

폴리아크릴산 용액에서의 옥사카르보시아닌 색소분자의 회합현상에 대한 반응속도론적 연구

李 弘* · 林恩淑 · 裴憲五
원광대학교 자연과학대학 화학과
(1994. 6. 25 접수)

Kinetic Studies of the Aggregation of 3,3'-Diethyl Oxycarbocyanine onto Polyacrylic Acid

Hong Lee*, Eun Suk Lim, and Huyn-Ock Pae
Department of Chemistry, Won Kwang University, Iri 570-749, Korea
(Received June 25, 1994)

요 약. 균일 수용액과 polyacrylic acid(PAA) 존재하에서 3,3'-diethyl oxycarbocyanine(DOC)의 spectra 변화를 흡수 및 형광분광학적인 방법으로 연구하였다. 균일 수용액에서 DOC의 농도변화에 따른 흡수 spectra 변화는 dimer의 형성에 기인하는 것으로 설명하였다. PAA의 존재하에서 P/D 변화에 따라서 흡수 spectra의 특성적 변화는 stacking 모델로 설명하였다. 형광 spectra의 P/D 변화에 의한 형광세기의 변화는 흡수 분광학적 방법과 유사한 결과를 얻었다. PAA와 DOC의 상호작용의 반응속도론적인 연구를 흡수 및 형광 정지흐름법으로 수행하였다. PAA-DOC계에서 관측된 이완효과는 두 개의 이완과정이 존재한다고 가정함으로써 정량적으로 설명할 수 있었다.

ABSTRACT. The spectral changes of 3,3'-diethyl oxycarbocyanine(DOC) in the aqueous solution and in the presence of polyacrylic acid(PAA) were studied by means of absorption and fluorescence spectroscopy. The spectral change of DOC in the aqueous solution with concentration changes is attributed to the formation of dimer. In the presence of PAA, the characteristic changes of metachromatic band with changes of P/D (the ratio between available binding site and the dye concentration) are found and the discussions are made in terms of stacking theory. A kinetic study of the interaction between DOC and PAA was also investigated by the absorption and fluorescence stopped-flow spectroscopy. The observed relaxation effect in PAA-DOC system can be described quantitatively by assuming two relaxation processes occur.

서 론

시아닌 색소는 광에너지의 효율을 높이기 위한 광증감계의 역할¹, 색소 레이저², 천연색 사진 및 염색 공업³ 등에 널리 이용되고 있다. 또한, 색소감응 광전류⁴, 색소와 다른 유기 및 무기 물질과의 산화-환원 반응⁵, 그리고 착물형성에서 전자쌍 공여체⁶으로써도 중요한 역할을 하고 있다.

이러한 색소분자들이 나타내는 분광학적 특성인 metachromasy는 수용액에서 색소의 농도변화에 따

라서 나타나는 경우와 고분자 전해질, 계면활성제⁷ 및 무기염⁸ 등의 첨가에 의하여 나타나는 경우가 있다.

고분자나 계면활성제 등을 포함하지 않은 수용액에서 경우 그들의 흡수 spectra가 용액의 농도 변화에 따라 monomer의 흡수에 해당하는 α -band의 흡수세기가 감소하는 동시에 이보다 단파장쪽에 β -band의 흡수세기가 증가한다. 또 어떤 특정 조건하에서는 γ -band 및 J-band⁹로 알려진

새로운 흡수대가 출현하는 경우가 있다. 이러한 수 용액에서 나타나는 위의 현상은 색소분자의 분자회 합에 기인하는 것으로 알려져 있다. α -band 및 β -band는 각각 monomer 및 dimer의 흡수대이며 더 짧은 파장쪽의 것들은 다분자 회합체의 흡수대로 잘 알려져 있다^{10,11}.

고분자 전해질의 존재하에서의 경우 P/D([고분자의 단위분자량]/[색소])값의 증가에 따라서 α -band 및 β -band의 흡광도는 다같이 감소하는 반면에 그들보다 훨씬 단파장 위치에 metachromatic band로 알려진 새로운 흡수대가 출현하게 된다. 이러한 현상은 고분자 사슬의 여러 반복적 위치에 존재하는 이온성 작용기에 전전기적으로 결합되어 있는 색소 분자(bound dye molecule)들이 나타내는 다분자 회합효과에 기인하며, metachromatic band의 출현은 이들 bound dye가 고분자 전해질의 골격표면에서 특성적 배열구조로 stacking하고 있기 때문으로 알려져 있다¹¹⁻¹⁵.

고분자-색소계에서 나타나는 metachromasy는 여러 연구자들이 흡수 및 형광분광학적인 방법에 의하여 그 동안 활발히 연구되어 왔으며 현재까지도 계속 연구되고 있다. 여러 연구자들이 색소 분자들의 metachromasy에 관한 mechanism을 규명하려는 많은 연구는 온도 도약법(temperature jump method)^{16,17,21,22}, 정지 흐름법(stopped flow method)¹⁸⁻²⁰ 등에 의하여 또한 활발히 진행되고 있다. 이 방법에 의한 연구 결과들을 살펴보면, Sakoda^{19,20} 등은 DNA와 acridine orange(AO)간의 반응속도론적 연구를 흡수 및 형광 정지흐름법으로 연구하여, DNA-AO계의 반응 mechanism이 두 단계 반응으로 구성되어 있음을 보였다.

Hammes¹⁶ 등은 온도 도약법으로, Tsuda¹⁸는 흡수 및 형광 정지흐름법으로 poly-L- α -glutamic acid (PLG) 존재하에서 AO의 회합 현상을 나타내는 PLG-AO계의 반응 mechanism을 연구한 바 있다. Ramstein 등^{21,22}은 proflavin과 DNA의 상호작용을 온도 도약법으로 연구하였다.

본 연구에서는 그 동안 잘 연구되지 않은 oxacarbocyanine 계열의 색소분자인 3,3'-diethyl oxacarbocyanine을 선택하여 수용액과 polyacrylic acid 존재하에서 나타나는 DOC 색소분자의 회합효과를 흡

수 및 형광분광학적인 방법으로 고찰하였으며, 또한 PAA-DOC계에서의 가능한 반응 mechanism을 규명하기 위하여 흡수 및 형광 정지흐름법으로 이완 시간을 측정하여 반응속도상수값들을 얻어 반응 mechanism이 두 단계로 일어남을 설명하고자 한다.

실 험

시약 및 기기. 3,3'-Diethyl oxacarbocyanine iodide는 Aldrich사에서 구입하여 더 이상 정제하지 않고 사용하였다. 또한 polyacrylic acid(Aldrich catalog number: 18129-3)는 typical M.W. 1,000,000, typical M.N. 130,000인 것을 Aldrich사에서 구입하여 정제없이 사용하였다. 다른 시약들은 모두 분석급을 사용했다.

흡수 spectra의 측정은 Pye-Unicam사의 model SP8-400인 spectrophotometer를 사용하였으며, 측정 cell의 pathlength는 1, 2, 5, 10 mm을 목적에 따라서 각각 사용하였다. 형광 spectra의 측정은 JASCO사의 model FP-777인 spectrofluorometer를 사용하였다. 이완 spectra의 측정은 Otsuka Electronics사의 RA-401(stopped flow spectrophotometer), RA-414(fluorescence measurement attachment), RA-451(data processor) 그리고 RA-452(X-Y recorder) Unit들을 사용하였다. pH 미터는 Orion사의 model 611을 사용하였다.

실험방법

시료의 조제. 3,3'-Diethyl oxacarbocyanine iodide는 대략 $2 \times 10^{-4} M$ 에 해당하는 무게를 저울에 달아서 취한 다음, 증류수로 완전히 용해시켜서 원하는 농도의 저장용액을 만들었으며, 조제된 용액은 aluminum foil로 광을 차단하여 냉암소에 보관하였다. Spectra 측정은 저장용액에서 원하는 일정량을 분취하여 사용하였으며, 조제 후 2시간 후에 측정을 하였다.

Polyacrylic acid의 용액은 산성용액에서 잘 녹지 않으므로 0.036 g을 소량의 0.1 M NaOH 용액(약 2 ml)으로 용해시킨 다음 증류수로 묽혀서 $1.97 \times 10^{-3} M$ 의 저장용액을 만들었다.

측정방법. 모든 spectra의 측정은 1 mM의 Tris-

HCl 완충용액 존재하에서 하였다. 이완 spectra를 측정할 때 stopped flow spectrophotometer의 질소 압력은 6 kg/cm^2 로 조정하였고, cell은 pathlength가 2 mm인 것을 사용하였다. 이 조건하에서 stopped flow의 dead time은 1 msec로 나타났다. 또한 fluorescence stopped flow spectrophotometer를 사용할 때에는 DOC 용액에 PAA을 P/D=1.25까지 첨가하여 발전한 등흡광점인 440 nm에서 excitation을 시키고 광학필터(quartz 460 nm)를 사용하여 excitation 영역의 빛을 차단시켰다. 정지흐름법의 이완시간 측정은 각각의 원하는 농도에서 적어도 5회 이상 실험하여 이들의 측정값을 평균하여 accumulation spectrum을 얻었고, 평균 이완 시간은 Otsuka Elect-

ronics사에서 제공하는 RA-415를 이용하여 측정 spectrum을 non-linear square fitting을 하여 apparent rate constant(k_0)값을 얻었고, true rate constant(k)값은 full scale time(200 msec)으로부터 구하였다.

결과 및 고찰

순수 수용액에서의 DOC의 흡수 및 형광 spectra. Fig. 1은 18°C에서 측정된 DOC 수용액의 농도변화에 따르는 흡수 spectra의 변화를 나타낸 것이며, 여기에 나타난 바와 같이 DOC의 흡수 spectra는 농도의 증가에 따라 장파장쪽의 α -band(482 nm)의

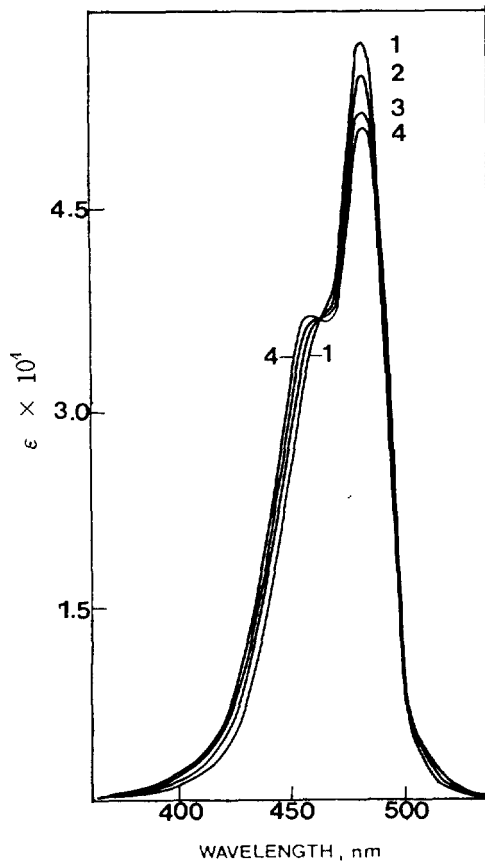


Fig. 1. Absorption spectra of DOC in aqueous solution with various concentrations at pH=8.0 (tris-HCl buffer). [DOC]=(1) $2.67 \times 10^{-5} \text{ M}$, (2) $4.6 \times 10^{-5} \text{ M}$, (3) $8.2 \times 10^{-5} \text{ M}$, (4) $1.4 \times 10^{-4} \text{ M}$.

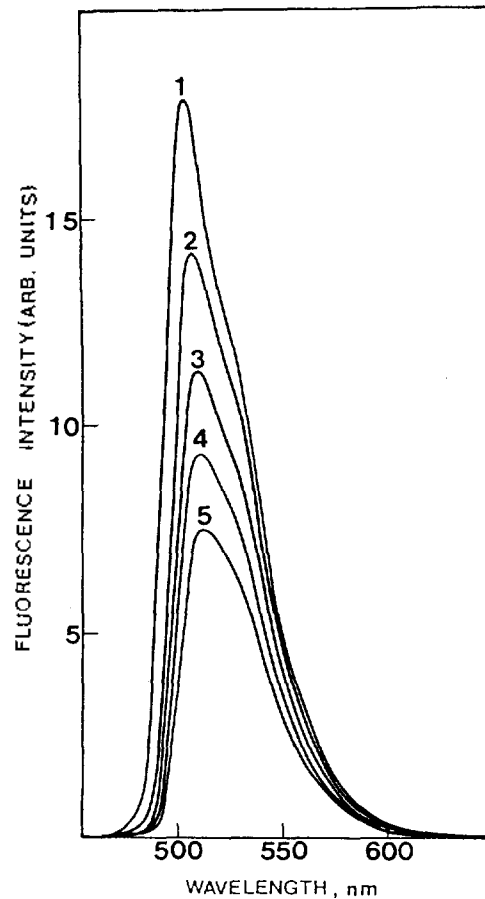


Fig. 2. Fluorescence spectra of DOC in aqueous solution with various concentrations at pH=8.00 (tris-HCl buffer). [DOC]=(1) $2.67 \times 10^{-5} \text{ M}$, (2) $4.60 \times 10^{-5} \text{ M}$, (3) $8.20 \times 10^{-5} \text{ M}$, (4) $1.40 \times 10^{-4} \text{ M}$, (5) $1.80 \times 10^{-4} \text{ M}$.

흡수세기가 감소하는 동시에 이와 대조적으로 단파장쪽의 β -band(455 nm)의 흡수세기가 증가하는 전형적인 metachromasy를 나타내고 있다. 또한 460 nm 부근에서 isosbestic point가 분명하게 발견되었으며 이 사실은 DOC가 이 실험농도 범위내에서 dimerization equilibrium을 하고 있는 것으로 설명된다⁹⁻¹¹.

Fig. 2는 수용액에서의 DOC의 농도변화에 따른 형광 spectra로 excitation wavelength를 고분자를 첨가했을 경우 발견되는 등흡광점인 440 nm로 하고 450 nm에서 650 nm 파장범위까지 측정된 spectra이다. 그림에 나타난 바와 같이 DOC 농도가 증가함에 따라 소광(quenching)이 일어나는 것을 볼 수 있다. 이러한 형광소광 현상은 acridine orange와 같이 형광을 나타내는 metachromasy 색소 등에서 발견된다¹¹.

PAA-DOC계의 흡수 및 형광 spectra. DOC의 흡수 spectra가 PAA의 P/D 변화에 대한 영향을 고찰하고, metachromatic band가 잘 나타나는 최적 P/D 영역을 발견하기 위해서 흡수 분광학적으로 고찰하였다.

Fig. 3(a)는 $2.67 \times 10^{-5} M$ 의 DOC 용액에 PAA를 P/D별로 첨가하여 얻은 흡수 spectra이며, Fig. 3(b)는 α -band의 $\lambda_{max} = 482 \text{ nm}$ 에서 흡수세기의 변화를 자세히 고찰하기 위해서 P/D 변화에 대하여 도시하였다. 여기서 두 가지 특성적 변화가 관찰된다. 첫째는 P/D를 1.25 부근까지 증가시키면 482 nm 부근의 흡수세기가 감소하는 반면, 그것과 대응하는 510 nm 부근에 J-band와 436 nm 부근에 γ -band의 흡수세기가 증가되는 현상이 나타난다. 둘째로, P/D를 1.25 이상 증가시키면 J-band 및 γ -band의 흡수세기가 감소하고 482 nm 부근의 흡수세기가 다시 증가되는 것을 볼 수 있다. 이와 같은 현상은 AO 등과 같은 metachromasy 색소용액에 생체 고분자 물질 또는 합성 고분자 음이온을 첨가할 때에 나타나는 현상과 유사하며, metachromasy로 알려져 있다.

이 흡수대의 출현은 고분자와 결합한 색소분자 (bound dye)가 고분자 전체질의 골격표면에서 특성적 배열구조로 stacking하고 있기 때문이며, stacking¹² 모델로 잘 설명된다. 즉, P/D가 1.25보다 낮은

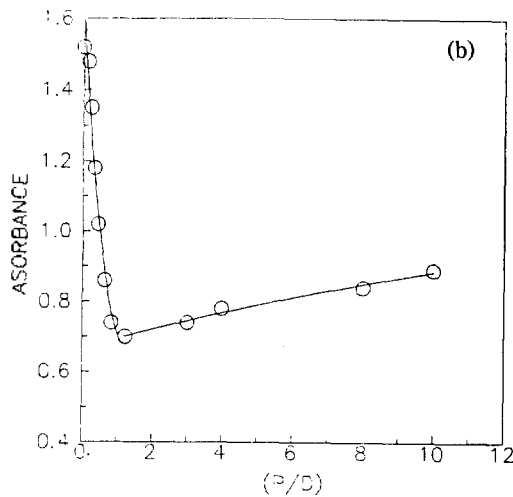
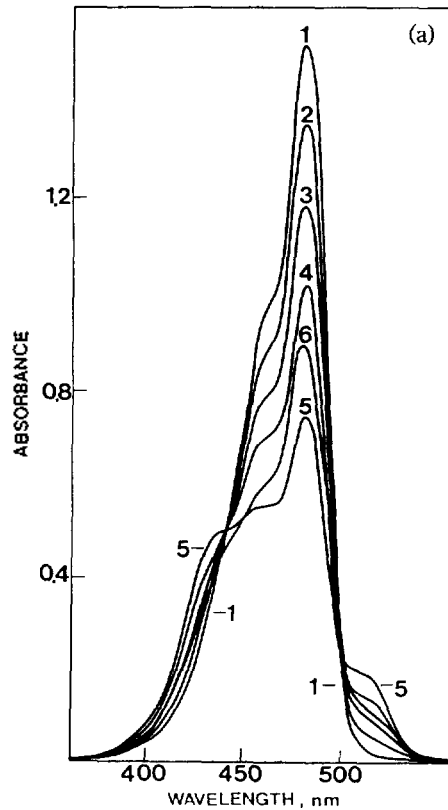


Fig. 3. (a) The absorption spectra of PAA-DOC system with the various P/D at pH=8.00 (tris-HCl buffer). [DOC] = $2.67 \times 10^{-5} M$ (fixed), P/D: 1) 0, 2) 0.25, 3) 0.35, 4) 0.85, 5) 1.25, 6) 4. (b) Changes of optical density of α -band (482 nm) of DOC in PAA-DOC system with various P/D at pH=8.0. [DOC] = $2.67 \times 10^{-5} M$ (fixed).

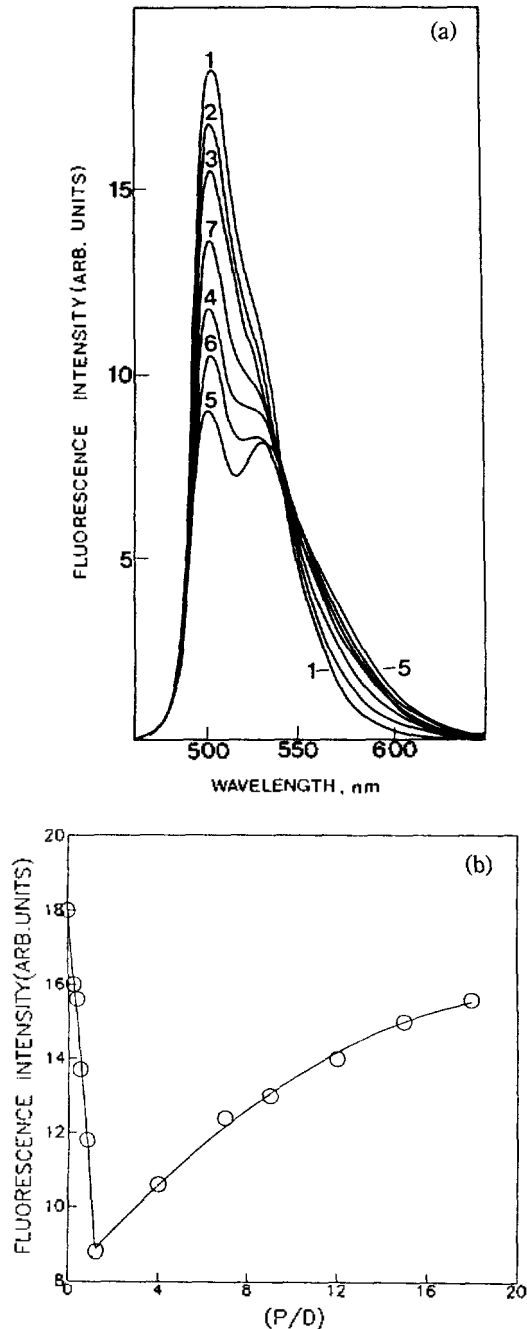


Fig. 4. (a) The fluorescence spectra of PAA-DOC system with the various P/D at pH=8.00 (tris-HCl buffer). [DOC] = $2.67 \times 10^{-5} M$ (fixed), P/D: 1) 0, 2) 0.25, 3) 0.35, 4) 0.85, 5) 1.25, 6) 4, 7) 9. The excitation wavelength is 440 nm. (b) Changes of fluorescence intensity (500 nm) with various P/D at pH=8.00 (tris-HCl buffer).

영역에서는 DOC 색소 분자들이 PAA의 고분자 사슬의 여러 반복적 위치에 존재하는 이온성 작용기에 정전기적으로 결합되어 있는 색소분자(bound dye molecule)들이 나타내는 다분자 회합효과에 의하여 α -band의 흡수세기가 감소하고, 이보다 높은 P/D 영역에서는 과량으로 존재하는 고분자의 음이온 잔기에 의한 결합 색소의 재분배에 의한 결합 단위체(bound monomer)의 증가에 의하여 α -band의 흡수세기가 증가되는 것으로 설명된다¹¹⁻¹⁵.

본 연구에서는 PAA-DOC계에서 P/D 변화에 따라서 metachromasy를 관찰하여 metachromatic band(436 nm)가 나타나는 P/D의 최적 조건 값이 1.25 부근임을 발견하였다. 또한 DOC의 형광 spectra가 PAA의 P/D별 첨가에 의하여 어떤 영향을 받는지를 알아보기 위하여 형광분광법으로 살펴보았다.

Fig. 4(a)는 흡수 spectra를 측정할 때와 같은 DOC의 고정농도($2.67 \times 10^{-5} M$)에서 P/D 변화에 따르는 형광 spectra를 나타낸 것으로, 이때 excitation wavelength 440 nm이다. Fig. 4(b)는 (a)에 나타난 형광 spectra의 500 nm 부근에서 형광세기를 P/D값의 변화에 대하여 도시한 결과이다. Fig. 4(b)에 나타난 바와 같이 P/D 변화에 따라 DOC의 형광세기는 현저한 감소 및 증가 현상이 나타나며, 이 변화는 PAA-DOC계의 흡수 spectra의 변화양상과 유사함을 볼 수 있다. 즉 P/D가 1.25까지는 형광 세기가 감소하고, 이보다 큰 P/D값에서는 형광세기가 증가되고 있다.

PAA-DOC계에서는 500 nm 부근의 형광세기가 가장 크게 감소한 P/D값이 1.25로 발견되었다. 이 P/D값은 흡수 분광학적 방법에서 얻은 값과 유사하다.

PAA-DOC계의 이완과정. Fig. 5(a) 및 (b)는 PAA-DOC계의 반응 mechanism을 알아보기 위하여 흡수 및 형광 spectra의 고찰로부터 발견한 metachromatic band가 안정되게 나타나는 P/D=1.25로 고정시키고 얻은 이완 spectra의 결과이다.

Fig. 6은 α -band(482 nm)의 흡수 및 형광세기(500 nm)의 감소에 의하여 관측되는 평균 이완시간의 농도 의존 관계를 살펴보기 위하여 평균 이완시간($1/\tau$)을 ($C_b + C_d$)의 변화에 대하여 도시한 것이다. 이때

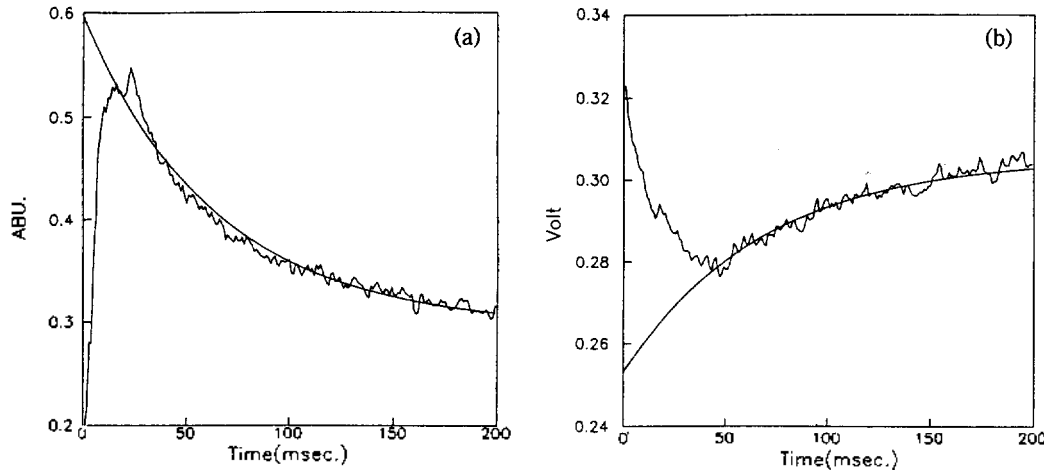


Fig. 5. (a) Absorption stopped-flow kinetic traces at 480 nm (α -band) for the reaction of PAA-DOC system at pH=8.0 and 18 °C. [DOC]= $1.33 \times 10^{-5} M$ and [PAA]= $1.66 \times 10^{-5} M$. The trace shows the reaction curve in 0.001 M tris-HCl buffer (pH=8.0). The vertical axes corresponding to the change in optical density (482 nm) which increases upwards. The smooth curve represents nonlinear least square fitting curve. (b) Fluorescence emission stopped-flow kinetic traces at 500 nm for the reaction of PAA-DOC system at pH=8.0 and at 18 °C. [DOC]= $1.33 \times 10^{-5} M$ and [PAA]= $1.66 \times 10^{-5} M$. The excitation wavelength is 440 nm. The vertical axes corresponding to the change in fluorescence intensity observed at 500 nm through an interference filter (decrease upward). The smooth curve represents nonlinear least square fitting curve.

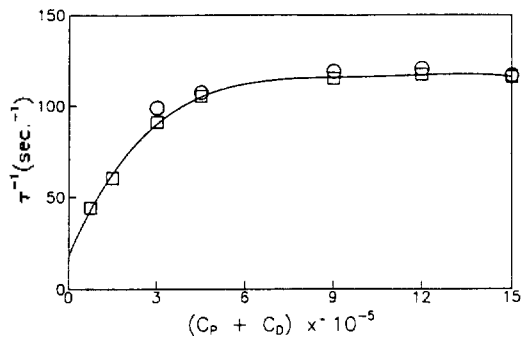
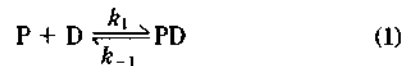


Fig. 6. Dependence of the reciprocal relaxation time on the total concentration of PAA and DOC at fixed P/D=1.25. C_p and C_d denote the analytical concentrations of PAA and DOC, respectively. $\circ-\circ-\circ-$ absorption method, $\square-\square-\square-$ fluorescence method.

P/D는 1.25로 고정하였다. Fig. 6에서 $\circ-\circ-\circ$ 표시는 흡수 정지흐름법에 의하여 얻은 값이며, $\square-\square-\square$ 표시는 형광 정지흐름법에 의하여 얻은 결과이다. 형광 정지흐름법에서는 DOC의 농도를 $10^{-6} M$ 까지 감소시켜서 측정할 수 있었으나, 흡수 정지흐름법으로는 $10^{-5} M$ 이하의 농도에서는 측정할 수 없었다. Fig. 6을 살펴보면 $(C_p + C_d)$ 의 농도가 약 $3 \times$

$10^{-5} M$ 까지는 $1/\tau$ 값이 증가되나, 이보다 높은 농도에서는 일정한 $1/\tau$ 값이 얻어지는 것을 볼 수 있다.

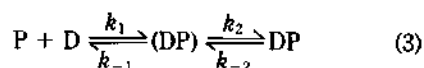
먼저 본 연구에서는 PAA-DOC계의 metachromasy가 이분자 반응(bimolecular reaction)으로 한 단계(single step)로 진행된다고 가정하였다. 여기서 가능한 반응 mechanism과 $1/\tau$ (reciprocal relaxation time)은 아래와 같다.



$$\frac{1}{\tau} = k_1(C_p + C_d) + k_{-1} \quad (2)$$

위의 식에서 C_p 와 C_d 는 각각 PAA와 DOC의 평형 농도를 나타내는 것이며 k_1 과 k_{-1} 은 각각 정방향과 역방향의 속도상수이다. 이 식에 의하면 $1/\tau$ 은 $(C_p + C_d)$ 에 직선적으로 정비례할 것이다²³. 그러나 Fig. 6을 보면 $3 \times 10^{-5} M$ 에서 $15 \times 10^{-5} M$ 까지의 $(C_p + C_d)$ 의 농도 범위에서는 직선적 비례관계가 나타나지 않는다. 이것은 적어도 한 단계 이상의 반응단계가

존재하는 것을 의미한다. 따라서 본 연구에서는 consecutive mechanism에 관련된 이완 이론을 사용하여 한 단계를 더 고려한 이완 mechanism을 아래와 같이 나타내었다.



여기서 k_1 과 k_{-1} 은 이분자 반응(bimolecular reaction)의 정반응과 역반응의 반응속도 상수를 각각 나타내며, k_2 와 k_{-2} 는 단분자 반응(unimolecular reaction)의 정반응과 역반응의 속도상수를 각각 나타낸다. (DP)는 첫번째 단계에서 발생한 회합중간체이다. 이 mechanism에서 첫번째 단계는 DOC 분자들이 고분자의 음이온 잔기에 무질서하게 정전기적으로 결합하는 단계로 매우 빠른 반응이며, 두번째 반응에서는 결합된 색소분자들이 상호작용하여 분자내 재배치하는 느린 단계로 가정하였다. 이러한 가정은 Sakoda 등^{19,20}이 정지흐름법으로 생체 고분자 물질인 DNA와 acridine orange 색소분자의 회합효과에 대한 반응 mechanism에 사용한 가정과 같다.

첫번째 과정에 비해서 두번째의 반응은 매우 느린 단계라고 가정하면 두 개의 이완시간 $1/\tau_1$ 과 $1/\tau_2$ 은 아래와 같다²³.

$$\frac{1}{\tau_1} = k_1(C_p + C_d) + k_{-1} \quad (\text{for faster relaxation}) \quad (4)$$

$$\frac{1}{\tau_2} = k_{-2} + \frac{k_2(C_p + C_d)}{1/K_{1,-1} + (C_p + C_d)} \quad (\text{for slower relaxation}) \quad (5)$$

여기서 $K_{1,-1} = k_1/k_{-1}$ 로써 이분자 반응의 평형상수를 나타낸다. 첫번째 이완과정은 정전기적 결합으로 대단히 빠르게 진행되어 정지흐름법에서 측정할 수가 없는 dead-time 안에 반응이 완결된다. 따라서 정지흐름법에 의하여 측정할 수 있는 이완시간은 두번째 과정이다. 이 과정은 $(C_p + C_d)$ 의 농도변화에 대하여 $1/\tau_2$ 로 도시하면 $(C_p + C_d)$ 의 증가에 따라서 $1/\tau_2$ 의 값이 변화가 없는 일정한 영역이 나타난다.

Fig. 6에 이러한 결과를 얻었으며, 이 그림으로부터 $(k_2 + k_{-2})$ 의 값을 115 s^{-1} 로 얻었다.

결 론

본 연구의 결과는 시안닌 색소인 3,3'-diethylcarbo-cyanine(DOC)이 수용액과 polyacrylic acid(PAA)에서 나타나는 metachromasy를 흡수 및 형광분광학적 방법으로 고찰하고, 이 시안닌 색소분자가 PAA 존재하에서 나타내는 α -band(482 nm)보다 단파장쪽에 위치하는 metachromatic band(436 nm)가 $P/D=12.5$ 부근에서 가장 잘 나타남을 발견하였다. 이 P/D 값을 사용하여 흡수 및 형광 정지흐름법으로 PAA-DOC계의 가정한 mechanism으로부터 $(k_2 + k_{-2}) = 115 \text{ s}^{-1}$ 를 얻었다. 이로부터 PAA-DOC계에서 metachromasy는 두 단계 이완과정으로 반응한다고 설명할 수 있으며, 첫단계는 PAA의 고분자사슬의 여러 반복적 위치에 존재하는 이온성 작용기에 정전기적으로 결합하는 것으로 매우 빠르게 일어나서 정지흐름법으로 측정할 수 없는 단계이며, 두번째 단계는 PAA의 골격표면에 결합한 시안닌 색소분자(bound dye molecule)들의 특성적 배열구조로 stacking하는 단계이다. 본 연구에서 얻은 $(k_2 + k_{-2})$ 값은 Sakoda^{19,20} 등이 DNA-AO계에서 가정한 mechanism으로 설명하여 얻은 값과 유사한 값이었고, 이의 결과는 여러가지 시안닌 색소분자와 고분자 전해질간의 반응 mechanism을 규명하는데 흡수 및 형광 정지흐름법을 이용하면 유용하다고 사료된다.

본 연구는 1994년도 원광대학교 학술연구조성비(교비)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. Shimura, M.; Shakushiro, K.; Shimura, Y. *J. Appl. Electrochem.* **1986**, *16*, 638.
2. Jerzy, S.; Hanna, B.; Anna, G.; *Chem. Phys. Lett.* **1987**, *140*, 607.
3. Fujita, S. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 177.
4. Pal, M. K.; Ash, S. K. *J. Phys. Chem.* **1974**, *78*, 1536.
5. Min, H. J.; Kim, G. B.; Yu, J. A.; Kim, K. J. *J. Kor. Chem. Soc.* **1993**, *37*, 213.
6. Motomizu, S.; Ohima, M. *Analyst* **1987**, *12*, 295.
7. Park, J. W.; Chung, H. *Bull. Korean Chem. Soc.*

- 1986, 7(2), 113.
8. Pal, M. K.; Ash, S. K. *Histochemie* **1973**, 34, 135.
 9. Valdes-Aguilera, O.; Nuckers, D. C. *Acc. Chem. Res.* **1989**, 22, 171.
 10. Rabinowitch, E.; Epstein, L. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, 64, 69.
 11. Burdett, B. C. In *Aggregation Processes in Solution*; Wyn Jones, E.; Gormally, J., Ed.; Elsevier Scientific Publishing Co.: New York, U. S. A., 1983; p 241.
 12. Bradley, D. F.; Wolf, M. K. *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.* **1959**, 45, 944.
 13. Rohatgi, K. K.; Singhal, G. S. *J. Phys. Chem.* **1960**, 70, 1695.
 14. Mukerjee, P.; Ghosh, A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 6419.
 15. Vitagliano, V. In *Aggregation Processes in Solution*, Ed.; Wyn Jones, E.; Gormally, J., Ed.; Elsevier Scientific Publishing Co.: New York, U. S. A., 1983; p 271.
 16. Hammes, G. H.; Hubbard, C. D. *J. Phys. Chem.* **1966**, 70, 1615.
 17. Spencer, W.; Sutter, J. R. *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 1573.
 18. Tsuda, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, 46(6), 1709.
 19. Sakoda, M.; Hiromi, K.; Akasaka, K. *Biopolymer* **1971**, 10, 1003.
 20. Sakoda, M.; Hiromi, K.; Akasaka, K. *J. Biochem.* **1972**, 71, 891.
 21. Ramstein, J.; Ehrenberg, M.; Rigler, R. *Biochemistry* **1980**, 19, 3938.
 22. Dourlent, M.; Hogrel, J. F. *Biochemistry* **1976**, 15 (2), 430.
 23. Eigen, M.; DeMaeyer, L. In *Technique of Organic Chemistry*; Friess, S. L.; Lewis, E. S.; Weissberger, A., Ed.; Interscience Publishers: New York, 1963; Vol. 8, Part II, p 895.