

第 3 章

分散力を主相互作用とする固相抽出剤の開発と
ハロゲン化芳香族化合物に対する捕捉特性

*Development of the solid phase extractants
having a dispersion force as the main interaction and
its retention properties for halogenated aromatic compounds*

3.1 緒言

質量分析計 (MS) の普及は、分離分析におけるプロトコールを根底から変革してしまった。被検成分が何らかのイオン化法によってイオン化可能であれば、MS で質量数毎に分離・検出される。この時、被検成分固有の質量数でモニターすることができれば、分離系 (HPLC や GC 等) において夾雑成分との分離が多少不十分であっても高選択的かつ高感度に検出可能である。タンデム型の MS (MS/MS) を使用すれば夾雑成分に基づく干渉をさらに解消できる。このような HPLC や GC 等と MS とのハイフネーションシステムは『分離と検出の高度な融合システム』と呼べるが、質量分析計の力に依存してあたかも分離が行われているかのように装っているに過ぎない。実際、複雑なマトリクスを含む試料中の微量成分の測定においては、高濃度の夾雑成分により増感や減感、誤検出 (疑似検出) 等の問題が引き起こされ、高精度な測定結果を得ることができないことも多い。また、分離系においても、夾雑成分によって分離度の低下やピーク変形等の分離に関わる問題が発生することが多い。従って、分離系に導入する前に何らかの前処理手段により夾雑物質を除去・低減して、分離系や MS への負荷を低減させなければ MS の本来の能力を有効活用することはできない。

分離・抽出のための前処理手法としては、溶媒抽出 (液-液抽出, liquid-liquid extraction: LLE) が従来から広く用いられてきたが、操作性, 簡便性, 信頼性, さらに環境対策等の面から種々の課題が指摘されている。これらの課題の克服策として、近年、固相抽出法 (solid phase extraction: SPE) が普及している。

SPE の基本的な概念は 1960 年代に確立され、1980 年代以降急速に発展した。SPE は LLE の欠点の多くを解決する前処理手法として、機器分析にはなくてはならない前処理手法として定着し、既に多くの総説が出されている [1-5]。当初、オクタデシル基導入シリカゲル (ODS, C18) やスチレン-ジビニルベンゼン共重合体 (Sty/DVB) は、水試料中の多種多様な疎水性溶質の SPE に使用された。しかし、第 1 章に述べたように、これらの固相抽出剤の選択性は乏しく、分析において好ましくない夾雑成分も同時に捕捉・抽出してしまい、時には夾雑成分の妨害により対象成分の抽出率が低下してしまうこともある。

上記の問題を解消するため、対象成分の特異的な分子構造を認識可能な分離剤が開発されている。代表的なものとして、分子鋳型ポリマー (molecular imprinted polymers: MIPs) [6, 7] と抗体結合樹脂 [8] があげられる。前者は対象分子の特異的官能基の種類と結合位置、後者は抗原抗体反応に基づき、高度に分子認識することが可能である。しかし、これらの分離剤にも若干の欠点が指摘されている。MIPs では、合成に用いた鋳型分子 (テンプレート) を完全に除去することが難しく、残存したテンプレートが溶出して偽陽性結果 (正誤差) を引き起こす恐れがある。これらの問題を最小にするため、MIPs の合成には多大なる手間と時間がかかり、高価な分離剤となる。また、認識部位が類似している化合物も捕捉する恐れがあるため、必ずしも特異的な分離剤とは言えない。一方、抗体結合樹脂は非常に高い選択性を有するが、これらの保存は難しく、少量の有機溶媒中で抗体の変性が生じてしまう。抗体に代わるものとして、選択的な吸着性を有する合成核酸であるアプタマー [9, 10] が分析化学分野で近年使用され始めているが、SPE への使用は始まったばかりである。

固相抽出剤の選択性向上策として 2 種類以上の官能基を導入した多機能型固相抽出剤も開発されているが、分子認識性を格段に向上させることは困難である。筆者が所属する研究室では、対象成分に対する選択性向上策として非結合性分子間力に代表される弱い分子間相互作用の活用を考え、より弱い力を強い分子間相互作用と組み合わせた多機能型固相抽出剤を開発した [11]。水酸基を多数有する親水性ポリマー系基材に静電相互作用及び疎水効果を発現する複数の官能基を導入した。この固相抽出剤では、強い分子間相互作用と弱い分子間相互作用の両方が満たされた化合物だけが強固に保持され、強い分子間相互作用を抑制する溶媒を用いることで夾雑成分を洗浄・除去することが可能であった。この知見を活用することで、有機溶媒中の親水性溶質や電解質中のイオン性溶質を選択的に捕捉可能な固相抽出剤を開発できる可能性があるかもしれない。

Kimata らは、ペンタブロモベンジル基結合シリカ系固定相 [12] が分散力に基づき、*p*-ニトロフェニル基結合固定相 [13] が双極子相互作用に基づき溶質を強く保持することを報告している。これらは、従来の逆相 HPLC において補助的に利用

されている相互作用である [14]。そこで、これらの知見を基に、親水性ポリマー系基材に種々のハロゲン化フェノキシ基を導入した新規な固相抽出剤を調製した。調製したハロゲン化フェノキシ基導入固相抽出剤及び種々の市販固相抽出剤のハロゲン化芳香族化合物に対する固相抽出特性を精査した。これらの評価の結果、本研究の固相抽出剤は溶質の分散力に従って捕捉することを明らかとした。

3.2 実験

3.2.1 試薬

フェノキシ基導入固相抽出剤の調製・評価に使用した主な試薬は、和光純薬工業から入手した。反応性モノマー及び架橋剤には、グリシジルメタクリレート (GMA) とエチレングリコールジメタクリレート (EGDM) (共に東京化成工業から入手) を用いた。細孔調節剤には酢酸ブチルと3-メチルブタノールを、重合開始剤には2,2-アゾビス(イソブチロニトリル) を用いた。懸濁重合の分散媒として、ポリビニルアルコール ($n = 500$) を用いた。抽出特性評価用のトリメチルフェノール, トリクロロフェノール, ジクロロベンゼン, ジクロロフェノール及びキシレンは東京化成工業から入手し, 他の評価用化合物は和光純薬工業から入手した。

3.2.2 固相抽出剤の調製と評価

基材樹脂である GMA/EGDM 多孔質共重合体 (組成比: 40/60) の懸濁重合法による合成は、既報 [22] に従った。使用した基材樹脂の比表面積は $160 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ であった。官能基であるフェノキシ基 (Phe), 4-ブロモフェノキシ基 (4BP), ジブロモフェノキシ基 (DBP), トリブロモフェノキシ基 (TBP), ペンタブロモフェノキシ (PBP) 及びジクロロフェノキシ基 (DCP) は、トリフェニルホスフィン存在下、キシレン中 $116 \text{ }^\circ\text{C}$, 8 h で対応する化合物を基材樹脂 ($45 \sim 90 \text{ }\mu\text{m}$) に反応させた (Fig. 3.1)。反応後、残存エポキシ基を硫酸 (0.01 mol L^{-1}) 存在下で加水分解してジオール型とした。得られた樹脂は過剰のアセトンで洗浄した後、乾燥した。比較対象として、フェノキシ基を導入せずに硫酸開環したジオール型樹脂 (Diol) も調製した。また、

InertSep[®] C18 及び RP-1 (共に GL サイエンス) 及び Oasis[®] HLB (Waters, MA, USA) も比較対象とした。さらに、組成比を 30/70 とした GMA/EGDM 多孔質共重合体 (EG30) も比較対象とした。

導入官能基の元素分析は、三菱化成アナリテック製の AQF-100 燃焼前処理装置と日本ダイオネクス製の DX-120 IC を用いた燃焼-イオンクロマトグラフィー (IC) により行った。操作条件は以下の通りとした。ハロゲン化フェノキシ基導入樹脂: 0.1 g。燃焼条件: 酸素 400 mL min⁻¹, アルゴン 350 mL min⁻¹, 水 0.05 mL min⁻¹, 燃焼温度 900°C。IC 条件: カラム IonPac[™] AS12A (25 cm × 4.0 mm i.d.), 溶離液 2.7 mM Na₂CO₃/0.3 mM NaHCO₃, 流量 1.3 mL min⁻¹, 温度 40°C, 検出 サプレスト式電気伝導度検出。フェノキシ基導入量は、日本分光工業 (東京) 製 FT/IR-660 Plus 赤外分光光度計を用いて KBr 法により測定した。校正曲線は、芳香環 C-H の面外振動 (700 cm⁻¹ 近傍) と基材樹脂に添加したアニソールの伸縮振動 (1,800 cm⁻¹ 近傍) との相対比を用いて作成した。

3.2.3 固相抽出特性の評価

評価用固相抽出剤 (100 mg) を Varian 製 1 mL SPE カートリッジに充填し, 10 mL メタノール, 10 mL アセトン, 10 mL 試料調製溶液の順で通液してコンディショニングした。評価成分は, *n*-ヘキサン, 酢酸エチル, アセトン, アセトニトリル, 1-プロパノール, メタノール, メタノール/水 (5/5) 及び水で調製した。10 mg L⁻¹ の試料溶液 10 mL を上記 SPE カートリッジに負荷し, カートリッジ通過液中の各評価成分を HPLC で測定した。抽出率は下記式により求めた。

$$\text{抽出率 (Extraction efficiency)} = (C_{\text{load}} - C_{\text{effluent}}) / C_{\text{load}} \quad (3.1)$$

C_{load} : 負荷試料の評価成分濃度, C_{effluent} : 通過液中の評価成分濃度

HPLC には, GL サイエンス製の GL-7410 ポンプ, GL-7420 オートサンプラ, GL-7432 カラムオープン, GL-7452 フォトダイオードアレイ検出器を用いた。測定条件は以下の通りとした。カラム: InertSustain[®] C18 (GL Sciences, 15 cm × 4.6 mm i.d., 5 μm), カラム温度: 50°C, 移動相: 水/アセトニトリル, 流量: 1.5 mL min⁻¹。

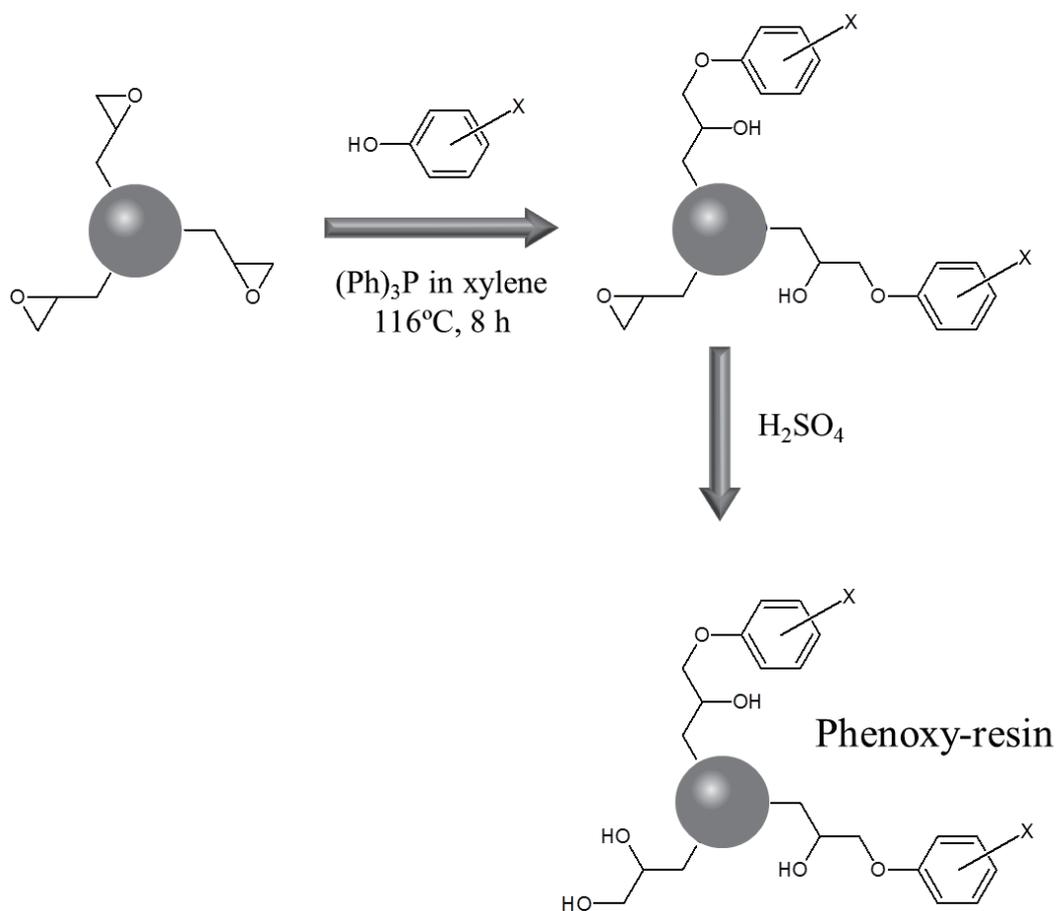


Fig. 3.1 Synthesis steps used for preparing the phenoxy adsorbents

3.3 結果と考察

3.3.1 調製固相抽出剤の官能基量

調製した各固相抽出剤の元素分析結果を Table 3.1 に示す。元素分析結果からは、ハロゲン化フェノキシ基量は、各ハロゲン化フェノキシ基導入固相抽出剤の間で明確な有意差はなかったが、DCP 樹脂は臭素化フェノキシ基導入固相抽出剤より多くの官能基が導入されていた。さらに、ハロゲン基を持たないフェノキシを導入した Phe 樹脂は、DCP 樹脂の 2 倍以上も高かった。フェノキシ基の導入に用いるフェノール及びハロゲン化フェノールの酸性度が高いほどエポキシ基と反応しやすい。しかし、オルト位にハロゲン基を有するフェノール類の場合にはエポキシ基との反応の立体障害となるため、これら要因が導入量の差に影響していると推定された。

3.3.2 固相抽出特性

ベンゼン類及びフェノール類を用いて各固相抽出剤における捕捉特性を調べた。試料調製溶媒がメタノール/水 (5/5) の時には、ベンゼン類はすべての固相抽出剤に捕捉されたが、抽出効率は Diol の約 30%から HLB の約 100%まで大きな差が見られた。一方、有機溶媒を試料調製液とした時にはすべての固相抽出剤でベンゼン類は捕捉されなかった。この結果から、今回用いたすべての固相抽出剤はベンゼン類に対し疎水効果に基づき捕捉されていると判断した。一方、フェノール類はメタノール/水 (5/5) で効果的に捕捉され、試料調製溶媒が水の時にはすべての固相抽出剤で完全に捕捉された。また、*n*-ヘキサンの時でも C18 を除くすべての固相抽出剤でほぼ完全に保持された。各試料調製溶媒におけるフェノールの抽出効率の順序は、水 \geq *n*-ヘキサン \gg 酢酸エチル $>$ アセトン \geq アセトニトリル $>$ 1-プロパノール $>$ メタノールであった。

次いで、種々の溶媒で調製した評価したハロゲン化芳香族化合物に対する固相抽出効率を調べた結果を Fig. 3.2 ~ Fig. 3.7 に示す。

Fig. 3.2 にメタノールを、Fig. 3.3 に 1-プロパノールを調製溶媒とした時の抽出効率を示す。これらの溶媒はフェノール類に対して十分な溶解力を有しているため、

溶媒の疎水効果によってフェノールはこれらの固相抽出剤には捕捉されない。さらに、これら溶媒中の水酸基は、固定相とフェノールの親水性部分との間で形成される水素結合を弱める。従って、メタノール及び 1-プロパノールの時には、多くのフェノール類はほとんど捕捉されなかった、しかし、4BP 樹脂, DBP 樹脂及び DCP 樹脂では、1-プロパノールの時に 2,4,6-トリブロモフェノールに対して 60%以上の抽出効率を示し、DCP 樹脂では約 90%と最も高い抽出効率を示した。ここで使用した固相抽出剤はハロゲン化ベンゼンに対して高い親和性を示さなかったため、水酸基の存在が溶質の捕捉に重要な役割を果たしているものと推察された。

試料調製溶媒をアセトニトリルとした時の抽出効率を Fig. 3.4 に示す。アセトニトリルの溶解パラメータ δ 値は 11.8 であり、分子内の窒素原子は水素結合に寄与するため中程度の極性を有している。また、分子内のニトリル基の π 電子は分散力に寄与するため、同じく分散力が主体となる π - π 相互作用を弱める働きをする。このことから、樹脂表面の官能基とフェノール類との間に生じる分散力はアセトニトリル中の方が 1-プロパノール中よりも相互作用エネルギーが弱まり、吸着効率が減少すると推定される。しかし、抽出効率の評価結果は、この仮定と矛盾し、1-プロパノールの時よりも多くの化合物を捕捉した。4BP 樹脂, DBP 樹脂, DCP 樹脂及び TBP 樹脂で 2,4,6-トリブロモフェノールに対して 80%以上の抽出効率を示し、DCP 樹脂では 2,4,6-トリクロロフェノールに対しても 90%以上の抽出効率を示した。この結果から、ハロゲン化フェノキシ基導入固相抽出剤におけるハロゲン化フェノール類の捕捉は分散力ではなく水素結合が主体となっている誘発されているものと考えられる。水素結合能の高い溶媒であるメタノール (Fig. 3.2) を調製溶媒に用いた結果では 1-プロパノールよりもさらに吸着力が弱く、またアセトン (Fig. 3.5) や酢酸エチル (Fig. 3.6) など水素結合能の低い非プロトン性溶媒を試料調製溶媒とした時にも同様であった。一方、*n*-ヘキサン (Fig. 3.7) の時は、上述したフェノールと同様に、C18 を除くすべての固相抽出剤でハロゲン化フェノール類もほぼ完全に保持されており、これらの結果からもハロゲン化フェノール類の捕捉には水酸基の存在に基づく水素結合が大きく寄与しているものと判断した。

Table 3.1 Contents of functional group in the prepared adsorbents.

adsorbents	contents of phenoxy groups [mmol g ⁻¹]
pentabromophenoxy (PBP)	0.30
2,4,6-tribromophenoxy (TBP)	0.23
2,4-dibromophenoxy (DBP)	0.34
4-bromophenoxy (4BP)	0.43
2,4-dichlorophenoxy (DCP)	0.56
phenoxy (Phe)	1.22

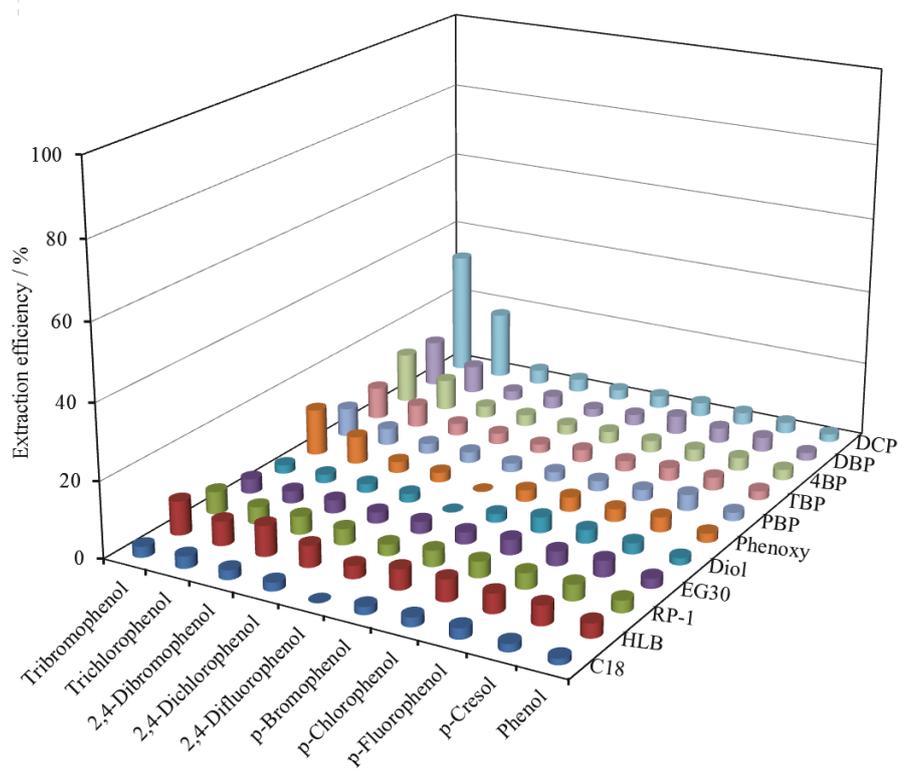


Fig. 3.2 Extraction efficiencies of phenols dissolved in methanol on various adsorbents.

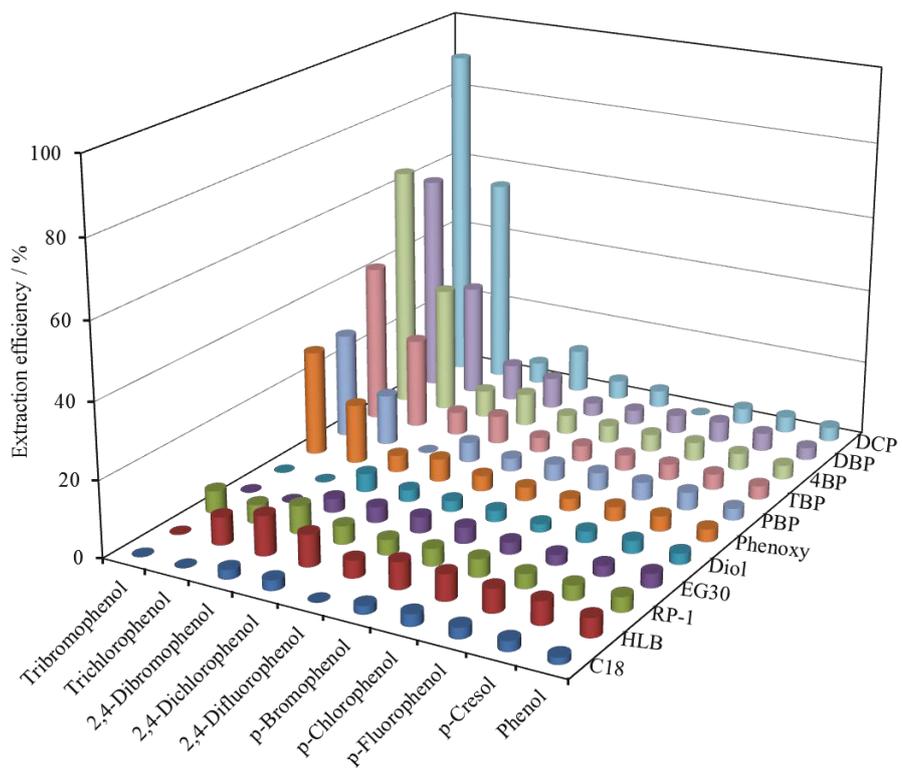


Fig. 3.3 Extraction efficiencies of phenols dissolved in 1-propanol on various adsorbents.

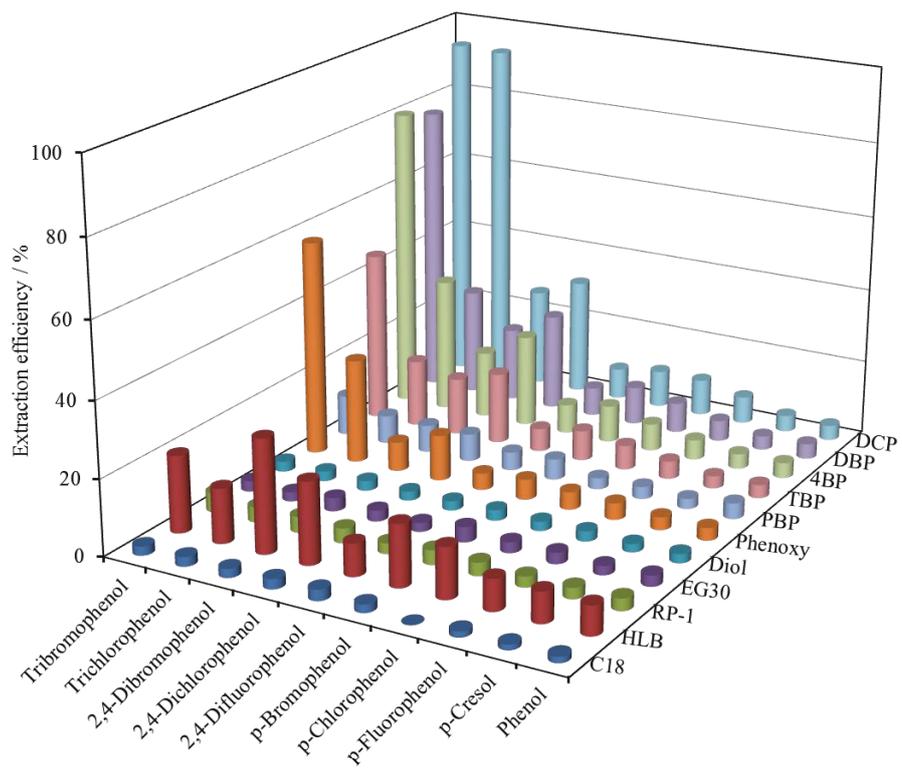


Fig. 3.4 Extraction efficiencies of phenols dissolved in acetonitrile on various adsorbents.

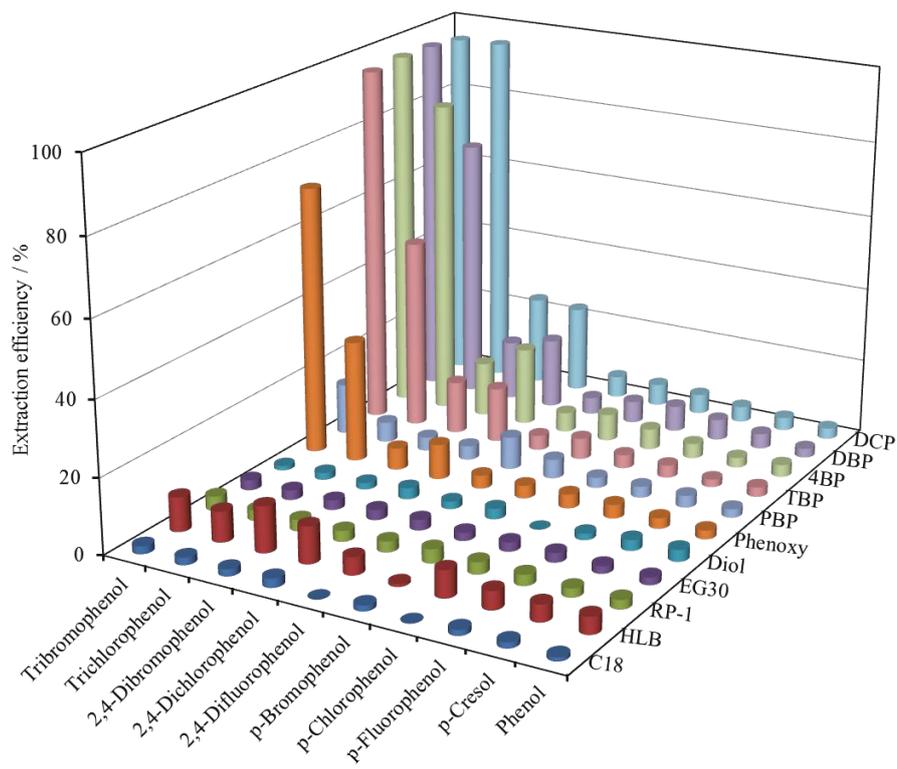


Fig. 3.5 Extraction efficiencies of phenols dissolved in acetone on various adsorbents.

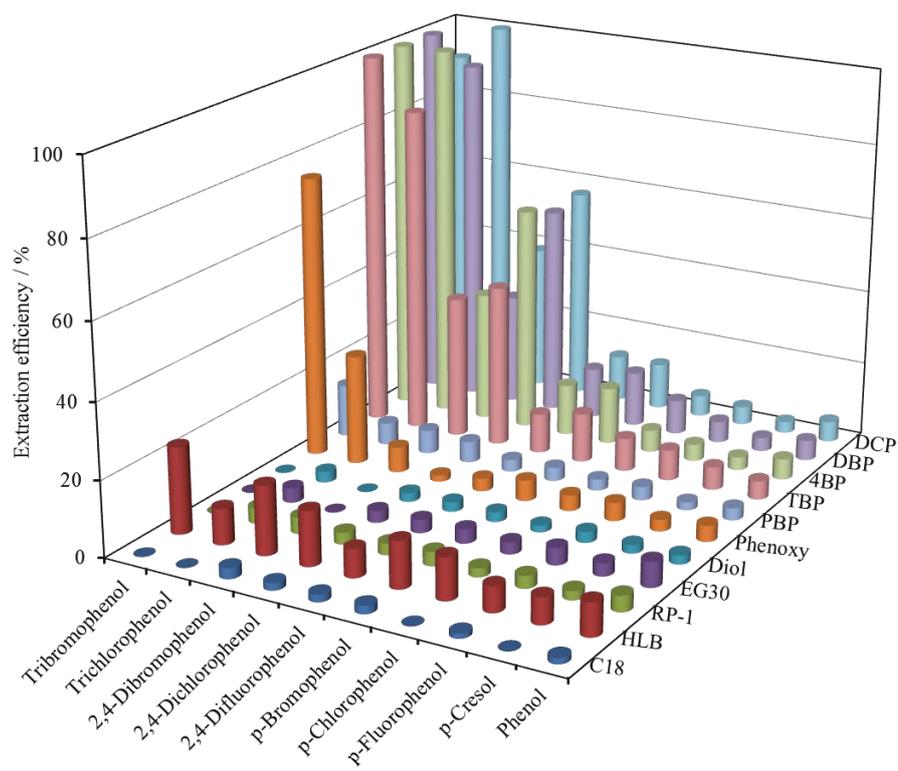


Fig. 3.6 Extraction efficiencies of phenols dissolved in ethylacetate on various adsorbents.

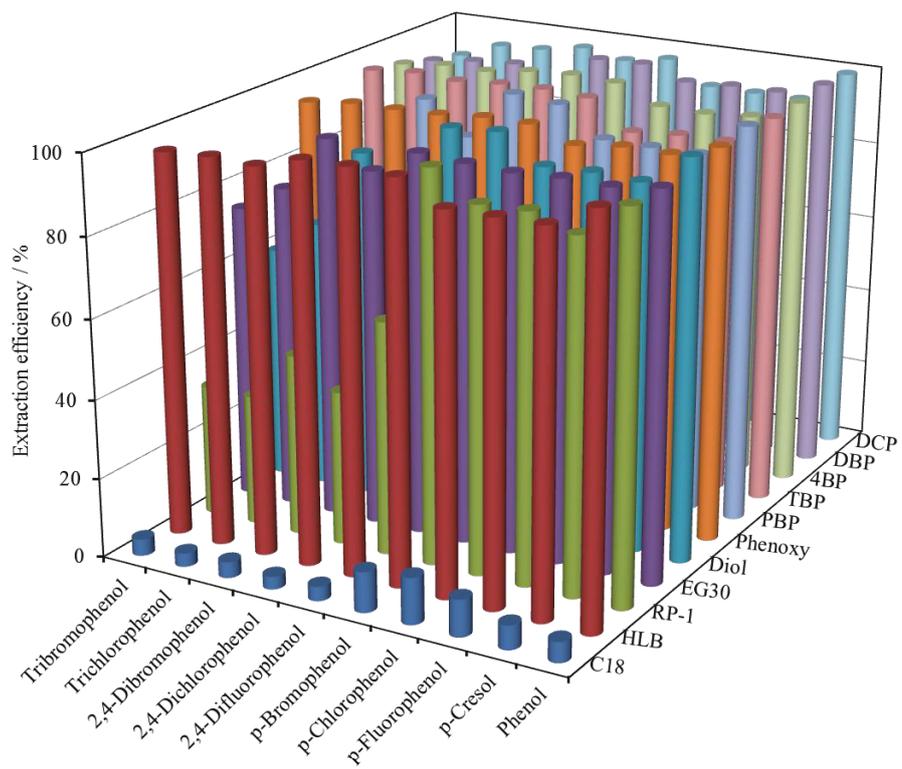


Fig. 3.7 Extraction efficiencies of phenols dissolved in hexane on various adsorbents.

3.3.3 捕捉能に与える官能基の双極子モーメントの影響

Fig. 3.2 ~ Fig. 3.7 の結果では、ハロゲン化フェノール類に対する親和性の順序は、DCP 樹脂 > 4BP 樹脂 \cong DBP 樹脂 > TBP 樹脂 \cong Phe 樹脂 > PBP 樹脂であった。しかし、Table 3.1 の官能基導入量を考慮すると Phe 樹脂のフェノキシ基導入量が非常に高いことから、妥当な順序は DCP 樹脂 \geq 4BP 樹脂 \cong DBP 樹脂 > TBP 樹脂 > PBP 樹脂 \geq Phe 樹脂であると推定される。これらの樹脂の官能基はフェノキシ基で基材樹脂に導入されているため官能基の自由回転は制限されているが、双極子モーメントは存在している。官能基の導入に用いられたフェノール化合物の双極子モーメントを Table 3.2 に示すが、双極子モーメントの順序は上記で推定した各固相抽出剤の親和性の順序と概ね一致する。このことから、各固相抽出剤のハロゲン化フェノール類に対する親和性は、官能基の双極子モーメントに起因するものと判断した。

3.3.4 保持に対する溶質の誘起双極子モーメントの影響

Fig. 3.2 ~ Fig. 3.7 に示した結果から、DCP 樹脂におけるハロゲン化フェノール類に対する親和性の順序は、トリブロモ- > トリクロロ- > 2,6-ジクロロ- > 2,4-ジクロロ- > 2,4-ジブロモ- > 3-ブロモ- > 4-ブロモ- > 4-メチル- > H- (非置換) であった。

静電力の一種である水素結合が主となり、樹脂表面の官能基とフェノール類の間に強い親和力が生じていることが固相抽出による評価で示唆された。しかし、接近した際の互いのコンフォメーションについては van der Waals 力が含む3つの相互作用から考察しなければならない。この場合、静電力は互いが有するハロゲン基などに基づき生じる双極子間で、また誘起力はその双極子とベンゼン環の π 平面およびハロゲン原子に基づく誘起双極子間で働き、分散力はこの誘起双極子間に基づくものと考えられる。双極子間の相互作用のみに着目した場合、2.2.1 でも述べた通り head-to-tail 型のコンフォメーションが最も安定なため、互いの π 平面やハロゲン原子は近接すること不可能となり誘起力や分散力はこれらの間では十分に寄与しない。他方、双極子間の相互作用が parallel 型で働く場合を想定すると、互いの π 平面を向い合わせることでハロゲン原子間も近接し、誘起力や分散力の寄与率が増

大すると考えられる。つまり、樹脂表面のフェノキシ基と官能基と溶質であるフェノール類がそれぞれ有する双極子モーメントと誘起双極子モーメントにもとづく van der Waals 力の両方の寄与が存在する可能性がある。

誘起双極子モーメントの強さを直接測定することは困難であるが、分散力と非常に密接な関係にあるモル屈折 (RD) については以下の方程式から計算することが可能である：

$$R_D = (n^2 - 1) M (n^2 + 2)^{-1} \rho^{-1} \quad (3.2)$$

ここで、 n は屈折率、 M は分子量、 ρ は質量密度である。モル屈折率は分子の分極化によって支配され、分極率に比例して増加する。計算によって得たハロゲン化フェノール類のモル屈折率を Table 3.3 に示す。屈折率の予測値を用いて計算された二基置換ハロゲン化フェノール類のモル屈折は直接的な計測値と比較することはできないが、上記の親和性の順序が双極子モーメントとではなくモル屈折率と概ね一致していた。例えば、フェノールやクレゾールのような低いモル屈折率を持つ溶質は DCP 樹脂によってほとんど捕捉されず、一置換ハロゲン化フェノール類も弱い親和性を示した。双極子-誘起双極子間の相互作用 (Deby 力) の相互作用エネルギーは Table 1.3 の中で示される通り、そのポテンシャルは官能基の双極子モーメントと溶質の分極率の積である。トリブロモフェノールなどと比較してクレゾールやフェノールなどはモル屈折率が低いため、樹脂表面のフェノキシ基に近接した際に誘起力や分散力による寄与は向上せず、コンフォメーションが安定化しないことが推察される。

Table 3.2 Dipole moment data.

phenols	dipole moment [D]	references
2,4-dichlorophenol	3.019 *	15
2,4-dibromophenol	2.64–2.99 *	16, 17
4-bromophenol	2.15–2.78	18, 19
2,4,6-tribromophenol	1.44–2.15	18, 20
pentabromophenol	1.73	16
phenol	1.22–1.86	18, 21

* OH group does not take part in intramolecular hydrogen bonding with the ortho-substituted halogen

Table 3.3 Calculation of molar refraction for halophenols

phenols	dipole moment [D]	refractive index	specific volume [g cm ⁻³]	molar weight [g mol ⁻¹]	molar refraction [cm ³ mol ⁻¹]
2,4,6-tribromophenol	1.45–2.15	1.7 ^a	2.55 (20 °C)	330.8	50.1 (51.2 ^b)
2,4,6-trichlorophenol	1.38–2.00 [18,20]	1.6 ^a	1.675	197.45	40.3 (42.8 ^b)
2,6-dichlorophenol	1.77–2.15 [15,21]	1.594 ^b	1.532	163.0	36.1 (37.9 ^b)
2,4-dichlorophenol	0.846–3.019	1.594 ^b	1.383	163.0	40.0 (37.9 ^b)
2,4-dibromophenol	0.37–2.99	1.643 ^b	2.07 (20 °C)	251.9	44.0 (43.5 ^b)
3-bromophenol	0.90–3.10 [16]	1.5957	1.63	173.0	36.2 (35.8 ^b)
4-bromophenol	2.15–2.78	1.5875	1.65	173.0	35.3 (35.8 ^b)
4-cresol	1.44–1.83 [18]	1.5312	1.0347	108.1	33.1 (33.0 ^b)
phenol	1.22–1.86	1.5425	1.07	94.1	27.7 (28.1 ^b)

a, values speculated using the data from ref. [18]; b, predicted values generated using the ACD/Labs.

3.4 結 言

本章では、親水性基材樹脂に種々のフェノキシ基を導入した新規な固相抽出剤を調製し、ハロゲン化フェノール類の固相抽出特性を精査した。その結果、ハロゲン化フェノキシ基を導入した固相抽出剤は、典型的な分散力に基づく捕捉機能を示した。ハロゲン化フェノール類への高い親和性は、主に弱い π - π スタッキング相互作用と弱い分散力が付加された水素結合に由来するものと推定された。従って、これらの固相抽出剤は、水素結合を形成できないハロゲン化ベンゼンをほとんど捕捉しなかった。一方、ハロゲン化フェノール類に対するこれら固相抽出剤の親和性は双極子-誘起双極子相互作用によって説明され、親和性は対象溶質の分極率に依存した。双極子モーメントを持つ固相抽出剤は、分極可能な溶質をより明確に捕捉した。

これらの結果は、van der Waals 力のような非常に弱い力が SPE に効果的に利用可能であることを示した。このような弱い力と種々の力 (相互作用) を組み合わせることで新奇な特性と高い抽出効率を示す固相抽出剤を創出することが可能であり、この技術により創出される固相抽出剤は SPE の適用範囲の拡大に貢献できるものと考えられる。

引用文献

- [1] R.E. Majors: *LC GC Europe*, **20**, 266 – 279 (2007).
- [2] A. Żwir-Ferenc, M. Biziuk: *Polish J. Environ. Stud.*, **15**, 677 – 690 (2006).
- [3] F.C. Poole: *Trends Anal. Chem.*, **22**, 362 – 373 (2003).
- [4] M. Rawa-Adkonis, L. Wolska, J. Namieśnik: *Critic. Rev. Anal. Chem.*, **33**, 199 – 248 (2003).
- [5] N. Masque, R.M. Marce, F. Borrull: *Trends Anal. Chem.*, **6**, 384 – 394 (1998).
- [6] Z.X. Xu, H.J. Gao, L.M. Zhang, X.Q. Chen, X.G. Qiao: *J. Food Sci.*, **76**, R69 – R75 (2011).
- [7] J. Haginaka: *Trends Anal. Chem.*, **24**, 407 – 415 (2005).
- [8] T.F. McGrath, C.T. Elliott, T.L. Fodey: *Anal. Bioanal. Chem.*, **403**, 75 – 92 (2012).

- [9] A.B. Iliuk, L. Hu, W.A. Tao: *Anal. Chem.*, **83**, 4440 – 4452 (2011).
- [10] B. Juskowiak: *Anal. Bioanal. Chem.*, **399**, 3157 – 3176 (2011).
- [11] 塚本友康, 清水愛, 山本敦, 小玉修嗣, 上茶谷若, 井上嘉則: 食品衛生学会誌, **51**, 58 – 64 (2010).
- [12] K. Kimata, T. Hirose, K. Moriuchi, K. Hosoya, T. Araki, N. Tanaka: *Anal. Chem.*, **67**, 2556 – 2561 (1995).
- [13] 木全一博, 細谷憲, 田中信男, E.R. Barnart, L.R. Alexander, D.G. Patterson Jr.: 分析化学, **42**, 837 – 843 (1993).
- [14] M. Turowski, N. Yamanaka, J. Meller, K. Kimata, T. Ikegami, K. Hosoya, N. Tanaka: *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13836 – 13849 (2003).
- [15] J. Han, R.L. Deming, F.-M. Tao: *J. Phys. Chem. A*, **108**, 7736 – 7743 (2004).
- [16] J. Han, H. Lee, F.-M. Tao: *J. Phys. Chem. A*, **109**, 5186 – 5192 (2005).
- [17] A.A. Anthony, F.K. Fong, C.P. Smyth: *J. Phys. Chem.*, **68**, 2035 – 2039 (1964).
- [18] B. Erić, E.V. Goode, D.A. Ibbitson: *J. Org. Chem.*, 55 – 61 (1960).
- [19] W.F. Anzilotti, B.C. Curran: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 607 – 611 (1943).
- [20] J. Kraft, S. Walker, M.D. Magee: *J. Phys. Chem.*, **79**, 881 – 885 (1975).
- [21] P. Yogesh, K.M. Popat, B. Ganguly, H. Brahmabhatt, A. Bhattacharya: *Macromol. Res.*, **16**, 590–595 (2008).
- [22] Y. Inoue, W. Kamichatani, M. Saito, Y. Kobayashi, A. Yamamoto: *Chromatographia*, **73**, 849 – 855 (2011).

