

## 低角度光散乱光度計の製作とその性能評価

福	田	三	寿
福	富		誠
馬	場	信	行
加	藤	芳	男
有	近	健	二
相	浦		惇
橋	本		勉

### Construction of a Low-Angle Light Scattering Photometer and Examination of its Performance

Mitsutoshi FUKUDA  
 Makoto FUKUTOMI  
 Nobuyuki BAMBA  
 Yoshio KATO  
 Kenji ARICHIKA  
 Makoto AIURA  
 Tsutomu HASHIMOTO

A low-angle light scattering (LALS) photometer was constructed and its performance as a molecular weight detector for gel permeation chromatography (GPC) was examined, together with the reliability of GPC/LALS method.

The LALS photometer consists of a cylindrical flow-cell of 30  $\mu\text{l}$  in volume, combined with a He-Ne laser as light source. The fluctuation in the intensity of incident beam is compensated by adopting the two-detectors optical system. Scattered light intensity at angle as low as  $5^\circ$  can be measured with high accuracy and good stability.

High performance of the photometer was ascertained by a series of GPC/LALS measurements made on various polystyrene samples of known molecular weight. High resolution GPC equipped with a LALS photometer would be a powerful tool in the polymer characterization field.

#### 1. ま え が き

光散乱法は高分子の分子量、分子の大きさなどを決定する手段として古くから知られており、現在までその重要性は失なわれていない。しかしながら、測定方法が煩雑であり、精度良く測定値を得ることが困難であるなどの理由で一般に普及するに至っていない。光散乱測定の高精度化については既に多くの研究が報告されている。低散乱角度 ( $\sim 10^\circ$ ) まで精度良く測定できる装置の開発が進められ<sup>1)~5)</sup>、さらには測定データの解析方法の改良<sup>6)7)</sup>などによって、その成果が得られている。その結果、分子  $10^8$  程度の巨大分子 (DNA) の解析にも適用さ

れるに至っている<sup>3)</sup>。一方、測定方法の簡素化に関する努力は皆無であったが、最近 Kaye らの努力によって、レーザーを光源とする低角度光散乱光度計が開発されるに至り<sup>8)</sup>、光散乱測定の高精度化が飛躍的に向上し、光散乱法の新しい適用分野を拓くことが可能となってきた。

ここでは、Kaye らの基本的考え方に従って、新しいタイプの低角度光散乱光度計を試作し、その性能評価、およびゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) の分子量検出器としての適用性について検討する。

#### 2. 光 散 乱 法

[1] 光散乱法の基礎的背景<sup>9)</sup>

光散乱測定の解析には散乱強度として、次式で定義される還元散乱強度 (Rayleigh 因子) が用いられる。

$$R_{\theta} = r^2 I_{\theta} / I_0 V_{\theta} \quad (1)$$

ここで、 $V_{\theta}$  は散乱体積、 $I_0$  および  $I_{\theta}$  はおのおの入射光および散乱光の強度であり、 $r$  は散乱中心から受光面までの距離を表わす。

液体中に光の波長  $\lambda$  に比べて充分小さい溶質分子 (半径  $R < \lambda/20$ ) が存在し、濃度が充分小さいとき、この溶液から散乱される光の強度は次式で表わされる。

$$R_{\theta} = KcM \quad (2)$$

$$K = 2\pi^2 n_0^2 (\partial n / \partial c)^2 (1 + \cos^2 \theta) / N_A \lambda_0^4 \quad (3)$$

ここで、 $c$  は溶液濃度 (g/ml),  $M$  は溶質の分子量、 $n_0$  は溶媒の屈折率、 $\partial n / \partial c$  は溶液の屈折率の濃度勾配、 $\lambda_0$  は入射光の真空中での波長 (cm),  $N_A$  はアボガドロ数である。溶質分子の大きさが光の波長と同程度の大きさになると、分子内各散乱点からの散乱光は互に干渉し合うようになり、 $R_{\theta}$  は散乱角度  $\theta$  に依存する。この場合、 $R_{\theta}$  は(2)式に対応して、

$$R_{\theta} = KcMP(\theta)(1 - 2A_2P(\theta)Mc) \quad (4)$$

と表わされる。 $P(\theta)$  は分子内干渉効果を表わす因子であり、散乱角度が大きいほど、また分子の半径が大きいほど小さくなり干渉効果が顕著となる。 $P(\theta) \leq 1$  であり、 $\theta \rightarrow 0$  で  $P(\theta) \rightarrow 1$  となる。 $(1 - 2A_2P(\theta)Mc)$  は分子間の干渉効果を含む項で、濃度が高いほど、また分子量が大きいほど、干渉効果が大きい。 $A_2$  は第2ビリアル係数であり、溶媒-溶質間の親和性を表わす。溶質の分子量に分布があるときは、(2)および(4)式の  $M$  は重量平均分子量  $\bar{M}_w$  となる。

## [2] 低角度光散乱測定

レーザーは、指向性、集光性がよく非常に光束を小さくすることができるので、極めて低角度 ( $\theta \leq 5^\circ$ ) における散乱光の測定が可能となる。この場合、干渉効果は無視小、即ち  $P(\theta) = 1$  となり、(4)式は

$$R_{\theta} = KcM(1 - 2A_2Mc) \quad (5)$$

となる。さらに、入射光強度が非常に強いので、試料溶液の濃度を充分小さくすることができるので、一般に、

$$R_{\theta} = KcM \quad (6)$$

となり、小粒子からの散乱を記述する(2)式と同一の表現であり、溶液濃度と分子量の積に比例する。したがって、レーザーを光源とする低角度光散乱測定においては、 $\theta \rightarrow 0$  および  $c \rightarrow 0$  の外挿操作を施すことなしに、分子量を決定することができるので、測定セルとしてフロー型セルを用いると、散乱強度  $R_{\theta}$ 、即ち分子量  $M$  の連続測定が可能となる。さらに、測定セル中心におけるレーザーの照射断面積が小さく、散乱体積を  $10^{-4} \text{ cm}^3$  程度にまで小さくすることができるので、試料溶液中のゴミ

などの巨大分子の影響が小さくなり、測定試料の厳密な光学精製が不要となる。

**Table 1** Effect of  $P(\theta)$  and concentration on  $R_{\theta}$

$$R_{\theta} = KcMP(\theta)(1 - 2A_2P(\theta)Mc)$$

### 1. Effect of $P(\theta)$

$M$	$\langle S^2 \rangle^{11}$ ( $\text{cm}^2$ )	$\langle S^2 \rangle^{1/2}$ ( $\text{\AA}$ )	$P(\theta)$	
			$5^\circ$	$30^\circ$
$10^4$	$1.0 \times 10^{-13}$	33	1.00	1.00
$10^5$	$1.5 \times 10^{-12}$	120	1.00	0.99
$10^6$	$2.1 \times 10^{-11}$	460	1.00	0.92
$10^7$	$3.0 \times 10^{-10}$	1,700	0.98	0.40

### 2. Effect of concentration

$M$	$A_2^{11}$ ( $\text{mol} \cdot \text{ml} / \text{g}^2$ )	$1 - 2A_2Mc$ ( $c : \text{g/ml}$ )		
		$10^{-5}$	$10^{-4}$	$3 \times 10^{-4}$
$10^4$	$1.1 \times 10^{-3}$	1.00	1.00	0.99
$10^5$	$5.8 \times 10^{-4}$	1.00	1.00	0.97
$10^6$	$3.0 \times 10^{-4}$	1.00	0.99	0.82
$10^7$	$1.6 \times 10^{-4}$	0.97	0.68	—

1) Based on the data for benzene solution of polystyrene

**Table 1** には、 $R_{\theta}$  に対する  $P(\theta)$  の影響 ( $\theta = 5^\circ$  および  $30^\circ$ ) および  $R_{\theta}$  に対する  $(1 - 2A_2Mc)$  の影響 ( $c = 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ , および  $3 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$ ) を溶質の分子量が  $10^4 - 10^7$  の範囲について具体的に計算した結果を示した。 $\theta = 5^\circ$  にすると、分子量数百万程度までは、 $P(\theta) = 1$  であり、 $M = 10^7$  でも  $P(\theta)$  の影響は非常に小さいことがわかる。表中、 $\langle S^2 \rangle$  は溶質の自乗平均慣性半径である。一方、濃度については  $P(\theta)$  の場合よりその影響は顕著であるが、分子量の増加と共に濃度を小さくすることによって  $(1 - 2A_2Mc)$  が 1 とみなしうる範囲で測定することができる。

### 3. GPC/光散乱測定法

示差屈折計 (RI) あるいは紫外分光光度計 (UV) を濃度検出器とする GPC 装置に、上述の低角度光散乱光度計 (LALS) を接続した GPC/光散乱測定法<sup>10)11)12)</sup>は、従来指摘されていた GPC 解析上の諸問題を解決することができる。

**Fig. 1** に示すように、RI および LALS で検出されるクロマトグラムのある溶出位置におけるベースラインからの高さを、おのおの  $h_i^{RI}$  および  $h_i^{LS}$  とすると、

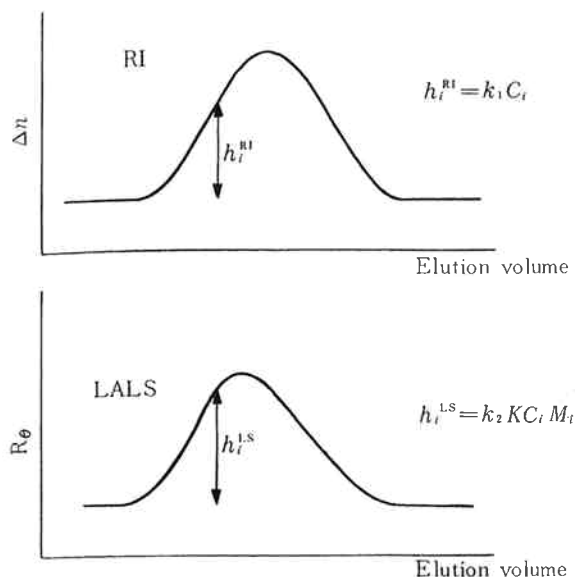


Fig. 1 Chromatograms corresponding to the responses of a differential refractometer (RI) and a low-angle light scattering photometer (LALS).  $c_i$  and  $M_i$  are concentration and molecular weight of  $i$ -th effluent, respectively.

$$h_i^{RI} = k_1 c_i \quad (7)$$

$$h_i^{LS} = k_2 R_\theta = k_2 K c_i M_i \quad (8)$$

となる。 $k_1$  および  $k_2$  は定数であり、 $c_i$  および  $M_i$  はおのおの  $i$  番目の溶出位置における溶出成分の濃度および分子量である。上の2つの式の比をとると、

$$h_i^{LS}/h_i^{RI} = (k_2 K/k_1) M_i \quad (9)$$

となり、各溶出成分の分子量を算出することができる。したがって、2つのクロマトグラムから直接分子量分布曲線を得ることができるので、従来の GPC 法における検量線を必要としない。(9)式の  $k_2 K/k_1$  は装置および溶

媒-溶質系に固有な定数であり、分子量既知の標準高分子を較正物質としてその値を決定することができる。

$\partial n/\partial c$  の値が小さい場合のように、溶液濃度を充分小さくすることができない時には、(8)式の代りに次式を用いて解析する。

$$h_i^{LS} = k_2 K c_i M_i (1 - 2A_2 M_i c_i) \quad (10)$$

$A_2$  の分子量依存性が既知であれば、反復計算法<sup>13)</sup>によって、(7)および(10)式から分子量  $M_i$  の値を決定することができる。

測定試料の分子量分布が対数正規分布

$$W(M) = \frac{e^{-\sigma^2/2}}{\sigma\sqrt{2\pi}} \frac{1}{M_0} \exp\{-[\ln(M/M_0)]^2/2\sigma^2\} \quad (11)$$

に従うとき ( $\sigma$  および  $M_0$  は分子量、分子量分布を表わすパラメータである)、RI 検出器に対応するクロマトグラムのピーク位置の分子量  $M_p^{RI}$  は、

$$M_p^{RI} = (\bar{M}_w \cdot \bar{M}_n)^{1/2} \quad (12)$$

であり、重量平均分子量  $\bar{M}_w$  と数平均分子量  $\bar{M}_n$  の相乗平均値となる。一方、LALS 検出器に対応するクロマトグラムのピーク位置の分子量  $M_p^{LS}$  は、

$$M_p^{LS} = \bar{M}_w (\bar{M}_w/\bar{M}_n)^{1/2} = M_p^{RI} (\bar{M}_w/\bar{M}_n) \quad (13)$$

与えられることが示される。すなわち、LALS のピーク位置は試料の分子量分布  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  に対応した溶出量だけ RI のピーク位置より低溶出量側にずれることがわかる。

#### 4. 低角度光散乱光度計の試作

装置の試作にあたって、基本的なデザインについては Kaye の装置<sup>8)</sup> をモデルとしたが、より安定した測定値が得られるように、測定セル構造を改良し、さらに受光

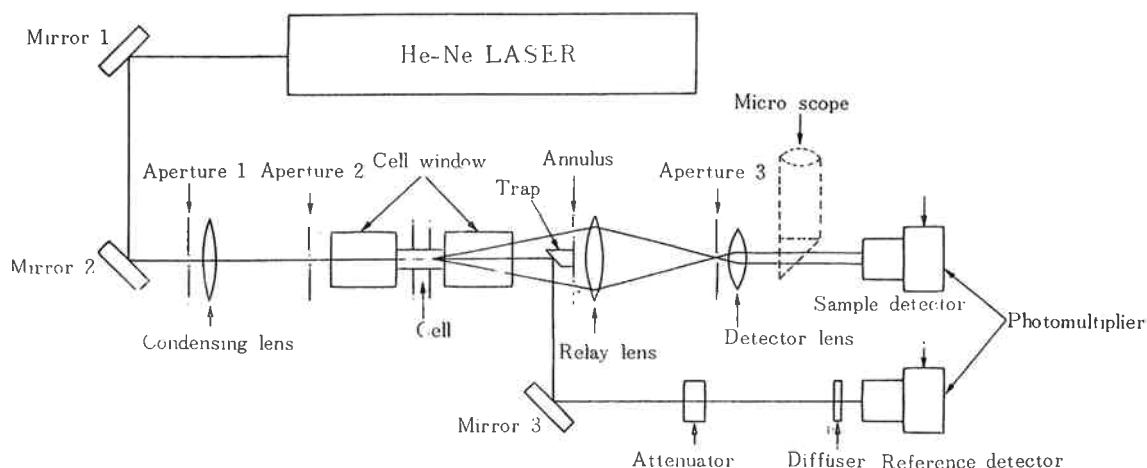


Fig. 2 Schematic drawing of projecting and receiving optical systems in Model LS-8.

部光学系に新しいシステムを採用した。

Fig. 2には光学系の概略を示した。光源は5 mWのHe-Neレーザー(NEC社製)で波長は $6328 \text{ \AA}$ である。光束は全反射ミラー1および2で反射され、集光レンズ( $f=150 \text{ mm}$ )でセル中心に集光される。光束のハローを除去するために、アパーチャー1( $2\phi$ )および2( $1\phi$ )が置かれている。入射光は2つの厚い石英ガラス窓( $20\phi \times 30 \text{ mm}$ )をもったフローセルを通過し、円環スリット中心に取りつけられた光トラップ(透過率1%の中性フィルター)でその一部が反射され、さらに全反射ミラー3、減光フィルターおよび散乱板を通して入射光強度検出用光電子増倍管(R-PM, 浜松テレビ製R-777, サイドオン型)に入り電気信号に変換される。

Fig. 3には受光部光学系を示した。円筒セルからの散乱光は円環スリット(内径 $17\phi$ , 外径 $19\phi$ )により散乱角度 $\theta_1$ および $\theta_2$ に限定された散乱光成分のみがリレーレンズ( $f=50 \text{ mm}$ )によってアパーチャー3(0.1

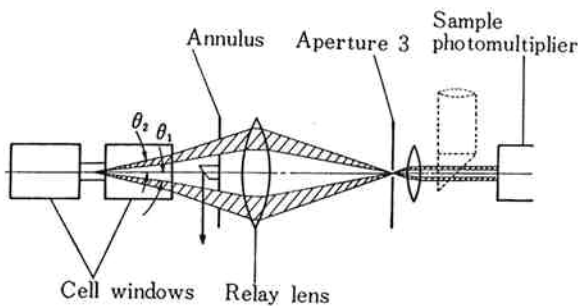


Fig. 3 Diagram of receiving optical system for measurement of  $I_\theta$  at the scattering angle between  $\theta_1$  and  $\theta_2$ .

$\phi$ )に集光され、ディテクターレンズ( $f=18 \text{ mm}$ )で散乱光強度検出用光電子増倍管(S-PM, 浜松テレビ製R-777)上に集光される。 $\theta_1$ および $\theta_2$ は試料の屈折率によってその値が異なるが、例えば $n=1.44$ の場合、 $\theta_1=5^\circ$ ,  $\theta_2=5.5^\circ$ となる。アパーチャー3およびディテクターレンズは光学ベンチ上で光軸方向に移動可能であり、リレーレンズによる集光位置に正しくセットすることにより、ガラス窓-空気境界面および円環スリットのエッジからの回折光を除去することができる。アパーチャーの位置が正しいか否かはS-PM前面に挿入されたマイクロスコップで判断することができる。本光学系における散乱体積は約 $10^{-4} \text{ cm}^3$ と計算される。

Fig. 4にはフローセルの構造を示した。セル構成材は黒色のポリクロロトリフルオロエチレン樹脂を加工したもので、中心軸が光軸と一致する円筒孔が穿かれている。円筒の径は $2\phi$ で長さ(光路長)は $10 \text{ mm}$ であり、セル容量は約 $30 \mu\text{l}$ である。ジョイントを通して送液用テフロンチューブに接続されている。このセル構成材は前および後面の2つの石英ガラス窓と共にセルホルダーに固定される。セル全体はセルマウント中に取り付けられ恒温に保つことができる。

本光学系の特長は入射光強度の変動解消システムを組入れたことにある。このシステムの電気制御回路の概略をFig. 5に示した。入射光の強度はR-PMによって電気信号に変換され、回路IC. 2によって増幅され、回路IC. 3の入力となる。IC. 3において、IC. 2からの出力は光電子増倍管参照電圧PM. Voltと比較され両者の差が常に零となるように、光電子増倍管印加電圧-HVが作動する。例えば、入射光強度に増加変動を生じ、

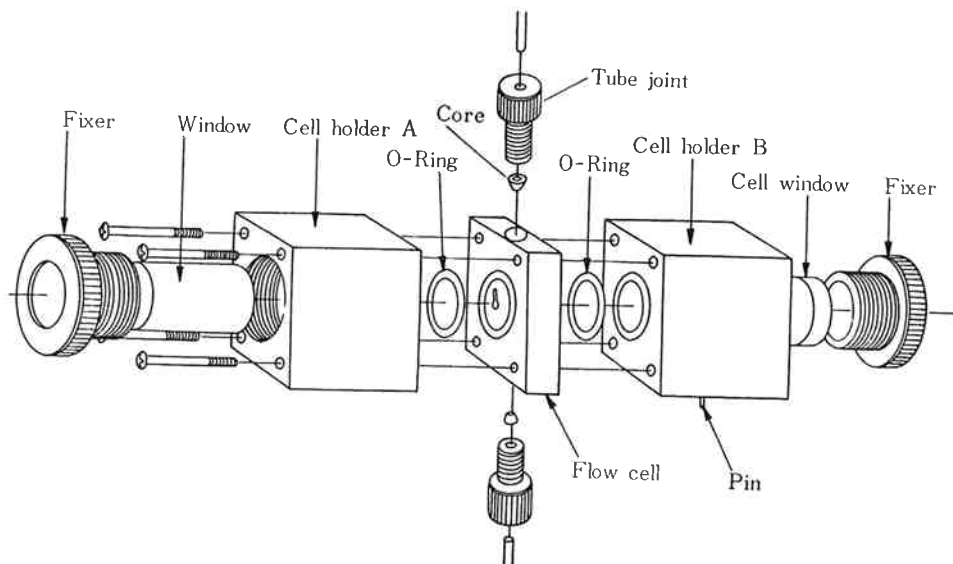


Fig. 4 Structure of a cylindrical flow-cell.

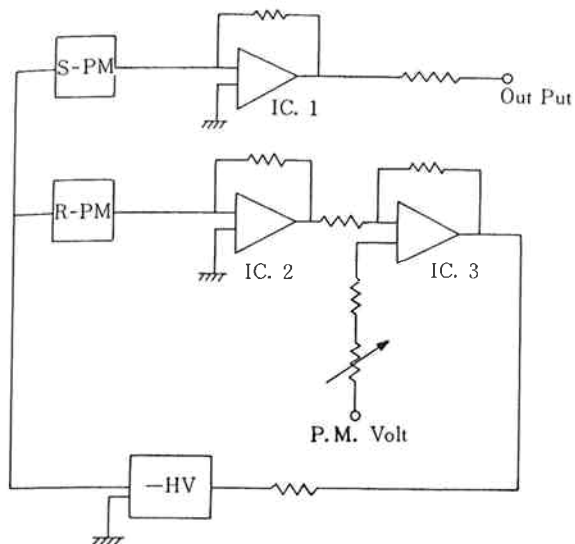


Fig. 5 Electric diagram of P.M. volt control units in two-detectors system.

IC. 2 からの入力が P.M. Volt より大きくなると、両者の差を零にすべく -HV が減少方向に作動し、入射光強度変動に由来する S-PM からの出力変動を解消する。このシステムによって、散乱光強度測定値の安定性および測定精度の向上を期待することができる。

Fig. 6 には本装置 (Model LS-8) の光学系外観写真を示した。

### 5. 装置の性能試験およびGPCへの適用性

#### 〔1〕 試料および測定

GPC 装置に LS-8 を接続して測定を行ない、装置の性能および GPC/光散乱測定法の信頼性について検討した。用いた GPC 装置は HLC-802 UR (東洋曹達製) であり、RI 検出器と流量モニターの間に LS-8 を接続した。測定カラムは、TSK-GEL GMH<sub>6</sub> (内径 0.305 in., 長さ 2 ft.) を 2 本連結した。カラム出口と RI 検出器の間にフィルターホルダーを接続し、テフロン製マイクロフィルター (フルオロポア, 住友電工製, 孔径 1 ミクロン) をセットした。溶媒はテトラヒドロフラン (THF) あるいはメチルエチルケトン (MEK) であり、試薬 1 級をそのまま用い、脱気および除塵などの精製は施さなかった。測定流速は 1 ml/min, 溶液注入量は 0.5 ml である。汙過, 遠心などによる測定溶液の光学精製は行なわなかった。

測定に用いた試料は、分子量分布の狭い TSK 標準ポリスチレン, 分子量分布の広いポリスチレンである。

#### 〔2〕 結果

Fig. 7 は標準ポリスチレンの測定例で測定の再現性を調べたものである。この他多数の測定結果から、再現性 ±1.5% 程度であると判断した。この図からもわかるように、溶媒の散乱強度に対応するベースラインの安定性は極めて良好であり、この安定性は4.で述べた入射光強度の変動解消システムの採用の結果として得られたもの

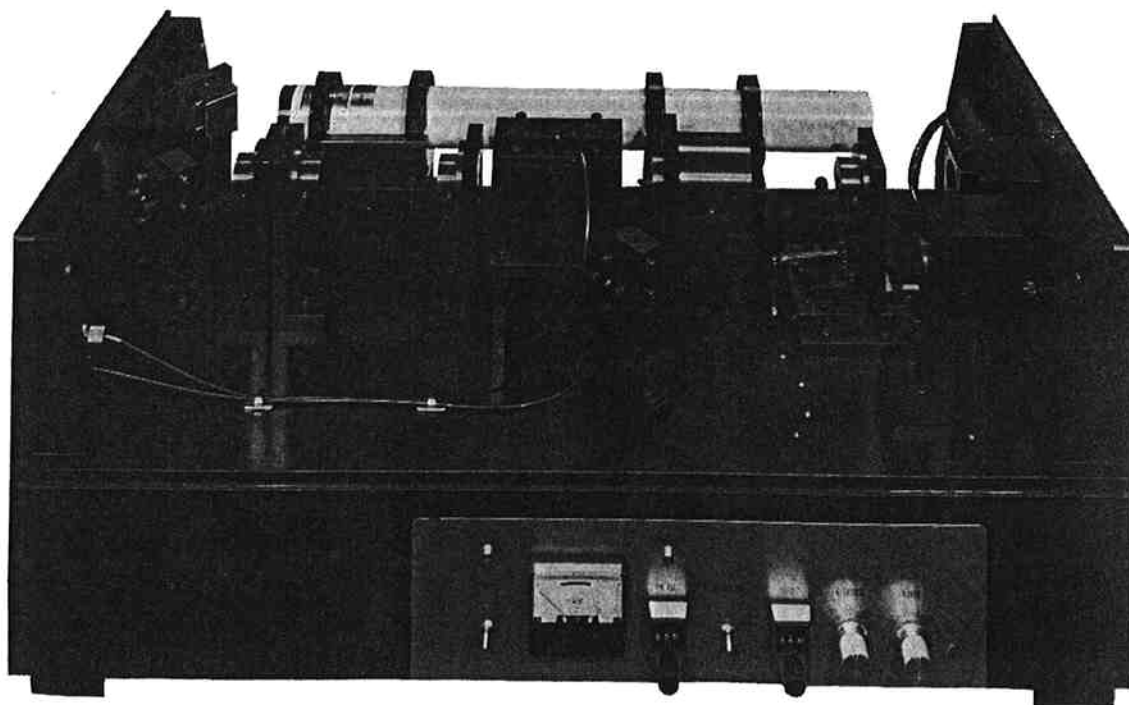


Fig. 6 Outview of optical design in Model LS-8.

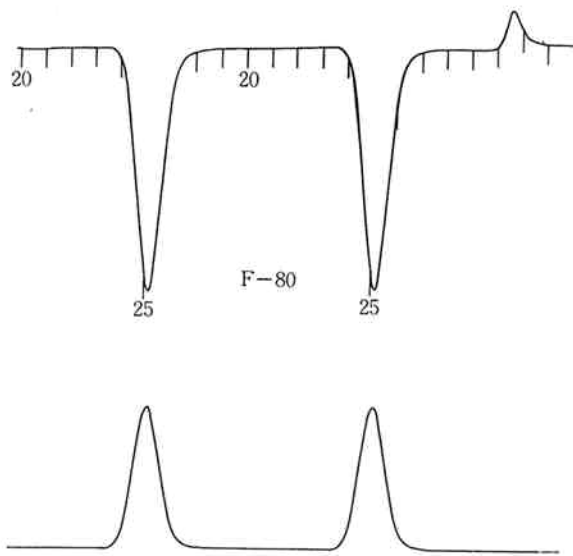


Fig. 7 GPC elution chromatograms of polystyrene F-80 ( $M=7.75 \times 10^5$ ) measured in THF on two-2ft columns, GMH<sub>6</sub>: flow rate, 1 ml/min. Same sample solution was twice injected. Upper chromatogram corresponds to RI detector, and the lower to LALS detector.

である。

分子重量範囲数千から数百万に亘る分子量既知の一連の標準ポリスチレンについて得られた RI および LS-8 に対応するクロマトグラムの面積  $S^{RI}$  および  $S^{LS}$  から、次式に従って(9)式の定数  $k_2K/k_1$  の値を決定した。

$$\frac{S^{LS}}{S^{RI}} = \frac{k_2K \sum c_i M_i}{k_1 \sum c_i} = (k_2K/k_1) \bar{M}_w \quad (14)$$

この定数の値は試料の分子量に依存しないことが要請される。これを確認したのが Fig. 8 である。溶媒は THF および MEK であるが、いずれの場合でも、 $k_2K/k_1$  の値は分子量の値に関係なく一定であることがわかる。なお、試料が単分散に近いときは、2つのクロマトグラムのピーク位置における高さの比、 $H^{LS}/H^{RI}$  は面積比

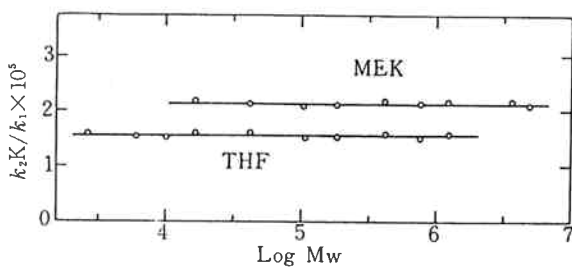


Fig. 8 Effect of molecular weight on the constant  $k_2K/k_1$  in eq. (9) determined in THF and MEK on a series of standard polystyrenes.

$S^{LS}/S^{RI}$  に等しい。

単分散に近い試料について得られる RI および LS-8 に対応するクロマトグラム (例えば, Fig. 7) の各溶出位置における高さの比  $h_i^{LS}/h_i^{RI}$  の値は溶出位置  $i$  に関係なく一定となるはずである。単分散に近い2つの標準ポリスチレン F-80 ( $M=7.75 \times 10^5$ ) および F-4 ( $M=4.28 \times 10^4$ ) について得られた結果を Fig. 9 に示した。

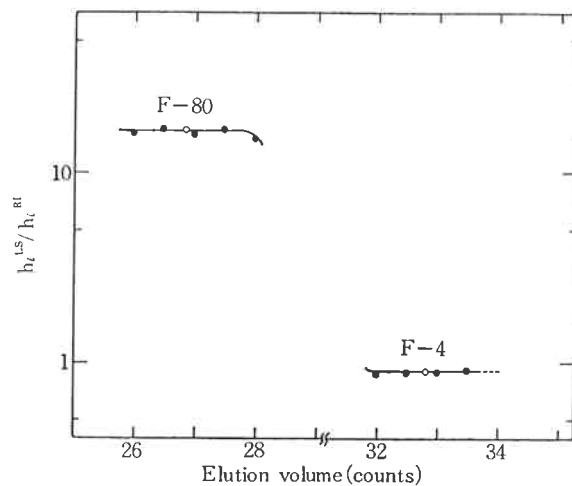


Fig. 9 Elution volume dependence of  $h_i^{LS}/h_i^{RI}$  on polystyrene F-80 ( $M=7.75 \times 10^5$ ) and F-4 ( $M=4.28 \times 10^4$ ) measured in THF on two-2ft columns of GMH<sub>6</sub>.

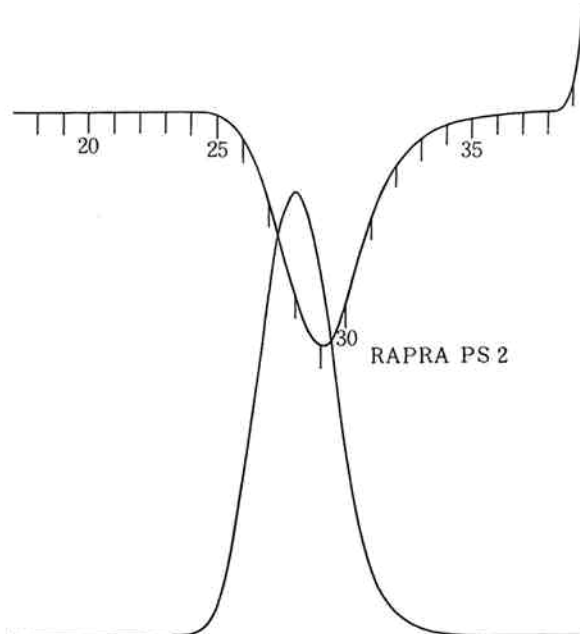


Fig. 10 GPC elution chromatograms of polystyrene RAPRA PS2 measured in MEK on two-2ft columns of GMH<sub>6</sub>: flow rate, 1 ml/min. Upper chromatogram corresponds to RI detector and the lower to LALS detector.

$h_i^{LS}/h_i^{RI}$  は溶出量に関係なく一定であり、上の要請を満たしていることが確認された。

以上の結果から装置の性能は良好であり、GPC の分子量検出器として妥当であることを確認した。

Fig. 10 には分子量分布の広いポリスチレン RAPRA PS 2 の測定結果を示した。(3)式から期待されるように、LS-8 に対応するクロマトグラムのピーク位置が RI のそれより低溶出量側にずれていることがわかる。分子量分布の狭いポリスチレン NBS 705, 分子量分布の広いポリスチレン NBS 706, RAPRA PS 2, および分子量分布の狭いポリスチレンの混合物 S-21 について得られた  $\bar{M}_w$  の値を Table 2 にまとめ、公称値と比較した。THF および MEK で測定した値には良い一致が見られた。さらに、これらの値と公称値あるいは計算値との一

Table 2 Weight average molecular weights  $\bar{M}_w$  of polystyrene from GPC/LALS measurements in tetrahydrofuran (THF) and methyl ethyl ketone (MEK).

Sample	$\bar{M}_w \times 10^{-4}$		Supplier's data
	Observed		
	THF	MEK	
NBS 705	17.9	17.3	17.93
NBS 706	28.1	27.8	25.78
RAPRA PS2	31.7	32.8	34.03
S-21 <sup>1)</sup>	19.9	20.0	20.7 <sup>2)</sup>

- Mixture of three monodisperse polystyrenes ( $M \times 10^{-4} = 9.72, 16.0, \text{ and } 41.1$ ).
- Calculated value.

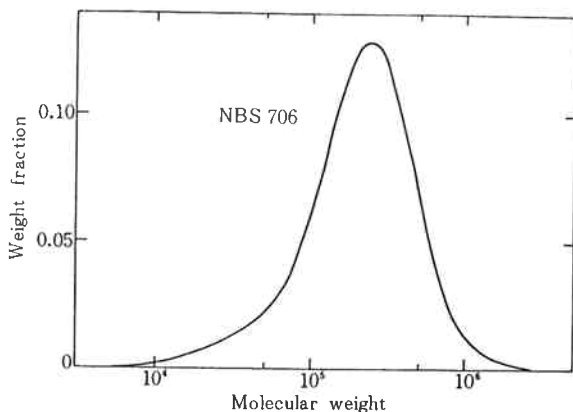


Fig. 11 Molecular weight distribution of polystyrene NBS 706 obtained from GPC/LALS measurement.

致も極めて良好であることがわかる。NBS 706 について得られた分子量分布曲線を Fig. 11 に示した。これから計算した  $\bar{M}_w/\bar{M}_n$  の値は 2.13 であり、NBS が分別法で評価した値 2.1 と良く一致している。

GPC/光散乱測定法で得られる重量平均分子量の値はカラムの分離能に関係なく正しい値が得られるが、数平均分子量の値はカラムの分離能に依存し、一般に真の値より大きくなることが指摘されている<sup>14)</sup>。しかし、上の結果からわかるように、ここで用いた測定カラムと同程度の分離能があれば、ほぼ正しい  $\bar{M}_n$  の値が得られることがわかる。

LALS の検出感度は(8)式から明らかなように、試料の分子量に比例して増大する。最小検出濃度はベースラインの安定性に依存するが、ここで製作した LS-8 の場合上述のように安定性は非常に良好であり、最小検出濃度  $c_{\min}$  は次式で表わされる。

$$c_{\min} = \frac{6.8 \times 10^{-2}}{\bar{M}_w (\partial n / \partial c)^2} (\text{g/ml}) \quad (S/N \geq 10)$$

例えば、ポリスチレンを THF 溶媒で測定する場合、 $\bar{M}_w = 10^7$  で  $2 \times 10^{-7}$  g/ml が最小検出濃度となり、超希薄溶液の測定が可能となる。

## 6. ま と め

GPC の分子量検出器に適用することを目的として、He-Ne レーザーを光源とする低角度光散乱光度計 (Model LS-8) を製作し、その装置の信頼性および GPC/光散乱測定法の精度などについて検討した。その結果は次のようにまとめられる。

(1) 測定セルとして円筒型小容量フローセルを有し、受光部光学系に入射光強度の変動解消システムを組み入れた装置で、角度  $5^\circ$  の散乱光強度を精度良く測定することが可能であった。

(2) GPC/光散乱測定で、精度良く重量平均分子量の値を決定することができること、さらに分子量分布についても相当な精度が得られることがわかった。

以上のように、低角度光散乱光度計は、分離能の秀れた GPC 法に絶対分子量を直接評価する機能を付与するものであり、従来の GPC 法における検量線に関する解析上の諸問題を一挙に解消できる。

測定が従来の光散乱法に比較して、極めて容易であることから、合成高分子、生体高分子のキャラクタリゼーションのみならず、高分子の化学反応、酵素反応の追跡など新しい分野での適用が期待できる。

本研究に続いて、超高分子量ポリマー、分岐状高分子、各種合成樹脂・ゴム、および蛋白質などの水溶性高分子

への適用性について検討し好結果を得ている。これについては別に報告する。

#### 謝 辞

装置の試作, 改良に当って, 高山健之氏はじめユニオン技研(株)の方々に多大の援助を得たことを付記し, 感謝致します。

#### 文 献

- 1) G. C. Berry ; *J. Chem. Phys.*, **44**, 4550 (1966).
- 2) 加藤忠哉, 高橋 彰, 永沢 満, 香川 隼美 ; 日化誌, **88**, 524 (1967).
- 3) J. A. Harpst, A. I. Krasna and B. H. Zimm ; *Biopolymers*, **6**, 585 (1968).
- 4) H. Utiyama and Y. Tsunashima ; *Appl. Optics*, **9**, 1330 (1970).
- 5) 三谷徹男, 栄永義之, 藤田 博 ; *Polymer Reprints, Japan*, **27**, 552 (1978).
- 6) H. Fujita ; *Polymer J.*, **1**, 537 (1970).
- 7) 鈴木秀松 ; *Polymer Preprints, Japan*, **27**, 554 (1978).
- 8) W. Kaye and A. J. Havlik ; *Appl. Optics*, **12**, 541 (1973).
- 9) 齊藤信彦 ; 「高分子物理学」第5章, 裳華房, (1967).
- 10) A. C. Ouano and W. Kaye ; *J. Polymer Sci., Polym. Chem. Ed.*, **12**, 1151 (1974).
- 11) A. C. Ouano ; *J. Chromatogr.*, **118**, 303 (1976).
- 12) T. Kato, A. Kanda, A. Takahashi, I. Noda, S. Maki, & M. Nagasawa ; *Polymer J.*, **11**, 575 (1979).
- 13) *Instruction Manual of Model LS-8*, Toyo Soda Mfg. Co., Ltd.
- 14) T. Kotaka ; *J. Appl. Polymer Sci.*, **21**, 501 (1977).