

stieg die Temperatur des Scheibchens um nicht mehr als 5 °C an. Um überschüssige Photobiotin-Reste zu deaktivieren, wurde die Scheibe in eine Lösung von 10 mg mL<sup>-1</sup> Casein in PBS getaucht und 15 min bestrahlt. Die Entwicklung des Musters umfaßte zwei Schritte: Zunächst wurde 60 min in einer Lösung von 10 µg mL<sup>-1</sup> TRITC-markiertem anti-Kaninchen-IgG aus Ziege in PBS entwickelt und anschließend weitere 60 min in einer Lösung von 10 µg mL<sup>-1</sup> FITC-markiertem anti-Ratten-IgG aus Kaninchen in PBS. Alle verwendeten IgGs waren polyklonal und wurden von Sigma bezogen.

Beschriftung einer Goldoberfläche mit Antikörpern: Die Goldoberfläche wurde zunächst mit *N*-Acetylcystein modifiziert, an welches dann Avidin D unter Verwendung eines Carbodiimids als Kupplungsgagens gebunden wurde [10]. Immobilisiert wurden die IgG wie zuvor beschrieben.

Elektrochemische Messungen: Die Goldelektroden (0,2 cm Durchmesser) wurden zunächst 2 h mit einer 5 mM Lösung von *N*-Acetylcystein (Sigma) in 10 mM Phosphatpuffer, pH 7,0, behandelt und anschließend mit Wasser gewaschen. Die mit *N*-Acetylcystein modifizierten Elektroden wurden 2 h bei 25 °C in einer Lösung mit 10% (w/v) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) in 10 mM Phosphatpuffer inkubiert und anschließend mit Wasser gewaschen. Die mit EDC aktivierten Elektroden wurden bei 4 °C 16 h in eine Lösung von 0,2 mg mL<sup>-1</sup> Avidin in 10 mM Phosphatpuffer gelegt. Nachdem die Elektrode mit Wasser gespült worden war, wurde sie 1 h bei Raumtemperatur in einer Lösung von 0,2 mg mL<sup>-1</sup> Casein in 10 mM Phosphatpuffer inkubiert. Die mit Avidin beschichtete Goldelektrode wurde mit Photobiotin 1 behandelt, und beide Elektroden wurden mit anti-Kaninchen-IgG aus Ziege überzogen. Jeweils eine der beiden Elektroden wurde anschließend je einem Antigen, das im Überschuß vorlag, ausgesetzt, Kaninchen-IgG (Signal a) und Ratten-IgG (Signal b). Schließlich wurden beide Elektroden 2 h mit ALP-markiertem anti-Kaninchen-IgG aus Ziege, das im Überschuß vorlag, inkubiert und danach gewaschen. Eine Lösung von 10 mM 1-Naphthylphosphat in 100 mM Tris mit 2,7 mM KCl und 137 mM NaCl wurde zu den Elektroden gegeben und die Elektroden nach 5 min bei +320 mV gegen Ag/AgCl ausgeglichen. Zwei Minuten lang wurde ein Strom gemessen, der auf die elektrochemische Oxidation von enzymatisch produziertem 1-Naphthol zurückzuführen ist, welches – anders als 1-Naphthylphosphat – bei diesem Potential elektrochemisch aktiv ist. Wenn ALP-markiertes anti-Ratten-IgG aus Ziege anstelle von ALP-markiertem anti-Kaninchen-IgG aus Ziege verwendet wird, ergeben beide Elektroden Signale des Typs b. Dies zeigt, daß die nichtspezifische Bindung (NSB) von Ratten-IgG an Elektroden, die mit anti-Kaninchen-IgG aus Ziege beschichtet sind, minimal ist.

Eingegangen am 28. Juni,  
veränderte Fassung am 5. September 1994 [Z 7081]

**Stichworte:** Antikörper · Immobilisierung · Immunsensoren · Photolithographie

- [1] P. E. Laibinis, J. J. Hickman, M. S. Wrighton, G. M. Whitesides, *Science* **1989**, *245*, 845–847.
- [2] S. P. A. Fodor, J. L. Reid, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, D. Solas, *Science* **1991**, *251*, 767–773.
- [3] P. Connolly, J. M. Cooper, G. M. Moores, J. Shen, G. Thompson, *Nanotechnology* **1991**, *2*, 160–163.
- [4] C. S. Dulcey, J. H. Georger, V. Krauthmaier, D. A. Stenger, T. L. Fare, J. M. Calvert, *Science* **1991**, *252*, 551–554.
- [5] C. R. Lowe, F. G. P. Earley US-A 4562157, **1985**.
- [6] S. K. Bhatia, J. L. Teixeira, M. Anderson, L. C. Shriver-Lake, J. M. Calvert, J. H. Georger, J. J. Hickman, C. S. Dulcey, P. E. Schoen, F. S. Ligler, *Anal. Biochem.* **1993**, *208*, 197–205.
- [7] A. C. Forster, J. L. McInnes, D. C. Skingle, R. H. Symons, *Nucleic Acids Res.* **1985**, *13*, 745–776.
- [8] E. Lacey, W. N. Grant, *Anal. Biochem.* **1987**, *163*, 151–158.
- [9] P. A. S. Smith in *Azides and Nitrenes. Reactivity and Utility* (Hrsg.: E. F. V. Scriven), Academic Press, London, **1984**, S. 95.
- [10] J. M. Cooper, K. Greenough, C. J. McNeil, *J. Electroanal. Chem. Interfacial. Electrochem.* **1993**, *347*, 267–275.

## Die Farben von C<sub>60</sub>-Lösungen\*\*

Javier Catalán\*, José L. Saiz\*, José L. Laynez,  
Nadine Jagerovic und José Elguero\*

Es überrascht, daß eine unpolare Verbindung wie C<sub>60</sub> in Lösung verschiedene Farben zeigt, die vom verwendeten Lösungsmittel abhängen<sup>[1, 2]</sup>. Beispielsweise wurde über folgende Farben von C<sub>60</sub>-Lösungen berichtet: pink in Fluorbenzol (FB), magenta in Toluol (T), bläulichviolett in Methoxybenzol (MOB), bräunlich in 1,2-Dimethoxybenzol (12DMOB) sowie braungelb in 1,2,3,5-Tetramethylbenzol (1235TMB). Diese Beobachtungen können nicht auf den Einfluß vom Lösungsmittel zurückgeführt werden; weder Lösungsmittelpolarität noch -polarisierbarkeit spielen eine Rolle.

Ermer<sup>[1]</sup> berichtete über die Farben von C<sub>60</sub>-Lösungen in einer Reihe von aromatischen Lösungsmitteln mit unterschiedlich stark ausgeprägtem  $\pi$ -Donor-Charakter (von Nitrobenzol über Benzol bis Anisol und schließlich 12DMOB). Er regte an, die UV/VIS-Spektren dieser Lösungen im Hinblick auf Charge-Transfer(CT)-Effekte zu untersuchen. Wang et al.<sup>[3, 4]</sup> und Rao et al.<sup>[5, 6]</sup> schlugen CT-Komplexe zur Erklärung der Wechselwirkung zwischen C<sub>60</sub> und *N,N*-Dimethylanilin vor, während Williams und Verhoeven<sup>[7]</sup> solche Komplexe für die Wechselwirkung zwischen C<sub>60</sub> und 12DMOB oder eines Alkoxycalix[8]-arensulfonats postulierten.

Unabhängig davon untersuchten Scrivens und Tour<sup>[2]</sup> die Löslichkeit von C<sub>60</sub> in 30 aromatischen Lösungsmitteln (Benzol- und Naphthalinderivaten) und beschrieben die Farben der entsprechenden gesättigten Lösungen. Wenn man diese Daten analysiert, scheinen – von gewissen Ausnahmen abgesehen – Farbe und Löslichkeit miteinander zu korrelieren. In den Lösungsmitteln, in denen C<sub>60</sub> weniger löslich ist (von 0,3 mg mL<sup>-1</sup> in Pyridin bis 1,4 mg mL<sup>-1</sup> in *tert*-Butylbenzol), sind die gesättigten Lösungen pink. Im Zwischenbereich (von 1,5 mg mL<sup>-1</sup> in Benzol bis 17,9 mg mL<sup>-1</sup> in 1,2,4-Trimethylbenzol) sind die gesättigten Lösungen magenta. In den Lösungsmitteln schließlich, in denen sich C<sub>60</sub> am besten löst, sind die gesättigten Lösungen bräunlich, so in 1235TMB (20,8 mg mL<sup>-1</sup>) und in 1-Brom-2-methylnaphthalin (34,8 mg mL<sup>-1</sup>). Chinolin bildet eine Ausnahme, denn die Lösung ist bräunlich gefärbt, obwohl die Löslichkeit von C<sub>60</sub> hier nur 7,2 mg mL<sup>-1</sup> beträgt.

Bei ihrer Untersuchung der Löslichkeit von C<sub>60</sub> in 47 aromatischen und nichtaromatischen Lösungsmitteln diskutieren Ruoff et al.<sup>[8]</sup> nicht die Farben der Lösungen. Jedoch berichten sie, daß sie „im Falle des Cyclohexans bemerkten, daß die anfängliche Zugabe des Lösungsmittels zu C<sub>60</sub> zu einer ziemlich intensiven Purpurfärbung führte, die auf eine hohe Löslichkeit hindeuten würde. Nach der Filtration durch ein 0,45-mm-Filter wurde aber nur eine schwach gefärbte Lösung erhalten. Der größte Teil der Färbung rührte von einem flockigen, purpurfarbenen Feststoff her, der in der Lösung lange suspendiert blieb“. Die Löslichkeit von C<sub>60</sub> in Cyclohexan ist mit 0,002 mg mL<sup>-1</sup> sehr gering<sup>[8]</sup>.

[\*] Prof. Dr. J. Catalán

Departamento de Química Física Aplicada  
Universidad Autónoma de Madrid  
Cantoblanco, E-28049 Madrid (Spanien)  
Telefax: Int. + 91/3974-187

Dr. J. L. Saiz, Dr. J. L. Laynez  
Instituto de Química Física Rocasolano Madrid (Spanien)

Dr. N. Jagerovic, Dr. José Elguero  
Instituto de Química Médica Madrid (Spanien)

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Sonderprojekt „Fullerene“) und von der spanischen Dirección General de Investigación Científica y Técnica (Projekt Nr. PB90-0117) gefördert.

In Anbetracht all dieser Berichte wollen wir hier versuchen, zwei grundlegende Fragen zu beantworten: 1) Ändert sich die Farbe einer gesättigten  $C_{60}$ -Lösung beim Verdünnen oder beim Stehenlassen? 2) Gilt im untersuchten Konzentrationsbereich das Lambert-Beer-Gesetz? Die zweite Frage hängt mit der Möglichkeit zusammen, daß  $C_{60}$  je nach Konzentration teilweise monomer und teilweise aggregiert oder in Suspension vorliegt. Die Beantwortung der beiden Fragen wird helfen, zu verstehen, warum  $C_{60}$  seine Farbe mit dem Lösungsmittel ändert.

Die Abbildungen 1, 2 und 3 zeigen jeweils eine Reihe von  $C_{60}$ -Lösungen in 12DCB (1,2-Dichlorbenzol), 1235TMB bzw. 12DMOB. Die entsprechenden Konzentrationswerte sind in Tabelle 1 angegeben. In den drei Reihen haben die Lösungen mit gleichen Nummern etwa die gleiche Konzentration.



Abb. 1. Lösungen von  $C_{60}$  in 1,2-Dichlorbenzol (12DCB). Konzentrationen siehe Tabelle 1.

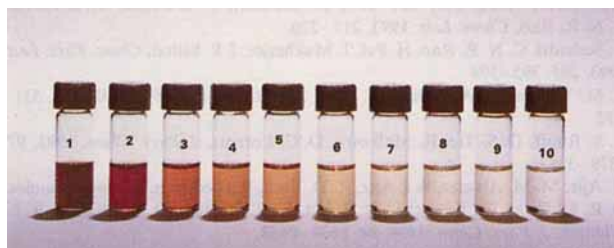


Abb. 2. Lösungen von  $C_{60}$  in 1,2,3,5-Tetramethylbenzol (1235TMB). Konzentrationen siehe Tabelle 1.



Abb. 3. Lösungen von  $C_{60}$  in 1,2-Dimethoxybenzol (12DMOB). Konzentrationen siehe Tabelle 1.

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, haben konzentrierte Lösungen von  $C_{60}$  in 12DCB eine schöne Magentafärbung, die beim Verdünnen schwächer wird, aber den Farbton beibehält. Alle diese Lösungen ergeben zwischen 700 nm und 300 nm *identische*

Spektren. Auf einen Lichtweg von 1 cm und eine Konzentration von 1 M normiert, sind diese Spektren nahezu deckungsgleich. Daraus folgt, daß das Lambert-Beer-Gesetz befolgt wird.

Konzentrierte Lösungen von  $C_{60}$  in 12DMOB (Abb. 3) haben eine rot-bräunliche Farbe, die beim Verdünnen zunächst zu rot wechselt (bis  $2 \times 10^{-3}$  M), dann zu orange (bis  $1 \times 10^{-3}$  M) und schließlich zu gelb (unterhalb von  $1 \times 10^{-4}$  M). Dennoch folgen die Spektren dem Lambert-Beer-Gesetz. Daher sind sie alle *identisch*, wenn auf einen Lichtweg von 1 cm und eine Konzentration von 1 M normiert wird. Wir haben überprüft, daß die konzentriertesten Lösungen keine Aggregate enthalten, die größer als 0.45 µm sind: Weder die Farben noch die Spektren ändern sich, wenn diese Lösungen durch ein 0.45-mm-Filter filtriert werden.

Ein ähnliches Phänomen tritt bei Lösungen von  $C_{60}$  in 1235TMB auf (Abb. 2). Hier ändert sich die Farbe von bräunlich nach gelb, wenn die Konzentration von  $5 \times 10^{-3}$  M auf  $2 \times 10^{-5}$  M herabgesetzt wird.

In allen Fällen wird das Lambert-Beer-Gesetz befolgt. Trägt man die Extinktion gegen die molare Konzentration auf (14 Meßpunkte), so ergeben sich bei 333 nm beispielsweise die Werte  $R = 0.994$  bei 12DCB und  $R = 0.998$  bei 1235TMB sowie  $R = 0.990$  bei 12DMOB. Die Extinktionskoeffizienten wurden bei den Wellenlängen 410, 470, 520, 580, 600 und 650 nm bestimmt; diese entsprechen dem violetten, blauen, grünen, gelben, orangen bzw. roten Spektralbereich. Die Werte sind in Tabelle 2 neben denen für andere Lösungsmittel aufgeführt.

Tabelle 2. Molare Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  [ $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ] von  $C_{60}$  in verschiedenen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	$\epsilon_{410}$	$\epsilon_{470}$	$\epsilon_{520}$	$\epsilon_{580}$	$\epsilon_{600}$	Farbe
Toluol (T)	2 561	438	826	678	788	magenta
Isopropylbenzol (IPB)	1 834	338	623	514	609	magenta
Chlorbenzol (CB)	2 313	444	843	662	794	magenta
1,2-Dichlorbenzol (12DCB)	3 170	616	979	786	887	magenta
Fluorbenzol (FB)	3 224	976	847	572	548	pink
Methoxybenzol (MOB)	5 744	423	773	691	769	bläulichviolett
1,2-Dimethoxybenzol (12DMOB)	6 600	3 570	1 725	1 060	1 050	bräunlich
1,2,3,5-Tetramethylbenzol (1235TMB)	10 332	734	1 040	827	917	braungelb

Bei gleicher Konzentration ( $7 \times 10^{-4}$  M) weisen die Lösungen in 12DCB, 1235TMB und 12DMOB Farbunterschiede auf, die in Abbildung 4 deutlich zu erkennen sind. Abbildung 5 gibt die Farbabweichungen wieder, die sich bei einer  $C_{60}$ -Konzentration von  $1.1 \times 10^{-4}$  M in weiteren Lösungsmitteln ergeben. Diese Farben bleiben über Wochen unverändert. Was Farbe und Löslichkeit<sup>[2]</sup> anbelangt, so hängen die Farben der  $C_{60}$ -Lösungen sowohl vom Lösungsmittel als auch von der Konzentration ab.

Das UV/VIS-Absorptionsspektrum von  $C_{60}$  in einem „inerten“ Lösungsmittel wie *n*-Hexan ist bei Wellenlängen über 300 nm charakterisiert durch einen intensiven Peak bei 332 nm.

Tabelle 1.  $C_{60}$ -Konzentration in 1,2-Dichlorbenzol (Abb. 1), 1,2,3,5-Tetramethylbenzol (Abb. 2) und 1,2-Dimethoxybenzol (Abb. 3).

Gefäß Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Konz. [M]	$5.08 \times 10^{-3}$	$2.54 \times 10^{-3}$	$1.07 \times 10^{-3}$	$7.11 \times 10^{-4}$	$5.08 \times 10^{-4}$	$2.54 \times 10^{-4}$	$1.05 \times 10^{-4}$	$7.37 \times 10^{-5}$	$5.27 \times 10^{-5}$	$2.63 \times 10^{-5}$



Abb. 4. Von links nach rechts: Lösungen von  $C_{60}$  in 1,2-Dichlorbenzol (12DCB), 1,2,3,5-Tetramethylbenzol (1235TMB) und 1,2-Dimethoxybenzol (12DMOB), jeweils bei einer Konzentration von  $7.1 \times 10^{-4}$  M.



Abb. 5.  $1.1 \times 10^{-4}$  M Lösungen von  $C_{60}$  in den Lösungsmitteln T, FB, CB, MOB, IPB, 12DCB, 12DMOB und 1235TMB (von links nach rechts). Abkürzungen siehe Tabelle 2.

Im sichtbaren Bereich, in dem  $C_{60}$  nahe 630 nm absorbiert, sind die hervorstechenden Merkmale die Durchlässigkeit im Blauen (424–492 nm), bereits von Ajie et al.<sup>[9]</sup> bemerkt, und im Roten (650 nm). Das menschliche Auge nimmt eine schöne Purpurfärbung wahr, weil in diesen beiden Bereichen die Absorption schwach ist.

Unsere Versuchsreihen ergaben folgendes Bild: 1) Es existieren bei höheren Konzentrationen keine Aggregate oder Suspensionen; denn in diesen Lösungen treten nach Filtration keine Änderungen auf, und das Lambert-Beer-Gesetz wird stets befolgt. 2) Die Farbänderungen von  $C_{60}$  mit der Konzentration beruhen nicht auf der Existenz von CT-Komplexen zwischen  $C_{60}$  und einigen aromatischen Verbindungen, denn in solchen Lösungsmitteln sind die Spektren deckungsgleich, wenn die Konzentrationen normiert sind (dies schließt eine Auswirkung der Konzentration auf die Mengenverhältnisse der Spezies aus, die im Sichtbaren absorbieren).

Da die Absorptionsspektren des Fulleren  $C_{60}$  wegen seiner unpolaren Natur ziemlich unempfindlich gegenüber dem Lösungsmittel sind, treten keine deutlichen Verschiebungen auf – weder bathochrome noch hypsochrome. In Abbildung 6 sind

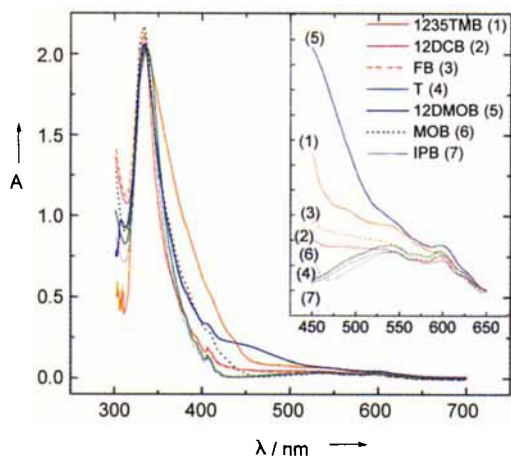


Abb. 6. UV/VIS-Spektren von  $C_{60}$  in verschiedenen Lösungsmitteln bei einer Konzentration von  $7 \times 10^{-5}$  M.

die Spektren bei den Lösungsmitteln dargestellt, die in dieser vorliegenden Arbeit verwendet wurden. Die Konzentration betrug jeweils  $7.3 \times 10^{-5}$  M. Wir folgern daher, daß die Ursache des Phänomens vor allem in den unterschiedlich starken Absorptionen zwischen 400 nm und 500 nm liegt, die das menschliche Auge als Farbabweichungen wahrnimmt.

### Experimentelles

Das verwendete  $C_{60}$  stammte von der Firma MER und wies eine Reinheit >99.5% auf. Soweit verfügbar, wurden Lösungsmittel von Aldrich mit einer Reinheit von über 99% eingesetzt: Fluorbenzol (FB), Toluol (T), Chlorbenzol (CB), Methoxybenzol (MOB), Isopropylbenzol (IPB), 1,2-Dichlorbenzol (12DCB) und 1,2-Dimethoxybenzol (12DMOB). Das Lösungsmittel 1,2,3,5-Tetramethylbenzol (1235TMB) stammte ebenfalls von Aldrich, war aber nur von technischer Qualität.

Die UV/VIS-Spektren der  $C_{60}$ -Lösungen wurden mit einem Cary-210-Spektrophotometer aufgenommen; die Küvetten hatten einen Lichtweg von 0.1 oder 1.0 cm. Bei den Lösungen mit den höchsten Konzentrationen wurde dabei wegen der starken Absorption der Sättigungsbereich des Spektrometersignals erreicht. In diesen Fällen verwendeten wir deshalb ein Cary-5-Spektrophotometer. Dessen Küvette hatten einen variablen Lichtweg, den wir auf 0.005 cm einstellen.

Eingegangen am 23. Juni 1994 [Z 7068]

**Stichworte:**  $C_{60}$  · Fullerene · Lösungsmittelleffekte · UV-Vis-Spektroskopie

- [1] O. Ermer, *Helv. Chim. Acta* **1991**, 74, 1339–1351.
- [2] W. A. Scrivens, J. M. Tour, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1207–1209.
- [3] Y. Wang, *J. Phys. Chem.* **1992**, 96, 764–767.
- [4] Y. Wang, L. T. Cheng, *J. Phys. Chem.* **1992**, 96, 1530–1532.
- [5] C. N. R. Rao, R. Seshadri, A. Govindaraj, J. P. Mittal, H. Pal, T. Mukherjee, *J. Mol. Struct.* **1993**, 300, 289–301; R. Seshadri, F. D'Souza, V. Krishnan, C. N. R. Rao, *Chem. Lett.* **1993**, 217–220.
- [6] R. Seshadri, C. N. R. Rao, H. Pal, T. Mukherjee, J. P. Mittal, *Chem. Phys. Lett.* **1993**, 205, 395–398.
- [7] R. M. Williams, J. W. Verhoeven, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1992**, 111, 531–532.
- [8] R. S. Ruoff, D. S. Tse, R. Malhotra, D. C. Lorents, *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 3379–3383.
- [9] H. Ajie, M. M. Alvarez, S. J. Anz, R. D. Beck, F. Diederich, K. Fostiropoulos, D. R. Huffman, W. Krätscher, Y. Rubin, K. E. Schriver, D. Sensharma, R. L. Whetten, *J. Phys. Chem.* **1990**, 94, 8630–8633.

## Photochemisch schaltbare Phasentrennung in hydrophob modifizierten Poly(acrylamid)/Tensid-Systemen\*\*

Jochem J. Effing und Jan C. T. Kwak\*

In den letzten Jahren haben selbstorganisierende chemische Systeme stark an Interesse gewonnen. Typische Bausteine für supramolekulare Strukturen in Wasser sind Tenside oder allgemein Amphiphile. Deren Fähigkeit zur Selbstorganisation kann durch Einbau funktioneller Gruppen (z.B. photoaktiv<sup>[1]</sup> oder redoxaktiv<sup>[2]</sup> Einheiten) beeinflusst werden. Wechselwirkungen zwischen Polymeren und Tensiden in wäßrigem Milieu führen zur Bildung von Komplexen mit speziellen physikalisch-chemischen Eigenschaften. Solche Systeme sind für sehr

[\*] Prof. Dr. J. C. T. Kwak, Dr. J. J. Effing  
Department of Chemistry, Dalhousie University  
Halifax, Nova Scotia B3H 4J3 (Kanada)  
Telefax: Int. + 902/494-1310

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), vom Killam Trust der Dalhousie University (Stipendium für J.J.E.) und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. Die Autoren danken I. J. McLennan für die hilfreichen Diskussionen.