

**GEOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG UND VERSUCH DER
STRUKTURAUFKLÄRUNG
ALIPHATISCHER BIOMARKER AUS FOSSILEM ORGANISCHEM MATERIAL**

Von der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften
der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
zur Erlangung des Grades und Titels eines

**DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
DR. RER. NAT.**

angenommene Dissertation

von Herrn

JOACHIM MAURER

geboren am 17.11.1973 in Göttingen

Gutachter: Professor Dr. Jürgen Rullkötter

Zweitgutachter: Professor Dr. Gerd Liebezeit

Tag der Disputation: 27. Januar 2004

Teile dieser Arbeit wurden auf folgenden nationalen und internationalen Tagungen präsentiert:

35. Diskussionstagung der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie, Heidelberg, Deutschland, März 2002

Poster: Keeping track of *seco*-steranes – an example of use of GC-MS analysis to answer basic organic geochemical questions.

Joachim Maurer and Jürgen Rullkötter

36. Diskussionstagung der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie, Münster, Deutschland, März 2003

Poster: *Seco*-steranes in crude oils – New biomarkers for the characterization of mature organic matter?

Joachim Maurer and Jürgen Rullkötter

21th International Meeting on Organic Geochemistry, Krakau, Polen, September 2003

Poster: *Seco*-steranes in crude oils – New biomarkers for the characterization of mature organic matter?

Joachim Maurer and Jürgen Rullkötter

VORWORT

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Mai 2000 bis Februar 2004 in der Arbeitsgruppe Organische Geochemie unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Jürgen Rullkötter am Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM) der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Jürgen Rullkötter. Durch die „unübliche“ Themenstellung ermöglichte er mir, meinen Interessen sowohl für die geochemische Analytik als auch für Synthesen im Rahmen dieser Arbeit nachgehen zu können. Besonders möchte ich ihm dafür danken, dass er mir selbst bei trivial erscheinenden Fragen und Problemen mit Geduld, Ernsthaftigkeit und Rat zur Seite stand. Bei Herrn Prof. Dr. Gerd Liebezeit bedanke ich mich für die Übernahme des Korreferats.

Im Laufe meiner Arbeit habe ich mehrmals Geräte außerhalb der Universität Oldenburg in Anspruch nehmen müssen. Eine in diesem Zusammenhang besonders erfreuliche Erfahrung für mich war die Gastfreundschaft, mit der ich überall empfangen wurde. An dieser Stelle ein großes Dankeschön an all jene, die mir bei der Vermittlung und Vermittlungs-Vermittlung geholfen haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Montforts, der die Durchführung der Ozonolyse in seiner Arbeitsgruppe Organische Chemie der Freien Universität Bremen ermöglichte. Herzlich möchte ich mich bei Herrn Dr. Martin Glodde und Herrn Dipl.-Chem. Oliver Schorsch bedanken, die mir während meines Aufenthaltes hilfreich zur Seite standen.

Dankenswerterweise ermöglichte Herr Prof. Dr. Leitner, Arbeitsgruppe Technische Chemie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule (RWTH) Aachen, die Benutzung des für unsere Zwecke benötigten Autoklaven. Den Herren Dr. Oliver Hein, Markus Kaefer und Björn Sommer danke ich sehr herzlich für die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung und für die Hilfe beim Umgang mit dem Mensa-Getränkeautomaten. Bei Frau Hannelore Eschmann möchte ich mich für die Durchführung der gaschromatographischen Analysen während meines Aufenthaltes in Aachen bedanken.

Ähnlich positive Erfahrungen ergaben sich aber auch innerhalb der Universität Oldenburg. Herrn Prof. Dr. Rössner, Arbeitsgruppe Technische Chemie, danke ich zum einen für die zur Verfügung gestellten Zeolithe für die Durchführung von Anreicherungsversuchen, zum anderen aber vor allem für die damit verbundenen Erläuterungen und Diskussionen.

Der Arbeitsgruppe von Herrn Dr. habil. A. Lützen im Arbeitskreis Organische Chemie von Herrn Prof. Dr. P. Köll und hier insbesondere Herrn Dr. Marko Hapke bin ich für die

Diskussionen zu möglichen Synthesewegen und für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung einiger Syntheseschritte sehr dankbar. Außerdem gilt mein Dank Herrn Dr. Rainer Koch für die Berechnung der Energien einiger Molekülstrukturen.

Für die Hilfe bei einigen mathematischen Fragestellungen möchte ich mich bei Herrn Dr. Kamps und Martin Fach bedanken.

Herrn Dr. Pierre Adam, Laboratoire de Géochimie Bioorganique der Université Louis Pasteur danke ich für die Weitergabe unveröffentlichter Ergebnisse zur Synthese von *seco*-Cholestanen.

Allen Mitarbeiterinnen, Mitarbeitern und Ehemaligen der Arbeitsgruppe Organische Chemie sei ganz besonders herzlich gedankt. Obwohl mein Themengebiet doch sehr weit von dem der meisten anderen entfernt war, ergaben sich immer wieder interessante und fruchtbare Diskussionen. In diesem Zusammenhang sind besonders und stellvertretend für die „Biodegradeds“ Dr. Barbara Scholz-Böttcher, Dr. Sonja Schulte und Dr. Jürgen Köster zu nennen, deren Erfahrung und Wissen von unermesslichem Wert für mich waren. Frau Dr. Barbara Scholz-Böttcher danke ich darüber hinaus für die Einweisung in die MSMS-Analytik und für das Vertrauen, mich die Experimente selbst durchzuführen zu lassen.

Als ausgesprochen angenehm und daher besonders hervorhebenswert habe ich das Arbeitsklima innerhalb der Arbeitsgruppe empfunden! So wünsche ich Euch allen, wo auch immer Euch Eure Wege hinführen, dass ihr immer mit Menschen zusammen arbeiten möget, denen Neid, Missgunst und destruktives Konkurrenzdenken höchstens aus anderen Arbeitsgruppen bekannt ist!

Ich hätte die Anstrengungen der Doktorarbeit der drei Jahre nicht so gut überstanden, wenn es nicht den mus(ikal)ischen Ausgleich gegeben hätte. Euch allen von *Hobson's Choice*, von *Big Deal*, vom *Rhythm and Blues Express* und vom *ChorGonzola* des Blauschimmel Ateliers e.V. ein herzliches Dankeschön!

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung von Teilen dieser Arbeit.

Bei meinen Eltern möchte ich mich für die Ermöglichung eines unbeschwerten Studiums, für die Zuversicht und das mir entgegengebrachte Vertrauen bedanken.

Dir, Ute, gilt mein innigster Dank. Ohne Deine Hilfe, Deine Geduld, Dein Lächeln, ohne die vor allem gegen Ende nötigen Aufmunterungen, eben einfach ohne Dich wäre diese Arbeit zwar bestimmt irgendwann fertig geworden; sie wäre aber sicherlich auch mit deutlich mehr Sorgenfalten auf meiner Stirn verbunden gewesen! Danke, dass Du für mich da bist!

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung.....	13
1.1	Geschichtlicher Exkurs und allgemeine Einleitung.....	13
1.2	Problemstellung und Ziel der Arbeit.....	18
2	Methodischer Teil	21
2.1	Allgemeine Anmerkungen	21
2.2	Ultraschallextraktion.....	23
2.3	Interne Standardisierung und Quantifizierung.....	23
2.4	Asphaltenfällung	24
2.5	MSSV-Pyrolyse	25
2.6	Säulenchromatographie.....	25
2.6.1	Trennung von Aliphaten, Aromaten und Heterokomponenten	26
2.6.2	Säulenchromatographische Gruppentrennung des Bitumens (MPLC)	26
2.6.3	Trennung aliphatischer und olefinischer Kohlenwasserstoffe.....	27
2.6.4	Trennung saurer und neutraler Kohlenwasserstoffe.....	27
2.7	Entschwefelung der Aliphatenfraktion	28
2.8	Abtrennung der <i>n</i> -Alkane von verzweigten und cyclischen Verbindungen	28
2.8.1	Harnstoff-Adduktion	28
2.8.2	Silikalit-Adduktion	28
2.8.3	Fraktionierungen von Aliphatenfraktionen mittels verschiedener Zeolithe	29
2.9	Trimethylsilylierung der Heterokomponentenfraktion	30
2.10	Gaschromatographische Analytik.....	30
2.11	Gaschromatographisch-massenspektrometrische Analytik	31
2.12	Probenbeschreibung	34

3	Ergebnisse und Diskussion.....	38
3.1	Charakterisierung der unbekanntten Verbindungen.....	38
3.2	Strukturvorschläge und Synthesen.....	43
3.2.1	Allgemeine Anmerkungen.....	43
3.2.2	Ausgangspunkt der Überlegungen.....	43
3.2.3	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan.....	44
3.2.4	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan.....	47
3.2.5	Synthese von All-Isomeren-Gemischen.....	49
3.2.6	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Diacholestan.....	54
3.2.7	Ein weiterer Strukturvorschlag.....	57
3.2.8	Allgemeine Plausibilität des Strukturvorschlags.....	58
3.3	Vorkommen der unbekanntten Verbindungen.....	62
3.3.1	Verwendete Parameter.....	62
3.3.1.1	Allgemeine Anmerkungen zu Steroiden und Hopanoiden.....	63
3.3.1.2	Parameter für die Quantifizierung der unbekanntten Verbindungen.....	64
3.3.1.3	Reifeparameter.....	64
3.3.1.4	Herkunftsparameter.....	66
3.3.1.5	Ergebnisse und Diskussion.....	67
3.3.2	Vorkommen in organischem Material gleicher Herkunft und unterschiedlicher Reife.....	72
3.3.2.1	Beschreibung der Posidonienschieferproben.....	72
3.3.2.2	Ergebnisse und Diskussion.....	73
3.3.3	Vorkommen in Asphaltene des Boscan-Öls.....	78
3.4	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	81
3.4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse zu Strukturvorschlägen und Synthesen.....	81
3.4.2	Zusammenfassung der Ergebnisse zum Vorkommen der unbekanntten Verbindungen.....	83

4	Synthesevorschriften.....	84
4.1	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan	85
4.1.1	Synthese von 5-oxo-4,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -cholestan-3-säure (2)	85
4.1.2	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -4- <i>nor</i> -cholestan-3-säure (3)	86
4.1.3	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan-3-on (4).....	87
4.1.4	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan-3-ethylthioether und 4,5- <i>seco</i> - Cholestan (5).....	88
4.1.5	Synthese von Cholest-4-en (6)	88
4.1.6	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan-4,5-diol (7)	90
4.2	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan	91
4.2.1	Synthese von des-A-Cholestan-5-on (<i>Inhoffens Keton</i>) (8)	91
4.2.2	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan-5-ol (9).....	92
4.2.3	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Cholesten (10)	93
4.2.4	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan (11)	94
4.2.5	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Diacholest-13(17)-en (12)	94
4.2.6	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Diacholestan (13)	95
4.3	Synthese von Allisomerengemischen	95
4.3.1	5 α -Cholestan	95
4.3.2	1,10- <i>seco</i> -Cholestan	96
5	Literaturverzeichnis	97
6	Anhang	103
6.1	Massenspektren von Zwischenprodukten der Synthesen.....	103
6.2	Massenspektren der dominierenden Isomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan.....	107
6.3	Massenspektren der dominierenden Isomere des Allisomerengemischs von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan.....	111

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1-1:	Strukturformeln des grünen Pflanzenfarbstoff Chlorophyll <i>a</i> (a) und von Vanadyl-desoxophylloerythro-etioporphyrin (b).....	14
Abb. 1-2:	Strukturformeln (a) von biogenem Cholesterin (Cholest-5-en-3 β -ol) und (b) von fossilem 5 α ,14 α ,17 α ,20R- und 5 α ,14 β ,17 β ,20S-Cholestan	16
Abb. 1-3:	In der Literatur beschriebene Strukturvorschläge für die unbekannte Verbindung mit 27 (a, b und d) bzw. 28 (c) Kohlenstoffatomen.....	18
Abb. 2-1:	Vereinfachtes Aufarbeitungs-Schema für die Ölproben.....	21
Abb. 2-2:	Aufarbeitungs-Schema für die Sedimentproben.....	22
Abb. 2-3:	Repräsentative Ionenchromatogramme für 26,26,26,27,27,27-d ⁶ -Cholestan (<i>m/z</i> 217,2 und 378,4) und die unbekannte C ₂₇ -Verbindung (<i>m/z</i> 219,2 und 374,4) aus der Aliphatenfraktion eines Boscan-Rohöls.....	24
Abb. 2-4:	Funktionsschema der MPLC-Apparatur (nach Radke et al., 1980).....	27
Abb. 3-1:	Ionenchromatogramm <i>m/z</i> 219,2 der Fraktion der gesättigten Kohlenwasserstoffe des stark biodegradierten Rohöls Casmalia A.....	38
Abb. 3-2:	Anzahl der Kohlenstoffatome vs. Retentionszeiten ausgewählter Verbindungen.....	40
Abb. 3-3:	Summenchromatogramme der Molekülionen der regulären Sterane (<i>m/z</i> (372,4+386,4+400,4)) und der unbekanntes C ₂₇ -, C ₂₈ - und C ₂₉ -Verbindungen (<i>m/z</i> (374,4+388,4+402,4)) der Aliphatenfraktion der Probe Santa Barbara Creek.....	41
Abb. 3-4:	Massenspektren der unbekanntes C ₂₇ -Verbindung und von 5 α ,14 α ,17 α ,20R-Cholestan aus der Fraktion der gesättigten Kohlenwasserstoffe (Boscan-Öl).....	42
Abb. 3-5:	Synthese von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan	44
Abb. 3-6:	Massenspektren der unbekanntes C ₂₇ -Verbindung (Untergrund subtrahiert) und von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan.....	45
Abb. 3-7:	Synthese von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan.	46
Abb. 3-8:	Massenspektren der unbekanntes C ₂₇ -Verbindung (Untergrund subtrahiert) und von dem synthetisierten 1,10- <i>seco</i> -Cholestan im Vergleich.....	47
Abb. 3-9:	Unterschiedliche Isomerenverteilung von Inhoffens Keton und des Reaktionsprodukts nach der Umsetzung mit Butyllithium.....	48

Abb. 3-10: Ausschnitt aus dem Totalionenstromchromatogramm der GC-MS-Analyse des Isomerisats von 5 α -Cholestan	50
Abb. 3-11: Ausschnitt aus dem Totalionenstromchromatogramm der GC-MS-Analyse des Isomerisats von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan	51
Abb. 3-12: Exemplarische Massenspektren von Verbindungen des Isomerisats mit den Basispeaks bei <i>m/z</i> 219 und bei <i>m/z</i> 220	53
Abb. 3-13: Bildungsmechanismen der Fragmente bei <i>m/z</i> 217 und bei <i>m/z</i> 218 von regulären Steranen in Abhängigkeit von der Konfiguration.....	53
Abb. 3-14: Massenspektren der unbekanntes C ₂₇ -Verbindung und des Produkts der sauer katalysierten Umlagerung von 1,10- <i>seco</i> -Cholesten (14-Methyl-18- <i>nor</i> -1,10- <i>seco</i> -Cholestan ?).....	55
Abb. 3-15: a) Mechanismus der sauer katalysierten Sterenumlagerung; b) hypothetische Umlagerung von 1,10- <i>seco</i> -Diacholest-5(10)-en	57
Abb. 3-16: 5-Methyl-19- <i>nor</i> -1,10- <i>seco</i> -Cholestan: Strukturvorschlag für die unbekanntes C ₂₇ -Verbindung	58
Abb. 3-17: a) Mono- und triaromatische C ₂₇ -Steroidkohlenwasserstoffe; b) aromatische 4,5- <i>seco</i> -Cholestan-Derivate	58
Abb. 3-18: Ionenchromatogramme für <i>m/z</i> 231, 251, 253 und 255 aus der GC-MS-Analyse der Aromatenfraktion des Monterey-Rohöls des Ölfelds Orcutt B	60
Abb. 3-19: Strukturen, mögliche Konfigurationen und Bezeichnungen einiger Hopanoide	63
Abb. 3-20: Ausschnitte aus Ionenchromatogrammen einer Boscan- und der Casmalia A-Ölprobe	69
Abb. 3-21: Ausgewählte Reife- und Herkunftsparameter versus U/REG.....	71
Abb. 3-22: Ausschnitte der Ionenchromatogramme von <i>m/z</i> 374,4 \rightarrow 219,2 der Hilsmulde-Proben	75
Abb. 3-23: Darstellung von Reifeparametern auf der Basis von Steranen (a) und Hopanen (b) versus U/DIA	75
Abb. 3-24: Ausschnitte von GC-MSMS-Ionenchromatogrammen der Proben Dohnsen und Haddessen	77
Abb. 3-25: Ionenchromatogramme von <i>m/z</i> 191,2 und <i>m/z</i> (217,2+218,2) und das Totalionenstromchromatogramm (TIC) der Aliphatenfraktion der pyrolysierten Boscan-Rohöl-Asphaltene	78

Abb. 3-26: Ionenchromatogrammausschnitte der pyrolysierten Asphaltene (A) und der Aliphatenfraktion (B) eines Boscan-Öls	80
Abb. 4-1: Vereinfachtes Schema der Synthesewege von 4,5- <i>seco</i> -Cholestan, 1,10- <i>seco</i> -Cholestan und 14-Methyl-18- <i>nor</i> -1,10- <i>seco</i> -Cholestan	84
Abb. 6-1: Massenspektren ausgewählter Zwischenstufen der Synthese von <i>seco</i> -Cholestanen	103
Abb. 6-2: Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan	107
Abb. 6-3: Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan	111

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 2-1:	Übersicht der ausgewählten Scanbereiche für die MID-Messungen	32
Tabelle 2-2:	Übersicht der ausgewählten Ionenübergänge und Verweilzeiten pro Übergang für die GC-MSMS-Experimente im MRM-Modus.....	21
Tabelle 3-1:	Relative Intensitäten, Retentionszeiten und massenspektrometrische Daten der Verbindungen des Isomerisats von 1,10- <i>seco</i> -Cholestan.....	52
Tabelle 3-2:	Relative Intensitäten der dominierenden Verbindungen in den Ionenchromatogrammen von m/z 231,2 und 251,2 (vgl. Abb. 3-19).....	61
Tabelle 3-3:	Kohlenstoffzahlen und Maxima der n -Alkanverteilungen und Pristan/Phytan-Verhältnisse der Erdölproben.....	68
Tabelle 3-4:	Einige ausgewählte Reifeparameter für die Hilsmulde-Proben auf der Basis fossiler Sterane und Hopane.....	73

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	circa
cm	Zentimeter
eV	Elektronenvolt
FID	Flammenionisations-Detektor
frdl. pers. Mitt.	freundliche persönliche Mitteilung
g	Gramm
µg	Mikrogramm
GC	Gaschromatographie
ICBM	Institut für Chemie und Biologie des Meeres
ID	Innendurchmesser
Inj.	Injektion
InjSTD	Injektions-Standard
ISTD	Interner Standard
KAS	Kaltaufgabesystem
mL	Milliliter
µL	Mikroliter
m	Meter
µm	Mikrometer
mol	Mol
mmol	Millimol
M ⁺	Molekülion
mbar	Millibar
mg	Milligramm
min	Minute
Mio	Millionen
mm	Millimeter
MRM	Multi Reaction Mode
ms	Millisekunde
MS	Massenspektrometrie
MSSV	Micro scale sealed vessel
MSTFA	N-Methyl-N-Trimethylsilyltrifluoracetamid
<i>m/z</i>	Masse zu Ladung
s	Sekunde
Si-NA	Silikalit Nonaddukt
TIC	Total Ion Current (Totalionenstrom)
TMS-	Trimethylsilyl-
unveröff.	unveröffentlicht
usw.	und so weiter
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent

KURZFASSUNG

Die vorliegende Arbeit fasst die Ergebnisse zur Strukturaufklärung und zur geochemischen Charakterisierung einer Serie aliphatischer, bislang nicht identifizierter Verbindungen mit 27, 28 und 29 Kohlenstoffatomen zusammen, die in fossilem organischem Material unterschiedlicher Herkunft gefunden wurden.

Auf der Basis massenspektrometrischer Daten wurden Strukturvorschläge hergeleitet und neue Synthesewege entwickelt. Den analytischen Daten authentischer Standards zu Folge handelt es sich bei den unbekanntem Verbindungen nicht um 4,5-*seco*-Cholestane, 1,10-*seco*-Cholestane, 14-Methyl-18-*nor*-1,10-*seco*-Cholestane oder 4,5-*seco*-Diacholestane. Die Auswertung der Synthesergebnisse resultiert in der Annahme, dass es sich bei den unbekanntem Verbindungen um 5-Methyl-19-*nor*-4,5-*seco*-Sterane handelt. Der Nachweis einer Serie von aromatischen Steroidkohlenwasserstoffen bekräftigt die Hypothese, dass die genannten Verbindungen eine *seco*-Steranstruktur mit einer C-5-Methylgruppe besitzen. Die Richtigkeit des Strukturvorschlags muß im Rahmen zukünftiger Arbeiten überprüft werden.

Die geochemische Analyse verschiedener Öl- und Sedimentproben bestätigt die bislang unveröffentlichten Ergebnisse von Untersuchungen, nach denen die Verbindungen weit verbreitet sind und deren Vorkommen qualitativ nicht an bestimmte Ablagerungsbedingungen gebunden ist. Zur Quantifizierung der unbekanntem Verbindungen wurden die Parameter U/DIA und U/REG entwickelt, bei denen die relative Konzentration der unbekanntem C₂₇-Verbindung ins Verhältnis zur Summe der Diacholestane (U/DIA) bzw. der regulären Cholestane (U/REG) gesetzt wird. Mittels GC-MSMS-Analysen konnten pro Kohlenstoffzahl jeweils mindestens sechs Isomere nachgewiesen werden, deren relative Verhältnisse untereinander in allen analysierten Proben unabhängig von der Reife oder der Herkunft nahezu identisch sind. Es konnte gezeigt werden, dass die unbekanntem Verbindungen nicht die Produkte mikrobieller Transformation organischen Materials darstellen. Sie werden vielmehr während der fortgeschrittenen Katagenese aus makromolekularen Verbindungen wie Asphaltene freigesetzt. Der Nachweis der unbekanntem Verbindungen in stark biodegradierten und sehr reifen Proben deutet darüber hinaus auf die ausgeprägte Stabilität gegenüber mikrobieller und thermischer Zersetzung hin.

ABSTRACT

This thesis summarizes the results of research on structure and geochemical characterization of a series of so far unidentified aliphatic compounds with 27, 28 and 29 carbon atoms, found in fossil organic matter of diverse origin.

On the basis of the mass spectrometrical data, suggestions on the structure have been made, resulting in the synthesis of several authentic standards. None of the standards of 4,5-*seco*-cholestane, 1,10-*seco*-cholestane, 14-methyl-18-*nor*-1,10-*seco*-cholestane or 4,5-*seco*-diacholestane was identical with the natural C₂₇-compound as far as retention times and mass spectrometrical data are concerned. The analysis of the results of the synthesis leads to the assumption that the unknown compounds have a 5-methyl-19-*nor*-4,5-*seco*-sterane structure. The detection of a series of mono- and diaromatic steroid hydrocarbons confirms this theory.

The geochemical characterization of several crude oils and sediment samples supports unpublished results, that the unknown compounds are widespread. Furthermore their occurrence is – concerning their quality – not related to distinct conditions during sedimentation. To describe both the occurrence and the amount of the compounds, the two parameters U/DIA and U/REG were developed. They were calculated by dividing the relative concentration of the unknown C₂₇ compound by that of the sum of diacholestanes (U/DIA) and the sum of cholestanes (U/REG), respectively. Using GC-MSMS analysis, at least six isomers per carbon number have been identified. The relative ratios of the isomers are almost the same for all samples.

It could be verified that the unknown compounds do not result from microbial transformation but are rather released from macromolecular components like kerogen or asphaltenes during catagenesis. The detection of the unknown compounds in both highly biodegraded and very mature organic matter underlines the pronounced stability of the molecules.

1 Einleitung

1.1 Geschichtlicher Exkurs und allgemeine Einleitung

Heute lässt sich wohl kaum mehr feststellen, wann in der Vergangenheit Menschen damit begonnen haben, über die Entstehung von Leben oder das Erscheinungsbild ihrer Umwelt nachzudenken. Dass sich aber Philosophen diese Frage über die Jahrtausende hinweg immer wieder gestellt haben, ist unbestritten und zeigt sich anhand zahlreicher Überlieferungen. Aus heutiger Sicht sind einige der damaligen Deutungen durchaus beeindruckend. So sah der griechische Philosoph Xenophanes bereits vor 2500 Jahren in Fossilien von Meerestieren Zeugnisse früherer Überschwemmungen. Umso erstaunlicher erscheint es, dass Aristoteles 200 Jahre später Fossilien als Beweis der Urzeugung von Lebewesen aus Erde und Schlamm ansah. Die bis in das 17. Jahrhundert verbreitete Anschauung, dass die Fossilien im Gestein eine Laune der Natur (*ludi naturae*) darstellten und durch eine "vis plastica" geschaffen seien, hat hier ihre Wurzel. Aber nicht alle waren dieser Ansicht. Einer der bekanntesten Vertreter derer, die von der erdgeschichtlichen Bedeutung von Fossilien als Überresten vergangenen Lebens überzeugt waren, war Leonardo da Vinci (Hölder, 1960).

Unabhängig von der Richtigkeit der beschriebenen Deutungen spiegelt sich in all den Annahmen die Faszination darüber wider, dass im Boden Spuren der Vergangenheit verborgen liegen und dass das Studium der fossilen Zeitzeugen im geologischen Archiv Erde Aufschluss über die Vergangenheit zu geben vermag. Es sollte aber noch bis Mitte des 18. Jahrhunderts dauern, bevor schließlich ein erstes System zur Verfügung stand, das die Einordnung der vielerorts gesammelten und untersuchten geologischen Proben und einen einheitlichen Abgleich der Daten untereinander ermöglichen sollte: Giovanni Arduino teilte unterschiedliche Gesteinsschichten in Montes primitivi, secundarii und tertierii ein und schuf vergleichbar mit den heutigen Bezeichnungen Paläozoikum, Mesozoikum und Känozoikum das erste stratigraphische System (Hölder, 1960). Georg Christian Füchsel wiederum begründete die geologische Zeittafel, indem er Schichten zu größeren Einheiten zusammenfasste und sie der Zeit gleichsetzte, in der sie abgelagert wurden. Wenngleich diese Systeme fortan Korrekturen und Verfeinerungen erfuhren, so konnte doch ein immer facettenreicheres Bild des geologischen oder auch anorganischen Aufbaus der Erde entstehen.

Zu jener Zeit war man noch weit von dem Gedanken entfernt, dass den im Boden befindlichen organischen Verbindungen ebenfalls ein erhebliches Potential als Zeitzeugen

innewohnen könnte oder dass es zukünftig mit ihrer Hilfe sogar möglich sein sollte, Paläoumweltbedingungen zu rekonstruieren. Das lag nicht etwa daran, dass Erdöl als wohl bekanntester fossiler organischer Überrest abgestorbener Organismen nicht schon seit langem bekannt war, sondern an den eingeschränkten Analysemöglichkeiten. Vor allem im mesopotamischen Raum trat Erdöl an der Oberfläche aus, seine flüchtigen Bestandteile verdunsteten, und Bitumen, Erdpech und Teer blieben zurück. Bereits vor über 4000 Jahren wurde dieses fossile organische Material als Brennstoff, als Mörtel oder zum Abdichten von Dächern und Schiffen benutzt (Hansen, 1975). Im europäischen Raum war Erdöl dagegen erst im Mittelalter bekannt, und es dauerte bis ins 19. Jahrhundert, bevor die ersten erfolgreichen Bohrungen durchgeführt wurden. Je nach Verwendungszweck wurde das Rohöl destilliert, was von der Kenntnis zeugt, dass es sich um ein Gemisch verschiedener Verbindungen handelt. Über die Entstehung konnte jedoch zunächst nur spekuliert werden.

Die Klärung der Herkunft von Erdöl gelang erst Alfred Treibs (1934a, 1934b). Er untersuchte Schiefer, der reich an fossilem organischem Material war, und identifizierte Verbindungen, die strukturell eine bemerkenswert große Ähnlichkeit mit dem grünen Pflanzenfarbstoff Chlorophyll *a* besaßen (siehe Abb. 1-1 (a)). Treibs (1936) postulierte, dass der von ihm gefundene Vanadyl-Porphyrin-Komplex das geochemische Abbauprodukt von Chlorophyll *a* darstellte.

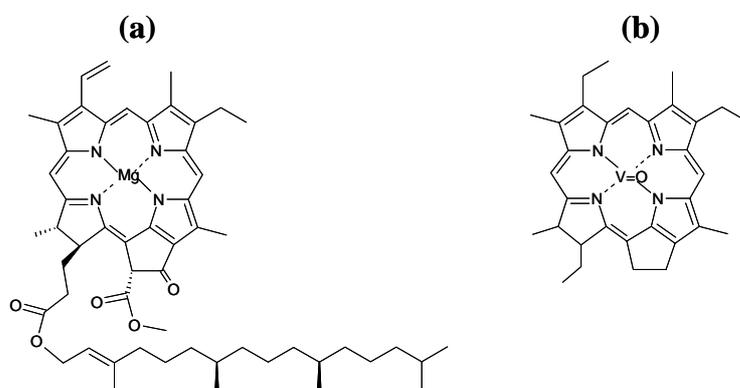


Abb. 1-1: Strukturformeln des grünen Pflanzenfarbstoff Chlorophyll *a* (a) und von Vanadyl-desoxyphylloerythro-etioporphyrin (b)

Seine Entdeckung machte deutlich, dass eine Beziehung zwischen dem bis zu viele Millionen Jahre alten organischen Material und den von lebenden Organismen biosynthetisierten Verbindungen besteht. Treibs hatte damit vor 70 Jahren nicht nur einen Beweis für den pflanzlichen Ursprung von Erdöl erbracht, sondern auch einen der ersten

sogenannten Biomarker geprägt und die Geburtsstunde einer neuen Disziplin, der organischen Geochemie, eingeläutet.

Viele der darauf folgenden Untersuchungen besaßen nicht zuletzt wegen wirtschaftlicher Interessen der Erdölindustrie einen petrochemischen Hintergrund, und die Entwicklung leistungsfähiger Explorationsstrategien wäre mit reiner Forscherneugier sicher nicht zu rechtfertigen gewesen. Dennoch stand und steht hinter dem Erfolg dieser neuen Disziplin - ähnlich wie vor tausend Jahren - vor allem die Faszination von Menschen, anhand von (organisch geochemischen) Fossilien einen Blick auf die (belebte und unbelebte) Vergangenheit werfen zu können.

Dieser Blick ist nur möglich, wenn die Sedimente hinreichende Gehalte an organischem Material aufweisen. Das ist von Bedeutung, da der größte Teil des organischen Materials in makromolekularen Verbindungen (Kerogen und Asphaltene) gebunden vorliegt und nur ein kleiner Teil in Form niedermolekularer Moleküle (Maltene) mittels Gaschromatographie (GC) oder Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert werden kann. Geeignetes Probenmaterial stellen vor allem Sedimente von Seen und Ozeanen dar, da sich in deren photischer Zone häufig eine hohe Bioproduktion der planktonischen Mikroorganismen einstellt. Darüber hinaus sind die Erhaltung und eine stratigraphische Schichtung des abgestorbenen organischen Materials nach dem Absinken auf den Boden in marinem oder lakustrinem Milieu am besten gewährleistet.

Die eigentliche Herausforderung ist dann aber, aus dem Gemisch hunderter Verbindungen, aus denen das fossile organische Material zusammengesetzt ist, jene herauszufiltern und zu identifizieren, die als potentielle Biomarker in Betracht kommen. Von Interesse sind vor allem solche Verbindungen, die geologische Zeiträume ohne größere Umwandlungen überdauern. Kurz nach dem Absterben der Organismen beziehen sich derartige Umwandlungen vor allem auf den mikrobiellen Abbau und geochemische Defunktionalisierungsreaktionen bei Temperaturen von bis zu 50°C (Diagenese). Mit zunehmender Versenkungstiefe der Sedimente nehmen der Druck und die Temperatur zu und werden zu reaktionsbestimmenden Größen (Katagenese). Polysaccharide und Proteine können während des Absinkens durch die Wassersäule und während der Frühdiagenese schnell abgebaut werden und gelangen wieder in den Kohlenstoffkreislauf. Anders verhält es sich mit Lipiden wie Cholesterol (siehe Abb. 1-2). Häufig bleibt selbst bei der radikalischen Freisetzung von Erdölkohlenwasserstoffen aus Kerogen während der Katagenese das Grundgerüst derartiger biogener Substanzen erhalten.

Die im Sediment auffindbaren fossilen Kohlenwasserstoffe werden als Geolipide bezeichnet. Ist das Vorkommen eines Geolipids so spezifisch, dass Produkt/Vorläufer-Beziehungen hergeleitet werden können, sind die Voraussetzungen für die Verwendung als Biomarker gegeben. Ein Beispiel für eine Produkt/Vorläufer-Beziehung stellen z.B. das in fossilem organischem Material vorhandene Cholestan und dessen Vorläufer Cholesterin dar, das als universeller Membranversteifer in den Zellen der Eukaryonten weit verbreitet ist (siehe Abb. 1-2).

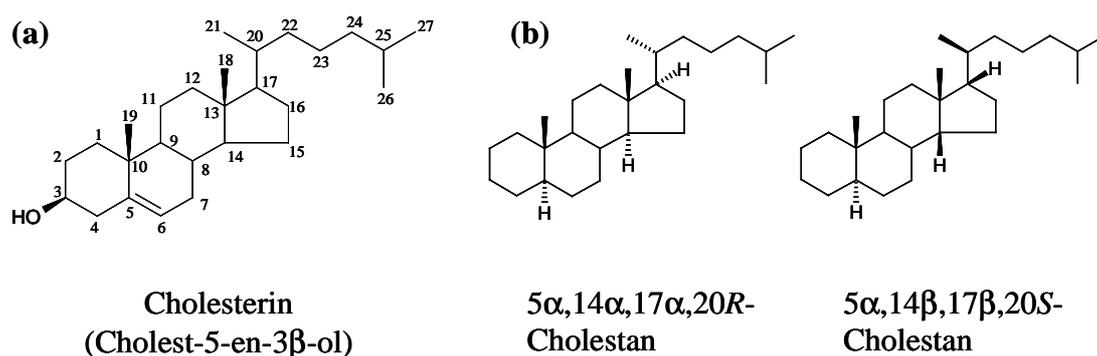


Abb. 1-2: Strukturformeln (a) von biogenem Cholesterin (Cholest-5-en-3 β -ol) und (b) von fossilem 5 α ,14 α ,17 α ,20R- und 5 α ,14 β ,17 β ,20S-Cholestan

Nur selten entstammen Geolipide einem bestimmten Organismus. Ein Beispiel ist Dinosterol, dessen einzige (bekannte) natürliche Quelle Dinoflagellaten darstellen (Boon et al., 1979; Nichols et al., 1984; Robinson et al., 1984; Volkman et al., 1998). Derartige Verbindungen sind chemotaxonomisch von großem Interesse und geben eindeutige Hinweise für die Beurteilung der Herkunft einer Probe (marin, lakustrin, terrestrisch). Die Zusammensetzung des organischen Materials hängt aber nicht nur von den ursprünglichen Organismen, sondern in entscheidendem Maß auch ab von

- dem Ablagerungsmilieu (oxisch/anoxisch, Salinität),
- thermisch bedingten Umwandlungen (Reife, radikalische Freisetzung von Erdölkohlenwasserstoffen aus makromolekularen Substanzen wie Kerogen),
- katalytischen Effekten der Matrix und
- chromatographischen Effekten durch Migration.

Der Einfluss solcher Faktoren kann häufig anhand der relativen Verhältnisse verschiedener Verbindungen abgeschätzt werden. So wird die Reife einer Probe u.a. anhand der relativen Konzentrationen von Stereoisomeren abgelesen, da sich die biogenen und geochemisch gebildeten Konfigurationen der Moleküle unterscheiden. Gegen Ende der Diagenese weisen

beispielsweise Cholestane überwiegend dieselbe $14\alpha,17\alpha,20R$ -Konfiguration wie biogenes Cholesterin auf. In reifem organischem Material dominieren dagegen die thermodynamisch stabileren Stereoisomere mit $5\alpha,14\beta,17\beta,20R$ - und $20S$ -Konfiguration (siehe auch Kapitel 3.3.1).

Anhand empirischer Daten war es möglich, zahlreiche weitere Zusammenhänge zu erkennen. Dies führte zur Herleitung von Parametern und Theorien, mit denen die Umwandlung des biogenen organischen Materials in Abhängigkeit verschiedener Randbedingungen zu erklären versucht wurde. Eine der größten Schwierigkeiten besteht aber nach wie vor darin, die Prozesse und Reaktionsmechanismen aufzuklären, die den Umwandlungen des organischen Materials zu Grunde liegen. In vielen Fällen ist man auch heute noch auf Spekulationen angewiesen, da naturgetreue Simulationen nicht zuletzt wegen der geologischen Reaktionszeiten nicht ohne weiteres zu realisieren sind. Beispielsweise stehen zwei Theorien zur Bildung des makromolekularen Kerogens nebeneinander. Einerseits besteht die Annahme der Rekombination kleiner, aus Proteinen u.ä. Verbindungen gebildeter Bausteine (Tissot und Welte, 1984). Andererseits ist eine selektive Erhaltung biogener Makromoleküle wie Alginan denkbar (Tegelaar et al., 1989). Um solche Hypothesen verifizieren zu können, ist man auf den Nachweis von Verbindungen angewiesen, die als Intermediate während des Abbaus auftreten. Das Zusammenfügen vieler Informationen kann dann in einem Modell z.B. für den Abbau von Cholesterin zum Cholestan münden.

Auf der Suche nach neuen, unbekanntem Biomarkern identifizierte man in geochemischen Proben immer wieder Verbindungen, deren biologische Quelle lange Zeit nicht gefunden wurde. Man konnte nicht sicher sein, ob diese Verbindungen aus bekannten Vorläufern über nicht aufgeklärte Reaktionswege gebildet wurden und somit eher prozessrelevante Biomarker darstellten oder ob sie auf unbekanntem Vorläufer naturstoffchemisch bislang nicht untersuchter Organismen zurückgingen. Beispielsweise wurde das Vorkommen von bestimmten pentacyclischen Triterpanen, den Hopanen, bereits Ende der 60er Jahre beschrieben (Henderson et al., 1969). Dass diesen Verbindungen in Form von Bakteriohopantetrol in Prokaryonten die gleiche Funktion als Membranversteifer zukommt wie den Steroiden bei den Eukaryonten, wurde erst 10 Jahre später von Ourisson et al. (1979) entdeckt. Heute zählen Hopanoide zu den wichtigen und aussagekräftigen Biomarkern sowohl von reifem als auch von unreifem organischem Material.

Die Kenntnis solcher Entwicklungen in der organischen Geochemie ist im Hinblick auf die vorliegende Arbeit sehr hilfreich. Für die untersuchten Verbindungen waren zu Beginn der Arbeit weder die Strukturen noch irgendwelche Vorläufer bekannt. Dass die Verbindungen

organisch-geochemisches Interesse auf sich gezogen haben, beruhte allein auf massenspektrometrischen Daten (Jiang et al., 1990), die eine in natürlichen Proben bislang nicht identifizierte steroidale Grundstruktur plausibel erscheinen ließen (s.u.). Es war somit denkbar, dass die Charakterisierung und Identifizierung dieser potentiellen Biomarker zu einer weiteren Aufklärung der komplexen Reaktionen organischen Materials während der Diagenese und Katagenese beitragen könnten.

1.2 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Die in dieser Arbeit präsentierten Untersuchungen waren auf eine Serie von Verbindungen ausgerichtet, die in fossilem organischem Material unterschiedlicher Herkunft nachgewiesen wurden. Erstmals wurde das Vorkommen der aliphatischen Verbindungen in einem biodegradierten Öl des Kelamayi-Ölfelds in chinesischer Sprache beschrieben (Yang und Yang, 1988). Nach Angaben von Li et al. (1990) schlugen die Autoren eine 13,17-*seco*-Steran-Struktur vor (siehe Abb. 1-3 für die jeweiligen Strukturvorschläge).

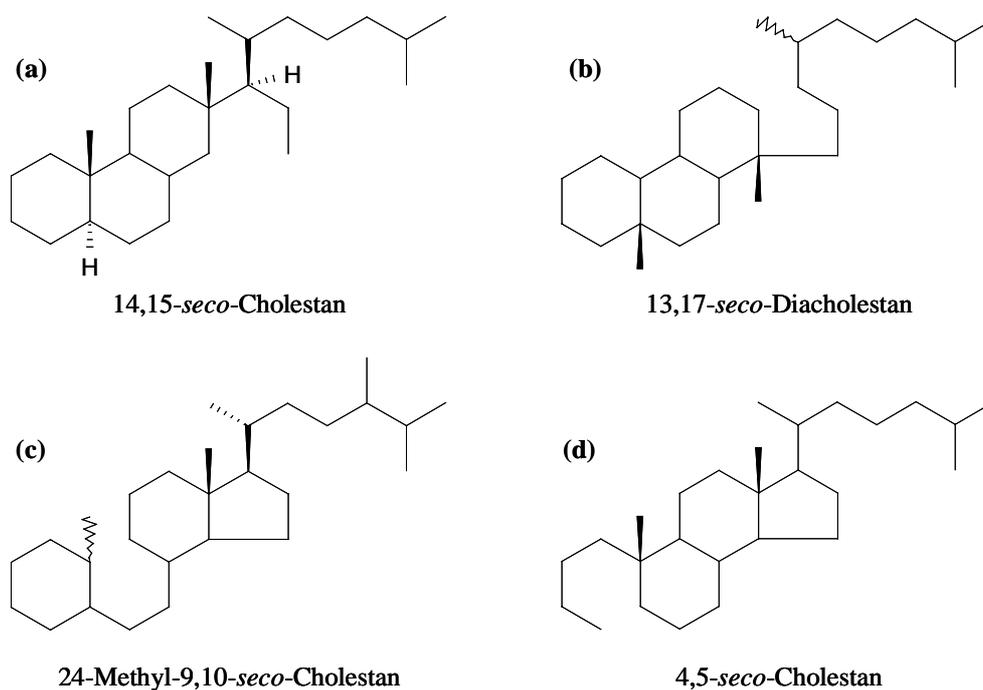


Abb. 1-3: In der Literatur beschriebene Strukturvorschläge für die unbekannte Verbindung mit 27 (a, b und d) bzw. 28 (c) Kohlenstoffatomen

Aufgrund der bei Yang und Yang (1988) angegebenen massenspektrometrischen Daten entschieden sich Li et al. (1990) abweichend vom Strukturvorschlag für die Synthese von 14,15-*seco*-Cholestan. Weder das Massenspektrum noch die Retentionszeit stimmten mit den

Daten der natürlichen Verbindung überein. Ein Jahr später veröffentlichten die Autoren die Ergebnisse der Synthese von 13,17-*seco*-Diacholestan. Wieder konnte keine Übereinstimmung mit der natürlichen Verbindung festgestellt werden (Li et al., 1991). Jiang et al. (1990) vertraten aufgrund der massenspektrometrischen Daten die Ansicht, dass es sich um Verbindungen des Perhydro-Vitamin D2 oder D3-Typs handeln könne. Durch die Synthese von Perhydrodeoxo-Vitamin D2 (24-Methyl-9,10-*seco*-cholestan) wurde dies widerlegt. Die Autoren schlugen daraufhin eine 4,5-*seco*-Steran-Struktur vor. Auch diese These traf nicht zu, wie Ma et al. (1991) durch die Synthese eines authentischen Standards zeigen konnten. Weitere Strukturvorschläge oder Synthesen für die unbekanntes Verbindungen ließen sich seither in der Literatur nicht finden. Erst nach der Entwicklung eigener Strukturvorschläge und der Durchführung der jeweiligen Synthesen stellte sich heraus, dass die unbekanntes Verbindungen unveröffentlichten Ergebnissen zu Folge keine 1,10-*seco*-Steranstruktur besitzen (Paulus, 1993).

Auf die geochemische Bedeutung der unbekanntes Verbindungen gehen einzig Jiang et al. (1990) ein. Die Autoren konnten sie vor allem in biodegradierten Ölen, aber auch in nicht-biodegradierten Ölen nachweisen. Sie detektierten bei einem Grundgerüst von 27, 28 und 29 Kohlenstoffatomen je ein Isomer. Nur in dem biodegradierten Öl konnte noch je ein weiteres Isomer nachgewiesen werden. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Verbindungen entweder sehr resistent gegenüber Biodegradation sind oder aber die mikrobiellen Abbauprodukte steroidal Verbindungen darstellen.

Ergebnisse aktueller Analysen verschiedener Erdöle haben weiterführend gezeigt, dass die unbekanntes Verbindungen weitverbreitet und weitestgehend resistent gegenüber Biodegradation und thermischer Belastung sind (pers. Mitt. M. Fowler, 2003). Mittels GC-MSMS (Gaschromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometrie) haben Fowler et al. (unveröff. Daten) je Kohlenstoffzahl zwei Isomere nachgewiesen. Die unbekanntes Verbindungen wurden überwiegend in Ölen aus tonigen, gelegentlich aber auch aus karbonatischen Muttergesteinen gefunden.

Aus den geschilderten Ergebnissen vorangegangener Untersuchungen ergeben sich vor allem zwei offene Fragenkomplexe, die einerseits die Struktur und andererseits die geochemische Relevanz der unbekanntes Verbindungen betreffen.

Trotz zahlreicher Versuche war es bisher nicht möglich, die Verbindungen zu identifizieren. Vorrangiges Ziel der Arbeit war daher, die Struktur so weit wie möglich aufzuklären. Zu diesem Zweck sollten Strukturvorschläge auf der Basis eigener massenspektrometrischer Daten entwickelt und mittels Synthese auf ihre Richtigkeit hin

überprüft werden. In die Strukturvorschläge sollten auch Überlegungen zu möglichen Vorläuferverbindungen mit einfließen.

Um die geochemische Bedeutung der unbekanntes Verbindungen einschätzen zu können, mussten verschiedene Faktoren berücksichtigt werden. In der Literatur wurde das Vorkommen der Verbindungen nur für sehr reifes organisches Material beschrieben. Die Frage nach dem Auftreten in unreifem organischem Material blieb unbeantwortet. Es sollte daher eine Probenserie gleicher Organofazies analysiert werden, deren Proben unterschiedliche Reifestadien aufweisen. Bisher unveröffentlicht sind weiterhin Ergebnisse, die die unbekanntes Verbindungen als ubiquitär herausstellen. Anhand der Analyse einer Auswahl von Rohölen unterschiedlicher Herkunft sollte diese Aussage überprüft werden. In diesem Zusammenhang sollte auch darauf geachtet werden, ob sich qualitative oder quantitative Unterschiede für verschiedene Muttergesteine feststellen lassen. Bezüglich der Herkunft der unbekanntes Verbindungen ziehen Jiang et al. (1990) in Betracht, dass es sich um Produkte mikrobiellen Abbaus handeln könne. Um diese Aussage bewerten zu können, sollten biodegradierte und nicht-biodegradierte Öle nicht nur auf das Vorkommen der Verbindungen, sondern auch auf mögliche Unterschiede in den Verteilungsmustern der Isomere untersucht werden. Um die Frage der Herkunft weiterführend beantworten zu können, sollten makromolekulare Asphaltene einer Ölprobe pyrolysiert und auf das Vorkommen der unbekanntes Verbindungen in den Pyrolysaten analysiert werden.

2 Methodischer Teil

2.1 Allgemeine Anmerkungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ausgewählte Öl- und Sedimentproben aufgearbeitet und analysiert. Abb. 2-1 und Abb. 2-2 geben die vereinfachte Vorgehensweise bei der Probenaufbereitung wieder. Details zu den einzelnen Arbeitsschritten finden sich unter Kapitelabschnitten, die in den Schemata mit angeführt sind. Eine allgemeine Beschreibung der Öl- und Sedimentproben findet sich in Kapitel 2.12.

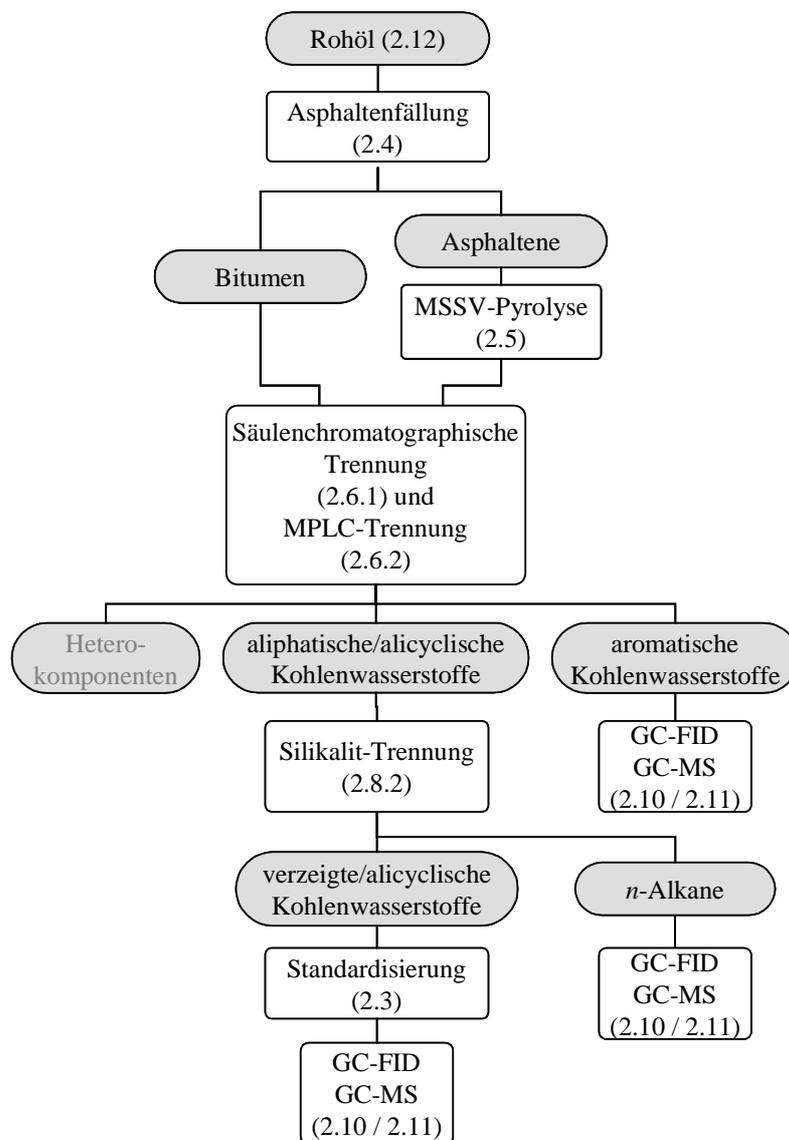


Abb. 2-1: Vereinfachtes Aufarbeitungs-Schema für die Ölproben. Details gehen aus den angegebenen Abschnitten hervor.

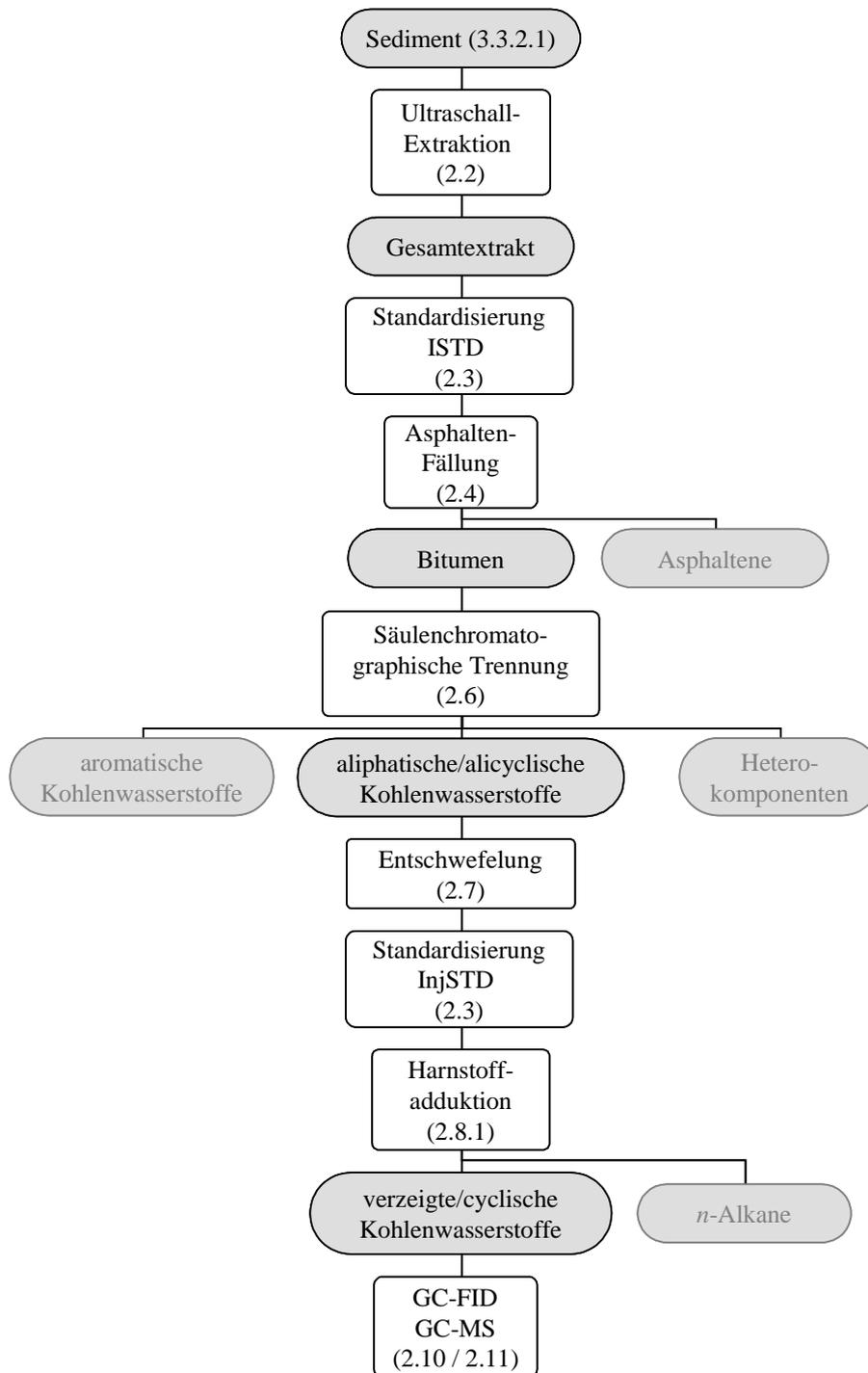


Abb. 2-2: Vereinfachtes Aufarbeitungs-Schema für die Sedimentproben. Details gehen aus den angegebenen Abschnitten hervor.

2.2 Ultraschallextraktion

In einem Becherglas wurden 30 g fein zerkleinerte und getrocknete Gesteinsprobe mit 100 mL Dichlormethan (mit 1% Methanol v/v) 15 min im Ultraschallbad behandelt. Nach wenigen Minuten Absetzzeit wurde die überstehende Lösung in eine Filtrationseinheit dekantiert und mit schwachem Vakuum filtriert. Der Rückstand wurde mit 100 mL Lösungsmittelgemisch aufgeschlämmt, erneut 15 min im Ultraschallbad extrahiert und abdekantiert. Der Vorgang wurde zwei weitere Male mit jeweils 60 mL Lösungsmittelgemisch bei 10 minütiger Extraktionsdauer wiederholt. Der Filterkuchen wurde abschließend gründlich nachgespült. Der Extrakt wurde volumenreduziert und auf 5 mL aufgefüllt.

2.3 Interne Standardisierung und Quantifizierung

Die Gesteinsproben aus der Hilsmulde wurden mit Squalan als internem Standard (ISTD) und Behensäuremethylester als Injektionsstandard (InjSTD) versetzt.

Für die Semiquantifizierung der unbekanntesten Verbindungen wurde das Silikalit-Nonaddukt (Si-NA, s. Kapitel 2.8.2) des Boscan-Öls mit 26,26,26,27,27,27-d⁶-Cholestan als internem Standard (ISTD) versetzt. Zur Ermittlung der richtigen Menge an ISTD wurde anhand der gaschromatographischen Daten zunächst die Konzentration von 17 α -Hopan bestimmt. Aus den massenspektrometrischen Daten wiederum wurde das Verhältnis von 17 α -Hopan zu den regulären Steranen ermittelt. Zusammen mit der Konzentration des 17 α -Hopans konnten darüber die Konzentrationen der regulären Sterane zu etwa 1 μ g/mL abgeschätzt werden. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde eine Lösung in *n*-Hexan angesetzt, die 3,1 mg Si-NA/mL und 1 μ g/mL 26,26,26,27,27,27-d⁶-Cholestan als internen Standard enthielt (vgl. Abb. 2-3). Für die Quantifizierung wurde zunächst der Quotient aus den Intensitäten der Basispeaks bei *m/z* 219 (unbekannte Verbindung) und bei *m/z* 217 (ISTD) gebildet. In dem errechneten Wert von 0,15 kommt die um ungefähr eine Größenordnung geringere Konzentration der unbekanntesten Verbindung gegenüber dem ISTD zum Ausdruck. Zur Kontrolle wurde der entsprechende Quotient aus den Intensitäten der Moleküllionen bei *m/z* 374 (unbekannte Verbindung) und *m/z* 378 (ISTD) ermittelt. Mit 0,13 stimmt dieser Wert mit dem der Basispeaks gut überein. Bei einer Konzentration von 1 μ g/mL ISTD lässt sich die ungefähre absolute Konzentration für das dominierende Isomer der C₂₇-Verbindung demnach mit der Gleichung $c(\text{unbekannte Verbindung}) = c(\text{ISTD}) * 0,15$ berechnen.

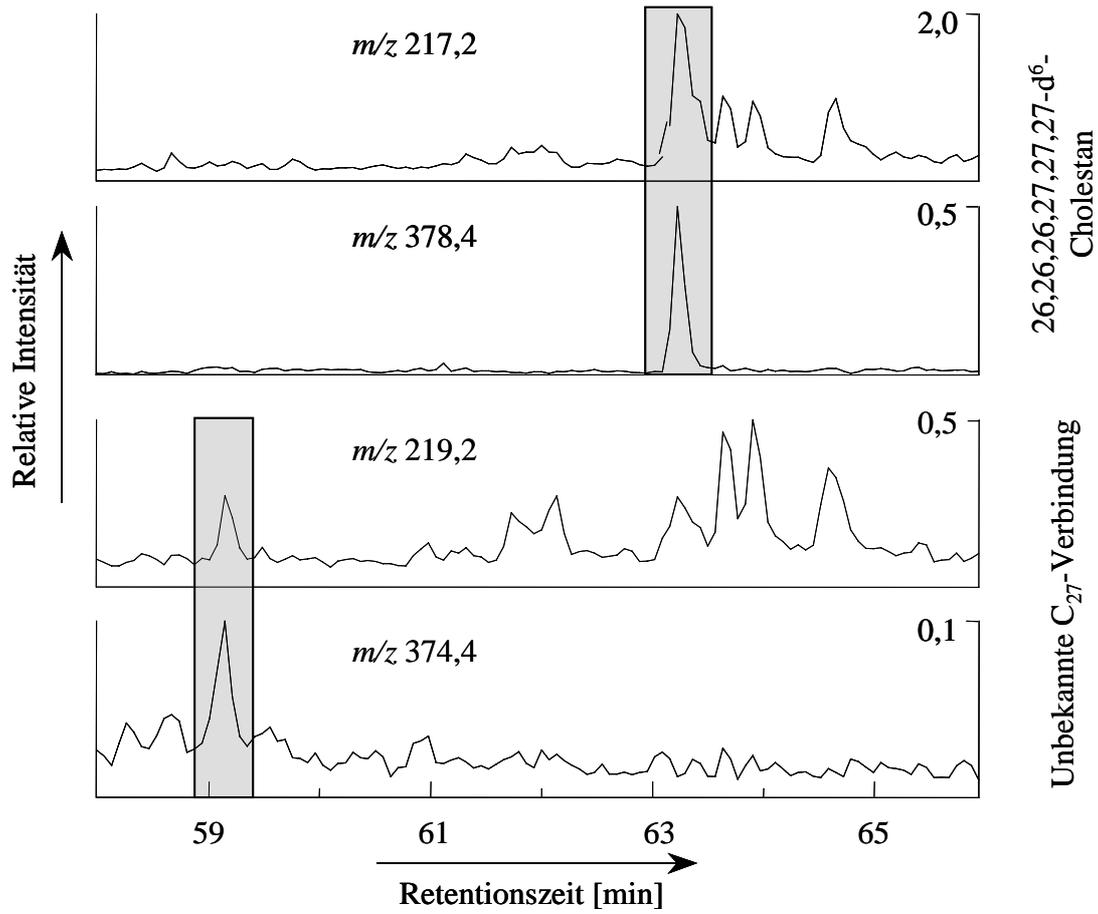


Abb. 2-3: Repräsentative Ionenchromatogramme für 26,26,26,27,27,27- d^6 -Cholestan (m/z 217,2 und 378,4) und die unbekannte C_{27} -Verbindung (m/z 219,2 und 374,4) aus der Aliphatenfraktion eines Boscan-Rohöls

2.4 Asphaltenfällung

Je Probe wurde etwa 1 g Öl eingesetzt. Zur Trennung des Bitumens (löslich in *n*-Hexan) von den Asphaltenen (unlöslich in *n*-Hexan) wurden die Proben mit 1-2 mL Dichlormethan angelöst und anschließend mit (mindestens) 80 mL *n*-Hexan versetzt. Die Lösung wurde 10 min im Ultraschallbad suspendiert und nach Absetzen der Asphaltene über vorgespültes Natriumsulfat dekantiert. Der Vorgang wurde wiederholt, bis keine Verfärbung des Lösungsmittels mehr zu erkennen war. Zwischendurch wurde der Filter mit *n*-Hexan gespült. Nach dem Wechsel der Vorlage wurden die auf dem Filter verbliebenen Asphaltene mit 10% Methanol in Dichlormethan (v/v) eluiert. Die Fraktionen wurden volumenreduziert und im Stickstoffstrom getrocknet. Die Auswaage erfolgte nach Erreichen der Gewichtskonstanz.

2.5 MSSV-Pyrolyse

Horsfield et al. (1989) haben die Durchführung der MSSV (**M**icro **S**cale **S**ealed **V**essel)-Pyrolyse beschrieben. Es handelt sich um eine wasserfreie Pyrolyse in einem geschlossenen System, mit der u.a. der thermische Reifeprozess makromolekularer organischer Substanzen wie Kerogen und Asphaltenen simuliert werden kann. Für die Pyrolyse wurden Asphalten des Boscan-Rohöls verwendet. Vor der Pyrolyse wurde die Asphaltene-Fraktion mehrfach mit *n*-Hexan umkristallisiert, um freie Biomarker vollständig abzutrennen (vgl. Abschnitt 2.4).

Es wurden insgesamt 4 Ansätze mit je 25 mg Probensubstanz durchgeführt. Die verwendeten Materialien wurden vor Gebrauch bei 320°C (12 Stunden) ausgeheizt. Ein einseitig verschlossenes Glasröhrchen (ca. 3 cm) wurde mit 25 mg der homogenisierten Probe befüllt, getrocknet, mit Helium gespült und zugeschmolzen. Das Röhrchen wurde in ein dickwandiges Headspace-Glas gegeben, welches mit Glaswolle ausgefüllt wurde. Das Glas wurde abschließend mit einer Septumkappe verschlossen. Je zwei der Röhrchen wurden bei 300°C bzw. 320°C für 60 Stunden erhitzt.

Um Kontaminationen auszuschließen, wurden die abgekühlten Röhrchen mit Dichlormethan und *n*-Hexan gespült und vorsichtig in einen Rundkolben (100 mL) überführt. Über einen durchbohrten Stopfen wurde das Röhrchen mit einem Glasstab zerstoßen. Nach Zugabe von 10 mL *n*-Hexan wurde das Pyrolysat vollständig im Ultraschallbad (5 min) dispergiert. Die Lösung wurde über einen mit Natriumsulfat befüllten Glastrichter gegeben. Das Lösemittel wurde entfernt, um das Gewicht des Extrakts ermitteln und den Verlust durch gasförmige Pyrolyse-Produkte bestimmen zu können. Der Extrakt wurde in wenig Cyclohexan gelöst und zur Abtrennung der *n*-Alkane über eine mit Silikalit befüllte Pasteurpipette gegeben (vgl. Kapitel 2.8.2). Die erhaltene Lösung wurde mittels GC und GC-MS analysiert.

2.6 Säulenchromatographie

Für die im Folgenden beschriebenen Trennsäulen für die Flüssigkeitschromatographie wurde Kieselgel 100 (63-200 µm) verwendet. Es wurde bei 190°C (2h) aktiviert und anschließend mit 5% H₂O deaktiviert. Das Kieselgel wurde im jeweiligen Lösungsmittel aufgeschlämmt und anschließend in die Säule gefüllt.

2.6.1 Trennung von Aliphaten, Aromaten und Heterokomponenten

Zur Trennung der aliphatischen/alicyclischen Kohlenwasserstoffe von den aromatischen und polaren Verbindungen wurde eine Säule (ID 1,5 cm) mit 16 g Kieselgel verwendet. Vor der Verwendung wurde die Säule mit 100 mL *n*-Hexan konditioniert. Die Fraktion der aliphatischen und alicyclischen Kohlenwasserstoffe wurde mit 40 mL *n*-Hexan eluiert. Mit 60 mL Dichlormethan in *n*-Hexan (v/v 10%) wurden die aromatischen Verbindungen eluiert. Die Elution der Fraktion der polaren Hetero-Verbindungen erfolgte mit 80 mL Methanol in Dichlormethan (v/v 10%). Die Elutionsmittel wurden unter vermindertem Druck abgetrennt.

2.6.2 Säulenchromatographische Gruppentrennung des Bitumens (MPLC)

Die Anreicherung der unbekanntenen Verbindungen erfolgte anteilig aus der Aliphatenfraktion eines Boscan-Rohöls, die mittels MPLC (Medium Pressure Liquid Chromatography) gewonnen wurde. Es handelt sich bei dem System um eine flussgesteuerte, halbautomatisierte Anlage, die speziell für semipräparative Gruppentrennungen von geologischen Proben entwickelt wurde (Radke et al., 1980). Das MPLC-System besteht aus einem Injektionssystem mit 16 Probenschleifen, 16 Vorsäulen (100 mm x 10 mm ID; gepackt mit Merck Kieselgel 100, aktiviert bei 600°C über eine Dauer von 2 Stunden und einer Hauptsäule (250 mm x 10 mm ID; gepackt mit Merck Lichoprep Si 60/40-63 µm). Die Trennung kann über ein Differentialrefraktometer (RI-Detektor) und über einen UV-Detektor (Absorptionswellenlänge 259 nm) verfolgt werden. Mit dem RI-Detektor werden sowohl nichtaromatische Kohlenwasserstoffe als auch Aromaten erfasst, während vom UV-Detektor Verbindungen mit π -Elektronensystemen wie Aromaten detektiert werden. Als Elutionsmittel wird *n*-Hexan verwendet. Die Probe wird in einem Volumen von etwa 400 µl in die Probenschleife injiziert und das Präparatgläschen 3 bis 4 mal mit je 100 µl *n*-Hexan nachgespült. Die Aliphaten und die Aromaten passieren während der Trennung die Vorsäule und gelangen quantitativ auf die Hauptsäule, während die Heterokomponenten-Fraktion (NSO-Fraktion) auf der Vorsäule verbleibt. Bei einer Flussrate von 8 mL*min⁻¹ werden die aliphatischen/alicyclischen Kohlenwasserstoffe innerhalb von etwa 4 min¹⁾ eluiert. Nach Umkehr der Flussrichtung und Erhöhung der Flussrate auf 12 mL*min⁻¹ wird in einem Zeitraum von 7 min die Fraktion der Aromaten eluiert.

1) Aufgrund eines Säulenaustauschs mussten die Schnitte für die einzelnen Fraktionen angepasst werden, weshalb die jeweiligen Zeiten angepasst wurden.

Die Fraktion der Heterokomponenten verbleibt aufgrund ihrer hohen Polarität auf der Vorsäule und wird nach der Trennung mit Dichlormethan/Methanol (v/v 10%) mit Hilfe einer externen Apparatur von der Vorsäule eluiert. Die erhaltenen Fraktionen werden volumenreduziert, quantitativ in ein Präparatgläschen überführt und im Stickstoffstrom bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

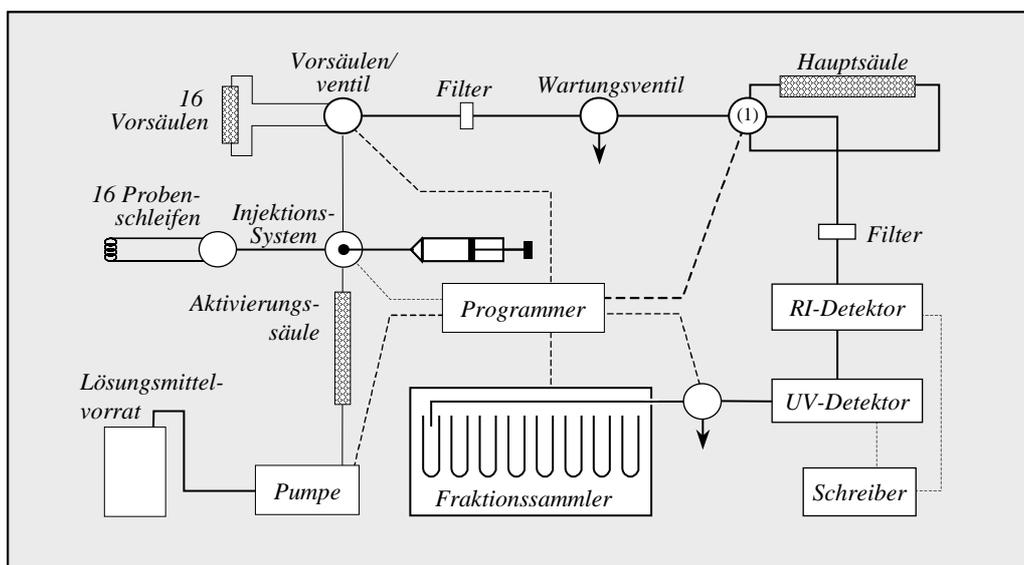


Abb. 2-4: Funktionsschema der MPLC-Apparatur (nach Radke et al., 1980)

2.6.3 Trennung aliphatischer und olefinischer Kohlenwasserstoffe

Um gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe voneinander zu trennen, wurde eine Kieselgelsäule mit 5% Silbernitrat imprägniert. Dazu wurden 0,7 g AgNO_3 in MeOH gelöst und zu 12,5 g Kieselgel 100 gegeben. Methanol wurde im Vakuum am Rotationsverdampfer entfernt. Das Kieselgel wurde daraufhin bei 130°C (1 h) getrocknet. Die Säule wurde mit dem imprägnierten Kieselgel befüllt und mit Aluminiumfolie vor Lichteinfluss geschützt. Die durch das Silbernitrat verursachte, nicht zu vermeidende Verfärbung des Kieselgels beeinträchtigte die Trenneigenschaften nicht. Die Elution der Produkte erfolgte mit *n*-Hexan und wurde mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert.

2.6.4 Trennung saurer und neutraler Kohlenwasserstoffe

Für die Aufreinigung der synthetisierten organischen Säuren, wurde eine Kieselgelsäule mit 10% Kaliumhydroxid imprägniert. 10 g Kieselgel wurden mit einer Lösung aus 1 g Kaliumhydroxid in 20 mL Isopropanol versetzt und durch Schütteln gut miteinander vermengt. Nach Aufgabe der Probe auf die Säule wurden die neutralen Lipide mit 150 mL

Dichlormethan eluiert. Die Desorption der Säuren erfolgte mit 50 mL Ameisensäure in Dichlormethan (v/v 2%). Anschließend wurden die Säuren mit 100 mL Dichlormethan eluiert.

2.7 Entschwefelung der Aliphatenfraktion

Da Schwefel Messungen am Massenspektrometer stört, wurden einige Proben mit Kupferspänen unter Bildung von unlöslichem Kupfersulfid entschwefelt. Die Späne werden mit 2 N Salzsäure aktiviert und anschließend mit Wasser, Aceton und Hexan gespült. Zu der in *n*-Hexan gelösten Aliphatenfraktion wurde so viel Kupfer gegeben, dass noch metallischer Glanz erkennbar blieb. Die Probe wurde quantitativ über einen Filter in ein neues Präparatefläschchen überführt, im Stickstoffstrom getrocknet und gewogen.

2.8 Abtrennung der *n*-Alkane von verzweigten und cyclischen Verbindungen

2.8.1 Harnstoff-Adduktion

Es wurde eine gesättigte Harnstofflösung in Methanol hergestellt (Bedarf etwa 3 g Harnstoff auf 20 mL Methanol). Ein Aliquot der Probe wurde in 1 mL Dichlormethan gelöst und mit 10 mL der gesättigten Harnstofflösung versetzt. Der ausgefallene Harnstoff wurde unter Erwärmung wieder gelöst. Über Nacht erfolgte erneute Kristallisation unter Bildung des Addukts. Über einen mit einem Wattestopfen versehenen Glastrichter wurde das Nonaddukt abgetrennt. Das Addukt wurde mit gesättigter Harnstofflösung mehrfach gespült. Zu dem Filtrat wurden 20 mL destilliertes Wasser und eine Spatelspitze Natriumchlorid gegeben. Es folgte eine Extraktion mit je viermal 10 mL *n*-Hexan. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet.

2.8.2 Silikalit-Adduktion

Sind nur Verbindungen des Nonaddukts von Interesse, kann eine einfache und effektive Abtrennung der linearer Verbindungen durch Adduktionsbildung mit bestimmten Zeolithen erreicht werden. Durch Auflösen der Zeolithe mit Fluorwasserstoffsäure können aber auch die Addukte freigesetzt werden. Zu beachten ist jedoch, dass polare Verbindungen bei diesem Schritt defunktionalisiert werden können (Güntner, 2000).

In Anlehnung an die Vorschrift von West et al. (1990) wurde in dieser Arbeit Silikalit des ZSM-5-Typs (CBV28014, CAS 1318-02-1) verwendet. Der kinetische Porendurchmesser der

Kanäle entspricht dem von Benzol oder linear kondensierten Ringen (frdl. pers. Mitt. Prof. F. Rößner).

Es konnten keine Unterschiede in der Trennleistung von konditioniertem und nicht-konditioniertem Silikalit festgestellt werden. Dennoch wurde ausschließlich Silikalit verwendet, das bei 250°C (>3 h) konditioniert worden war. Bezogen auf die zu trennende Fraktion wurde die 50fache Gewichtsmenge Silikalit eingesetzt. Für die meisten Ansätze genügte eine Pasteurpipette, die locker mit einem Wattebausch versehen und mit der entsprechenden Menge Silikalit befüllt wurde. Die Säule wurde mit 4 mL Cyclohexan gespült.

Die trockenen Proben wurden in wenig Cyclohexan gelöst und auf die Silikalit-Säule gegeben. Nach 10 min Einwirkzeit wurde die Fraktion der verzweigten und cyclischen aliphatischen Kohlenwasserstoffe mit dem zweifachen Säulenvolumen Cyclohexan eluiert. Bei einigen Proben erfolgte die Elution unter leichtem Stickstoffüberdruck. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck abgetrennt und die Probe im Stickstoffstrom getrocknet. Das Addukt wurde in Präparategläschen überführt und bei Raumtemperatur aufbewahrt.

2.8.3 Fraktionierungen von Aliphatenfraktionen mittels verschiedener Zeolithe

Mit Hilfe unterschiedlicher Zeolith-Typen sollte versucht werden, eine weitergehende Fraktionierung des Silikalit-Nonaddukts zu realisieren. Folgende Zeolithe mit gleichen Porengrößen (X=Y, 12-Ring-Systeme) wurden freundlicherweise von Herrn Prof. F. Rößner (Technische Chemie, Universität Oldenburg) zur Verfügung gestellt:

- *Wessalith DAY (ultrastable DeAluminium-Y) – Degussa Hüls*

Die Trennung erfolgt nur über die Porengröße.

- *Ammonium-Y-Zeolith (Si/Al = 2,75) – Südchemie AG München*

Der Zeolith muss vor Gebrauch durch Erwärmen auf 300°C (2 h) getrocknet werden. Er wird dadurch in die H-Form überführt.

- *Tricat Zeolithes Na-LSX (Low Silica Si/Al = 1)*

Durch die Natrium-Ionen spielen sterische Faktoren und die Polarität eine größere Rolle.

Alle Zeolithe wurden vor Gebrauch 2 Stunden auf 300°C erwärmt. Bezogen auf die Menge an Aliphaten wurde ein 50facher Überschuss an Zeolith verwendet. Die entsprechende Menge wurde in eine Pasteurpipette gefüllt, die zuvor locker mit einem Wattebausch versehen wurde.

2.9 Trimethylsilylierung der Heterokomponentenfraktion

Um die synthetisierten Alkohole und Carbonsäuren für die gaschromatographische Analyse zugänglich zu machen, wurden sie trimethylsilyliert. Ein Aliquot der jeweiligen Verbindung wurde im Präparategläschen mit 25 μl N-Methyl-N-trimethylsilyl-trifluoracetamid (MSTFA) und 20 μl Dichlormethan als Lösungsvermittler versetzt. Die fest verschlossene Probe wurde kurz im Ultraschallbad dispergiert und im Trockenschrank eine Stunde auf 70°C erhitzt. Nachdem die Probe auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde sie gaschromatographisch untersucht.

2.10 Gaschromatographische Analytik

Die gaschromatographischen Analysen wurden mit Gaschromatographen der Firma Hewlett Packard unter folgenden Aufnahmebedingungen durchgeführt:

GC	HP 5890 Serie II
Injektor	Gerstel® KAS 3
KAS-Programm	60°C (5 s) \rightarrow 8°C*s ⁻¹ \rightarrow 345°C (60 s)
Inj.-Volumen	1 μl (Autosampler)
Trägergas	Helium, 12 psi, lineare Flussgeschwindigkeit 18,2 cm*s ⁻¹
Trennsäule	30 m x 0,25 mm ID Quarzkapillare (J&W) DB-5; 0,25 μm Filmdicke
Detektor	FID; synthetische Luft 300 mL*min ⁻¹ , H ₂ 40 mL*min ⁻¹ , N ₂ 30 mL*min ⁻¹
Temp.-Programme	1.) 60°C (2 min) \rightarrow 10°C*min⁻¹ \rightarrow 305°C (40 min) Ausschließlich für eine schnelle Kontrolle der Syntheseprodukte
	2.) 60°C (2 min) \rightarrow 3°C*min⁻¹ \rightarrow 305°C (40 min) Für die Errechnung der Biomarker-Parameter der Öl- bzw. Sedimentproben und für eine genaue Ermittlung der Isomeren- und Produkt/Edukt-Verhältnisse der Syntheseprodukte
	3.) 60°C (2 min) \rightarrow 30°C*min⁻¹ \rightarrow 200°C \rightarrow 3°C*min⁻¹ \rightarrow 220°C \rightarrow 1°C*min⁻¹ \rightarrow 305°C Für die Auftrennung und Analyse des Allisomerengemisches

2.11 Gaschromatographisch-massenspektrometrische Analytik

Die gaschromatographisch-massenspektrometrischen Analysen wurden mit Massenspektrometern der Firma ThermoElektron, Egelsbach (ehemals Finnigan MAT, Bremen) unter folgenden Analysenbedingungen durchgeführt:

GC **HP 5890 Serie II**

Injektor	Gerstel® KAS 3
KAS-Programm	60°C (5 s) → 8°C*s ⁻¹ → 345°C (60 s)
Inj.-Volumen	1 µl (Autosampler)
Trägergas	Helium, 12 psi, lineare Flussgeschwindigkeit 18,2 cm*s ⁻¹
Trennsäule	30 m x 0,25 mm ID Quarzkapillare (J&W) DB-5MS; 0,25 µm Filmdicke
Temp.-Programme	1.) 60°C (1 min) → 3°C*min ⁻¹ → 305°C (40 min) 2.) 60°C (2 min) → 30°C*min ⁻¹ → 200°C → 3°C*min ⁻¹ → 220°C → 1°C*min ⁻¹ → 305°C

MS **SSQ 710B und MAT 95Q,**

Ionisierungsenergie	70 eV
Scangeschwindigkeit	1 scan*s ⁻¹
Scanbereich	50-650 u

Die Datenaufnahme erfolgte online mit einem Rechnersystem der Firma Digital und die Datenauswertung mit der Software *ICIS 7.1* (ThermoElektron, Egelsbach, ehemals Finnigan MAT, Bremen).

MID (Multiple Ion Detection) / SIM (Selected Ion Monitoring)

Bei Messungen im MID- bzw. SIM-Modus werden nur einige ausgewählte Fragmente bzw. Bereiche detektiert, während im Full-Scan-Modus über einen großen Massenbereich gemessen wird. Dadurch kann die Empfindlichkeit gegenüber einer Full-Scan-Messung um einen Faktor von bis zu 1000 gesteigert werden. Komplexe Stoffgemische können somit anhand charakteristischer Fragmentierungen selektiv analysiert werden.

Für einen leichteren Nachweis der unbekanntem Verbindungen wurden einige Proben im MID-Modus analysiert. In der Tabelle 2-1 sind die Scanbereiche aufgeführt, auf denen die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten MID-Messungen beruhen.

	<i>m/z</i>
Molekülion der unbekanntem C ₂₈ -Verbindung	401,8 - 402,8
Molekülion der unbekanntem C ₂₈ -Verbindung	387,8 - 388,8
Molekülionen der reguläre Sterane und der unbekanntem C ₂₇ -Verbindung	372,0 - 375,0
charakteristisches Fragment der unbekanntem Verbindungen	316,8 - 317,8
Seitenkettenabspaltung	258,8 - 263,8
Fragment der natürlichen unbekanntem Verbindungen	233,5 - 234,5
mögliche Basispeaks der regulären Sterane und der unbekanntem Verbindungen	216,5 - 219,5
Fragment des synthetisierten 1,10- <i>seco</i> -Cholestans	204,5 - 205,5
charakteristisches Fragment für Terpane	190,5 - 191,5
charakteristisches Fragment von 1,10- <i>seco</i> -Cholestanen des Allisomerengemischs	176,5 - 177,5
charakteristisches Fragment von 1,10- <i>seco</i> -Cholestanen des Allisomerengemischs	160,5 - 163,5

Tabelle 2-1: Übersicht der ausgewählten Scanbereiche für die MID-Messungen

GC-MSMS-Experimente

Die GC-MSMS-Experimente wurden nur in einem von mehreren möglichen Messmodi durchgeführt, nämlich dem MRM-Modus (**M**ulti **R**eaction **M**onitoring). Bei allen Modi werden wie bei einfachen MS-Analysen zunächst Fragmentationen erzeugt. In einem zweiten Schritt zerfallen die geladenen, sogenannten Ausgangsionen (parent ions) in je ein geladenes Tochterion (daughter ion) und ein Neutralfragment. Durch die Festlegung äußerer Parameter (wie der Magnetfeldstärke, der Beschleunigungsspannung usw.) stehen verschiedene Messmodi zur Verfügung. Bei einem daughter ion-Scan werden die Einstellungen so festgelegt, dass nur ein vorher zu bestimmendes Fragmentation die Flugstrecke passieren kann. Die im zweiten Schritt aus diesem Ausgangsion entstehenden Tochterionen werden wie bei einer Full Scan-Messung detektiert. MRM-Analysen unterscheiden sich von daughter ion-Scan-Messungen vor allem dadurch, dass pro Ausgangsion nur ein ebenfalls vorher auszuwählendes Tochterion gemessen wird. Es erzeugen also nur jene Moleküle ein Signal, aus deren bestimmtem Ausgangsion (z.B. dem Cholestan-Molekülion bei *m/z* 372) durch Fragmentierung ein bestimmtes Tochterion (z.B. der Basispeak bei *m/z* 217) entsteht. Durch die Wahl geeigneter Ausgangsion-Tochterion-Übergänge ist es dadurch möglich, Verbindungen in einem komplexen Stoffgemisch nachzuweisen, selbst wenn sie mit Verbindungen koeluiieren, die zwar die gleiche Molekülmasse besitzen, aber unterschiedlich fragmentieren. Da die Anzahl der zu scannenden Ionen wie bei den MID-Messungen relativ

gering ist, zeichnen sich GC-MSMS-Analysen ebenfalls durch eine deutlich höhere Empfindlichkeit gegenüber einfachen MS-Full-Scan-Messungen aus.

In Tabelle 2-2 sind die Ionenübergänge und die jeweiligen Verweilzeiten pro Übergang aufgelistet, die für die MRM-Analysen der Ölproben ausgewählt wurden.

<i>Start: 13 min Dauer: 40 min Ende: 53 min</i>		
Ausgangsign [m/z]	Tochterion [m/z]	Verweilzeit [ms]
163,00	219,2	161,11
163,00	317,4	161,11
163,00	331,4	161,11
163,00	345,4	161,11
205,00	261,2	161,11
205,00	317,4	161,11
205,00	331,4	161,11
205,00	345,4	161,11
217,20	372,4	161,11
219,20	374,4	161,11
219,20	388,4	161,11
219,20	402,4	161,11

Tabelle 2-2: Übersicht über die ausgewählten Ionenübergänge und Verweilzeiten pro Übergang für die GC-MSMS-Experimente im MRM-Modus

Es war nicht möglich, eine optimale Funktion des Massenspektrometers für die MSMS-Experimente zu erreichen, was sich an der Qualität der Messergebnisse zeigte. Verschiedene Proben wurden mehrfach analysiert, wobei einige aufgrund unbefriedigender Signal-Rausch-Verhältnisse aufkonzentriert wurden. Anhand der Wiederholungsmessungen wurde deutlich, dass kein reproduzierbarer Zusammenhang zwischen der Konzentration der Messlösung und der Ionenausbeute bestand. Die Aufkonzentration führte in der Regel zu einem besseren Signal-Rausch-Verhältnis. Aus dieser Beobachtung resultierte, dass für die Interpretation der Daten ausschließlich Relativparameter entwickelt werden konnten und Quantifizierungen nicht möglich waren.

Die Verteilungsmuster innerhalb eines Ionenchromatogramms waren bei Wiederholungsmessungen reproduzierbar. Die Intensitätsverhältnisse der Ionenchromatogramme von m/z 372,4→217,2 und m/z 374,4→219,2 unterlagen dagegen großen Schwankungen. Während beispielsweise für die relativen Intensitäten des

Isotopensignals von Diasteranen aus m/z 374,4→219,2 ein theoretischer Wert von 1,1%¹⁾ bezüglich der Intensitäten aus m/z 372,4→217,2 zu erwarten wäre, lagen die aus den Messungen ermittelten Werte überwiegend in einem Bereich von 0,9 bis 1,5 (maximal 69,7). Das ist deswegen von Bedeutung, weil ein Parameter auf den Intensitäten von Verbindungen aus den genannten Ionenchromatogrammen beruht (vgl. Kapitel 3.3.1.2). Die Intensitätsverhältnisse mussten daher korrigiert werden. Die Diasterane lagen in den meisten der untersuchten Proben in hohen relativen Konzentrationen vor, so dass eine Detektion der Isotopenpeaks in den Ionenchromatogrammen m/z 374,4→219,2 hinreichend gut möglich war. Die Parameterwerte wurden auf der Basis des Quotienten aus den ermittelten und theoretischen Isotopenverhältnissen der Diasterane korrigiert.

2.12 Probenbeschreibung

Arabian Medium Oil

Über die Herkunft dieser Ölprobe ist nichts bekannt. Angaben zu möglichen Ablagerungsbedingungen oder Muttergesteinen sind daher nicht möglich. Die Probe wurde von Herrn Dr. R. Reuter, Arbeitsgruppe Meeresphysik der Universität Oldenburg, zur Verfügung gestellt.

¹⁾ Anhand des Ionenchromatogramms von m/z 372,4→217,2 lassen sich u.a. die 20S- und 20R-Isomere der 13 β ,17 α -Diasterane nachweisen. Die Detektion der gleichen Verbindungen aus dem Ionenchromatogramm m/z 374,4→219,2 basiert auf dem natürlichen Vorkommen von Isotopen. Aufgrund der deutlich geringeren natürlichen Häufigkeit bezüglich ¹³C können ¹⁴C, ²H (D) und ³H (T) für die folgenden Überlegungen vernachlässigt werden. Im Ionenchromatogramm m/z 374,4→219,2 werden nur jene Moleküle detektiert, bei denen zwei ¹³C-Atome ausschließlich über die Ringe A, B und C verteilt sind. Die Berechnung des prozentualen Anteils der Moleküle, die diese Bedingung erfüllen, erfolgte über die Wahrscheinlichkeiten mit Hilfe einer abgewandelten Formel von Bernoulli

$$B(n_F; n_S; k; p) = \binom{n_F}{k} \cdot p \cdot (1-p)^{n_F-k} \cdot (1-p)^{n_S}$$

n entspricht in dieser Formel allgemein der Anzahl der Versuche, k der Anzahl der Treffer und p der Wahrscheinlichkeit für einen Treffer. In Fall der C₂₇-Verbindung ist n_F die Anzahl der C-Atome im Fragment m/z 219 ($n_F=16$) und n_S die Anzahl der C-Atome im Rest des Moleküls ($n_S=11$). k ist die Anzahl der ¹³C-Atome im Molekül ($k=2$), und p ist die natürliche Häufigkeit der ¹³C-Atome ($p=0,011$). Mit diesen Randwerten ergibt sich eine Wahrscheinlichkeit von

$$\begin{aligned} B(16; 11; 2; 0,011) &= \binom{16}{2} \cdot 0,011 \cdot 0,989^{14} \cdot 0,989^{11} \\ &= \frac{16!}{14! \cdot 2!} \cdot 1,21 \cdot 10^{-4} \cdot 0,7584 \\ &= 120 \cdot 9,1766 \cdot 10^{-5} \\ &= 0,01101 \\ &= 1,1\% \end{aligned}$$

Bei 1,1% aller Moleküle mit zwei ¹³C-Atomen befinden sich diese demnach ausschließlich im ABC-Ringsystem.

BEA (Deutschland)

Die genaue Herkunft der Probe aus Süddeutschland ist nicht bekannt. Sie stammt vermutlich aus dem Molasse-Becken, das sich von Genf bis nach Wien entlang der Alpenfront erstreckt. In Süddeutschland ist das Becken in die Ost- und Westmolasse untergliedert. Verglichen mit anderen Vorlandbecken sind die Kohlenwasserstoffgehalte verhältnismäßig gering. Die häufigsten Fangstrukturen stellen Verwerfungsfalten dar. Eine Öl-Muttergesteins-Korrelation wurde bisher weder für die Ost- noch für die Westmolasse erfolgreich durchgeführt. Detaillierte geologische Informationen finden sich bei Schmitz (1995) und in der darin zitierten Literatur.

Boscan-Rohöl (Venezuela)

Das Boscan-Ölfeld gehört zu dem 65.000 km² umfassenden Maracaibo-Becken und liegt 45 km südwestlich der Stadt Maracaibo. Es handelt sich um eine große stratigraphische Falle, die ein sehr schweres und zähes Rohöl birgt. Das Muttergestein der Öle dieser Region besteht überwiegend aus Kalkgestein und Mergel der La Luna-Formation (Kreide, 135 bis 65 Mio Jahre), dessen organisches Material überwiegend dem Kerogen-Typ II zugeordnet wird. Es wird angenommen, dass die Ablagerung in einem flachen Meer in euxinischem (schwefelwasserstoffhaltigem) Milieu während des weltweiten anoxischen Ereignisses der späten Kreide erfolgte. Reservoir bilden überwiegend Sandsteine aus Fluss- und Deltagebieten. Weiterführende Informationen finden sich bei Kulke (1995).

Nordsee-Öle

Alle untersuchten Nordseeöle stammen aus der Norwegischen Nordsee. In Bezug auf das Muttergestein der untersuchten Proben war nach der Bildung des Viking-, Zentral- und Moray-Firth-Grabens während der Trias (250 bis 208 Mio. Jahre) eine Absenkung während des Jura (Kimmerian) von Bedeutung. Die Ablagerung der Kimmeridge-Formation als wichtigstem Muttergestein der nördlichen Nordsee erfolgte während des späten Jura und der unteren Kreide in mariner Umgebung mit mäßig flachem bis tiefem Wasser, was die Ausbildung einer Wasserschichtung mit anoxischen Tiefenwässern bei sauerstoffreichem Oberflächenwasser ermöglichte. Der prozentuale Anteil des organischen Kohlenstoff (TOC) in der Kimmeridge-Formation schwankt zwischen 2 und 12% mit durchschnittlichen Werten um 6-7%.

Die Proben stammen von folgenden Feldern:

- *Ekofisk* (56°N, 3°O)
- *Balder* (59°N, 2°O)
- *Oseberg* (60°N, 3°O)

Diese Probe wurde nicht im Rahmen dieser Arbeit aufgearbeitet. Es wurden ausschließlich die bereits vorhandenen massenspektrometrischen Daten qualitativ untersucht. Beschreibungen des Oseberg Ölfeldes geben Zheng et al. (2000).

Santa Maria-Becken (USA)

Das Muttergestein für die Öle im Santa Maria-Becken (Kalifornien) ist die Monterey-Formation. Die Monterey-Formation wurde während des Miozäns in einem Zeitraum von etwa 12 Ma Jahren an flachen Hängen des offenen Kontinentalrands abgelagert (Isaacs, 2000). Die Sedimentmächtigkeiten und die Erhaltung des organischen Materials wurden maßgeblich von geringen Wassertiefen (500 bis 1500 m) und kleinen Becken und Schwellen beeinflusst (Isaacs, 2000). Eine detailliertere Betrachtung der Lithologie und Stratigraphie findet sich bei Isaacs und Rullkötter (2000). Es standen vier Ölproben der Felder Casmalia und Orcutt zur Verfügung (die Nummerierung der Proben in den Klammern orientiert sich an der von Michael (2000))

- *Orcutt A* (Nr.3)
- *Orcutt B* (Nr.6)
- *Casmalia A* (Nr.7)
- *Casmalia B* (Nr.9)

Das Fehlen von *n*-Alkanen im Öl der Probe Orcutt A bzw. von *n*-Alkanen und Isoprenoiden wie Pristan und Phytan im Öl der Probe Casmalia A deuten auf die leichte bzw. mittlere bis starke Biodegradation hin (zur Einschätzung des Grads der Biodegradation vgl. Peters und Moldowan, 1993).

Uinta-Becken (USA)

Bei dem Uinta-Becken handelt es sich um ein randliches, offen-lakustrines Ablagerungsgebiet, das sich über eine Fläche von 24.000 km² an der Nordflanke der Rocky Mountains über den größten Teil des Staates Utah und den Nordwesten von Colorado erstreckt. Das Becken ist angefüllt mit lakustrinen und fluviatilen Sedimenten, die in einem Zeitraum von der späten Kreide bis zum frühen Oligozän abgelagert wurden und eine Mächtigkeit von bis zu 5000 m erreichen. Das Uinta-Becken bildet einen Teil der Green

River-Formation, deren tertiäre kalkigen Tone und Mergel als bedeutendste Muttergesteine des Beckens angesehen werden. Der Anteil des organischen Materials im Muttergestein beträgt bis zu 60 Gew.-% und wird vom Kerogen-Typ I dominiert (Groeger und Bruhn, 2001; Ruble et al., 2001). Obwohl die Bohrung, aus der die Probe stammt, nicht näher bekannt ist, wird davon ausgegangen, dass das Öl dem genannten Muttergestein zugeordnet werden kann.

Einen umfassenden Überblick über die Literatur zu den Fazies, Beckenmodellierungen und Öl-Muttergesteins-Korrelationen für das Uinta-Becken geben Ruble et al. (2001).

Oberflächensedimentprobe aus dem Wadi Gaza

Das Wadi Gaza ist das einzige größere Fließgewässer des Gazastreifen und weist starke Verschmutzung auf. Zur Bekämpfung von Moskitos werden in der Region Diesel- und Rohöle versprüht und gelangen über den Fluss in die Sedimente (frdl. pers. Mitt. N. Safi, 2003). Eine zuverlässige Zuordnung der Quelle der fossilen Kohlenwasserstoffe ist daher nicht möglich. Es hat sich gezeigt, dass ein erheblicher mikrobieller Abbau des Öls im Sediment stattfindet (Safi et al., 2001). Eine detaillierte Charakterisierung der Proben erfolgte nicht. Das Vorkommen der unbekanntesten Verbindungen wurde nur qualitativ untersucht. Die Probe wurde von Herrn Nimer Safi zur Verfügung gestellt.

Tiefseesedimente von der Kongomündung (Kern GeoB 6520-3)

Das Probenmaterial stammt von der Forschungsfahrt M47-3 des deutschen Forschungsschiffs METEOR. Der überwiegende Anteil des organischen Materials in den Kolbenlotkernen ist unreif. In geringen Mengen sind jedoch fossile Kohlenwasserstoffe enthalten, die vermutlich über den in dieser Gegend weit verbreiteten Austritt von Öl am Meeresboden („seeps“) freigesetzt und in die Oberflächensedimente eingetragen wurden. Wie die Proben des Wadi Gaza wurden auch diese Proben nur qualitativ auf die unbekanntesten Verbindungen hin untersucht. Die Proben wurden von Herrn Thorsten Stiehl zur Verfügung gestellt.

Santa Barbara-Creek (USA)

Das Muttergestein dieser Probe ist wie für die Öle des Santa Maria-Beckens die Monterey-Formation (s.o.). Die Probe wurde im Rahmen vorangegangener Arbeiten von Herrn Dr. Thomas Möhring aufgearbeitet und analysiert. Für die Auswertung wurden die bereits vorhandenen massenspektrometrischen Daten verwendet.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Charakterisierung der unbekanntan Verbindungen

Grundlage für die Charakterisierung der unbekanntan Verbindungen bilden die Ergebnisse aus den Analysen eines stark biodegradierten Monterey-Rohöls (Kalifornien) und eines Boscan-Rohöls (Venezuela). Die getroffenen Aussagen lassen sich anhand weiterer Proben weitestgehend bestätigen.

Bei den unbekanntan Verbindungen handelt es sich um eine Serie von Kohlenwasserstoffen mit einem Grundgerüst von 27, 28 und 29 Kohlenstoffatomen. Mittels GC-MS-Analysen wurden je Kohlenstoffzahl von Jiang et al. (1990) in biodegradierten Rohölen des Kelamayi-Ölfelds und in dieser Arbeit in ebenfalls biodegradierten Ölen aus der Monterey-Formation (siehe Abb. 3-1) jeweils zwei Isomere der genannten Verbindung nachgewiesen. In beiden Fällen dominiert ein Isomer mit einem relativen Anteil von etwa 80% bzw. 90%. In nicht-biodegradierten Proben ist mittels GC-MS-Analyse nur ein Isomer nachweisbar. Es ist zwar denkbar, dass das zweite Isomer erst im Laufe fortschreitender Biodegradation gebildet wird, wahrscheinlich wird die Detektion in den nicht-biodegradierten Proben aber nur wegen der geringen relativen Konzentrationen der Isomere im Vergleich zum Hintergrund-Signal verhindert. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse aus der Analyse verschiedener Rohöle bestätigt (frdl. pers. Mitt. Dr. M. Fowler, 2003).

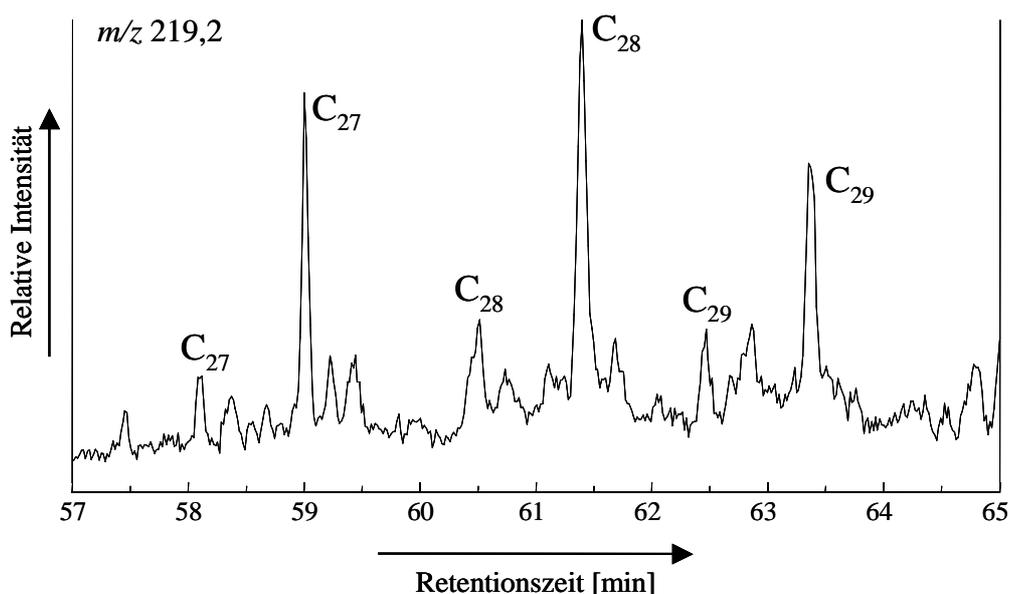


Abb. 3-1: Ionenchromatogramm m/z 219,2 der Fraktion der gesättigten Kohlenwasserstoffe des stark biodegradierten Rohöls Casmalia A

Charakteristisch für die unbekanntes Verbindungen ist die ausgeprägte Stabilität gegenüber mikrobiellem Abbau. Selbst in stark biodegradierten Proben sind die Verbindungen sehr gut nachweisbar. Da die unbekanntes Verbindungen auch in nicht-degradierten Proben nachgewiesen wurden, kann ausgeschlossen werden, dass es sich um biologische Abbauprodukte handelt (vgl. Kapitel 3.3.2 und Jiang et al., 1990).

Die relativen Konzentrationen der dominierenden Isomere sind in nicht-biodegradierten Proben um den Faktor fünf bis zehn geringer als die der regulären Sterane oder Hopane. Eindeutige Nachweise beruhen daher auf der Durchführung von GC-MS- und GC-MSMS-Experimenten. Zu beachten ist, dass die Intensität des massenspektrometrischen Signals anders als das des Flammenionisationsdetektors maßgeblich von der Ionisierbarkeit und damit von der Struktur der betreffenden Verbindung abhängt. Die Konzentrationen der unbekanntes Verbindungen konnten daher nur näherungsweise bestimmt werden. Exemplarisch wurde die Semiquantifizierung an dem untersuchten Boscan-Rohöl durchgeführt (für Details siehe Kapitel 2.3). Für die unbekanntes C₂₇-Verbindung ergab sich eine absolute Konzentration von 3 bis 9 ppm (µg/g Rohöl).

Die Retentionszeiten der unbekanntes Verbindungen korrelieren gut mit denen tricyclischer Terpane mit gleicher Kohlenstoffzahl (Abb. 3-2). Die tetracyclischen Sterane eluieren deutlich später. Ein Vergleich mit den Retentionszeiten der *n*-Alkane macht deutlich, dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass es sich bei der Korrelation der Retentionszeiten der tricyclischen Terpane und der unbekanntes Verbindungen um ein zufälliges Phänomen handelt.

Der relative Elutionsabstand zwischen den Verbindungen unterschiedlicher C-Zahlen beträgt unter den gewählten gaschromatographischen Bedingungen zwischen der C₂₈- und der C₂₉-Verbindung 83% des Abstands zwischen der C₂₇- und der C₂₈-Verbindung (siehe Abb. 3-3). Ein solcher Effekt ist beispielsweise zu beobachten, wenn eine Kettenverlängerung nicht linear verläuft. Die Differenzen in den Retentionszeiten resultieren aus Wechselwirkungen mit der stationären Phase der Chromatographiesäule aufgrund der unterschiedlichen räumlichen Ansprüche. Bei den unbekanntes Verbindungen handelt es sich demnach um eine pseudohomologe Reihe. Entsprechende Ergebnisse sind zwar bei Jiang et al. (1990) nicht angegeben, lassen sich aber aus den dort abgebildeten Chromatogrammen ebenfalls ablesen (85% ± 3%). Die Retentionszeitunterschiede stimmen sehr gut mit denen der regulären Sterane überein. Der relative Elutionsabstand zwischen 5α,14α,17α,20R-24-Methylcholestan und 5α,14α,17α,20R-24-Ethylcholestan beträgt etwa 85% des Abstands zwischen 5α,14α,17α,20R-Cholestan und 5α,14α,17α,20R-24-Methylcholestan (siehe Abb. 3-3). Die

Ähnlichkeit der relativen Retentionszeiten wird als Indiz für eine steroidale Struktur der unbekannt Verbindung angesehen.

Einen anderen Hinweis auf den Zusammenhang zwischen regulären Steranen und den unbekannt Verbindungen sehen Jiang et al. (1990) in den ähnlichen relativen Konzentrations-Verhältnissen von Cholestan und 24-Methylcholestan einerseits und den unbekannt C_{27} - und C_{28} -Verbindungen andererseits (in den Proben konnte weder 24-Ethylcholestan noch die unbekannt C_{29} -Verbindung in nennenswerten relativen Konzentrationen nachgewiesen werden).

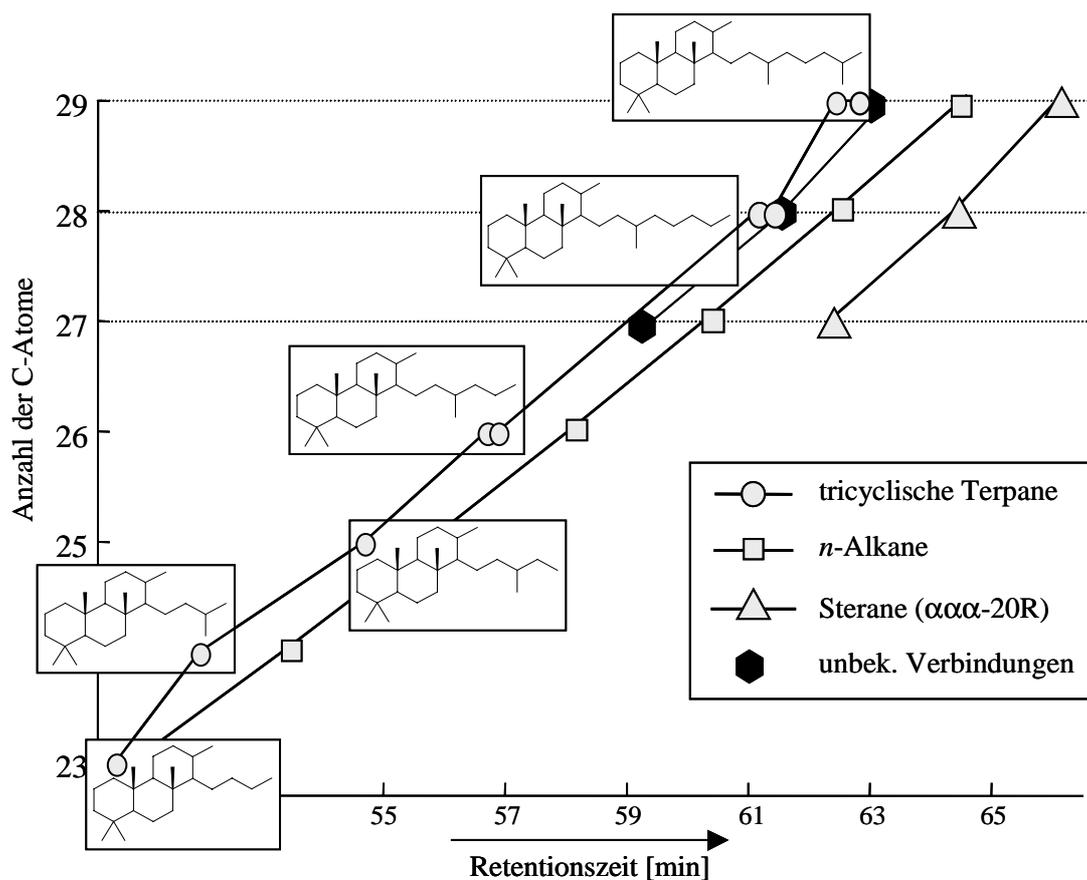


Abb. 3-2: Anzahl der Kohlenstoffatome vs. Retentionszeiten ausgewählter Verbindungen; $\alpha\alpha\alpha$ -20R bezeichnet die Konfigurationen der H-Atome an den Positionen C-5, C-13, C-17 und C-20

Die Autoren ermittelten in einem nicht-biodegradierten Öl des Kelamayi-Ölfelds (China) Verhältnisse von 0,68 bzw. 0,61 für die genannten Verbindungen. Trotz größerer Abweichungen der jeweiligen Verhältnisse konnten diese Beobachtungen dem Trend nach auf Basis der eigenen Daten bestätigt werden.

Die eigenen Auswertungen erfolgten aus den massenspektrometrischen Daten der Probe Santa Barbara Creek. Da die Berechnung der relativen Verhältnisse der unbekannt Verbindungen aus dem Ionenchromatogramm bei m/z 219 wegen Koelutionen mit Steranen

und Diasteranen nicht möglich war, wurden die relativen Intensitäten der unbekanntes Verbindungen auf der Basis der jeweiligen Molekülionen aus dem Summenchromatogramm von m/z (374,4+388,4+402,4) bestimmt. Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurde das entsprechende Verhältnis von Cholestan, 24-Methylcholestan und 24-Ethylcholestan aus dem Summenchromatogramm der Molekülionen bei m/z (372,4+386,4+400,4) berechnet. Die Chromatogramme sind in Abb. 3-3 dargestellt.

Für die unbekanntes C_{27} - C_{29} -Verbindungen ergab sich eine relative Verteilung von 24:56:20, während die Verhältnisse für die regulären Sterane 28:45:27 betragen. Die Ähnlichkeit der Verteilungen und die Tatsache, dass in dem Kelamayi-Öl (Jiang et al., 1990) weder Cholestan noch die unbekanntes C_{27} -Verbindung in nennenswerten Mengen nachgewiesen wurden, bekräftigen die These, dass die unbekanntes Verbindungen eine steroidale Struktur besitzen.

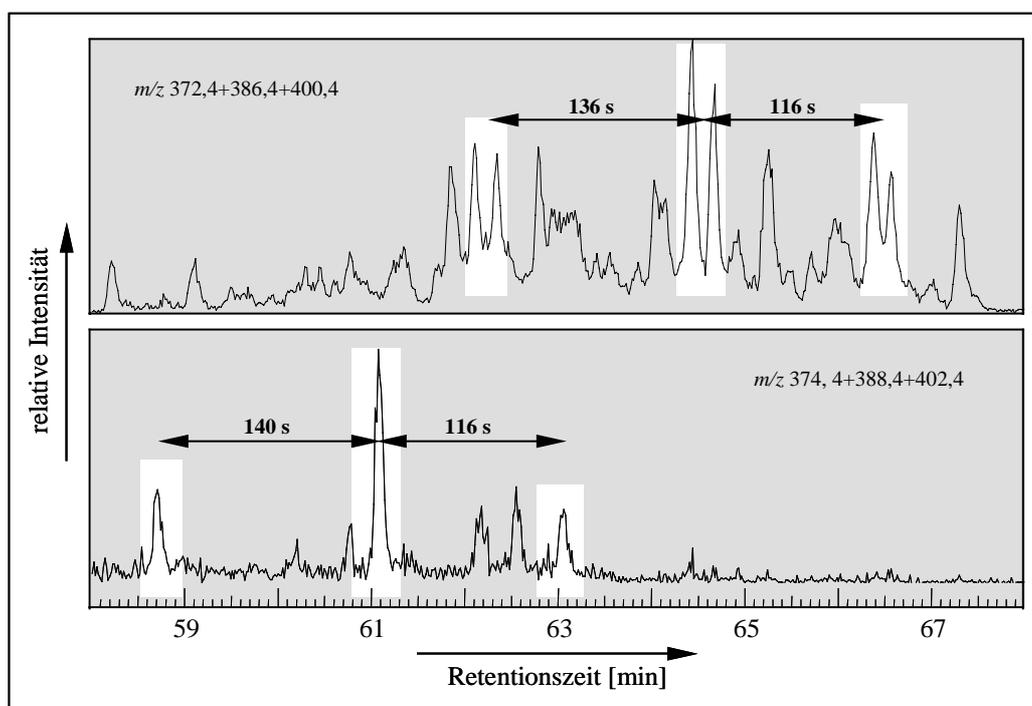


Abb. 3-3: Summenchromatogramme der Molekülionen der regulären Sterane (m/z (374,4+388,4+402,4)) und der unbekanntes C_{27} -, C_{28} - und C_{29} -Verbindungen (m/z (372,4+386,4+400,4)) der Aliphatenfraktion der Probe Santa Barbara Creek. Weiß unterlegt sind im oberen Chromatogramm die $5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)$ -Sterane und im unteren die dominierenden Isomere der unbekanntes Verbindungen, auf deren Basis die relativen Verhältnisse berechnet wurden.

Aus den massenspektrometrischen Daten (Molekülionen) geht hervor, dass die Strukturen je drei Doppelbindungs-Äquivalente beinhalten. Reife Öle enthalten keine olefinischen Kohlenwasserstoffe (Tissot und Welte, 1984). Demnach muss es sich bei den drei Doppelbindungs-Äquivalenten um Ringe handeln. Zur Überprüfung wurden eventuell vorhandene olefinische Kohlenwasserstoffe von den gesättigten einer Boscan-Ölprobe über

eine Kieselgelsäule abgetrennt, die mit AgNO_3 imprägniert war (vgl. Kapitel 2.6.3). Den Erwartungen entsprechend wurden die unbekannt Verbindungen ausschließlich in der Fraktion der gesättigten Kohlenwasserstoffe nachgewiesen. Olefinische Verbindungen wurden nicht detektiert.

Das Massenspektrum der C_{27} -Verbindung zeigt große Ähnlichkeit mit dem von Cholestan (vgl. Abb. 3-4). Auffällig sind die sich um zwei Masseneinheiten unterscheidenden Basispeaks und Molekülionen, die eine steroidale Struktur der unbekannt Verbindungen plausibel erscheinen lassen. Ein weiteres charakteristisches Fragment der unbekannt Verbindung erscheint bei m/z 317, welches z.B. durch die Abspaltung eines Butyl-Rests entstehen kann.

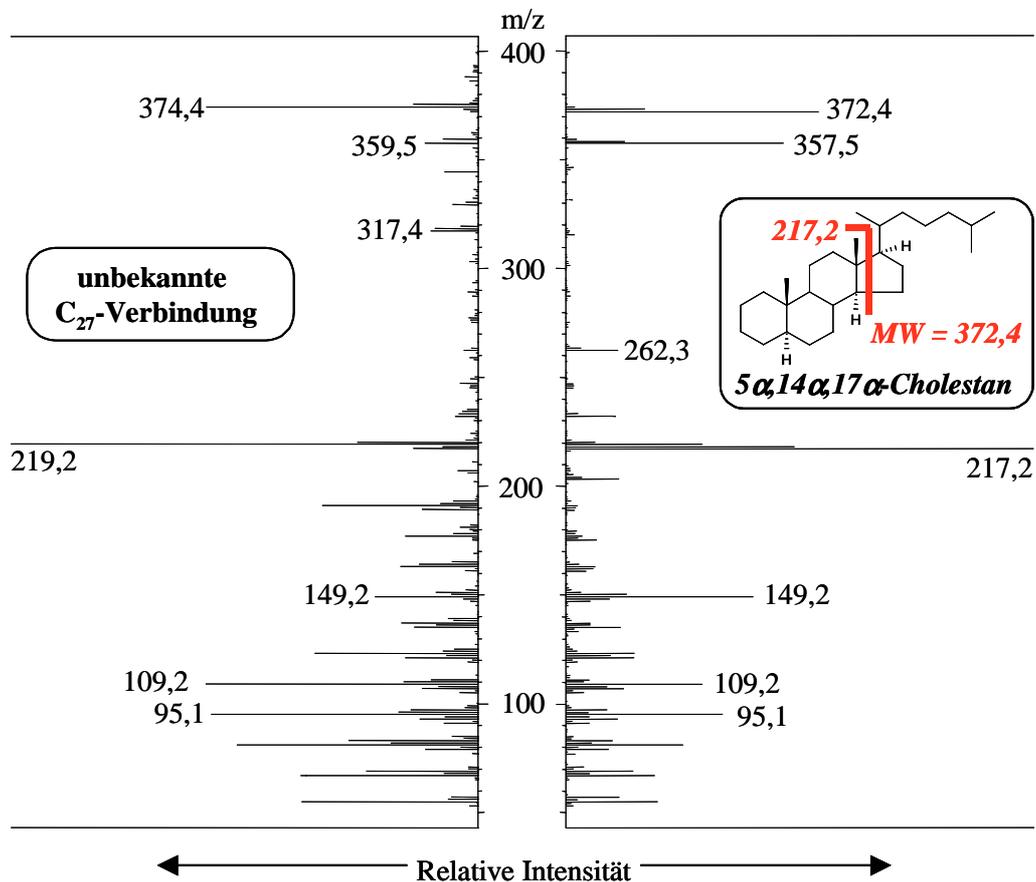


Abb. 3-4: Massenspektren der unbekannt C_{27} -Verbindung und von 5 α ,14 α ,17 α ,20R-Cholestan aus der Fraktion der gesättigten Kohlenwasserstoffe (Boscan-Öl). Die Massenspektren wurden mittels einer Untergrundsubtraktion aufbereitet.

3.2 Strukturvorschläge und Synthesen

3.2.1 Allgemeine Anmerkungen

Versuche von Li et al. (1990), Jiang et al. (1990), Li et al. (1991) und Ma et al. (1991), einen authentischen Standard der unbekanntenen Verbindung herzustellen, blieben erfolglos. Die Retentionszeiten und Massenspektren der synthetischen Verbindungen machten deutlich, dass es sich bei den natürlichen Verbindungen nicht um 4,5-*seco*-Sterane, 13,17-*seco*-Diasterane, 14,15-*seco*-Sterane oder Perhydrodeoxovitamin D2 handelt (vgl. Kapitel 1.2). So weist das Massenspektrum von 13,17-*seco*-Diacholestan zwar ein Fragment bei m/z 219 auf, abweichend von der natürlichen C₂₇-Verbindung handelt es sich dabei aber mit einer Intensität von 71% nicht um den Basispeak (Li et al., 1991). Darüber hinaus ist das Massenspektrum der synthetischen Verbindungen durch ein intensives Fragment bei m/z 191 (53%) charakterisiert (Li et al., 1991), das im Spektrum der natürlichen Verbindung nicht vorhanden ist. Im Gegensatz dazu fehlt das charakteristische Fragment der unbekanntenen Verbindung bei m/z 317 im Massenspektrum von 13,17-*seco*-Diacholestan. Analytische Daten zu weiteren Verbindungen geben nur noch Ma et al. (1991) für 4,5-*seco*-Cholestan an, dessen Massenspektrum ausführlich in Kapitel 3.2.3 diskutiert wird.

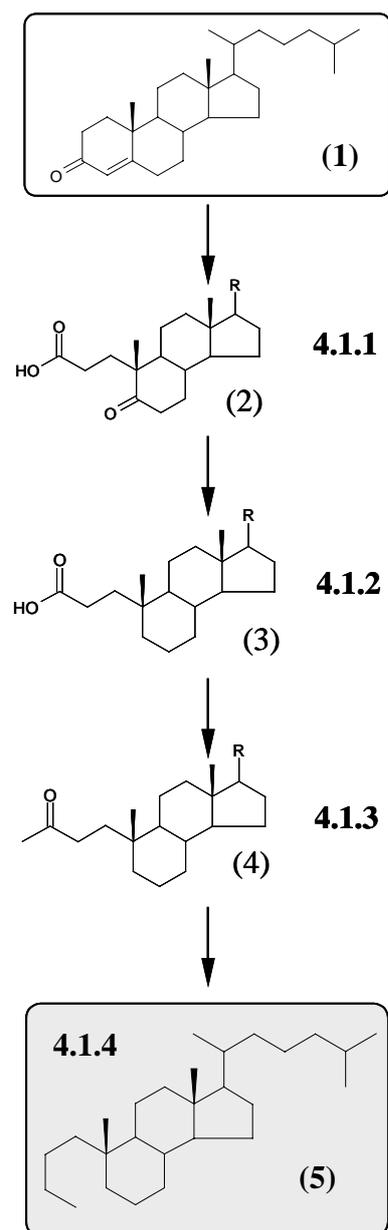
Bei näherer Analyse der massenspektrometrischen Daten der unbekanntenen Verbindung (s. Kapitel 3.2.2) sind die Strukturvorschläge 13,17-*seco*-Diasteran und 14,15-*seco*-Steran nicht einfach nachvollziehbar, da vor allem das charakteristische Fragment bei m/z 317 anhand dieser beiden Strukturen nicht ohne weiteres erklärbar ist.

Aufgrund von Koelutionen der C₂₈- und der C₂₉-Verbindung mit tricyclischen Terpanen bezieht sich die folgende Interpretation maßgeblich auf die C₂₇-Verbindung. Generell lassen sich die Ergebnisse aber auch auf die höheren Homologen übertragen.

3.2.2 Ausgangspunkt der Überlegungen

Bereits im Kapitel 3.1 wurde die Ähnlichkeit der massenspektrometrischen Daten der unbekanntenen C₂₇-Verbindung mit denen von Cholestan betont, die eine steroidale Struktur plausibel erscheinen lässt (vgl. Abb. 3-4). Weiterhin wurde bereits erläutert, dass es sich bei den drei Doppelbindungs-Äquivalenten um Ringe handeln muss. Wenn die Verbindungen eine steroidale Struktur besitzen und der Basispeak bei m/z 219 entsprechend der Fragmentierung regulärer Sterane aus der Spaltung des D-Rings resultiert, dann muss einer der Ringe A, B oder C geöffnet sein. Ein charakteristisches Fragment der unbekanntenen C₂₇-Verbindung entsteht durch den Verlust von 57 Masseneinheiten (m/z 317), welches z.B.

durch die Abspaltung eines Butyl-Rests geschehen kann. Unter Berücksichtigung der angestellten Überlegungen ist eine solche Abspaltung für Strukturen denkbar, bei denen im A-Ring entweder die 4,5- oder die 1,10-Bindung geöffnet ist. Eine 4,5-*seco*-Steran-Struktur erscheint im Hinblick auf mögliche biologische Vorläufer-Moleküle wie das weitverbreitete Cholesterol und das bei der Diagenese entstehende Cholest-4-en (Rubinstein et al., 1975; Wardroper et al., 1978; Brassell et al., 1980) plausibler zu sein. Ma et al. (1991) zeigten aber bereits durch die Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan, dass die unbekanntenen Verbindungen



wegen der Unterschiede in den Massenspektren eine andere Struktur besitzen müssen. Um die Vergleichbarkeit der Literaturdaten mit eigenen Daten zu gewährleisten und da generell nicht zweifelsfrei ausgeschlossen werden kann, dass Analysen unter unterschiedlichen Messbedingungen oder mit unterschiedlichen GC-MS-Systemen zu voneinander abweichenden Ergebnissen führen, sollte zunächst 4,5-*seco*-Cholestan synthetisiert werden.

3.2.3 Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan

Ausgehend von kommerziell erhältlichem Cholest-4-en-3-on (1) wurde die Zielverbindung 4,5-*seco*-Cholestan synthetisiert (für Details zu den Synthesevorschriften vgl. Kapitel 4). Es wurde ein alternativer Syntheseweg zu dem von Ma et al. (1991) veröffentlichten entwickelt, der sich durch eine geringere Anzahl an Reaktionsschritten bei leichter Durchführbarkeit auszeichnet. Dazu wurde (1) mit Ethylendithiol zum entsprechenden Ethylthioether umgesetzt. Durch Verringerung der Reaktionstemperatur bei der Reduktion mit Raney-Nickel konnte die Bildung des Nebenprodukts Cholest-5-en minimiert und damit die Ausbeute von Cholest-4-en (6) optimiert werden.

Abb. 3-5: Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan. Details zu den Syntheseschritten finden sich in Kapitel 4 unter den angegebenen Abschnitten.

Die oxidative Öffnung des A-Rings von (6) mit verschiedenen Oxidationsmitteln (RuO_2 bzw. $\text{NaIO}_4/\text{KMnO}_4$) blieb erfolglos. Mittels reduktiver Ozonolyse konnte das Ringsystem nur unter Bildung zahlreicher Nebenprodukte bei geringen Ausbeuten geöffnet werden. Auf eine Optimierung der Ozonolyse wurde verzichtet, da zusätzlich die Tosylierung als Vorstufenreaktion zur anschließenden Eliminierung kaum das gewünschte Produkt lieferte.

In einem parallel durchgeführten Ansatz gelang die oxidative Ringöffnung von (1) mit $\text{NaIO}_4/\text{KMnO}_4$ unter Verlust eines Kohlenstoffatoms (vgl. Abb. 3-5). Die gebildete tricyclische Oxo-carbonsäure (2) wurde zunächst zu der entsprechenden Carbonsäure (3) reduziert.

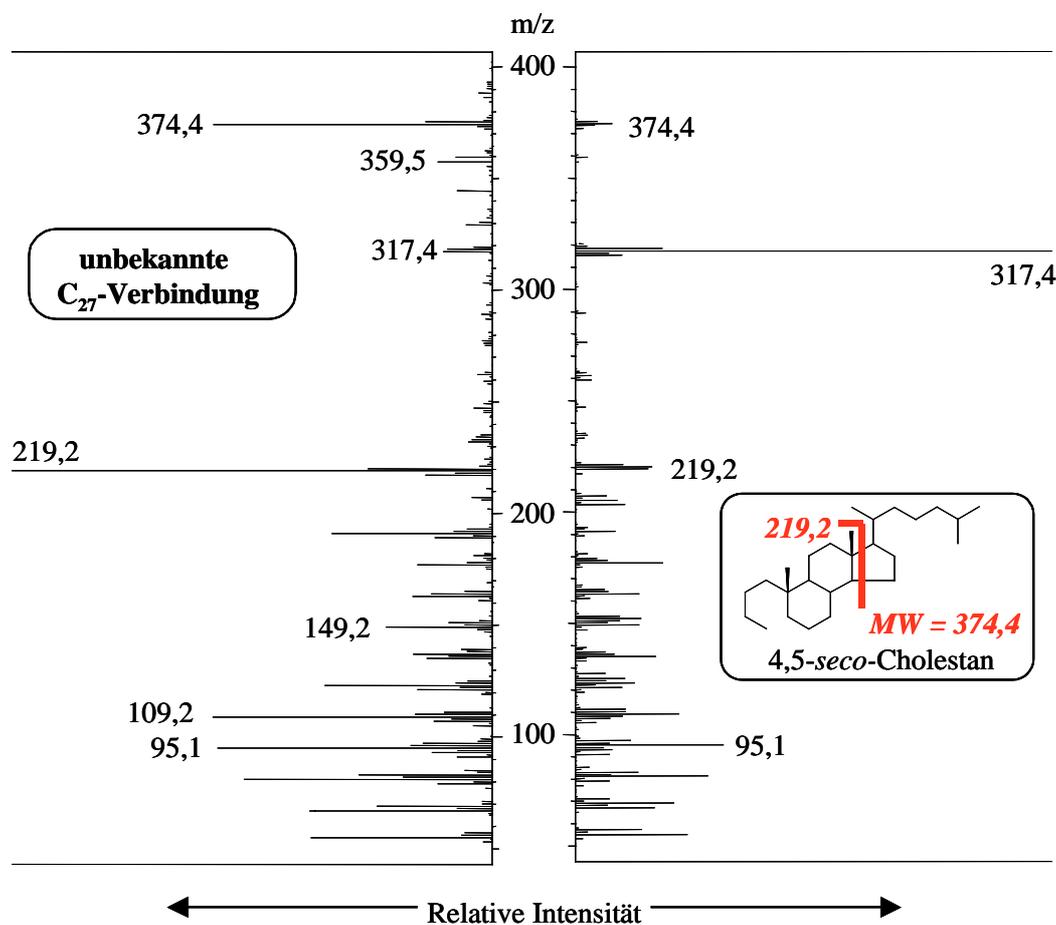
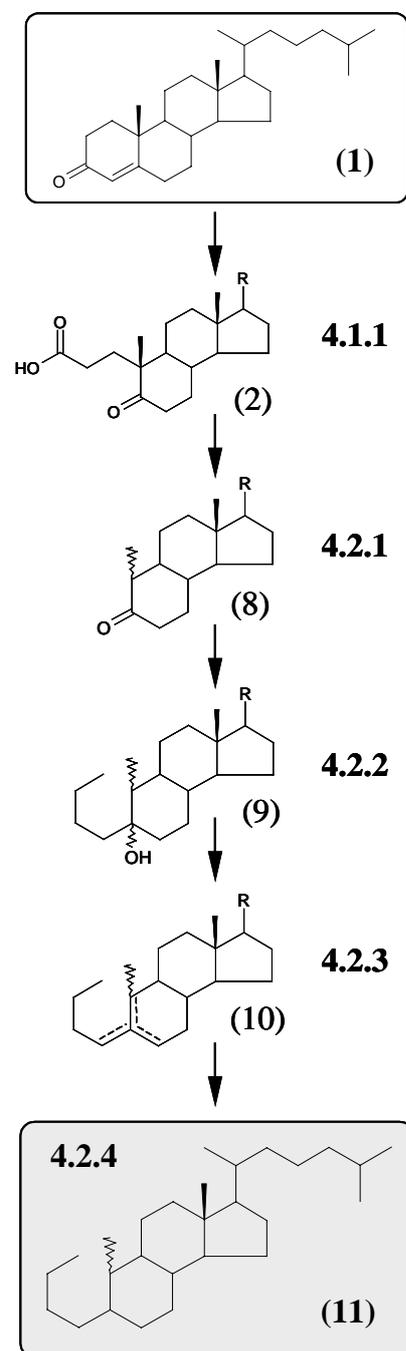


Abb. 3-6: Massenspektren der unbekanntes C_{27} -Verbindung (Untergrund subtrahiert) und von 4,5-seco-Cholestan

Die Substitution der Hydroxylgruppe durch eine Methylgruppe ergab 4,5-seco-Cholestan-3-on (4), das anschließend durch erneute Reduktion zu 4,5-seco-Cholestan (5) umgesetzt wurde.

Per Koinjektion am GC-MS-System wurde für den synthetischen Standard und ein Silikalit-Nonaddukt (Boscan-Rohöl) überprüft, ob sich die Strukturen des synthetisierten

4,5-*seco*-Cholestan und der natürlichen Verbindung unterscheiden. Anhand der voneinander abweichenden Retentionszeiten und massenspektrometrischen Daten wurde deutlich, dass es sich bei der unbekanntem Verbindung im Einklang mit den Ergebnissen von Ma et al. (1991)



nicht um 4,5-*seco*-Cholestan handelt.

Abb. 3-6 zeigt die Massenspektren von 4,5-*seco*-Cholestan und der unbekanntem Verbindung im Vergleich. Beide Spektren weisen als charakteristische Fragmente neben dem Moleküllion bei m/z 374 die Abspaltung einer C₄-Kette (m/z (374–57=317)) und die Spaltung des D-Rings auf (m/z 219). Dies ist ein Indiz dafür, dass sich die unbekanntem Verbindung und 4,5-*seco*-Cholestan strukturell nicht wesentlich unterscheiden.

Die hohe Intensität des Fragments bei m/z 317 (Basispeak) im Massenspektrum von 4,5-*seco*-Cholestan kann mit der Stabilität des gebildeten tertiären Radikalkations erklärt werden. Die Intensität des Fragments bei m/z 219 ist vergleichsweise gering. Die Ionen-Intensitäten der genannten Fragmente im Massenspektrum der unbekanntem Verbindung sind demgegenüber umgekehrt, d.h. der Basispeak entsteht durch D-Ringspaltung (m/z 219), während die Abspaltung des Butylrests (m/z 317) vergleichsweise unbedeutend ist. Es muss sich demnach um eine Verbindung handeln, bei der die Abspaltung der C₄-Kette gegenüber der Spaltung des C-Rings weniger bevorzugt ist. Denkbar ist dies für die Verbindung 1,10-*seco*-Cholestan (**11**), da bei der Abspaltung des Butyl-Rests nur ein sekundäres Radikalkation entstünde.

Abb. 3-7: Synthese von 1,10-*seco*-Cholestan. Details zu den Syntheseschritten finden sich in Kapitel 4 unter den angegebenen Abschnitten.

3.2.4 Synthese von 1,10-*seco*-Cholestan

Basierend auf der Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan wurde eine verhältnismäßig einfache Synthese für 1,10-*seco*-Cholestan (**11**) entwickelt. Ohne Kenntnis der unveröffentlichten Ergebnisse zur Synthese von 1,10-*seco*-Cholestan von Paulus (1993) wurde ein anderer, deutlich kürzerer Syntheseweg erfolgreich umgesetzt.

Als Ausgangsmaterial diente die Oxo-carbonsäure (**2**), die aus der oxidativen Spaltung des A-Rings von Cholest-4-en-3-on (**1**) bei der Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan hervorging (vgl. Abb. 3-7). Im Vakuum wurde die Säure thermisch durch Abspaltung der Carboxoalkylkette in die unter dem Namen Inhoffens Keton bekannte Verbindung (**8**) überführt. Die Verbindung liegt als Epimerenpaar vor, bei dem das Isomer mit α -ständiger Methylgruppe an Position 10 überwiegt. Auf eine Trennung der Isomere wurde zunächst verzichtet. Das Isomeren-Gemisch wurde mit *n*-Butyllithium unter Bildung eines Isomerengemisches von 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol (**9**) umgesetzt.

Nach Eliminierung der Hydroxylfunktion mit Raney-Nickel und anschließender Hydrierung mit Wasserstoff am Platinoxid-Katalysator wurde 1,10-*seco*-Cholestan (**11**) als Gemisch von drei gaschromatographisch aufgelösten Isomeren mit nahezu identischen Massenspektren erhalten (ein Isomer dominiert mit etwa 90%).

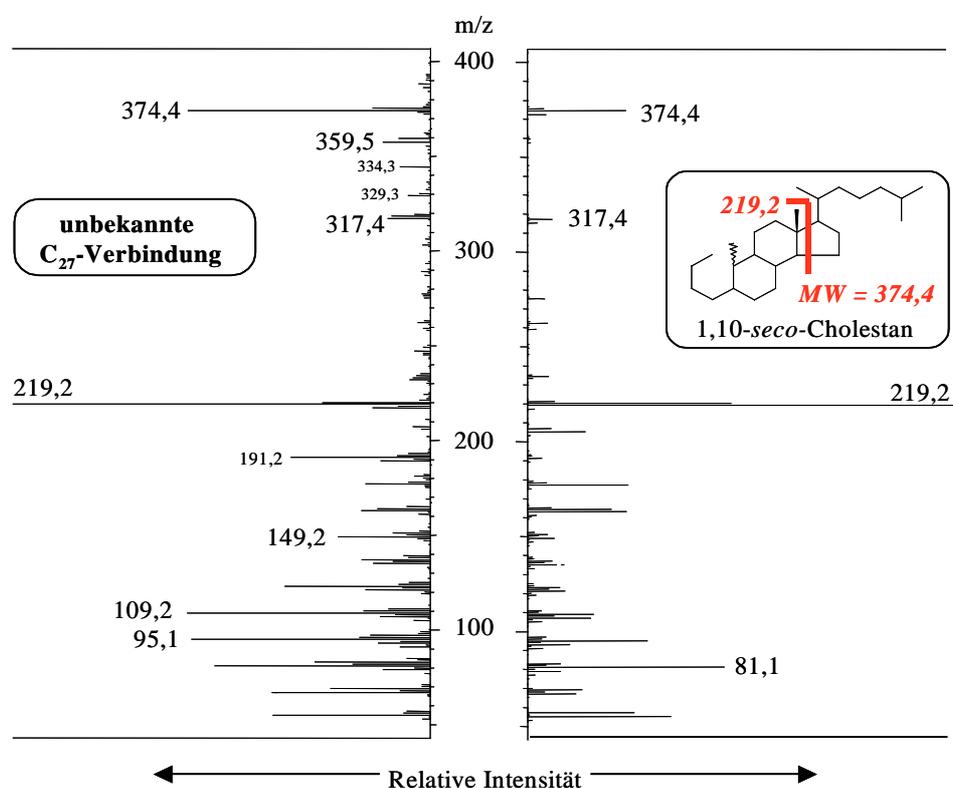


Abb. 3-8: Massenspektren der unbekanntes C₂₇-Verbindung (Untergrund subtrahiert) und des synthetisierten 1,10-*seco*-Cholestans im Vergleich

Die Koinjektion des Silikalit-Nonaddukts (Boscan-Rohöl) mit dem synthetischen 1,10-*seco*-Cholestan am GC-MS-System ergab, dass sich die Retentionszeiten des Rohölinhaltsstoffs und eines Isomers der synthetischen Verbindung nur geringfügig unterscheiden. Die Massenspektren stimmen sehr gut überein (vgl. Abb. 3-8). Die Unterschiede können teilweise auf der Untergrundsubtraktion für das Massenspektrum der unbekanntes Verbindung beruhen.

Trotz einer Subtraktion des Untergrunds im Massenspektrum der unbekanntes Verbindung können einige Fragmente (die ausschließlich im genannten Massenspektrum detektiert werden (m/z 334, m/z 329, m/z 191)) auf Koelutionen mit Triterpanen zurückgeführt werden. Dies führte zu der Annahme, dass es sich bei der unbekanntes Verbindung um ein Stereoisomer des 1,10-*seco*-Cholestans handelt.

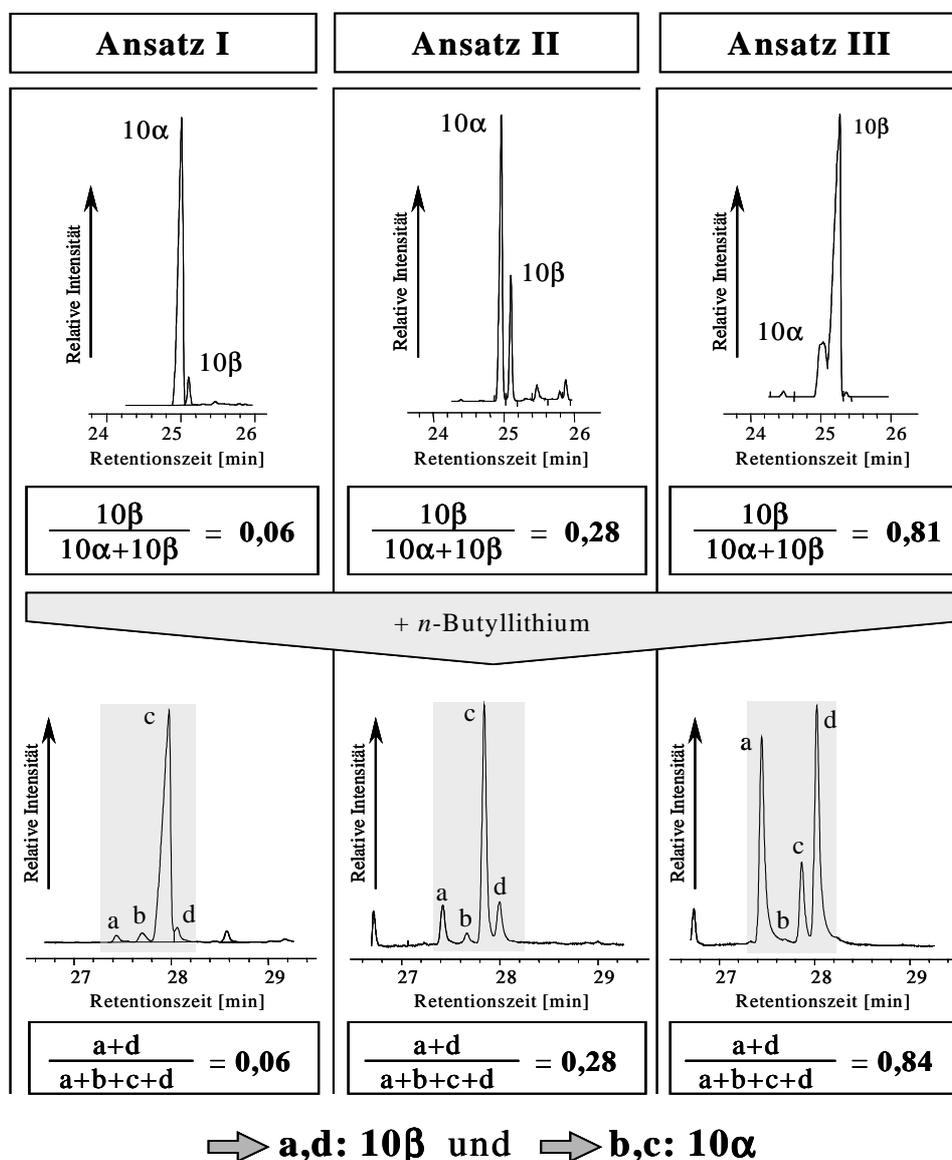


Abb. 3-9: Unterschiedliche Isomerenverteilung von Inhoffens Keton und des Reaktionsprodukts nach der Umsetzung mit Butyllithium

Abschließend sei erwähnt, dass der nachträgliche Versuch der säulenchromatographischen Reindarstellung von Inhoffens Keton (**8**) mit 10β -Konfiguration nicht gelang, sondern nur mehrere Fraktionen mit variierenden $10\beta/(10\alpha+10\beta)$ -Verhältnissen von 0,06 bis 0,55 erhalten wurden. Die bestmögliche Trennung erfolgte mittels präparativer Dünnschichtchromatographie ($10\beta/(10\alpha+10\beta)=0,81$). Drei der Fraktionen wurden mit *n*-Butyllithium umgesetzt (vgl. Abb. 3-9, Ansätze I, II und III). Die variierenden Epimeren-Verhältnisse konnten sehr gut anhand der relativen Konzentrationen der vier gebildeten Alkohol-Isomere wiedergefunden werden. Daraus ergeben sich für die Produkte a, b, c und d (vgl. Abb. 3-6) in der Reihenfolge der Elution die Konfigurationen 10β , 10α , 10α und 10β . Während die Produkte a und d etwa zu jeweils gleichen Anteilen vorliegen, dominiert Verbindung c deutlich gegenüber Verbindung b. Diese Bevorzugung kann als Hinweis auf die Konfiguration an C-5 gedeutet werden: Bei der Reaktion des Ketons mit Butyllithium ist allgemein davon auszugehen, dass das energetisch günstigste Produkt bevorzugt gebildet wird. Im Produkt sollte daher der sterisch anspruchsvolle Butylrest (im Vergleich zur Hydroxylgruppe) equatorial gebunden vorliegen. Daraus folgt, dass es sich bei Verbindung c um 1,10-*seco*- 10α -Methylcholestan- 5α -ol und bei Verbindung b um 1,10-*seco*- 10α -Methylcholestan- 5β -ol handelt. Bei den Verbindungen a und d führt die β -gebundene Methylgruppe an C-10 demgegenüber zu einer erhöhten sterischen Abschirmung, weshalb die entsprechende Bevorzugung eines Produkts nicht zu beobachten ist. Die Herleitung der Konfiguration ist auf der Basis der vorliegenden Ergebnisse nicht eindeutig möglich.

3.2.5 Synthese von All-Isomeren-Gemischen

Unter geeigneten experimentellen Bedingungen ist die Umwandlung einer chiralen Verbindung in ein Gemisch thermodynamisch stabiler Stereoisomere leicht durchführbar (Petrov et al., 1976). Die Isomerisierung erfolgt in einem Autoklaven an platinierter Kohle (5%) bei einem Wasserstoffdruck von 50 bar. Isomerisate von Cholestan, 24-Methylcholestan und 24-Ethylcholestan wurden auf diesem Wege erhalten und charakterisiert (Seifert und Moldowan, 1979). Mit Hilfe dieser Allisomerengemische konnten die in fossilem organischem Material enthaltenen Steran-Isomere identifiziert werden. Da in der Literatur keine detaillierte Versuchsdurchführung beschrieben ist, wurden zur Ermittlung geeigneter Bedingungen zunächst Vorversuche mit 5α -Cholestan durchgeführt. Es zeigte sich, dass sich weder die Halbierung der Reaktionszeit noch die Durchführung mit oder ohne Glas-Inlet im Autoklaven auf die qualitative und quantitative Umsetzung auswirkte. Die detaillierte Beschreibung der Versuchsdurchführung findet sich im Kaptiel 4.3.

5 α -Cholestan

Die Anzahl und die relativen Intensitäten der gebildeten Stereoisomere von 5 α -Cholestan stimmen sehr gut mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen überein (Seifert und Moldowan, 1979). In Abb. 3-10 ist das Totalionenstromchromatogramm der GC-MS-Analyse (Total Ion Current - TIC) des Isomerisats wiedergegeben. Die Identifizierung der einzelnen Verbindungen erfolgte anhand relativer Retentionszeiten, massenspektrometrischer Daten und über einen Vergleich mit Literaturdaten von Seifert und Moldowan (1979). Ausgewählte Massenspektren finden sich im Anhang 6.2. Das Isomerisat setzt sich zu 65% aus den vier Isomeren 5 α ,14 α ,17 α ,20(R+S)-Cholestan und 5 α ,14 β ,17 β ,20(R+S)-Cholestan zusammen, die auch in reifem fossilem organischem Material dominieren.

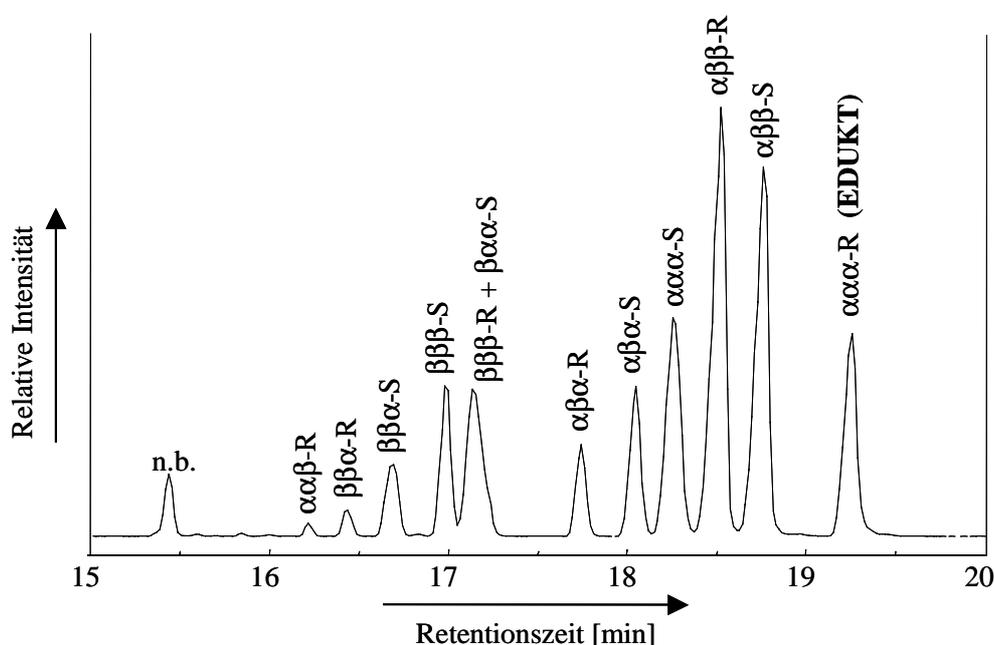


Abb. 3-10: Ausschnitt aus dem Totalionenstromchromatogramm der GC-MS-Analyse des Isomerisats von 5 α -Cholestan; $\alpha\alpha\alpha$ -R bezeichnet die Konfiguration der H-Atome an C-5, C-14, C-17 und C-20; n.b.: die Konfiguration dieses Steranisomers wurde nicht bestimmt.

Die relativen Verhältnisse dieser Isomere untereinander ähneln denen, die für reifes fossiles organisches Material typisch sind. Dies zeigt sich an den Verhältniswerten der Diastereomere mit 5 α ,14 α ,17 α ,20S-Konfiguration gegenüber denen mit 5 α ,14 α ,17 α ,20R-Konfiguration bzw. jener mit 5 α ,14 α ,17 α -Konfiguration gegenüber denen mit 5 α ,14 β ,17 β -Konfiguration. In dem Wert von $20S/(20S+20R)=0,51$ (Gleichgewichtswert ca. 0,54, van Graas et al., 1982; Seifert und Moldowan, 1986) kommt die nahezu abgeschlossene Epimerisierung am C-20 Kohlenstoffatom zum Ausdruck. Demgegenüber ist mit einem Verhältnis-Wert von

$\alpha\beta/(\alpha\alpha+\alpha\beta)=0,65$ das thermodynamische Gleichgewicht noch nicht erreicht. Dieser Parameter kann Werte bis 0,8 erreichen (Mackenzie, 1984; Seifert und Moldowan, 1986). Zu bedenken ist, dass die Reaktionszeit verhältnismäßig kurz war und auch nicht davon ausgegangen werden kann, dass die Prozesse der Katagenese mit der Versuchsanordnung bei der experimentellen Epimerisierung vollständig simuliert werden können.

In der Zusammensetzung des Isomerisats spiegelt sich weiterhin die höhere thermodynamische Stabilität der Isomere mit 5α -Konfiguration wider, deren Anteil 77% beträgt.

1,10-*seco*-Cholestan

Unter ähnlichen Bedingungen wie 5α -Cholestan wurde 1,10-*seco*-Cholestan isomerisiert. Das Totalionenstromchromatogramm ähnelt dem des Isomerisats von 5α -Cholestan in Bezug auf die Anzahl, die relativen Intensitäten und auch auf die Unterschiede im Fragmentierungsverhalten der einzelnen Stereoisomere (vgl. Abb. 3-11 und Abb. 3-12). Die Massenspektren der einzelnen Isomere stimmen in weiten Teilen überein. Alle weisen einen Basispeak bei m/z 219 oder m/z 220 auf (vgl. Tabelle 3-1 und Abb. 3-12).

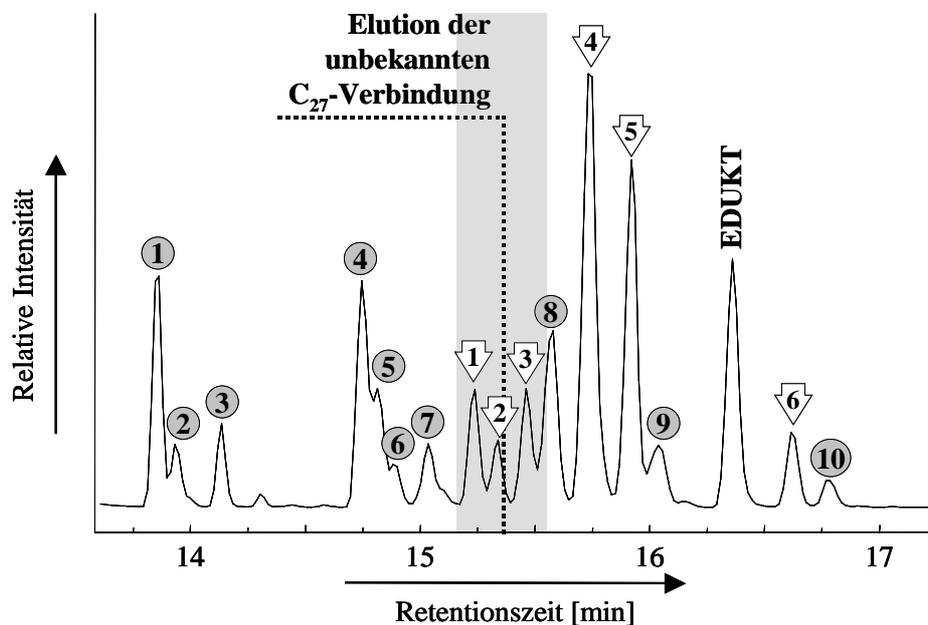


Abb. 3-11: Ausschnitt aus dem Totalionenstromchromatogramm der GC-MS-Analyse des Isomerisats von 1,10-*seco*-Cholestan. Kreise bezeichnen die Verbindungen mit einem Basispeak bei m/z 219, Pfeile jene mit einem Basispeak bei m/z 220.

Peak	relative Intensität	Retentionszeit [min:s]	m/z														
			374	359	317	275	262	261	234	220	219	205	177	163	95	81	
	9,3	13:51	35	<5	<5	<5	<10		20	75	BP	30	45	30	35	>35	
	2,5	13:56	30	<5	<5	<5	<5		20	60	BP	25	40	30	30	<30	
	3,4	14:08	40	<5	<5	<5	<5		25	50	BP	25	45	30	30	35	
	0,5	14:18	15	<5					<5	60	BP	10	30	15	>20	25	
	<0,1	14:26	15							20	BP				20	<20	
	<0,1	14:35	<5							BP	90	<5	<5	10	15	20	
	9,1	14:45	50	<5	<5	5	10		25	75	BP	30	50	35	35	35	
	4,7	14:49	50	<5	<5		5		25	80	BP	<30	45	35	<35	35	
	1,6	14:55	25	10				5	25	50	BP	15	55	30 ^{l)}	25	25	
	2,5	15:02	40		<5				<5	<5	70	BP	15	20	35	25	25
	0,6	15:06							<5		BP	35	10	<5	40	30	25
	4,6	15:14	30		<5				<5	<5	BP	85	20	20	40	30	35
	2,5	15:21	15	<5	<5		<5		<5		BP	55	15	15	40	>20	25
	4,5	15:28	20		<5				<5	<5	BP	60	20	15	<40	>20	25
	6,8	15:35	40	<5	<5	<5	<10		10	55	BP	15	25	30	>20	25	
	17,2	15:45	20	<5	<5	<5		5	5	BP	65	<25	15	35	>20	25	
	13,8	15:55	20	<5	<5	<5		<5	5	BP	65	<20	15	35	>20	25	
	2,4	16:02									BP						
<i>Edukt</i>	10,0	16:22	20	<5	<5	<5	5		>5	75	BP	20	>20	>35	30	>30	
	3,0	16:38	40		<5	<5			<5	<5	BP	85	15	15	50	30	>30
	1,1	16:47	<40		<5		<5		<5	35	BP	10	<20	>20	15	<20	

Tabelle 3-1: relative Intensitäten, Retentionszeiten und massenspektrometrische Daten der Verbindungen des Isomerisats von 1,10-*seco*-Cholestan

In Abb. 3-12 sind exemplarisch die Massenspektren für die Verbindungen ④ und ④ wiedergeben. Es wird angenommen, dass die genannten Fragmente auf die gleiche Art entstehen, wie die der regulären Sterane bei m/z 217 und m/z 218. Demnach resultieren die Fragmente bei m/z 219 oder m/z 220 aus der Spaltung des D-Rings, wobei die Konfiguration an Position C-14 maßgeblich dafür verantwortlich ist, welches der Fragmente bevorzugt gebildet wird (vgl. Abb. 3-13). Ein Basispeak bei m/z 219 deutet somit auf eine 14α -Konfiguration hin, während ein Basispeak bei m/z 220 entsprechend als Indikator für eine 14β -Konfiguration angesehen wird. Alle weiteren Fragmente liegen in ihren Intensitäten unter 50% bezüglich des Basispeaks. Die Molekülonen aller Isomere haben eine relative Intensität von 20 bis 40%. Der einzig markante Unterschied zwischen einigen Isomeren besteht in dem Verhältnis der Fragmente bei m/z 163 und m/z 177.

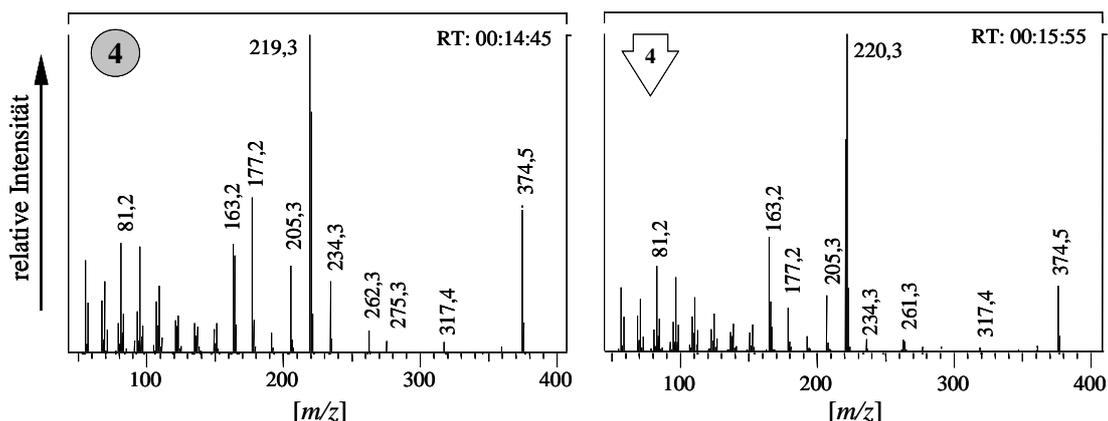


Abb. 3-12: Exemplarische Massenspektren von Verbindungen des Isomerisats mit den Basispeaks bei m/z 219 (④) und bei m/z 220 (④↓).

Die ersten sieben Isomere im Chromatogramm (Ziffern 1 bis 7, siehe Abb. 3-11) weisen eine Dominanz des Fragments bei m/z 177 gegenüber dem bei m/z 163 auf. Bei den übrigen Isomeren ist die relative Intensität des m/z 163-Fragments dagegen etwa doppelt so hoch (vgl. Abb. 3-12 und Anhang 6.3).

Wie aus dem Chromatogramm in Abb. 3-11 hervorgeht, handelt es sich bei dem Isomerisat um ein komplexes Isomerengemisch dicht nacheinander eluierender Verbindungen. Einige Isomere konnten nicht vollständig voneinander getrennt werden. Aus diesem Grund war eine Koinjektion des Isomerisats mit der natürlichen Probe nicht sinnvoll. Für eine bestmögliche Vergleichbarkeit wurden daher je eine Probe des Isomerisats und des Boscan-Silikalit Nonaddukts nacheinander am GC-MS-Gerät analysiert.

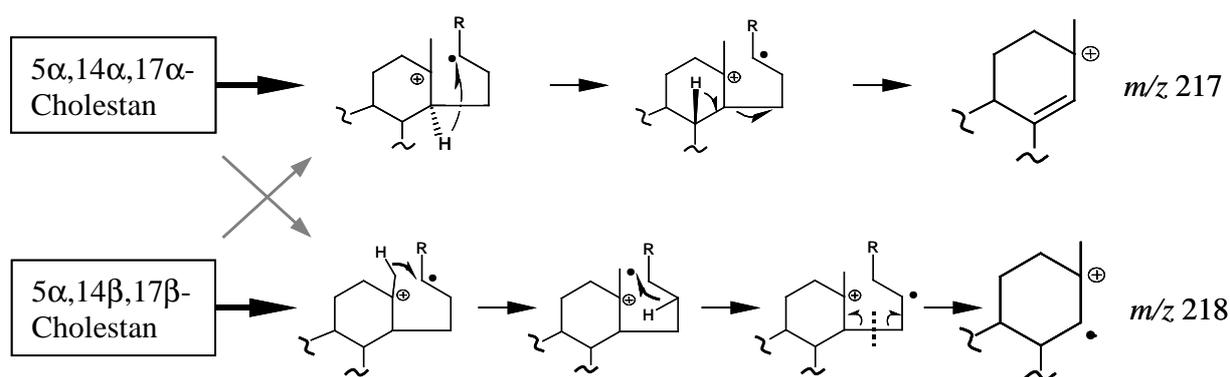


Abb. 3-13: Bildungsmechanismen der Fragmente bei m/z 217 und bei m/z 218 von regulären Steranen in Abhängigkeit von der Konfiguration. Während die schwarzen Pfeile den bevorzugten Fragmentierungsweg des jeweiligen Cholestan-Isomers anzeigen, weisen die grauen Pfeile darauf hin, dass auch das andere Fragment gebildet wird (nach Budzikiewicz, 1972).

Wie aus Abb. 3-11 hervorgeht, befindet sich in einem relativ großen Zeitfenster von ± 10 s um die Retentionszeit der natürlichen Verbindung im Chromatogramm des Reaktionsgemisches keine Verbindung mit passendem Massenspektrum. Alle in diesem Bereich eluierenden Verbindungen besitzen einen Basispeak bei m/z 220 an Stelle von m/z 219 wie die natürliche Verbindung.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass aufgrund von Koelutionen im Isomerisat eine entsprechende Verbindung überlagert wird. Ihre relative Konzentration wäre demnach aber sehr gering. Das widerspricht der Beobachtung, dass es sich bei der natürlichen Verbindung um eine thermodynamisch relativ stabile Verbindung handelt. Aus diesen Überlegungen folgt der Schluss, dass es sich bei den unbekanntem Verbindungen entgegen den Annahmen nicht um ein Stereoisomer von 1,10-*seco*-Cholestan handeln kann.

3.2.6 Synthese von 1,10-*seco*-Diacholestan

Sofern die bereits angestellten Überlegungen und Schlussfolgerungen zu den Strukturen der unbekanntem Verbindungen unter Berücksichtigung möglicher natürlicher Vorläuferverbindungen als richtig angesehen werden, scheinen zunächst noch zwei Strukturvorschläge sinnvoll zu sein, nämlich 4,5-*seco*-Diacholestan und 1,10-*seco*-Diacholestan. Beide Verbindungen besitzen eine leicht abspaltbare C_4 -Kette. Es war bei den ursprünglichen Überlegungen davon ausgegangen worden, dass die *seco*-Diasterane ein ähnliches massenspektrometrisches Verhalten zeigen würden wie die Diasterane, deren Charakteristikum verglichen mit regulären Steranen eine deutlich intensivere Abspaltung der Seitenkette ist (Ensminger et al., 1978). Es konnte daher nicht davon ausgegangen werden, dass die Syntheseprodukte mit den natürlichen Verbindungen identisch sein würden.

Dennoch wurde ein eleganter Syntheseweg entwickelt, der auf dem diagenetischen Bildungsweg von Diasteranen basiert. Es ist bekannt, dass die Doppelbindung von Δ^4 - und Δ^5 -Stereinen im sauren Milieu isomerisieren kann (Rubinstein et al., 1975; Sieskind et al., 1979). Es kommt dabei zu einem kaskadenartigen Wandern von Protonen über das Ringsystem, das mit der Umlagerung der beiden Methylgruppen an den Kohlenstoffatomen C-10 und C-13 an die Positionen C-5 und C-14 einhergeht. Es resultieren die Diasterene, deren Massenspektren durch ein einziges Fragment gekennzeichnet sind, das aus der Abspaltung der Seitenkette resultiert (Rubinstein et al., 1975). Werden die gebildeten Diasterene anschließend hydriert, liegen die bekannten Diasterane vor, die sich von den regulären Steranen massenspektrometrisch anhand einer deutlichen Seitenkettenabspaltung unterscheiden lassen.

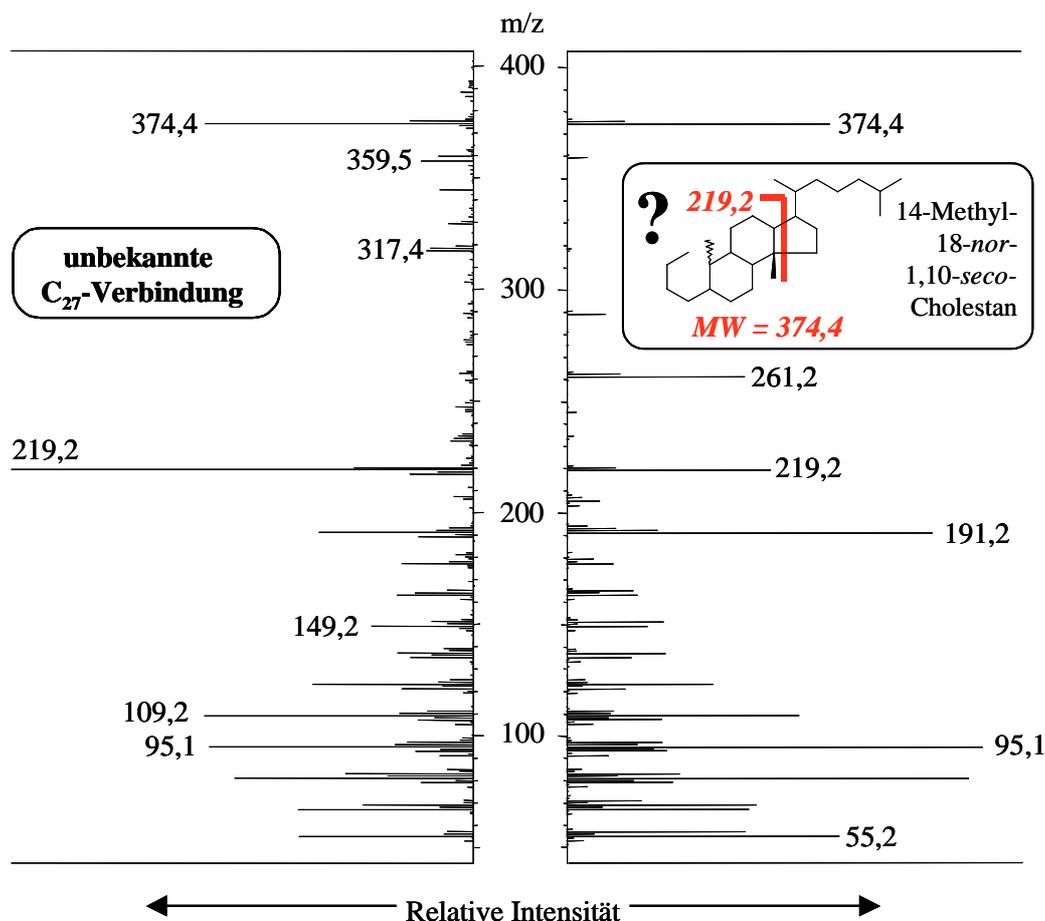


Abb. 3-14: Massenspektren der unbekanntes C₂₇-Verbindung und des Produkts der sauer katalysierten Umlagerung von 1,10-seco-Cholesten (14-Methyl-18-nor-1,10-seco-cholestan ?)

Von essentieller Bedeutung für eine Umlagerung der Methylgruppen an C-10 und C-13 ist die Protonierbarkeit eines zu C-5 benachbarten Kohlenstoffatoms unter Ausbildung eines stabilen Carbenium-Ions an C-5. Gegeben ist das bei der Verbindung 1,10-seco-Cholesten, welches bei der Eliminierung der Hydroxylfunktion des 1,10-seco-Cholestan-5-ols entsteht.

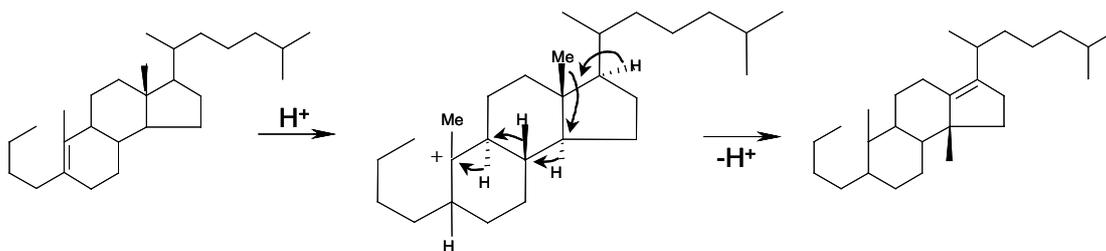
Tatsächlich konnte ein Isomerengemisch von 1,10-seco-Cholesten in die entsprechenden 1,10-seco-Diacholestene überführt werden. In Übereinstimmung mit dem natürlichen Diaster-13(17)-en weisen die Massenspektren der Isomere als einziges Fragment die Seitenkettenabspaltung auf. Das Produkt konnte mit Wasserstoff am Platinoxid-Katalysator nicht hydriert werden. Eine Umsetzung von mehr als 90% wurde erst über die ionische Hydrierung mit Trifluoressigsäure und Triethylsilan erreicht.

Alle Isomere weisen in Analogie zu den Diasteranen ein deutliches Fragment bei m/z 261 auf, das aus der Abspaltung der Seitenkette resultiert. Die jeweilige relative Intensität liegt deutlich über der im Massenspektrum der entsprechenden natürlichen C₂₇-Verbindung (siehe

Abb. 3-14). Darüber hinaus stimmen die Retentionszeiten der natürlichen und der synthetischen Verbindung nicht überein. Den Ergebnissen nach sind die unbekannte C₂₇-Verbindung und das Syntheseprodukt nicht identisch.

Entgegen den Erwartungen weist keines der gebildeten Isomere eine verstärkte Abspaltung einer C₄-Kette auf. Dies wäre aber in Anlehnung an das Fragmentierungsverhalten von 4,5-*seco*-Cholestan zu erwarten, da die Abspaltung durch die Stabilisierung über ein tertiäres Radikalkation begünstigt sein sollte (vgl. Abb 3-6). Es stellt sich somit die Frage, ob es sich bei dem Produkt tatsächlich um 1,10-*seco*-Diacholestan handelt oder ob die Methylgruppe an Position C-10 verbleibt. Für die Beantwortung muss man sich den Syntheseweg von 1,10-*seco*-Cholestan vergegenwärtigen (siehe Kapitel 3.2.4).

Die Eliminierung der Hydroxylfunktion von 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol kann theoretisch zu drei Struktur-Isomeren führen, bei denen sich die Doppelbindung in der Δ^4 -, der Δ^5 - oder der $\Delta^{5(10)}$ -Position befindet. Alle detektierten Isomere in dem bei der Synthese erhaltenen Produktgemisch spalten ein Radikal der Masse 57 ab. Demnach kann Δ^4 -1,10-*seco*-Cholestan als Struktur ausgeschlossen werden, da bei dieser Verbindung die Abspaltung eines Alkenylrestes mit 55 Masseneinheiten zu erwarten wäre. Bei der Verbindung 1,10-*seco*-Cholest-5-en ginge eine saure Katalyse zwangsläufig mit der Umlagerung der Methylgruppe an Position 10 einher. Der Butylrest wäre an ein quarternäres Kohlenstoffatom gebunden, weshalb für die Fragmentierung ein intensives [M⁺-57]-Signal zu erwarten wäre (s.o.). Würde die Umlagerung bei der Verbindung 1,10-*seco*-Cholest-5(10)-en durch die Protonierung von C-5 eingeleitet, wäre die Methylgruppe an Position 10 nicht betroffen und der Butylrest läge an einem tertiären Kohlenstoffatom vor (siehe Abb. 3-15). Im Massenspektrometer würde aus der Abspaltung des Butylrestes ein sekundäres Carbenium-Ion resultieren. In Analogie zum Verhalten von 4,5- und 1,10-*seco*-Cholestan wäre daher eine deutlich geringere Intensität dieses Fragments (M⁺-Butylrest) zu erwarten. Auf diesen Überlegungen basiert die Annahme, dass bei der Eliminierung der Hydroxylgruppe aus 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol die Verbindung 1,10-*seco*-Cholestan-5(10)-en gebildet wird und dass es sich bei dem Produkt der ionischen Hydrierung nicht um das erwartete 1,10-*seco*-Diacholestan, sondern vielmehr um 14-Methyl-18-*nor*-1,10-*seco*-Cholestan handelt.

Abb. 3-15: hypothetische Umlagerung von 1,10-*sec*-Diacholest-5(10)-en

3.2.7 Ein weiterer Strukturvorschlag

Aufgrund der bisherigen Übertragbarkeit des massenspektrometrischen Verhaltens der synthetisierten *sec*-Verbindungen und ihrer regulären „Verwandten“ wurde auf die Entwicklung einer Synthese für 4,5-*sec*-Diacholestan verzichtet. Die Erfolgsaussichten wurden als zu gering eingeschätzt.

Mit den durchgeführten Synthesen konnte gezeigt werden, dass keines der synthetisierten Isomere von 4,5-*sec*-Cholestan, 1,10-*sec*-Cholestan und 14-Methyl-18-*nor*-1,10-*sec*-cholestan mit der natürlichen unbekanntem C₂₇-Verbindung übereinstimmt. Aufgrund der gaschromatographischen und massenspektrometrischen Daten besteht aber weiterhin die Annahme, dass die unbekanntem Verbindungen eine steroidale Struktur mit einem geöffneten A-Ring besitzen. Ohne zunächst Überlegungen zu möglichen Vorläuferverbindungen zu berücksichtigen, sind rein mechanistisch weitere Strukturen denkbar.

Aus den massenspektrometrischen Daten von 4,5- und 1,10-*sec*-Cholestan geht hervor, dass der Butylrest nicht zu leicht abspaltbar sein darf und daher vermutlich an ein tertiäres Kohlenstoffatom gebunden ist. Bei einer 1,10-*sec*-Verbindung müsste demnach die Methylgruppe in ihrer ursprünglichen Position an C-10 verbleiben. Eine 4,5-*sec*-Struktur würde dem zu Folge eine Verschiebung der Methylgruppe von C-10 nach C-5 erfordern. Die Synthese von 14-Methyl-18-*nor*-1,10-*sec*-cholestan hat gezeigt, dass eine Methylgruppe in Position C-14 in einer vergleichsweise intensiven Seitenkettenabspaltung im Massenspektrum resultiert. Da das Massenspektrum der unbekanntem Verbindung kein solches Fragment aufweist, sollte die Methylgruppe wie bei regulären Steranen an der Position C-13 sitzen. Auf diesen Überlegungen basiert schließlich Vorschlag, dass es sich bei der unbekanntem natürlichen C₂₇-Verbindung um 5-Methyl-19-*nor*-4,5-*sec*-cholestan handelt. Die Struktur dieser Verbindung ist in Abb. 3-16 wiedergegeben. Die Richtigkeit des Strukturvorschlags muss durch eine Synthese im Rahmen zukünftiger Arbeiten überprüft werden. In Ermangelung eines synthetischen authentischen Standards werden daher im Folgenden

weitere Indizien diskutiert, anhand derer die Validität des Strukturvorschlags überprüft werden soll.

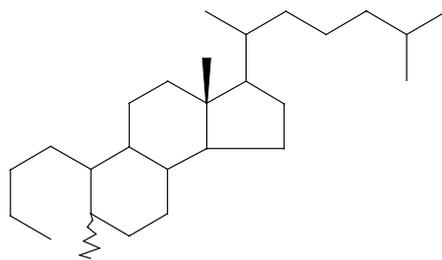


Abb. 3-16: 5-Methyl-19-nor-4,5-seco-cholestan: Strukturvorschlag für die unbekannte C₂₇-Verbindung

3.2.8 Allgemeine Plausibilität des Strukturvorschlags

Wenn es sich bei den unbekanntem Verbindungen tatsächlich um steroidale Verbindungen handelt, dann ist denkbar, dass sie in Analogie zu den regulären Steranen im Verlauf der thermischen Reife (Katagenese) zu entsprechenden Aromaten dehydriert werden. Ausgehend von der Annahme, dass es sich bei den unbekanntem Verbindungen um A-Ring-*seco*-Sterane handelt, ist ein Reihe von aromatischen Systemen denkbar (siehe Abb. 3-17). Neben den monoaromatischen sind wegen des geöffneten Ringes nur diaromatische Verbindungen möglich.

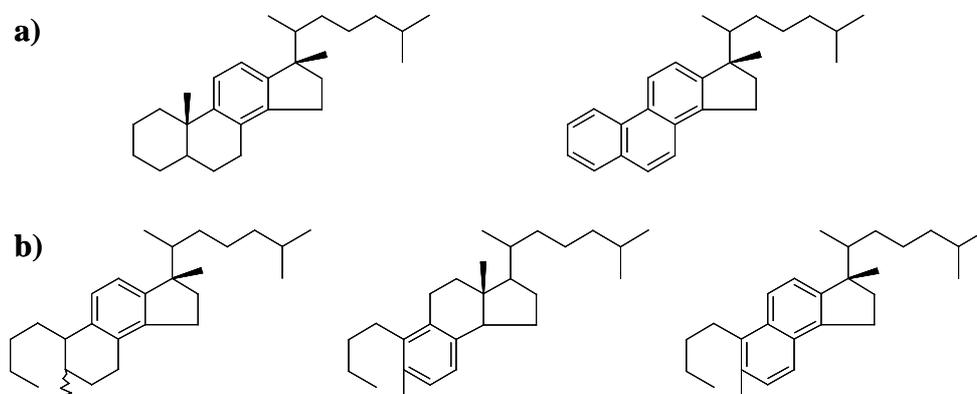


Abb. 3-17: a) Mono- und triaromatische Steroidkohlenwasserstoffe; b) aromatische 4,5-*seco*-Cholestan-Derivate

Die Massenspektren der mono- bzw. triaromatischen Steroidkohlenwasserstoffe sind durch die Fragmente bei m/z 253 bzw. m/z 231 gekennzeichnet. Sie entstehen durch die Spaltung der benzylichen Bindung zwischen C-17 und C-20. Für mono- und diaromatische *seco*-Steroidkohlenwasserstoffe sollten sich demnach die Fragmente bei m/z 255 und m/z 251 ergeben (s.u.).

Monoaromaten

Bezogen auf das Fragment der monoaromatischen Steroidkohlenwasserstoffe bei m/z 253 kann das Fragment bei m/z 255 aus der Hydrierung einer Doppelbindung oder aus der Spaltung eines Rings hervorgehen. In beiden Fällen würde das Ringsystem um zwei Masseneinheiten schwerer. Die Hydrierung einer Doppelbindung würde den Verlust des stabilen aromatischen Systems bedeuten, und es wäre zu erwarten, dass auch weitere Hydrierungsprodukte z.B. mit m/z 257 in ähnlichen Konzentrationen nachweisbar sein sollten. (Die Verteilungsmuster dieser Produkte könnten von denen der monoaromatischen Steroidkohlenwasserstoffe abweichen, da für eine Hydrierung der einzelnen Doppelbindungshomologen die Aktivierungsenergien unterschiedliche sein könnten.) Es ist aber bekannt, dass in Proben fortgeschrittener Reife (Stadium der Ölbildung) keine ungesättigten nichtaromatischen Kohlenwasserstoffe nachgewiesen werden können. Daraus ergibt sich, dass das Fragment bei m/z 255 auf die Spaltung eines Rings zurückgeführt und demnach als Bestätigung für eine *seco*-Struktur angesehen werden kann.

In Abb. 3-18 sind Ionenchromatogramme dargestellt, die die Verteilungsmuster der bekannten monoaromatischen Steroide (m/z 253) und des hypothetischen Analogon mit geöffnetem Ring (m/z 255) zeigen. Die abgebildeten Ionenchromatogramme stammen aus der Analyse der nicht-biodegradierten Monterey-Probe des Ölfelds Orcutt B. Die GC-Bedingungen wurden so gewählt, dass eine Koelution der sich um zwei Masseneinheiten unterscheidenden Verbindungen verhindert wurde. Auf eine vollständige Auftrennung der Isomere der aromatischen Steroidkohlenwasserstoffe musste dabei verzichtet werden.

Aus dem Massenchromatogramm von m/z 253 geht die typische Isomeren- und Homologen-Verteilung der monoaromatischen Steroidkohlenwasserstoffe hervor. Ein nahezu identisches Muster zeigt auch das Ionenchromatogramm bei m/z 255. Die Konzentrationen sind wie bei den aliphatischen Verbindungen um den Faktor 5 bis 10 geringer. Die Massenspektren der Verbindungen aus dem Ionenchromatogramm von m/z 257 (nicht abgebildet) unterscheiden sich demgegenüber von denen der zuvor genannten aromatischen Steroidkohlenwasserstoffe. Es muss aber berücksichtigt werden, dass eine Auswertung der Daten wegen der geringen Konzentrationen nur begrenzt möglich war. Die Suche nach anderen möglichen charakteristischen Fragmentationen blieb erfolglos, weshalb auf die Darstellung weiterer Ionenchromatogramme verzichtet wurde. Die Ähnlichkeit der Verteilungsmuster in den m/z 253- und 255-Spuren und die Abweichungen zur m/z 257-Spur bestätigen die Annahme, dass das Ionenchromatogramm von m/z 255 repräsentativ für monoaromatische *seco*-Steroidkohlenwasserstoffe ist.

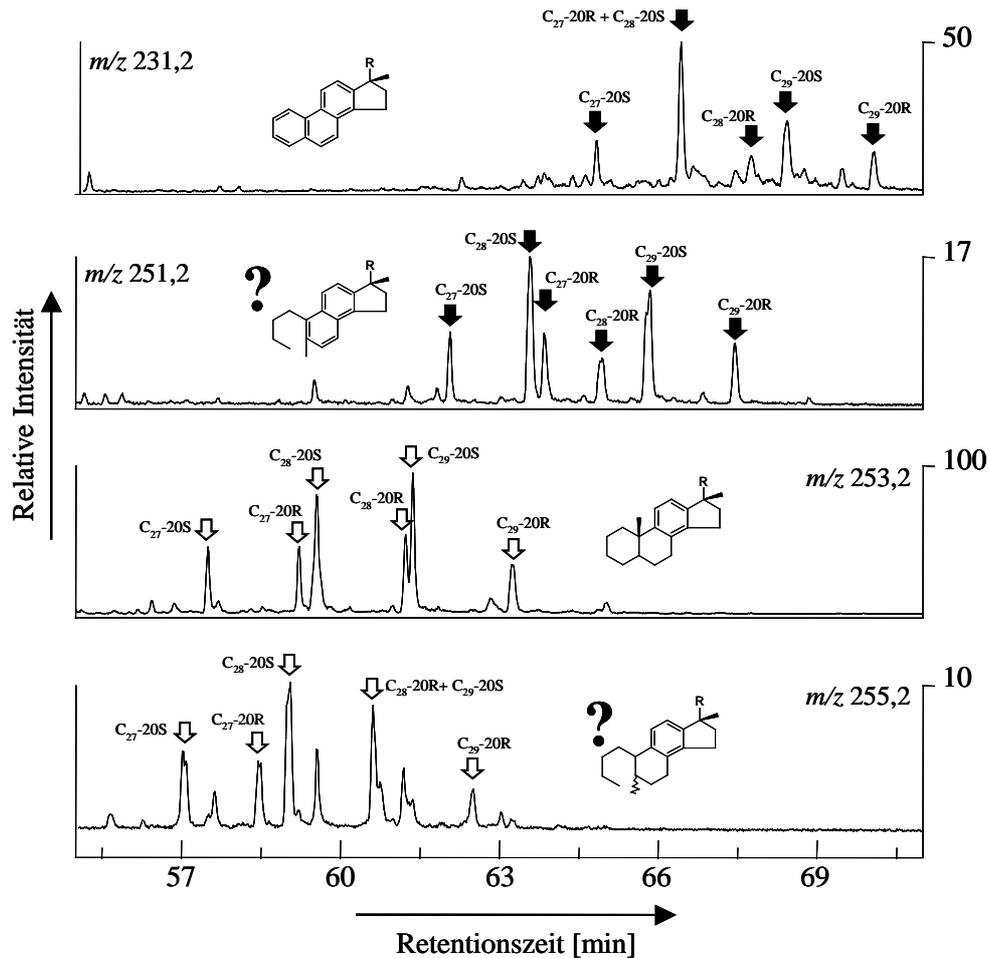


Abb. 3-18: Ionenchromatogramme für m/z 231, 251, 253 und 255 aus der GC-MS-Analyse der Aromatenfraktion des Monterey-Rohöls des Ölfelds Orcutt B. C_{xx} bezeichnet die Anzahl der Kohlenstoffatome und 20S und 20R die Konfiguration an C-20. Die Zuordnung erfolgte anhand der Ionenchromatogramme der jeweiligen Molekülionen und auf der Basis von Literaturdaten (Peters und Moldowan, 1993).

Triaromaten

Das Ionenchromatogramm m/z 231 repräsentiert die regulären triaromatischen Steroidkohlenwasserstoffe. Anders als bei den regulären triaromatischen Steroiden ist für die Bildung eines diaromatischen *seco*-Steroidkohlenwasserstoffs grundsätzlich keine Abspaltung der C-19-Methylgruppe notwendig (wenn sie an C-5 gebunden ist), aber möglich. Als Fragmente kommen demnach sowohl die Ionen bei m/z 237 als auch die bei m/z 251 in Betracht.

Das Ionenchromatogramm von m/z 231 (Abb. 3-18) spiegelt eine übliche Verteilung der triaromatischen Steroidkohlenwasserstoffe wider. Die Verteilung des m/z 251-Ionenchromatogramms ist der in der m/z 231-Spur bemerkenswert ähnlich. Gleiches

gilt für die in ihren Signalen um 20 Masseneinheiten verschobenen Massenspektren. Diese Übereinstimmungen werden als Hinweis auf die steroidale Struktur der unbekannt aromatischen Verbindungen gedeutet. Vergleichbare Verteilungsmuster gehen aus dem Ionenchromatogramm bei m/z 237 nicht hervor (nicht abgebildet). Demzufolge wird das Ionenchromatogramm bei m/z 251 als repräsentativ für diaromatische *seco*-Steroide mit einer Methylgruppe an C-5 angesehen.

Da einige triaromatische Steroide unter den gewählten Konditionen koeluierten, wird der zusätzliche Peak im Ionenchromatogramm von m/z 251 mit einer besseren gaschromatographischen Trennung der entsprechenden Verbindungen erklärt. Die berechneten relativen Intensitäten stützen diese These:

Verbindung	m/z 231,2	m/z 251,2
C ₂₇ -20S	15,0	14,2
C ₂₈ -20S	44,1	29,0
C ₂₇ -20R		13,9
C ₂₉ -20S	8,7	8,9
C ₂₈ -20R	20,7	22,2
C ₂₉ -20R	11,5	11,8
Summe	100,0	100,0

Tabelle 3-2: Relative Intensitäten der dominierenden Verbindungen in den Ionenchromatogrammen von m/z 231,2 und 251,2 (vgl. Abb. 3-18). C_{xx} bezeichnet die Anzahl der Kohlenstoffatome und 20S und 20R die Konfiguration an C-20.

Die Annahme, dass es sich bei den unbekannt Verbindungen mit den Schlüsselbruchstücken bei m/z 251 bzw. 255 um mono- und diaromatische *seco*-Steroide (mit einer Methylgruppe an C-5) handelt, wird auch durch die relativen Retentionszeiten gestützt. Die Gruppe der unbekannt monoaromatischen Verbindungen eluiert etwas früher als die regulären monoaromatischen Steroidekohlenwasserstoffe. Zwischen den regulären mono- und triaromatischen Steroiden eluieren die unbekannt diaromatischen Verbindungen.

Aufgrund der für die unbekannt Verbindungen angenommenen Strukturen könnte man Fragmente erwarten, die auf die erleichterte benzyliche Abspaltung einer Propylkette des A-Rings zurückzuführen wären. Entsprechende Fragmente ließen sich nicht eindeutig nachweisen. Der Grund für diesen Befund liegt darin, dass massenspektrometrische Fragmentierungen in der Regel energetisch kontrolliert sind. Aus dieser Sicht ist die Abspaltung der Seitenkette gegenüber dem Propylradikal aus dem geöffneten A-Ring deutlich

bevorzugt. In der Summe werden die Befunde als Indizien dafür angesehen, dass es sich bei den Verbindungen in dem m/z 255- bzw. 251-Ionenchromatogramm um mono- und diaromatische *seco*-Steroide mit einer C-5 Methylgruppe handelt. Die vorliegende Interpretation der massenspektrometrischen Daten stützt somit die Annahme, dass es sich bei den unbekanntem aliphatischen Verbindungen um 5-Methyl-19-*nor*-4,5-*seco*-sterane handelt.

3.3 Vorkommen der unbekanntem Verbindungen

Bisher wurde das Vorkommen der unbekanntem Verbindungen nur für wenige Öle des Kelamayi-Ölfelds im Westen Chinas beschrieben (Jiang et al., 1990). Der Nachweis der unbekanntem Verbindungen in einem Öl der Monterey-Formation, Kalifornien, geht auf frühere Untersuchungen innerhalb der Arbeitsgruppe zurück und warf die Frage nach der Verbreitung der unbekanntem Verbindungen auf. Um diese beantworten zu können, waren die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen auf drei wesentliche Aspekte ausgerichtet, nämlich das Vorkommen der unbekanntem Verbindungen

- in organischem Material unterschiedlicher Herkunft,
- in organischem Material gleicher Herkunft bei unterschiedlicher Reife und
- in makromolekularem organischem Material wie Asphaltenen.

Anhand eines Screenings von Proben unterschiedlicher Herkunft sollte einerseits eine ubiquitäre Verbreitung der unbekanntem Verbindungen aufgezeigt bzw. ausgeschlossen werden. Weiterführend wurde untersucht, ob Faktoren wie die Herkunft der Probe in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen. Darüber hinaus sollte über die Analyse einer Probenserie gleicher Herkunft bei unterschiedlicher Reife herausgefunden werden, ob das Vorkommen der unbekanntem Verbindungen von der Reife einer Probe abhängt oder nicht. Schließlich sollte über die Pyrolyse von Asphaltenen geklärt werden, inwieweit eine Freisetzung aus Makromolekülen möglich ist.

3.3.1 Verwendete Parameter

Um die unterschiedlichen Öl- bzw. Sedimentproben miteinander vergleichen zu können, wurden einige ausgewählte Reife- und Herkunftsparameter herangezogen, die auf den Substanzklassen der Sterane und Hopane basieren. Da es nicht Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Proben eingehend zu charakterisieren, werden die Parameter nur kurz beschrieben. Für weiterführende Informationen sei auf die Literatur verwiesen.

3.3.1.1 Allgemeine Anmerkungen zu Steroiden und Hopanoiden

Die Steroide gehören zu den tetracyclischen Triterpenoiden. Sie werden durch Zyklisierung von Squalenepoxid biosynthetisiert (Ourisson et al., 1987). Sie sind als Gerüstsubstanzen in Zellmembranen und als Regulierungssubstanzen in Form von Hormonen in vielen Eukaryonten von Bedeutung (Killops und Killops, 1993). Es ist eine Vielzahl von Sterolen aus zahlreichen biologischen Quellen bekannt, die je nach Substitutionsmuster des Grundgerüsts vorwiegend 27 bis 30 Kohlenstoffatome besitzen. Die Stabilität des Gerüsts während der Diagenese und Katagenese bildet die Basis für die Verwendbarkeit der Steroide als Biomarker.

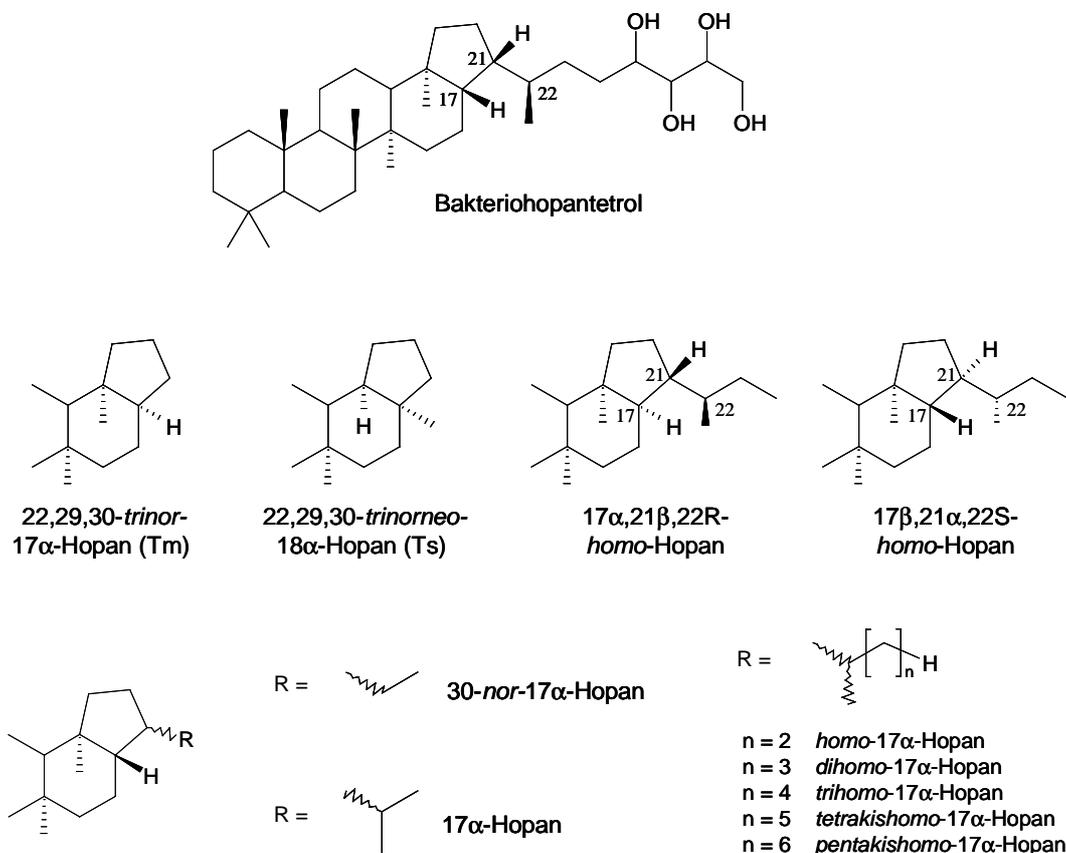


Abb. 3-19: Strukturen, mögliche Konfigurationen und Bezeichnungen einiger Hopanoide

Während bei den Eukaryonten die Steroide häufig stabilisierende Eigenschaften in den Zellmembranen besitzen, sind es in vielen Prokaryonten die Hopanoide, denen diese Funktion zukommt (Ourisson et al., 1979). Sie werden durch Zyklisierung von Squalen gebildet. Die hier untersuchten gesättigten Hopane mit einem Kohlenstoffgerüst von 27 bis 35 Atomen entstehen im Laufe der Diagenese unter anoxischen Bedingungen aus Vorläufern wie Bakteriohopanpolyolen (Mackenzie et al., 1984). Letztere stellen die in Bakterien

dominierenden Hopanoide dar. Ähnlich wie bei den Steroiden ist es die Stabilität des Grundgerüsts, welche die Verwendung der Hopanoide als Biomarker ermöglicht. In Abb. 3-19 sind die Strukturen einiger Hopanoide wiedergegeben.

3.3.1.2 Parameter für die Quantifizierung der unbekanntten Verbindungen

Um die relativen Konzentrationen der unbekanntten Verbindungen in den unterschiedlichen Proben miteinander vergleichen zu können, wurden zwei Parameter entwickelt. Aufgrund der angenommenen steroidalen Struktur wurde die C₂₇-Verbindung zur Summe der regulären 5 α ,14 α ,17 α ,20(S+R)- und 5 α ,14 β ,17 β ,20(S+R)-Cholestane ins Verhältnis gesetzt. Der Quotient wird im Folgenden als U/REG (unbekannt/regulär) bezeichnet und wurde bei den reifen Proben unterschiedlicher Herkunft angewandt (Kapitel 3.3.3).

Durch die katagenetische Freisetzung aus Kerogen nehmen die relativen Konzentrationen vieler Verbindungen wie beispielsweise die der regulären Sterane zu. Der Parameter U/REG scheint daher zum Vergleich von Proben mit sehr unterschiedlicher Reife ungeeignet zu sein. Für einen Vergleich der Muttergesteinsproben aus der Hilsmulde wird daher ein Parameter vorgeschlagen, der die relative Konzentration der unbekanntten C₂₇-Verbindung auf der Basis einer anderen, in möglichst gleichbleibender Konzentration vorliegenden Verbindung normiert. Die relativen Konzentrationen der Diasterane sollten sich innerhalb der Probenserie vergleichsweise wenig unterscheiden, da sie überwiegend während der Diagenese gebildet werden, nicht makromolekular gebunden vorliegen und somit bei zunehmender Reife auch nicht thermisch freigesetzt werden. Der zweite Parameter wurde schließlich aus dem Quotienten der Intensitäten der unbekanntten C₂₇-Verbindung und der Summe der ¹³C₂-Isotopenpeaks der 13 β ,17 α -Diacholestane in dem Ionenchromatogramm von *m/z* 374,4 → 219,2 aus den GC-MSMS-Analysen gebildet. Im Weiteren wird der Parameter mit U/DIA (unbekannt/Diacholestane) abgekürzt.

3.3.1.3 Reifeparameter

Von den zahlreichen theoretisch möglichen Stereoisomeren der regulären Sterane dominieren in fossilem organischem Material vier, die sich in den Konfigurationen an den Positionen C-14, C-17 und C-20 unterscheiden. Da sich die relativen Verhältnisse mit zunehmender Reife ändern, lässt sich an ihnen die Reife der Probe abschätzen. Biogen besitzen Steroide eine 5 α ,14 α ,17 α ,20R-Konfiguration (sofern die Δ^5 -Doppelbindung hydriert ist). Das C-20-Atom stellt das am leichtesten isomerisierende stereogene Zentrum dar. Mit zunehmender Reife tritt vermehrt das Epimer mit 20S-Konfiguration auf, wobei sich ein

Gleichgewicht zwischen dem R- und dem S-Epimer einstellt. In reifen Proben erreicht der Quotient $S/(R+S)$ Werte um 0,54 (van Graas et al., 1982; Seifert und Moldowan, 1986). Mit fortschreitender Genese nehmen darüber hinaus die relativen Konzentrationen der Isomere mit $5\alpha,14\beta,17\beta$ -Konfiguration zu. Das Verhältnis der beiden $\alpha\beta\beta$ -Isomeren ($20R+20S$) zur Summe der $\alpha\alpha\alpha$ - und $\alpha\beta\beta$ -Isomeren ermöglicht somit ebenfalls die Abschätzung der Reife einer Probe. Bei variablen Anfangswerten zeigt ein Wert von etwa 0,8 das Erreichen des Gleichgewichtszustands an (Mackenzie, 1984; Seifert und Moldowan, 1986). Um Koelutionen mit Diasteranen aus dem Wege zu gehen, erfolgt die Auswertung der beiden genannten Parameter (im GC-MS-Modus) üblicherweise auf der Basis der 24-Ethylcholestane.

Wie bei den Steranen lassen sich in fossilem organischem Material mehrere Stereoisomere der Hopane nachweisen, deren relative Konzentrationen von der Reife abhängen. Die Hauptquelle für fossile Hopane stellen Bakteriohopanpolyole dar, die in den Zellmembranen prokariotischer Organismen vorkommen (Ourisson et al., 1979, 1987). Die Diagenese dieser Verbindungen führt über Oxidationsreaktionen und Defunktionalisierung zu gesättigten Kohlenwasserstoffen (Mackenzie, 1984; Brassel, 1985).

Biogen werden Hopanoide mit $17\beta,21\beta$ -Konfiguration gebildet, obwohl auch die als Moretane bezeichneten $17\beta,21\alpha$ -Hopane einen biologischen Ursprung haben können. Während der Diagenese werden sowohl Moretane als auch $17\alpha,21\beta$ -Hopane gebildet. Mit fortschreitender Diagenese erhöht sich der Anteil der Verbindungen, die in der thermisch stabileren $17\alpha,21\beta$ -Konfiguration vorliegen (Seifert und Moldowan, 1980). Bei einem Kohlenstoffgrundgerüst von mehr als 30 Atomen tritt zusätzlich eine R/S-Epimerisierung an der Position C-22 auf (Ensminger et al., 1977), welche noch früher als die entsprechende Seitenketten-Epimerisierung bei den Steroiden stattfindet. Aus den genannten Isomerisierungs-Reaktionen lassen sich zwei Parameter ableiten, die eine Einordnung der Probe bezüglich der Reife zulassen. Die Epimerisierung an der Seitenkette (Position C-22) wird durch das Verhältnis $22-S/(S+R)$ beschrieben. Der Gleichgewichtszustand ist mit einem relativen Anteil von etwa 60% des S-Epimeren erreicht, was einem Parameterwert von 0,6 entspricht (Ensminger, 1977; Seifert und Moldowan, 1986). Der Grad der Isomerisierung an den Positionen C-17 und C-21 lässt sich an dem Verhältnis $\alpha\beta/(\alpha\beta+\beta\alpha)$ ablesen, welcher in der Praxis mit einem Wert von ungefähr 0,9 das Maximum erreicht hat (Mackenzie et al., 1980; Seifert und Moldowan, 1980).

3.3.1.4 Herkunftsparameter

homo-Hopan-Index - $(C_{35}/\Sigma(C_{31}-C_{35}))$

Häufig findet man bei den Hopanen in geologischen Proben Verteilungsmuster, die durch abnehmende Konzentrationen vom *homo-17 α ,21 β -Hopan* zum *pentakishomo-17 α ,21 β -Hopan* gekennzeichnet sind. In karbonatischen oder evaporitischen Gesteinen sind die *pentakishomo-17 α ,21 β -Hopan*-Konzentrationen dagegen üblicherweise erhöht und dominieren dabei gegenüber dem *tetrakishomo-17 α ,21 β -Hopan* (z.B. Connan et al., 1986; Clark und Philp, 1989). Für den Parameter wird das Verhältnis des *pentakishomo-17 α ,21 β -Hopans* zur Summe der *homo-17 α ,21 β -Hopane* mit 31 bis 35 Kohlenstoffatomen gebildet ($C_{35}/\Sigma(C_{31}-C_{35})$). Im allgemeinen werden hohe Werte dieses Parameters als Hinweis auf ein stark reduzierendes Ablagerungsmilieu angesehen (Peters und Moldowan, 1991). Der Parameter dient somit der Beschreibung der Redoxverhältnisse bei der Ablagerung des organischen Materials und während der frühen Diagenese. In dieser Arbeit wurde zusätzlich das Verhältnis des *pentakishomo-* zum *tetrakishomo-17 α ,21 β -Hopan* errechnet, wobei Werte >1 auf eine Verteilung hinweisen, bei der die *pentakishomo-17 α ,21 β -Hopane* überwiegen und auf ein reduzierendes Milieu schließen lassen. Die Darstellung erleichtert aufgrund der Zahlenwerte den Vergleich der Proben untereinander.

30-nor-17 α ,21 β -Hopan- /17 α ,21 β -Hopan - $(29/30)$

Palacas *et al.* (1984) verwendeten zur Öl-Muttergesteins-Korrelation unter anderem das Verhältnis von *30-nor-17 α ,21 β -Hopan* zu *17 α ,21 β -Hopan*. Häufig sind die relativen Konzentrationen des *17 α ,21 β -Hopans* doppelt so hoch wie die des *30-nor-17 α ,21 β -Hopans* (Waples und Machihara, 1991). In karbonatischem Gestein und in Evaporiten wurden dagegen ungewöhnlich hohe Anteile des *30-nor-17 α ,21 β -Hopans* gefunden (z.B. Connan et al., 1986).

Tm/(Tm+Ts)

Im Verlauf der Katagenese zeigt das *C_{27-22,29,30-trinorneo-18 α -Hopan}* (Ts) eine größere Stabilität als das *C_{27-22,29,30-trinorneo-17 α -Hopan}* (Tm), weshalb das Verhältnis dieser beiden Verbindungen mit zunehmender Reife größer wird (Seifert und Moldowan, 1978). Zu beachten ist bei einer Interpretation, dass die Konzentrationen nicht nur reife-, sondern auch

quellenabhängig sind (Moldowan et al., 1986). Werte für Sedimentgesteine (und entsprechende Öle) aus einem hypersalinen Milieu können beispielsweise verhältnismäßig hoch sein (Seifert und Moldowan, 1978), während aus karbonatischen Muttergesteinen Öle mit relativ niedrigen Werten gebildet werden (McKirdy et al., 1981). Die Werte dieses Parameters sind daher nur aussagekräftig, wenn für unterschiedliche Proben gleiche Quellen oder sogar Fazies angenommen werden können.

3.3.1.5 Ergebnisse und Diskussion

Anhand der gaschromatographischen Daten wird deutlich, dass die Fraktionen der aliphatischen Verbindungen aller (nichtbiodegradierten) Proben überwiegend aus *n*-Alkanen bestehen und erdöltypische Verteilungsmuster ohne Bevorzugung aufweisen. In vergleichbaren Konzentrationen liegen nur noch die Isoprenoide Pristan und Phytan vor, aus deren Quotient sich Redoxverhältnisse während der Ablagerung des organischen Materials abschätzen lassen (Didyk et al., 1978; Tissot und Welte, 1984). Nach Freisetzung von Phytol z.B. aus Chlorophyll während der Diagenese führt die Oxidation mit anschließender Decarboxylierung über Pristen zu Pristan, während unter reduzierenden Bedingungen nach Wasserabspaltung und Hydrierung Phytan gebildet wird (Didyk et al., 1978). Aufgrund von weiteren möglichen Eintragsquellen für Pristan und Phytan, wie z.B. Tocopherol und Di-(biphytanyl)glycerylether aus Membranen von Archaea (Chappe et al., 1982; Goosens et al., 1984; ten Haven et al., 1987; King et al., 1998), ist die Interpretation des Verhältnisses nicht uneingeschränkt möglich. Peters und Moldowan (1993) empfehlen daher die Verwendung des Pristan/Phytan-Verhältnisses nur für Werte $>2,5$ und $<0,6$.

In Tabelle 3-3 sind die Kohlenstoffzahlen und Konzentrations-Maxima der *n*-Alkane und die Pristan/Phytan-Verhältnisse der Erdölproben wiedergegeben.

Allgemein spiegeln sich trotz der geschilderten Einschränkungen in den Pristan/Phytan-Verhältniswerten die überwiegend suboxischen Ablagerungsbedingungen für die meisten Proben wider. Darüber hinaus weisen einige der geographisch nahe beieinandergelegenen Proben ähnliche Werte auf (z.B. die Proben der Ölfelder Balder und Ekofisk mit 1,6 bzw. 1,4 sowie die Proben der Monterey-Formation mit Werten zwischen 0,8 und 1,0).

In allen Proben ließen sich des weiteren Sterane und Hopane (vgl. Kapitel 3.3.1.1) in deutlich geringeren relativen Konzentrationen als die beschriebenen acyclischen Verbindungen nachweisen. Die Auswertung der jeweiligen Biomarkerverteilungen erfolgte daher auf der Basis von GC-MS-Analysen.

Probe	Kohlenstoff-Zahl	Maxima	Pri/Phy
Balder	12 – 39	<i>n</i> -Hexadecan	1,57
BEA	< 9 – 39	<i>n</i> -Tridecan	1,80
Boscan	13 – 37	<i>n</i> -Eicosan	0,49
Ekofisk	< 9 – 35	<i>n</i> -Nonadecan	1,38
Oseberg	kD ¹⁾	-	0,43
Casmalia A	kD ²⁾	-	0,80
Casmalia B	11 – 38	<i>n</i> -Hexadecan	0,89
Orcutt A	kD ²⁾	-	kD ²⁾
Orcutt B	12 – 37	<i>n</i> -Nonadecan	0,97
Uinta	9 – 38	<i>n</i> -Tetracosan	1,02
Arabian Medium	kD ¹⁾	-	0,63
Wadi Gaza	kD ²⁾	-	0,72 – 1,06 ³⁾
Kongo Geob	13 – 33	<i>n</i> -Tetracontan	-

Tabelle 3-3: Kohlenstoffzahlen und Maxima der *n*-Alkanverteilungen und Pristan/Phytan-Verhältnisse der Erdölproben. *kD* = keine Daten; ¹⁾ Für die Auswertung stand nur eine *n*-alkanfreie Probe zur Verfügung. ²⁾ Aufgrund von Biodegradation waren keine *n*-Alkane vorhanden. ³⁾ Es standen 6 Proben zur Verfügung, der Mittelwert der Pristan/Phytan-Verhältnisse beträgt 0,88.

Die berechneten Parameterwerte, auf die an dieser Stelle nicht im Einzelnen eingegangen werden soll, entsprachen den Erwartungen und stehen im Einklang mit der Reife und der Herkunft der jeweiligen Ölprobe.

Für zweifelsfreie Nachweise der unbekanntesten Verbindungen reichte selbst die Empfindlichkeit des GC-MS-Geräts nicht in allen Fällen aus. Mittels GC-MSMS-Analysen konnten die Verbindungen mit 27, 28 und 29 Kohlenstoffatomen qualitativ aber ausnahmslos in allen Proben nachgewiesen werden. In einigen Proben waren die absoluten Gehalte sehr gering. Eine weitere Aufkonzentration der Messlösung war teilweise jedoch nicht möglich, weshalb das Signal-Rausch-Verhältnis nicht verbessert werden konnte. Während bisher nur von zwei Isomeren berichtet wurde (Jiang et al., 1990), geben die massenspektrometrischen Daten Grund zu der Annahme, dass mindestens vier weitere Isomere existieren (vgl. Abb. 3-20). Die Verteilungsmuster der C₂₇-Isomere im Boscan-Öl (nicht biodegradiert) und in der Probe Casmalia A (stark biodegradiert) sind nahezu identisch. Es kann daher ausgeschlossen werden, dass es sich bei den Isomeren um Produkte mikrobieller Umwandlung handelt.

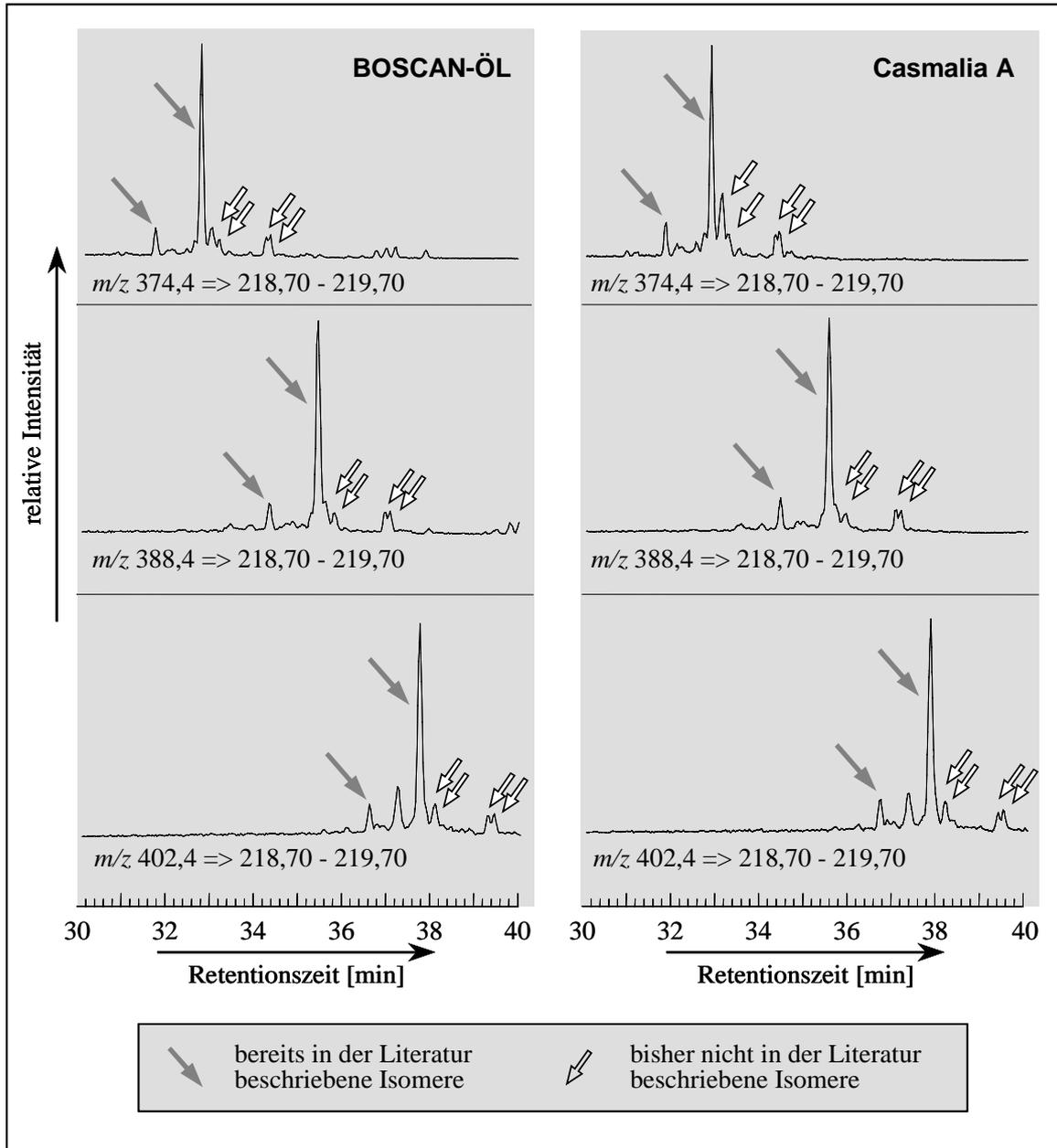


Abb. 3-20: Ausschnitte aus Ionenchromatogrammen einer Boscan- und der Casmalia A-Ölprobe. Die grauen Pfeile kennzeichnen die beiden in der Literatur beschriebenen Isomere, während die weißen Pfeile bislang unbekanntem Isomeren zugeordnet sind.

Um einen Vergleich der Proben bezüglich der unbekanntem Verbindungen zu ermöglichen, wurde der Parameter U/REG hergeleitet (vgl. Kapitel 3.3.2). Er berechnet sich aus dem Verhältnis der unbekanntem C_{27} -Verbindung zur Summe der regulären Cholesterane. Zur Veranschaulichung von möglichen Zusammenhängen bezüglich der Reife und Herkunft der einzelnen Proben wurden weitere Parameterwerte gegen U/REG aufgetragen (siehe Abb. 3-21). Es wurden jene Proben außer acht gelassen, die Biodegradationsmerkmale aufweisen.

Da alle Parameter Verhältniswerte darstellen, sind die Abszisse und die Ordinate dimensionslos.

In dem oberen Teil von Abb. 3-21 ist U/REG gegen eine Auswahl von Reifeparametern aufgetragen. Zu beachten ist, dass aufgrund der unterschiedlichen Herkunft der Proben kein uneingeschränkter Vergleich der Reifeparameterwerte erfolgen kann. Anhand der Daten wird aber deutlich, dass sich alle Proben in einem fortgeschrittenen Reifestadium befinden. Eine Proportionalität zu U/REG lässt sich nicht erkennen oder ist so gering, dass sie in der Größenordnung von Messungenauigkeiten liegt.

Wegen der besseren Überschaubarkeit sind im unteren Teil einige Herkunftsparameter in zwei Diagrammen dargestellt. Wenngleich Faktoren wie die Reife (bei $T_s/(T_s+T_m)$) oder das Redoxmilieu (bei $C_{35}/\Sigma(C_{31}-C_{35})$) Einfluss auf die Parameterwerte haben, so sind sie auch davon abhängig, ob das organische Material in tonigen oder karbonatischen Sedimenten abgelagert wurde.

Sofern das Vorkommen der unbekanntes Verbindungen an entsprechende Ablagerungsgebiete gebunden ist, sollte das aus Abb. 3-21 hervorgehen. Eine entsprechende Tendenz ist nicht erkennbar. Die unbekanntes Verbindungen werden sowohl in tonigen Sedimenten (vgl. Proben der Nordsee) als auch in karbonathaltigen Gesteinen gebildet (Probe des Uinta-Beckens bzw. des Kelamayi-Ölfelds; Jiang et al., 1990). Die relativen Konzentrationen der unbekanntes Verbindungen sind in der Probe des Uinta-Beckens allerdings verhältnismäßig gering. Es ist daher denkbar, dass protonenkatalysierte Reaktionen für die Quantität bei der Entstehung eine Rolle spielen.

Weiterhin scheint das Auftreten der Verbindungen nicht an marine Umgebungen und daraus resultierend nicht an marine Organismen gebunden zu sein. Ein Beispiel für den positiven Nachweis in lakustrinem Milieu stellt die Probe aus dem Uinta-Becken dar. Allgemein geben die Ergebnisse Anlass zu der Annahme, dass das Vorkommen der Verbindungen qualitativ nicht von Matrixeffekten abhängt.

Abschließend sei aber erwähnt, dass auf der Basis der Daten nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann, dass die genannten Faktoren einen quantitativen Einfluss auf das Vorkommen der unbekanntes Verbindungen haben.

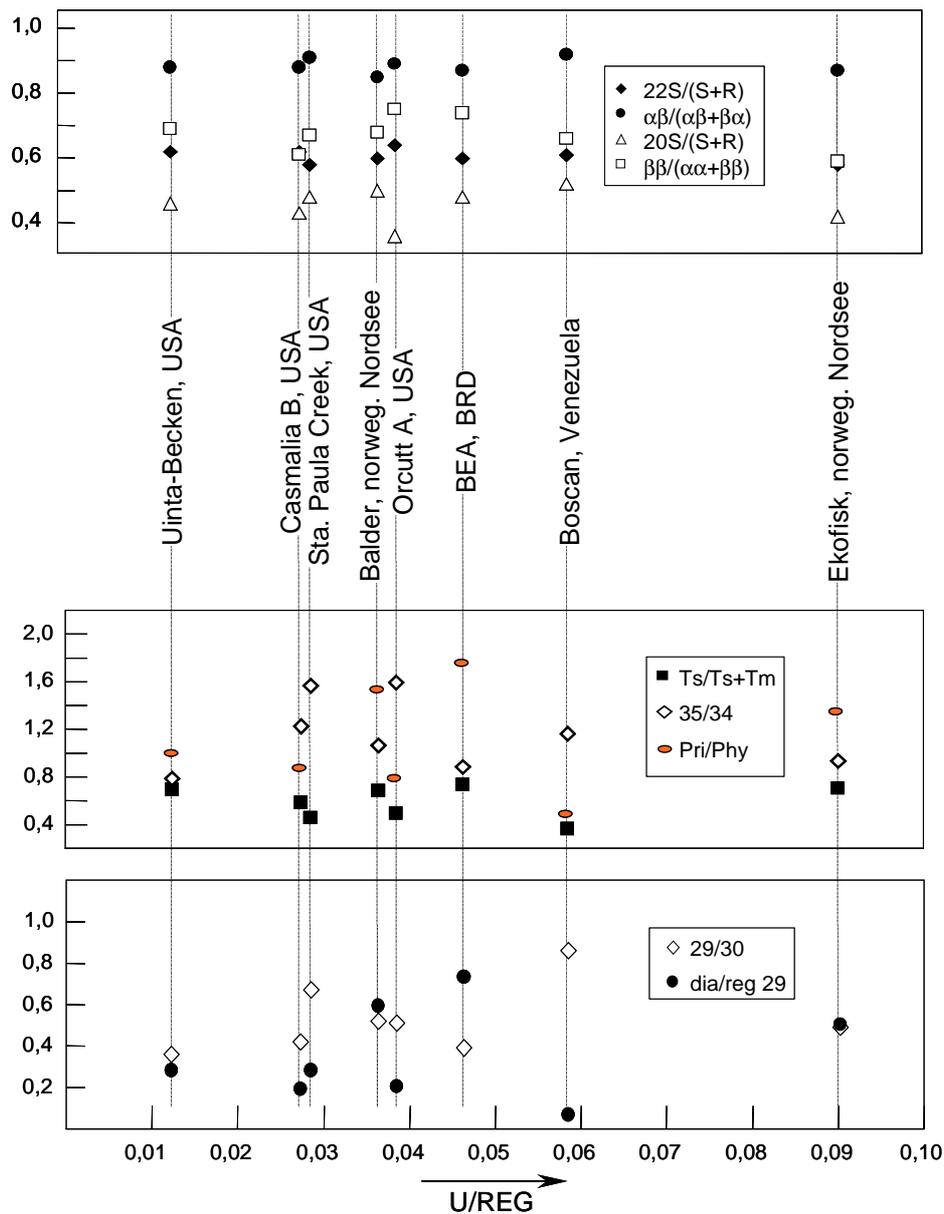


Abb. 3-21: Ausgewählte Reife- und Herkunftsparameter versus U/REG. $22S/(S+R)=\text{homo-}17\alpha,21\beta,22S\text{-Hopan}/(\text{homo-}17\alpha,21\beta,22S\text{-Hopan}+\text{homo-}17\alpha,21\beta,22R\text{-Hopan})$; $\alpha\beta/(\alpha\beta+\beta\alpha)=17\alpha,21\beta\text{-Hopan}/(17\alpha,21\beta\text{-Hopan}+17\beta,21\alpha\text{-Hopan})$; $20S/(S+R)=5\alpha,14\alpha,17\alpha,20S\text{-}24\text{-Ethylcholestan}/(5\alpha,14\alpha,17\alpha,20(S+R)\text{-}24\text{-Ethylcholestan}+5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)\text{-}24\text{-Ethylcholestan})$; $\beta\beta/(\alpha\alpha+\beta\beta)=5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)\text{-}24\text{-Ethylcholestan}/(5\alpha,14\alpha,17\alpha,20(R+S)\text{-}24\text{-Ethylcholestan}+5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)\text{-}24\text{-Ethylcholestan})$; $Ts/(Ts+Tm)=22,29,30\text{-trinorneo-}18\alpha\text{-Hopan}/(22,29,30\text{-trinorneo-}18\alpha\text{-Hopan}+22,29,30\text{-trinor-}17\alpha\text{-Hopan})$; $35/34=\text{pentakishomo-}17\alpha,21\beta\text{-Hopan}/\text{tetrakishomo-}17\alpha,21\beta\text{-Hopan}$; $Pri/Phy=\text{Pristan}/\text{Phytan}$; $29/30=30\text{-nor-}17\alpha,21\beta\text{-Hopan}/17\alpha,21\beta\text{-Hopan}$; $\text{dia/reg } 29=13\beta,17\alpha\text{-}24\text{-Ethylcholestan}(R+S)/(\text{Summe von } 5\alpha,14\alpha,17\alpha,20(R+S)\text{- und } 5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)\text{-}24\text{-Ethylcholestan})$

3.3.2 Vorkommen in organischem Material gleicher Herkunft und unterschiedlicher Reife

3.3.2.1 Beschreibung der Posidonienschieferproben

Der Posidonienschiefer wurde vor etwa 180 Millionen Jahren in einem flachen Randmeer abgelagert, das sich vom Yorkshire-Becken in England über das niedersächsische und das südwestdeutsche Becken bis zum Pariser Becken in Frankreich erstreckte. Die stabile Schichtung der Wassersäule mit anoxischem Bodenwasser führte zur Ablagerung eines Ölschiefers mit hohen Gehalten an marinem organischem Material.

Für die Untersuchung standen sechs Posidonienschiefer-Proben (Lias ϵ) aus der Hilsmulde bei Hannover zur Verfügung. Die Bohrlokationen liegen auf einem etwa 50 km langen Transekt, der von Haddessen im Nordwesten bis nach Wenzen im Südosten verläuft. In westlicher Richtung liegt etwa 30 km (Haddessen) bis 60 km (Wenzen) entfernt ein Magma-Pluton in 6 km Tiefe. Im Bereich der Hilsmulde war der Posidonienschiefer zeitweise 2 km tief versenkt. Das organische Material stand kurz vor dem Erreichen der Erdölgene. Hydrothermale Wässer, deren Aufsteigen der Pluton verursachte, heizten das organische Material der Region zusätzlich auf. Das organische Material in den Proben der Lokation Haddessen erreichte dadurch ein Reife-Stadium, bei dem die Biomarker weitestgehend thermisch zerstört wurden. Demgegenüber ist die Distanz zwischen der Lokation Wenzen und dem Pluton zu groß, als dass dessen Temperatur einen wesentlichen Effekt auf das organische Material hätte haben können.

Da die Organofazies für die Proben sehr einheitlich ist, lassen sich die unterschiedlichen Reifestadien der Erdölgene innerhalb der Probenserie anhand verschiedener Biomarker gut beschreiben. In der Tabelle 3-4 sind die Werte einiger ausgewählter Reifeparameter zusammengestellt, die in der Arbeitsgruppe im Laufe der letzten Jahre durch Mehrfachbestimmung ermittelt wurden. Aus den Daten geht deutlich die zunehmende Reife innerhalb der Probenserie hervor. Erwartungsgemäß weisen die Parameter der am weitesten vom Magma-Pluton entfernten Probe Wenzen die niedrigsten Werte auf. Für weitere Informationen zu den Ergebnissen geochemischer Untersuchungen und zu Details zu den geologischen und geochemischen Besonderheiten sei auf die Literatur verwiesen (Littke et al., 1988; Rullkötter et al., 1988; Rullkötter und Marzi, 1988; Littke et al., 1991).

	Sterane		Hopane	
	$20S/(20S+20R)^{1)}$	$\beta\beta/(\alpha\alpha+\beta\beta)^{2)}$	$22S/(22S+22R)^{3)}$	$\alpha\beta/(\alpha\beta+\beta\alpha)^{4)}$
Wenzen	0,08	0,24	0,27	0,75
Wickensen	0,16	0,25	0,54	0,84
Dielmissen	0,49	0,57	0,59	0,93
Dohnsen	0,50	0,72	0,61	0,91
Harderode	0,50	0,75	0,60	0,90

Tabelle 3-4: Einige ausgewählte Reifeparameter für die Hilsmulde-Proben auf der Basis fossiler Sterane und Hopane. ¹⁾ (20S)- und (20R)-5 α ,14 α ,17 α -24-Ethylcholestan; ²⁾ 5 α ,14 β ,17 β - und 5 α ,14 α ,17 α -24-Ethylcholestane (20S und 20R); ³⁾ *dihomo*-17 α ,21 β -Hopane; ⁴⁾ 17 α ,21 β -Hopan und 17 β ,21 α -Hopan (Moretan)

3.3.2.2 Ergebnisse und Diskussion

Die Aliphatenfraktionen wurden mittels GC-MSMS im MRM-Modus analysiert (vgl. Kapitel 2.11). Es muss berücksichtigt werden, dass teilweise mit errechneten Korrekturwerten gearbeitet werden musste. Eine detaillierte Beschreibung diesbezüglich findet sich im Kapitel 2.11. Dennoch können die hier präsentierten Ergebnisse als hinreichend signifikant angesehen werden.

Qualitativ konnten die unbekanntes C₂₇-, C₂₈- und C₂₉-Verbindungen in allen Proben nachgewiesen werden. Die relativen Verteilungsmuster der Verbindungen wurden aufgrund des unzureichenden Signal-Rausch-Verhältnisses nur für die reifen Proben Dohnsen und Harderode bestimmt. Mit 48:20:32 bzw. 48:21:31 sind die Verteilungen in beiden Proben nahezu identisch. Der gleiche Trend ergibt sich aus den Massenchromatogrammen auch für die übrigen Proben. Es dominiert jeweils die C₂₇-Verbindung.

Für einen Vergleich mit den Verteilungsmustern der regulären Sterane standen nur Daten von GC-MS-Messungen (Full-Scan-Modus) zur Verfügung. Die relativen Anteile der regulären C₂₇-C₂₉-Sterane betragen 36:26:38 für die Probe Dohnsen bzw. 35:28:37 für die Probe Harderode, woraus eine leichte Dominanz der C₂₉-Verbindung gegenüber der C₂₇-Verbindung hervorgeht. Koelutionen bei der Detektion der regulären Sterane können als Ursache für die abweichenden Verhältnisse vernachlässigt werden: Da die 24-Ethylcholestane davon am wenigsten betroffen wären, sollten deren relative Konzentrationen aus den GC-MS-Messungen daher im Vergleich zu den MRM-Messungen eher geringer ausfallen. Des Weiteren können die Unterschiede nicht mit einer unbefriedigenden Reproduzierbarkeit der

Intensitätsverhältnisse unterschiedlicher Ionenchromatogramme erklärt werden, da die Verteilungsmuster der Sterane für die Proben Dohnsen und Harderode sehr gut übereinstimmen. Die Abweichungen können aber mit den unterschiedlichen Messmodi begründet werden. Bereits Peters und Moldowan (1993) betonen, dass ein Vergleich von GC-MS- und GC-MSMS-Daten nur sinnvoll ist, wenn diese mittels Standards korrigiert wurden. Entsprechende Korrekturen wurden nicht vorgenommen, weswegen eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse nicht zu erwarten war. Auch wenn die Verteilungsmuster der unbekanntem Verbindungen und der regulären Sterane ähnliche Tendenzen aufweisen, konnten die Ergebnisse von Jiang et al. (1995) nicht bestätigt werden. Die Autoren fanden eine gute Übereinstimmung der relativen Verhältnisse der regulären Sterane und der unbekanntem Verbindungen mit 27, 28 und 29 Kohlenstoffatomen (vgl. Kapitel 3.1).

In Abb. 3-22 sind Ausschnitte aus den Ionenchromatogrammen von m/z 374,4 \rightarrow 219,2 für die fünf unterschiedlichen Proben dargestellt. Da die Messlösungen unterschiedliche Ausgangskonzentrationen besaßen, wurden die Intensitäten der $13\beta,17\alpha$ -Diacholestane für alle fünf Proben gleichgesetzt. Bei den detektierten Verbindungen handelt es sich (in der Reihenfolge der Elution) um $13\beta,17\alpha,20S$ -Diacholestan, um die unbekanntem C_{27} -Verbindung und um $13\beta,17\alpha,20R$ -Diacholestan. Die Reife der Proben nimmt von der Probe Wenzen zur Probe Harderode hin zu. Deutlich zu erkennen ist der Anstieg der relativen Konzentrationen der unbekanntem C_{27} -Verbindung gegenüber denen der $13\beta,17\alpha$ -Diacholestane, bis sie bei der Probe Haderode ihr Maximum erreichen. Da sich die Proben maßgeblich nur in der Reife unterscheiden, wird dieser Befund als Indiz für die thermische Freisetzung der unbekanntem Verbindungen interpretiert.

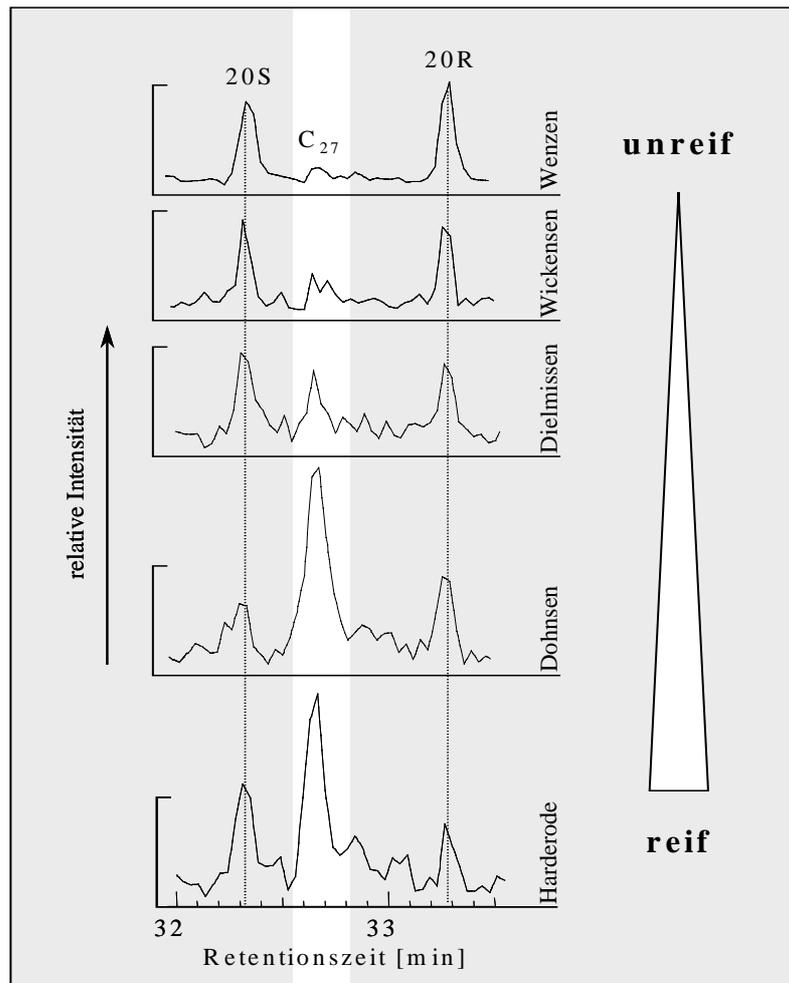


Abb. 3-22: Ausschnitte aus den Ionenchromatogrammen von m/z 374,4 \rightarrow 219,2 der Hilsmulde-Proben. C_{27} steht für die unbekannte C_{27} -Verbindung, 20S für $13\beta,17\alpha,20S$ -Diacholestan und 20R für $13\beta,17\alpha,20R$ -Diacholestan

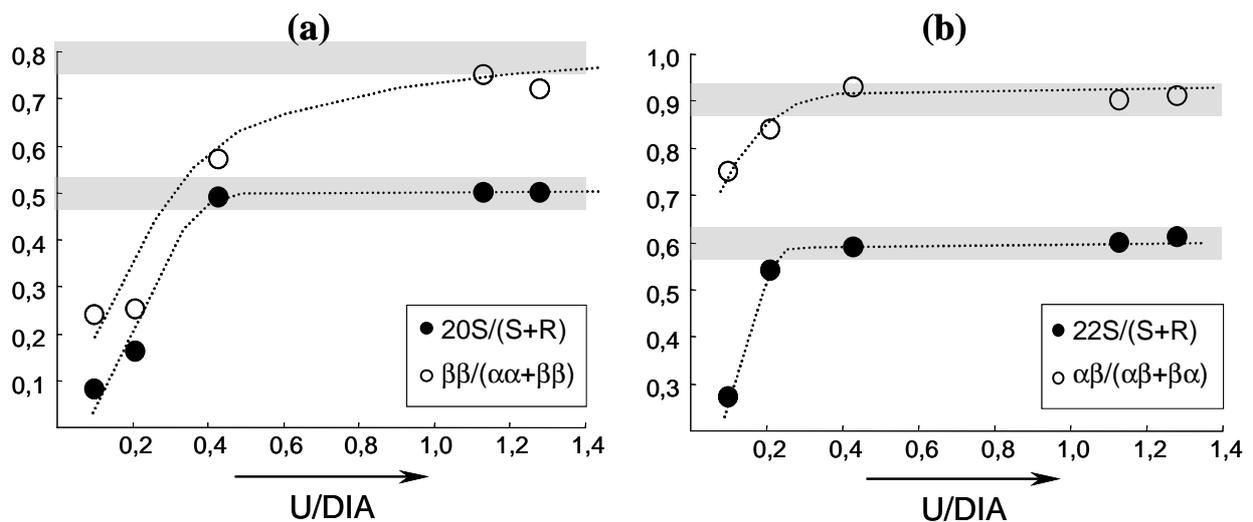


Abb. 3-23: Darstellung von Reifeparametern auf der Basis von Steranen (a) und Hopanen (b) versus U/DIA. $20S/(S+R) = 5\alpha,14\alpha,17\alpha,20S$ -24-Ethylcholestan / $5\alpha,14\alpha,17\alpha,20(S+R)$ -24-Ethylcholestan; $\beta\beta/(\alpha\alpha+\beta\beta) = 5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)$ -24-Ethylcholestan / ($5\alpha,14\alpha,17\alpha,20(R+S)$ -24-Ethylcholestan + $5\alpha,14\beta,17\beta,20(R+S)$ -24-Ethylcholestan); $22S/(S+R) = homo-17\alpha,21\beta,22S$ -Hopan / ($homo-17\alpha,21\beta,22S$ -Hopan + $homo-17\alpha,21\beta,22R$ -Hopan); $\alpha\beta/(\alpha\beta+\beta\alpha) = 17\alpha,21\beta$ -Hopan / ($17\alpha,21\beta$ -Hopan + $17\beta,21\alpha$ -Hopan).

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den relativen Konzentrationen der unbekanntem Verbindungen und der Reife der jeweiligen Probe herstellen zu können, wurde der Quotient U/DIA gegen einige ausgewählte Reifeparameter aufgetragen. Da die unbekannte C₂₇-Verbindung und die 13 β ,17 α -Diacholestane mit zwei ¹³C-Atomen im ABC-Ringsystem identische Molekülonen und jeweils ein Fragment bei *m/z* 219 aufweisen, war keine rechnerische Korrektur notwendig. Ungenaue Messungen sollten sich den Beobachtungen nach nur auf das Signal-Rausch-Verhältnis, nicht aber auf das Verteilungsmuster innerhalb eines Ionenchromatogramms auswirken (vgl. Kapitel 3.3.1).

In Abb. 3-23 sind neben den Endwerten der jeweiligen Parameter vier Datenreihen und Trendlinien eingezeichnet. Der Verlauf dieser Kurven ist zunächst steil (bis etwa U/DIA=0,4). Demnach werden die Werte der jeweiligen Reifeparameter größer, während U/DIA nur geringfügig zunimmt. Eine deutliche Zunahme der relativen Konzentrationen der unbekanntem C₂₇-Verbindung ist erst ab dem Moment festzustellen, zu dem die übrigen Reifeparameter gegen ihren jeweiligen Endwert streben. Anscheinend sind für die Freisetzung der unbekanntem Verbindung höhere Energien nötig als für die Bildung der Sterane oder Hopane.

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass die relative Konzentration der unbekanntem C₂₇-Verbindung proportional mit der Reife der Proben zunimmt. Eine vergleichbare Tendenz zeigt sich auch bei den höheren Homologen mit 28 und 29 Kohlenstoffatomen (nicht abgebildet).

Da die untersuchten Proben keinerlei Biodegradations-Merkmale aufweisen, kann ausgeschlossen werden, dass es sich bei den unbekanntem Verbindungen in den Hilsmulde-Proben um Produkte mikrobiellen Abbaus handelt. Demnach ist die Zufuhr geothermischer Energie maßgeblich für die Freisetzung der unbekanntem Verbindungen verantwortlich.

Bemerkenswert ist schließlich der Nachweis der unbekanntem Verbindungen in der Probe Haddessen. Das organische Material dieser Probe wurde durch die Nähe zum Magma-Pluton so weit aufgeheizt, dass nahezu alle Biomarker abgebaut wurden. Exemplarisch lässt sich dies in Abb. 3-24 anhand des Ionenchromatogramms von *m/z* 372,4 \rightarrow 217,2 zeigen, das keine regulären Cholestane oder Diacholestane aufweist¹⁾. Die Intensitäten der unbekanntem Verbindungen (zumindest für C₂₇) sind demgegenüber als relativ hoch anzusehen. Demnach sind die unbekanntem Verbindungen thermodynamisch außerordentlich stabil. Die Verbindungen können somit möglicherweise zur Korrelation von Proben weit

¹⁾ Bei einer Kontrollmessung konnten Sterane und Diacholestane nachgewiesen werden. Die relativen Konzentrationen waren aber verglichen mit denen der unbekanntem Verbindungen sehr gering.

fortgeschrittener Reife verwendet werden, deren Charakterisierung auf der Basis anderer Parameter nicht mehr eindeutig möglich ist.

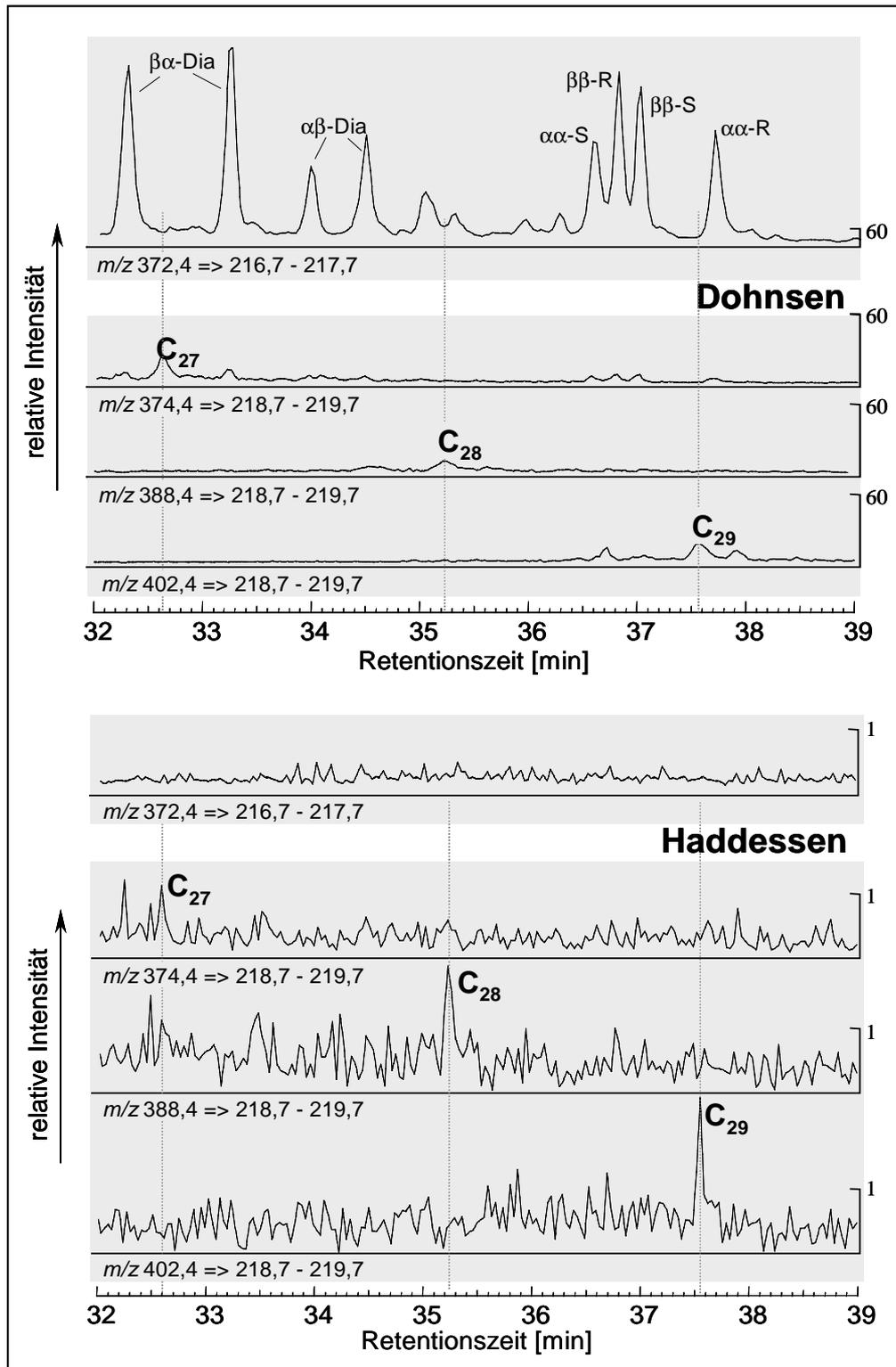


Abb. 3-24: Ausschnitte von GC-MSMS-Ionenchromatogrammen der Proben Dohnsen und Haddessen; C_{xx} = unbekannte Verbindung mit 27, 28 oder 29 Kohlenstoffatomen; $\alpha\beta$ -Dia = $13\alpha,17\beta$ -Diacholestan; $\beta\alpha$ -Dia = $13\beta,17\alpha$ -Diacholestan; $\alpha\alpha$ -S = $5\alpha,14\alpha,17\alpha,20S$ -Cholestan; $\alpha\alpha$ -R = $5\alpha,14\alpha,17\alpha,20R$ -Cholestan; $\beta\beta$ -S = $5\alpha,14\beta,17\beta,20S$ -Cholestan; $\beta\beta$ -R = $5\alpha,14\beta,17\beta,20R$ -Cholestan

3.3.3 Vorkommen in Asphaltene des Boscan-Öls

Im vorigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass die relativen Konzentrationen der unbekanntem Verbindungen proportional mit der Reife zunehmen. Es ist daher wahrscheinlich, dass die Verbindungen thermisch aus makromolekularen Verbindungen wie Kerogen oder Asphaltene freigesetzt werden. Um diese Annahme bestätigen zu können, wurden Asphaltene eines Boscan-Öls (Venezuela) pyrolysiert, extrahiert und die Extrakte massenspektrometrisch untersucht (vgl. Kapitel 2.5). Mittels Blindwertbestimmungen konnte ausgeschlossen werden, dass die Asphaltene vor der Pyrolyse noch Bitumen enthielten.

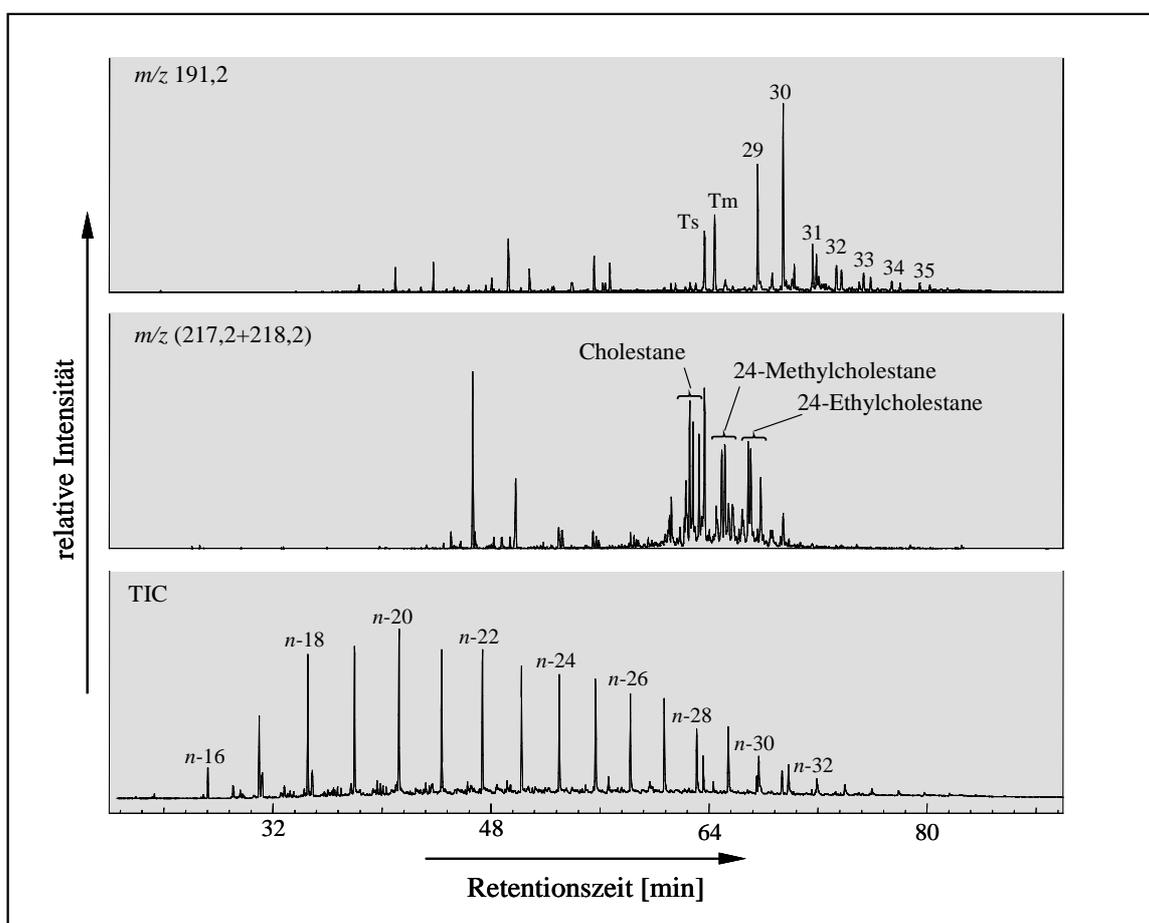


Abb. 3-25: Ionenchromatogramme von m/z 191,2 und m/z (217,2+218,2) und das Totalionenstromchromatogramm (TIC) der Aliphatenfraktion der pyrolysierten Boscan-Rohöl-Asphaltene. $T_s=22,29,30$ -trinorneo-18 α -Hopane; $T_m=22,29,30$ -trinor-17 α -Hopane; 29-35= Kohlenstoffzahlen der 17 α ,21 β -Hopane; n -XX= n -Alkane mit XX Kohlenstoffatomen

Wie aus dem Totalionenstromchromatogramm hervorgeht, besteht der Extrakt des Pyrolysats überwiegend aus n -Alkanen mit 15 bis 39 Kohlenstoff-Atomen. Das Maximum liegt bei n -Eicosan ($C_{20}H_{42}$). Die Verteilung ähnelt somit der der freien n -Alkane des Boscan Öls (vgl. Tabelle 3-5). Über die Ionenchromatogramme von m/z (217+218) und m/z 191 ließen sich u.a. Sterane und Hopane nachweisen. Die genannten Verbindungen weisen

Verteilungsmuster auf, die charakteristisch für fossiles organisches Material sind und somit den Erwartungen entsprechen. Die unbekanntes Verbindungen konnten aufgrund der geringen Konzentration der Messlösung mittels GC-MS nicht mit hinreichender Sicherheit nachgewiesen werden. Für eine eindeutige Detektion wurden daher GC-MSMS-Experimente mit dem Pyrolyse-Extrakt durchgeführt. Abb. 3-26 zeigt Parent ion-Chromatogramme des Pyrolysats (A) und der Aliphatenfraktion des Öls (B). Die Verteilungsmuster der regulären Sterane der beiden Proben weisen charakteristische Unterschiede auf. Neben der Dominanz von $5\alpha,14\alpha,17\alpha,20R$ -Cholestan im Pyrolysat sind die relativen Anteile der $5\alpha,14\beta,17\beta$ -Isomere (R+S) vergleichsweise gering. Diese Ergebnisse bestätigen, dass es sich bei den detektierten Verbindungen im Pyrolysat nicht um Kontaminationen mit der Aliphatenfraktion des Boscan-Öls, sondern um Produkte der thermischen Asphalt-Spaltung handelt, da das Verteilungsmuster anderenfalls mit dem des Öls übereinstimmen sollte. Weiterhin stimmen die relativen Verteilungen der unbekanntes Verbindungen mit keiner Verteilung in einer anderen aufgearbeiteten und analysierten Probe überein. Fehlinterpretationen der Verteilungen aufgrund technischer Probleme (vgl. Abschnitt 3.3.1) werden ausgeschlossen, da die Reproduzierbarkeit innerhalb eines Massenchromatogramms gegeben war. Überraschend ist der Nachweis der Diasterane aus den GC-MSMS-Daten des Pyrolysats, da diese diagenetisch gebildeten Verbindungen nach den Beobachtungen von Seifert (1978) nicht in das Kerogen eingebunden werden und somit auch nicht in Asphaltinen vorkommen sollen. Diese Ansicht muss möglicherweise nach den hier vorliegenden Ergebnissen revidiert werden. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass die Diasterane bei der MSSV-Pyrolyse in einem geschlossenen aus regulären Steranvorläufern gebildet wurden; Seifert verwendete demgegenüber ein Pyrolyseverfahren mit einem offenen System.

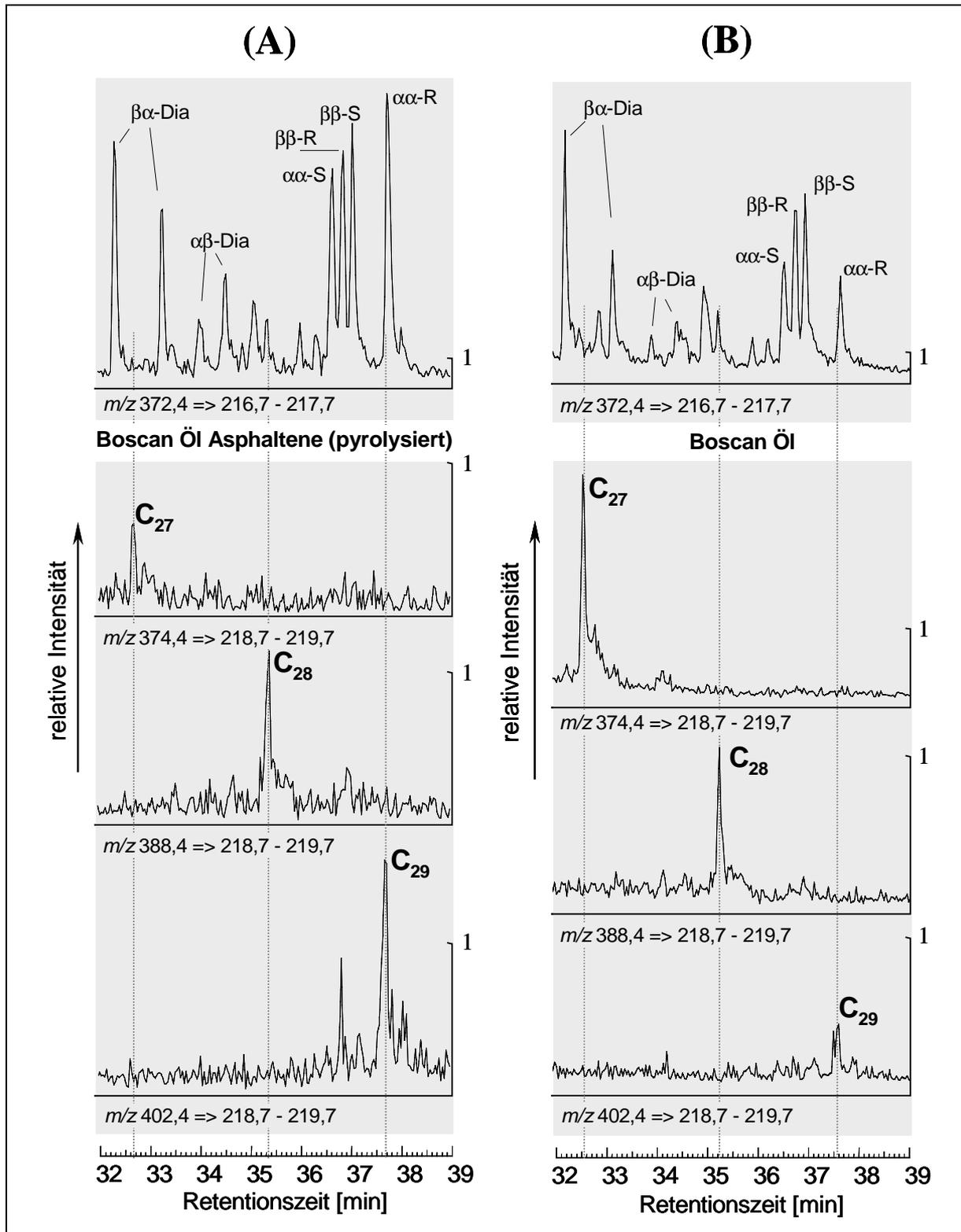


Abb. 3-26: Ionenchromatogrammausschnitte der pyrolysierten Asphaltene (A) und der Aliphatenfraktion (B) eines Boscan-Öls. $\alpha\beta$ -Dia und $\beta\alpha$ -Dia stehen für $13\alpha,17\beta$ - und $13\beta,17\alpha$ -Diacholestan; $\alpha\alpha$ -S= $5\alpha,14\alpha,17\alpha,20S$ -Cholestan; $\beta\beta$ -R= $5\alpha,14\beta,17\beta,20R$ -Cholestan, $\beta\beta$ -S= $5\alpha,14\beta,17\beta,20S$ -Cholestan, $\alpha\alpha$ -R= $5\alpha,14\alpha,17\alpha,20R$ -Cholestan

Wie aus den massenspektrometrischen Daten der Molekülonen hervorgeht, konnten die unbekanntes Verbindungen mit 27, 28 und 29 Kohlenstoffatomen zweifelsfrei nachgewiesen werden (vgl. Abb. 3-26). Bei dem Vergleich mit der Ölprobe fallen die nahezu gegensätzlichen relativen Konzentrationen der Homologen auf. Die Ergebnisse für das Pyrolysat deuten auf eine bevorzugte Freisetzung der C₂₉-Verbindung hin. Dies steht im Gegensatz zu den bereits beschriebenen Beobachtungen, dass die C₂₉-Verbindung in den meisten der untersuchten Proben in geringen relativen Konzentrationen vorliegt. Umgekehrt sind die relativen Konzentrationen der C₂₇-Verbindung im Pyrolysat deutlich geringer als im Öl. Der Unterschied könnte in der Versuchsdurchführung der Pyrolyse begründet liegen. Aufgrund der Annahme, dass es sich aber um eine homologe Reihe strukturell sehr ähnlicher Verbindungen handelt, die ein vergleichbares physikalisch-chemisches Verhalten zeigen sollten, wird diese Möglichkeit als unwahrscheinlich verworfen. Technische Probleme des Messsystems können zwar nicht gänzlich ausgeschlossen werden, erscheinen aber wegen des bemerkenswert großen Unterschieds der Verteilungsmuster von Pyrolysat und Öl ebenfalls als unwahrscheinlich. Eine befriedigende Erklärung konnte nicht gefunden werden.

Abschließend sei erwähnt, dass aus den Untersuchungen nicht hervorgeht, ob die Verbindungen in der gleichen molekularen Struktur in den Asphaltenen gebunden vorliegen wie die freien Moleküle oder ob sie erst während der thermischen Zersetzung gebildet werden.

3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

3.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse zu Strukturvorschlägen und Synthesen

Massenspektrometrischen Daten zu Folge handelt es sich bei der Serie unbekannter Verbindungen um tricyclische Steroidkohlenwasserstoffe. Überlegungen zu möglichen Vorläuferverbindungen einschließlich wurden Strukturvorschläge hergeleitet und entsprechende Synthesewege entwickelt. Für 4,5-*seco*-Cholestan konnte die Anzahl von sechs auf vier Stufen reduziert werden (vgl. Ma et al., 1991). In Einklang mit den Ergebnissen von Ma et al. (1991) stimmen weder die massenspektrometrischen Daten noch die Retentionszeit des Standards mit denen der natürlichen Verbindung überein.

Es wurde daraufhin eine fünfstufige Synthese für das bislang nicht beschriebene 1,10-*seco*-Cholestan entwickelt und erfolgreich umgesetzt. Anhand eines Vergleichs der relativen Verhältnisse von Edukten und Produkten konnten die Konfigurationen bestimmter stereogener

Zentren einiger Zwischenstufen ermittelt werden. Die massenspektrometrischen Daten der vier Produktisomere und der unbekanntes Verbindung stimmen sehr gut überein, während die Retentionszeiten voneinander abweichen.

Daraufhin wurde ein Allisomeren-Gemisch von 1,10-*seco*-Cholestan hergestellt. Das Isomerisat von 1,10-*seco*-Cholestan ähnelte dem von 5 α -Cholestan, was die Anzahl der gebildeten Isomere, die relativen Konzentrationen und die Unterschiede im Fragmentierungsverhalten betrifft. Die Bildung der Basispeaks bei m/z 219 oder bei m/z 220 geht vermutlich auf eine D-Ring-Spaltung zurück, wie sie von den regulären Steranen bekannt ist. In Analogie zu den regulären Steranen wurde den Verbindungen eine 14 α - bzw. 14 β -Konfiguration zugeordnet. Ein Vergleich der Retentionszeiten der synthetisierten Isomere und der natürlichen Verbindung machte schließlich deutlich, dass es sich dabei nicht um ein Isomer von 1,10-*seco*-Cholestan handelt.

Schließlich wurde eine Synthese für 1,10-*seco*-Diacholestan entworfen. Die massenspektrometrischen Daten des Produkts legen den Schluss nahe, dass nicht 1,10-*seco*-Diacholestan, sondern 14-Methyl-18-*nor*-1,10-*seco*-Cholestan gebildet wurde. Vergleichbar mit natürlichen Diasteranen zeichnet sich das Syntheseprodukt durch eine deutliche Abspaltung eines Seitenkettenfragments aus.

Die Auswertung der analytischen Daten der einzelnen Syntheseprodukte führt zu der Annahme, dass es sich bei den unbekanntes Verbindungen um 5-Methyl-19-*nor*-4,5-*seco*-Sterane handelt.

In den Aromatenfraktionen der Proben, in denen auch die unbekanntes aliphatischen Verbindungen detektiert wurden, konnten einige unbekanntes mono- und diaromatische Verbindungen nachgewiesen werden. Aufgrund der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Daten wird angenommen, dass es sich dabei um aromatische *seco*-Steroidkohlenwasserstoffe mit einer Methylgruppe an Position C-5 handelt. Der Nachweis dieser Verbindungen stützt die These zur Struktur der unbekanntes Verbindungen.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte die Synthese von 5-Methyl-19-*nor*-4,5-*seco*-Cholestan jedoch nicht. Die Richtigkeit des Strukturvorschlags muß zukünftig überprüft werden.

3.4.2 Zusammenfassung der Ergebnisse zum Vorkommen der unbekannt Verbindungen

Die unbekannt Verbindungen konnten mittels GC-MSMS-Analysen in allen untersuchten Proben nachgewiesen werden. Anhand der Ergebnisse können bislang unveröffentlichte Ergebnisse bestätigt werden, dass es sich um ubiquitär vorkommende Verbindungen handelt. Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen der Verbindungen und der Herkunft des organischen Materials wurden nicht festgestellt. Aufgrund des Nachweises der Verbindungen in zahlreichen Proben, die keinerlei Anzeichen von Biodegradation aufweisen, wird ausgeschlossen, dass es sich um Produkte mikrobiellen Abbaus bzw. mikrobieller Transformation handelt. Aus den Ergebnissen der Analyse einer Probenserie gleicher Herkunft und unterschiedlicher Reife sowie eines Pyrolysats von Asphaltene (Boscan-Rohöl) resultiert, dass die unbekannt Verbindungen überwiegend während der Katagenese aus makromolekularen Verbindungen wie den Asphaltene freigesetzt werden. Dies geschieht in einem Stadium, in dem sich die Stereoisomere der regulären Sterane mit 20S- und 20R- bzw. mit 5 α ,14 β ,17 β - und 5 α ,14 α ,17 α -Konfiguration im oder nahe dem thermodynamischen Gleichgewichtszustand befinden. Auf der Basis der durchgeführten Untersuchungen lässt sich keine Aussage darüber treffen, ob die Verbindungen in der gleichen molekularen Struktur in den Asphaltene gebunden vorliegen wie die freigesetzten Moleküle. Der Nachweis der unbekannt Verbindungen in biodegradierten Proben einerseits und der sehr reifen Probe aus der Bohrung Haddesen (Hilsmulde) andererseits zeugt von einer ausgeprägten Resistenz gegenüber mikrobiellem und thermischem Abbau. Möglicherweise sind die in dieser Arbeit entwickelten Parameter U/REG und U/DIA geeignet, Unterschiede in der Reife solcher Proben gleicher Fazies aufzuzeigen, bei denen sich die Steranisomere bereits im thermodynamischen Gleichgewicht befinden. Anhand weiterer Untersuchungen muss die Validität der Parameter überprüft werden.

Allgemein ist zu den Synthesen anzumerken, dass die Identifizierung der Zwischenprodukte in der Regel mittels GC-MS erfolgte. Bei der Entwicklung der jeweiligen Syntheseschritte wurde auf eine Reindarstellung der Produkte verzichtet, wenn die analytischen Ergebnisse hinreichend eindeutig ausfielen.

4.1 Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan

4.1.1 Synthese von 5-oxo-4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-3-säure (2)

In Anlehnung an die Vorschrift von Edward et al. (1961) wurden folgende Lösungen angesetzt:

- 1,01 g (2,616 mmol) Cholest-4-en-3-on in 52 mL tert.-Butanol
- 0,487 g (3,46 mmol) Kaliumkarbonat (K_2CO_3) in 13 mL dest. H_2O
- 3,48 g (16,3 mmol) Natriummetaperiodat ($NaIO_4$) in 43 mL dest. H_2O
- 0,07 g (0,436 mmol) Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) in 9 mL dest. H_2O

Die blassgelbe Cholest-4-en-3-on-Lösung wurde in einem 250 mL-Zweihalskolben vorgelegt, der mit zwei Tropftrichtern bestückt war. Unter starkem Rühren wurden nacheinander die Kaliumkarbonat- und 8 mL der Natriumperiodat-Lösung zugegeben. Es bildete sich eine leichte Trübung, und die Gelbfärbung verschwand. Die Zugabe von 1 mL der Kaliumpermanganat-Lösung bewirkte zunächst eine intensive Pinkfärbung, die im Verlauf der Reaktion in Braun umschlug. Die verbliebene Natriumperiodat-Lösung wurde mit etwa 2 mL/min zugegeben. Der Zufluss von Kaliumpermanganat wurde so eingestellt, dass eine Pink-Färbung der Lösung erhalten blieb. Nach zwei Stunden wurde überschüssiges Permanganat mit wässriger Natriumhydrogensulfit-Lösung zerstört. Die Suspension wurde über einen Papierfilter gegeben. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck volumenreduziert, mit eiskalter 50prozentiger Schwefelsäure angesäuert und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt. Reste des in der Lösung befindlichen Iods wurden mit wässriger Natriumhydrogensulfit-Lösung zerstört. Die organische Phase wurde anschließend mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet.

Ausbeute: 83mg (76%)

$C_{26}H_{44}O_3$, 404,64 g/mol

MS (als TMS):

476 (M^+ , 5), 461 (27), 458 (13), 371 (23), **332 (100)**, 317 (12), 313 (12), 303 (9), 299 (5), 73 (27)

4.1.2 Synthese von 4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-3-säure (3)

96 mg (0,25 mmol) 4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-5-on-3-säure wurden in einem 10 mL-Rundkolben in wenig Ethanol gelöst. Es wurden 200 μ L (4 mmol) einer wässrigen 85%igen Hydrazinhydrat-Lösung und 90 mg (1,6 mmol) pulverisiertes Kaliumhydroxid zugefügt. Die Suspension wurde in wenigen Millilitern Triethylenglycol aufgenommen und bei einer Sandbadtemperatur von 110°C unter Rückfluss für zwei Stunden gekocht. Nach Abdestillieren von Hydrazin und Wasser über einen Liebigkühler wurde die Reaktionstemperatur für weitere vier Stunden auf 200°C gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit konzentrierter Salzsäure angesäuert. Das Gemisch wurde mehrfach mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit verdünnter Salzsäure gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Entfernen des Lösemittels im Vakuum ergab ein leicht orange gefärbtes Gel.

Milewich und Axelrod (1979) beschreiben für eine ähnliche Verbindung einen Reinigungsschritt, wonach das Produkt mit NaOH zunächst in die wässrige Phase und durch Ansäuern anschließend wieder in die organische Phase überführt wird. Auf diesen Schritt wurde nach Vorversuchen wegen zu großer Verluste bei geringer Effizienz verzichtet.

Methylester

Um eine säulenchromatographische Trennung von Produkt und Edukt zu ermöglichen, wurden die Säuren zu Methylestern umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mit 2 mL Bortrifluorid in MeOH (ca. 50%) versetzt, worauf ein gelb-brauner Niederschlag ausfiel. Beim Erhitzen des Reaktionsgemisches für 1,5 Stunden im Wasserbad färbte sich die Lösung dunkelbraun. Nach Zugabe von Wasser wurde mehrfach mit *n*-Hexan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum volumenreduziert. Die Elution von 4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-3-säuremethylester erfolgte über eine Kieselgelsäule (10 g) mit *n*-Hexan/Dichlormethan (1:1). 5-Oxo-4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-3-säuremethylester wurde mit Methanol in Dichlormethan (10%) zurückgewonnen.

MS: 418 (M^+ , 6), 403 (17), 400 (18), 387 (7), 371 (10), **332 (100)**, 331 (63)

$C_{27}H_{46}O_3$, 418,67 g/mol

Hydrolyse

4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-3-säuremethylester wurde in einem Zentrifugenglas in 5 mL einer 1-molaren methanolischen KOH-Lösung gelöst und unter Stickstoffatmosphäre unter Rückfluss hydrolysiert. Die Lösung wurde nach 24 Stunden auf Raumtemperatur abgekühlt. Zur Vermeidung erneuter Esterbildung wurde mit 2 N HCl ein pH-Wert von etwas unter sieben eingestellt. Der aufschwimmende flockige weiße Niederschlag löste sich bei der Zugabe von Dichlormethan. Nach dreifacher Extraktion mit Dichlormethan wurden die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Es resultierten 17,4 mg (0,047 mmol) farblose Kristalle.

Ausbeute: 17,4 mg (0,047 mmol, 19%)

$C_{26}H_{46}O_2$, 390,66 g/mol

MS: 462 (M^+ , 6), 447 (10), 317 (42), 145 (100)

4.1.3 Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan-3-on (4)

In Anlehnung an die Vorschrift von Rubottom und Kim (1983) wurden in einem 25 mL-Spitzkolben 7,4 mg (0,02 mmol) 4,5-*seco*-4-*nor*-cholestan-3-säure in 2 mL getrocknetem THF unter Stickstoffatmosphäre auf 0°C gekühlt. Zu der Lösung wurden ein großer Überschuss von Methyllithium (ca. 500 µL einer 1,6 molaren Lösung) und weitere 3 mL THF gegeben. Die Lösung wurde zwei Stunden bei 0°C im Eisbad gerührt. Nach Zugabe eines Überschusses von frisch destilliertem Trimethylsilan (500 µL) wurde das Eisbad entfernt. Bei Erreichen der Raumtemperatur wurde 1 mL 1-normaler HCl zugefügt. Die Lösung wurde nach 30 Minuten dreimal mit *n*-Hexan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Zur Reinigung wurde die volumenreduzierte Lösung über eine mit 1 g Kieselgel befüllte Pasteurpipette gegeben. Ausgehend von *n*-Hexan wurde 4,5-*seco*-Cholestan-3-on mit zunehmendem Gehalt an Dichlormethan eluiert. Neben einer Mischfraktion wurde eine Fraktion mit >95% relativem Anteil (GC-Analyse) des gewünschten Produkts erhalten, die für die weitere Synthese verwendet wurde.

Ausbeute: 2,2 mg (5,7 µmol, 30%)

$C_{27}H_{48}O$, 388,68 g/mol

MS: 388 (M^+ , 7%), 370 (19), 355 (8), **317 (100)**, 215 (23), 177 (27), 163 (25), 95 (28)

4.1.4 Synthese von 4,5-*seco*-Cholestan-3-ethylthiokeetal und 4,5-*seco*-Cholestan (5)

Gemäß der Vorschrift von Hatch et al. (1978) wurden 2 mg (5,2 µmol) 4,5-*seco*-Cholestan-3-on in wenig Dichlormethan gelöst und mit einem Tropfen Eisessig versetzt. Nach Zugabe von 10 µL (120 µmol) 1,2-Ethylendithiol und 0,5 mL Bortrifluorid in Methanol (ca. 50%) bildete sich eine milchige Trübung. Die Lösung wurde im Wasserbad einige Minuten erwärmt. Nach Zugabe von etwas Eisessig wurde die Lösung über einen Papierfilter filtriert und der Filter mit wenig eiskaltem Methanol gewaschen. Aufgrund der geringen Probemenge wurde das Produkt 4,5-*seco*-Cholestan-3-ethylthiokeetal mit Dichlormethan vom Filter gewaschen. Die Lösung wurde in ein 2 mL-Präparatgläschen überführt. Dichlormethan wurde im Stickstoffstrom entfernt und durch 1 mL Isopropanol ersetzt. Zu der Lösung wurde eine Spatelspitze zuvor gewaschenen und getrockneten Raney Nickels gegeben. Das Gemisch wurde im Ultraschallbad dispergiert und anschließend im Wasserbad einige Minuten erwärmt. Die Reaktionslösung wurde 60 Stunden bei Raumtemperatur ruhen gelassen. Das Lösemittel wurde im Stickstoffstrom entfernt und durch *n*-Hexan ersetzt. Die Lösung wurde über eine mit 1 g Kieselgel befüllte Pasteurpipette mit *n*-Hexan filtriert. Aufgrund der geringen Mengen wurde die Ausbeute nicht bestimmt. Das Totalionenstromchromatogramm der GC-MS-Analyse zeigt drei Produktpeaks mit ähnlichen Massenspektren.

$C_{27}H_{50}$, 374,70 g/mol

Isomer 1 (4%) MS: 374 (M^+ , 1), **317 (100)**, 219 (3), 191 (17), 95 (39)

Isomer 2 (85%) MS: 374 (M^+ , 12), **317 (100)**, 220 (15), 95 (32)

Isomer 3 (11%) MS: 374 (M^+ , 1), 317 (53), 221 (8), 191 (46), 109 (98), **89 (100)**

4.1.5 Synthese von Cholest-4-en (6)

Um den prozentualen Anteil der Nebenprodukte Cholest-3-en und Cholest-5-en zu minimieren, wurde die Reduktion des Edukts Cholest-4-en-3-on parallel auf zwei Wegen durchgeführt.

Reduktion des Ethylthioketals

Nach einer Vorschrift von Hatch et al. (1978) wurde in einem Becherglas 1 g (2,6 mmol) Cholest-4-en-3-on in 5 mL Essigsäure gelöst und bei 25°C mit 0,5 mL (6 mmol) Ethylendithiol und 0,5 mL Bortrifluorid-Methanolat umgesetzt. In ein bis zwei Minuten

entstand eine gelartige steife Paste. Nach 15 Minuten wurde das Produkt über einen Papierfilter mit eiskaltem Methanol gewaschen. Die Umkristallisation erfolgte aus Aceton/Methanol.

Ausbeute: quantitativ

$C_{29}H_{48}S_2$, 460,83 g/mol

MS: 460 (76), 432 (31), 400 (83), 367 (26), 287 (14), 144 (75), **105 (100)**

1 g (2,2 mmol) Ethylthioketal wurden daraufhin in 20 mL Ethanol gelöst, mit einer Spatelspitze Raney-Nickel versetzt und 8 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Über einen Papierfilter wurde vom Feststoff abgetrennt und Ethanol im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde in wenig *n*-Hexan aufgenommen und über Kieselgel mit *n*-Hexan eluiert. Den gaschromatographisch-massenspektrometrischen Daten nach handelte es sich um ein Produktgemisch der Isomeren Δ^2 - und Δ^4 -Cholesten. Das Gemisch wurde über Kieselgel getrennt, das mit 5% $AgNO_3$ imprägniert war.

Ausbeute (Δ^4 -Cholesten): 78% (1,72 mmol, 0,64 g)

$C_{27}H_{46}$, 370,67 g/mol

MS (Δ^4 -Cholesten) : 370 (88), 355 (41), 257 (41), 215 (62), 147 (61), **108 (100)**

Wolff-Kishner Reduktion

In einen 100 mL-Zweihalskolben wurden 1,923 g (5 mmol) Cholest-4-en-3-on und 0,8 g (20 mmol) NaOH eingewogen, mit 1 mL Hydrazinhydrat (80%) und 5 mL Triethylenglycol versetzt und unter Rückfluss erhitzt. Anfänglich ungelöste Bestandteile lösten sich auf. Die leicht getrübe Lösung besaß eine gelbliche Färbung, die im Laufe der Reaktion verschwand. Nach zwei Stunden wurde der Rückflusskühler gegen einen Liebigkühler ausgetauscht. Eine Kondensation von Wasser konnte nicht beobachtet werden. Die Lösung wurde 2,5 Stunden bei 200°C gekocht.

Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit Wasser verdünnt und dreimal mit je 50 mL *n*-Hexan extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die gelbliche Lösung wurde volumenreduziert und über eine Kieselgelsäule mit *n*-Hexan gereinigt. Es resultierte ein farbloses Öl. Die GC-MS-Analyse ergab, dass es sich um ein Produktgemisch aus Cholest-3-en, Cholest-4-en und Cholest-5-en mit einer relativen Zusammensetzung von 2:1:1 handelte.

Ausbeute (Isomerengemisch): 1,75 g (4,75 mmol, 95%)

Ausbeute (Δ^4 -Cholesten): 47%

$C_{27}H_{46}$, 370,67 g/mol

MS (Δ^3 -Cholesten / Δ^5 -Cholesten): 370 (70), 355 (37), 257 (31), **215 (100)**, 147 (45), 108 (48)

MS (Δ^4 -Cholesten): 370 (64), 355 (32), 257 (31), 215 (56), 147 (59), **108 (100)**

4.1.6 Synthese von 4,5-seco-Cholestan-4,5-diol (7)

Es wurde mit verschiedenen Oxidationsmitteln versucht, den A-Ring von Cholest-4-en zu öffnen. Die jeweiligen Vorschriften sind im Folgenden wiedergegeben.

RuO₂

In einem Rundkolben wurden 0,5 g (2,34 mmol) Natriumperodat mit 1 mL Tetrachlorkohlenstoff, 2 mL destilliertem Wasser und 1 mL Acetonitril miteinander vermengt und im Ultraschallbad suspendiert. Zu der Lösung wurden 5,5 mg (0,04 mmol) RuO₂ und 11 mg (0,03 mmol) Cholest-4-en gegeben. Die zweiphasige Suspension wurde 12 Stunden gerührt, mit Dichlormethan verdünnt und über einen Papierfilter filtriert. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit gesättigter Natriumkarbonat-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Aus der GC-MS-Analyse geht hervor, dass keine Oxidation erfolgte und nur Edukt vorlag.

KMnO₄

In einem weiteren Ansatz wurde bei gleicher Versuchsdurchführung RuO₂ (s.o.) durch 6,3 mg (0,04 mmol) KMnO₄ ersetzt. Eine Umsetzung des Edukts konnte auch hier nicht beobachtet werden.

Ozonolyse

Die Ozonolyse erfolgte mit einem Labor-Ozonisator 301 mit Wasserkühlung der Firma Sander Elektroapparatebau GmbH, Uetze-Elze.

100 mg (0,26 mmol) Cholest-4-en-3-on wurden in 1 mL Dichlormethan gelöst und in einen 20 mL-3-Hals-Kolben überführt, der mit einem Tropftrichter und einem Thermometer bestückt war. Die Lösung wurde mit einem Magnetrührer gerührt und mit einer Kältemischung auf -20°C abgekühlt. Über eine Pasteurpipette wurde das Ozon-Luft-Gemisch durch die Lösung geblasen. Nach wenigen Minuten verfärbte sich die Lösung charakteristisch blau, und der Ozonfluss wurde unterbrochen. Die farbige Lösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und langsam mit einer kalten Lösung von 80 mg Natriumborhydrid in

Ethanol/Wasser (1:1) versetzt. Die Temperatur stieg dabei nicht höher als 25°C. Die Lösung wurde weitere 12 Stunden gerührt und anschließend mit 10prozentiger Schwefelsäure angesäuert. Es folgte eine übliche Aufarbeitung. Das farblose Rohprodukt wurde im Hochvakuum 12 Stunden getrocknet. Die flüssigchromatographische Reinigung über Kieselgel lieferte 65 mg des farblosen kristallinen Produkt-Gemischs. Die Quantifizierung aus dem Gaschromatogramm der gereinigten polaren Fraktion zeigte, dass der verdampfbare Teil zu etwa 70% aus dem gewünschten Produkt bestand.

Ausbeute: 42% (45mg, 0,11 mmol).

$C_{27}H_{50}O_2$, 406,70 g/mol

IR (Rohprodukt): 3401 cm^{-1} (OH-Valenz), 2935 cm^{-1} , 2867 cm^{-1} (CH_2 -Valenz), 1468 cm^{-1} (Deformation CH_2), 1382 cm^{-1} , 1118 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 612 cm^{-1}

MS (TMS): 550 (M^+ , 1), 478 (14), 460 (18), 388 (16), 370 (35), 305 (100), 287 (45)

4.2 Synthese von 1,10-seco-Cholestan

4.2.1 Synthese von des-A-Cholestan-5-on (*Inhoffens Keton*) (8)

Natrium-5-oxo-4,5-seco-4-nor-Cholestan-3-carboxylat, $NaC_{26}H_{45}O_3$

In Anlehnung an die Vorschrift von Hartshorn und Jones (1962) wurden 300 mg (0,741 mmol) 5-oxo-4,5-seco-4-nor-Cholestan-3-säure in 8 mL Methanol gelöst, mit Phenolphthalein versetzt und mit methanolischer Natriumhydroxid-Lösung neutralisiert. Am Umschlagpunkt wurde ein Tropfen stark verdünnte Salzsäure hinzu gegeben. Das Lösungsmittel wurde verdampft und das erhaltene Salz bei 100°C im Vakuum getrocknet.

Natriumphenylacetat, $NaC_8H_7O_2$

Auf gleiche Weise wurden 2,5 g (18,36 mmol) Phenylelessigsäure zum Natriumsalz umgesetzt.

des-A-Cholestan-5-on

1 g (2,34 mmol) Natrium-5-oxo-4,5-seco-4-nor-Cholestan-3-carboxylat und 4 g (29 mmol) Natriumphenylacetat wurden homogenisiert, im Vakuum bei etwa 200°C getrocknet und in einen 50 mL-Rundkolben überführt. Der Rundkolben wurde über einen Umfüllbogen mit einem 50 mL-Zweihalskolben verbunden. Das Gemisch wurde im Hochvakuum ($1 \cdot 10^{-3}$ mbar) langsam erhitzt, während der Produktkolben mit flüssigem Stickstoff gekühlt wurde. Bei einer Sandbadtemperatur von 200°C bildete sich eine homogene, leicht bräunlich gefärbte

Schmelze. Die Sandbadtemperatur wurde bis auf 300°C erhöht. Die anfangs klare Schmelze trübte sich und verfärbte sich kurkuma-gelb. Am Überfüllbogen kondensierte ein farbloses Öl. In den Produktkolben wurde nichts überdestilliert. Die Reaktion wurde 3 Stunden bei 290°C gehalten. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Rohprodukt nach Umfüllbogen und Eduktkolben getrennt in *n*-Hexan gelöst.

Den massenspektrometrischen Daten zu Folge lag im Eduktkolben (an gaschromatographisch erfassbaren Verbindungen) ausschließlich des-A-Cholestan-5-on (Inhoffens Keton) als Isomerengemisch vor ($10\alpha/(10\beta+10\alpha)= 0,9$). Das Produkt aus dem Umfüllbogen bestand zu 25% aus Dibenzylketon, einem für diese Reaktion bekanntem Nebenprodukt. Aufgrund der verhältnismäßig schwierigen Trennung von Produkt und Nebenprodukt wurde für die weitere Synthese nur die Fraktion aus dem Eduktkolben verwendet. Das braungelbe Produkt wurde säulenchromatographisch gereinigt und ergab farblose Kristalle. Die Zuordnung der Isomere erfolgte über den Vergleich der massenspektrometrischen Daten und der relativen Intensitäten mit Literaturdaten (Wang und Li, 1999). Mittels präparativer Dünnschichtchromatographie wurden für die weiteren Synthesen Fraktionen mit unterschiedlichen relativen Gehalten des 10 α - und des 10 β -Epimeren erhalten.

Ausbeute: 0,28 g (0,84 mmol, 36%)

C₂₃H₄₀O, 332,57 g/mol

MS_{10 α} : 332 (22), 317 (1), 260 (7), **177 (100)**, 150 (19), 136 (28), 110 (13), 81 (35), 55 (65)

MS_{10 β} : 332 (89), 317 (5), 260 (15), **177 (100)**, 150 (28), 136 (34), 110 (53), 81 (44), 55 (81)

4.2.2 Synthese von 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol (9)

Die Durchführung orientiert sich maßgeblich an den Vorschriften von Buhler (1973). Ein 100 mL-Rundkolben wurde mit einer Eis-NaCl-Kältemischung auf -10°C gekühlt. Unter Schutzgas wurden 15 mL einer eiskalten *n*-Butyllithium-Lösung vorgelegt. 100 mg (0,3 mmol) des Isomerengemischs von des-A-Cholestan-5-on wurden in 10 mL *n*-Hexan gelöst und tropfenweise unter starkem Rühren zu der Butyllithium-Lösung gegeben. Nach der Zugabe wurde das Eisbad entfernt und weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit wässriger Kaliumkarbonat-Lösung gewaschen und anschließend dreimal mit *n*-Hexan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum lieferte 110 mg (0,28 mmol - 94%) eines viskosen Öls, das nach einiger Zeit bei 5°C farblose Kristalle

bildete. Den GC-MS-Daten zu Folge besteht das Produkt aus vier Isomeren von 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol mit einer Verteilung von 4:3:92:1. Es wurden Ansätze mit verschiedenen Isomerenverhältnissen des Edukts durchgeführt. Da sich die entsprechenden Verhältnisse sehr gut in dem Produktgemisch widerspiegelten, konnte auf dieser Basis eine teilweise Zuordnung der Konfigurationen erfolgen.

MS:

Isomer 1 (10 β -Me)

390 (M⁺, 9), 372 (31), 333 (88), 315 (64), 275 (28), 259 (23), 217 (16), 177 (24), 163 (27), **95 (100)**

Isomer 2 (10 α -Me)

390 (M⁺, 10), 372 (34), 333 (92), 315 (33), 275 (29), 259 (29), 217 (18), 177 (25), 163 (24), 95 (98), **55 (100)**

Isomer 3 (10 α -Me)

390 (M⁺, 2), 372 (12), **333 (100)**, 315 (68), 275 (13), 259 (13), 217 (7), 177 (11), 163 (13), 95 (25)

Isomer 4 (10 β -Me)

390 (M⁺, 11), 372 (24), **333 (100)**, 315 (73), 275 (56), 259 (31), 217 (47), 177 (42), 163 (57), 109 (69)

4.2.3 Synthese von 1,10-*seco*-Cholesten (10)

In einem 20 mL-Rundkolben, der mit einem Rückflusskühler versehen war, wurden 100 mg 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol in 2,5 mL Toluol gelöst. Anschließend wurde eine Spatelspitze Raney-Nickel zugegeben. Die Lösung wurde in einem Sandbad zwei Stunden bei 150°C unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde etwas *n*-Hexan zugegeben. Die Lösung wurde im Ultraschallbad wenige Minuten dispergiert und anschließend vom Raney-Nickel abpipettiert. Der Vorgang wurde dreimal wiederholt. Den vereinigten organischen Phasen wurde etwas Methanol zugefügt, um eine leichtere Abtrennung von Toluol als Azeotrop zu erreichen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Mit *n*-Hexan wurde das blassgelbe ölige Produkt über Kieselgel vom Edukt getrennt. Den GC-MS-Daten zufolge handelt es sich um mindestens 4 Isomere. Koelutionen von weiteren Isomeren können nicht ausgeschlossen werden.

Ausbeute (Isomerengemisch): quantitativ

MS:

Isomer 1 (13%): **372 (100)**, 357 (27), 315 (15), 259 (35), 217 (36), 163 (52)

Isomer 2 (48%): **372 (100)**, 357 (29), 315 (50), 259 (59), 217 (47), 163 (27)

Isomer 3 (29%): **372 (100)**, 357 (28), 315 (30), 259 (44), 217 (33), 163 (47)

Isomer 4 (10%): **372 (100)**, 357 (12), 315 (57), 259 (53), 217 (42), 163 (47)

4.2.4 Synthese von 1,10-*seco*-Cholestan (11)

10 mg 1,10-*seco*-Cholesten wurden in 1 mL Ethanol-Ethylacetat (1:1) aufgenommen und in eine verschmolzene Pasteurpipette gegeben. Zu der Lösung wurde eine kleine Spatelspitze Platindioxid (PtO₂) gegeben. Über eine zweite Pasteurpipette wurde Wasserstoff durch die Lösung geblasen, so dass sich das Platindioxid nicht absetzte. Nach einer Stunde bildete das Platindioxid Flocken und wurde daher manuell wiederholt zerstoßen. Die Reaktion wurde nach drei Stunden abgebrochen. Ein Aliquot wurde gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. Das Produkt besteht aus vier Isomeren. Aufgrund der geringen Probenmenge wurde die Ausbeute ausschließlich anhand der Molekülionen bzw. Basispeaks berechnet. Aus diesen Rechnungen ergaben sich 78% (m/z 374/(372+374)) bzw. 83% (m/z 219/(217+219)) Ausbeute.

MS: Isomer 1 (11%): 374 (13), 317 (1), **219 (100)**, 205 (15), 177 (24), 163 (17), 57 (53)

Isomer 2 (43%): 374 (39), 317 (4), **219 (100)**, 205 (20), 177 (30), 163 (33), 57 (52)

Isomer 3 (46%): 374 (19), 317 (1), **219 (100)**, 205 (8), 177 (14), 163 (14), 57 (19)

Isomer 4 (<1%): 374 (20), 317 (1), **219 (100)**, 205 (14), 177 (26), 163 (32), 57 (19)

4.2.5 Synthese von 1,10-*seco*-Diacholest-13(17)-en (12)

In Anlehnung an die Vorschrift 4.2.3 wurde in einem Zentrifugenglas eine Lösung aus ca. 1 mg 1,10-*seco*-Cholestan-5-ol in 1 mL Toluol und einigen Tropfen Eisessig angesetzt. Zu der Lösung wurde eine Spatelspitze Raney-Nickel gegeben, das zuvor mit verdünnter Salzsäure bis zur Wasserstoffbildung versetzt und anschließend mit Wasser, Aceton, Dichlormethan und *n*-Hexan gespült worden war. Die Lösung wurde im Sandbad drei Stunden erhitzt. Ein Aliquot der Lösung wurde gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. Das Produktgemisch enthielt erwartungsgemäß 1,10-*seco*-Cholesten. Daneben wurde auch eine Serie von Verbindungen detektiert, deren massenspektrometrischen Daten auf Isomere von 1,10-*seco*-Diacholest-13(17)-en schließen lassen. Es dominieren drei Isomere mit nahezu identischen Massenspektren. Zur Isolierung der 1,10-*seco*-Diacholest-13(17)-ene wurde das Produktgemisch gemäß Vorschrift 4.2.4 hydriert (selektive Hydrierung von 1,10-*seco*-Cholesten zu 1,10-*seco*-Cholestan) und über mit AgNO₃ imprägniertem Kieselgel getrennt. Die Ausbeute wurde aufgrund geringer Substanzmengen nicht bestimmt.

C₂₇H₅₀, 374,70 g/mol

MS (Isomere 1 bis 3): 372 (7), 357 (21), 315 (<1), 287 (3), **259 (100)**

4.2.6 Synthese von 1,10-*seco*-Diacholestan (13)

1 mg des Isomerengemisches von 1,10-*seco*-Diacholest-13(17)-en wurde in einem Zentrifugenglas in einem 50fachen molaren Überschuss von Triethylsilan und Trifluoressigsäure gelöst. Bei Raumtemperatur wurde 100 Stunden gerührt.

Die gaschromatographisch-massenspektrometrische Auswertung ergab, dass nur noch Spuren des Edukts vorhanden waren und sich das Produkt aus mindestens 7 Verbindungen unterschiedlicher relativer Konzentrationen zusammensetzte. Die Massenspektren der Isomere sind sehr ähnlich und stehen mit einer 1,10-*seco*-Diacholestan-Struktur in Einklang. Die Bestimmung der relativen Konzentrationen erfolgte anhand des Totalionenstromchromatogramms. Es dominieren die drei Isomere 1, 3 und 5 mit zusammen 87%.

Ausbeute: >95%

MS:

Isomer 1 (25%): 374 (87), 359 (5), 318 (2), 289 (10), 261 (45), 219 (64), **191 (100)**, 95 (96)

Isomer 2 (4%): 374 (60), 359 (<1), 317 (<1), 289 (2), 261 (33), 219 (37), 191 (76), **95 (100)**

Isomer 3 (45%): 374 (62), 359 (5), 318 (1), 289 (9), 261 (42), 219 (49), 191 (88), **95 (100)**

Isomer 4 (2%): 374 (84), 359 (2), 261 (35), 219 (84), 191 (86), **95 (100)**

Isomer 5 (17%): 374 (61), 359 (15), 289 (1), 261 (28), 219 (65), **191 (100)**, 95 (92)

Isomer 6 (5%): 374 (71), 359 (15), 261 (16), 219 (62), **191 (100)**, 95 (84)

Isomer 7 (2%): 374 (39), 359 (1), 261 (58), **219 (100)**, 191 (20), 95 (60)

4.3 Synthese von Allisomerengemischen

4.3.1 5 α -Cholestan

In einem 4 mL-GC-Gläschen wurden 50 mg (0,134 mmol) 5 α -Cholestan in wenig *n*-Heptan gelöst und mit einer Spatelspitze platinierter Kohle (5%) vermengt. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde das Gläschen in einen Autoklaven (18 mL) gegeben und mit Stickstoff gespült. Der Autoklav wurde mit einer Heizmanschette und einem Temperaturfühler versehen. Innerhalb einer Stunde wurde der Autoklav bei etwa 40 bar Wasserstoffdruck langsam auf 300°C gebracht. Abschließend wurde der Druck auf 50 bar Enddruck erhöht. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden. Technisch bedingt fiel der Druck während des Reaktionsverlaufs auf 30 bar ab. Die Reaktionstemperatur blieb bei konstant 300°C. Der Autoklav wurde nach Erreichen von 50°C langsam entspannt. Am Boden des

Glases befand sich ausschließlich der Katalysator. Das farblose viskose Reaktionsprodukt befand sich überwiegend am Verschluss-Konus des Autoklaven. Das Ionenchromatogramm eines analysierten Aliquots setzte sich aus mindestens 12 Isomeren zusammen (siehe Kapitel 3.2.5 und Anhang 6.2).

4.3.2 1,10-*seco*-Cholestan

Für die Durchführung der Isomerisierung von 1,10-*seco*-Cholestan wurde ein Quarzglas als Reaktionsgefäß in den Autoklaven eingepasst. Der Autoklav wurde bei einem Wasserstoffdruck von 43 bar auf 270°C geheizt. Der Druck wurde auf 50 bar erhöht und 17 Stunden konstant gehalten. Die Temperatur wurde auf 300°C erhöht und bei einem Wasserstoffdruck von 52 bar 26 Stunden konstant gehalten. Der Abkühlungsprozess dauerte 4,5 Stunden, woraufhin der Autoklav vorsichtig entspannt wurde. Wieder befand sich der Katalysator am Boden des Reaktionsgefäßes, während sich das Produkt am Verschluss-Konus befand. Anhand der gaschromatographisch-massenspektrometrischen Daten konnten mindestens 18 Isomere zugeordnet werden (siehe Kapitel 3.2.5 und Anhang 6.3).

5 Literaturverzeichnis

- Boon, J.J., Rijpstra, W.I.C., de Lange, F., de Leeuw, J.W., Yoshioka, M., Shimizu, Y., 1979. Black Sea sterol. A molecular fossil for dinoflagellate blooms. *Nature (London)* 277, 125-127.
- Brassell, S.C., Comet, P.A., Eglinton, G., Isaacson, P.J., McEvoy, J., Maxwell, J.R., Thomson, I.D., Tibbetts, P.J.C., 1980. The origin and fate of lipids in the Japan Trench. In: A.G. Douglas, J.R. Maxwell (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1979*. Pergamon Press, Oxford, 375-392.
- Brassell, S.C., 1985. Molecular changes in sediment lipids as indicators of systematic early diagenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society London* 315, 57-75.
- Budzikiewicz, H., 1972. Steroids. In: Waller (Ed.), *Biochemical Applications of Mass Spectrometry*. John Wiley & Sons, New York, 251-289
- Buhler, J.D., 1973. Reaction of lithiumalkyls with aldehydes and ketones. A general study. *Journal of Organic Chemistry* 38, 904-906.
- Chappe, B., Albrecht, P., Michaelis, W., 1982. Polar lipid archaeobacteria in sediments and petroleum. *Science* 217, 65-66.
- Clark, J.P., Philp, R.P., 1989. Geochemical characterization of evaporite and carbonate depositional environments and correlation of associated crude oils in the Black Creek Basin, Alberta. *Bulletin of the Canadian Society of Petroleum Geologists* 37, 401-416.
- Connan, J., Bouroullec, J., Dessort, D., Albrecht, P., 1986. The microbial input in carbonate-anhydrite facies of a Sabkha paleoenvironment from Guatemala: A molecular approach. In: D. Leythaeuser, J. Rullkötter (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1985*. Pergamon Press, Oxford, 29-50.
- Didyk, B.M., Simoneit, B.R.T., Brassell, S.C., Eglinton, G., 1978. Organic geochemical indicators of palaeoenvironmental conditions of sedimentation. *Nature* 272, 216-222.
- Edward, J.T., Holder, D., Lunn, W.H., Puskas, I., 1961. Oxidation of cholest-4-en-3-one with periodate-permanganate. *Canadian Journal of Chemistry* 39, 599-600.
- Ensminger, A., Albrecht, P., Ourisson, G., Tissot, B., 1977. Evolution of polycyclic alkanes under the effect of burial (Early Toarcian shales, Paris basin). In: R. Campos, J. Goñi (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1975*. ENADIMSA, Madrid, 45-52.
- Ensminger, A., Joly, G., Albrecht, P., 1978. Rearranged steranes in sediments and crude oils. *Tetrahedron Letters* 18, 1575-1578.
- Goossens, H., de Leeuw, J.W., Schenck, P.A., Brassell, S.C., 1984. Tocopherols as likely precursors of pristane in ancient sediments and crude oils. *Nature (London)* 312, 440-442.

- Groeger, A., Bruhn, R., 2001. Structure and geomorphology of the Duchesne graben, Uinta Basin, Utah, and its enhancement of a hydrocarbon reservoir. *Bulletin of the American Association of Petroleum Geologists* 85, 1661-1678.
- Güntner, U., 2000. Geochemische Signale in Tiefseesedimenten des südwestafrikanischen Kontinentalrands: Indikatoren für paläoklimatische und paläoozeanographische Bedingungen, 137. Dissertation, Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg.
- van Graas, G.W., Baas, J.M.A., van de Graaf, B., de Leeuw, J.W., 1982. Theoretical organic geochemistry I. The thermodynamic stability of several cholestane isomers calculated by molecular mechanics. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 46, 2399-2402.
- Hansen, G., 1975. Steinöl und Brunnenfeuer, Wintershall Aktiengesellschaft, Kassel.
- Hartshorn, M.P., Jones, E.R.H., 1962. Studies in the steroid series. Part LXXIV. Some tricyclic analogues of steroid sex hormones: The bromination of enol acetates. *The Journal of the Chemical Society*, 1312-1323.
- Hatch, R.P., Shringarpure, J., Weinreb, S.M., 1978. Studies on total synthesis of the olivomycins. *Journal of Organic Chemistry* 43, 4172-4177.
- ten Haven, H.L., de Leeuw, J.W., Rullkötter, J., Sinninghe Damsté, J.S., 1987. Restricted utility of the pristane/phytane ratio as a palaeoenvironmental indicator. *Nature* 330, 641-643.
- Henderson, W., Wollrab, V., Eglinton, G., 1969. Identification of steranes and triterpanes from a geological source by capillary gas-liquid chromatography and mass spectrometry. In: I. Havenaar, P.A. Schenck, I. (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1968*. Pergamon Press, Oxford, 181-207.
- Hölder, H., 1960. *Geologie und Paläontologie in Texten und ihrer Geschichte*, Springer, Berlin.
- Horsfield, B., Disko, U., Leistner, F., 1989. The micro-scale simulation of maturation: Outline of a new technique and its potential applications. *Geologische Rundschau* 78, 361-374.
- Isaacs, C.M., 2000. Depositional framework of the Monterey Formation, California. In: C.M. Isaacs, J. Rullkötter (Eds.), *The Monterey Formation: From Rocks to Molecules*. Columbia University Press, New York, 1-30.
- Isaacs, C.M., Rullkötter, J. (Eds.), 2000. *The Monterey Formation: From Rocks to Molecules*, Columbia University Press, New York.
- Jiang Zhusheng., Fowler, M.G., Lewis, C.A., Philp, R.P., 1990. Polycyclic alkanes in a biodegraded oil from the Kelamayi oilfield, northwestern China. *Organic Geochemistry* 15, 35-46.
- Killops, S.D., Killops, V.J., 1993. *An Introduction to Organic Geochemistry*, 1. Auflage, Longman Scientific & Technical, Harlow.

- King, L.L., Pease, T.K., Wakeham, S.G., 1998. Archaea in Black Sea water column particulate matter and sediments - evidence from ether lipid derivatives. *Organic Geochemistry* 28, 677-688.
- Kulke, H., 1995. *Regional Petroleum Geology of the World*, Gebrüder Bornträger, Berlin.
- Li, T.S., Li, Y.L., Liang, X.T., 1990. Synthesis of 5 α -(17R,20R)-14,15-*seco*-cholestane. *Chinese Chemical Letters* 1, 215-218.
- Li, T.S., Li, Y.L., Liang, X.T., 1991. Studies of the synthesis of biomarkers. X. Synthesis of 13,17-*seco*-diacholestanes. *Steroids* 57, 1-5.
- Littke, R., Baker, D., Leythaeuser, D., 1988. Microscopic and sedimentologic evidence for the generation and migration of hydrocarbons in Toarcian source rocks of different maturities. In: L. Mattavelli, L. Novelli (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1987*. Pergamon Press, Oxford, 549-559.
- Littke, R., Baker, D., Leythaeuser, D., Rullkötter, J., 1991. Keys to the depositional history of the Posidonia Shale (Toarcian) in the Hils Syncline, northern Germany. In: R. Tyson, T. Pearson (Eds.), *Modern and Ancient Continental Shelf Anoxia*. Geological Society Special Publication, Oxford, 311-333.
- Ma, J.G., Li, T.S., Li, Y.L., 1991. Synthesis of 4,5-*seco*-cholestane and 4-methyl-4,5-*seco*-cholestane. *Chinese Chemical Letters* 2, 521-522.
- Mackenzie, A.S., Patience, R.L., Maxwell, J.R., Vandenbroucke, M., Durand, B., 1980. Molecular parameters of maturation in the Toarcian shales, Paris Basin, France. I. Changes in the configurations of acyclic isoprenoid alkanes, steranes, and triterpanes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 1709-1721.
- Mackenzie, A., Beaumont, C., McKenzie, D., 1984. Estimation of the kinetics of geochemical reactions with geophysical models of sedimentary basins and applications. In: P.W. Schenck, J.W. de Leeuw, G.W.M. Lijmbach (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1983*. Pergamon Press, Oxford, 875-884.
- Mackenzie, A.S., 1984. Application of biological markers in petroleum geochemistry. In: J. Brooks, D.H. Welte (Eds.), *Advances in Petroleum Geochemistry 1983*. Academic Press, London, 115-214
- McKirby, D.M., Aldrige, A.K., Ypma, P.J.M., 1983. A geochemical comparison of some crude oils from Pre-Ordovician carbonate rocks. In: M. Bjorøy (Ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1981*. J.Wiley and Sons, Chichester, 99-107.
- Michael, G.E., 2000. Geochemical characterization of the Miocene Monterey Formation and oils in the Santa Barbara-Ventura and Santa Maria Basins. In: C.M. Isaacs, J. Rullkötter (Eds.), *The Monterey Formation: From Rocks to Molecules*. Columbia University Press, New York, 241-267.
- Milewich, L., Axelrod, L.R., 1979. 17 β -hydroxy-5-oxo-3,5-*seco*-4-norandrostane-3-carboxylic acid. *Organic Synthesis* 4, 690-691.

- Moldowan, J., Sundararaman, P., Schoell, M., 1986. Sensitivity of biomarker properties to depositional environment and/or source input in the Lower Toarcian of SW-Germany. *Organic Geochemistry* 10, 915-926.
- Nichols, P.D., Jones, G.J., de Leeuw, J.W., Johns, R.B., 1984. The fatty acids and sterol composition of two marine dinoflagellates. *Phytochemistry* 23, 1043-1047.
- Ourisson, G., Albrecht, P., Rohmer, M., 1979. The hopanoids: Palaeochemistry and biochemistry of a group of natural products. *Pure and Applied Chemistry* 51, 709-729.
- Ourisson, G., Rohmer, M., Poralla, K., 1987. Microbial lipids betrayed by their fossils. *Microbiological Sciences* 4, 52-57.
- Palacas, J.G., Anders, D.E., King, J.D., 1984. South Florida Basin - A Prime Example of Carbonate Source Rocks of Petroleum. American Association of Petroleum Geologists, Tulsa.
- Paulus, S., 1993. Biodégradations de stéranes pétroliers, 198. Dissertation, Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M., 1991. Effects of source, thermal maturity and biodegradation on the distribution and isomerization of homohopanes in petroleum. *Organic Geochemistry* 17, 47-61.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M., 1993. *The Biomarker Guide: Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs.
- Petrov, A.A., Pustil'nikova, S.D., Abryutina, N.N., Kagramanova, G.R., 1976. Petroleum steranes and triterpanes. *Neftekhimiya* 16, 411-427.
- Radke, M., Willsch, H., Welte, D.H., 1980. Preparative hydrocarbon group type determination by automated medium pressure liquid chromatography. *Analytical Chemistry* 52, 406-411.
- Robinson, N., Eglinton, G., Brassell, S.C., Cranwell, P.A., 1984. Dinoflagellate origin for sedimentary 4 α -methylsteroids and 5 α (H)-stanols. *Nature (London)* 308, 439-442.
- Rubinstein, I., Sieskind, O., Albrecht, P., 1975. Rearranged sterenes in a shale: Occurrence and simulated formation. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions I*, 1833-1836.
- Ruble, T.E., Lewan, M.D., Philp, R.P., 2001. New insights on the Green River petroleum system in the Uinta basin from hydrous pyrolysis experiments. *Bulletin of the American Association of Petroleum Geologists* 85, 1333-1371.
- Rubottom, G.M., Kim, C.-W., 1983. Preparation of methyl ketones by sequential treatment of carboxylic acids with methyl lithium and chlorotrimethylsilane. *Journal of Organic Chemistry* 48, 1550-1552.
- Rullkötter, J., Marzi, R., 1988. Natural and artificial maturation of biological markers in a Toarcian shale from northern Germany. *Organic Geochemistry* 13, 639-645.

- Rullkötter, J., Leythaeuser, D., Horsfield, B., Littke, R., Mann, U., Müller, P., Radke, M., Schaefer, R., Schenk, H., Schwochau, K., Witte, E., Welte, D., 1988. Organic matter maturation under the influence of a deep intrusive heat source: A natural experiment for quantitation of hydrocarbon generation and expulsion from a petroleum source rock (Toarcian shale, northern Germany). In: L. Mattavelli, L. Novelli (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1987*. Pergamon Press, Oxford, 847-856.
- Safi, N.M.D., Köster, J., Rullkötter, J., 2001. Fossil fuel pollution in Wadi Gaza and biodegradation of petroleum model compounds by cyanobacterial mats. In: J. Mascle, A. Lascaratos, S. Fowler, D. Gutnick, C. Papaconstantinou, F. Boero (Eds.), *36ème Congrès de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*. CIESM, Monte Carlo, Monaco, 209.
- Schmitz, U., 1995. British and Norwegian North Sea. In: H. Kulke (Ed.), *Regional Petroleum Geology of the World, Teil I: Europa und Asien*. Gebrüder Bornträger, Berlin, 45-50.
- Seifert, W.K., 1978. Steranes and terpanes in kerogen pyrolysis for the correlation of oils and source rocks. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 473-484
- Seifert, W.K., Moldowan, J.M., 1978. Applications of steranes, terpanes and monoaromatics to the maturation, migration and source of crude oils. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 77-95.
- Seifert, W.K., Moldowan, J.M., 1979. The effect of biodegradation on steranes and terpanes in crude oils. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43, 111-126.
- Seifert, W.K., Moldowan, J.M., 1980. The effect of thermal stress on source-rock quality as measured by hopane stereochemistry. In: A.G. Douglas, J.R. Maxwell (Eds.), *Advances in Organic Geochemistry 1979*, Pergamon Press, Oxford, 229-237.
- Seifert, W.K., Moldowan, J.M., 1986. Use of biological markers in petroleum exploration. In: R.B. Johns (Ed.), *Biological Markers in the Sedimentary Record*. Elsevier, Amsterdam, 261-290.
- Sieskind, O., Joly, G., Albrecht, P., 1979. Simulation of the geochemical transformation of sterols: Superacid effect of clay minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43, 1675-1679.
- Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W., Derenne, S., Largeau, C., 1989. A reappraisal of kerogen formation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53, 3103-3106.
- Tissot, B.P., Welte, D.H., 1984. *Petroleum Formation and Occurrence*, 2. Auflage, Springer, Berlin.
- Treibs, A., 1934a. Organic minerals. III. Chlorophyll and hemin derivatives in bituminous rocks, petroleum, mineral waxes and asphalts. *Origin of petroleum*. *Liebigs Annalen der Chemie* 510, 42-62.
- Treibs, A., 1934b. Organic mineral substances. II. Occurrence of chlorophyll derivatives in an oil shale of the upper Triassic. *Liebigs Annalen der Chemie* 509, 103-114.
- Treibs, A., 1936. Chlorophyll and hemin derivatives in organic mineral substances. *Angewandte Chemie* 49, 682-686.

- Volkman, J.K., Barrett, S.M., Blackburn, S.I., Mansour, M.P., Sikes, E.L., Gelin, F., 1998. Microalgal biomarkers: A review of recent research developments. *Organic Geochemistry* 29, 1163-1179.
- Wang, J.-X., Li, T.-S., 1999. The retro-Michael reaction of 1,5-dicarbonyl compounds: scope and limitation. *Collections of the Czechoslovak Chemical Communications* 64, 107-113.
- Waples, D.W., Machihara, T., 1991. *Biomarkers for Geologists - A Practical Guide to the Application of Steranes and Triterpanes in Petroleum Geology*. The American Association of Petroleum Geologists, Tulsa.
- Wardroper, A.M.K., Maxwell, J.R., Morris, R.J., 1978. Sterols of a diatomaceous ooze from Walvis Bay. *Steroids* 32, 203-221.
- West, N., Alexander, R., Kagi, R.I., 1990. The use of silicalite for rapid isolation of branched and cyclic alkane fractions of petroleum. *Organic Geochemistry* 15, 499-501.
- Yang, B., Yang, J., 1988. Effects of biodegradation on crude oils from Karamay Oilfield. *Diqiu Huaxue*, 99-108.
- Zheng, S.Y., Corbett, P.W.M., Ryseth, A., Stewart, G., 2000. Uncertainty in well test and core permeability analysis: a case study in fluvial channel reservoirs, northern North Sea, Norway. *Bulletin of the American Association of Petroleum Geologists* 84, 1929-1954.

6 Anhang

6.1 Massenspektren von Zwischenprodukten der Synthesen

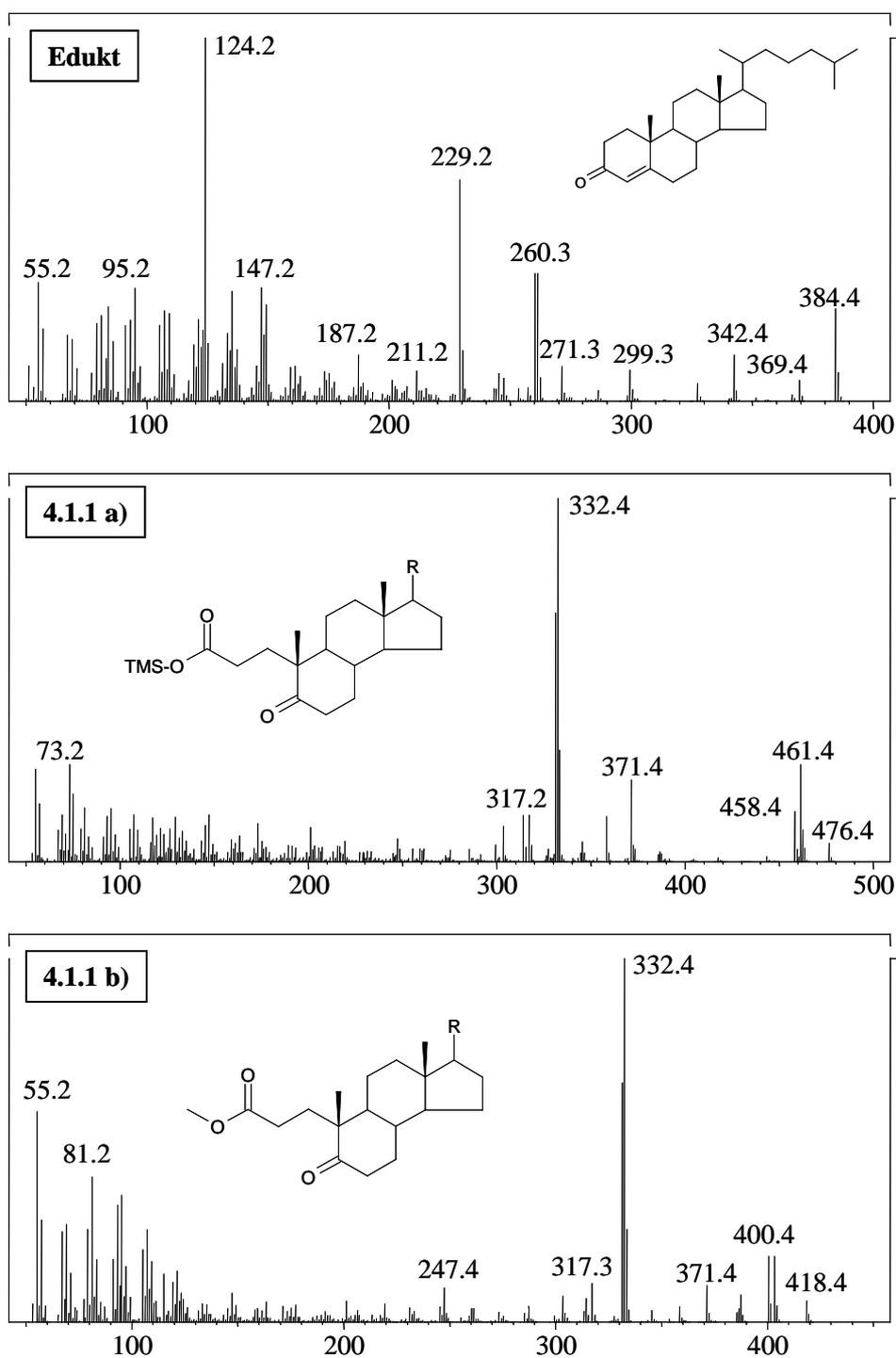
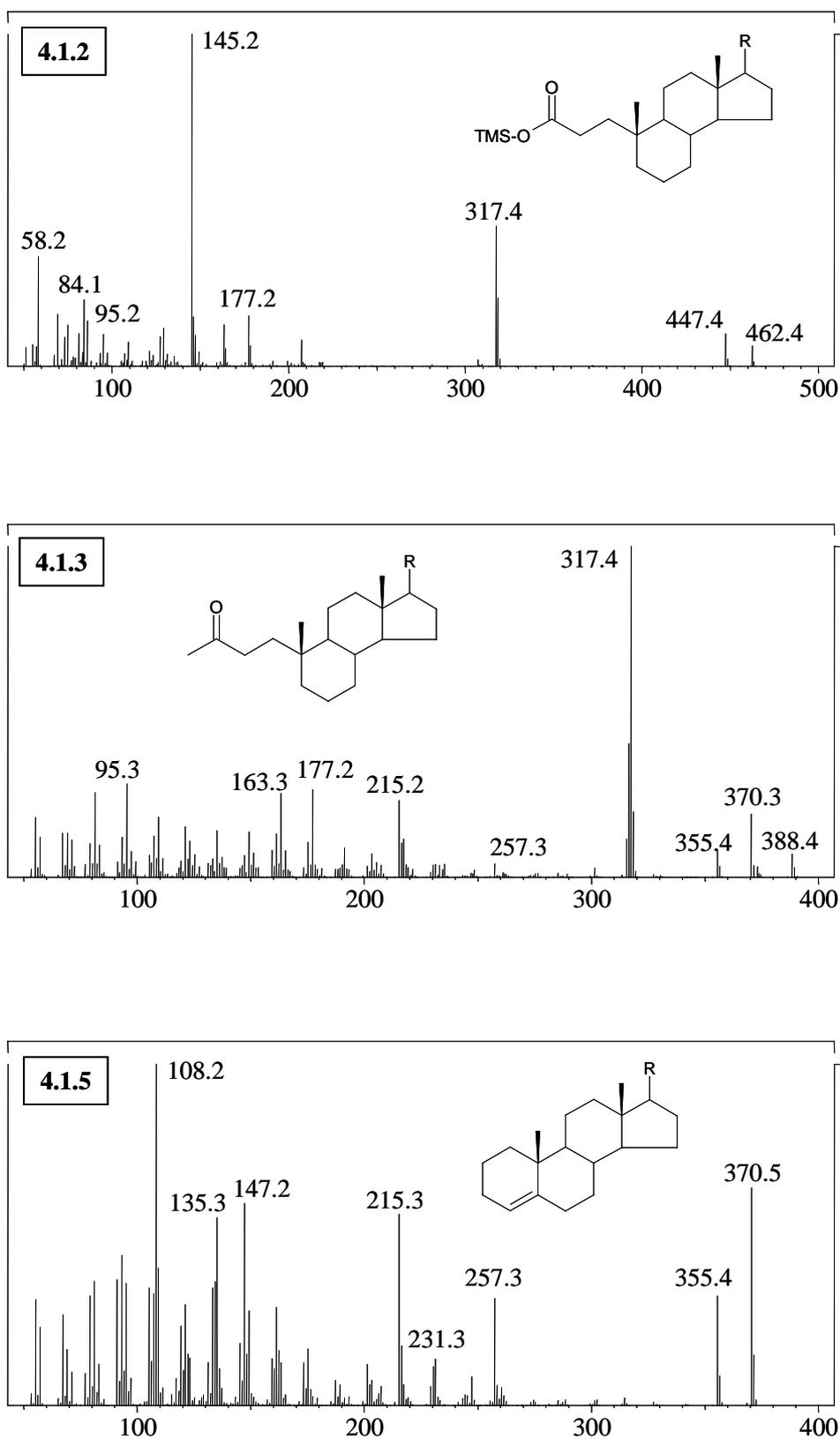
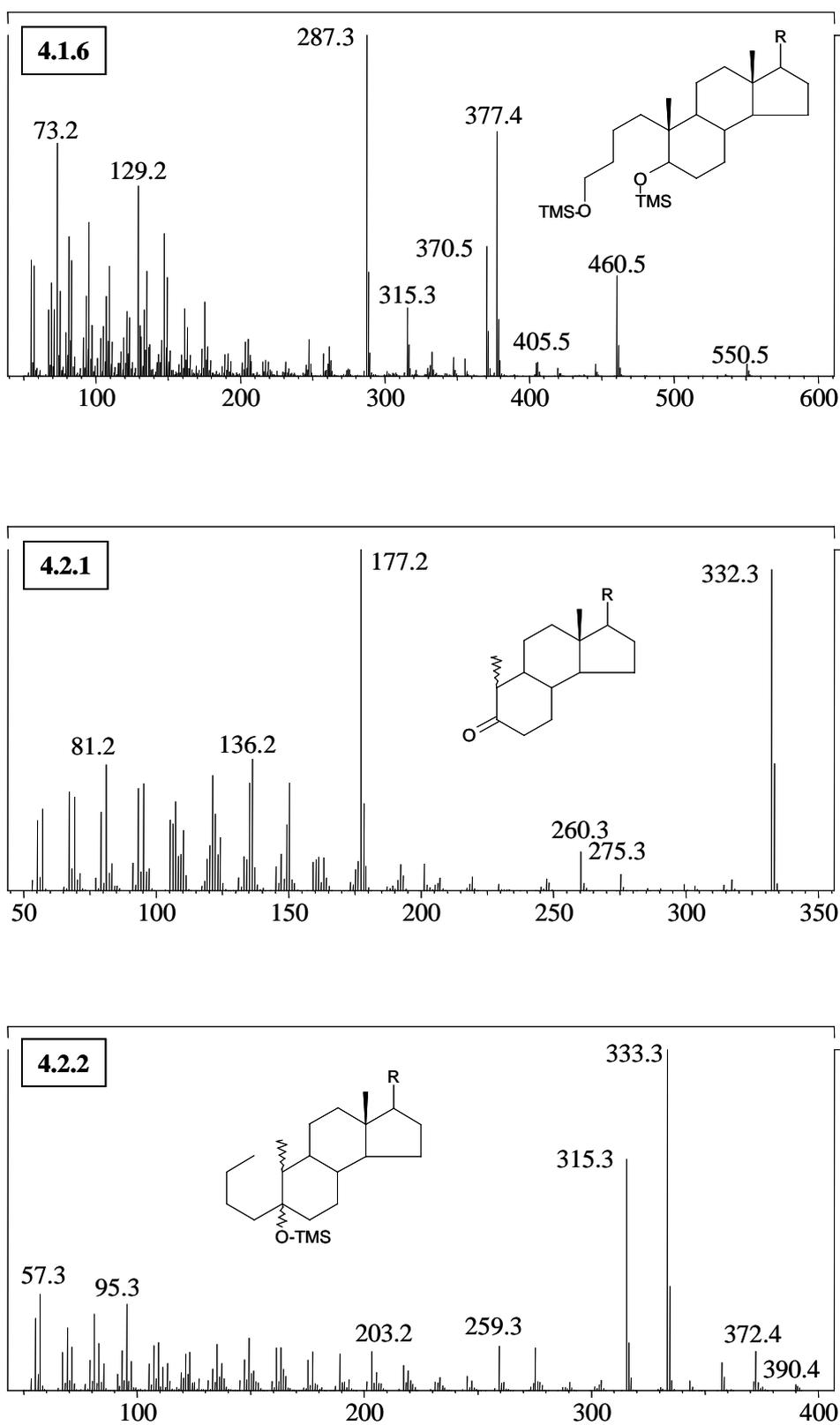
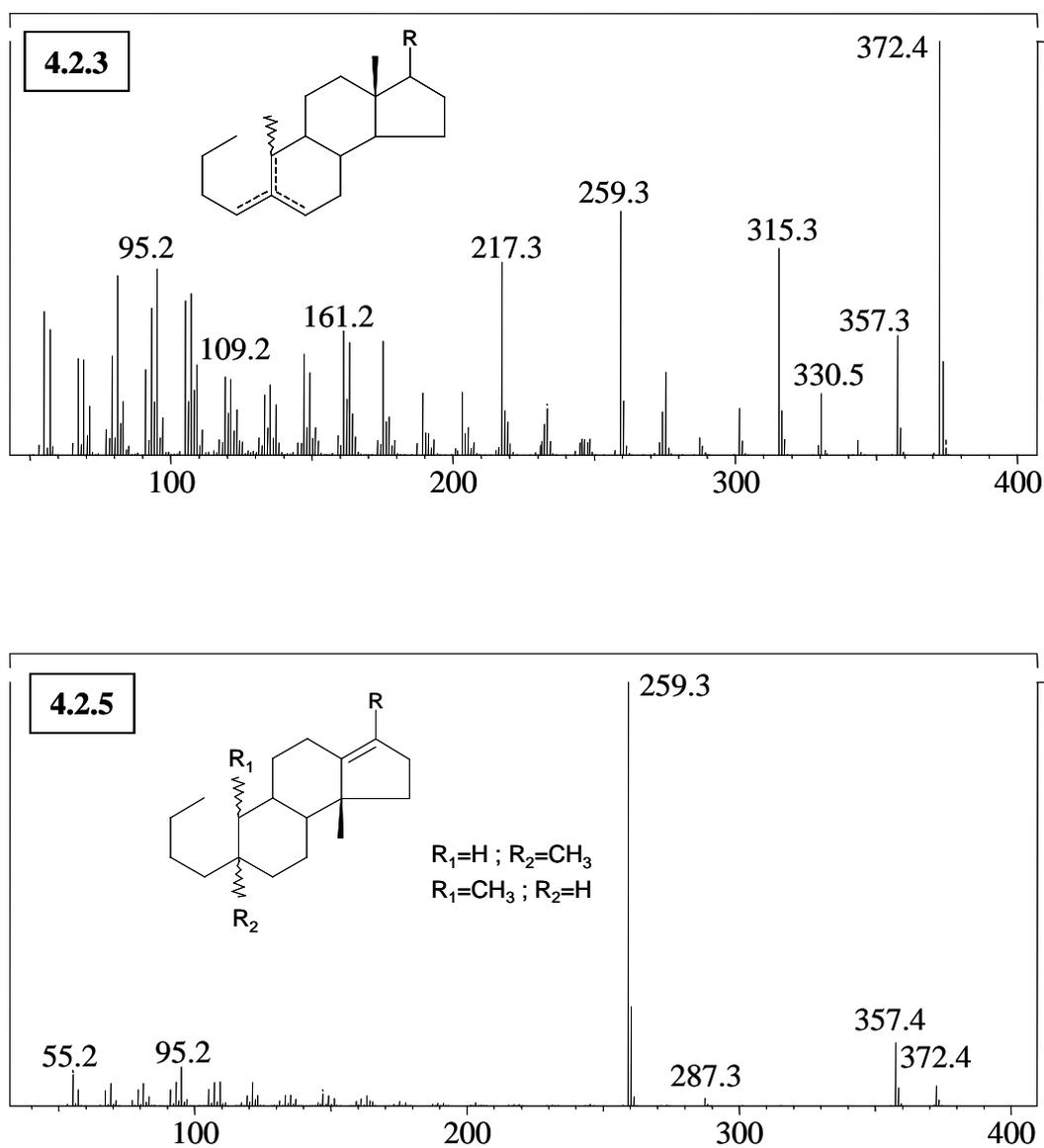


Abb. 6-1: Massenspektren ausgewählter Zwischenstufen der Synthese von *seco*-Cholestanen

Abb. 6-1 (Forts.): Massenspektren ausgewählter Zwischenstufen der Synthese von *seco*-Cholestanen

Abb. 6-1 (Forts.): Massenspektren ausgewählter Zwischenstufen der Synthese von *seco*-Cholestanen

Abb. 6-1 (Forts.): Massenspektren ausgewählter Zwischenstufen der Synthese von *seco*-Cholestanen

6.2 Massenspektren der dominierenden Isomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan

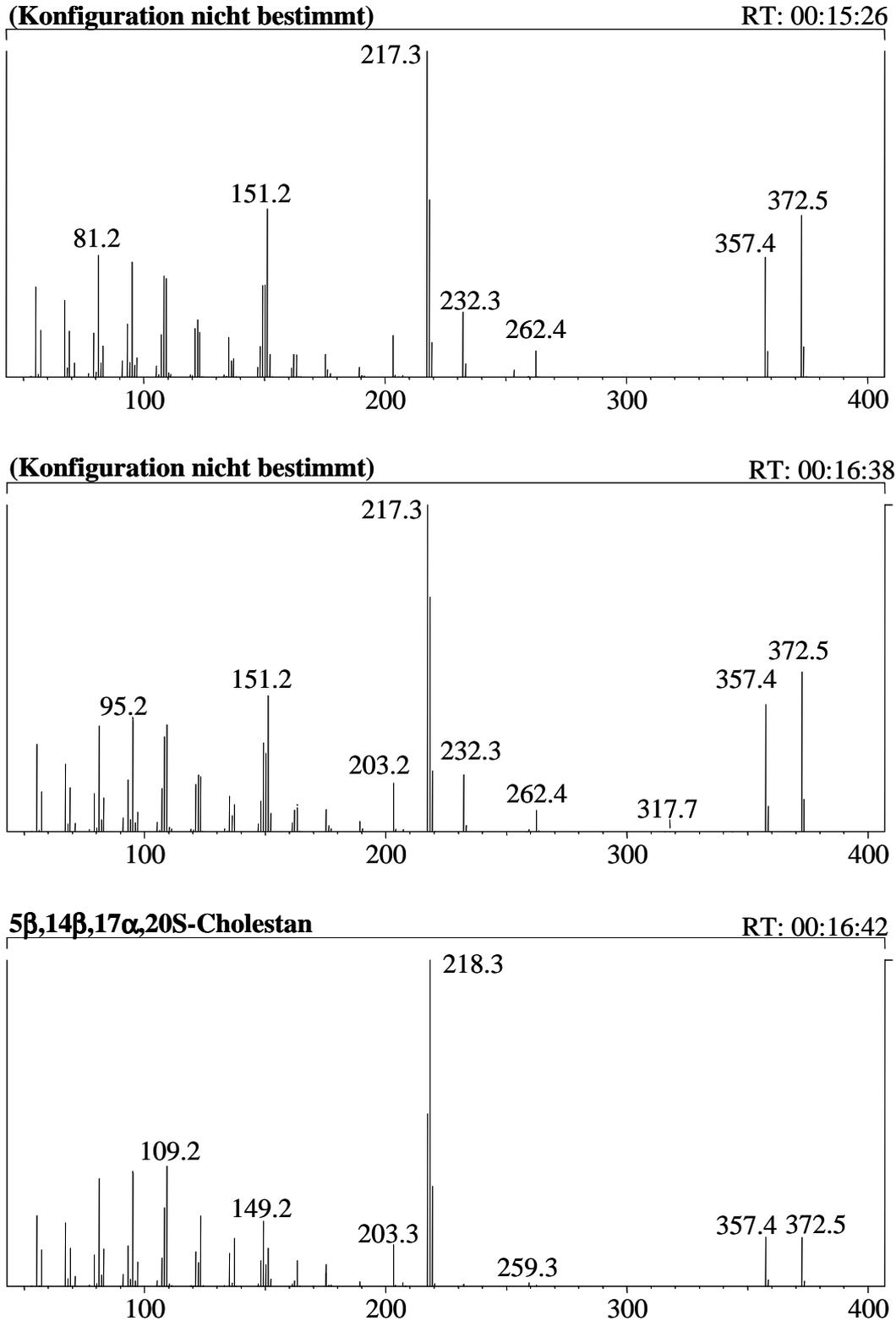
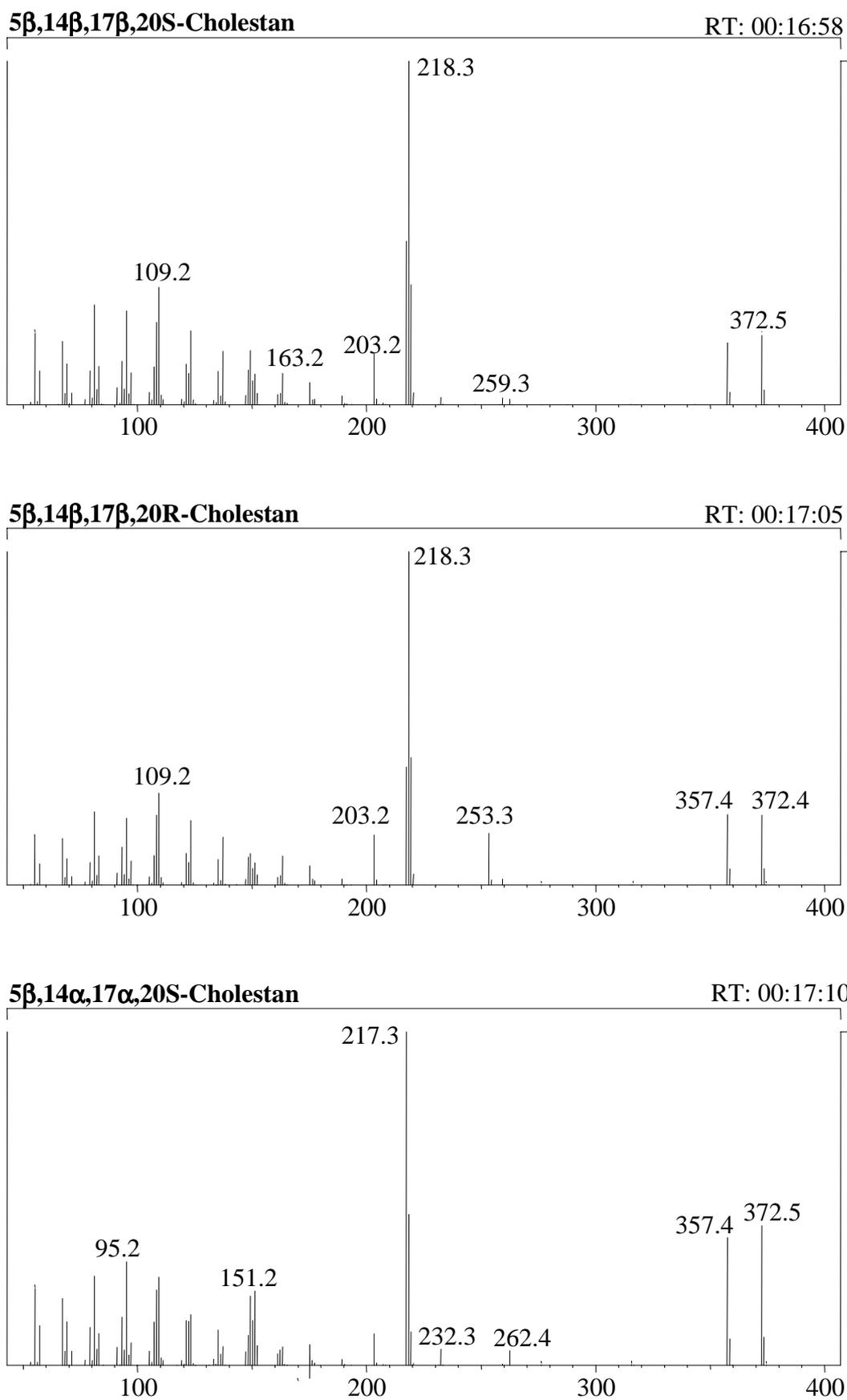
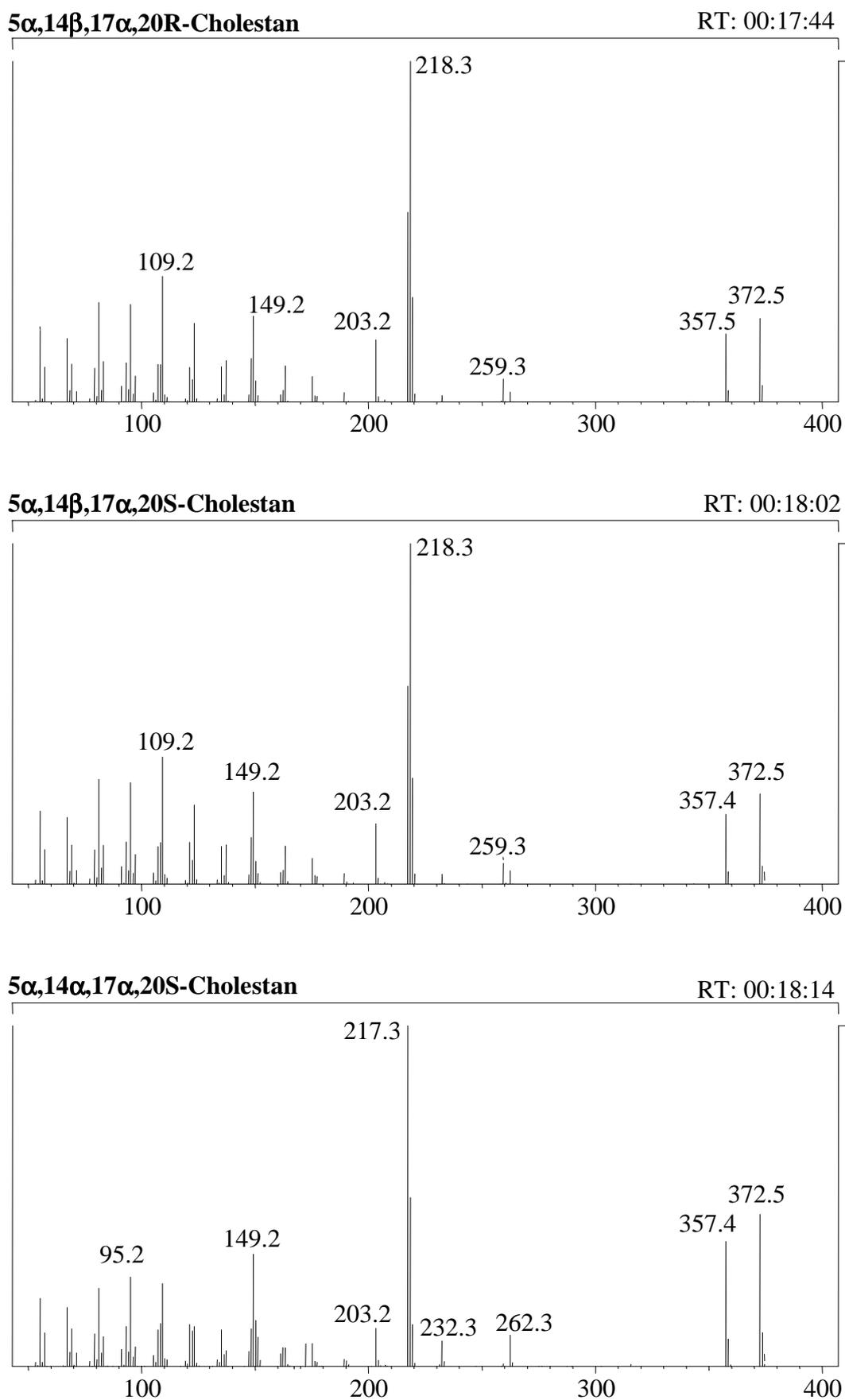
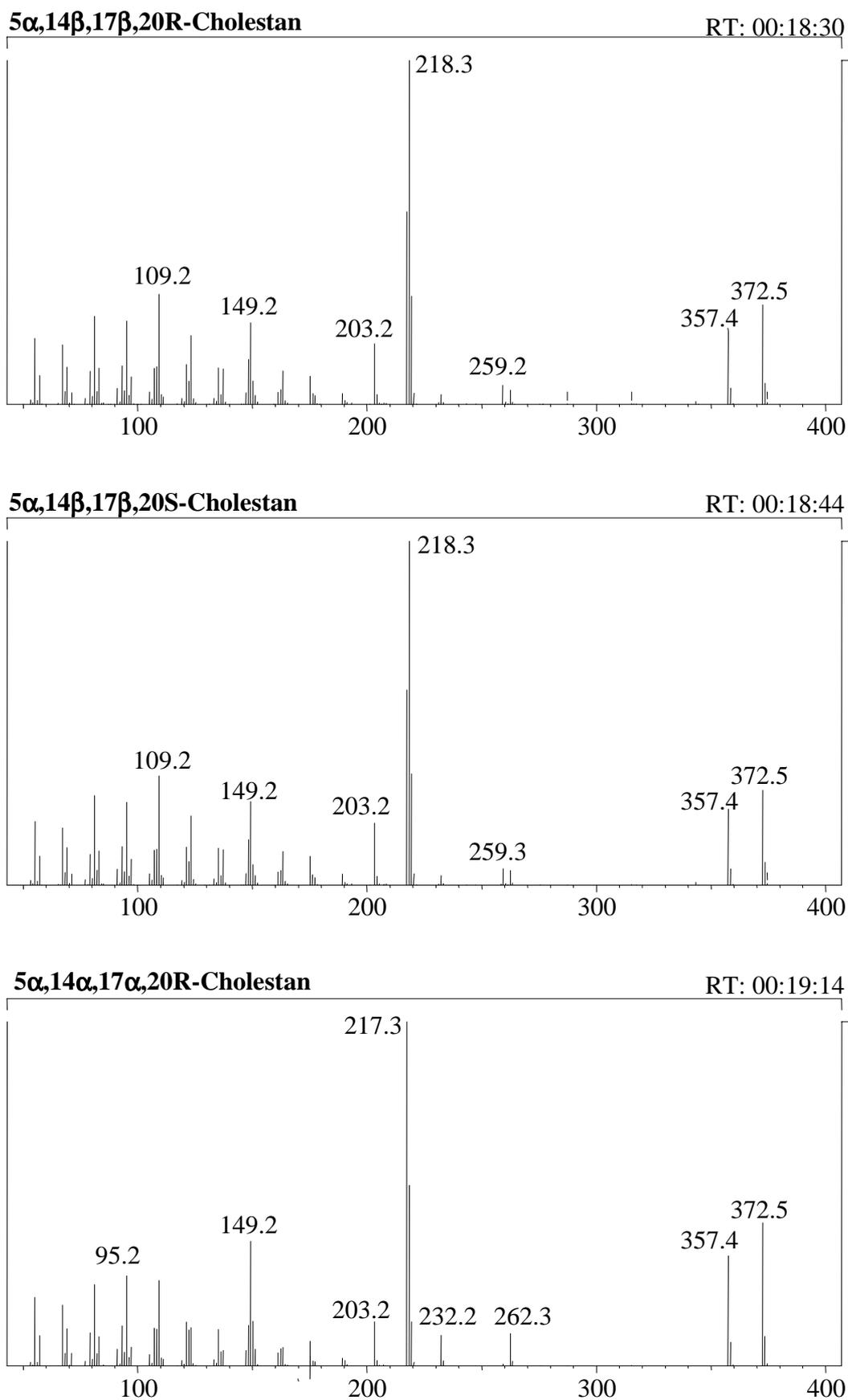


Abb. 6-2: Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan

Abb.6-2 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan

Abb.6-2 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan

Abb.6-2 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 5 α -Cholestan

6.3 Massenspektren der dominierenden Isomere des Allisomerengemischs von 1,10-*seco*-Cholestan

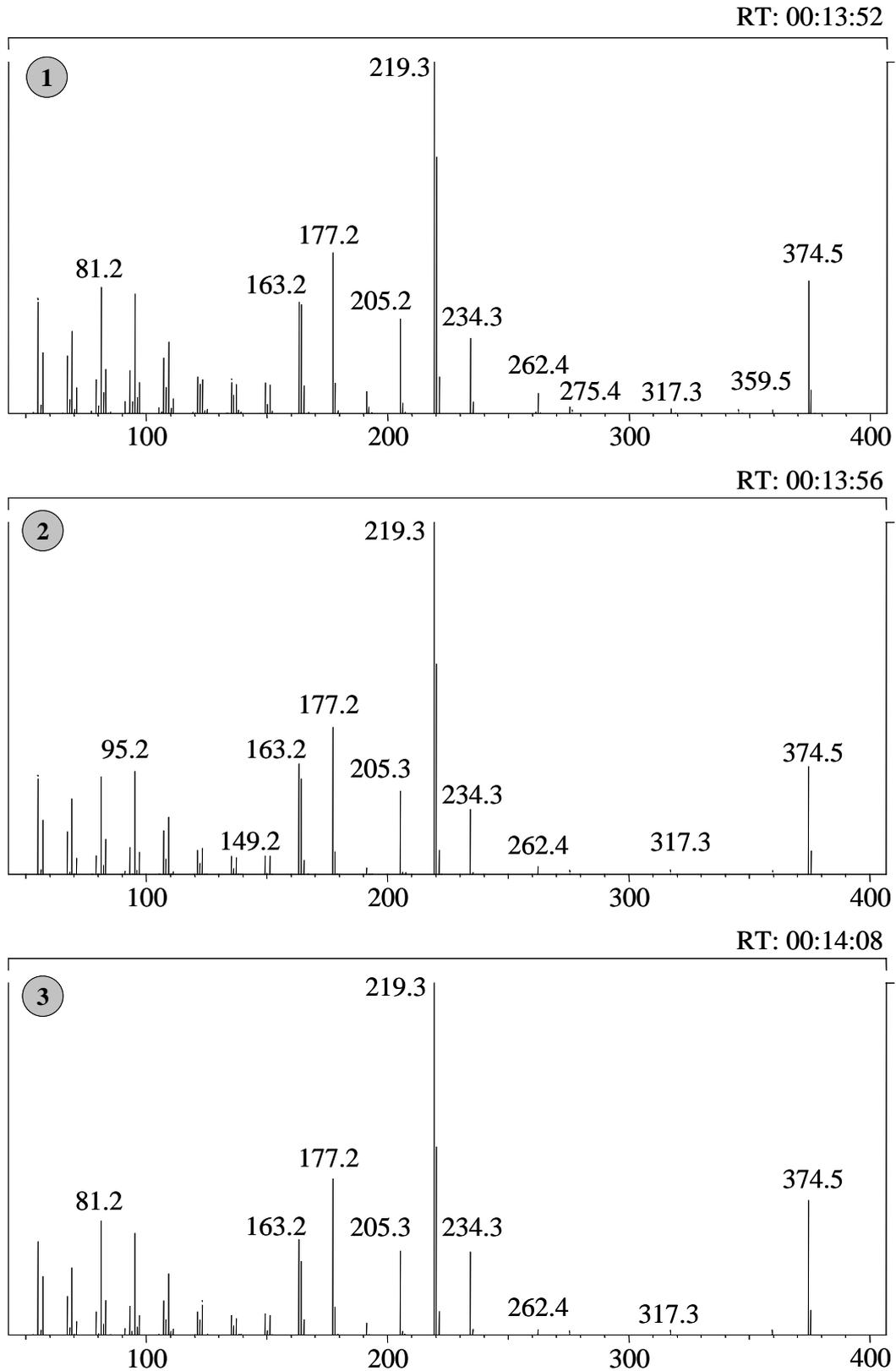
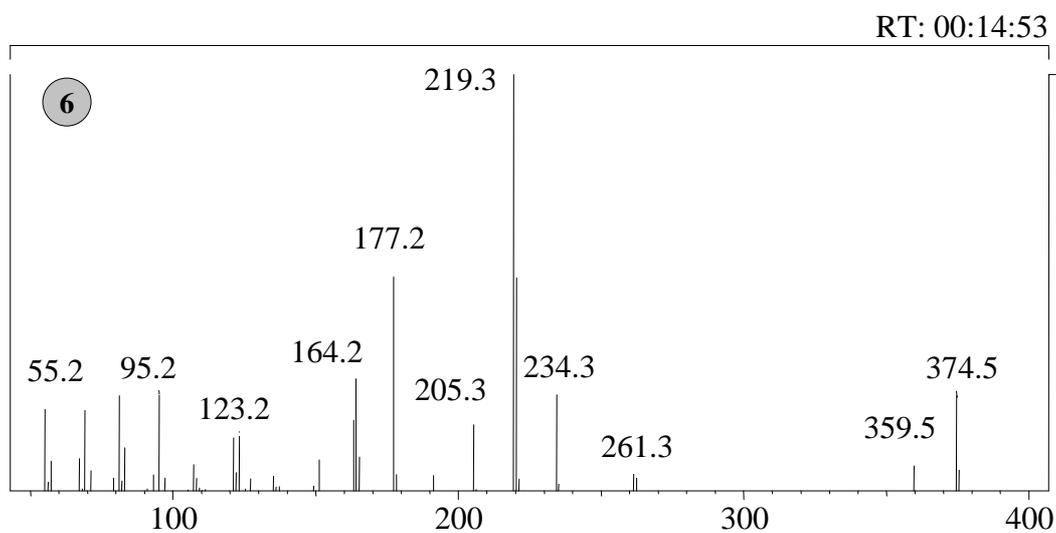
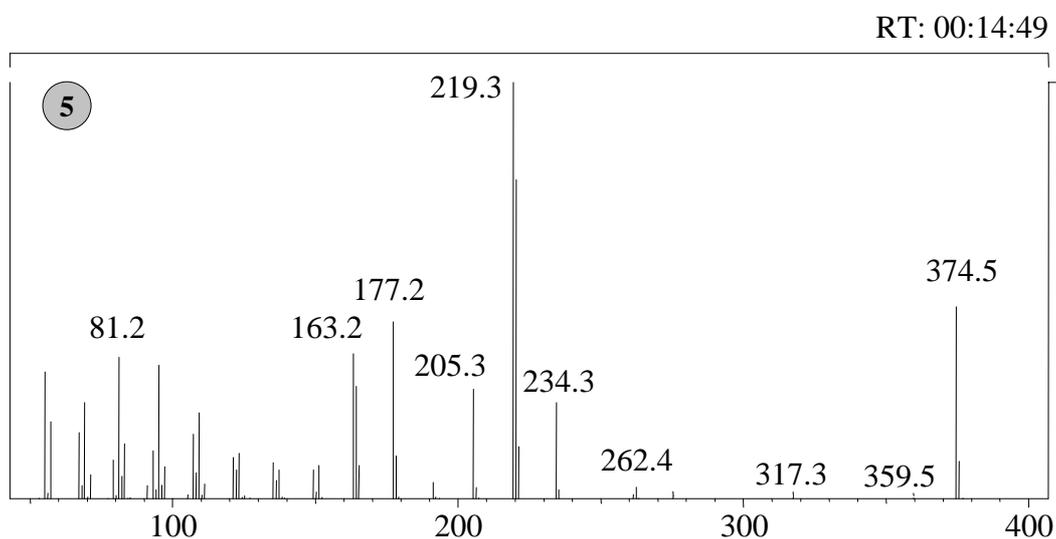
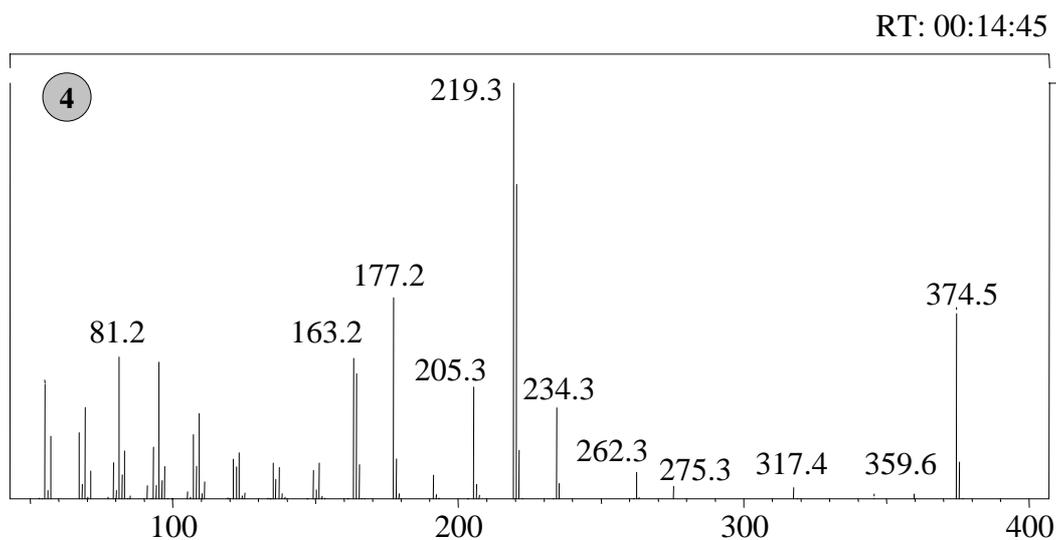
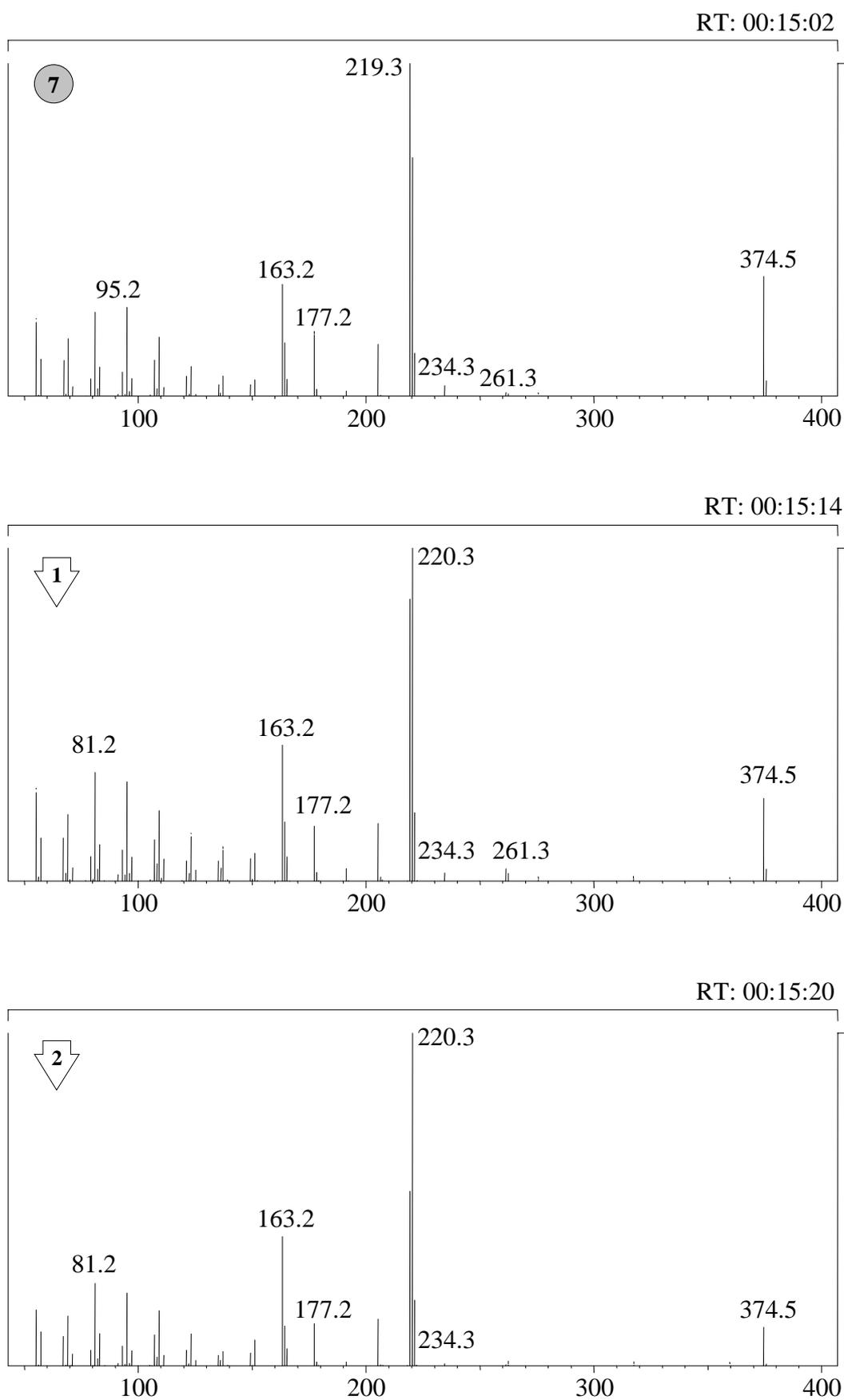
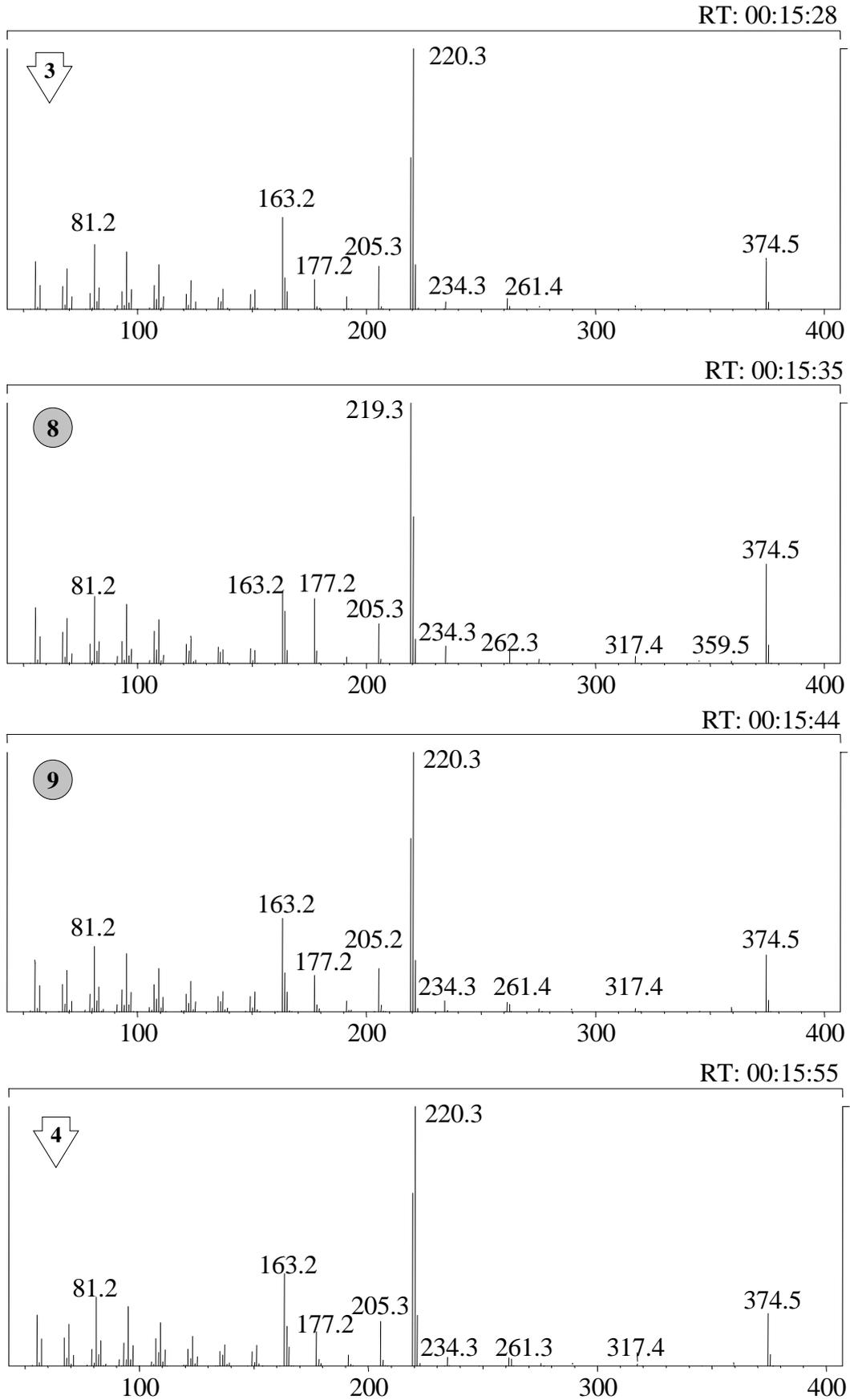
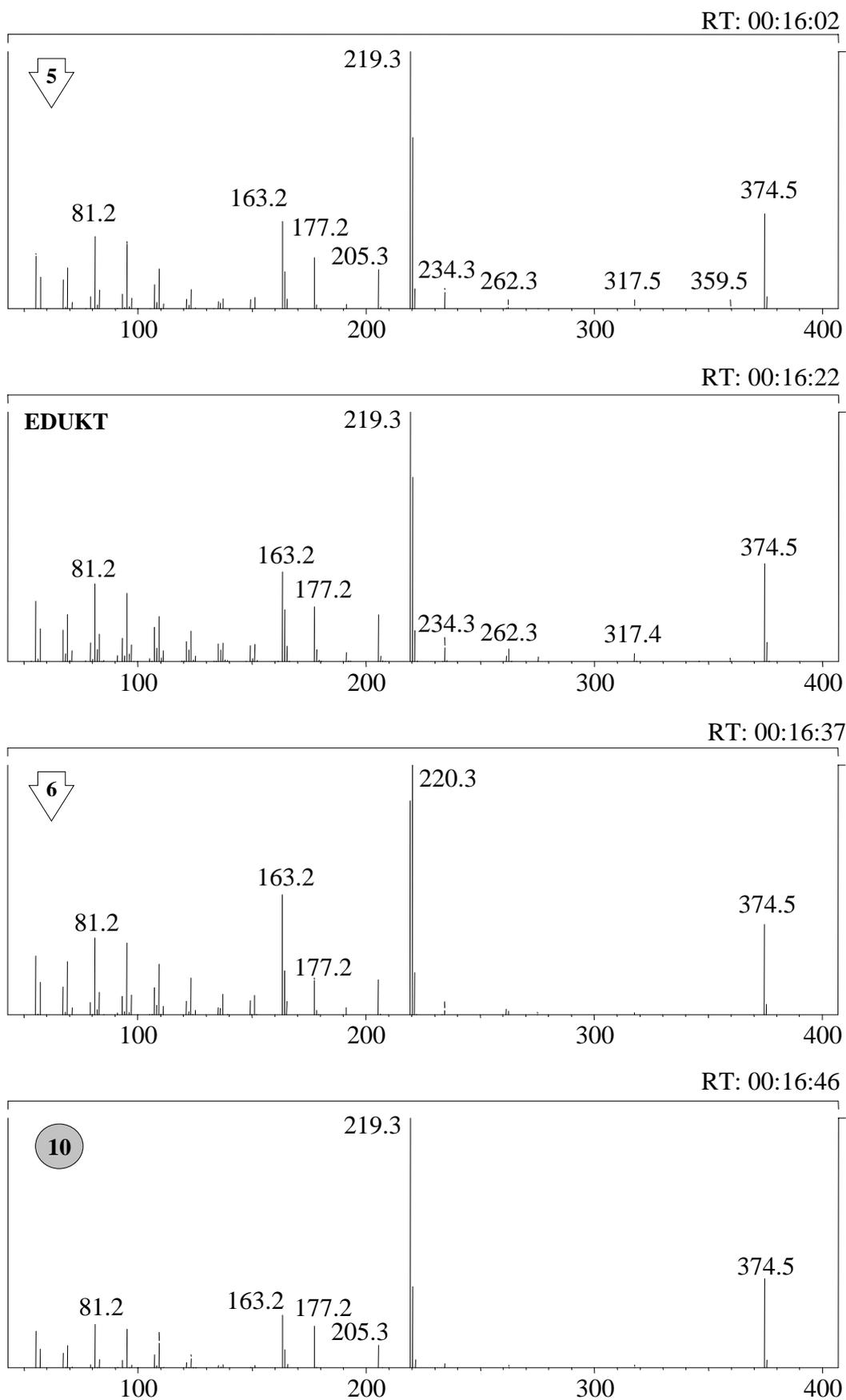


Abb. 6-3: Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 1,10-*seco*-Cholestan

Abb 6-3 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 1,10-*seco*-Cholestan

Abb 6-3 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 1,10-*seco*-Cholestan

Abb 6-3 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 1,10-*seco*-Cholestan

Abb 6-3 (Forts.): Massenspektren der Produktisomere des Allisomerengemischs von 1,10-*seco*-Cholestan

LEBENS LAUF

PERSÖNLICHE DATEN

Name: Joachim Maurer
Geburtsdatum: 17. November 1973
Geburtsort: Göttingen
Familienstand: ledig

SCHULBILDUNG

1980 – 1984 Grundschule Witzenhausen
1984 – 1990 Gesamtschule Witzenhausen
1990 – 1993 Otto-Hahn-Gymnasium Göttingen
05/1993 Abitur

ZIVILDienst

07/1993 – 09/1994 Hallig Langeneß - World Wide Fund For Nature

Ausbildung

Wintersemester 1994 Beginn des Chemiestudiums an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
04/1997 Diplom-Chemiker-Vorprüfung
06/2000 Diplom-Chemiker-Prüfung
Thema: Fossile und rezente organische Verbindungen in ägyptischen Mumien und in Mumia
ab 06/2000 Promotionsstudium

Beschäftigung

10/1999 – 06/2000 Studentische Hilfskraft am Institut für Chemie und Biologie Meeres
06/2000 – 12/2003 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Chemie und Biologie des Meeres im Bereich der zentralen Analytik; eigenverantwortliche Betreuung eines GC-MS-Systems (Finnigan SSQ 710)

ERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen verwendet habe.

Joachim Maurer
Oldenburg, den 28. Januar 2004