

## Präbiotische Ammoniaksynthese

**Eine mögliche präbiotische Bildung von Ammoniak aus molekularem Stickstoff auf Eisensulfidoberflächen\*\***

Mark Dörr, Johannes Käßbohrer, Renate Grunert, Günter Kreisel,\* Willi A. Brand, Roland A. Werner, Heike Geilmann, Christina Apfel, Christian Robl und Wolfgang Weigand\*

Professor Wolfgang Beck und Professor Wolfgang Seidel gewidmet

Die Bildung von Ammoniak aus Distickstoff ist in der Theorie des chemoautotrophen Ursprungs des Lebens eine noch ungeklärte Frage. Man nimmt an, dass die Bildung von Ammoniak aus Distickstoff, die in der belebten Natur durch eisen- und schwefelhaltige Enzyme katalysiert wird, in präbiotischer Zeit auf das Reduktionspotential von Eisensulfid zurückgeführt werden kann, das zu Pyrit umgesetzt wird.<sup>[1]</sup>

[\*] Prof. Dr. W. Weigand, Dipl.-Chem. M. Dörr, Dipl.-Ing. (FH) C. Apfel, Prof. Dr. C. Robl

Institut für Anorganische und Analytische Chemie  
Universität Jena  
August-Bebel-Straße 2, 07743 Jena (Deutschland)  
Fax: (+49) 3641-948102  
E-mail: c8wewo@uni-jena.de

Prof. Dr. G. Kreisel, Dr. J. Käßbohrer, Dipl.-Ing. (FH) R. Grunert  
Institut für Technische und Umweltchemie  
Universität Jena  
Lessingstraße 11, 07743 Jena (Deutschland)  
Fax: (+49) 3641-948402  
E-mail: guenter.kreisel@uni-jena.de

Dr. W. A. Brand, Dr. R. A. Werner, H. Geilmann  
Max-Planck-Institut für Biogeochemie  
Winzerlaer Straße 10, 07745 Jena (Deutschland)

[\*\*] Wir danken Prof. H. Schnöckel, Prof. D. Sellmann, Prof. K. O. Stetter, Prof. G. Wächtershäuser für hilfreiche Diskussionen, Dr. R. Russow (UFZ Halle) für die Stickstoffanalyse und M. Sammler für ihre Hilfe beim Aufbau und der Bedienung der Versuchs-Apparatur. Unsere Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 436/A8) und den Fonds der Chemischen Industrie finanziert; ihnen sei unser Dank ausgesprochen.

Stickstoff-fixierende Bakterien produzieren aus molekularem Luftstickstoff etwa  $1.7 \times 10^8$  t Ammoniak pro Jahr.<sup>[2]</sup> Diese Reaktion wird von Nitrogenase-Enzymen katalysiert und läuft unter milden Bedingungen bei Atmosphärendruck ( $10^5$  Pa) und Umgebungstemperatur (273–323 K) ab. Die Einzelheiten des Reaktionsmechanismus sind noch weitgehend unbekannt und Gegenstand intensiver Diskussion in der Wissenschaft.<sup>[3]</sup> Kürzlich wurde eine hochauflösende Röntgen-Einkristallstrukturanalyse des Nitrogenase-FeMo-Proteins aus *Azotobacter vinelandii* beschrieben.<sup>[4]</sup> Das FeMo-Protein enthält den FeMo-Cofaktor, der aus zwei Cuban-ähnlichen Eisen-Schwefel-Einheiten  $[4\text{Fe}:3\text{S}]$  und  $[\text{Mo}:3\text{Fe}:3\text{S}]$  aufgebaut ist, die durch Sulfidliganden verbrückt sind. In dem von ihnen umschlossenen Hohlraum ist ein leichtes Atom – wahrscheinlich Stickstoff – koordiniert. Die weit verbreiteten und häufig auftretenden Elemente Eisen und Schwefel spielen also eine wichtige Rolle bei der Stickstoff-Fixierung und in der lebhaft diskutierten Theorie des chemoautotrophen Ursprungs des Lebens in einer urzeitlichen Eisen-Schwefel-Welt.<sup>[1,5]</sup>

Hier beschreiben wir eine Methode,  $\text{NH}_3$  aus  $\text{N}_2$  unter Verwendung von  $\text{H}_2\text{S}$  als Reduktionsmittel in Anwesenheit von frisch gefälltem Eisensulfid herzustellen. Diese Reaktion könnte ein präbiotischer Vorläufer der Nitrogenase-Enzyme sein. Sowohl das Reduktionsmittel als auch die Reaktionsbedingungen (Atmosphärendruck des Stickstoffs und Temperaturen zwischen 70 und 80°C) ähneln denen in biologischen Prozessen und sind damit sehr mild. Die treibende Kraft der Gesamtreaktion ist die Oxidation des Eisensulfids zu Eisendisulfid und die Bildung von Wasserstoff aus  $\text{H}_2\text{S}$ .<sup>[6]</sup>

Hazen et al. berichten über die Reduktion von elementarem Stickstoff zwischen 300 und 800°C und 0.1 bis 0.4 GPa.<sup>[7]</sup> Der molekulare Wasserstoff, der für die Reaktion benötigt wurde, wurde aus Wasser erzeugt: Hierzu verwendeten die Autoren ein System aus Magnetit/Ameisensäure oder elementares Eisen als Reduktionsmittel. Unter den beschriebenen Reaktionsbedingungen könnte nach Ansicht von Hazen et al. diese Reaktion auf der urzeitlichen Erde abgelaufen sein.

Neben wichtigen molekularbiologischen und mikrobiologischen Untersuchungen<sup>[8]</sup> wurden viele Modellverbindungen entwickelt, um die Funktionsweise der Nitrogenase untersuchen und verstehen zu können. Diese Modelle beruhen oft auf niedermolekularen Metallkomplexen oder Metallhydroxiden. Beachtenswerte Untersuchungen zur Fixierung von molekularem Stickstoff an Modellverbindungen wurden von Shilov und Bazhenova durchgeführt:<sup>[9]</sup> Wässrige Suspensionen von  $\text{Mo}^{\text{III}}$ -,  $\text{Ti}^{\text{II}}$ -,  $\text{V}^{\text{II}}$ -,  $\text{Mn}^{\text{II}}$ - und  $\text{Ta}^{\text{III}}$ -hydroxiden sind in der Lage,  $\text{N}_2$  bei ca.  $10^7$  Pa zu reduzieren. Nennenswerte Ausbeuten konnten mit Mischungen aus  $\text{V}^{\text{II}}$ - und  $\text{Mg}^{\text{II}}$ -hydroxiden erzielt werden. Eisenhydroxide reduzierten  $\text{N}_2$  jedoch unter den gewählten Bedingungen nicht. Die höchsten Umsätze wurden von Folkesson und Larsson beschrieben, die einen Catecholat- $\text{V}^{\text{II}}$ -Komplex – in Methanol bei ca.  $1.5 \times 10^6$  Pa – verwendeten.<sup>[10]</sup>

Zahlreiche Experimente zur  $\text{N}_2$ -Reduktion in nichtwässrigem Milieu wurden seit den ersten Arbeiten von Chatt et al. unternommen.<sup>[11,12]</sup> Eine schrittweise Reduktion von End-on-koordiniertem Distickstoff über Diazenido- und



bar. Die Oxidation von Sulfid zu Disulfid führte zur Bildung von Eisendisulfid, welches durch Röntgenpulverdiffraktometrie nachgewiesen wurde.

Zahlreiche Blindversuche zeigten, dass es ohne Eisensulfid zu keiner nennenswerten Ammoniakbildung kommt. Nur sehr geringe Spuren von Ammoniak konnten nachgewiesen werden, wenn in Anwesenheit von Eisensulfid Argon anstelle von Stickstoff eingesetzt wurde. Diese Mengen waren jedoch beträchtlich kleiner (< 10 %) als bei der Reaktion mit N<sub>2</sub>.

Ein sicherer Nachweis zur Bildung von Ammoniak aus Distickstoff konnte durch die Verwendung von <sup>15</sup>N-markiertem Distickstoff erbracht werden ( $\delta^{15}\text{N} = 138\%$ ).<sup>[21]</sup> Die Isotopen-Massenspektrometrie (IRMS) zeigte eine signifikante Anreicherung der <sup>15</sup>N-Isotope in dem gebildeten (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.<sup>[22–24]</sup> Das durch die Anreicherung erhöhte Isotopenverhältnis lag bis zu 61 % über dem natürlichen <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-Verhältnis. Die gemessene Anreicherung war niedriger als erwartet. Dies kann durch allgegenwärtige Spuren von Ammoniak in den Edukten erklärt werden. Unser Ergebnis übersteigt die mögliche natürliche Schwankung in der <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-Isotopenverteilung um den Faktor 10.

Bezogen auf 3 mol Eisensulfid beträgt die Ammoniakausbeute 0.1 % (3 mmol). Die Ammoniakausbeute bezüglich des eingesetzten Stickstoffs abzuschätzen scheint nicht sinnvoll, da die Reaktion mit Distickstoff aus experimentellen Gründen nicht in einem geschlossenen System durchgeführt werden konnte. Untersuchungen zur zeitabhängigen Änderung der Reaktivität sind im Gange. Unter Berücksichtigung der langen Reaktionszeiten und der großen auf der urzeitlichen Erde vorhandenen Mengen an Eisensulfid und Schwefelwasserstoff könnte eine Synthese von Ammoniak, ähnlich der von uns hier beschriebenen, in deutlichem Maße zum Ammoniakhaushalt beigetragen haben. Der von uns vorgestellte Syntheseweg fügt sich ohne weiteres in die Theorie des chemautotrophen Ursprungs des Lebens ein und könnte als Modell für ein präbiotisches, Stickstoff-fixierendes System herangezogen werden.

### Experimentelles

Eisen(II)-sulfat-heptahydrat (834.1 g, 3 mol) und Natriumsulfid-nona-hydrat (720.6 g, 3 mol) werden jeweils in 3 L sauerstofffreiem Wasser bei Umgebungstemperatur gelöst. Dieses wird dadurch erhalten, dass hoch reines Argon 24 h bei 80 °C durch entionisiertes Wasser strömt. Die beiden Lösungen werden bei Umgebungstemperatur gemischt und anschließend auf 80 °C erhitzt. Um alle stickstoffhaltigen Verbindungen zu entfernen, wird mit NaOH (10 M) der pH-Wert der schwarzen Eisensulfidsuspension auf 13 erhöht und diese anschließend acht Tage unter konstantem Argonstrom (5 L h<sup>-1</sup>) auf 80 °C erhitzt. Anschließend wird der pH-Wert mit verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung auf 4 gesenkt. Hochreiner molekularer Stickstoff wird sieben Tage durch die Suspension geleitet (0.5 L h<sup>-1</sup>). Der während der Reaktion ausgetriebene Schwefelwasserstoff wird durch Neubildung aus dem Eisensulfidniederschlag im sauren Milieu ersetzt; der pH-Wert wird während der ganzen Reaktionszeit zwischen 3 und 4 konstant gehalten. Abschließend wird der pH-Wert mit einer wässrigen NaOH-Lösung auf 13 erhöht. Das entstehende Ammo-

niak wird im Argonstrom aus der Suspension entfernt und in einer verdünnten H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung (0.001 N) aufgefangen. Das Wasser wird verdampft, und das so zurückbleibende Ammoniumsulfat kann direkt für die IRMS-Experimente eingesetzt werden. Diese wurden mit einem Delta-Plus-XL-Massenspektrometer (Finnigan MAT, Bremen) durchgeführt. Die Röntgenpulverdiffraktogramme wurden mit FeK<sub>α</sub>-Strahlung aufgenommen, um Röntgenfluoreszenzeffekte zu minimieren.

Eingegangen am 16. Oktober 2002,

veränderte Fassung am 31. Januar 2003 [Z50371]

**Stichwörter:** Eisen · Isotopenmarkierung · Schwefel · Stickstoff · Stickstoff-Fixierung

- [1] G. Wächtershäuser, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1992**, *58*, 85–201.
- [2] M. Appl, *Ammonia: Principles and Industrial Practice*, 1. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [3] B. E. Smith, *Science* **2002**, *297*, 1654–1655.
- [4] O. Einsle, F. A. Tezcan, S. L. A. Andrade, B. Schmid, M. Yoshida, J. B. Howard, D. C. Rees, *Science* **2002**, *297*, 1696–1700.
- [5] G. Wächtershäuser, *Microbiol. Rev.* **1988**, *52*, 452–484.
- [6] E. Drobner, H. Huber, G. Wächtershäuser, D. Rose, K. O. Stetter, *Nature* **1990**, *346*, 742–744.
- [7] J. A. Brandes, N. Z. Boctor, G. D. Cody, B. A. Cooper, R. M. Hazen, H. S. Yoder, Jr., *Nature* **1998**, *395*, 365–367.
- [8] B. K. Burgess, D. J. Lowe, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2983–3011.
- [9] T. A. Bazhenova, A. E. Shilov, *Coord. Chem. Rev.* **1995**, *144*, 69–145.
- [10] B. Folkesson, R. Larsson, *Acta Chem. Scand. Ser. A* **1979**, *33*, 347–357.
- [11] M. D. Fryzuk, S. A. Johnson, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *200*, 379–409, zit. Lit.
- [12] J. Chatt, A. J. Pearman, R. L. Richards, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1977**, 1852–1860; J. Chatt, J. R. Dilworth, R. L. Richards, *Chem. Rev.* **1978**, *78*, 589–625.
- [13] R. L. Richards, *Coord. Chem. Rev.* **1996**, *154*, 83–97, zit. Lit.
- [14] D. Sellmann, A. Hennige, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 270–271; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 276–278.
- [15] D. Sellmann, J. Sutter, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 460–469.
- [16] D. Sellmann, J. Utz, N. Blum, F. W. Heinemann, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *192*, 607–627.
- [17] D. Sellmann, A. Fürsattel, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2142–2145; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2023–2026.
- [18] D. Coucouvanis, J. Han, N. Moon, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 216–224.
- [19] W. Weigand, G. Kreisel, J. Kässbohrer, M. Sammler, R. Grunert, Procedure for the production of ammonia, DE 98-19846242 **1998** [*Chem. Abstr.* **1998**, *132*, 239002].
- [20] M. A. A. Schoonen, Y. Xu, *Astrobiology* **2001**, *1*, 133–142.
- [21] Die Isotopenverhältnisse werden in der Delta-Notation (in Promill) als relative Abweichung einer Probe (sa) zur Referenz (ref) angegeben:  $\delta[\text{‰}] = (R_{\text{sa}}/R_{\text{ref}} - 1)1000$ . Für Stickstoff wird das <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N-Verhältnis (= R<sub>ref</sub>) in Luftstickstoff als Bezugspunkt verwendet.
- [22] W. A. Brand, *J. Mass Spectrom.* **1996**, *31*, 225–235.
- [23] R. A. Werner, B. A. Bruch, W. A. Brand, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1999**, *13*, 1237–1241.
- [24] R. A. Werner, W. A. Brand, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, *15*, 501–519.