in einem komplexen organischen Systemen, das mit Energie versorgt wird, möglich ist. Hier zeigte sich eine selbstorganisierte Strukturbildung in Form einer aperiodischen Oszillation verschiedener Oligomere. Dieses Ergebnis bestätigt die einleitende Überlegung, dass sich die Konzepte der Musterbildung auf die organische Chemie anwenden lassen.

A | Anhang

A.1 Abschätzung der Diffusionsverbreitung des Messsignals bei der kontinuierlichen Massenspektrometrie

Eine Diffusion in der Kapillare, die zu dem Experiment führen, könnte einen Zeitverlauf verbreitern. Dieser Effekt ist aus der HPLC bekannt. Im Rahmen der Kapillarelektrophorese wird die Gleichung $\sigma^2 = 2Dt$ für die räumliche Varianz eines infinitesimalen Bandes, das in einer Zeit t diffundiert, benutzt [152]. Für die Diffusionskonstante D gilt $D = \frac{RT}{6N_A\pi\eta r}$, wobei R die ideale Gaskonstante, T die Temperatur, N_A die Avogadro-Konstante, η die Viskosität des Mediums und r die Größe des Teilchens sind. Mit einer Teilchengröße im Nanometer-Bereich ($r \approx 10^{-9} m$) und einer Viskosität von Wasser von $\eta_{\text{Wasser}} \approx 1 mPa \cdot s$ (bei $20^\circ C$) folgt mit einer Laufzeit des Gemisches von etwa 20 min $\sigma \approx 1,7 \cdot 10^{-4} m$. Bei einem Durchmesser der Kapillare von $d = 0,3 mm$ und einer Flussgeschwindigkeit \dot{V} von $50 \mu l/min$ berechnet sich die Geschwindigkeit v eines infinitesimal dünnen Flüssigkeitssegments mit $v = \frac{\dot{V}}{A}$ (A , Querschnittsfläche der Kapillare) zu $v = \frac{\dot{V}}{A} \approx 0,7 m/s$. Die Aufbreitung einer charakteristischen Breite von $\sigma \approx 1,7 \cdot 10^{-4} m$ entspricht damit einem Zeitintervall von $\Delta t = \frac{\sigma}{v} \approx 0,24 s$. Die Aufbreitung liegt damit über eine Größenordnung unter der typischen Mittlungsbreite der Konzentration von etwa 10 s. Die Diffusionsaufbreitung ist damit vernachlässigbar.

A.2 Dynamischer Bereich des Massenspektrometers

Der lineare Bereich des Q-Tof Massenspektrometers wurde mit einer PEG-Lösung (PEG 600, Alfa Aesar) bestimmt. Die Konzentrationen reichten dabei von $5,6 \cdot 10^{-4} \text{ ng}/\mu\text{l}$ bis $2,24 \text{ ng}/\mu\text{l}$. Als Scanzeit war 1 s eingestellt. Innerhalb dieses Bereichs ging die Zählrate für hohe Konzentrationen in eine Sättigung über. Bei geringen Konzentrationen stieg die Zählrate proportional zur Konzentration. Die Grenze des linearen Bereichs lag bei Zählraten zwischen 40 und 70 Zähler/Scan.

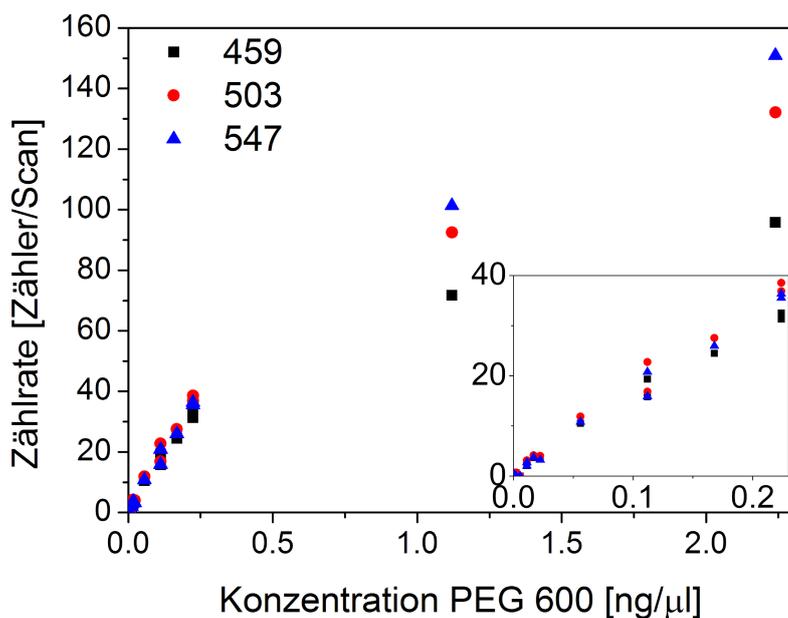


Abbildung A.1: Zählrate des Massenspektrometers (Q-Tof) gegen die Konzentration der gemessenen PEG-Lösung. Der lineare Bereich des Massenspektrometers erstreckte sich über etwa drei Größenordnungen. Danach ging die Zählrate in eine Sättigung über.

A.3 Elektrolyse von Gemischen organischer Säuren

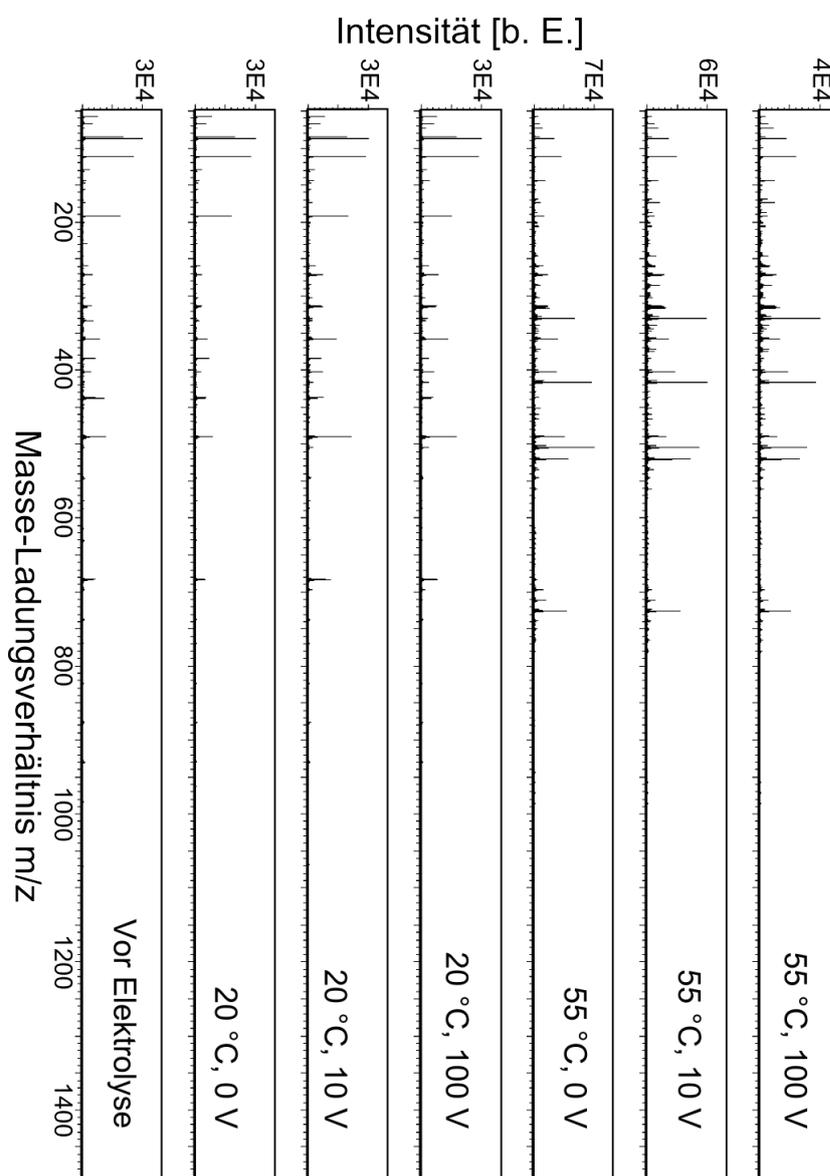
A.3.1 Elektrolyse einer Citronensäurelösung mit Fe und FeCl₃

Abbildung A.2: Spektren (ES⁻) der Citronensäurelösung vor und nach der Elektrolyse mit Eisen als Katalysator. Die Elektrolysen wurden bei verschiedenen Bedingungen (Temperatur und Spannung) durchgeführt. Die Spektren zeigen, dass im Wesentlichen die Temperatur einen Einfluss auf die Bildung neuer Substanzen hatte.

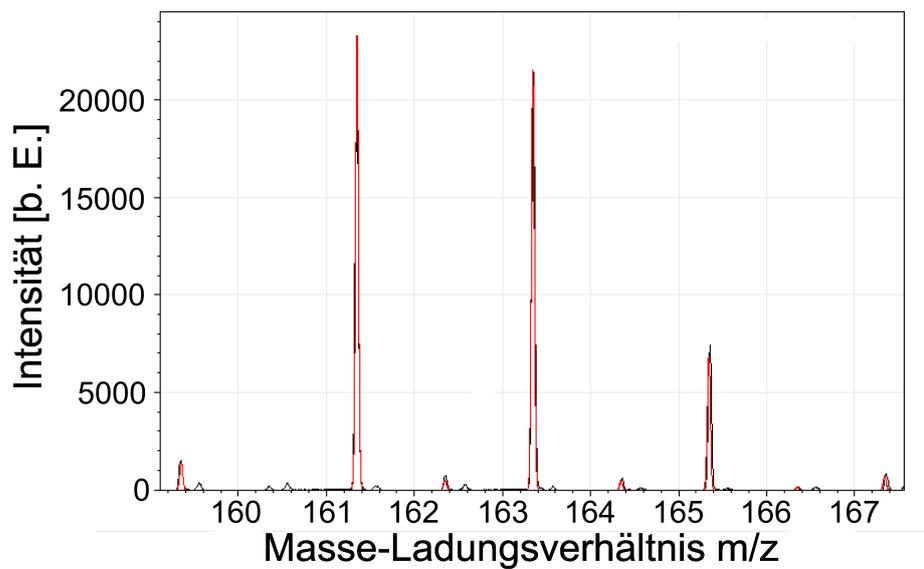


Abbildung A.3: Vergleich eines Peak-Musters bei m/z 161 mit der Simulation eines Isotopenmusters von Eisen(III)-chlorid (FeCl_3) (rote Linie). Aufgrund der Übereinstimmung und dem Vorhandensein von FeCl_3 in der Probe, ist davon auszugehen, dass es sich hierbei um Eisen(III)-chlorid handelte. Die Simulation wurde mit dem Programm mmass durchgeführt [94].

A.4 Cyanid-Formaldehyd-Mischungen

A.4.1 Netzwerke mit positiver Korrelation

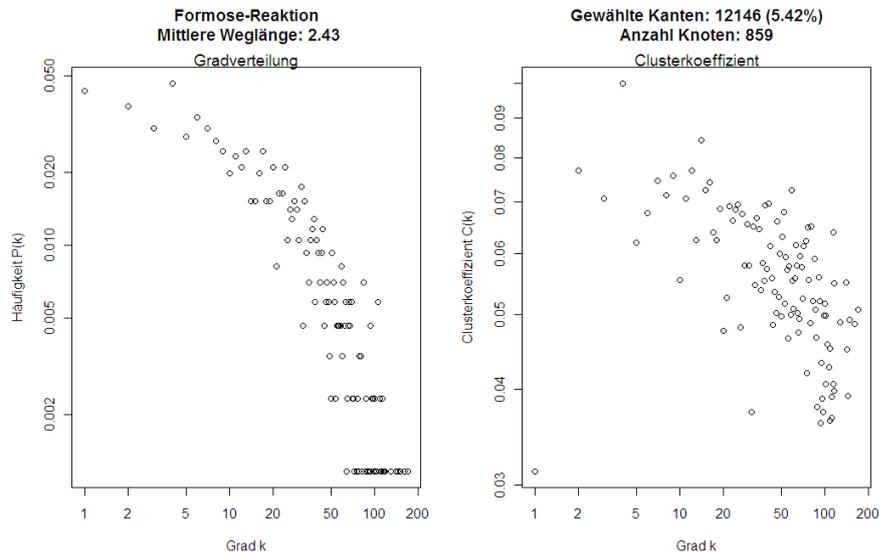


Abbildung A.4: Gradverteilung $P(k)$ und Verteilung des Clusterkoeffizienten $C(k)$ des Netzwerks, das aus den Daten der Formose-Reaktion (Abschnitt 4.3) gewonnen wurde. Der mittlere Clusterkoeffizient ist 0,274.

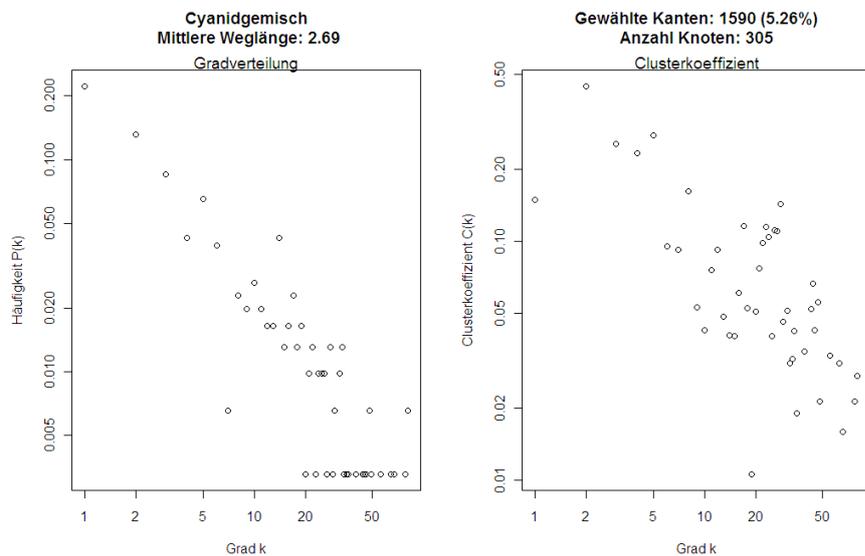


Abbildung A.5: Gradverteilung $P(k)$ und Verteilung des Clusterkoeffizienten $C(k)$ des Netzwerks, das aus den Daten des Cyanidgemisches (Abschnitt 4.4) gewonnen wurde. Der mittlere Clusterkoeffizient ist 0,340.

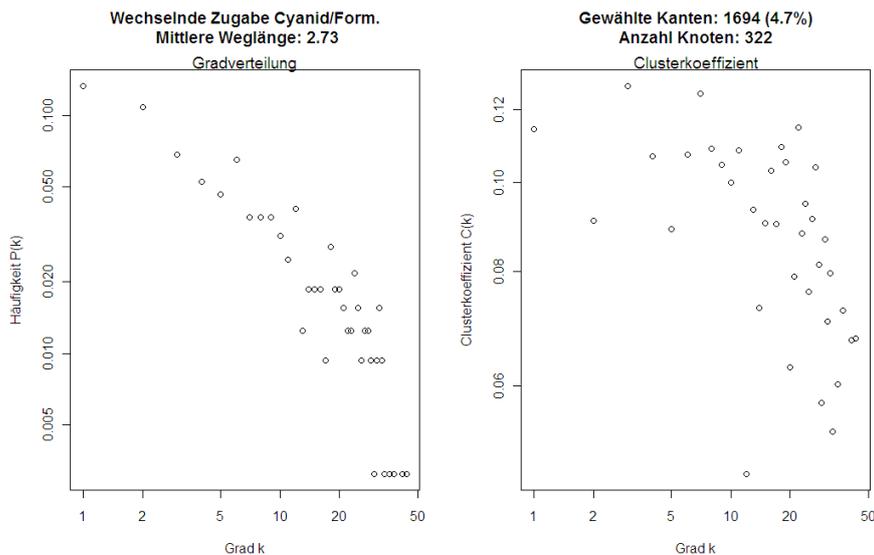


Abbildung A.6: Gradverteilung $P(k)$ und Verteilung des Clusterkoeffizienten $C(k)$ des Netzwerks, das aus den Daten des Experiments mit wechselnder Zugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds (Abschnitt 4.5.2) gewonnen wurde. Der mittlere Clusterkoeffizient ist 0,136.

A.4.2 Netzwerke mit negativer Korrelation

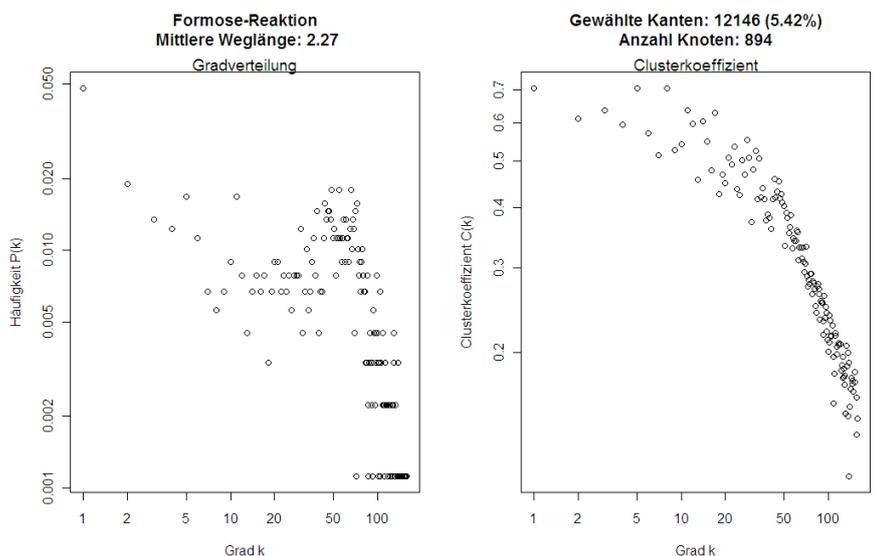


Abbildung A.7: Gradverteilung $P(k)$ und Verteilung des Clusterkoeffizienten $C(k)$ des Netzwerks, das aus den Daten der Formose-Reaktion (Abschnitt 4.3) gewonnen wurde. Der mittlere Clusterkoeffizient ist 0,0528.

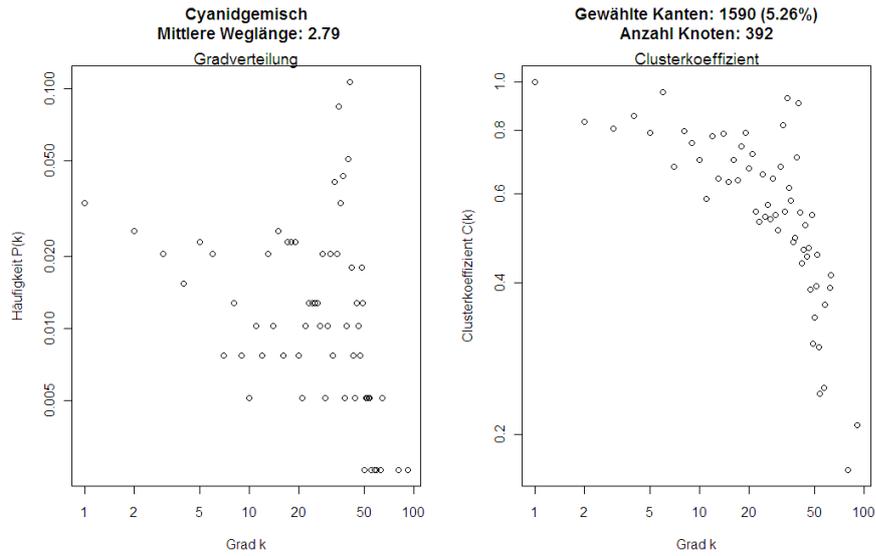


Abbildung A.8: Gradverteilung $P(k)$ und Verteilung des Clusterkoeffizienten $C(k)$ des Netzwerks, dass aus den Daten des Cyanidgemisches (Abschnitt 4.4) gewonnen wurde. Der mittlere Clusterkoeffizient ist 0,0804.

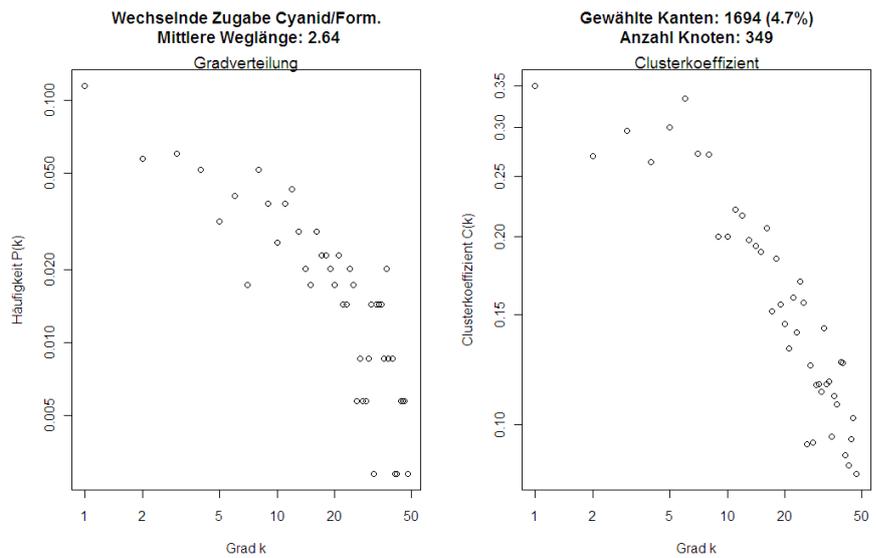


Abbildung A.9: Gradverteilung $P(k)$ und Verteilung des Clusterkoeffizienten $C(k)$ des Netzwerks, dass aus den Daten des Experiment mit wechselnder Zugabe des Cyanidgemisches und des Formaldehyds (Abschnitt 4.5.2) gewonnen wurde. Der mittlere Clusterkoeffizient ist 0,0864.

A.5 Miller-Experiment

Reihe 1		Reihe 2	Reihe 3	Reihe 4
μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	μ [Da]
306,30				
350,33				
394,32	0,01	512,42	267,11	408,27
438,369	0,004	556,43	311,19	452,31
482,40	0,01	600,46	355,15	496,36
526,434	0,002	644,48	399,29	540,34
570,462	0,001	688,50	443,32	584,40
614,481	0,001	732,49	487,35	
658,508	0,004		531,39	
702,53	0,01		575,41	
746,563	0,005			
790,57	0,01			
834,60	0,02			
878,59	0,07			
922,61				
966,66				

Tabelle A.1: Mittlere Massen μ und Standardabweichungen σ der Oligomere in Experiment 1. Manche Substanzen tauchten nur einmal auf, so dass keine Standardabweichung angegeben werden kann.

Reihe 1		Reihe 2		Reihe 3		Reihe 4		Reihe 5	
μ [Da]	σ [Da]								
350,38	0,05	320,31	0,08	334,418	0,003	369,34	0,07	392,4	0,1
394,41	0,06	364,38	0,09	378,44	0,07	413,37	0,07	436,4	0,1
438,45	0,06	408,45	0,07	422,47	0,07	457,43	0,05	480,53	
482,47	0,07	452,519	0,004	466,51	0,08	501,53		524,52	0,09
526,5	0,08	496,556	0,006	510,576	0,005	545,57		568,630	0,004
570,59	0,02	540,598	0,008	554,62	0,01	589,59		612,677	0,009
614,64	0,03	584,63	0,01	598,656	0,009	633,61		656,73894	0,00001
		628,67	0,01	642,683	0,008	677,71		700,76	0,01
		672,704	0,008	686,72	0,01			744,79	
		716,74	0,02	730,77	0,02			788,82	0,01
		760,77	0,03	774,82	0,03			832,88	
		804,78		818,87					

Tabelle A.2: Mittlere Massen μ und Standardabweichungen σ der Oligomere in Experiment 2.

Reihe 1	Reihe 2		Reihe 3	Reihe 4		Reihe 5	Reihe 6	Reihe 7		Reihe 8		Reihe 9	
μ [Da]	μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]	σ [Da]
711,46	409,30		427,31	351,22	0,08	663,46	413,33	476,46		462,456		446,41	
755,46	453,33		471,34	395,34	0,02	707,50	457,38	520,505	0,005	506,489	0,004	490,460	0,006
799,53	497,38	0,02	515,38	439,37	0,01	751,52	501,42	564,48	0,04	550,5275	0,0004	534,495	0,005
843,52	541,42	0,03	559,40	483,39	0,01	795,55	545,44	608,61	0,06	594,552	0,006	578,54	0,01
887,56	585,44	0,02	603,43	527,43	0,02	839,59	589,48	652,583	0,005	638,5913	0,0005	622,60	0,03
931,62	629,46	0,01	647,46	571,46	0,02	883,62	633,51	696,602	0,002	682,614	0,003	666,61	0,02
	673,53	0,06	691,49	615,49	0,02	927,65	677,55	740,636	0,005	726,67	0,02	710,62	
	717,52	0,01	735,52	659,52	0,02	971,68	721,58	784,70	0,01	770,691	0,004	754,65	
	761,57	0,03	779,55	703,55	0,02	1015,70		828,74	0,02	814,729	0,001		
	805,56		823,57	747,59	0,03	1059,73		872,78					
	849,59		867,60	791,62	0,03	1103,76		916,80					
	893,62		911,64	835,67	0,04	1147,78		960,87					
	937,65		955,67	879,64		1191,83							
	981,68		999,70			1235,84							
	1025,70		1043,73										
	1069,74		1087,75										
	1113,74												
	1157,80												
	1201,79												
	1245,81												
	1289,89												

Tabelle A.3: Mittlere Massen μ und Standardabweichungen σ der Oligomere in Experiment 3. Manche Substanzen tauchten nur einmal auf, so dass keine Standardabweichung angegeben werden kann.

Reihe 1	Reihe 2		Reihe 3
μ [Da]	μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]
283,19	394,21		380,20
327,22	438,22		424,21
371,26	482,32	0,09	468,22
415,26	526,34	0,09	512,24
459,32	570,45		556,24
503,33	614,47		
547,37	658,48		
591,39	702,58		
635,41	746,55		
679,44	790,58		
723,45	834,62		
767,50			
811,49			

Tabelle A.4: Mittlere Massen μ und Standardabweichungen σ der Oligomere in Experiment 4. Manche Substanzen tauchten nur einmal auf, so dass keine Standardabweichung angegeben werden kann.

Reihe 1	Reihe 2	Reihe 3
μ [Da]	μ [Da]	μ [Da]
387,25	556,53	586,54
431,29	600,56	630,57
475,34	644,58	674,61
519,38		718,64
563,42		
607,45		
651,49		

Tabelle A.5: Mittlere Massen μ der Oligomere in Experiment 5. Die Substanzen tauchten nur einmal auf, so dass keine Standardabweichung angegeben werden kann.

Reihe 1		Reihe 2
μ [Da]	σ [Da]	μ [Da]
542,514	0,007	582,67
586,54	0,02	626,72
630,58	0,02	670,77
674,61	0,02	714,81
718,65	0,02	758,85
762,67	0,02	802,92
806,71	0,02	846,95
850,74	0,02	846,95

Tabelle A.6: Mittlere Massen μ der Oligomere in Experiment 6. Die Substanzen tauchten nur einmal auf, so dass keine Standardabweichung angegeben werden kann.

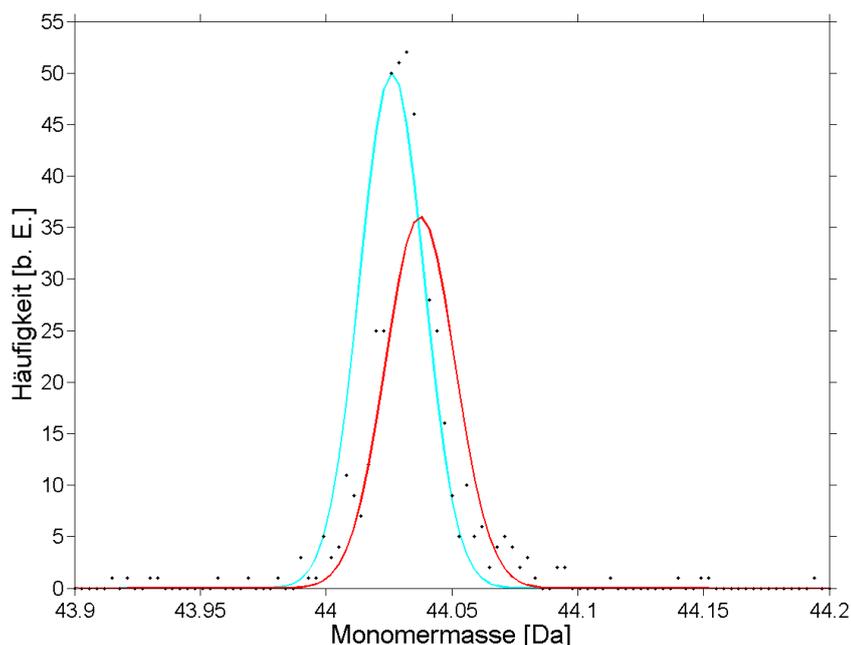


Abbildung A.10: Fit von zwei Gauß-Verteilungen an die Verteilung der gemessenen Monomermassen. Ihre Mittelwerte wurden auf den Werten der Massen der möglichen Monomere festgehalten, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ($\mu_1 = 44,02622$ Da) und CH_4N_2 ($\mu_2 = 44,03745$ Da). Die Standardabweichungen des Fits sind $\sigma_1 = 0,013$ Da und $\sigma_2 = 0,014$ Da. Keine der beiden Verteilungen gibt die gemessene Verteilung in guter Übereinstimmung wieder. Die Fits wurden mit der Software MATLAB durchgeführt [96].

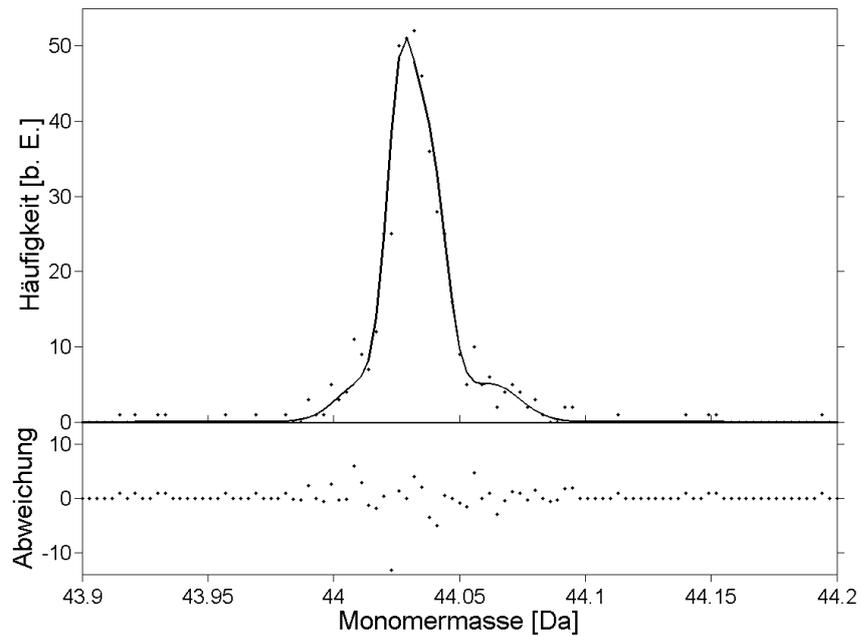


Abbildung A.11: Fit einer Mischverteilung aus fünf Gauß-Verteilungen an die Verteilung der gemessenen Monomermassen. Die Mittelwerte der Gauß-Verteilungen wurden auf den Werten der Massen der möglichen Monomere festgehalten, CH_2NO ($\mu_1 = 44,01364 \text{ Da}$), $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ($\mu_2 = 44,02622 \text{ Da}$), CH_4N_2 ($\mu_3 = 44,03745 \text{ Da}$), $\text{C}_2\text{H}_6\text{N}$ ($\mu_4 = 44,05002 \text{ Da}$) und C_3H_8 ($\mu_5 = 44,06260 \text{ Da}$). Die Standardabweichungen des Fits sind $\sigma_1 = 0,011 \text{ Da}$, $\sigma_2 = 0,0053 \text{ Da}$, $\sigma_3 = 0,0070 \text{ Da}$, $\sigma_4 = 0,077 \text{ Da}$ und $\sigma_5 = 0,011 \text{ Da}$. Als relative Häufigkeit ergibt sich $a_1 = 11 \%$, $a_2 = 34 \%$, $a_3 = 44 \%$, $a_4 = 0 \%$ und $a_5 = 10 \%$. Die Residuen sind gleichmäßig um null verteilt. Die Fits wurden mit der Software MATLAB durchgeführt [96].

A.5.1 Blitzen auf das Gemisch

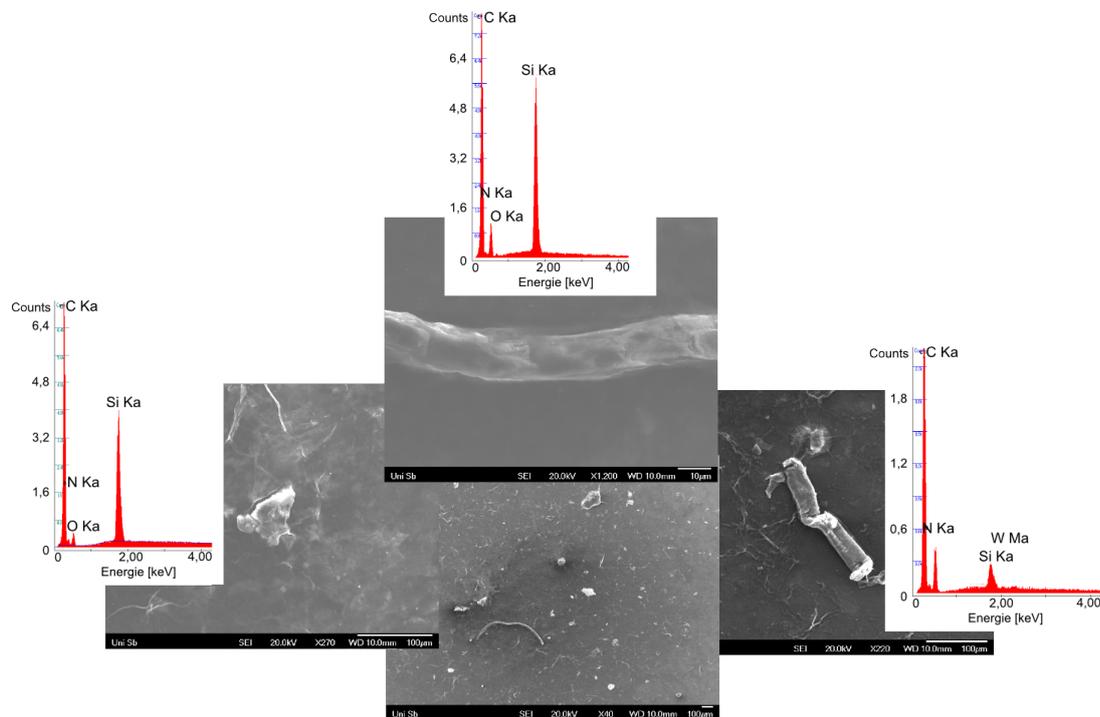


Abbildung A.12: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der festen Rückstände des Miller-Experiments in verschiedenen Vergrößerungsstufen. Daneben sind die zugehörigen Spektren der Röntgenspektroskopie abgebildet. Bei den beobachteten Stoffen handelte es sich um Verbindungen mit Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Wolfram und Silizium. Die Angaben hinter dem Elementzeichen sind Zuordnungen zu den entsprechenden atomaren Übergängen, aus denen das Röntgenquantum resultiert.

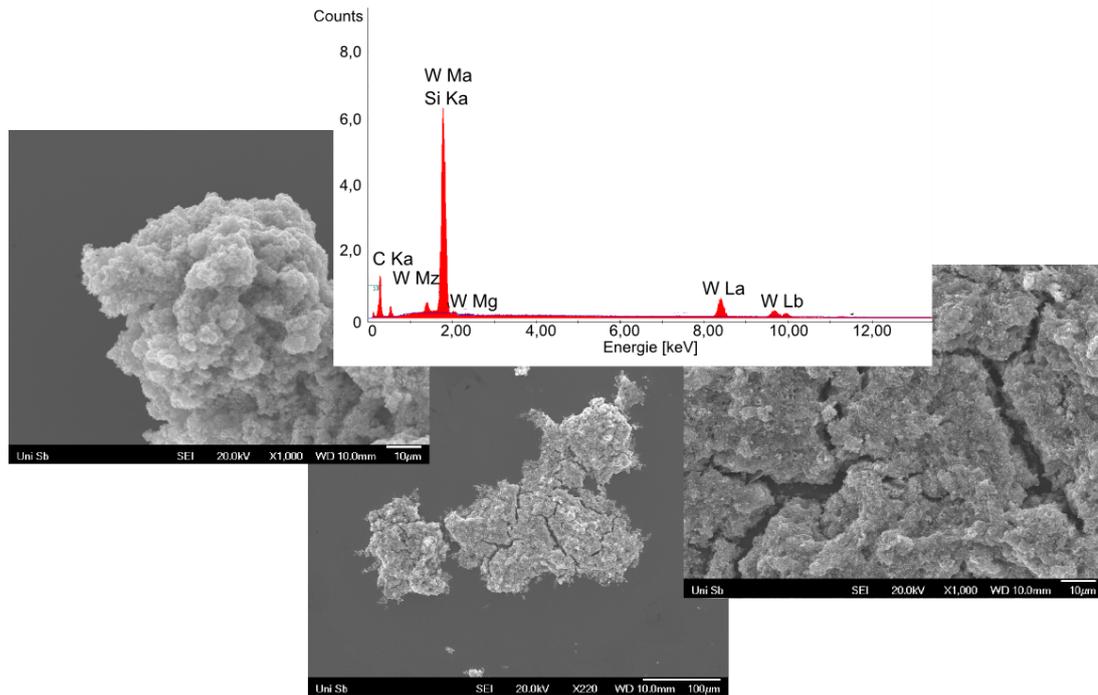


Abbildung A.13: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der festen Rückstände des Miller-Experiments in verschiedenen Vergrößerungsstufen. Daneben ist das zugehörige Spektrum der Röntgenspektroskopie abgebildet. Bei den beobachteten Stoffen handelt es sich um Verbindungen mit Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Wolfram und Silizium. Im Vergleich zu der anderen gemessenen Struktur ist der Anteil an Silizium wesentlich höher (Abb. A.12). Die Angaben hinter dem Elementzeichen sind Zuordnungen zu den entsprechenden atomaren Übergängen, aus denen das Röntgenquantum resultiert.

A.5.2 Hochauflösende Massenspektrometrie am Miller-Gemisch

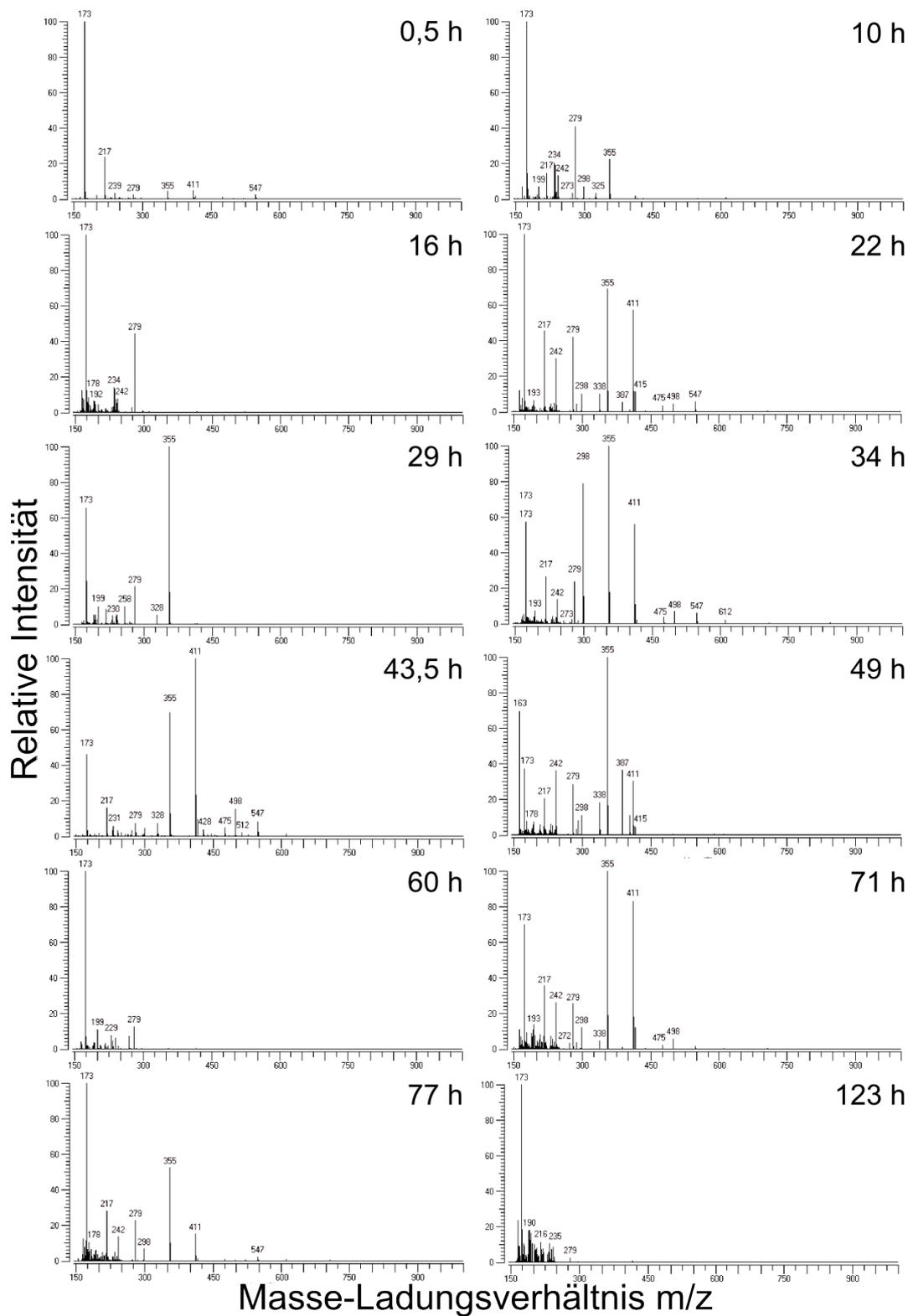


Abbildung A.14: Hochaufgelöste Spektren der Proben des Miller Experiments, gemessen im positiven Modus.

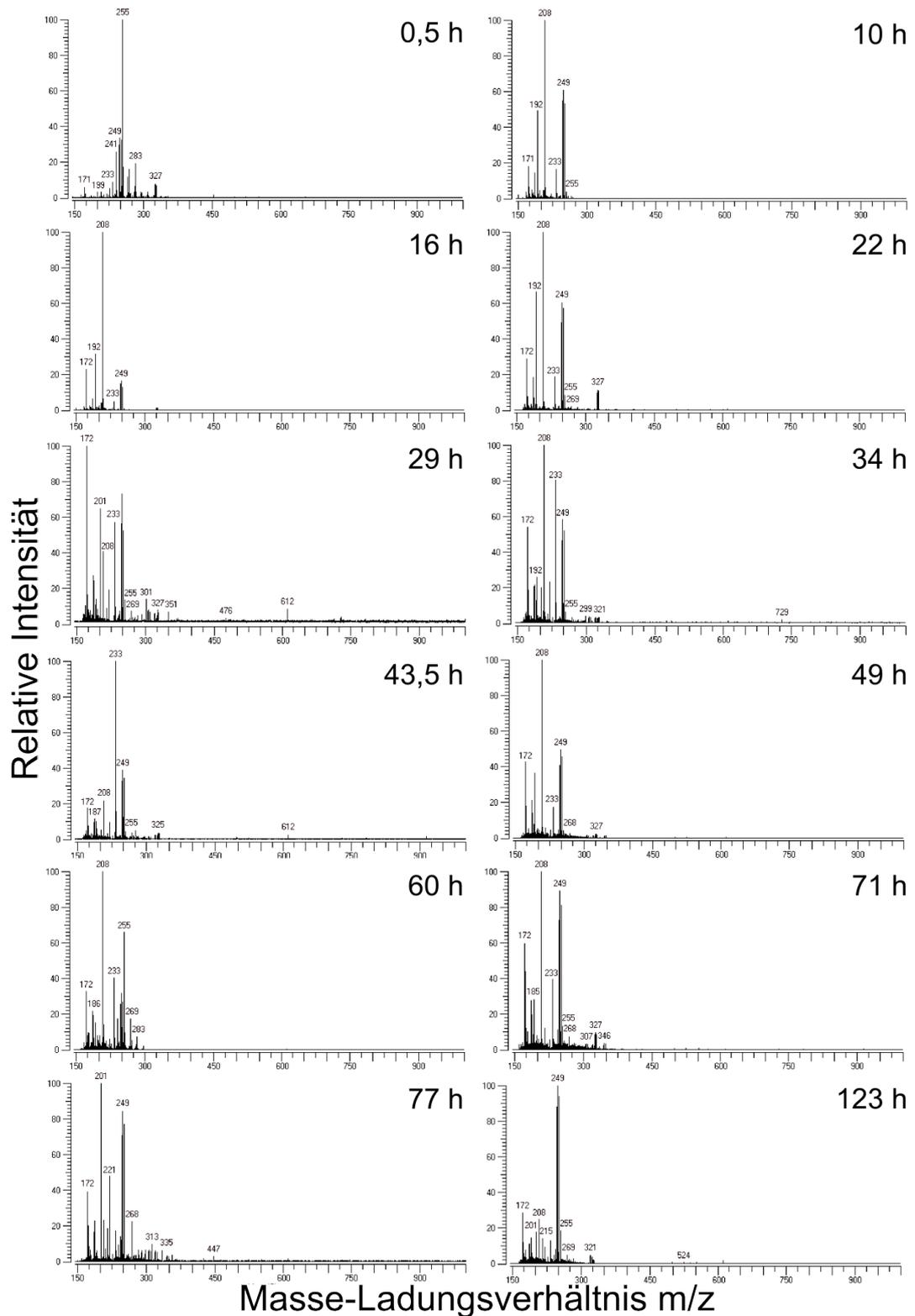


Abbildung A.15: Hochaufgelöste Spektren der Proben des Miller Experiments, gemessen im negativen Modus.

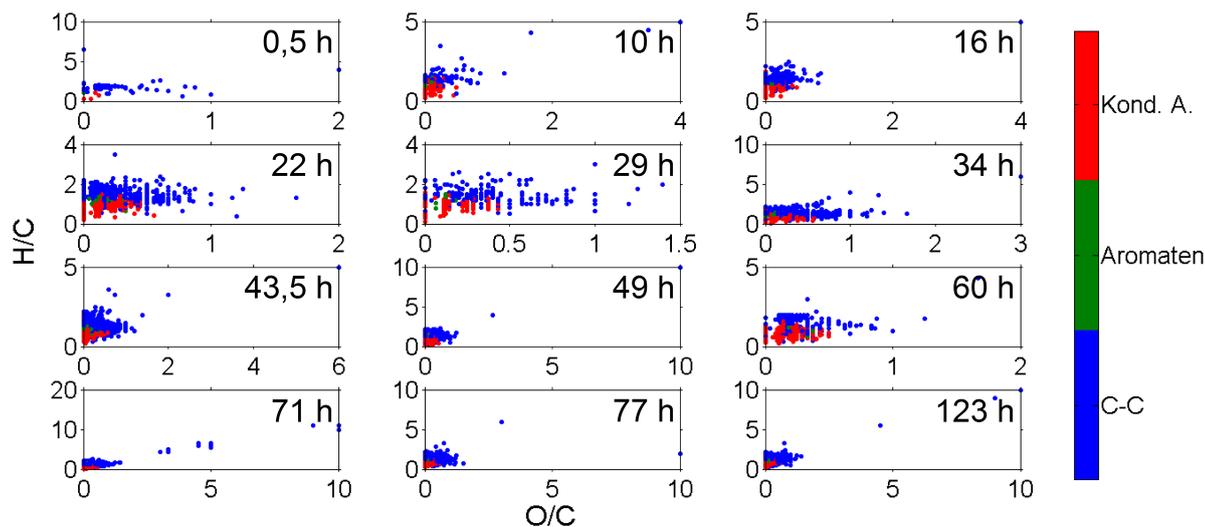


Abbildung A.16: Vollständiges Van-Krevelen-Diagramm der Verhältnisse der Wasserstoff- und Sauerstoffatome zu den Kohlenstoffatomen eines Moleküls (H/C und O/C).

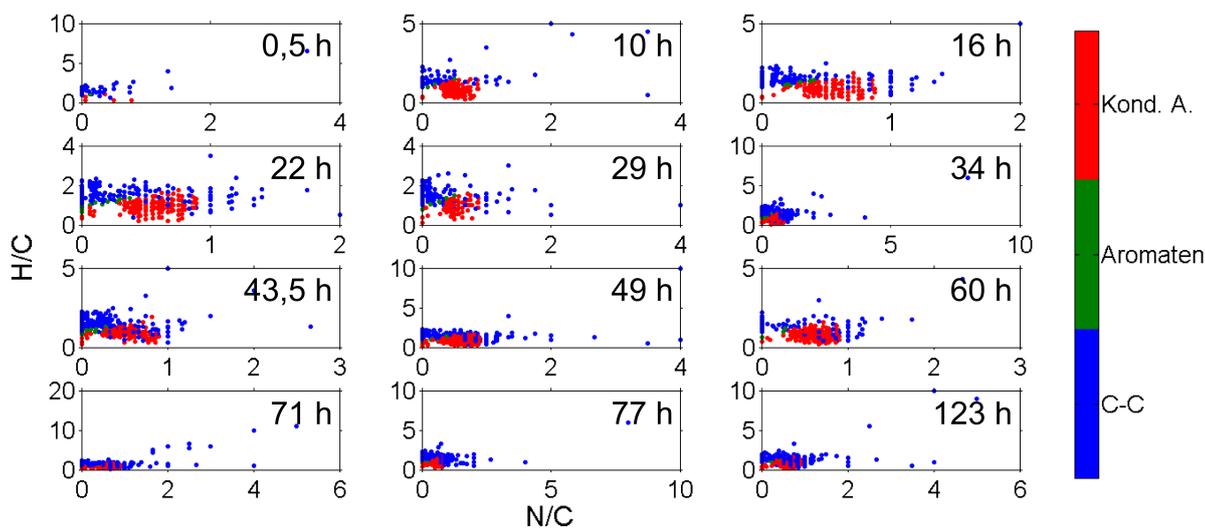


Abbildung A.17: Vollständiges Van-Krevelen-Diagramm der Verhältnisse der Wasserstoff- und Stickstoffatome zu den Kohlenstoffatomen eines Moleküls (H/C und N/C).

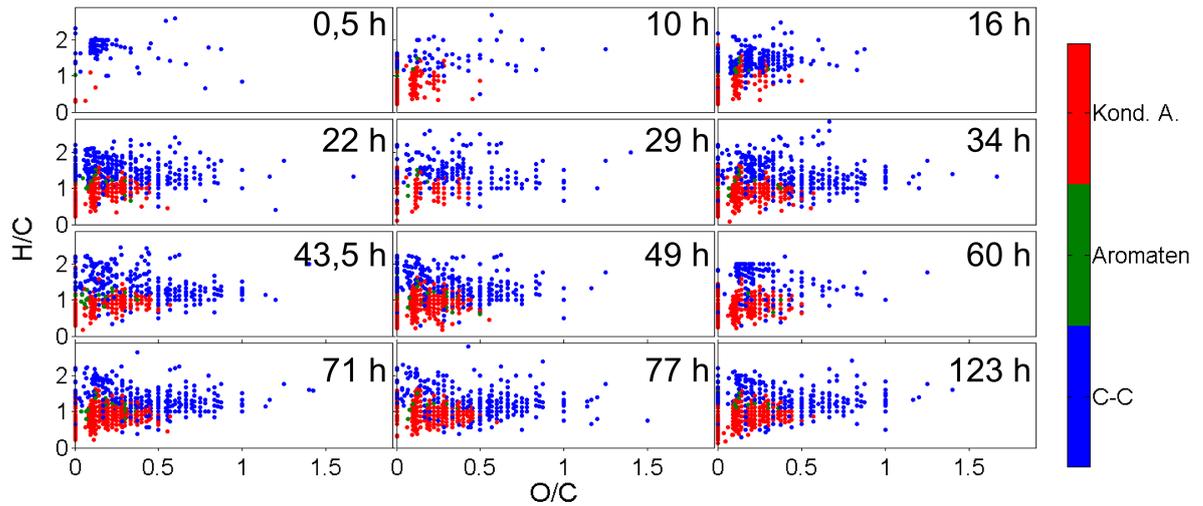


Abbildung A.18: Van-Krevelen-Diagramm der Verhältnisse von Wasserstoff- und Sauerstoffatomen zu Kohlenstoffatomen. Es ist eine leichte Tendenz zu höheren Sauerstoffanteilen während der Dauer des Experiments zu beobachten. Abbildung A.16 zeigt alle Moleküle.

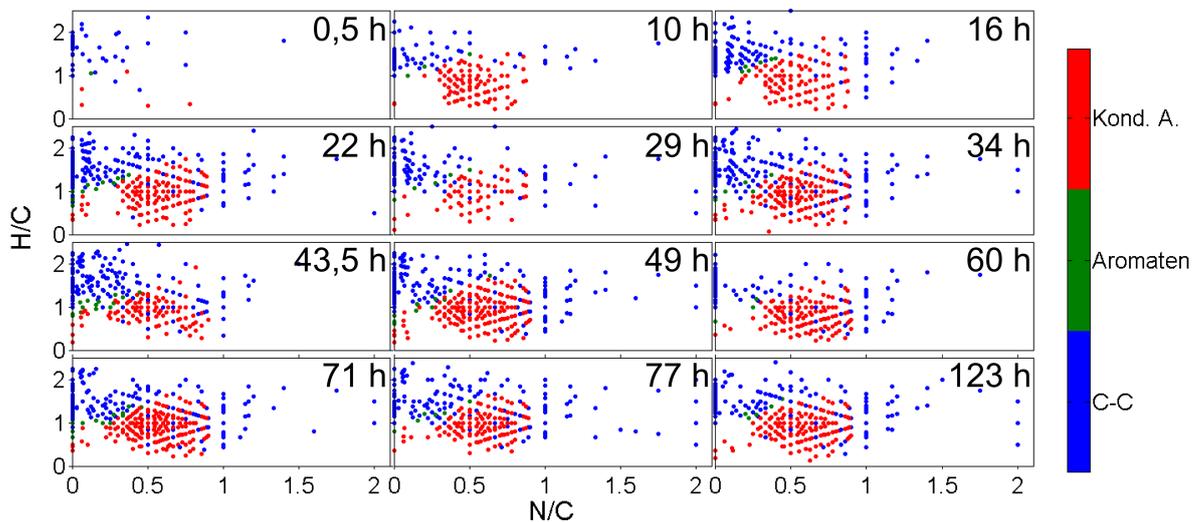


Abbildung A.19: Van-Krevelen-Diagramm der Verhältnisse von Wasserstoff- und Stickstoffatomen zu Kohlenstoffatomen. Während der gesamten Dauer des Experiments werden neue Moleküle mit Stickstoffanteilen vor allem im Bereich bis $N/C = 1$ und $H/C = 2$ gebildet. Abbildung A.17 zeigt alle Moleküle.

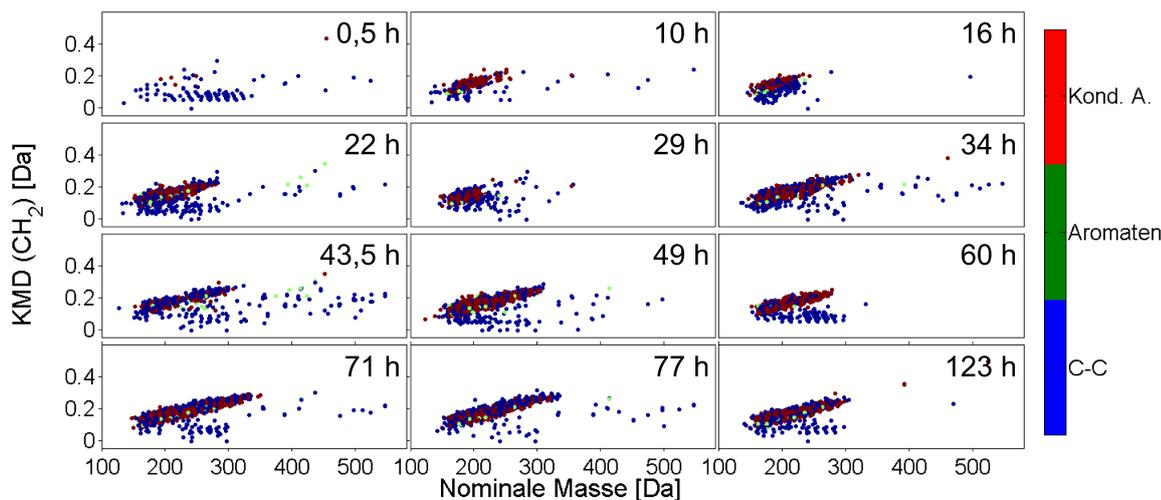


Abbildung A.20: Kendrick-Diagramme aller Proben des Miller-Experiments. Als Basismasse wurde CH_2 .

A.5.3 Zusatz von Palladium

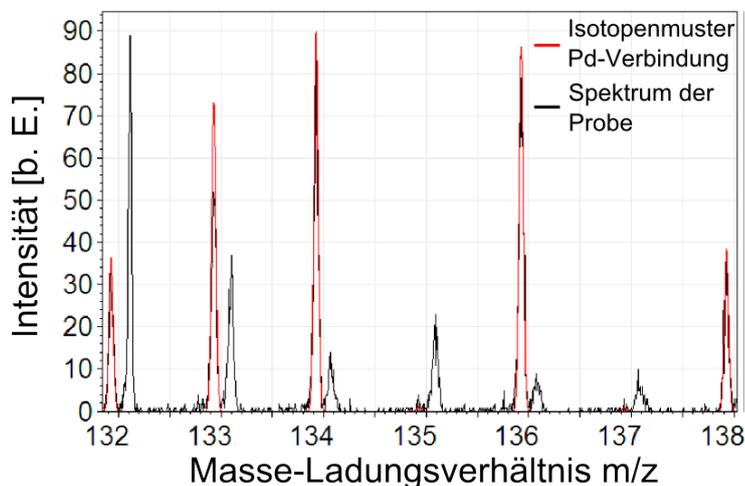


Abbildung A.21: Vergleich eines Peakmusters im Miller-Experiment mit Palladium und einem simulierten Isotopenmuster von PdCO . Es lässt sich eine hohe Übereinstimmung feststellen, wobei viele andere Moleküle ein ähnliches Isotopenmuster liefern, solange sie ein Palladiumatom enthalten. Damit kann geschlossen werden, dass im Miller-Experiment mit Palladium organische Verbindungen mit Palladium entstanden. Die Simulation des Isotopenmusters erfolgte mit der Software *mmass* [94].

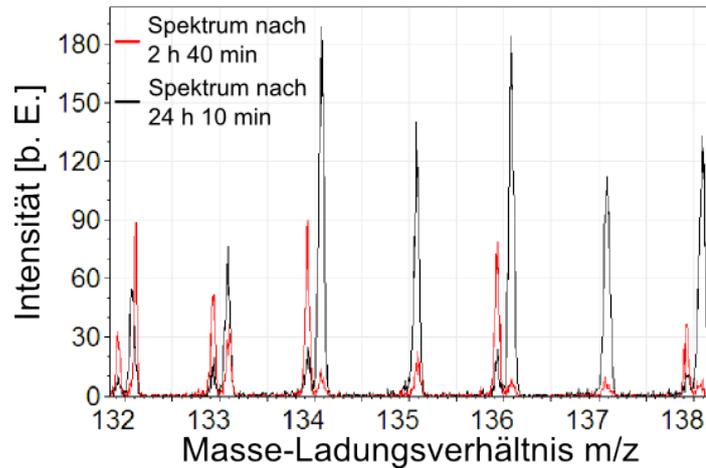


Abbildung A.22: Spektren des Miller-Experiments mit Palladium. Palladiumverbindungen haben einen negativen Massendefekt und die Peaks liegen unterhalb der nominalen Masse. Organische Verbindungen haben in der Regel einen positiven Massendefekt und liegen oberhalb der nominalen Masse. Zum Ende des Experiments nahm die Intensität der Palladiumverbindungen gegenüber den rein organischen Substanzen des Experiments ab.

A.5.4 Dotierung

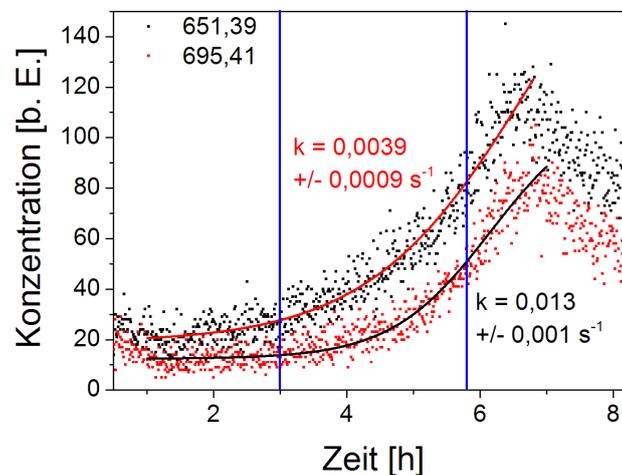


Abbildung A.23: Verlauf der Konzentrationen zweier Oligomere der Reihe 2 während der ersten acht Stunden des Experiments. Sie stiegen über mehrere Stunden kontinuierlich an. Die beiden Hinzugaben (blaue Linie bei 2,95 h und 5,78 h) der Lösung eines früheren Miller-Experiments, die ebenfalls Oligomere enthielt, hatten keinen sichtbaren Einfluss auf die Bildung der Oligomere. Die Anstiege ließen sich jeweils mit sigmoidalen Funktionen, wie sie für einen autokatalytischen Prozess zu erwarten sind, anpassen. Dabei ergeben sich unterschiedliche Reaktionskonstanten k .

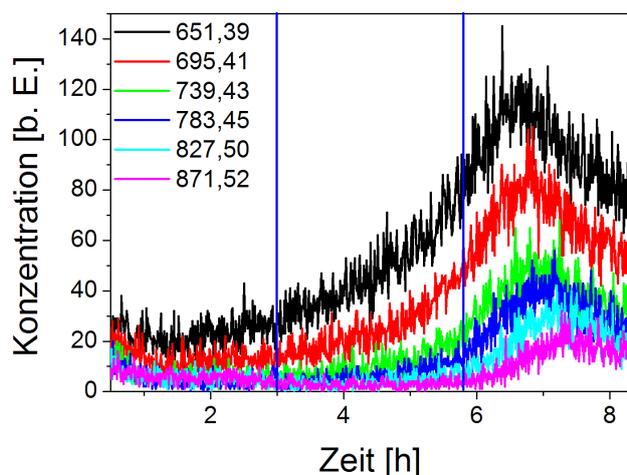


Abbildung A.24: Verlauf der Konzentrationen der Oligomere der Reihe 2 während der ersten acht Stunden des Experiments. Sie stiegen über mehrere Stunden kontinuierlich an. Die Hinzugabe der Lösung eines früheren Miller-Experiments, die ebenfalls Oligomere enthielt, ist durch die blauen Linien bei 2,95 h und 5,78 h gekennzeichnet. Ein Einfluss auf die Bildung der Oligomere lässt sich nicht erkennen. Die einzelnen Oligomere der Reihe bildeten sich nacheinander, wobei die kürzesten Oligomere zuerst erschienen und das intensivsten Signal im Massenspektrum lieferten. Der Abbau der kurzen Oligomere begann vor dem der Schwereren.

A.5.5 Hochauflösende Massenspektrometrie der Oligomere

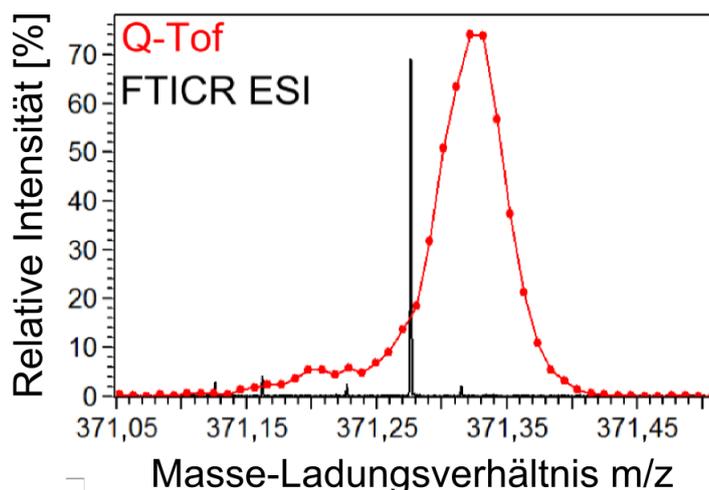


Abbildung A.25: Vergleich der Auflösung einer Messung mit dem Q-ToF und mit dem FTICR (ESI). Während das Spektrum des Q-ToF einen breiten Peak mit Schulter lieferte, konnten im FTICR vier verschiedene Peaks aufgelöst werden.

A.5.6 NMR-Spektroskopie

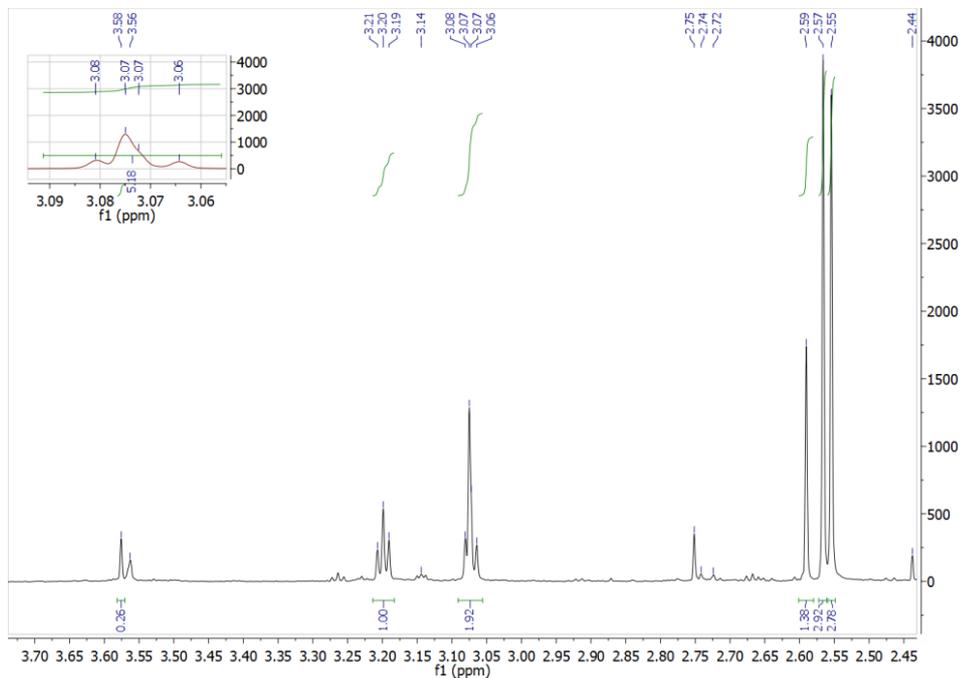


Abbildung A.26: ^1H Spektrum der Probe 1. Oben stehen die chemischen Verschiebungen in ppm, unten sind die Werte der Integrale der Peaks notiert.

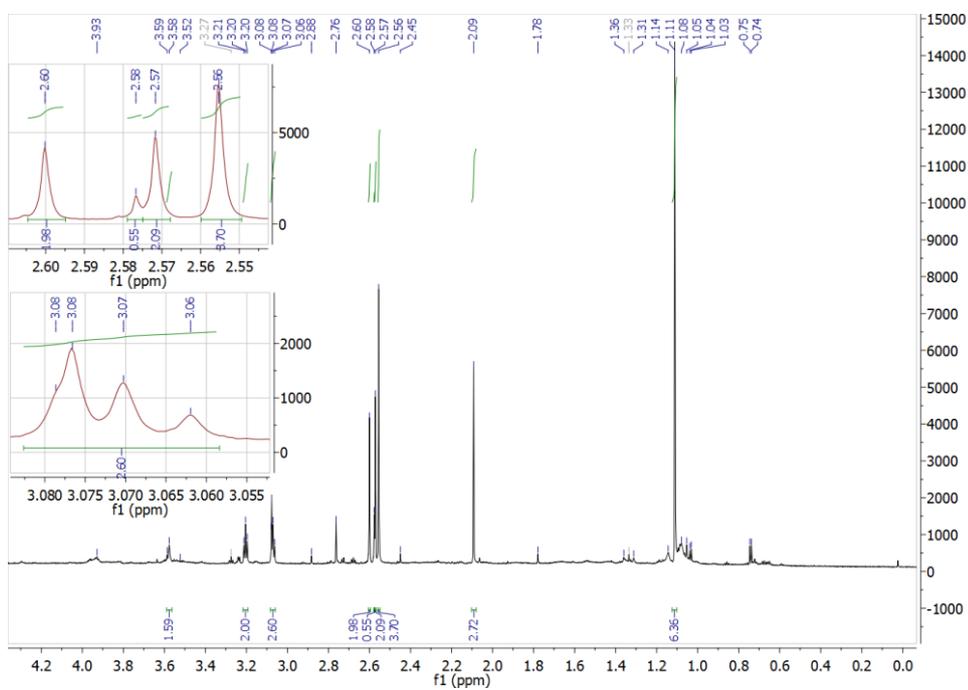


Abbildung A.27: ^1H Spektrum der Probe 1. Oben stehen die chemischen Verschiebungen in ppm, unten sind die Werte der Integrale der Peaks notiert.

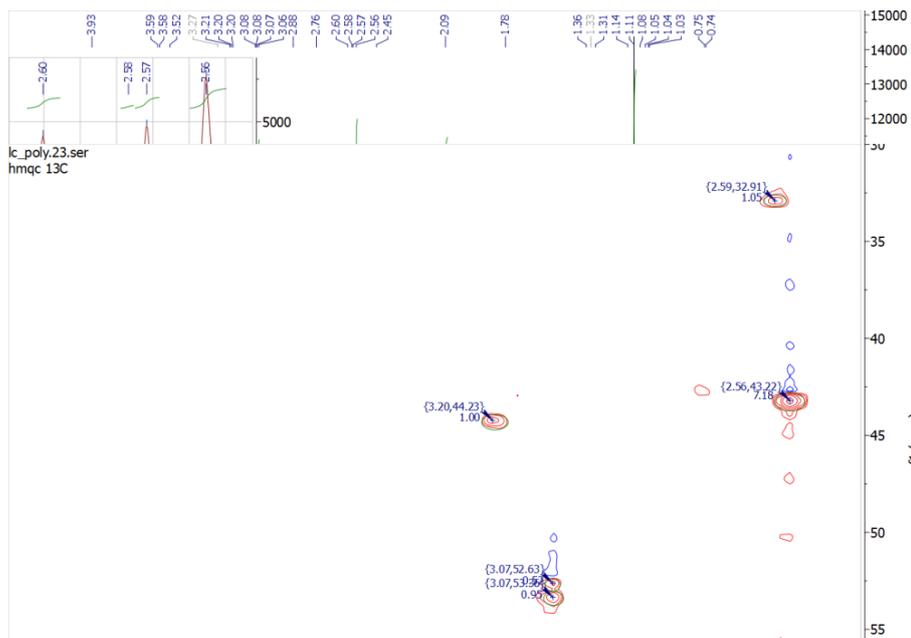


Abbildung A.28: Spektrum des HMQC-Experiments der Probe 1. Die Peaks sind mit ihren chemischen Verschiebungen und ihren Volumina beschriftet. Das ^{13}C -Signal ist gegen das ^1H -Signal aufgetragen. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

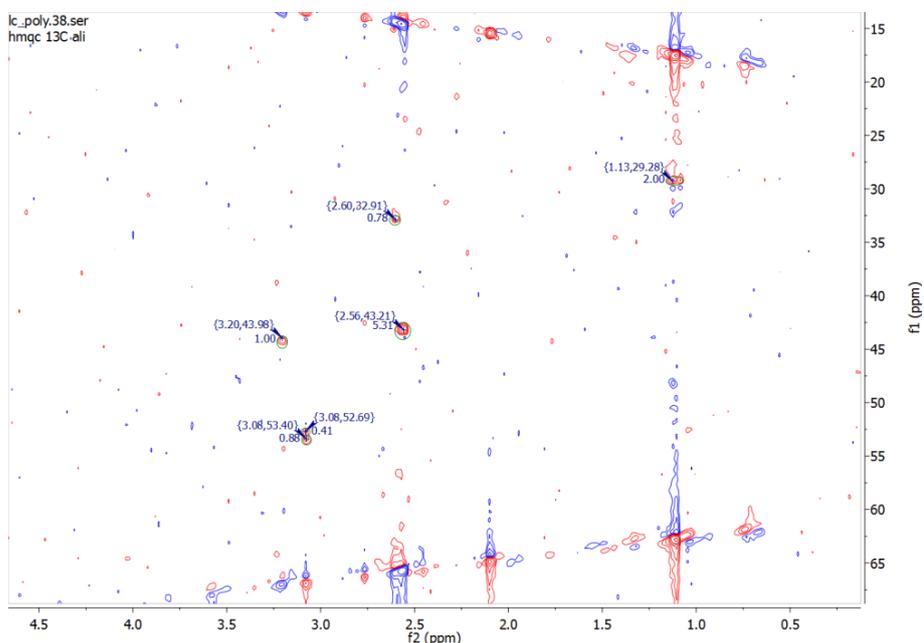


Abbildung A.29: Spektrum des HMQC-Experiments der Probe 2. Die Peaks sind mit ihren chemischen Verschiebungen und ihren Volumina beschriftet. Das ^{13}C -Signal ist gegen das ^1H -Signal aufgetragen. Die Streifen oben und unten in den Spektren sind Messartefakte. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

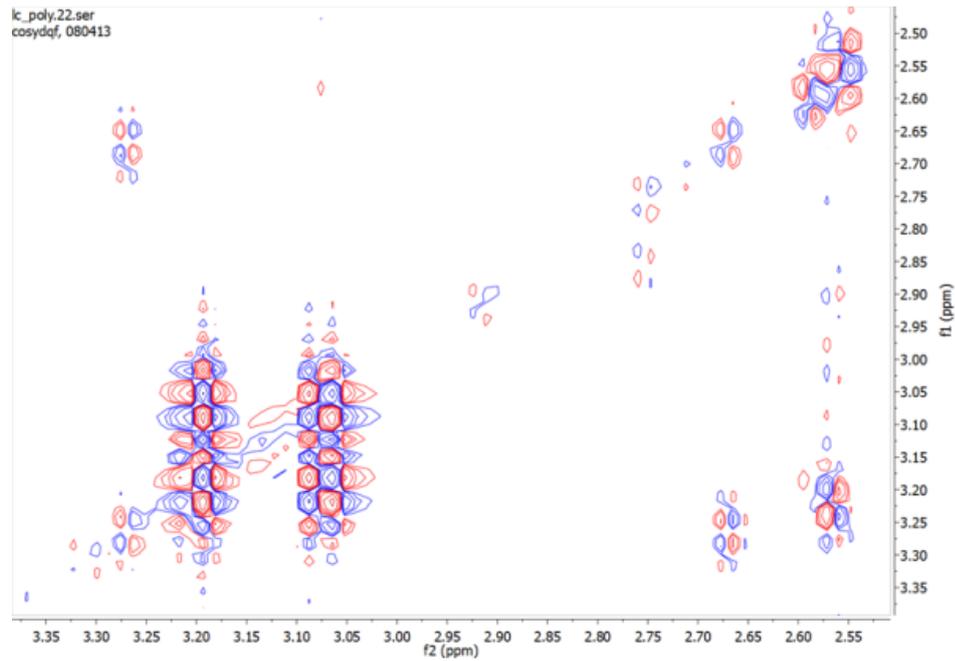


Abbildung A.30: Spektrum des COSY-Experiments der Probe 1. Korrelationen zwischen Spinsystem 2 und 3 sind zu identifizieren. Es sind ^1H -Signale aufgetragen. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

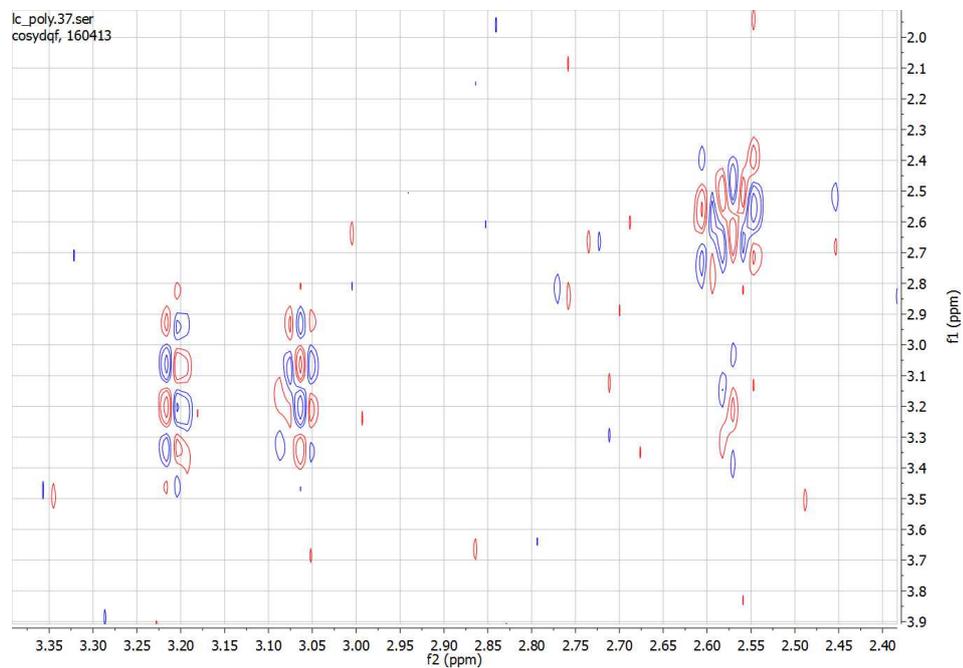


Abbildung A.31: Spektrum des COSY-Experiments der Probe 2. Korrelationen zwischen Spinsystem 2 und 3 sind zu identifizieren. Es sind ^1H -Signale aufgetragen. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

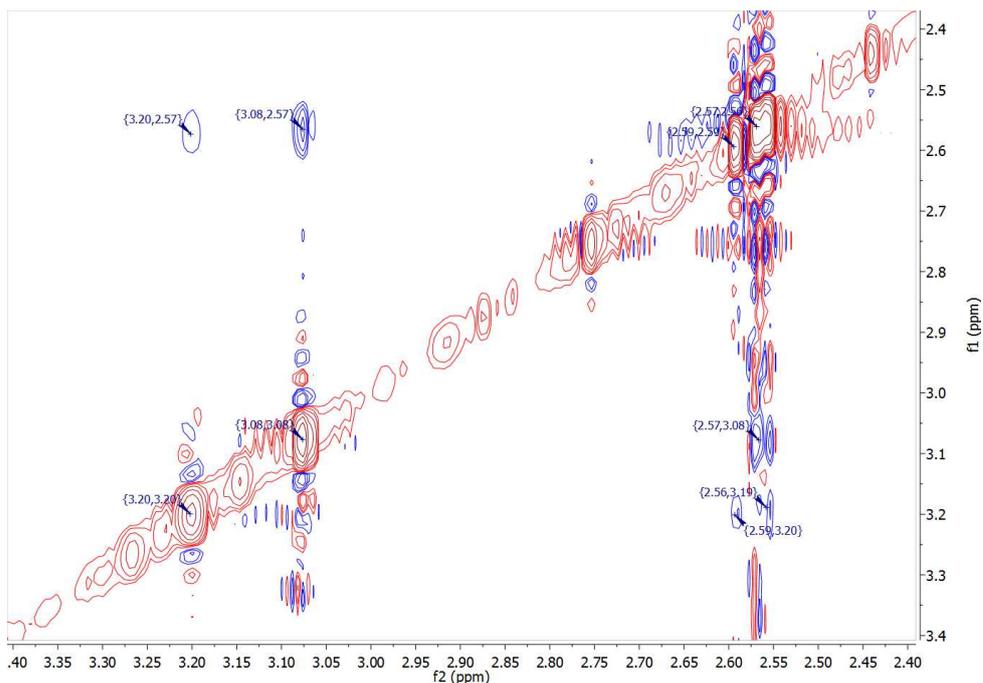


Abbildung A.32: Spektrum des ROESY-Experiments von Probe 1. Es sind ^1H -Signale aufgetragen. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

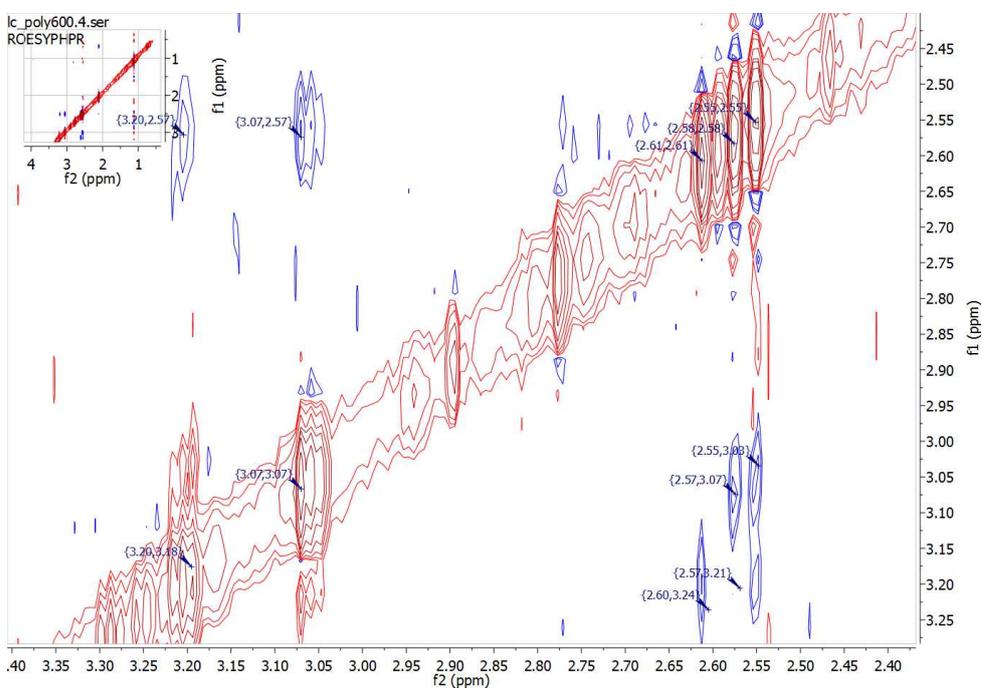


Abbildung A.33: Spektrum des ROESY-Experiments von Probe 2. Es sind ^1H -Signale aufgetragen. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

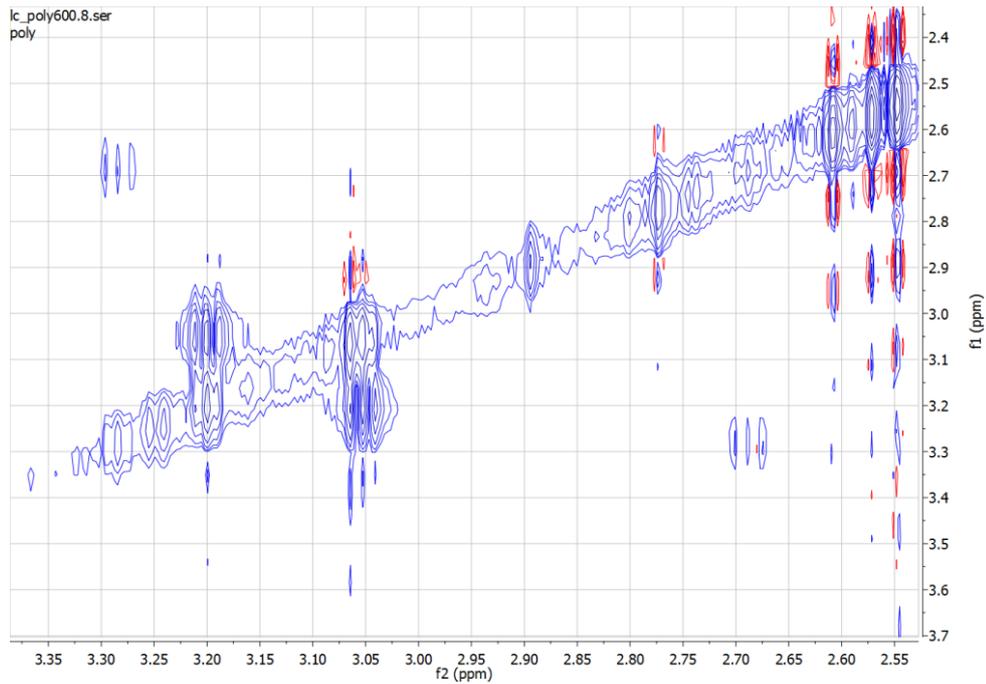


Abbildung A.34: Spektrum des TOCSY-Experiments der Probe 2. Es sind ^1H -Signale aufgetragen. Korrelationen zwischen Spinsystem 2 und 3 sind zu identifizieren. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

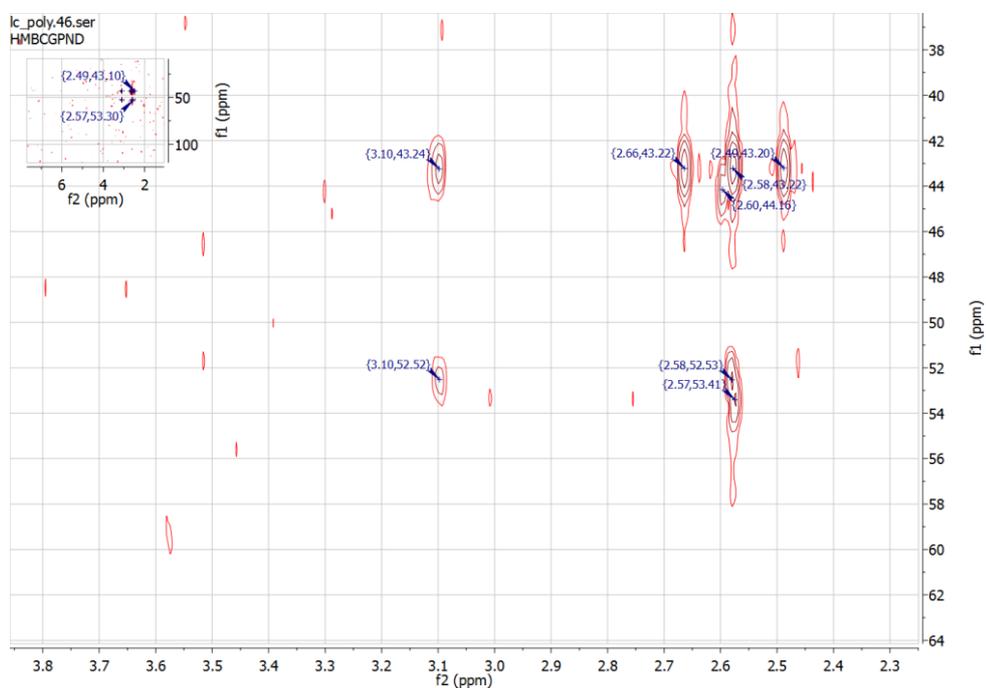


Abbildung A.35: Spektrum des HMBC-Experiments von Probe 1. Das ^{13}C -Signal ist gegen das ^1H -Signal aufgetragen. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

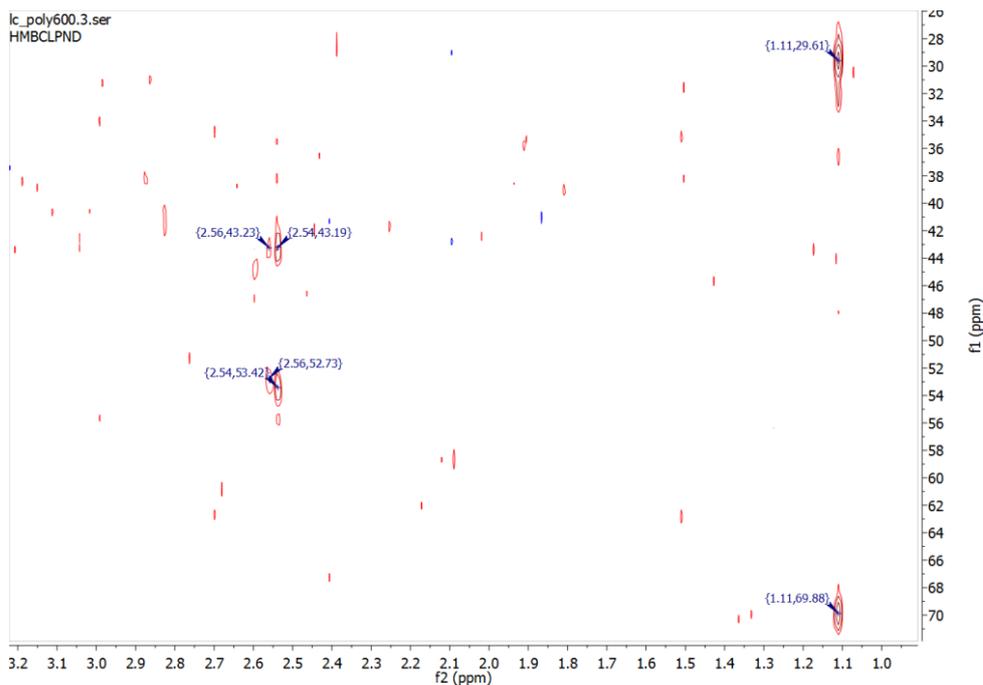


Abbildung A.36: Spektrum des HMBC-Experiments von Probe 2. Das ^{13}C -Signal ist gegen das ^1H -Signal aufgetragen. Die Intensität des Signals ist schwach. Positive Korrelationen sind rot und negative Korrelationen sind blau markiert.

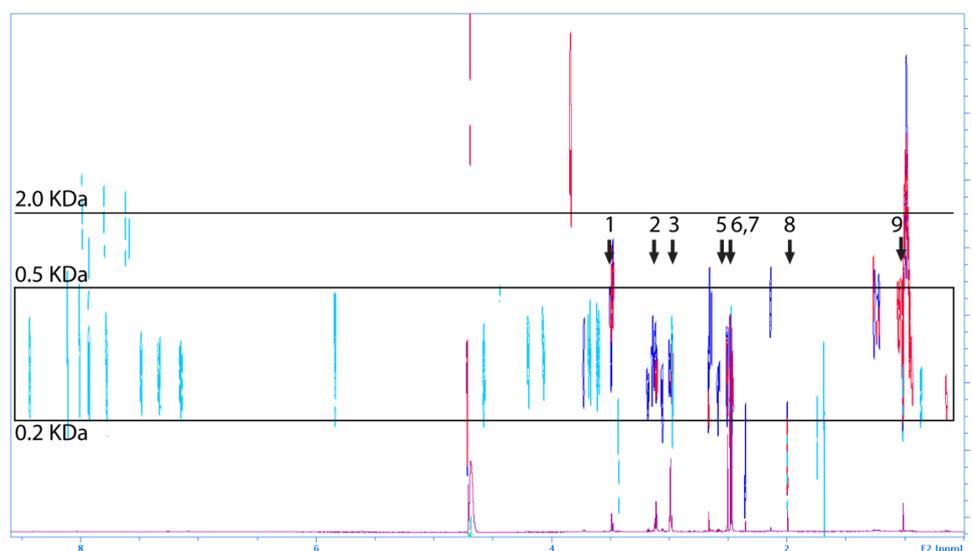


Abbildung A.37: Überlagerung der Spektren des DOSY-Experiments. Die Diffusionskonstante ist gegen die chemische Verschiebung aufgetragen. Die blauen Streifen markieren die Substanzen der Probe 1. Die Substanzen der Probe 2 sind rot markiert und ein Standard aus Substanzen mit Massen zwischen 0,2 und 2 kDa sind in cyan eingefärbt. Die Pfeile markieren die Spinsysteme 1 bis 9.

Literaturverzeichnis

- [1] LATSCHA, H. P., KLEIN, H. A., MUTZ, M.: *Allgemeine Chemie - Chemie Basiswissen I*. 10. Auflage. Heidelberg [u.a.] : Springer, 2011.
- [2] SCHÄFER, H. J.: CC-Verknüpfungen an Anode und Kathode. In: *Angew. Chem.* 93 (1981), S. 978–1000.
- [3] ATKINS, P. W., DE PAULA, J.: *Kurzlehrbuch Physikalische Chemie*. Weinheim : Wiley-VCH, 2008.
- [4] JOB, G., RÜFFLER, R.: *Physikalische Chemie*. Wiesbaden : Vieweg+Teubner, 2011.
- [5] KUHN, H., FÖRSTERLING, H.-D.: *Principles of Physical Chemistry*. Chichester : Wiley, 2000.
- [6] RAUCHFUSS, H.: *Chemische Evolution und der Ursprung des Lebens*. Berlin, Heidelberg : Springer, 2005.
- [7] STROGATZ, S. H.: *Nonlinear dynamics and chaos : with applications to physics, biology, chemistry, and engineering*. Cambridge : Westview Press, 2000.
- [8] MESCHEDE, D.: *Gerthsen Physik*. 24. Auflage. Berlin, Heidelberg : Springer, 2010.
- [9] HAKEN, H.: *Synergetik - Eine Einführung*. Berlin, Heidelberg : Springer, 1982.
- [10] WERNER, B. T.: Complexity in Natural Landform Patterns. In: *Science* 284 (1999), S. 102–104.
- [11] FIELD, R. J., SCHNEIDER, F. W.: Oszillierende chemische Reaktionen und nicht-lineare Dynamik. In: *Chem. Unserer Zeit* 1 (1988), S. 17–29.
- [12] FRANCK, U. F.: Chemische Oszillationen. In: *Angew. Chem.* 1 (1978), S. 1–78.
- [13] EPSTEIN, I. R., SHOWALTER, K.: Nonlinear Chemical Dynamics: Oscillations, Patterns, and Chaos. In: *J. Phys. Chem.* 100 (1996), S. 13132–13147.
- [14] KAUSHIK, S. M., YUAN, Z., NOYES, R. M.: A simple Demonstration of a Gas Evolution Oscillator. In: *J. Chem. Educ.* 63 (1986), S. 76–80.
- [15] SCHRÖDINGER, E.: *Was ist Leben?* 10. Auflage. München : Piper, 2010.

- [16] PRIGOGINE, I., STENGERS, I.: *Dialog mit der Natur: neue Wege naturwissenschaftlichen Denkens*. 4. Auflage. München [u.a.] : Piper, 1983.
- [17] EIGEN, M.: *Stufen zum Leben*. München [u.a.] : Piper, 1987.
- [18] EIGEN, M.: Selforganization of Matter and the Evolution of Biological Macromolecules. In: *Naturwissenschaften* 58 (1971), S. 465–523.
- [19] EIGEN, M., SCHUSTER, P.: The Hypercycle. A Principle of Natural Self-Organization Part A: Emergence of the Hypercycle. In: *Naturwissenschaften* 64 (1977), S. 541–565.
- [20] SACKMANN, E.: *Biophysik Skript*. 4. Auflage. TU München : Institut für Biophysik, 2000.
- [21] EIGEN, M., SCHUSTER, P.: The cle. A Principle of Natural Self-Organization Part B: The Abstract Hypercycle. In: *Naturwissenschaften* 65 (1978), S. 7–41.
- [22] EIGEN, M., SCHUSTER, P.: The Hypercycle. A Principle of Natural Self-Organization Part C: The Realistic Hypercycle. In: *Naturwissenschaften* 65 (1978), S. 341–369.
- [23] BARABÁSI, A.-L., OLVATAI, Z. N.: Network Biology: Understanding the cell's functional organization. In: *Nat. Rev. Genet.* 5 (2004), S. 101–114.
- [24] KAUFFMAN, S. A.: *The Origins of Order: Self-Organization and Selection in Evolution*. New York : Oxford University Press, 1993.
- [25] BAIL, U., CRÜSEMANN, F., CRÜSEMANN, M., DOMAY, E., EBACH, J., JANSSEN, C., KÖHLER, H., KUHLMANN, H., LEUTZSCH, M., SCHOTTROFF, L. (Hrsg.): *Bibel in gerechter Sprache*. 2. Auflage. Gütersloh : Gütersloh Verlagshaus, 2006.
- [26] OPARIN, A. I.: *Die Entstehung des Lebens auf der Erde*. 3. Auflage. Berlin : VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1957.
- [27] ORGEL, L. E.: The origin of life - a review of facts and speculations. In: *Trends Biochem. Sci.* 23 (1998), S. 491–495.
- [28] SHAW, G. H. : Earth's atmosphere - Hadean to early Proterozoic. In: *Chem. Erde* 68 (2008), S. 235–264.
- [29] KASTING, J. F. : Earth's Early Atmosphere. In: *Science* 259 (1993), S. 920–926.
- [30] BONNER, J. T.: The Origins of Multicellularity. In: *Integr. Biol.* 1 (1998), S. 27–36.
- [31] FASTOVSKY, D. E., WEISHAMPEL, D. B. (Hrsg.): *Dinosaurs: A Concise Natural History*. 2. Auflage. New York : Cambridge University Press, 2005.
- [32] MCDUGALL, I., BROWN, F. H., FLEAGLE, J. G.: Stratigraphic placement and age of modern humans from Kibish, Ethiopia. In: *Nature* 433 (2005), S. 733–736.

-
- [33] ASTON, F. W.: The Rarity of the Inert Gases on the Earth. In: *Nature* 114 (1924), S. 786.
- [34] MILLER, S. L., ORGEL, L. E.: *The origins of life on the earth*. 10. Auflage. Englewood Cliffs, New Jersey : Prentice Hall, 1974.
- [35] MILLER, S. L.: A Production of Amino Acids Under Possible Primitive Earth Conditions. In: *Science* 117 (1953), S. 528–529.
- [36] MILLER, S.L.: Production of Some Organic Compounds under Possible Primitive Earth Conditions. In: *J. Am. Chem. Soc.* 77 (1955), S. 2351–2361.
- [37] PARKER, E. T., CLEAVES, H. J., DWORKIN, J. P., GLAVIN, D. P., CALLAHAN, M., AUBREY, A., LAZCANO, A., BADA, J. L.: Primordial synthesis of amines and amino acids in a 1958 Miller H₂S-rich spark discharge experiment. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108 (2011), S. 5526–5531.
- [38] SAGAN, C., MILLER, S. L.: Molecular Synthesis in Simulated Reducing Planetary Atmospheres. In: *Astron. J.* 65 (1960), S. 499.
- [39] MILLER, S.L.: The mechanism of synthesis of amino acids by electric discharges. In: *Biochim. Biophys. Acta* 23 (1957), S. 490–498.
- [40] BADA, J. L., LAZCANO, A.: Prebiotic Soup - Revisiting the Miller Experiment. In: *Science* 300 (2003), S. 745–755.
- [41] JOHNSON, A. P., CLEAVES, H. J., DWORKIN, J. P., GLAVIN, D. P., LAZCANO, A., BADA, J. L.: The Miller Volcanic Spark Discharge Experiment. In: *Science* 322 (2003), S. 404.
- [42] GLAVIN, D. P., BADA, J. L., BRINTON, K. L. F., McDONALD, G. D.: Amino acids in the Martian meteorite Nakhla. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96 (1999), S. 8835–8838.
- [43] EHRENFREUND, P., CHARNLEY, S. B.: Organic molecules in the interstellar medium, comets, and meteorites: a voyage from dark clouds to the Early Earth. In: *Annu. Rev. Astron. Astrophys.* 38 (2000), S. 427–483.
- [44] MEIERHENRICH, U. J., MUÑOZ CARO, G. M., BREDEHÖFT, J. H., JESSBERGER, E. K., THIEMANN, W. H.-P.: Identification of diamino acids in the Murchison meteorite. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101 (2004), S. 9182–9186.
- [45] KVENVOLDEN, K., LAWLESS, J., PERING, K., PETERSON, E., FLORES, J., PONNAMPERUMA, C., KAPLAN, I. R., MOORE, C.: Evidence for Extraterrestrial Amino-acids and Hydrocarbons in the Murchison Meteorite. In: *Nature* 228 (1970), S. 923–926.
- [46] WÄCHTERSCHÄUSER, G.: Before Enzymes and Templates: Theory of Surface Metabolism. In: *Microbiol. Rev.* 52 (1988), S. 452–484.
-

- [47] ORÓ, J., KIMBALL, A., FRITZ, R., MASTER, F.: Amino Acid Synthesis from Formaldehyde and Hydroxylamine. In: *Arch. Biochem. Biophys.* 86 (1959), S. 115–130.
- [48] KOBAYASHI, K., KANEKO, T., SAITO, T., OSHIMA, T. : Amino Acid Formation in Gas Mixtures by High Energy Particle Irradiation. In: *Orig. Life Evol. Biosph.* 28 (1998), S. 155–165.
- [49] SANTAMARIA, L., FLEISCHMANN, L.: Photochemical Synthesis of Amino Acids From Paraformaldehyde Catalysed by Inorganic Agents. In: *Experientia* 22 (1966), S. 430–431.
- [50] GROTH, W., VON WEYSSENHOFF, H.: Photochemische Bildung von Aminosäuren aus Mischungen einfacher Gase. In: *Naturwissenschaften* 44 (1957), S. 510–511.
- [51] BAR-NUN, A., SHAVIV, A.: Dynamics of the Chemical Evolution of Earth's Primitive Atmosphere. In: *Icarus* 24 (1975), S. 197–210.
- [52] LOWE, C. U., REES, M. W., MARKHAM, R.: Synthesis of complex organic compounds from simple precursors: formation of amino-acids, amino-acid polymers, fatty acids and purines from ammonium cyanide. In: *Nature* 199 (1963), S. 219–222.
- [53] FOX, S. W.: Thermal synthesis of amino acids and the origin of life. In: *Geochim. Cosmochim. Acta* 59 (1995), S. 1213–1214.
- [54] GRAW, J.: *Genetik*. 4. Auflage. Berlin, Heidelberg : Springer, 2006.
- [55] ORÓ, J.: Synthesis of Adenine from Ammonium Cyanide. In: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2 (1960), S. 407–412.
- [56] SANCHEZ, R., FERRIS, J., ORGEL, L. E.: Conditions for Purine Synthesis: Did Prebiotic Synthesis Occur at Low Temperatures? In: *Science* 153 (1966), S. 72–73.
- [57] FERRIS, J. P., SANCHEZ, R. A., ORGEL, L. E.: Studies in Prebiotic Synthesis III. Synthesis of Pyrimidines from Cyanoacetylene and Cyanate. In: *J. Mol. Biol.* 33 (1968), S. 693–704.
- [58] SANCHEZ, R., FERRIS, J., ORGEL, L. E.: Cyanoacetylene in Prebiotic Synthesis. In: *Science* 154 (1966), S. 784–785.
- [59] BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L., STRYER, L.: *Biochemistry*. 5. Auflage. New York : W. H. Freeman and Company, 2002.
- [60] ZWECKMAIR, T., BÖHMDORFER, S., BOGOLITSYNA, A., ROSENAU, T., POTTHAST, A., NOVALIN, S.: Accurate Analysis of Formose Reaction Products by LC-UV: An Analytical Challenge. In: *J. Chromatogr. Sci.* (2013), S. 1–7.
- [61] HARSCH, M.: *Die Formose-Reaktion*, Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen, Dissertation, 1979.

-
- [62] HERNANTO, A. R.: *Die Formose-Reaktion, Produktverteilung und intermediär auftretende Co-Katalysatoren*, Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen, Dissertation, 1984.
- [63] SIMIONESCU, C. I., TOTOLIN, M. I., DENES, F.: Abiotic synthesis of some polysaccharide-like and polypeptide-like structures in cold plasma. In: *Biosystems* 8 (1976), S. 153–158.
- [64] RICARDO, A., CARRIGAN, M. A., OLCOTT, A. N., BENNER, S. A.: Borate Minerals Stabilize Ribose. In: *Science* 303 (2004), S. 196.
- [65] FERRIS, J. P., HAGAN JR., W. J.: HCN and chemical evolution: The possible role of Cyano Compounds in prebiotic synthesis. In: *Tetrahedron* 40 (1984), S. 1093–1120.
- [66] MCCOLLOM, T. M., RITTER, G., SIMONEIT, B. R. T.: Lipid synthesis under hydrothermal conditions by Fischer-Tropsch-Type reactions. In: *Orig. Life Evol. Biosph.* 29 (1999), S. 153–166.
- [67] TIAN, F., KASTING, J.F., ZAHNLE, K.: Revisiting HCN formation in Earth's early atmosphere. In: *Earth Planet. Sci. Lett.* 308 (2011), S. 417–423.
- [68] ORÓ, J.: Mechanism of Synthesis of Adenine from Hydrogen Cyanide under Possible Primitive Earth Conditions. In: *Nature* 191 (1961), S. 1193–1194.
- [69] BONNET, J.Y., THISSEN, R., FRISARI, M., VUITTON, V., QUIRICO, E., LE ROY, L., FRAY, N., COTTIN, H., HÖRST, S. M., YELLE, R.: HCN Polymers: Composition And Structure Revisited By High Resolution Mass Spectrometry. In: *Proc. Lunar Planet Sci. Conf.*, 2010.
- [70] RUIZ-BERMEJO, M., DE LA FUENTE, J. L., ROGERO, C., MENOR-SALVANA, C., OSUNA-ESTEBAN, S., MARTÍN-GAGO, J. A.: Synthesis of complex organic compounds from simple precursors: formation of amino-acids, amino-acid polymers, fatty acids and purines from ammonium cyanide. In: *Chem. Biodivers.* 9 (2012), S. 25–39.
- [71] MATTHEWS, C. N.: The origin of proteins: Heteropolypeptides from hydrogen cyanide and water. In: *Orig. Life* 6 (1975), S. 155–162.
- [72] MATTHEWS, C. N., MINARD, R. D.: Hydrogen cyanide polymers, comets and the origin of life. In: *Faraday Discuss.* 133 (2006), S. 393–401.
- [73] SCHWARTZ, A. W., GOVERDE, M.: Acceleration of HCN Oligomerization by Formaldehyde and related Compounds: Implications for Prebiotic Syntheses. In: *J. Mol. Evol.* 18 (1982), S. 351–353.
- [74] SEGRÉ, D., LANCET, D.: A Statistical Chemistry Approach to the Origin of Life. In: *Chemtracts - Biochem. Mol. Bio.* 12 (1999), S. 382–397.
- [75] GILBERT, W.: The RNA-World. In: *Nature* 319 (1986), S. 618.
-

- [76] TRINKS, H., SCHRÖDER, W., BIEBRICHER, C. K.: Ice and the origin of Life. In: *Orig. Life Evol. Biosph.* 35 (2005), S. 429–445.
- [77] P. E. NIELSEN: Peptide nucleic acid (PNA): a model structure for the primordial genetic material. In: *Orig. Life Evol. Biosph.* 23 (1993), S. 323–327.
- [78] BELLOCHE, A., MENTEN, K. M., COMITO, C., MÜLLER, H. S. P., SCHILKE, P., OTT, J., THORWIRTH, S., HIERET, C.: Detection of amino acetonitrile in Sgr B2(N). In: *Astron. Astrophys.* 482 (2008), S. 179–196.
- [79] BAUTSCH, M., VARADINEK, P., WEGE, S., NIEDRIG, H.: Compact and inexpensive quartz capillaritron source. In: *J. Vac. Sci. Technol. A* 12 (1994), S. 591–593.
- [80] MAHONEY, J. F., PERER, J., FORRESTER, A. T.: Capillaritron: A new, versatile ion source. In: *Appl. Phys. Lett.* 38 (1981), S. 320–322.
- [81] WOLLRAB, E.: *Parallele Messungen unter Verwendung von DNA Hybridisierung; Analysen zur Entwicklung des Gemisches des Miller-Urey Experiments*. Diplomarbeit, Universität des Saarlandes, 2009.
- [82] HIPPLER, A.-L.: *Präbiotische Evolution*. Projektpraktikum, Universität des Saarlandes, 2011.
- [83] BUSCH, K. L.: Units in Mass Spectrometry. In: *Curr. Trends Mass Spectrom.* 18 (2003), S. 32–34.
- [84] GROSS, Jürgen H.: *Mass spectrometry : a textbook*. Berlin, Heidelberg : Springer, 2011.
- [85] WATSON, J. T., SPARKMAN, O. D.: *Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications, and Strategies for Data Interpretation*. Chichester : Wiley, 2008.
- [86] WATERS, Corporation: *Micromass Q-Tof micro Mass Spectrometer, Operator's Guide*. 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA, 2002.
- [87] GROSS, Jürgen H.: *Massenspektrometrie - Ein Lehrbuch*. Berlin, Heidelberg : Springer Spektrum, 2013.
- [88] DE HOFFMANN, E., STROOBANT, V.: *Mass Spectrometry - Principles and Applications*. 3. Auflage. Chichester : Wiley, 2007.
- [89] GBDIVERS (OWN WORK): *GFDL* (<http://www.gnu.org/copyleft/fdl.html>). via Wikimedia Commons, 2013.
- [90] WIZA, J. L.: Microchannel plate detectors. In: *Nucl. Instrum. Methods* 162 (1979), S. 587–601.
- [91] CHERNUSHEVICH, I. V., LOBODA, A. V., THOMSON, B. A.: An introduction to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. In: *J. Mass Spectrom.* 36 (2001), S. 849–865.

-
- [92] LTD., Micromass: *Engineer Reference*. Manchester, UK, 2001.
- [93] KARAS, M., BAHR, U., DÜLCKS, T.: Nano-electrospray ionization mass spectrometry: addressing analytical problems beyond routine. In: *Fresenius J. Anal. Chem.* 366 (2000), S. 669–676.
- [94] STROHALM, M., HASSMAN, M., KOŠATA, B., KODÍČEK, M.: mMass Data Miner: an Open Source Alternative for Mass Spectrometric Data Analysis. In: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22 (2008), S. 905–908.
- [95] CHAMBERS, M. C., MACLEAN, B., BURKE, R., AMODE, D., RUDERMAN, D. L., NEUMANN, S., GATTO, L., FISCHER, B., PRATT, B., EGERTSON, J., HOFF, K., KESSNER, D., TASMAN, N., SHULMAN, N., FREWEN, B., BAKER, T. A., BRUSNI-
AK, M.-Y., PAULSE, C., CREASY, D., FLASHNER, L., KANI, K., MOULDING, C., SEYMOUR, S. L., NUWAYSIR, L. M., LEFEBVRE, B., KUHLMANN, F., ROARK, J., RAINER, P., DETLEV, S., HEMENWAY, T., HUHMER, A., LANGRIDGE, J., CON-
NOLLY, B., CHADICK, T., HOLLY, K., ECKELS, J., DEUTSCH, E. W., MORITZ, R. L., KATZ, J. E., AGUS, D. B., MACCOSS, M., TABB, D. L., MALLICK, P.: A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. In: *Nat. Biotechnol.* 30 (2012), S. 918–920.
- [96] MATLAB: *version 7.14.0.739 (R2012a)*. Natick, Massachusetts : The MathWorks Inc., 2012.
- [97] MITCHELL, T. N., COSTISELLA, B.: *NMR - From Spectra to Structures*. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg : Springer, 2007.
- [98] FRIEBOLIN, H.: *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*. 5. Auflage. Weinheim : Wiley-VCH, 2013.
- [99] MORRIS, K. F., JOHNSON JR., C. S.: Diffusion-Ordered Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992), S. 3139–3141.
- [100] KEMPF, Y.: *Massenspektrometrische Untersuchung von organischen Gemischen*. Bachelorarbeit, Universität des Saarlandes, 2010.
- [101] NURSTEN, H. E. (Hrsg.): *Maillard reaction: Chemistry, biochemistry and implications*. 1. Auflage. Cambridge : Royal Society of Chemistry eBook Collection, 2005.
- [102] TAUSCH, M. W.: *Homepage der Chemiedidaktik Wuppertal*. Website, .
– online auf http://www.chemiedidaktik.uni-wuppertal.de/alte_seite_du/material/milch/lactose/maillard.pdf, zuletzt besucht 15.10.12.
- [103] OPGEN-RHEIN, R., STRIMMER, K.: From correlation to causation networks: a simple approximate learning algorithm and its application to high-dimensional plant gene expression data. In: *BMC Syst. Biol.* 1 (2007), S. 37.
-

- [104] R CORE TEAM: *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2012. <http://www.R-project.org>
- [105] ALBERT, R., BARABÁSI, A.-L.: Statistical mechanics of complex networks. In: *Rev. Mod. Phys.* 74 (2002), S. 47–97.
- [106] OPGEN-RHEIN, R., STRIMMER, K.: Using regularized dynamic correlation to infer gene dependency networks from time-series microarray data. In: *Proc. Int. Workshop Comput. Sys. Bio., WCSB 4* (2006), S. 73–76.
- [107] SCHERER, Sabrina, Universität des Saarlandes, Dissertation, in Vorbereitung.
- [108] SCHRAMM, S., CARRÉ, V., SCHEFFLER, J.-L., AUBRIET, F.: Analysis of Mainstream and Sidestream Cigarette Smoke Particulate Matter by Laser Desorption Mass Spectrometry. In: *Anal. Chem.* 83 (2011), S. 133–142.
- [109] KOCH, B. P., DITTMAR, T.: From mass to structure: an aromaticity index for high-resolution mass data of natural organic matter. In: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (2006), S. 926–932.
- [110] KIM, S., KRAMER, R. W., HATCHER, P. G.: Graphical Method for Analysis of Ultrahigh-Resolution Broadband Mass Spectra of Natural Organic Matter, the Van Krevelen Diagram. In: *Anal. Chem.* 75 (2003), S. 5336–5344.
- [111] T.REEMTSMA: Determination of molecular formulas of natural organic matter molecules by (ultra-) high-resolution mass spectrometry: Status and needs. In: *J. Chromatogr. A* 1216 (2009), S. 3687–3701.
- [112] KENDRICK, E.: A Mass Scale Based on $\text{CH}_2 = 14.0000$ for High Resolution Mass Spectrometry of Organic Compounds. In: *Anal. Chem.* 35 (1963), S. 2146–2154.
- [113] WALES, T. E., ENGEN J. R.: Hydrogen exchange mass spectrometry for the analysis of protein dynamics. In: *Mass Spectrom. Rev.* 25 (2006), S. 158–170.
- [114] LI, C.-J.: Organic Reactions in Aqueous Media - With a Focus on Carbon-Carbon Bond Formation. In: *Chem. Rev.* 93 (1993), S. 2023–2035.
- [115] GEY, M. H.: *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik*. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg : Springer, 2008.
- [116] SNYDER, L.E., BUHL, D., ZUCKERMAN, B., PALMER, P.: Microwave detection of interstellar formaldehyde. In: *Phys. Rev. Lett.* 22 (1969), S. 679–681.
- [117] RAVASZ, E., SOMERA, A. L., MONGRU, D. A., OLTVAI, Z. N., BARABÁSI, A.-L.: Hierarchical Organization of Modularity in Metabolic Networks. In: *Science* 297 (2002), S. 1551–1555.
- [118] ALBERT, R., BARABÁSI, A.-L.: Topology of Evolving Networks: Local Events and Universality. In: *Phys. Rev. Lett.* 85 (2000), S. 5234–5237.

-
- [119] YASUDA, H.: Glow Discharge Polymerization. In: *J. Polym. Sci.: Macromol. Rev.* 16 (1981), S. 199–293.
- [120] ETLING, D.: *Theoretische Meteorologie*. 3. Auflage. Berlin, Heidelberg [u.a.] : Springer, 2008.
- [121] SELLMANN, D.: Diimin und seine Derivate. In: *Chem. Unserer Zeit* 7 (1973), S. 163–170.
- [122] SCHLEGEL, H. B., SKANCKE, A.: Thermochemistry, Energy Comparisons, and Conformational Analysis of Hydrazine, Triazane, and Triaminoammonia. In: *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993), S. 7465–7471.
- [123] STEIGMILLER, S., TURINA, P., GRÄBER, P.: The thermodynamic H⁺/ATP ratios of the H⁺-ATPsynthases from chloroplasts and Escherichia coli. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105 (2008), S. 3745–3750.
- [124] BAČIĆ, G., SPASOJEVIĆ, I., ŠEĆEROV, B., MOJOVIĆ, M.: Spin-trapping of oxygen free radicals in chemical and biological systems: New traps, radicals and possibilities. In: *Spectrochimica Acta Part A* 69 (2008), S. 1354–1366.
- [125] ROBERTS, R. L., LLOYD, R. V.: Free Radical Formation from Secondary Amines in the Maillard Reaction. In: *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997), S. 2413–2418.
- [126] ELSEVIER INFORMATION SYSTEMS GMBH: *Beilstein Database*. 2007
- [127] REED ELSEVIER PROPERTIES: *Reaxys*. 2013.
- [128] LATTIMER, R. P.: Tandem mass spectrometry of poly(ethylene glycol) proton- and deuterium-attachment ions. In: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* 116 (1992), S. 23–26.
- [129] SELBY, T. L., WESDEMIOTIS, C., LATTIMER, R. P.: Dissociation Characteristics of [M + X]⁺ Ions (X = H, Li, Na, K) from Linear and Cyclic Polyglycols. In: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.* 5 (1994), S. 1081–1092.
- [130] KALINOSKI, H. T., HARGISS, L. O.: Collision-induced Dissociation Mass Spectrometry of Nonionic Surfactants Following Direct Supercritical Fluid Injection. In: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 3 (1992), S. 150–158.
- [131] LATTIMER, R. P.: Tandem Mass Spectrometry of Lithium-Attachment Ions from Polyglycols. In: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 3 (1992), S. 225–234.
- [132] CHEN, R., TSENG, A. M., UHING, M., LI, L.: Application of an Integrated Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight, Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry Approach to Characterizing Complex Polyol Mixtures. In: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 12 (2001), S. 55–60.
-

- [133] SCATTERGOOD, T. W., MCKAY, W. J., BORUCKI, W. J., GIVER, L. P., VAN GHYSEGHEM, H., PARRIS, J. E., MILLER, S. L.: Production of Organic Compounds in Plasmas: A Comparison among Electric Sparks, Laser-Induced Plasmas, and UV Light. In: *Icarus* 81 (1989), S. 413–428.
- [134] BRACHOLD, H., PEUCKERT, C., REGNER, H.: Lichtbogen-Plasma-Reaktor für die Herstellung von Acetylen aus Kohle. In: *Chem. Ing. Tech.* 3 (1993), S. 293–297.
- [135] ENGEL, M. H., MACKO, S. A., QIAN, Y., SILFER, J. A.: Stable isotope analysis at the molecular level: A new approach for determining the origins of amino acids in the Murchison meteorite. In: *Adv. Space Res.* 15 (1995), S. 99–106.
- [136] MENOR-SALVÁN, C., RUIZ-BERMEJO, M., OSUNA-ESTEBAN, S., MUÑOZ-CARO, G., VEINTEMILLAS-VERDAGUER, S.: Synthesis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Acetylene Polymers in Ice: A Prebiotic Scenario. In: *Chemistry and Biodiversity* 5 (2008), S. 2729–2739.
- [137] KIM, Y.-J., UYAMA, H., KOBAYASHI, S.: Regioselective Synthesis of Poly(phenylene) as a Complex with Poly(ethylene glycol) by Template Polymerization of Phenol in Water. In: *Macromolecules* 36 (2003), S. 5058–5060.
- [138] WEISS, A. H., TRIGERMAN, S., DUNNELIS, G., LIKHOLOBOV, V. A., BIRON, E.: Ethylene Glycol from Formaldehyde. In: *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 18 (1979), S. 522–526.
- [139] KOKUFUTA, E., SHIBASAKI, T., NAKAMURA, I., HARADA, K., SODEYAMA, T.: Degradation of Polyethylene Glycol in a Localized Reaction Zone during Glow Discharge Electrolysis. In: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1 (1985), S. 100–102.
- [140] WELLS, G. P., ESTRADA-RAYGOZA, I. C., THAMBAN, P. L. S., NELSON, C. T., CHUNG, C.-W., OVERZET, L. J., GOECKNER, M. J.: Understanding the Synthesis of Ethylene Glycol Pulsed Plasma Discharges. In: *Plasma Process. Polym.* 10 (2013), S. 119–135.
- [141] NATIONAL RADIO ASTRONOMY OBSERVATORY: *Scientists toast the discovery of vinyl alcohol in interstellar space.* Press Release, October 2001.
- [142] HOLLIS, J. M., LOVAS, F. J., COUDERT, L. H.: Interstellar antifreeze: ethylene glycol. In: *Astrophys. J.* 571 (2002), S. 59–62.
- [143] SCHERER, S.: *Die Entstehung komplexer, organischer, molekularer Verbindungen unter Zufuhr von Energie.* Bachelorarbeit, Universität des Saarlandes, 2010.
- [144] CLARKE, D. W., FERRIS, J. P.: Titan Haze: Structure and Properties of Cyanoacetylene and Cyanoacetylene-Acetylene Photopolymers. In: *Icarus* 127 (1997), S. 158–172.
- [145] BADA, J. L.: How life began on Earth: a status report. In: *Earth Planet. Sci. Lett.* 226 (2004), S. 1–15.

- [146] J.-M. LEHN: Constitutional Dynamic Chemistry: Bridge from Supramolecular Chemistry to Adaptive Chemistry. In: *Top. Curr. Chem.* 322 (2012), S. 1–32.
- [147] SCHMITT, M.: Introduction to analyzing the solidification of multifunctional acrylic esters by ESR. In: *Analyst* 13 (2013), S. 3758–3770.
- [148] FOX, S. W., VEGOTSKY, A., HARADA, K., HOAGLAND, P. D.: Spontaneous generation of anabolic pathways, protein, and nucleic acid. In: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 69 (1957), S. 328–337.
- [149] LÜHKEN, A., BADER, H. J.: Pyrolyse organischer Verbindungen im Mikrowellenofen. In: *Chemkon* 10 (2003), S. 69–72.
- [150] KALAGHATGI, Prabhav: *Analysis of products of complex organic mixtures pyrolyzed using microwave radiation*. Fortgeschrittenenpraktikum Biowissenschaften, Universität des Saarlandes, 2012.
- [151] ALON, U.: Network motifs: theory and experimental approaches. In: *Nature* 9 (2007), S. 450–461.
- [152] WESTON, A., BROWN, P. R.: *HPLC and CE: Principles and Practice*. San Diego : Academic Press, 1997.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Prof. Dr. Albrecht Ott danken. Er ermöglichte diese Arbeit und ihm gilt ein besonderer Dank für eine hervorragende Betreuung und großartige Förderung. Die anregenden Diskussionen und die Ideen, die daraus entstanden, sind Grundlage dieser Arbeit und waren auch persönlich sehr bereichernd.

Prof. Dr. Dr. Karsten Kruse danke ich für spannende Diskussionen und treffsichere Fragen. Ihm möchte ich außerdem für die Übernahme des zweiten Gutachtens danken.

Je remercie Professeur Dr. Frédéric Aubriet et Dr. Vincent Carré (Laboratoire de Chimie et de Physique - Approche Multi-Echelles des Milieux Complexes (LCP-A2MC), Université de Lorraine) pour leur soutien au cours des manipulations de spectrométrie de masse, ainsi que de leur aide pour interpréter les résultats. Ils m'ont permis de rejoindre leur équipe de recherche LCP-A2MC, que je remercie tant pour son accueil chaleureux, pour les centaines de cafés offerts, que pour sa serviabilité.

Prof. Dr. Rolf Müller (Pharmazeutische Biotechnologie), Universität des Saarlandes, danke ich für die Erlaubnis, Messungen an hochauflösenden Massenspektrometern durchzuführen. Seinen MitarbeiterInnen Dr. Daniel Krug und Eva Luxenburger möchte ich dabei besonders für die stete Hilfsbereitschaft und Durchführung der Messungen danken.

Dr. Joseph Zapp (Pharmazeutische Biologie), Universität des Saarlandes, danke ich für viele Gespräche und wertvolle Ideen sowie seine große Unterstützung bei der Durchführung und Interpretation der NMR-Experimente.

I want to thank Dr. Teresa Carlomagno, European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg, for her support with the NMR measurements. I am very grateful to Dr. Luca Codutti for performing and analysing the measurements. Grazie mille!

Klaus Schappert und Prof. Dr. Rolf Pelster (Experimentalphysik und Didaktik der Physik), Universität des Saarlandes, danke ich für die Unterstützung mit der IR-Spektroskopie. Jörg Schmauch (Mitarbeiter am Lehrstuhl für Technische Physik, Prof. Dr. Birringer), Universität des Saarlandes, danke ich für die Durchführung der Rasterelektronenmikroskopie.

Bei Dr. Stefan Boettcher bedanke ich mich für Unterstützung bei der Probenpräparation. Bei der Gruppe der Biologischen Experimentalphysik, Universität des Saarlandes, bedanke ich mich für Hilfsbereitschaft und Humor. Vor allem Sabrina Scherer danke ich für den Ideenaustausch und das Teilen von Freud' und Leid mit unserer Suppe.

Besonders herzlich bedanke ich mich bei meiner Familie. Insbesondere meinen Eltern danke ich für ihre stete Unterstützung in allen Belangen! Viktoria danke für ihre Anregungen zu dieser Arbeit, ihr wertvolles Coaching und für alle Albereien und großartigen „Spässchen“.

Ein großer Dank gilt Petra für ihren steten Optimismus, Verständnis und die schöne Zerstreuung an den Wochenenden.

Ein Rundumschlag des Danks geht an meine lieben FreundInnen und Bekannte für eine wunderschöne Zeit in Saarbrücken, freundliche Telefonate und Besuche.

Für das Korrekturlesen bedanke ich mich bei meinen Eltern, Viktoria, Petra, Sabrina, Jens und Fabienne.