

- 2000, 104, 1014; h) „Semiconductor Photocatalysis for Organic Syntheses“: H. Kisch, *Adv. Photochem.* **2001**, 26, 93.
- [3] C. Anderson, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1997**, 101, 2611.
- [4] B. Karvaly, I. Hevesy, *Z. Naturforsch. A* **1971**, 26, 245.
- [5] In derselben Reihe entspricht dies Onset-Absorptionen von 551, 530, 521 und 510 nm.
- [6] A. Reinheimer, A. Fernández, H. Kisch, *Z. Phys. Chem.* **1999**, 213, 129.
- [7] Ähnliche Ti-O-Si-Bindungen wurden für die TiO₂-SiO₂-Grenzfläche nachgewiesen. G. Lassaletta, A. Fernández, J. P. Espinós, A. R. González-Elipe, *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 1484.
- [8] J. R. White, A. J. Bard, *J. Phys. Chem.* **1985**, 89, 1947.
- [9] A. M. Roy, G. C. De, N. Sasmal, S. S. Bhattacharyya, *Int. J. Hydrogen Energy* **1995**, 20, 627. Die Pulver wurden in 50 mL einer 0.1 M KNO₃-Lösung suspendiert, die 5 mg Methylviologendichlorid enthielt.
- [10] U_B-Werte für pH 7 wurden gemäß Lit. [8] berechnet.
- [11] Die für CdS gemessene Anfangsgeschwindigkeit wurde gleich 1.0 gesetzt.

Online-Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie: ein nützliches Werkzeug zur Detektion von Variationen in DNA-Sequenzen**

Herbert Oberacher, Peter J. Oefner, Walther Parson und Christian G. Huber*

Nach der vollständigen Entschlüsselung der Sequenz des menschlichen Genoms im Jahr 2001^[1] wird das Auffinden von Polymorphismen, das sind Unterschiede zwischen den DNA-Sequenzen verschiedener Individuen, zunehmend an Bedeutung gewinnen.^[2] Untersuchungen über die genetische Diversität können wertvolle Aufschlüsse über vererbare Krankheitsrisiken sowie über die menschliche Herkunft und den Genfluss liefern. Der Standard zur Bestimmung von DNA-Sequenzen ist die vollautomatische Sequenzierung nach Sanger mit multikapillarelektrophoretischer Analyse.^[1] Da bei der Sanger-Sequenzierung immer die vollständige Sequenz bestimmt wird, Polymorphismen aber nur mit einer Häufigkeit von ca. 1 in 800–62 000 Basenpaaren zwischen

zwei zufällig gewählten Chromosomen auftreten, geht ein beträchtlicher Teil des zeitlichen und experimentellen Aufwandes für die Bestimmung bereits bekannter Sequenzen verloren. Die Entwicklung von neuen und schnellen Screening-Methoden zur Detektion von Variationen in DNA-Sequenzen ist daher von großer Bedeutung, da sie den Sequenzierungsbedarf verringern und den Probendurchsatz erhöhen.^[3] Derartige Methoden sind auch in der Qualitätskontrolle der zunehmend an Bedeutung gewinnenden chemische Synthese von kompletten Genen gefragt.^[4]

Die Untersuchung von höhermolekularen Nucleinsäuren mittels Massenspektrometrie (MS) wurde erst durch die Entwicklung der matrixunterstützten Laserdesorption/-Ionisation (MALDI) und der Elektrospray-Ionisation (ESI) ermöglicht.^[5] Die ESI-MS wurde erfolgreich zur Charakterisierung von intakten Plasmiden,^[6] Polymerasekettenreaktions(PCR)-Produkten,^[7, 8] RNA^[9] und synthetischen Oligonucleotiden^[10] sowie zum Genotypisieren von Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs)^[8] und Short Tandem Repeats (STRs)^[11, 12] angewandt. Der Erfolg massenspektrometrischer Untersuchungsmethoden hängt jedoch in großem Ausmaß von der Menge und Reinheit der in das Massenspektrometer eingebrachten Nucleinsäureproben ab. Bedeutende Nachteile der bis dato bekannten Reinigungsvorschriften wie Fällung,^[13] Festphasenextraktion^[14] und Flüssigchromatographie^[9, 15] sind die benötigten großen Probenmengen sowie geringe Wiederfindungsraten, sodass diese Methoden für viele Realanwendungen und auch für quantitative Messungen nicht geeignet sind. Vor kurzem konnten wir zeigen, dass die Ionenpaar-Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigchromatographie (IP-RP-HPLC) unter Verwendung monolithischer Kapillarsäulen mit einem Innendurchmesser von 200 µm geeignet ist, 180 fmol DNA-Restriktionsfragmente von bis zu 267 Basenpaaren Länge zu trennen und anschließend massenspektrometrisch zu charakterisieren.^[16] Üblicherweise stehen jedoch nach PCR-Probenvorbereitung nur Nucleinsäuremengen im oberen amol- bis unteren fmol-Bereich zur Verfügung. Außerdem musste die Trennsäule wegen der relativ hohen Nachweisgrenze des ESI-MS-Systems überladen werden, was zu schlechter Auftrennung und unzureichender Charakterisierung der längeren Fragmente führte.

Durch signifikante Verbesserungen der chromatographischen Bedingungen ist es uns nun erstmals gelungen, DNA-Mengen im oberen amol-Bereich zu trennen und online einer massenspektrometrischen Untersuchung zuzuführen. Abbildung 1 zeigt das Totalionenchromatogramm von 753 amol eines Verdaues des Klonierungsvektors pUC19 mit dem Restriktionsenzym MspI. Aufgrund der hohen Trennleistung und des Vermeidens einer Überladung der Säule konnten die zehn Fragmente des Verdaues mit einer Länge von 67–501 Basenpaaren (bp) in acht Peaks aufgelöst werden. Nur die 110- und 111-mer sowie die 489- und 501-mer Bruchstücke koeluierten aufgrund ihres geringen Längenunterschiedes. Aus dem Totalionenchromatogramm wurden Massenspektren extrahiert und nach einem computerunterstützten Dekonvolutionsalgorithmus^[17] die Massen der DNA-Fragmente mit hoher Genauigkeit bestimmt. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, dass bei einer injizierten Menge von 15 fmol für alle

[*] Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. C. G. Huber, Mag. H. Oberacher
Institut für Analytische Chemie und Radiochemie
Leopold-Franzens-Universität
Innrain 52a, 6020 Innsbruck (Österreich)
Fax: (+43) 512-507-2767
E-mail: christian.huber@uibk.ac.at

Univ.-Doz. Mag. Dr. W. Parson
Institut für Gerichtsmedizin
Leopold-Franzens-Universität
Innsbruck (Österreich)
Univ.-Doz. Dr. P. J. Oefner
Genome Technology Center, Stanford University
Palo Alto, CA (USA)

[**] Diese Arbeit wurde vom österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (P-14133-PHY) sowie von den National Institutes of Health (HG01932) unterstützt. Herrn Dr. Jeff van Ness vom Keck Graduate Institute of Applied Life Sciences in Claremont, CA (USA), danken wir für den Hinweis auf die Verwendung von Butyldimethylamin in IP-RP-HPLC-Trennungen.

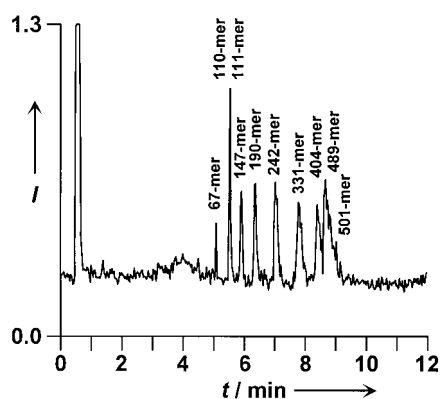


Abbildung 1. Chromatographische Trennung und Massenanalyse der Fragmente eines pUC19-MspI-Verdaues. Säule: PS/DVB, 60×0.2 mm Innendurchmesser; mobile Phase: A) 25 mM Butyldimethylammoniumbicarbonat, pH 8.4, B) 25 mM Butyldimethylammoniumbicarbonat, pH 8.4, 40% Acetonitril; linearer Gradient: 10–40% B in 3 min, 40–50% B in 12 min; Fluss: $3.0 \mu\text{L min}^{-1}$; Temperatur: 25°C ; Scan: 1000–3000 amu; Elektrosprayspannung: 3.40 kV; Sheath-Gas: Stickstoff; Sheath-Flüssigkeit: Acetonitril, $3.0 \mu\text{L min}^{-1}$; Probe: 753 amol des Verdaues; I = Signalintensität $\times 10^{-6}$ /Impulse.

Tabelle 1. Massen der DNA-Restriktionsfragmente eines pUC19-Klonierungsvektors nach Verdau mit MspI. n.d. = nicht detektiert.

Länge [bp]	$M_{\text{ber.}}$	$M_{\text{gef.}}$ (753 amol)	rel. Abweichung [%]	$M_{\text{gef.}}$ (15 fmol)	rel. Abweichung [%]
67	41 438.1	41 413	–0.061	41 423	–0.036
110	68 005.6	67 986	–0.029	67 977	–0.042
111	68 623.0	68 664	0.060	68 623	0.000
147	90 883.4	90 841	–0.047	90 862	–0.024
190	117 438.0	117 413	–0.021	117 424	–0.012
242	149 566.0	149 583	0.011	149 596	0.020
331	204 588.8	204 520	–0.034	204 611	0.011
404	249 643.9	n.d.	–	249 750	0.043
489	302 222.7	n.d.	–	302 391	0.056
501	309 574.2	n.d.	–	309 567	–0.002

Fragmente Massenspektren erhalten wurden, welche eine Bestimmung der Molekülmassen mit einer mittleren Massengenauigkeit von $\pm 0.025\%$ erlaubten. Dieser Wert für die Massengenauigkeit stimmt sehr gut mit dem für ein Ionenfallen-Massenspektrometer angegebenen Wert überein (0.02% für eine einzelsträngiges 81-mer-PCR-Produkt).^[18] Auch die koeluiierenden DNA-Fragmente konnten in den extrahierten Massenspektren dank ihrer unterschiedlichen Massen eindeutig identifiziert werden (Tabelle 1). Bei einer weiteren Verringerung der Injektionsmenge auf 753 amol konnten auswertbare Spektren und Molekülmassen mit äquivalenter Massengenauigkeit noch für Fragmente bis zu einer Länge von 331 Basenpaaren erhalten werden (Tabelle 1).

Die niedrige Nachweisgrenze ist hauptsächlich auf die Verwendung von Butyldimethylammoniumbicarbonat anstelle von Triethylammoniumbicarbonat als Ionenpaarreagens zurückzuführen. Ein direkter Vergleich von jeweils 25 mM Butyldimethylammoniumbicarbonat und Triethylammoniumbicarbonat in Wasser/Acetonitril (80/20, v/v) als Lösungsmittel für die ESI-MS von Nucleinsäuren in Direktinfusionsexperimenten ergab, dass mit Butyldimethylammoniumbicar-

bonat ein um einen Faktor 1.5 besseres Signal-Rausch-Verhältnis erzielt wurde. Diese Tendenz korreliert mit dem Befund, dass die Spektrenqualität durch die Anwendung schwächer basischer Amine verbessert wird^[19] ($pK_a(\text{Triethylamin}) = 10.72$, $pK_a(\text{Butyldimethylamin}) = 10.06$). Weiterhin ist, bedingt durch die höhere Affinität des Butyldimethylammoniums zur stationären Phase im Vergleich zum üblicherweise verwendeten Triethylammonium, ein höherer Anteil an Acetonitril zur Elution der DNA-Fragmente notwendig (16.0–17.6% Acetonitril mit Butyldimethylammoniumbicarbonat im Vergleich zu 6.5–7.9% mit Triethylammoniumbicarbonat). Wegen der niedrigeren Oberflächenspannung und der besseren Verdampfbarkeit des Eluenten führt dies zu einer weiteren Verbesserung der Effizienz der Elektrosprayionisation.^[20]

Die Anwendbarkeit der IP-RP-HPLC-ESI-MS zur Detektion von Insertionen und Deletionen wurde bei der Untersuchung von Restriktionsfragmenten des pUC18-Klonierungsvektors praktisch bestätigt. Mit einer Ausnahme konnten die Massen der Fragmente eines HaeIII-Verdaues mit Massenabweichungen von höchstens $\pm 0.09\%$ bestimmt werden. Einzig das 257-Basenpaarfragment wich mit -0.39% signifikant von der oben angegebenen mittleren Massengenauigkeit von $\pm 0.025\%$ ab, entsprechend einer Differenz gegenüber der theoretischen Masse des 257-mers von 620 (gef.: 158 220, ber.: 158 840.1, Abbildung 2). Diese Abwei-

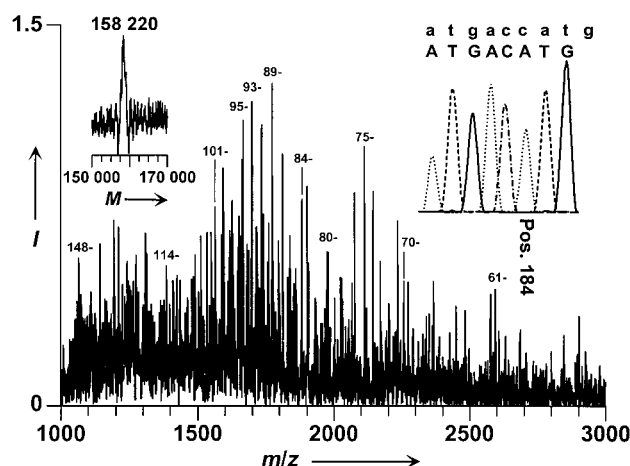


Abbildung 2. Massenspektrum zur Detektion einer Deletion in einem doppelsträngigen DNA-Fragment aus dem Klonierungsvektor pUC18 mittels IP-RP-HPLC-ESI-MS. Mobile Phase: A) 25 mM Triethylammoniumbicarbonat, pH 8.4, B) 25 mM Triethylammoniumbicarbonat, pH 8.4, 20% Acetonitril; linearer Gradient: 5–16% B in 3 min, 16–25% B in 12 min; Fluss: $3.0 \mu\text{L min}^{-1}$; Probe: 12 fmol des pUC18-DNA-HaeIII-Verdaues; restliche Bedingungen wie in Abbildung 1. Der Einschub auf der linken Seite zeigt das dekonvolvierte Massenspektrum, der auf der rechten die durch Sanger-DNA-Sequenzierung ermittelte Sequenz (in Großbuchstaben), welche die massenspektrometrische Vermutung einer Deletion eines C-G-Basenpaares im Vergleich zur publizierten Sequenz (klein geschrieben) bestätigt; I = Signalintensität $\times 10^{-3}$ /Impulse.

chung stimmt mit der Masse eines Basenpaares überein. Tatsächlich wurde durch Sanger-Sequenzierung die Deletion eines C-G-Basenpaares an der Position 184 gefunden und damit bewiesen, dass das Fragment in Wirklichkeit ein 256-mer ist (ber. Masse: 158 221.7, Abbildung 2). Wenn man

annimmt, dass zum Auffinden einer Insertion oder Deletion eine auf ± 200 Masseneinheiten genaue Massenbestimmung erforderlich ist und dass der maximale Wert für die Massenabweichung 0.09 % beträgt, so ist die Methode generell für Nucleinsäurefragmente bis zu einer Masse von ca. 222 000 (360 Basenpaare) geeignet.

Die IP-RP-HPLC-ESI-MS-Analyse eignet sich auch zur Charakterisierung von SNPs. Der Nachweis der beiden Allele eines SNPs ist sowohl in homo- als auch in heterozygoten Individuen mittels komplett denaturierender HPLC möglich.^[21] Hierbei werden kurze DNA-Doppelstränge (<100 Basenpaare) mittels PCR amplifiziert, anschließend vollständig in ihre Einzelstränge denaturiert, durch IP-RP-HPLC chromatographisch aufgetrennt und schließlich UV-detektiert. Das Retentionsverhalten der Einzelstränge ist charakteristisch für ein jedes Allel. Da jedoch die Retentionsunterschiede meist gering sind, kann die eindeutige Zuordnung der Allele mitunter schwierig und im Falle eines G/C-Polymorphismus gar unmöglich sein.^[21] Dies kann durch ESI-MS-Detektion umgangen werden, da massenspektrometrisch auch koeluiierende DNA-Fragmente mit verschiedener Masse unterschieden werden können. Ein Beispiel für die Detektion eines A/C-Polymorphismus bei einem heterozygoten Individuum illustriert Abbildung 3. Obwohl alle vier Einzelstränge

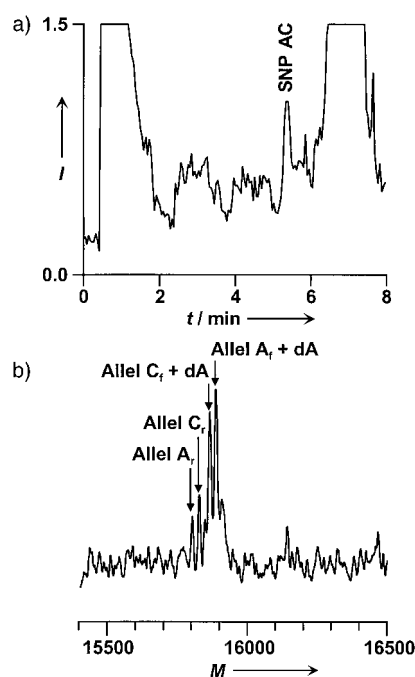


Abbildung 3. Nachweis eines Single-Nucleotide-Polymorphismus durch IP-RP-HPLC-ESI-MS. Mobile Phase: A) 25 mM Triethylammoniumbicarbonat, pH 8.4, B) 25 mM Triethylammoniumbicarbonat, pH 8.4, 20 % Acetonitril; linearer Gradient: 10–60 % B in 10 min; Fluss: $3.0 \mu\text{L min}^{-1}$; Temperatur: 70°C ; Scan: 500–2000 amu; Probe: 500 nL PCR-Amplifikat; restliche Bedingungen wie in Abbildung 2. I = Signalintensität $\times 10^{-6}$ Impulse.

wegen des steilen Gradienten koeluierten (Abbildung 3a), konnte im Massenspektrum eindeutig das Vorliegen der beiden Allele A und C sowohl im Forward- als auch im Reverse-Strang (gekennzeichnet durch die Indices f und

r) nachgewiesen werden (Abbildung 3b). Wie der Massenvergleich in Tabelle 2 zeigt, kommen wegen der hohen Massengenauigkeit von den vier grundsätzlich möglichen Allelen nur die beiden Allele A und C in Frage, wobei die Massen der Forward-Stränge aufgrund der Eigenschaft der Taq-Polymerase, an diese eine zusätzliche Desoxyadenosin-

Tabelle 2. Allel-Identifizierung durch Vergleich der acht theoretisch möglichen mit den gefundenen Massen.

Allel	$M_{\text{ber.}}$	$M_{\text{gef.}}$
A + dA _f	15 893.54	15 890
A _r	15 806.42	15 806
T + dA _f	15 884.52	–
T _r	15 797.40	–
G + dA _f	15 909.54	–
G _r	15 871.47	–
C + dA _f	15 869.51	15 869
C _r	15 831.44	15 831

einheit anzuhängen, wie erwartet um 312 Masseneinheiten höher ausfielen.

Die Möglichkeit zur Genotypisierung eines SNPs in Form einer Deletion wurde anhand eines T/–T-Polymorphismus in einem 82- bzw. 81-Basenpaar-PCR-Produkt untersucht. Die beiden Allele wurden eindeutig durch die Molekülmassen der beiden Einzelstränge zugeordnet (gef./ber.: 25 277/25 278.55 (T_f), 25 261/25 262.75 (T_r), 24 973/24 974.36 (–T_f), 24 945/24 949.54 (–T_r)).

Die Online-Kopplung mit der Flüssigchromatographie ist ein wichtiger Schritt in Richtung Anwendbarkeit der Elektrospray-Massenspektrometrie für die Detektion von Variationen in DNA-Sequenzen in molekularbiologischen und biochemischen Realproben. Durch die genauen Massenbestimmungen ist eine direkte Charakterisierung über die Molekülmasse als intrinsische Eigenschaft von Nucleinsäuremolekülen möglich. Zukünftige Untersuchungen werden sich auf die Sequenzierbarkeit von Nucleinsäuren anhand von Fragmentionen-Massenspektren konzentrieren, wobei auch hier für die Aussagekraft der erhaltenen Daten eine vorhergehende Trennung und Reinigung mittels Flüssigchromatographie essentiell sein wird.

Experimentelles

Alle DNA-Trennungen wurden mit monolithischen, auf Divinylbenzolquervernetztem Polystyrol (PS/DVB) basierenden Kapillarsäulen (60×0.2 mm Innendurchmesser), durchgeführt.^[16] Die Nucleinsäuren wurden mittels IP-RP-HPLC unter Verwendung von 25 mM Triethylammonium- oder Butyldimethylammoniumbicarbonat als Ionenpaarreagens getrennt. Zur reproduzierbaren Bildung eines Acetonitrilgradienten im $1\text{–}3 \mu\text{L min}^{-1}$ Flussbereich wurde der Primärfluss von $100\text{–}200 \mu\text{L min}^{-1}$ mit einer Quarzkapillare (1 m Länge, $375 \mu\text{m}$ Außendurchmesser, $50 \mu\text{m}$ Innendurchmesser) und einem T-Stück geteilt. Die getrennten Nucleinsäuren wurden mittels ESI-MS in einem Ionenfallen-Massenspektrometer (LCQ, Finnigan, San Jose, CA) detektiert. Zur externen Massenkali-brierung des Massenspektrometers wurde eine Mischung aus Coffein, Methionylargininylphenylalanylalanin und Ultramark 1621 nach der vom Hersteller angegebenen Vorschrift verwendet. Anschließend wurden die Parameter der Ionenoptik mit einer Lösung von $20 \text{ pmol } \mu\text{L}^{-1}$ (dT)₂₄ und 25 mM Triethylammoniumbicarbonat in Wasser/Acetonitril (80/20, v/v) im

negativen Ionisierungsmodus auf maximale Ionentransmission des Signals bei m/z 1808.7 abgestimmt. Zur Erhöhung der Detektionsempfindlichkeit wurde ein Fluss von $3 \mu\text{L min}^{-1}$ Acetonitril durch die triaxiale Ionenquelle nach der Säule zugemischt.^[22] Die Verdauung der Klonierungsvektoren wurden von Sigma (St. Louis, MO) bezogen. Die Sequenz und die PCR-Amplifikation des 51-Basenpaar-Biallel-A/C-Polymorphismus ist in Lit. [21], die des 82- bzw. 81-Basenpaar-T/-T-Polymorphismus in der SNP Database des NCBI im WWW unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> SNP unter der Nummer rs769382 beschrieben.

Eingegangen am 17. April 2001 [Z16947]

- [1] N. J. Dovici, J. Zhang, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4635–4640; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4463–4468.
- [2] D. G. Wang, J. B. Fan, C. J. Siao, A. Berno, P. Young, R. Sapolsky, G. Ghandour, N. Perkins, E. Winchester, J. Spencer, L. Kruglyak, L. Stein, L. Hsie, T. Topaloglou, E. Hubbell, E. Robinson, M. Mittmann, M. S. Morris, N. Shen, D. Kilburn, J. Rioux, C. Nusbaum, S. Rozen, T. J. Hudson, R. Lipshutz, M. Chee, E. S. Lander, *Science* **1998**, *280*, 1077–1082.
- [3] R. G. H. Cotton, *Trends Genet.* **1997**, *13*, 43–46.
- [4] K. L. Beattie, R. F. Fowler, *Nature* **1991**, *352*, 548–549.
- [5] E. Nordhoff, F. Kirpekar, P. Roepstorff, *Mass Spectrom. Rev.* **1996**, *15*, 76–138.
- [6] X. Cheng, D. G. Camp, Q. Wu, R. Bakhtiar, D. L. Springer, B. J. Morris, J. E. Bruce, G. A. Anderson, C. G. Edmonds, R. D. Smith, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 2183–2189.
- [7] D. C. Muddiman, A. P. Null, J. C. Hannis, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1999**, *13*, 1201–1204.
- [8] M. T. Krahmer, Y. A. Johnson, J. J. Walters, K. F. Fox, A. Fox, M. Nagpal, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 2893–2900.
- [9] D. P. Little, T. W. Thannhauer, F. W. McLafferty, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 2318–2322.
- [10] C. G. Huber, M. R. Buchmeiser, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 5288–5295.
- [11] J. C. Hannis, D. C. Muddiman, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1999**, *13*, 954–962.
- [12] H. Oberacher, W. Parson, C. G. Huber, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, im Druck.
- [13] N. Portier, A. Van Dorsselaer, Y. Cordier, O. Roch, R. Bischoff, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 3895–3903.
- [14] A. Deroussent, J.-P. Le Caer, A. Gouyette, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 1–4.
- [15] A. Apffel, J. A. Chakel, S. Fischer, K. Lichtenwalter, W. S. Hancock, *J. Chromatogr. A* **1997**, *777*, 3–21.
- [16] A. Premstaller, H. Oberacher, C. G. Huber, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 4386–4393.
- [17] M. Mann, C. K. Meng, J. B. Fenn, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1702–1708.
- [18] S. Hahner, A. Schneider, A. Ingendoh, J. Mosner, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, e82.
- [19] M. J. Greig, R. H. Griffey, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1995**, *9*, 97–102.
- [20] K. Bleicher, E. Bayer, *Biol. Mass Spectrom.* **1994**, *23*, 320–322.
- [21] P. J. Oefner, *J. Chromatogr. B* **2000**, *739*, 345–355.
- [22] C. G. Huber, A. Krajete, *J. Chromatogr. A* **2000**, *870*, 413–424.

Zeolithsynthese nach der Hochdruck-Hydrothermalmethode: Synthese natürlicher Sechsering-Zeolithe mit unterschiedlichen Kanalsystemen

Habib Ghobarkar, Oliver Schäf* und Philippe Knauth*

Wegen ihrer einzigartigen Eigenschaften wurden Zeolithe sowohl für die wissenschaftliche Forschung als auch für die industrielle Anwendung interessant; so werden sie als Materialien für die Sorption gasförmiger und flüssiger Komponenten, als Ionenaustauscher in wässrigen Systemen mit einer Vielzahl von Anwendungen und als formselektive Katalysatoren in der ölverarbeitenden Industrie eingesetzt.

Zeolithe werden konventionell durch Hydrothermalprozesse bei gemäßigten Temperaturen hergestellt.^[1] Bei dieser Methode besteht nur eine empirische Korrelation zwischen der Zusammensetzung des Ausgangsmaterials und der des Zeolithprodukts. Obwohl einige industriell wichtige Zeolithe unter Anwendung einer solchen empirischen Beziehung synthetisiert werden können, wird der Syntheseprozess im Allgemeinen in einem gewissen Bereich durch strukturbildende Reagentien (Template) so gesteuert, dass die Zeolithe mit dem gewünschten Kanalsystem und Strukturtyp erhalten werden. Alle heute bekannten Zeolithe mit Sechseringen als Baueinheiten wurden bereits auf diese Weise synthetisiert.^[2] Der empirische Charakter des Syntheseprozesses ist jedoch bei der Suche nach neuen Zeolith-Strukturtypen für spezifische Anwendungen unbefriedigend. Des Weiteren kann das Entfernen der Templatmaterialien aus dem Hohlraumsystem der Zeolithe zu Schwierigkeiten führen, die oft nicht befriedigend beseitigt werden können: Verbleibende Templatmaterialien im Hohlraumsystem verringern die Zeolithaktivität, oder diese Substanzen werden während der Anwendung des Zeoliths zerstört, was zu dessen Vergiftung führt. Abgesehen davon konnten einige Zeolithe, wie Stilbit und Laumontit, die in der Natur weit verbreitet sind, bisher durch keinen konventionellen Hydrothermalsyntheseprozess erhalten werden.^[3] Infolgedessen werden nur relativ wenige Zeolith-Strukturtypen industriell angewendet.

Davis und Mitarbeiter entwickelten ein Syntheseverfahren, bei dem Zeolithe, welche konventionell hydrothermal hergestellt wurden, durch Ionenaustausch modifiziert werden. Der gewünschte Zeolith wird schließlich unter Verwendung der entsprechenden Keime vom gewünschten Strukturtyp aus natürlichen Zeolithen in einem Hochdruck-Hydrothermalprozess gebildet.^[4]

In der im Folgenden vorgestellten alternativen, direkten Methode zur Zeolithsynthese werden die natürlichen hydro-

[*] Dr. O. Schäf, Prof. Dr. P. Knauth
Laboratoire des Matériaux Divisés,
Revêtements, Electrocéramiques (MADIREL)
UMR 6121, Université de Provence, CNRS
Centre St. Charles, Case 26, 13331 Marseille Cedex 3 (Frankreich)
Fax: (+33) 4-91-10-62-37
E-mail: schaef@newsup.univ-mrs.fr
knauth@up.univ-mrs.fr

Dr. H. Ghobarkar
Institut für Mineralogie
Freie Universität Berlin
Takustraße 6, 14195 Berlin (Deutschland)