

合成化学における薄層クロマトグラフィー の二、三の応用

浅 原 照 三・早 野 茂 夫

薄層クロマトグラフィー (TLC) はペーパークロマトグラフィーにかわる簡易かつ迅速な分析法として最近に至り急速に普及した。本稿では分析法としての TLC に残された基礎的問題のひとつをとりあげると同時に、合成化学における応用に関し、興味ある二、三の例を示した。

1. ま え が き

薄層クロマトグラフィー (thin-layer chromatography; TLC) はガラス板の上に 0.2~0.3 mm の厚さの吸着剤の層を形成させ、溶離剤を用いてこの上で物質の分離を行なわせる手法である。

TLC の原理はすでに 20 数年前から知られていたが、1958 年、ザール大学の Egon Stahl 教授が標準的な方法を発表して以来、急速に普及し、数年の内に世界的に利用されるようになった。わが国においても講習会その他を通じてこの技術が広められる一方、この 2~3 年の内に TLC を用いる研究がさかんとした。昨年主として薬学の研究者を中心とし、半定期的に薄層クロマトグラフ研究懇談会が開催され、基礎的問題、方法ならびに装置の改良、応用の可能性に関し活発な討論が行なわれている。

著者らの研究室においても 3 年ほど前から TLC の応用に着目し、数種の物質についてある程度検討を行ってきた。ここに経験の一部を基にし、著者らの研究に関連した範囲で、最近における TLC の動向を概観したいと思う。

2. 分析法としての TLC

いうまでもないが TLC はクロマトグラフィーの一種であり、原理的にはクロマトグラフィーにおける動力学的な取り扱いがそのまま応用できるわけである。

TLC においては、いわゆる活性化によって吸着剤に含まれている水分を追い出し、“dry column”として溶離を行なうことが多い。このときは溶離剤を移動相とし、吸着剤を固定相とする液-固クロマトグラフィーになるわけである。溶離剤の一部に水を含むような場合には吸着剤の活性化を行わずに展開することもある。このときは吸着剤表面を多量の水が蔽っているので液-液クロマトグラフィーになるとみなしてよいであろう。

いずれにしても TLC の溶離剤には液体が用いられているので、TLC は広義の液体クロマトグラフィーに属している。

(1) TLC の特長

TLC が現在の隆盛を見るに至ったおもな原因は、Stahl 自身が述べているように¹⁾、1) 層の厚さ、プレート²⁾の大きさ、調製法、展開室の標準化、2) 補助器具の

設計、3) 多目的用の吸着剤の開発とその製品化、4) 用途の研究が重要な要素となっている。しかしながらこれにもまして大きい因子として考えられることは、よく指摘されるように本法が他の方法に比べていちじるしく簡便であり、操作が迅速に行ない得るばかりでなく、ペーパークロマトグラフィーに比べ分離能力が高く、検出感度もすぐれているということであろう。また装置の価格が一般の分析機器よりもかなり低廉であるということも見逃すことができない。

現在、クロマトグラフィーに関係する分析機器としてもっとも広く用いられているものはガスクロマトグラフであるが、これは高分子量の化合物または極性のいちじるしく高い化合物には使用できないという制限がある。このためにガスクロマトグラフィーで分離不可能な物質は、液体カラムクロマトグラフを用いて分離しなければならなくなるが、液体カラムの装置は現段階では問題が多く、標準化された装置として完成されるにはなおかなりの日数を要するものと思われる。このような事情によって、ガスクロマトグラフィーで分離の不可能なほとんどすべての化合物は、液体カラムと並行して TLC によって分離が試みられているといっても過言ではないであろう。

また TLC の特長のひとつとして、これが dry column として用いられるために、分離能力は液体カラムのそれとかならずしも対応せず、多くの場合 TLC の方がすぐれているということがあげられる。このため TLC は preparative な目的に使われることもある。

(2) *R_f* の再現性に及ぼす水分の影響

クロマトグラフィーにおいては、物質が吸着剤中で溶離剤の流れに沿ってそれぞれの物質に固有な移動が行なわれ、このことが定性の基礎になっている。

たとえばガスクロマトグラフィーでは、溶離剤として気体を用い、これによって試料を分離させ、カラムの出口で検知し、試料の特性化は、これがカラム入口から出口まで移動するために必要とされる気体の量で表わされる。よく知られているようにこれは保持容量 (retention volume) と名づけられている。これに反し、ペーパークロマトグラフィーや TLC においては、溶離剤として液体が用いられ、展開は溶離剤前線がまだ吸着剤の末端部

に達しない時期に打ち切り、このために試料は一定のパターンを形成したままで吸着剤表面に残されている。したがって、このときは試料の移動状態を表わすのに R_f (rate of flow) と称するパラメーターが用いられる。これは原理的には任意の瞬間における試料の移動速度と、試料の位置における溶離剤の移動速度の比によって定められる。しかし、通常の分析では、便宜的に試料の移動距離と溶離剤の移動距離の比を R_f とするよう約束されている。

TLCにおける物質移動の動力学的な取り扱い *Brenner* ら²⁾ によって総括されているように、溶離剤が単一成分のときは比較的単純化できるが、混合成分になると、吸着剤に対するそれぞれの成分の吸着力の相違のために、吸着剤上とくに溶離剤前線における溶離剤の組成が変化し、取り扱いが複雑になる。

本稿ではこれらの問題には触れないことにし、従来はあまり良好でないとされてきた TLC における R_f の再限性の向上に必要な条件をとりあげることにする。というのは R_f の再現性あるいは精度がある程度改善されない限り、TLCの基礎的ないし定量的な扱いはきわめて不確かなものとしてどどまらざるを得ないからである。

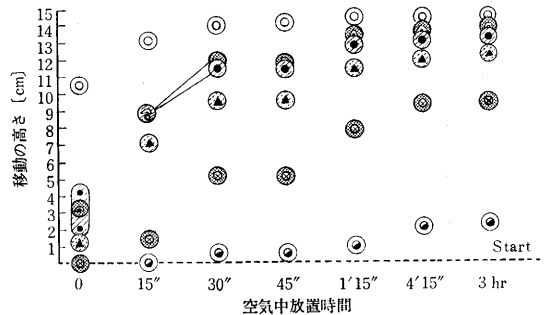
よく知られているように TLC の吸着剤として繁用される酸化アルミニウムあるいはシリカゲルは、活性化によってたとえ水分が追い出されたとしても、プレートが空气中に放置される場合にはかなり急速に空气中の水蒸気を吸収する。この結果プレートの表面の性質がいちじるしく変化し、TLCの展開結果に無視し得ない影響を及ぼす。

TLC 操作では活性化は 105~110°C, 30~60 min で、その後プレートをシリカゲルを乾燥剤とする貯蔵箱の中で冷却し、常温に達してから、ふたたびプレートを取り出し、試料を塗布、溶媒を蒸発したのち展開を行なうのが普通となっている。しかし通常は試料の塗布あるいは着点は実験室のふん囲気中で行なわなければならない、このために少なくとも数分を要するので、せっかく活性化を行なっても無意味になることが多い。Geiss らの最近の報告³⁾によると、活性化後プレートを相対湿度 15% のふん囲気で調整し、これから相対湿度 60~80% の空气中に移して放置すると、わずか 1~2 分以内に水分の再吸着 (再調整) が行なわれる。この状況を図・1 (a), (b) に示す。これらの図では水分の再吸着によるプレート表面の変化が、標準物質として用いられている染料の R_f を大きくしていることがわかる。これらのことから試料の塗布操作はできるだけ短時間に行なうか、あるいはプレートの貯蔵箱とほぼ同じ湿度のふん囲気で行なうのが望ましいということが理解されよう。これに関連し、Bark らは、1 分以内に 10 数種の試料を同時に塗布する器具を用い、従来は R_f のバラツキが $\pm 0.03 R_f$ 単位であ

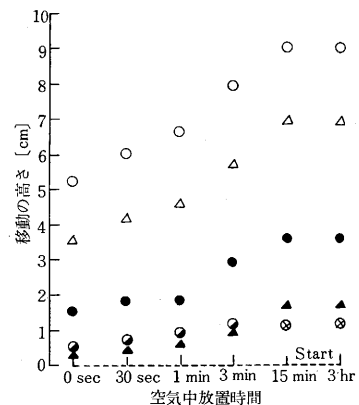
ったものを ± 0.01 まで減少させることができたこと述べている⁴⁾。

現在ひろく用いられている TLC の展開槽としては、比較的内容積の大きい、いわゆる N-chamber と、内容積を大幅に狭くした S-chamber の両者があり、前者においては、濾紙を壁面に沿って置き、これによって槽内を溶離剤によって十分に飽和することが必要であり、また後者においては溶離剤吸収箇所を除く 3 方向の気密に注意を払うように指示されている。いずれの場合においても展開槽空間内を溶離剤で十分に飽和するとともに展開中に槽空間内で対流などの蒸気の運動が起らないようにすることが、TLC におけるいわゆる edge effect の除去のために必要な条件である。

展開槽内部の溶離剤蒸気の飽和は、TLC プレート上からの溶離剤の蒸発を制限し、プレート上の均等な展開を保証するものと考えられているのであるが、これ以外に



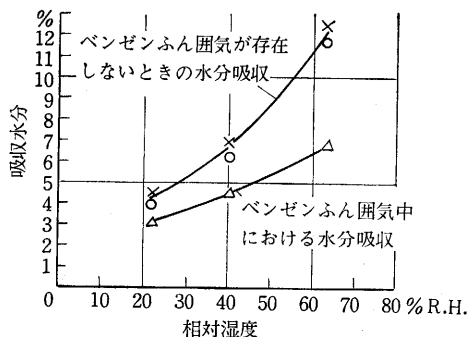
図・1 (a) 酸化アルミニウム G プレートを 15% R.H. (相対湿度) から 80% R.H. の空气中に移したときのクロマトグラフ的活性度の変化。遅くとも 4 分後には定常状態に達する。使用物質は
○ バターイエロー ⊗ スダンブラック
● スダンレッド ⊕ スダンブラック中の不純物
▲ インドフェノール ⊙ p-ヒドロキシアゾベンゼン
で、溶離剤はベンゼン、前線の上昇高さは 15 cm である。(F. Geiss, H. Schlitt, A. Klose)



図・1 (b) シリカゲル H プレートを 20% R.H. から 57% R.H. の空气中に移したときの活性度の変化。平衡到達時間は 15 分で、酸化アルミニウムよりもやや時間がかかる。(F. Geiss, H. Schlitt, A. Klose)

つぎのような効果を含むことが報告されている⁶⁾。

すなわち溶離剤のモデルとしてベンゼンをえらび、N-chamber 中に一定蒸気圧のベンゼンを含ませ、槽内をいろいろな相対湿度に調節し、プレートにベンゼンと水の競争吸着を行なわせる。この結果、図・2 に示すようにベンゼンによる水の追い出し(排除)効果が観察される。これより相対湿度 22% のときはベンゼン 10 分子が水 1 分子に置きかわり、相対湿度 63% の場合にもなおベンゼン 2.5 分子が水 1 分子に置きかわると見つめられる。



図・2 シリカゲル H プレート上でのベンゼン蒸気による水分の追い出し。20°C でベンゼン蒸気を 80% 飽和状態とし、相対湿度 20, 40, 63% の水分ふん囲気中で平衡させた。ベンゼンの吸着量はこの範囲では水分に無関係に $57 \pm 2\%$ であった。水分はカル・フィッシャー試薬で滴定した。(×, △印)。○印は乾燥重量 (120°C) から測定したものである。(F. Geiss, H. Schlitt, A. Klose)

実際の TLC が以上のような条件下で行なわれるとは限らないが、展開槽中における溶離剤の飽和は単に edge effect を除去するばかりでなく、吸着剤の水分の減少にある程度役立ち得るようである。

吸着剤に含まれる水分は、これ以外に TLC の展開結果にいろいろの効果をおよぼす。たとえばプレートの含有水分が増してゆくと、数種の物質の組み合せの R_f 系列の一部分が逆転することはしばしば経験するところである。

したがって定量的に TLC を取り扱う場合には、プレートの空気中へのばく露時間、実験室の湿度、場合によっては展開槽中の湿度等をかなり厳密に規定しなければならないことが多い。

(3) 濃度計による TLC の定量

展開が終了したプレートから、問題とする試料を定量する方法はつぎのように分けられる。すなわちプレートの処理方法を基準にすると、プレートの状態をそのまま保存して非破壊的に行なう直接法と、プレートよりスポット部分を器具でかきとり、適当な溶媒で抽出してから定量を行なう抽出法に大別できる。また定量に用いる信号あるいは検知方法を基礎にして分類すると、面積測定法、けい光あるいはりん光強度測定法、濃度測定法、放射能測定法、エレクトログラフ法、バイオアッセイ法な

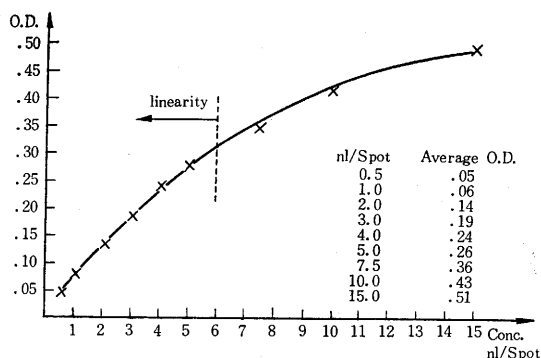
どになるであろう。

これらのうち濃度計 (densitometer) を用いる方法に関しては、数年前より研究が行なわれ、わが国においても現在 TLC 用の濃度計として 2, 3 のメーカーにより検出感度のかなり高いものが市販されている。

また TLC 操作の精密化ないし定量化の傾向に対応して、プレート調整用の自動装置なども考案されている。

さて、濃度計の使用原理は、プレートを透過する一定強度の光の減少を測定することにあるが、吸着剤自身の屈折率がかなり高く、これによる光の吸収あるいは反射が大きいため厳密な意味で Beer の法則が成り立つことは期待できない。

たとえば図・3 に示すように、⁶⁾ 試料の量がある程度多くなると、透過光の光学密度と試料の量の間には直線関係が成立しなくなる。



図・3 酢酸カルビルのスポットの光学密度と試料の量の関係。直線性は 6 nl (10^{-9} l) 付近まで成立する。吸着剤: シリカゲル G, 厚さ 0.06 mm. 溶離剤: 三ふつ化三塩化エタン-塩化メチレン (6: 4). 発色, 過マンガン酸カリウム / 硫酸およびバニリン硫酸溶液噴霧。(J. A. Attaway, R. W. Wolford)

このために濃度計を使用する場合には、あらかじめ試料の量と光学密度の間の検量線を求めておき、誤差が入り難い領域を選んで測定するように注意すべきである。

3. TLC の応用例

前章で述べたように、ガスクロマトグラフィーによる分離が困難な物質は、一応 TLC による分離が考えられる。このような物質は事実上無数に存在する。たとえば脂質、精油、天然樹脂をはじめ、ビタミン、ステロイド、アルカロイドなどの天然有機物の分野では TLC が有効に利用されている。また見方を変えると薬品分析、臨床医学、薬学、生化学などにおいてはこれが必須の手段となっている。

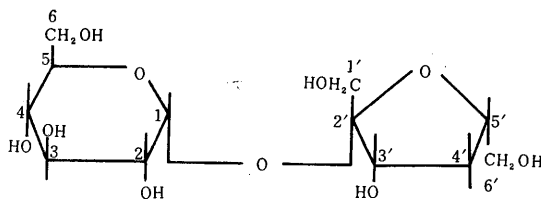
ところで著者らは、はじめに述べたように、合成化学的な見地より界面活性剤、有機過酸化物ならびにその他の合成オリゴマーなどに対する TLC の応用に多少関係してきたので、以下に順を追ってこの分野における最近の研究を紹介する。

(1) 界面活性剤

界面活性剤はその名が示すように、もろもろの界面に吸着して、その性質をいちじるしく変化させることを特長とする。したがって界面活性剤は吸着剤にたいしては極性の小さい通常の物質に比べるとかなり強く吸着するので、クロマトグラフィーにおいては移動がわずかで分離が困難になることが多い。この傾向はとくにイオン性の界面活性剤にいちじるしく、たとえ溶離剤によって展開する場合があるにしても疎水基だけが異なる同族体あるいは異性体の分離は不可能なことが多い⁷⁾。

これに反し、非イオン性活性剤においては⁸⁾、脂肪酸モノグリセリドをはじめとし、脂肪酸しょ糖エステルなどに関し多数の報告がある⁹⁾。これらの物質はいずれも食品添加剤として厚生省より認可されたものであり、TLC の食品化学において占める分析的意義を価値のあるものにしていく。脂肪酸しょ糖エステルの化学は TLC によってかなり明らかにされたところが少なくない。

Wachs 教授によると TLC によって preparative に分離した脂肪酸しょ糖モノエステルのフラクションの界面活性を比較するとつぎのようになる¹⁰⁾。すなわち三つのモノエステル異性体は図・4 に示すようにそれぞれ 6-



図・4 ショ糖の構造。脂肪酸は 6-, 1'-, 6'- のメチロール基とエステル結合をつくり得る。

1'-, 6'- メチロールの位置でエステル結合を行なっているが、表面活性係数 $S (S=1/C \cdot \log \sigma_0/\sigma; C$ は濃度, σ_0, σ はそれぞれ濃度が 0 ならびに C のときの表面張力) は 6- 置換体をもっとも低く、これについて 6'- 置換体, 1'- 置換体の順に増大するという。これは界面において凝縮された活性剤分子の形状とその界面活性との関連をあざやかに指摘したものとして興味深い。

以上の物質はどちらかという特殊な非イオン活性剤であり、生産量も比較的少ない。工業上大量に使用されるものはアルキルフェノールあるいは高級アルコールに酸化エチレンが数モルから 10 数モル付加した物質である。これらの TLC に関しては文献がはなはだ多い¹¹⁾。これらの化合物は単一の物質でなく、親水基の部分となるポリオキシエチレンの鎖の長さが統計的に分布している混合物である。たとえば酸化エチレンの付加モル数がかかりに 7 モルと称する非イオン活性剤をとり出して TLC によって分離を行なうとすると、通常は実に 10 数個のスポットが検出されるであろう。

見方を変えると、これらの物質はある特定の疎水置換基を有する酸化エチレンのオリゴマーにほかならない

が、上に述べたような鋭敏な分離は従来の方法ではほとんど不可能と考えられていた。

非イオン活性剤の性質と関連して、TLC のこの領域における応用は、いろいろな意味でおもしろい研究を生み出す可能性を有している。

ただ補足しておかなければならないことは TLC の分離能力にもある特定の限界があるということである。たとえば上の場合、酸化エチレン付加モル数が 15 以上になると、一般に分離がいちじるしく困難になってくる。

(2) 合成りん酸化合物

りんを含む化合物のうちホスファチドは脂質分析の一環として TLC によってもっとも有効に研究されている分野であろう¹²⁾。りん化合物は工業上也広汎に使用されており、これらの分析は重要であるが、比較的操作が困難なものひとつである。最近にいたり、無機りん酸塩が縮合物として洗浄剤、金属表面処理剤、食品添加剤、水処理剤などとして大量に使用されるようになった。またりん酸より誘導される有機合成物質も、農薬あるいは工業薬品としての重要性がとみに増大している。

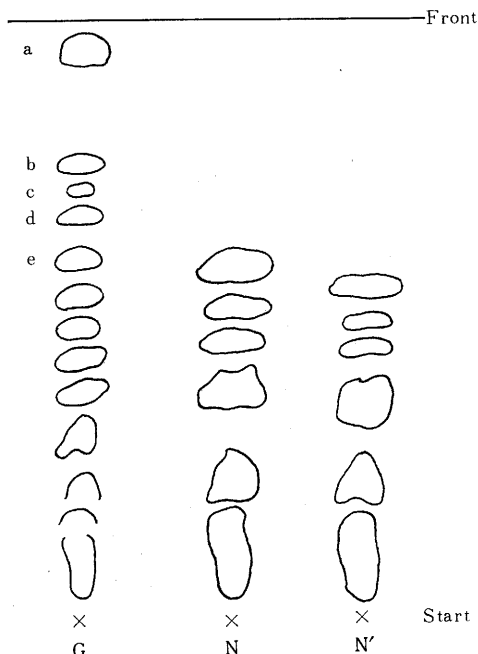
これらにたいして TLC がどの程度に有効性を持ち得るかは、現在のところはっきり予測できないが、研究報告はしだいにふえている。

無機りん酸化合物ならびにその縮合体の TLC に用いられる吸着剤は、セルロース¹³⁾、でんぷん¹⁴⁾、あるいはでんぷんを結合剤とするシリカゲル¹⁵⁾などである。著者らは最近、高分子電解質のひとつであるポリアクリル酸ナトリウムをシリカゲルの結合剤として使用し¹⁶⁾、次亜りん酸ナトリウム、亜りん酸ナトリウムならびにりん酸三ナトリウムの分離を行なった。この結合剤は加熱、硫酸噴霧にたいして安定であるという特性をそなえている。

また上記のプレートを使用し、各種無機りん酸化合物ばかりでなく、有機誘導体のひとつであるりん酸エステル型界面活性剤の分離も行なわれた¹⁷⁾。この物質は新しいタイプの界面活性剤であってアメリカにおいて開発され、繊維油剤、乳化重合乳化剤、帯電防止剤、潤滑油添加剤、洗浄剤、金属表面処理剤などの用途を持つものである。TLC によると図・5 に示すように、りん酸ジエステル、りん酸モノエステル系列ならびにりん酸と結合しない非イオン活性剤系列が非常にはっきりと分れている。

(3) 有機過酸化物

高分子化学工業の飛躍的な発展にともない、重合の開始剤のひとつとして有機過酸化物が大量に製造されるようになった。この物質は過酸化水素 HOOH の水素を置換基 R, R' で置きかえた構造 ROOR' を持つものとして表わされる。このうち過酸化結合 O-O は熱、光あるいは衝撃にたいしてきわめて不安定であるので、通常、物質の分離に用いられるガスクロマトグラフィーの適用は困難である。したがって工場の工程管理あるいは製品

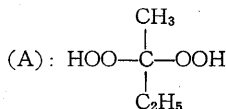


図・5 りん酸エステル型界面活性剤の薄層クロマトグラム。吸着剤ワコーゲル BO, 結合剤ポリアクリル酸ナトリウム 0.003% (吸着剤にたいし)。溶離剤ベンゼン-ヘキサン (1:1), 2回展開, よう素蒸気で発色。N, N' は原料に用いられるアルキルエーテル型非イオン活性剤, G が製品のりん酸エステル型界面活性剤。a がジエステル, b~e がモノエステル系列と考えられる。(浅尾, 貝沼, 藤崎)

検査にたいしては TLC は有力な手段のひとつになる。

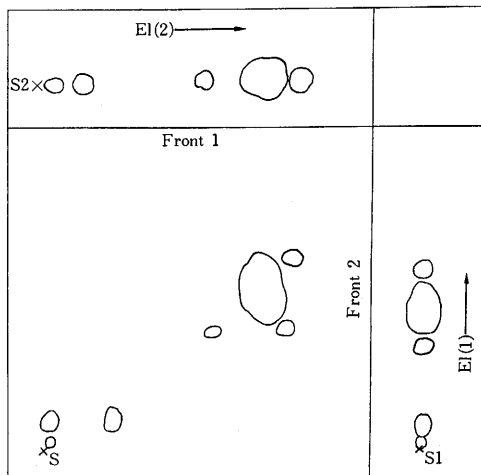
すでに数種の過酸化物は TLC によって分離されていたが¹⁸⁾, 著者らもこれに関し 2, 3 年前から検討をつづけ¹⁹⁾, その方法の一部はいくつかの生産会社で応用されている。

有機過酸化物のうち, ポリエステル樹脂の硬化剤であるメチルエチルケトンパーオキシド (MEKPO) は単位構造 (A) が 1~6 個縮合したもののオリゴマーとみなしうる。市販されている MEKPO を TLC で展開す



るとほぼ存在するオリゴマーの数に相当する数のスポットが表われる。ところで問題は 図・6 に示す各スポットのうち, どれがどのような縮合数を有するかということである。ケトンパーオキシドオリゴマーのペーパークロマトグラフィーに関する Milas の報告²⁰⁾ から考えても, 溶媒は異なっているが縮合数の小さいもの程 Rf が小さく, 大きくなるにつれて Rf が大きくなるはずである。

図・6 では Rf が 2 番目に大きいスポットが最大の面積を有している。これに反し Milas のペーパークロマトグラフィーでは Rf が 5 番目のスポットが最大である。このような矛盾がなにゆえに生じるのかは現在のところはっきりしない。ひとつの仮定として MEKPO がシリカ



図・6 MEKPO の二次元展開薄層クロマトグラム。吸着剤シリカゲル G。溶離剤; El (1) クロロホルム-酢酸-水 (8:1:2), El (2) ベンゼン-メタノール-酢酸 (10:1:1)。発色よう化カリウム飽和水溶液噴霧。(早野, 太田)

ゲルプレート中で縮合を起すということも考えられる。いずれにせよ現在のところ MEKPO の TLC による同定は, 物質が不安定なために成功していないが, この点が明らかにされれば, その安定な存在状態に関して新しい知識が得られることになる。

(4) 有機合成反応の補助手段としての TLC

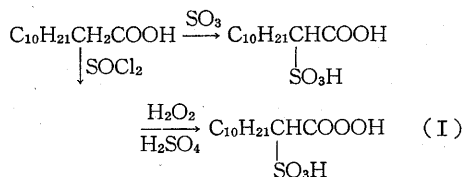
以上に述べた物質のほかにも, 重要な有機合成薬品のひとつである合成染料においては TLC が積極的にとり入れられ, ヨーロッパにおいては現在ではもっぱらこれによって生産管理を行なっているという。

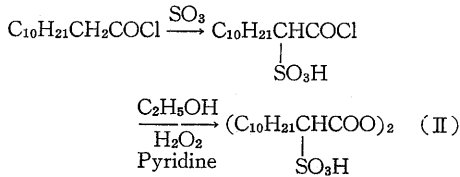
有機中間体に関しても TLC はかなりひろく利用されているようであるが, この場合には TLC は補助手段として用いられており, 主要な item としてとりあげられないので, 文献の総括的な収集はいささか困難である。

このようなわけで, もっとも適切な例と言い難いかも知れないが, 著者らが合成反応において TLC をどのように利用しているかを紹介することにする。

そのひとつの例は α-スルホン脂肪酸の過酸化物の合成反応である²¹⁾。これには原料としてラウリン酸を用い, 目的とする過酸化物である α-スルホ過ラウリン酸 (I) ならびにジ-α-スルホアシルパーオキシド (II) を得ようとするものである。

反応生成物をそれぞれ TLC で展開し, ヨウ化カリウム飽和水溶液を噴霧してプレート上で分離された過酸化物を呈色させる。

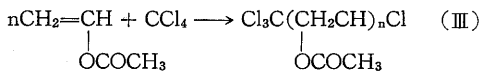




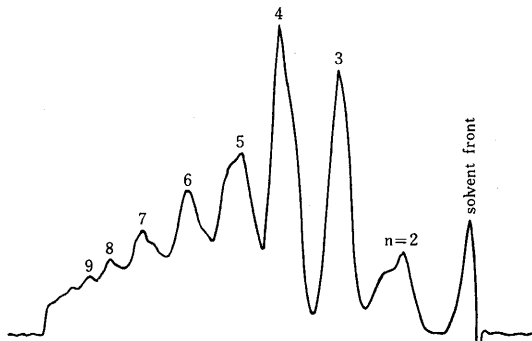
その結果、(I)の反応では目的物とみなされるスポットのほかに、過ラウリン酸に相当するスポットが検出された。置換基の性質を考慮に入れると、分子中に過酸基とスルホン基の両者を同時に含む α -スルホ過ラウリン酸の方が、過酸基のみを含む過ラウリン酸より低い R_f を示すことが予想されるが、これは実験結果を無理なく説明できる。

(II)の反応は前者に比べ、より複雑であって五つのスポットが検出された。このうち二つはそれぞれジラウロイルパーオキシドならびに過ラウリン酸に相当するものである。分子構造からはこの目的物の R_f は、ジラウロイルパーオキシドと (I) の中間に来ることが期待される。いずれにせよ、TLC はこれらの反応生成物の分離手段としては有用であって、反応機構の解析に有力な手掛りとなっている。

合成反応に TLC を応用したもうひとつの例は、酢酸ビニルと四塩化炭素のテロメル化反応である²²⁾。これは (III) に示すようにオリゴメリゼーションの一種であって、反応条件を規制することにより生成物の分布を変えることができる。



この生成物は不安定であるので、前述の場合と同様に分解しないように注意して取り扱う必要がある。さて、この生成物を TLC によって展開し、スポットを発色させたのちにデンストメーターにかけると、図・7 のようなデンストグラムが得られる。若干の仮定を設けること



図・7 酢酸ビニル四塩化炭素テロマーのデンストグラム。吸着剤、シリカゲル G。溶離剤、ベンゼン-酢酸エチル-酢酸 (10:1:1)。濃硫酸噴霧、110°C、120 分加熱して発色。誠教理化社 TLC-レコーダー使用。数字は縮合数を表す。(浅原、巻島、早野)

により、このような方法で上記のテロメル化反応の連鎖移動定数を求めることができる。

4. むすび

以上に TLC に関する問題ならびに応用の一端を概観したが、つぎのことを結論にかえてつけ加えたい。それは TLC が多環式芳香族炭化水素の分離にもはなはだ適しているということである。これに関する研究のもっとも包括的な成果は、E. Sawicki ら²³⁾によって得られた。ここでは、これらの化合物がけい光あるいはりん光スペクトルによって実に 0.1 ng (ng=10⁻⁹g) まで検知されている。この研究が単に合成化学にとどまらず、大気汚染物質の分析あるいは発がん性物質の研究にたいして有する意義はきわめて大きいと考えられる。

(1966年3月10日受理)

文 献

- 1) E. Stahl, "Thin-Layer Chromatography", Springer-Verlag & Acad. Press (1965) p. 4
- 2) *ibid*, p. 75
- 3) H. Geiss, H. Schlitt, A. Klose, *Z. Anal. Chem.*, **213**, 331 (1965)
- 4) L. S. Bark, R. J. T. Graham, M. McCormick, *Talanta*, **12**, 122 (1965)
- 5) H. Geiss, H. Schlitt, A. Klose, *Z. Anal. Chem.*, **213**, 321 (1965)
- 6) J. A. Attaway, R. W. Wolford, *Anal. Chem.*, **37**, 74 (1965)
- 7) K. Bey, *Tenside*, **2**, 373 (1965)
- 8) 総説としては Stahl のテキスト¹⁾のほかに、藤山、表面, **2**, No. 10, 25 (1964) がある
- 9) たとえば M. Gee, *J. Chromatog.*, **9**, 278 (1963)
- 10) W. Wachs, K. Gerhardt, *Tenside*, **2**, 6 (1965)
- 11) 総説としては K. Bey, *Fette. Seifen. Anstrichmittel*, **67**, 217 (1965) がよい
- 12) H. K. Mangold, 文献 1) p. 137
- 13) たとえば M. Baudler, M. Mengel, *Z. Anal. Chem.*, **211**, 42 (1965)
- 14) たとえば V. D. Canic, M. N. Turcic, S. M. Petrovic, S. E. Petrovic, *Anal. Chem.*, **37**, 1576 (1965)
- 15) H. Seiler, T. Kaffenberger, *Helv. Chim. Acta*, **44**, 1753 (1961)
- 16) 高井、早野, 化学と工業, **19**, 124 (1966)
- 17) 浅尾、貝沼、藤崎, 東邦化学工業株式会社技術研究所内報告
- 18) E. Knappe, D. Peteri, *Z. Anal. Chem.*, **190**, 386 (1962)
- 19) 早野、太田, 生産研究, **16**, 229 (1964); 早野、太田、福島, 分析化学, **15**, 365 (1966)
- 20) N. A. Milas, A. Golubovic, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3361 (1959)
- 21) 浅原、飯田、猪口, 一部を油化学研究発表会で講演 (昭和 40 年 10 月 15 日)
- 22) 浅原、巻島、早野, 一部を薄層クロマト研究懇談会で発表 (昭和 41 年 1 月 11 日)
- 23) E. Sawicki, T. W. Stanley, J. D. Pfaff, W. C. Elbert, *Anal. Chim. Acta*, **31**, 359 (1964); D. F. Bender, E. Sawicki, R. M. Wilson, *Anal. Chem.*, **36**, 1011 (1964); E. Sawicki, J. D. Pfaff, *Anal. Chim. Acta*, **32**, 521 (1965); E. Sawicki, T. W. Stanley, W. C. Elbert, M. Morgan, *Talanta*, **12**, 605 (1965)