

Dem Institutsdirektor, Herrn Prof. Dr. N. G. SCHMAHL, danken wir für das diesen Untersuchungen entgegengebrachte fördernde Interesse und für die Bereitstellung von Institutsmitteln. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, und der Fonds der Chemischen Industrie, Düsseldorf, haben unsere Arbeit durch Sachbeihilfen unterstützt, wofür wir ihnen auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

Frau Dr. N. MAI danken wir für die Aufstellung der benötigten Rechenprogramme in ALGOL 60. Dem Direktor des Instituts für Angewandte Mathematik, Herrn Prof. Dr.-Ing. J. DÖRR, haben wir für die Überlassung von Rechenzeit auf der Electrológica X1 zu danken. Schließlich gilt unser Dank den Herren G. DÜSTER, H. REICH und J. THOMÉ von den Institutswerkstätten für die sorgfältige Ausführung der beschriebenen Versuchsapparatur.

Excimerenfluoreszenz oligomerer Assoziante von 3,4-Benzpyren in wäßrigen Lauryl-Sulfonat-Lösungen

GÜNTER RESKE

Institut für Physikalische Biochemie und Kolloidchemie im Institut für Physikalische Chemie
der Universität Frankfurt a. M.

(Z. Naturforsch. **24 a**, 17—21 [1969]; eingegangen am 30. Juli 1968)

An Lösungen von 3,4-Benzpyren in wäßrigen Na-Laurylsulfonatlösungen wird etwa bei der doppelten kritischen Konzentration der Mizellbildung eine langwellige Fluoreszenz beobachtet, deren spektrale Zusammensetzung innerhalb der Toleranz der spektralen Zusammensetzung der Fluoreszenz des festen Kohlenwasserstoffs gleicht.

Wegen der eigenartigen Konzentrationsabhängigkeit wird diese Emission Excimeren zugeschrieben, die sich — in Analogie zum Excimeren-Mechanismus der Festkörperfluoreszenz von 3,4-Benzpyren — aus im Grundzustand vorliegenden Assoziaten bilden, die nach der Excimeren-Emission wieder zurückgebildet werden.

FÖRSTER und SELINGER¹ haben gezeigt, daß in Seifenlösungen von Pyren und 2-Methylnaphthalin mit Cetyl-dimethyl-benzylammoniumchlorid als Detergens der Konzentrationsumschlag der Excimerenfluoreszenz schon bei Konzentrationen auftritt, bei denen in entsprechenden mizelfreien organischen Lösungsmitteln noch die reine Monomerenfluoreszenz beobachtet wird²⁻⁸. Zum dort beobachteten Konzentrationsumschlag stehen die Ergebnisse der Messungen an den Seifenlösungen nur dann in quantitativer Übereinstimmung, wenn als Lösungsvolumen nur das Volumen des hydrophoben Anteils betrachtet wird. Damit erhalten FÖRSTER und SELINGER¹ aus den gemessenen Intensitäten — mit einer reziproken Stern-Volmer-Beziehung für die Quantenausbeute der Excimerenfluoreszenz — Halbwerts-

konzentrationen des Fluoreszenzumschlags von im Mittel mehr als 1 Molekül Kohlenwasserstoff pro Mizelle (70 Moleküle 2-Methylnaphthalin bzw. 1,3 Moleküle Pyren).

In der folgenden Arbeit wird gezeigt, daß in Seifenlösungen auch Excimerenfluoreszenz auftreten kann, wenn nur ein kleiner Anteil der Mizellen mit Kohlenwasserstoff beladen ist. In wäßrigen 0,2-proz. Na-Laurylsulfonatlösungen solubilisiertes 3,4-Benzpyren emittiert bei Anregung mit Licht der Wellenlänge 366 m μ eine breite Fluoreszenzbande mit dem Intensitätsmaximum bei ca. 500 m μ (siehe Abb. 1, Spektrum I; Abb. 2, Spektrum II) neben den Fluoreszenzbanden des freien Moleküls bei 406, 430, 457 und 485 m μ (siehe Abb. 1, Spektrum II). Die langwellige Emission ist der Fluoreszenz des festen

¹ TH. FÖRSTER u. P. SELINGER, Z. Naturforsch. **19 a**, 38 [1964].

² TH. FÖRSTER u. K. KASPER, Z. Phys. Chem. N.F. **1**, 275 [1954].

³ TH. FÖRSTER u. K. KASPER, Z. Elektrochem. Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **59**, 976 [1955].

⁴ E. DÖLLER u. TH. FÖRSTER, Z. Phys. Chem. N.F. **34**, 132 [1962].

⁵ E. DÖLLER, Z. Phys. Chem. N.F. **34**, 151 [1962].

⁶ J. B. BIRKS u. L. G. CHRITOPHOROU, Spectrochim. Acta **19**, 401 [1963].

⁷ E. DÖLLER u. TH. FÖRSTER, Z. Phys. Chem. N.F. **31**, 274 [1962].

⁸ TH. FÖRSTER, Pure Appl. Chem. **7**, 73 [1963].

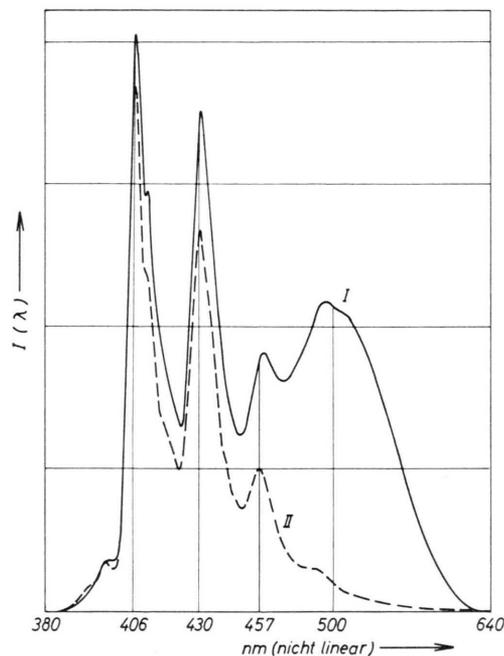


Abb. 1. I: Fluoreszenzspektrum von 3,4-Benzpyren (unkorr.) in 0,2-proz. Na-Laurylsulfonatlösung in Wasser, $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/l [aus der Absorption bei $387 \text{ m}\mu$ ($=0,28$) berechnet]; II: Spektrum der reinen Monomerenfluoreszenz von 3,4-Benzpyren, $0,36 \cdot 10^{-5}$ Mol/l [aus der Absorption bei $387 \text{ m}\mu$ ($=0,10$) berechnet].

Kohlenwasserstoffs sehr ähnlich. Ihr Auftreten ist nicht diffusionskontrolliert und ihre Quantenausbeute folgt keiner reziproken Stern-Volmer-Beziehung. Abweichend vom Verhalten der Excimerfluoreszenz, die FÖRSTER und SELINGER¹ an Pyren und 2-Methylnaphthalin in Seifenlösung beobachtet haben, verschwindet die langwellige Fluoreszenz von 3,4-Benzpyren in der Na-Sulfonatlösung mit steigender Konzentration der Seife und damit zunehmender Sättigungskonzentration des Kohlenwasserstoffs, während die Intensität der molekularen Emissionsbanden des Kohlenwasserstoffs noch zunimmt (siehe Abb. 2).

Zur Darstellung der Lösungen wurden Suspensionen des Kohlenwasserstoffs mit eingewogenen Seifenmengen über Nacht geschüttelt und anschließend bis zur völligen Beseitigung überschüssiger suspendierter Kohlenwasserstoffpartikel zentrifugiert und dekantiert.

Die Messungen an Lösungen, die auf diese Weise hergestellt worden waren, stimmten innerhalb der Toleranz von 10 bis 20% mit den Ergebnissen von Messungen an Lösungen überein, die durch Verdünnen 1-proz. Lösungen mit Wasser dargestellt waren.

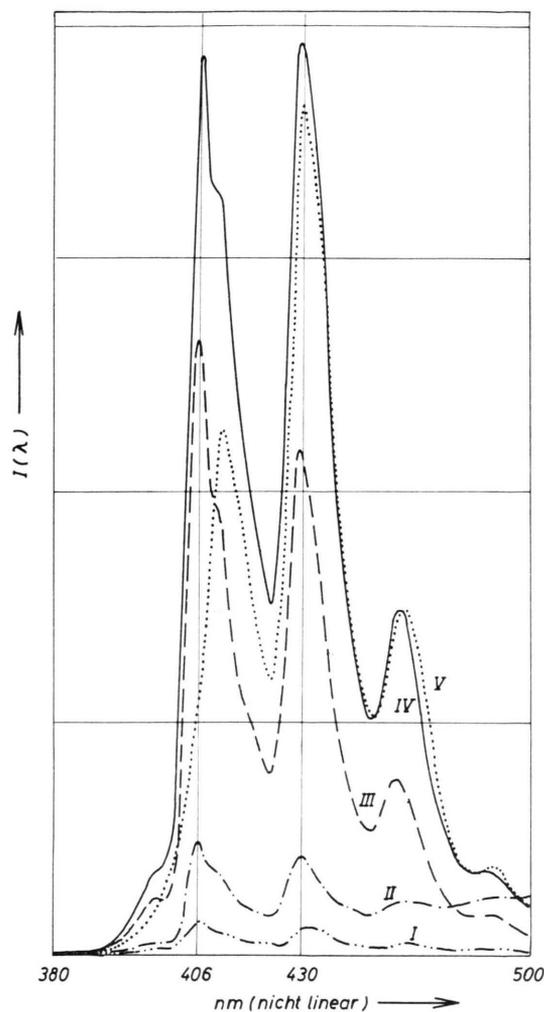


Abb. 2. Fluoreszenzspektren von 3,4-Benzpyren in Na-Laurylsulfonat/Wasser.

| Spektrum | I | II | III | IV | V |
|--|-------|------|------|------|------|
| Sulfonatkonz. (%) | 0,1 | 0,2 | 0,35 | 0,5 | 1,0 |
| E (387 nm) | 0,035 | 0,28 | 0,38 | 0,88 | 2,12 |
| Benzpyrenkonz. aus E ($\times 10^{-5} \cdot m$) | 0,13 | 1,0 | 1,4 | 3,2 | 7,7 |

Innerhalb der gleichen Toleranz herrscht Übereinstimmung zwischen den Intensitäten der Absorptions- und der molekularen Fluoreszenzspektren der Seifenlösungen des Kohlenwasserstoffs und den Absorptions- und Fluoreszenzspektren eingestellter äthanolischer Lösungen von 3,4-Benzpyren. Die Spektren in den Abbildungen sind nicht korrigiert.

In der Legende zu Abb. 2 sind die Konzentrationen des Kohlenwasserstoffs in Seifenlösungen ver-

schiedener Konzentrationen angegeben, wie sie aus den Extinktionen dieser Lösungen bei 387 m μ nach dem Lambert-Beerschen Gesetz berechnet wurden. Die Absorptionsspektren werden durch das Auftreten der langwelligen Fluoreszenz nicht verändert (Auflösung 5 Å).

Die Löslichkeit von 3,4-Benzpyren in reinem Wasser beträgt ca. 10^{-8} Mol/l (BOYLAND und GREEN⁹). In Seifenlösung wird die Solubilisierung höherer Konzentrationen von 3,4-Benzpyren erst oberhalb der kritischen Konzentration der Mizellbildung beobachtet. BÖHM-GÖSSL und KRÜGER¹⁰ haben gezeigt, daß bei verschiedenen Alkylbenzolsulfonat-Gemischen die Solubilisierung von 3,4-Benzpyren mit dem Überschreiten der kritischen Konzentration der Mizellbildung von 0,06 bis 0,08% beginnt, so daß umgekehrt auch aus der Solubilisierung auf die kritische Konzentration geschlossen werden kann. Bei den hier verwendeten Na-Laurylsulfonat-Lösungen ergibt sich durch Extrapolation der 3,4-Benzpyrenkonzentration in 0,35- und 0,1-proz. Seifenlösungen ebenfalls eine kritische Konzentration der Mizellbildung zwischen 0,06 und 0,08% Sulfonat (s. Abb. 3). Wegen der geringen Löslichkeit in Wasser ist praktisch die gesamte gelöste Kohlenwasserstoffmenge bei den hier beobachteten Sättigungskonzentrationen in der Größenordnung 10^{-4} bis 10^{-5} Mol/l durch die Seifenmizellen solubilisiert.

Wenn man die Dichte der Seife in Lösung näherungsweise gleich 1 setzt, so erhält man aus den in

| Sulfonatkonzentration (%) gesamt abzügl. (s. Legende zu Abb. 2) | Krit. Konz. der Mizellbildung | Konz. 3,4-Benzpyren in Mol/l | | |
|---|-------------------------------|--|---|---|
| | | bezogen auf Liter Lösung (s. Legende zu Abb. 2) | bezogen auf Liter partielles Seifenvolumen (Dichte näherungsweise gleich 1 gesetzt) | |
| | | | gesamt (s. 1. Spalte) | nur mizellar (s. 2. Spalte) |
| 0,1 | 0,026 | $0,13 \cdot 10^{-5}$ | $1,3 \cdot 10^{-3}$ | $5,0 \cdot 10^{-3}$ |
| 0,2 | 0,126 | $1,0 \cdot 10^{-5}$ * $0,36 \cdot 10^{-5}$ ** | $5,0 \cdot 10^{-3}$ * $1,8 \cdot 10^{-3}$ ** | $7,9 \cdot 10^{-3}$ * $2,9 \cdot 10^{-3}$ ** |
| 0,35 | 0,276 | $1,4 \cdot 10^{-5}$ | $4,0 \cdot 10^{-3}$ | $5,1 \cdot 10^{-3}$ |
| 0,5 | 0,426 | $3,2 \cdot 10^{-5}$ | $6,4 \cdot 10^{-3}$ | $7,5 \cdot 10^{-3}$ |
| 1,0 | 0,926 | $7,7 \cdot 10^{-5}$ | $7,7 \cdot 10^{-3}$ | $8,3 \cdot 10^{-3}$ |

* Gesamtkonzentration in der Lösung mit dem Emissionsspektrum II in Abb. 2 und I in Abb. 1.

** Anteil der freien Moleküle aus der Lösung mit dem Emissionsspektrum II in Abb. 1.

Tab. 1.

der Legende zu Abb. 2 auf das Lösungsvolumen bezogenen Kohlenwasserstoffkonzentration für die Konzentration des Kohlenwasserstoffs, bezogen auf das partielle Seifenvolumen allein, die in Tab. 1, Spalte 4, angegebenen Werte. Berücksichtigt man das Zustandekommen der Solubilisierung allein durch die Mizellen dadurch, daß vor der Berechnung des partiellen Seifenvolumens die kritische Konzentration der Mizellbildung (s. Extrapolation in Abb. 3) von der Gesamtkonzentration der Seife abgezogen wird, so erhält man die korrigierten Konzentrationen in Spalte 5 von Tab. 1. Die gesättigten Lösungen von 3,4-Benzpyren in 0,35- und mehrprozentigen Seifenlösungen fluoreszieren mit der gleichen spektralen Intensitätsverteilung wie auf gleiche Kohlenwasserstoffkonzentrationen eingestellte alkoholische Lösungen, d. h., daß in den Seifenlösungen die gleiche stationäre statistische Verteilung der intermolekularen 3,4-Benzpyrenmolekülabstände vorliegen muß wie in alkoholischen Lösungen mit der gleichen 3,4-Benzpyrenkonzentration. Das ist aber wegen der hohen Konzentrationen von 3,4-Benzpyren pro l partielles Seifenmizellvolumen (siehe Tab. 1, Spalte 5) nur möglich, wenn die Seifenmizellen so klein sind, daß pro Mizelle nicht mehr als ein Molekül 3,4-Benzpyren solubilisiert wird.

Als obere Grenze für die Mizellgröße erhält man mit dieser Bedingung aus den Kohlenwasserstoffkonzentrationen pro l partielles Mizellvolumen (Tab. 1, Spalte 5) ca. 1000 Seifenmoleküle pro Mizelle. Tatsächlich liegt die Zahl der Seifenmoleküle pro Mizelle in Lösungen dieser Art (s. STAUFF¹¹) konzentrationsunabhängig im gesamten hier betrachteten Bereich (Tab. 1, Abb. 2) in der Größenordnung 100, so daß nur ca. jede 10. Mizelle zur Solubilisierung beiträgt. Bei 0,1% Seife (die Menge der als Mizellen gelösten Seife ist klein gegen die Menge der als freie Moleküle gelösten Seife) und bei 0,35 und mehr Prozent Seife (die Menge der als Mizellen gelösten Seife ist groß gegen die Menge der als freie Moleküle gelösten Seife) werden in den Grenzen der Meßgenauigkeit der Emissionsspektren nur Einzelmoleküle solubilisiert. Bei 0,2% Seife (Seifenanteil in Form von Mizellen etwa gleich Seifenanteil in monomolekularer Verteilung in der Lösung) ist die Menge an solubilisiertem Kohlenwasserstoff bezogen

⁹ E. BOYLAND u. B. GREEN, Brit. J. Cancer **16**, 347 [1962].

¹⁰ TH. BÖHM-GÖSSL u. R. KRÜGER, Kolloid-Z. **206**, 65 [1965].

¹¹ J. STAUFF, Kolloidchemie, Springer-Verlag, Berlin 1960, S. 547.

auf die Seife größer als bei den benachbarten Seifenkonzentrationen (s. Tab. 1, Spalte 5) und etwa so groß wie bei 0,5- bis 1-proz. Seifenlösungen, im Mittel 1 Molekül 3,4-Benzpyren auf jede 7. Mizelle.

Abweichend von den konzentrierten Lösungen zeigt die 0,2-proz. Seifenlösung neben den Fluoreszenzbanden der freien Moleküle des solubilisierten Kohlenwasserstoffs die langwellige Fluoreszenzbande, die nur durch Wechselwirkung zwischen 2 (oder mehr) Molekülen 3,4-Benzpyren erklärt werden kann.

Wenn nur jede 7. Mizelle bei Gleichverteilung mit 3,4-Benzpyren belegt ist, dann ist der Anteil der bei statistischer Verteilung mehrfach belegten Mizellen sicher wesentlich kleiner als 50% der besetzten Mizellen. Soviel doppelt besetzte Mizellen müssen aber vorhanden sein, wenn die langwellige Fluoreszenz mindestens doppelt besetzten Mizellen zugeschrieben wird, wofür es keine Alternative gibt.

Die Absorption von 3,4-Benzpyren in der 0,2-proz. Seifenlösung mit dem Fluoreszenzspektrum I in Abb. 1 ist etwa dreimal so groß wie die Absorption des Anteils der Moleküle, die die Fluoreszenzbanden des Monomeren emittieren (Fluoreszenzspektrum II in Abb. 1), d. h. der Monomerenfluoreszenz entsprechen 1/3, der Excimerenfluoreszenz 2/3 der Extinktion des Kohlenwasserstoffs. Unter der Voraussetzung, daß durch das Auftreten von

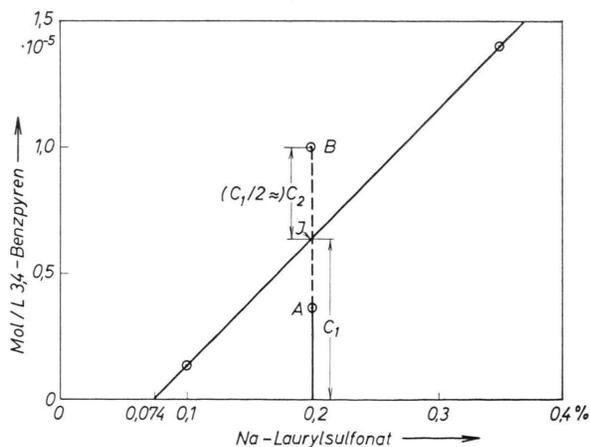


Abb. 3. a) Abschätzung der kritischen Konzentration der Mizellbildung durch Extrapolation auf die solubilisierete Kohlenwasserstoffmenge O. Die Konzentrationen wurden aus den Extinktionen bei $387\text{ m}\mu$ berechnet, s. Legende zu Abb. 2 und Tab. 1. b) Zur Zahl der besetzten Mizellen: A: ohne langwellige Emission, s. Abb. 1 und Tab. 1; B: mit langwelliger Emission, s. Abb. 1 und Tab. 1; im Mittel 1 Molekül 3,4-Benzpyren auf jede 7. Mizelle. J: Jede 10. Mizelle mit 3,4-Benzpyren besetzt (siehe Text).

mehr als zweifach besetzten Mizellen die Zahlenverhältnisse nicht wesentlich verschoben werden, und wenn man die Interpolation in Abb. 3 beachtet, ergibt sich, daß in 0,2-proz. Seifenlösungen ebenso wie bei 0,1- und 0,35-proz. Lösungen nur ca. 10% der Mizellen an der Solubilisierung beteiligt, 50% davon aber anders als bei den ausschließlich einfach besetzten Mizellen der Nachbarkonzentrationen doppelt besetzt sind ($c_2 \approx c_1/2$, s. Abb. 3).

Diese Verteilung ist statistisch nicht zu erklären; es ist notwendig, die wesentlich von hydrophober Wechselwirkung beeinflussten Eigenschaften der Seifenlösungen zu untersuchen, wie z. B. die thermodynamischen Daten der Solubilisierung des Kohlenwasserstoffs. Ihre Bestimmung aus der Temperaturabhängigkeit der Sättigungskonzentrationen wurde noch nicht durchgeführt.

Die eigenartige Verteilung läßt sich aber schon qualitativ verstehen, wenn man annimmt, daß ausgehend von der kritischen Konzentration der Mizellbildung mit zunehmender Seifenkonzentration zuerst neben monomeren 3,4-Benzpyren nicht linear zunehmend auch Assoziat (van der Waals-Dimere) solubilisiert werden. — Auch Oligomere mit mehr als 2 Molekülen 3,4-Benzpyren sind nicht auszuschließen, wenn auch nach der Darstellung in Abb. 3 die Dimeren zu überwiegen scheinen.

Das Verschwinden der Dimerenfluoreszenz bei Seifenkonzentrationen, bei denen der als Mizellen gelöste Anteil der Seife größer ist als der Anteil freier Moleküle, ist dann dadurch zu erklären, daß die durch hydrophobe Wechselwirkung verursachte Stabilisierung der Bindung einzelner Moleküle 3,4-Benzpyren durch die Mizellen ($Mz \cdot Bp$) so groß wird, daß daneben Assoziat $Mz \cdot Bp_n$ mit zunehmender Seifenkonzentration zunehmend unbeständig werden.

Die Annahme verschiedener Gleichgewichtskonstanten für die Solubilisierung von Monomeren und Oligomeren wird gestützt durch die Beobachtung, daß die Oligomeren selektiv durch Fremdzusätze aus der Lösung verdrängt werden können. So verschwindet z. B. die Oligomerenfluoreszenz und der entsprechende Anteil der Absorption des Kohlenwasserstoffs, wenn die 0,2-proz. Seifenlösung von 3,4-Benzpyren zusätzlich mit Tryptophan gesättigt wird, und man erhält die reine Monomerenfluoreszenz des Kohlenwasserstoffs (Spektrum II in Abb. 1).

Ein Einfluß der Wechselwirkung mit dem Wasser ist wegen der Gestalt der Absorptionsspektren des

Kohlenwasserstoffs (s. Abb. 4) zu vermuten, die in verschiedenen anderen wäßrigen Solubilisatzen die gleiche, von der Gestalt der Absorptionsspektren in organischen Lösungsmitteln abweichende Gestalt und untereinander nur geringe Verschiebungen der Bandenmaxima zeigen. Offenbar wird die Wechselwirkung zwischen Kohlenwasserstoff und Wasser in wäßrigen Lösungen durch die verschiedenen Solubilisatoren nur wenig beeinflusst.

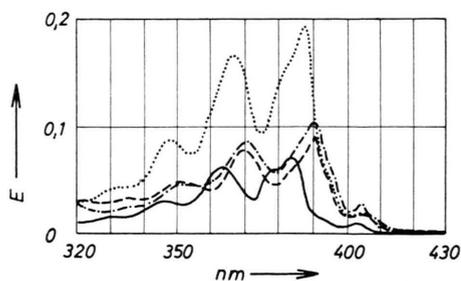


Abb. 4. UV-Absorptionsspektren von 3,4-Benzpyren in verschiedenen Lösungsmitteln¹⁹. Differenzspektren gegen die jeweiligen Lösungsmittel. Apparatur: Beckman DK2a.

- 2,5 · 10⁻⁶-m. 3,4-Benzpyren in Äthanol.
- - - - - 3,4-Benzpyren (gesättigte Lösung) in wäßriger Lösung von β -Lactoglobulin, 0,2%, 0,2-m. Trispuffer pH 7.
- · - · - · 3,4-Benzpyren (gesättigte Lösung) in wäßriger Lösung von Coffein, 0,2%, 0,2-m. Trispuffer pH 7.
- · · · · 3,4-Benzpyren (1/5 der Sättigungskonzentration) in wäßriger Lösung von Na-Laurylsulfonat, 0,5%.

Die Excimerenfluoreszenz der Assoziante von 3,4-Benzpyren in 0,2-proz. Na-Laurylsulfonatlösung gleicht der Festkörperfluoreszenz des Kohlenwasserstoffs. Für die Festkörperfluoreszenz, die bei Kohlenwasserstoffkristallen beobachtet wird, deren Moleküle wie im monoklinen 3,4-Benzpyren in paralle-

len Paaren oder Schichten angeordnet sind, wurde von STEVENS¹² ein Excimerenmechanismus angenommen. Wie im Kristall können auch in Seifenlösungen aus van der Waals-Assoziaten im Grundzustand bei der Anregung Excimere entstehen, die nach der Emission nicht wie Excimere in Lösung in freie Moleküle im Grundzustand zerfallen, sondern wieder in van der Waals-Assoziante im Grundzustand übergehen.

Weil für die nicht angeregten Dimeren bzw. Oligomeren in der Seifenlösung ein Zustand wie im monoklinen Kristall anzunehmen ist, wurde die hier beschriebene Excimerenfluoreszenz zuerst als Festkörperfluoreszenz bezeichnet¹³.

Ähnliche Excimerenfluoreszenzbanden sind von STEVENS¹² und von SCHMILLEN¹⁴ an festen Lösungen von Pyren und Perylen in Naphthalin oder Fluoren beobachtet und im Fremdgitter gelösten Paar-Assoziaten zugeschrieben worden. Vielleicht ist auch der schwache Anstieg der Excimerenfluoreszenz von Pyren bei der kleinsten Seifenkonzentration, die von FÖRSTER und SELINGER¹ untersucht wurde, auf eine analoge Erscheinung zurückzuführen.

Von CHANDROSS, FERGUSON und McRAE¹⁵, FERGUSON¹⁶ und CHANDROSS und FERGUSON¹⁷ wurden bei tiefen Temperaturen Dimeren von Perylen, Anthracen und Anthracenderivaten dargestellt, die Excimerenfluoreszenz emittieren. Die Absorptionsspektren dieser bei Zimmertemperatur unbeständigen Dimeren unterscheiden sich von den Absorptionsspektren der entsprechenden Monomeren.

Kürzlich hat ROCHLITZ¹⁸ osmotische und NMR-Messungen an Lösungen von Pyren und 3-Methylpyren mit der Existenz von Dimeren im Grundzustand interpretiert.

¹² B. STEVENS, Spectrochim. Acta **18**, 439 [1962].

¹³ G. LÖBER, Generaldiskussion I auf dem IV. Jenaer Symposium „Molekulare Mechanismen photodynamischer Effekte“, studia biophysica, Berlin **3**, 139 [1967], s. S. 143.

¹⁴ A. SCHMILLEN, Z. Naturforsch. **16 a**, 5 [1961].

¹⁵ E. A. CHANDROSS, J. FERGUSON u. E. G. McRAE, J. Chem. Phys. **45**, 3546 [1966].

¹⁶ J. FERGUSON, J. Chem. Phys. **44**, 2677 [1966].

¹⁷ E. A. CHANDROSS u. J. FERGUSON, J. Chem. Phys. **45**, 3554 [1966].

¹⁸ J. ROCHLITZ, Z. Naturforsch. **22 b**, 986 [1967].

¹⁹ G. RESKE, Habilitationsschrift, Universität Frankfurt 1967.