

## Hinweis

Bei dieser Datei handelt es sich um ein Protokoll, das einen Vortrag im Rahmen des Chemielehramtsstudiums an der Uni Marburg referiert. Zur besseren Durchsuchbarkeit wurde zudem eine Texterkennung durchgeführt und hinter das eingescannte Bild gelegt, so dass Copy & Paste möglich ist – aber Vorsicht, die Texterkennung wurde nicht korrigiert und ist gerade bei schlecht leserlichen Dateien mit Fehlern behaftet.

Alle mehr als 700 Protokolle (Anfang 2007) können auf der Seite [http://www.chids.de/veranstaltungen/uebungen\\_experimentalvortrag.html](http://www.chids.de/veranstaltungen/uebungen_experimentalvortrag.html) eingesehen und heruntergeladen werden.

Zudem stehen auf der Seite [www.chids.de](http://www.chids.de) weitere Versuche, Lernzirkel und Staatsexamensarbeiten bereit.

Dr. Ph. Reiß, im Juli 2007

596

Aminosäuren - unter besonderer Berücksichtigung der abiotischen Evolution

Inhalt

- Allgemeines zum Vortrag 1
- V<sub>1</sub> Millersche Aminosäuresynthese 2
- V<sub>2</sub> AS-Nachweis mit Ninhydrin 5
- V<sub>4</sub> Nachweis von Stickstoff in Glyzin
- V<sub>3</sub> Dünnschichtchromatographische Trennung eines Aminosäuregemisches
- V<sub>5</sub> Aufnahme einer Titrationskurve von Glyzin 6
- V<sub>6</sub> Komplexbildung von AS mit Cu<sup>2+</sup> und Fe<sup>3+</sup> Ionen; Einfluß des SH-Restes von Cystein auf die Reaktion 7
- V<sub>7</sub> Nachweis der Disulfidbrücken in Protein und Cystein
- V<sub>8</sub> Thermische Polymerisation von AS auf Lava; Bildung von Mikrosphären 8
- Literatur
- Anhang

## Allgemeines zum Vortrag

Die ursprüngliche Konzeption des Vortrags, sah eine ausschließliche Beschäftigung mit der abiotischen Evolution von biologisch bedeutsamen Grundmolekülen voraus. Beim Literaturstudium wurde jedoch sehr schnell klar, daß die Reaktionszeiten der meisten Simulationsversuche zur abiotischen Evolution viel zu lang sind, um sie in einem Vortrag experimentell demonstrieren zu können. Die einzigen Versuche, die aus diesem Bereich durchführbar waren, zeigen wie AS entstanden sein könnten und wie sie nach Anreicherung zu "Proteinoiden" und "Mikrosphären", also zu möglichen Protozellen, weiterreagiert haben könnten. Die restlichen Versuche demonstrieren die grundlegenden chemischen Eigenschaften von AS. Beispielhaft werden mit dem Cystein die Eigenschaften der Reste von AS diskutiert.

Im Anhang finden sich die Reaktionsgleichungen die die Versuche betreffen. Zusätzlich sind die im Vortrag verwendeten Folien kopiert.

## V<sub>1</sub>: Miller'sche Aminosäuresynthese

### Allgemeines:

Miller gelang 1953 erstmals eine überzeugende Darstellung einfacher AS unter Simulation präbiotischer Erdbedingungen. Er ging von einem Gasgemisch aus ( CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ), dessen Zusammensetzung weitgehend der damaligen Atmosphäre entspricht und ließ elektrische Entladungen in einer zyklischen Apparatur auf das Gasgemisch einwirken. Er fand nach einer Woche Laufzeit, neben einer Unzahl an organischen Verbindungen, größere Mengen von Glyzin und Alanin.

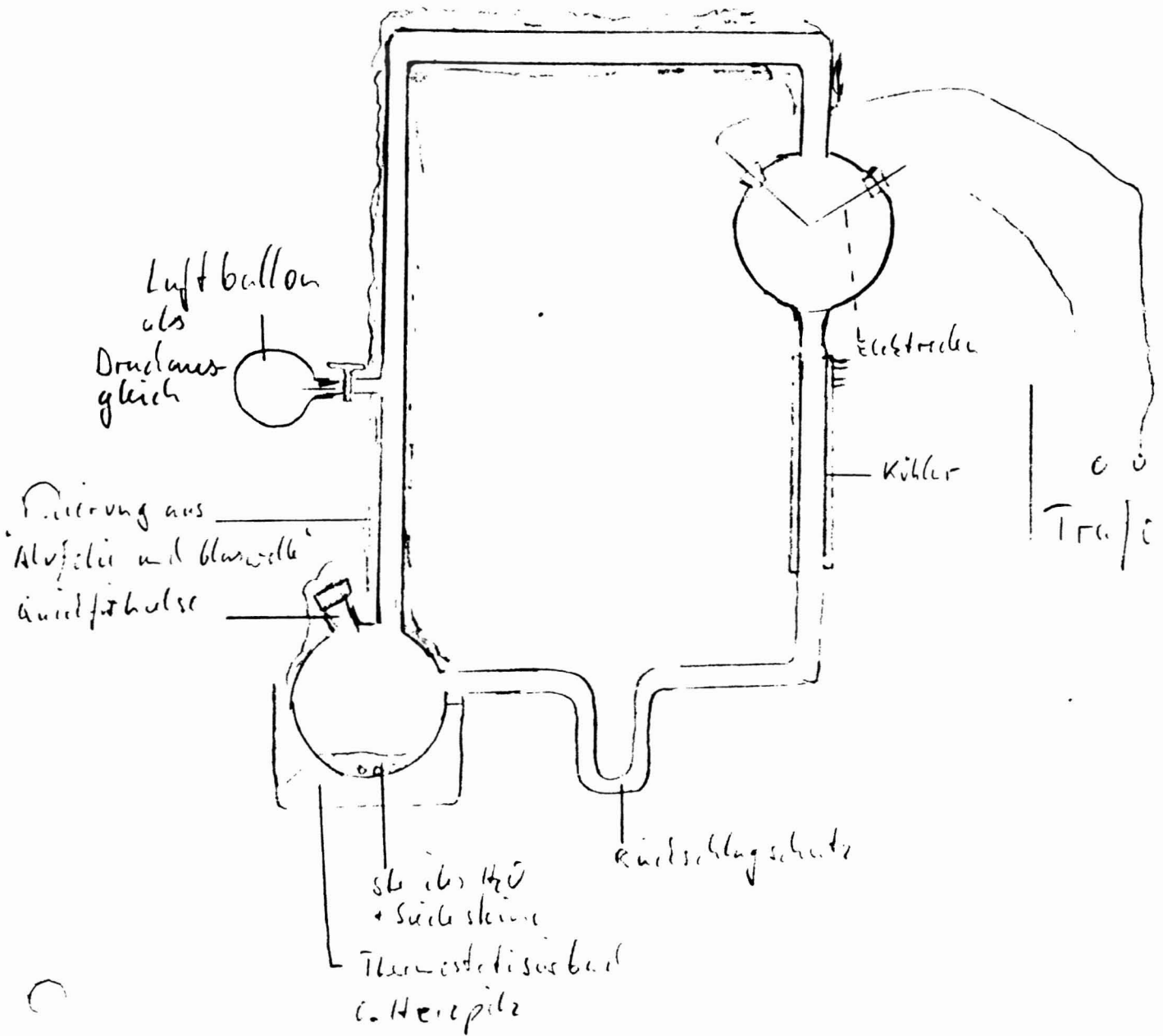
### Material:

- Apparatur ( AG-Follmann )
- Ölbad o. Heizpilz
- Luftballons
- Hochspannungstrafo mit Energieregler
- Siedesteine
- Quickfithülse mit Teflonmembran ( GC )
- Einwegspritze mit langer Nadel
- Alufolie
- Glaswolle
- Stativmaterial
- Wasserstrahlpumpe
- Hg-Manometer
- Wolfsche Flasche
- Schlauchmaterial

### Chemikalien:

- Wasserstoff
- Methan
- Ammoniak-Gas
- Steriles ( AS-freies ) H<sub>2</sub>O

Versuchsaufbau:



Die Apparatur wird, wie in der Skizze dargestellt, spannungsfrei aufgebaut und mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe evakuiert und auf Dichtigkeit überprüft (sehr Wichtig, da sonst Explosionsgefahr).

### Füllen der Apparatur:

Die Apparatur soll mit 40% Methangas, 40% Ammoniakgas und 20% Wasserstoffgas gefüllt werden.

In den Siedekolben gibt man einige Siedesteine und etwa 100ml Wasser; das U-Rohr wird ebenfalls mit sterilem Wasser gefüllt ( Ninhydrin-Test ).

Zum Füllen mit Gas, hält man die Druckgasflaschen und einige Luftballons bereit. Die Apparatur wird nun über den seitlichen Hahn evakuiert. Das Gasvolumen beträgt ca. 1500ml. Man füllt nun einen Ballon mit 500ml  $\text{NH}_3$ -Gas und läßt es über den Hahn in die Apparatur strömen. Das gleiche macht man mit 500ml  $\text{CH}_4$  und 250ml  $\text{H}_2$ . Um den Sauerstoff möglichst völlig aus der Apparatur zu verdrängen, wird jetzt noch einmal evakuiert und die Anlage erneut mit den Gasen beschickt. Ist die Apparatur gefüllt, zieht man einen leeren Luftballon über den Hahn, er dient später als Druckausgleich.

### Inbetriebnahme:

Man heizt nun mit Ölbad oder Heizpilz gerade so hoch, daß Wasserdampf im Elektrodenkolben ankommt. Die von mir benötigten  $140^\circ\text{C}$  waren sicher zu hoch, mit den von Miller angegebenen  $60^\circ\text{C}$ , ist ein Wasserkreislauf nicht zu erhalten. Nachdem der Wasserdampf die Elektroden erreicht hat, schaltet man die Hochspannung ein und regelt, bis eine konstante Funkenstrecke an den Elektroden vorliegt. Man läßt die Anlage eine Woche möglichst ununterbrochen laufen.

### Auswertung:

Mit einer Kanüle können über die Quickfithülse regelmäßig Proben aus dem Sumpf gezogen werden und mit Ninhydrin auf AS untersucht werden. Zusätzlich ergab eine GC-MS-Analyse von Herrn Steinbach eine größere Anzahl org. Verbindungen. ( s. Anhang ).

## V<sub>2</sub>: AS-Nachweis mit Ninhydrin

Man gibt einige Tropfen einer 0,5 % Ninhydrin-Lsg. in die Probelösung und kocht etwa 2 Minuten. Bei Anwesenheit von AS oder Protein, färbt sich die Lösung violett.

## V<sub>3</sub>: Dünnschichtchromatographische Trennung eines AS-Gemisches

Chemikalien: - 1% ige Lösung von Gly, Ala, Trp und eine Mischung aller drei  
- Laufmittel  
- 0,5%ige Ninhydrin-Lösung

Material: - DC-Karte  
- Mikroentwicklungskammer  
- Zerstäuber  
- Trockenschrank  
- Kapillaren

### Durchführung:

Man markiert mit Bleistift vorsichtig die Startfront etwa 1cm oberhalb des unteren Randes der DC-Karte. Nun gibt man mit Kapillarröhrchen Gly, Ala, Trp und die Mischung auf die Startlinie. Nach Einfüllen des Laufmittels, setzt man die Karte in die Kammer, ohne dass die Startpunkte eintauchen. Nachdem das Laufmittel bis knapp an den oberen Rand gelaufen ist ( 60min ), lässt man die Karte trocknen, besprüht sie mit Ninhydrin-Lsg. und legt sie 5min zum Entwickeln in den 90°C heißen Trockenschrank. Die AS erscheinen als rotbraune Flecken auf der DC-Karte.

## V<sub>4</sub>: Nachweis von Stickstoff in Gly

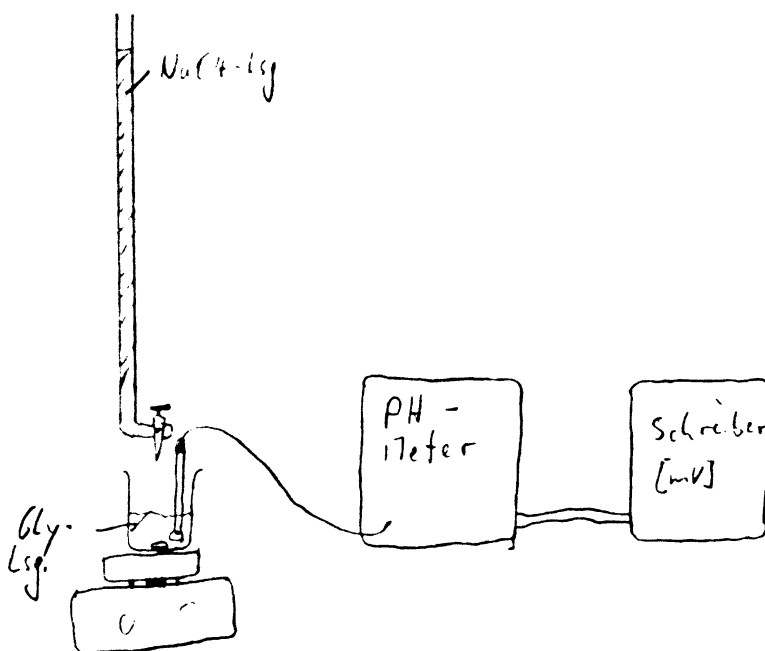
Man gibt einige NaOH-Plätzchen in ein Reagenzglas und überhäuft mit festem Gly. Nun erhitzt man mit dem Brenner und weist gasförmigen Ammoniak mit feuchtem Indikatorpapier nach.

## V<sub>5</sub>: Aufnahme einer Titrationskurve von Gly

Material: -PH-Meter                      Chemikalien: -NaOH-Lsg. ( c=0,1mol/l )  
          -Schreiber                        -Gly-Lsg. ( c=0,1mol/l )  
          -Magnetrührer                    -verdünnte HCl-Lsg.  
          -400ml Becherglas  
          -Bürette

Die Titrationskurve soll während der Titration über den Schreiber aufgenommen werden. Gly ist eine schwache, zwei-protonige Säure, die hier gegen eine starke Base titriert wird. Der Vorschub des Schreibers ist dem zugetropften Volumen an NaOH proportional.

Aufbau:



Versuchsdurchführung:

Nachdem der Titrationsstand wie in der Skizze angedeutet aufgebaut ist, füllt man die Bürette mit NaOH-Lsg. und legt 20ml der Gly-Lsg. vor\*. Der Vorschub des Schreibers soll 100 cm/min betragen. Die Tropfgeschwindigkeit wird auf etwa 60 Tropfen/min eingestellt. Man erhält innerhalb von 5min eine sehr harmonische Titrationskurve ( s. Anhang ).

\* und stellt mit verdünnter HCl den pH auf 1,5 ein.

V<sub>6</sub>: Komplexbildung von AG mit Cu<sup>2+</sup> und Fe<sup>3+</sup>-Ionen;  
Einfluß des S-H Restes von Cystein auf die Reaktion

Durchführung:

Man legt in 6 Reagenzgläsern 5ml folgender Lösungen vor:

- 2 Gly
- 2 Ala
- 2 Cys-SH

Zu diesen gibt man 1ml CuSO<sub>4</sub>-Lösung, bzw. 1ml FeCl<sub>3</sub>-Lösung.

Beobachtung und Deutung:

Durch Zugabe von Kupfersulfatlsg., entsteht mit Gly und Ala eine Lösung tiefblauer Farbe. Mit Fe<sup>3+</sup> entsteht eine braune Lösung, deren Farbe sich durch Zugabe von NaOH noch vertieft. Gly und Ala bilden mit den zugestzten Metallsalzen Chelatkomplexe ( s. Anhang ).

Mit Cys-SH passiert etwas völlig anderes.

Mit Cu<sup>2+</sup>-Ionen fällt ein weißer Niederschlag von Cys-S-Cu-S-syC.

Mit Fe<sup>3+</sup>-Ionen entsteht an der Eintropfstelle kurz ein blau gefärbter Komplex, dessen Farbe aber sofort wieder verschwindet. Das Cystein ( Cys-SH ) wird durch Fe<sup>3+</sup> zu Cystin (Cys-S-S-syC) oxidiert, Fe<sup>3+</sup> geht über in Fe<sup>2+</sup>.

V<sub>7</sub>: Nachweis der Disulfidbrücken in Protein und Cystin

Man löst ein Büschel Haare oder Wolle in heißer, verdünnter Natronlauge. Hierzu gibt man eine heiße Lösung von (Pb(OH)<sub>4</sub>)<sup>2-</sup>. Es fällt schwarzbraunes Bleidisulfid (PbS<sub>2</sub>). Gibt man zur, mit Fe<sup>3+</sup> behandelten, Cystein-Lösung aus V<sub>6</sub> etwas von der Plumbat-Lösung, fällt ein ähnlicher Niederschlag von PbS<sub>2</sub>.

Bereitung der (Pb(OH)<sub>4</sub>)<sup>2-</sup>-Lösung:

Man stellt eine gesättigte PbCl<sub>2</sub>-Lösung her und dekantiert vom Bodensatz. Nun versetzt man solange mit verdünnter NaOH, bis sich der Anfangs gebildete Niederschlag wieder völlig gelöst hat.

V<sub>8</sub>: Thermische Polymerisation von AS auf Lava;  
Bildung von Mikrosphären ( Fox, '64 )

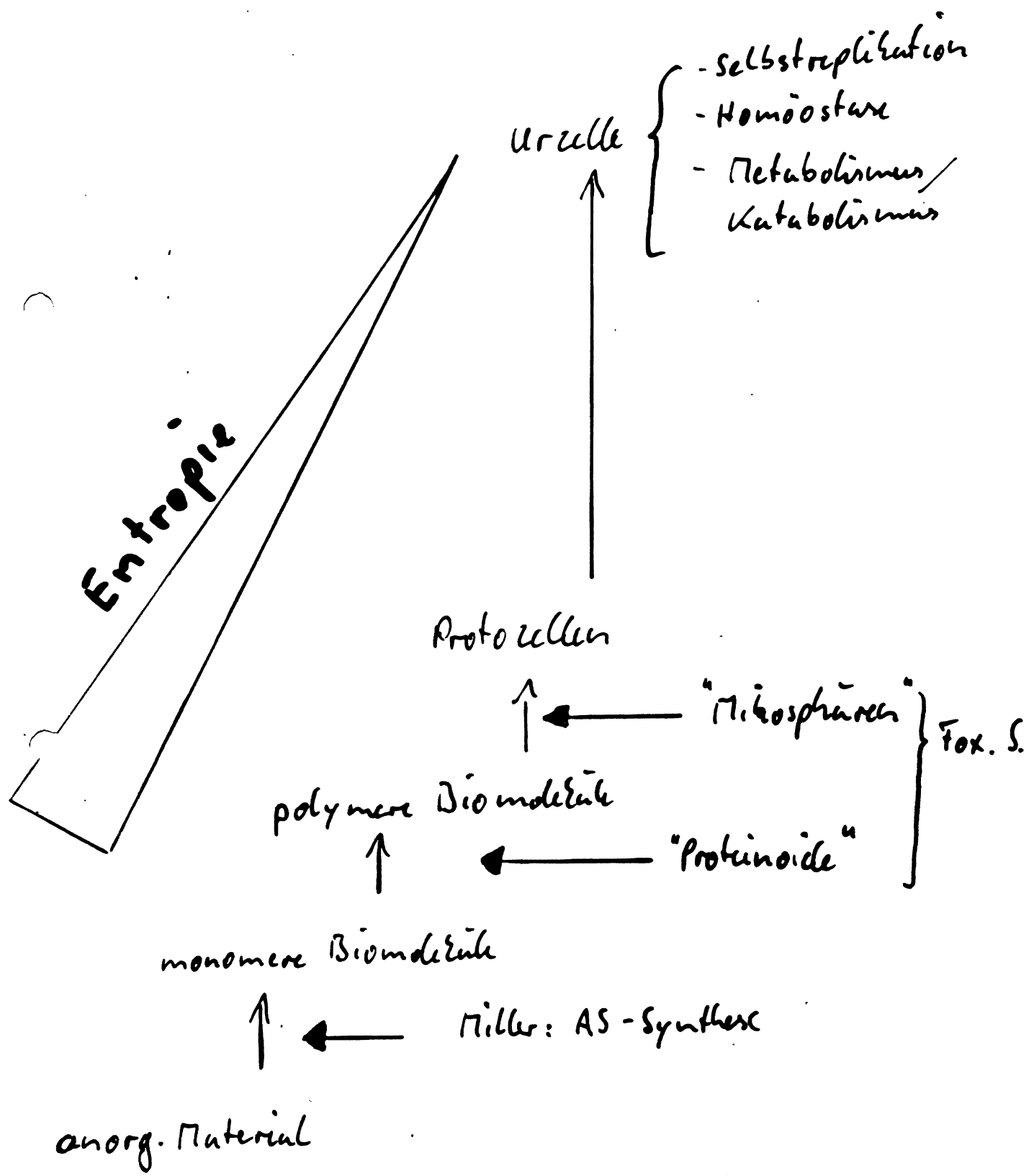
Material:	- Lavastück	Chemikalien:	- AS-Mischung ( 1g Glu ,
	- Ofen (170 <sup>0</sup> C)		0,1g-0,2g jeder weiteren
	- Mikroskop (400x)		verfügbaren AS )
	- UV-Lampe		- bakterienfreie NaCl
			Lösung ( 1% )

Man gibt etwa 1g der AS-Mischung auf die Lavaprobe und erhitzt sie 3h im Ofen bei 170<sup>0</sup>C. Danach schreckt man mit 50ml kochendem Salzwasser ab. Das ablaufende Wasser wird aufgefangen. Es ist amberfarben und zeigt eine bläuliche Fluoreszenz unter der UV-Lampe. Einen Tropfen der Lösung gibt man auf einen Objektträger und mikroskopiert bei starker Vergrößerung. Man findet große Mengen kleiner Mikrosphären ( $\varnothing=1\mu\text{m}$ ), die ein Modell für die ersten Protozellen sein könnten.

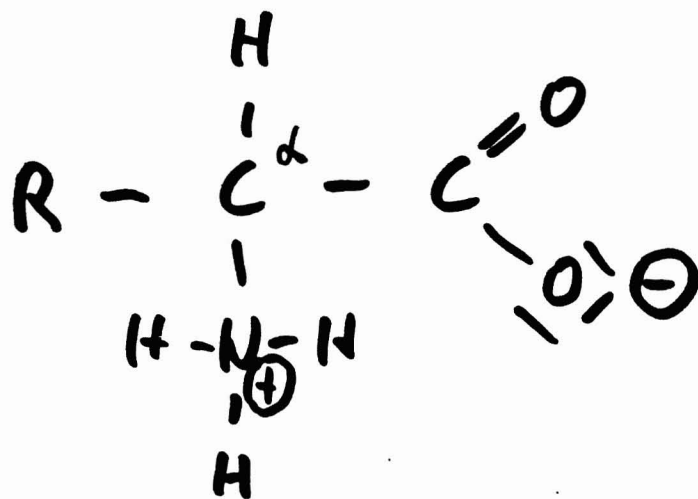
#### Literatur

- Miller, S.L.: Production of some Organic Compounds under Primitive Earth Conditions. Journal of the American Chemical Society, Vol 77, S. 2351, Nr. 9, 12.5.1955
- Fox, S.L.: Thermal Polymerisation of Amino-Acids and Production of formed Microparticles on Lava (Natur, 1201, 25. 1. 1964) S. 336
- Lehninger, A.L.: Biochemie, Weinheim 1977

# Leben aus anorganischen Material

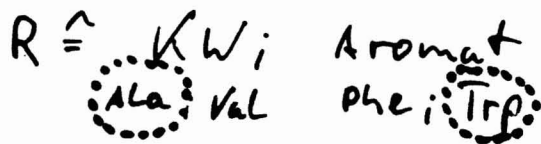


# $\alpha$ -Aminocarbonsäuren

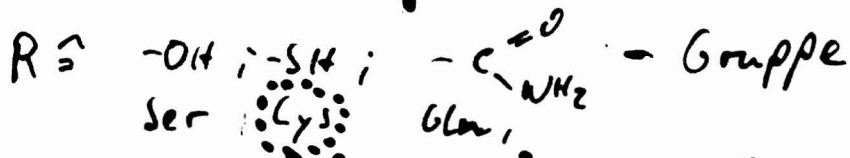


## AS - Klassen

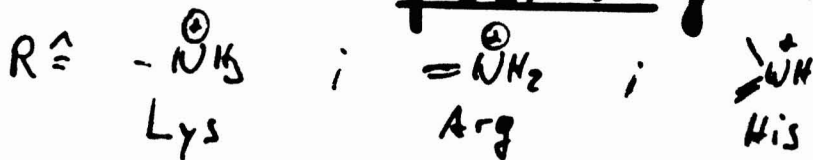
1) AS mit unpolaren Resten



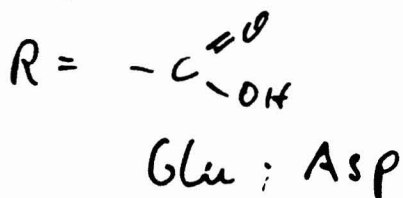
2) AS mit polaren Resten



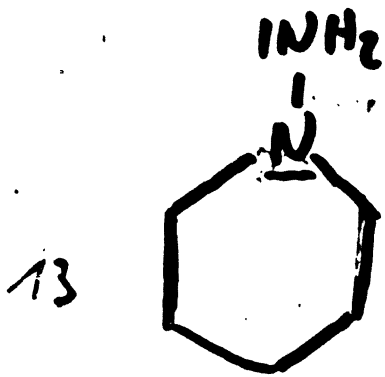
3) AS mit positiv geladenen Resten



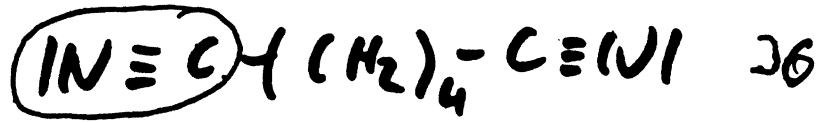
4) AS mit negativ geladenen Resten



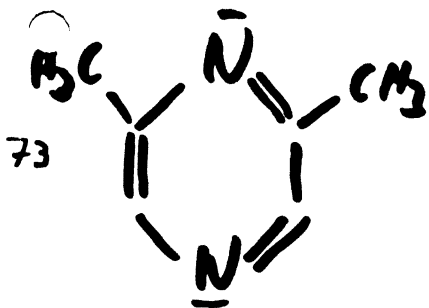
Durch GC u. MS nachgewiesen:



1-Piperidinamin



Butan-1,4-dinitril

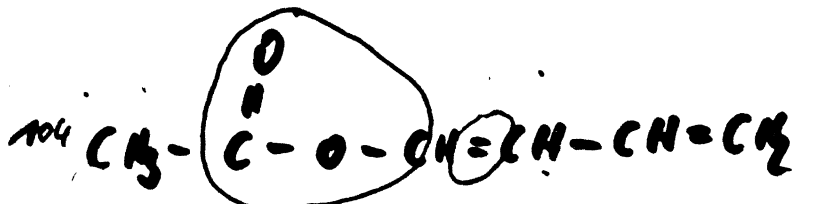


2,6-Dimethylpyrazin



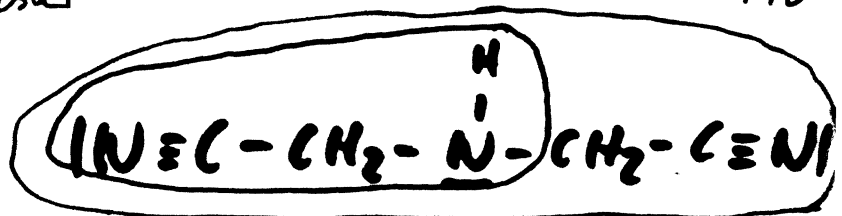
96

Cyclopenta-1,2,4-trion

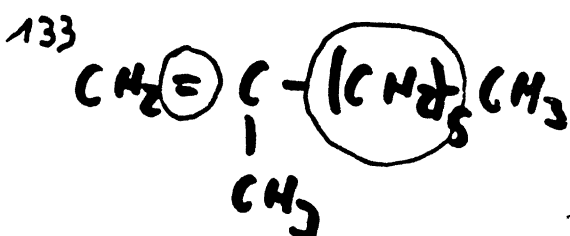


1,3-Butadien-1-d-ethansäureester

116

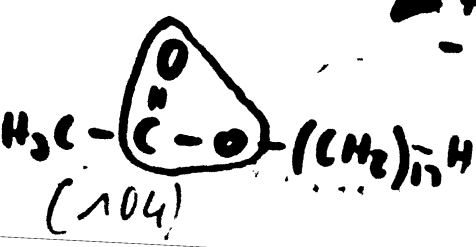
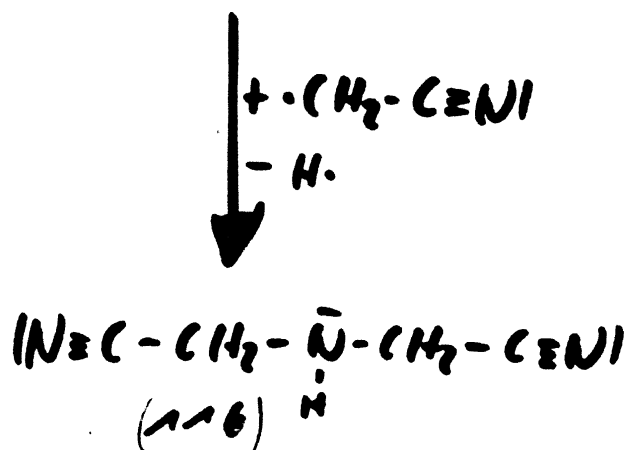
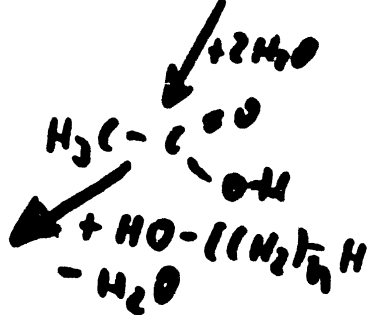
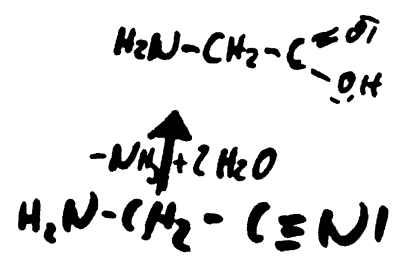
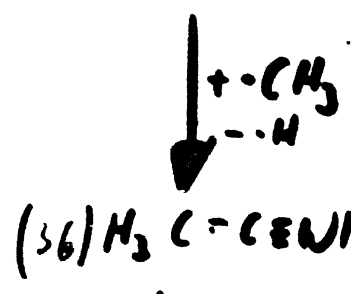
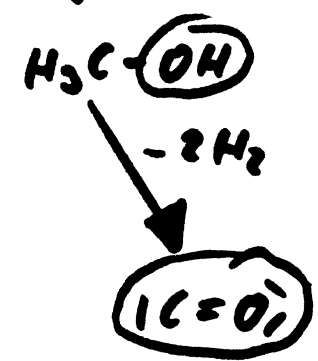
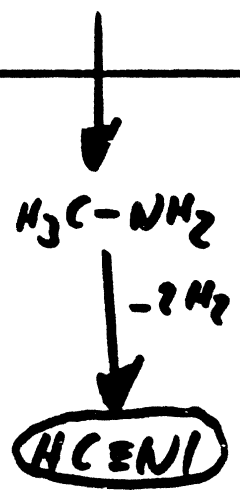
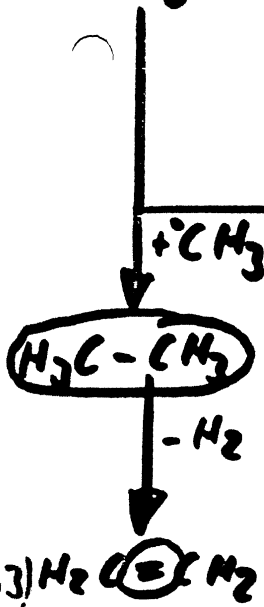
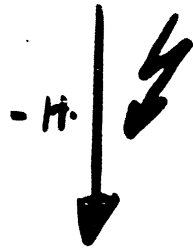


2,2'-Imino-bis-acetonitril

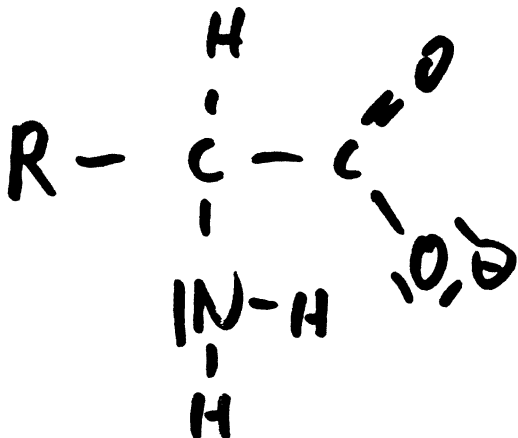
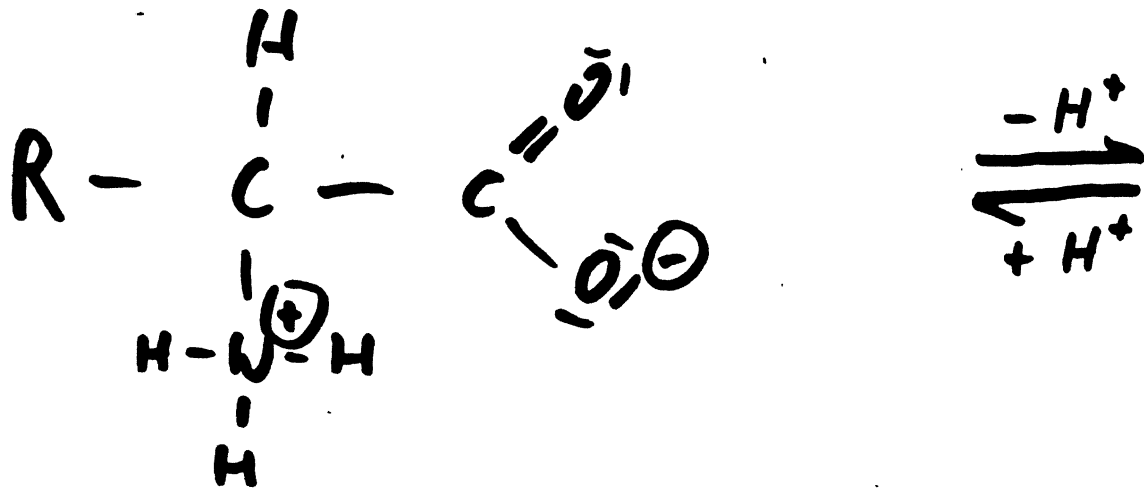
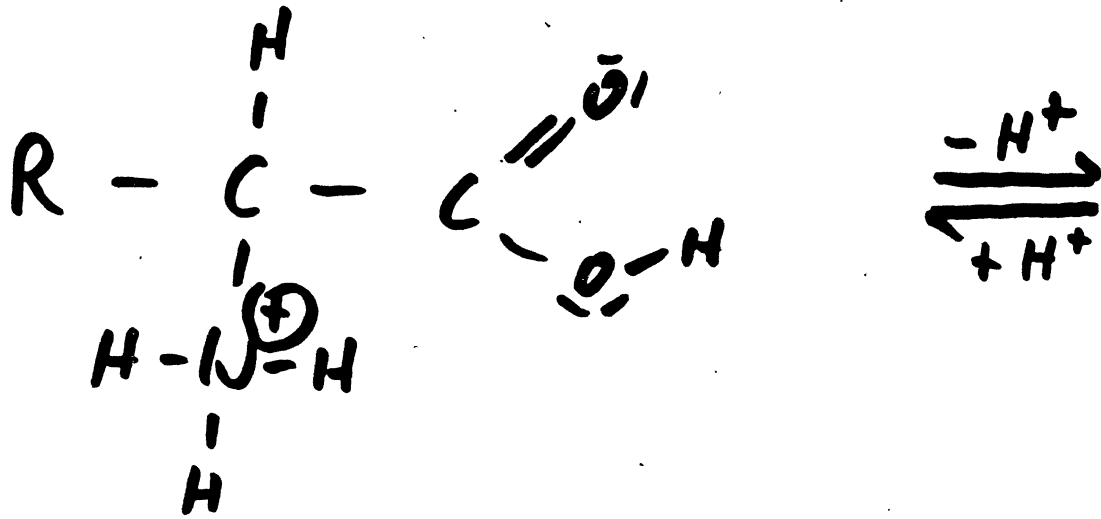


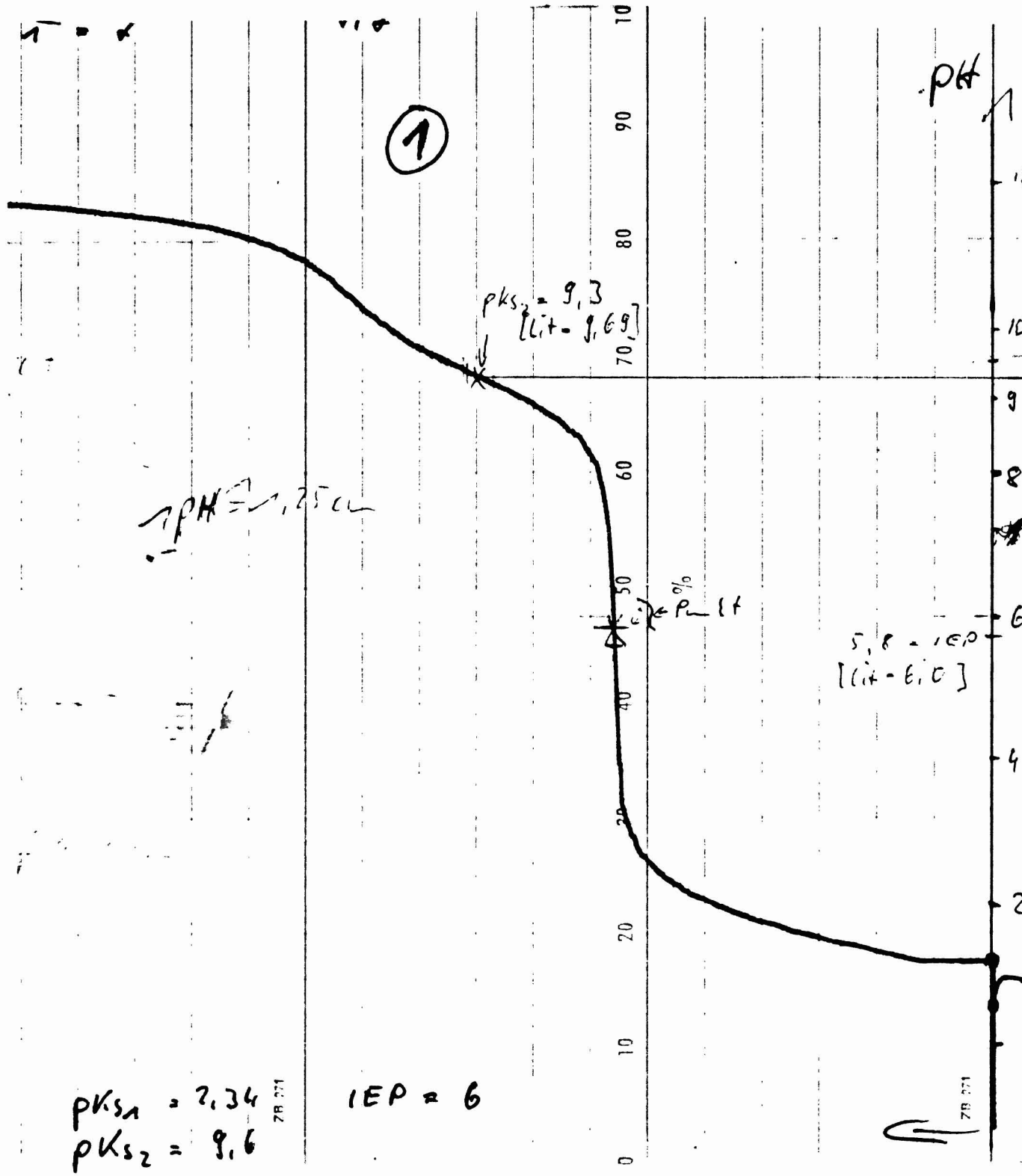
2-Methyl-1-Octen

# Miller'sche AS-Synthese

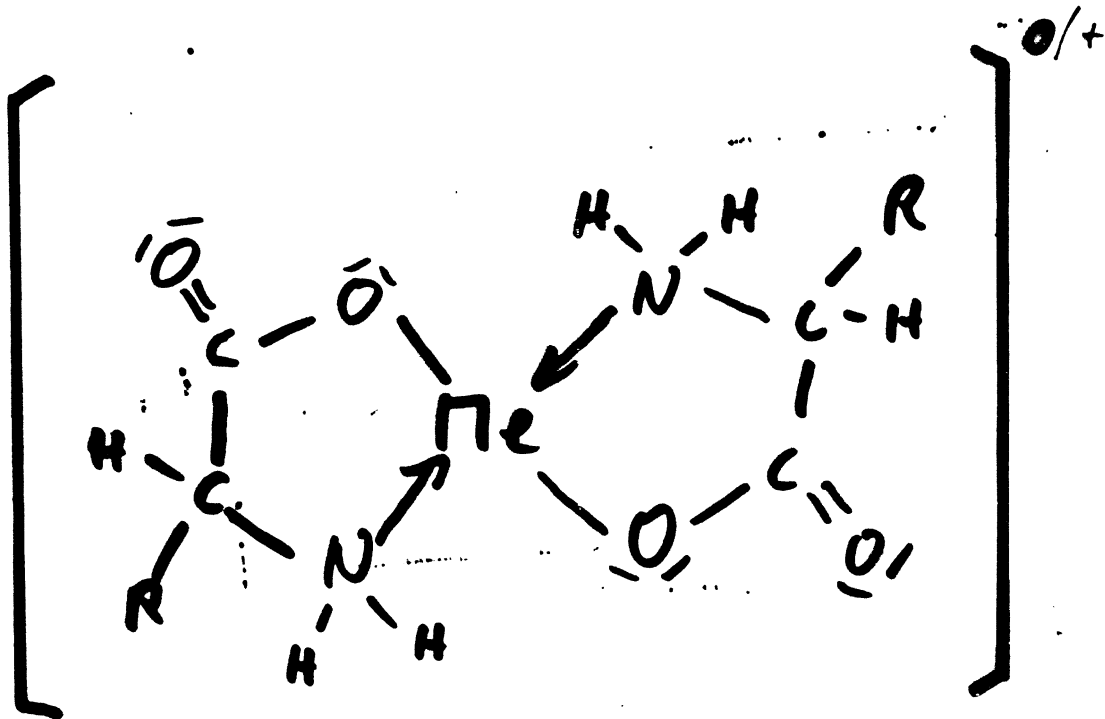
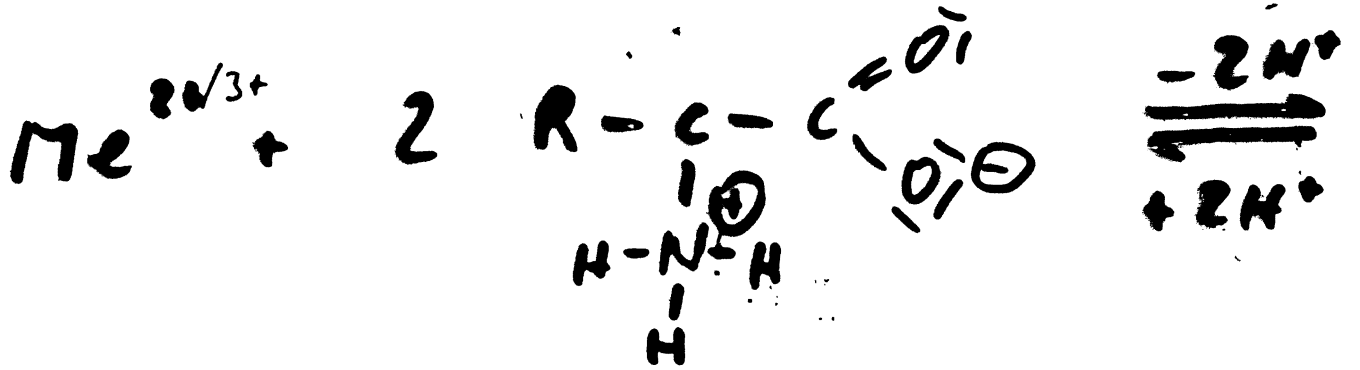


Der amphotere Charakter von AS mit ungeladenen Resten:

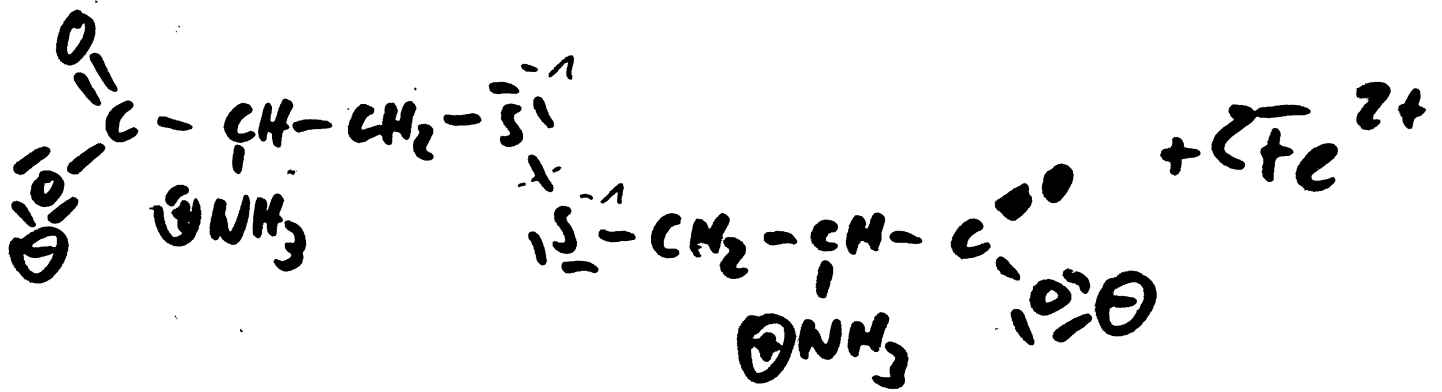
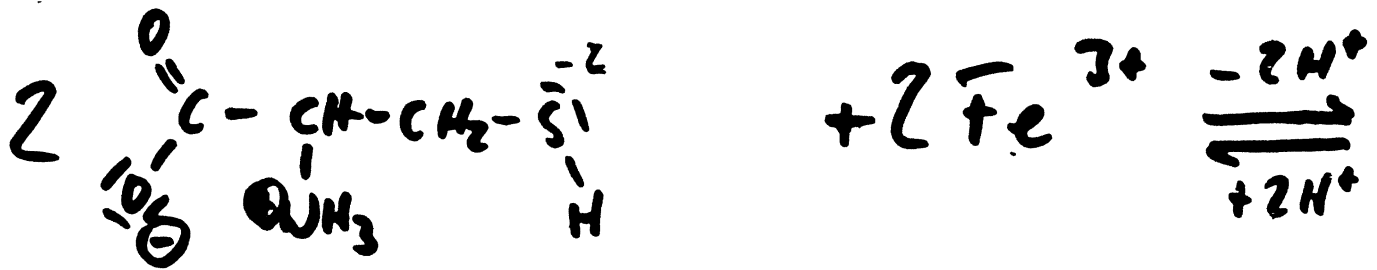




# Komplexbildungstendenz von AS mit $\text{Cu}^{2+}$ u. $\text{Fe}^{3+}$



# Oxidation von Cystein zu Cystin



Thermische Polymerisation von AS zu  
 Proteinoiden; Kreuzvernetzung über Peptidbind.

