

บทที่ 4

การเปรียบเทียบและการทำนายรีเทนชันของสารประกอบแอโรแมติกที่มี หมู่แทนที่สองหมู่ในอะโรมาติกอิเล็กโตรโครมาโทกราฟี¹

4.1 คำนำ

ดังที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 1.1.3.2 ไมเซลล์าร์อิเล็กโตรโครมาโทกราฟี (MEKC) และไมโครอิมัลชันอิเล็กโตรโครมาโทกราฟี (MEEKC) จัดเป็นเทคนิคอะโรมาติกอิเล็กโตรโครมาโทกราฟี (capillary electrophoresis, CE) ที่ใช้อย่างแพร่หลายสำหรับการแยกสารที่ไม่มีประจุได้ดีเช่นเดียวกับสารที่มีประจุ [Pappas *et al.*: 2005, Silva: 2009, Huie: 2006, Ryan *et al.*: 2009] รวมไปถึงวิตามิน [Hansen: 2003, Okamoto *et al.*: 2003], ยา [Pappas *et al.*: 2005, McEvoy *et al.*: 2008], การวิเคราะห์ทางชีวภาพ [Wu *et al.*: 2007] และผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ [Tripodi *et al.*: 2006, Zang *et al.*: 2007] โดยทั่วไปแล้ว MEKC บัฟเฟอร์จะมีการเติมสารลดแรงตึงผิว เช่น SDS ลงไปเกิดเป็นไมเซลล์าร์เฟส (micellar phase) [Pappas *et al.*: 2005, Muijselaar: 1997, Huhn *et al.*: 2008] ในขณะที่ MEEKC บัฟเฟอร์จะประกอบด้วยหยดน้ำมัน (เช่น ออกเทน และ เอทิลอะซิเตท) ที่ล้อมรอบด้วยสารลดแรงตึงผิว (เช่น SDS) ทำให้หยดน้ำมันมีประจุเป็นลบและสารลดแรงตึงผิวร่วม (เช่น แอลกอฮอล์ที่มีสายโซ่สั้นๆ) โดยสารลดแรงตึงผิวร่วมนั้นจะช่วยลดแรงตึงผิวทำให้ระบบไมโครอิมัลชันมีความเสถียรมากขึ้น [Huie: 2006, Ryan *et al.*: 2009, Hansen: 2003, Altria: 2000, Altria *et al.*: 2000, Altria *et al.*: 2004] กลไกการแยกทางอิเล็กโตรโครมาโทกราฟี (EKC) อาศัยความแตกต่างในการ partitioning ของสารระหว่างเอควียสเฟสและเฟสคงที่เทียม (pseudostationary phase, PSP) ได้แก่ ไมเซลล์าร์เฟสใน MEKC [Terabe *et al.*: 1984, Terabe *et al.*: 1985] และไมโครอิมัลชันเฟสใน MEEKC [Miola *et al.*: 1998, Pedersen-Bjergaard *et al.*: 2000]

พฤติกรรมการรีเทนของสารในเฟสคงที่เทียมใน EKC สามารถอธิบายได้ด้วยค่ารีเทนชันแฟกเตอร์ (retention factor, k) โดยค่า k นิยามเป็นอัตราส่วนจำนวนโมลของสารในเฟสคงที่เทียมกับเอควียสเฟส [Altria: 2000, Muijselaar *et al.*: 1994, Poouthree *et al.*: 2007a] กลไกการรีเทนของสารใน EKC จะสามารถอธิบายได้โดยใช้หลักของ quantitative structure-relationships และ quantitative structure-property relationships ระหว่างสาร กับเฟสคงที่เทียม [Poole and Poole: 2008, Yang and Khaledi: 1995a, Yang และ Khaledi: 1995b] ตามหลักทางทฤษฎีรีเทนชันแฟกเตอร์มีความสัมพันธ์กับค่าคงที่ของการกระจาย (distribution constant, K) ของสารระหว่างเฟสเทียมและเอควียสเฟสและอัตราส่วนเฟส (phase ratio, V_m/V_{aq}) ดังสมการ $k = K(V_m/V_{aq})$ [Hansen: 2003,

¹ งานวิจัยนี้ได้นำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ที่การประชุมวิชาการระดับนานาชาติ MBS2009Dalian และตีพิมพ์ในวารสาร Electrophoresis 31 (2009) 695-701 ดังภาคผนวก 2

Song *et al.*: 1995, Poouthree *et al.*: 2007b] โดย V_m และ V_{aq} คือ ปริมาตรของเฟสคงที่ที่เติมและเอเคียสเฟส ตามลำดับ และพบว่าที่ความเข้มข้นของ SDS ในสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากัน ค่า $\log k$ ใน MEKC จะมีค่าสูงกว่าใน MEEKC สำหรับยาปราบวัชพืช 6 ชนิด [Song *et al.*: 1995], บิสฟีนอล เอไดโกลซิดิลอีเทอร์และอนุพันธ์ [Poouthree *et al.*: 2007b] แต่อย่างไรก็ตามในการเปรียบเทียบกับ MEKC ที่ 50 mM SDS พบว่า MEEKC ที่ 60 mM SDS จะให้ค่า $\log k$ ของสารที่ทดสอบสูงกว่า [Terabe *et al.*: 1992]

โดยทั่วไปแล้ว การเปรียบเทียบค่าแอฟฟินิตีสัมพัทธ์ (relative affinity) ของสารในเฟสคงที่ที่เติมชนิดเดียวกันที่มีอัตราส่วนเฟสเท่ากัน และภาวะการทดลองอื่นๆ เหมือนกัน จะสามารถใช้ค่า k ในการเปรียบเทียบได้ ซึ่งถ้าสารสามารถเกิด partitioning หรือ affinity ได้ดีในเฟสคงที่ที่เติม ค่า k จะยังมีค่ามาก แต่ในกรณีที่อัตราส่วนเฟสหรือเฟสคงที่ที่เติมต่างกัน เช่น ไมโครอิมัลชัน กับไมเซลล์ [Terabe *et al.*: 1992] การเปรียบเทียบค่าแอฟฟินิตีสัมพัทธ์ของสารระหว่างระบบทั้งสองในเทอมของ K จะให้ค่าที่ต้องมีเหตุผลมากกว่า k เพราะค่า k จะขึ้นกับอัตราส่วนเฟส ในขณะที่ K ไม่ขึ้นกับค่าดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้จะทราบค่า k ใน MEEKC จากการทดลอง ก็ไม่สามารถคำนวณค่า K ใน MEEKC ที่แท้จริงได้ เนื่องจากค่าอัตราส่วนเฟสที่ต้องแท้จริงที่ใช้ในการคำนวณนั้นหาค่าได้ยาก ตามที่ได้อธิบายไว้ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ [Poouthree *et al.*: 2007a, Ishihama *et al.*: 1995, Mertzman และ Foley: 2005]

รีเทนชันอินเดกซ์ (I) หรือ ไมเกรชันอินเดกซ์ จัดเป็นอีกพารามิเตอร์หนึ่งที่ใช้ในการอธิบายพฤติกรรมการรีเทนของสาร ซึ่งได้จากการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอ้างอิง เช่น homologous series ของ อัลคิลเบนซีน (alkylbenzenes, BZ) หรือ อัลคิลอัลริลคีโตน [Muijselaar *et al.*: 1994, Poouthree *et al.*: 2007a, Ahuja และ Foley: 1994] โดยค่ารีเทนชันอินเดกซ์นั้นจะไม่ขึ้นกับอัตราส่วนเฟสและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวใน MEKC [Muijselaar *et al.*: 1994, Ahuja และ Foley: 1994] และ MEEKC [Poouthree *et al.*: 2007a] ดังนั้นค่ารีเทนชันอินเดกซ์อาจจะสามารถใช้ในการเปรียบเทียบแอฟฟินิตีสัมพัทธ์ของสารในเฟสคงที่ที่เติมและ/หรือ อัตราส่วนเฟสที่แตกต่างกันได้

จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ [Kelly *et al.*: 2001] พบว่าค่า k และ K ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ที่ทำนายใน MEKC จะขึ้นอยู่กับโครงสร้างของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่หมู่เดียวที่ใช้หลักการเติมหมู่ (group additive approach) โดยค่า $\log k$ ที่ทำนายได้ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ซึ่งเป็นไอโซเมอร์โครงสร้าง (structural isomers ได้แก่ ออร์โท, เมตา และพารา) กันนี้จะถือว่ามีความใกล้เคียงกัน ในขณะที่ค่า $\log k$ ของสารเหล่านี้ที่ได้จากการทดลองมีค่าไม่เท่ากัน ดังนั้นจากงานวิจัยดังกล่าวนี้ [Kelly *et al.*: 2001] จึงมีความน่าสนใจที่สามารถนำมาศึกษาต่อเพื่อใช้ทำนายพฤติกรรมการรีเทนของอนุพันธ์เบนซีน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษารีเทนชันอินเดกซ์เพื่อทำการเปรียบเทียบแอฟฟินิตีสัมพัทธ์ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ระหว่างไมโครอิมัลชันใน MEEKC กับ

ไมเซลล์ใน MEKC ที่ความเข้มข้นของ SDS เหมือนหรือแตกต่างกัน และใช้หลักการเดิมหมู่เพื่อทำนายค่า k และ I ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่ที่แตกต่างกันจากอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่เหมือนกัน

4.2 การทดลอง

4.2.1 สารเคมี

Disodium tetraborate decahydrate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), 1-บิวทานอล (1-Butanol), Homologous series ของ benzenes (BZ): benzene, toluene, ethylbenzene, propylbenzene, sodium dodecyl sulphate (SDS), เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate), Dodecylbenzene (DB), Disubstituted benzenes ที่มีหมู่แทนที่ 2 หมู่เหมือนกัน: o-, m-, p-xylenes (diMe); o-, m-, p-dimethoxybenzenes (diOMe); o-, m-, p-dibenzaldehydes (diCHO), Dihalogenated benzenes ที่มีหมู่แทนที่สองหมู่เหมือนกัน (diX): o-, m-, p-difluorobenzenes (diF); o-, m-, p-dichlorobenzenes (diCl); o-, m-, p-dibromobenzenes (diBr), Dihalogenated benzenes ที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ต่างกัน (X/Y): o-, m-, p-chlorofluorobenzenes (F/Cl); o-, m-, p-bromochlorobenzenes (Cl/Br); o-, m-, p-bromofluorobenzenes (F/Br); Halogenated toluenes (Me/X): o-, m-, p-chlorotoluenes (Me/Cl); o-, m-, p-fluorotoluenes (Me/F); o-, m-, p-bromotoluenes (Me/Br), Halogenated methoxybenzenes (OMe/X): o-, m-, p-chloromethoxybenzenes (OMe/Cl); o-, m-, p-fluoromethoxybenzenes (OMe/F); o-, m-, p-bromomethoxybenzenes (OMe/Br), Halogenated benzaldehydes (CHO/X): o-, m-, p-chlorobenzaldehydes (CHO/Cl); o-, m-, p-fluorobenzaldehydes (CHO/F); o-, m-, p-bromobenzaldehydes (CHO/Br); o-, m-, p-methoxytoluenes (Me/OMe); o-, m-, p-tolualdehydes (Me/CHO); o-, m-, p-methoxybenzaldehydes (OMe/CHO)

4.2.2 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์และสารทดสอบ

MEKC บัฟเฟอร์ประกอบด้วย 10 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ที่ pH 9.2 และ 50 mM SDS ขณะที่ MEEKC บัฟเฟอร์ประกอบด้วย $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ความเข้มข้น 10 mM ที่ pH 9.2, SDS ความเข้มข้น 50 หรือ 60 mM, 0.5% v/v เอทิลอะซิเตต และ 1.2% v/v 1-บิวทานอล ซึ่งหยคน้ำมันที่ใช้ทั่วไปใน MEEKC ได้แก่ ออกเทน, เฮปเทน และเอทิลอะซิเตต แต่อย่างไรก็ตาม เอทิลอะซิเตต/น้ำ มีแรงตึงผิวต่ำกว่า และต้องการความเข้มข้นของ SDS ต่ำกว่า ออกเทน/น้ำ หรือ เฮปเทน/น้ำ เพื่อให้ได้ไมโครอิมัลชันที่เสถียร [Ryan *et al.*: 2009, Zhao *et al.*: 2005] ใน MEEKC ภายใต้ภาวะ EOF สูง ที่ความเข้มข้นของ SDS สูงกว่า ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นานกว่า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เอทิลอะซิเตตกับ SDS ที่ความเข้มข้น 50 และ 60 mM (1.4 และ 1.7% w/v)

โดยบัฟเฟอร์ทั้งหมดจะทำการ sonicate เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ได้สารละลายที่ปราศจากฟองอากาศ ทำการเตรียมสารละลาย stock ความเข้มข้น 10000 ppm ของสารทดสอบแต่ละชนิดในเมทานอล ที่มี thiourea (เป็น EOF marker) และ DB (เป็น เฟสคงที่เทียม marker) ซึ่งใน MEKC สารละลายตัวอย่างผสมแต่ละชุดทดสอบจะประกอบด้วยสารที่ใช้ในการวิเคราะห์, thiourea และ DB ที่มีความเข้มข้น 100 ppm โดยปีเปตมาจากสารละลาย stock แต่ละชนิด จากนั้นทำการเจือจางสารละลายผสมด้วยสารละลาย SDS ความเข้มข้น 50 mM ส่วนสารละลายตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ในเทคนิค MEEKC นั้นทำการเจือจางสารละลายผสมด้วยสารละลายที่มี SDS ความเข้มข้น 50 mM, 0.5% v/v เอทิลอะซิเตต และ 1.2% v/v 1-บิวทานอล หลังจากนั้นนำสารละลายบัฟเฟอร์และสารละลายที่ใช้ทดสอบทั้งหมด กรองผ่าน 0.45 μm PTFE membrane filter ก่อนการวิเคราะห์ด้วย CE

4.2.3 ภาวะของ CE สำหรับการทดลอง

เครื่อง CE : ยี่ห้อ Beckman รุ่น MDQ

การตรวจวัด : photodiode array ช่วง 190-300 nm และตรวจวัดที่ 214 nm

คะพิลลารี : uncoated fused silica capillary 50 μm i.d. $\times$ 40.2 cm (30 cm ถึงเครื่องตรวจวัด)

อุณหภูมิของคะพิลลารี : 25°C

ศักย์ไฟฟ้า : 15 kV

การบรรจุสาร : อัดความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 3 วินาที

Capillary rinse : ก่อนการวิเคราะห์แต่ละครั้งล้างคะพิลลารีด้วยเมทานอล และ 0.1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์อย่างละ 2 นาที และบัฟเฟอร์เป็นเวลา 1 นาที

4.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.3.1 รีเทนชันและรีเทนชันอินเดกใน MEKC และ MEEKC

ค่ารีเทนชันอินเดก (I) ของสารในเทคนิค MEKC และ MEEKC สามารถคำนวณหาได้จากสมการ [Muijselaar *et al.*: 1994, Poouthree *et al.*: 2007a]

$$I = \frac{100(\log k - b)}{a} \quad (4.1)$$

เมื่อ a และ b คือ ค่าความชันและจุดตัดแกน y ตามลำดับ ของสมการเส้นตรงระหว่าง $\log k$ และ z มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงแสดงดังสมการที่ 4.2

$$\log k = az + b \tag{4.2}$$

เมื่อ z คือ จำนวนคาร์บอนอะตอมของ homologous series ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานอ้างอิง และค่ารีเทนชัน (k) ของสารไม่มีประจุในเทคนิค MEKC และ MEEKC ที่ภาวะ EOF สูง สามารถคำนวณจากอิเล็กโทรโฟโกราฟีโดยใช้สมการต่อไปนี้

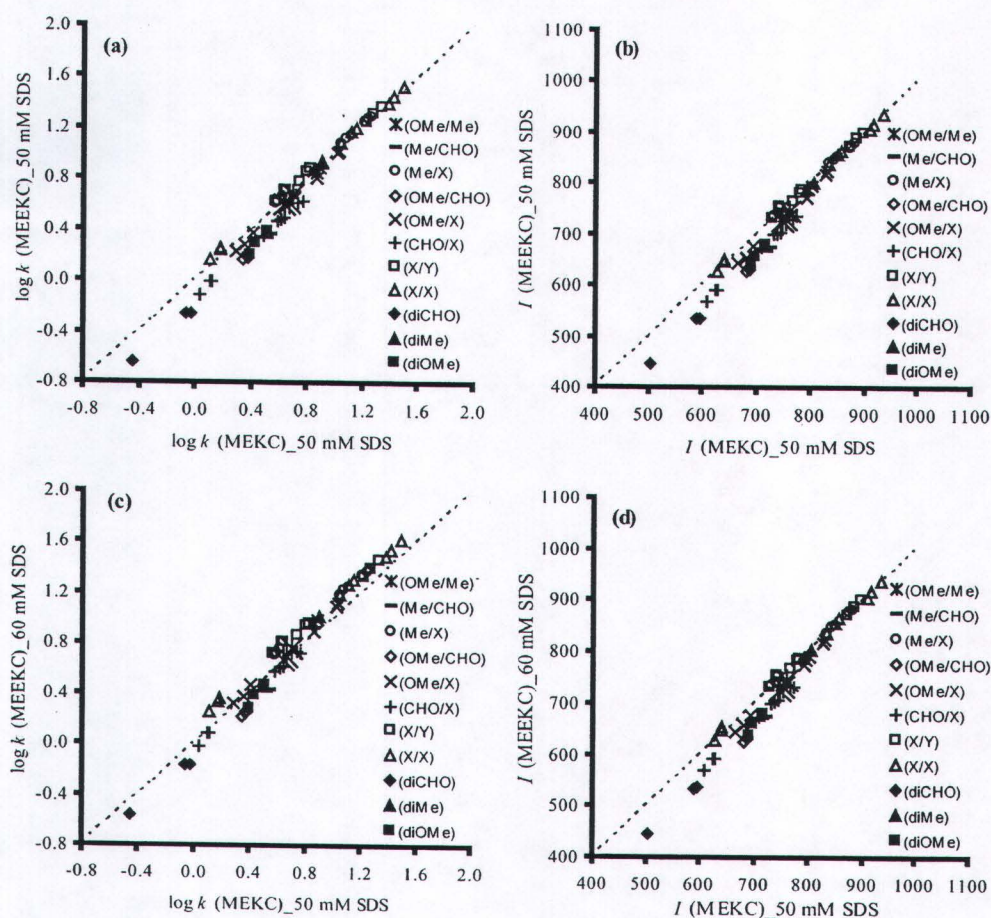
$$k = \frac{t_m - t_{eo}}{t_{eo}(1 - t_m / t_{mc})} \tag{4.3}$$

เมื่อ t_m , t_{mc} และ t_{eo} คือ ไมเกรชันไทม์ของสารทดสอบ, เฟสคงที่เทียม marker (dodecylbenzene) และ EOF marker (thiourea) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างค่า $\log k$ และ z ที่หาค่าได้จาก homologous series ของอัลคิลเบนซีนในเทคนิค MEEKC และ MEKC

Mode	[SDS] mM	$\log k = az + b$		
		a	b	r^2
MEKC	50	0.448±0.011	-2.695±0.085	0.9987
MEEKC	50	0.442±0.012	-2.615±0.087	0.9986
MEEKC	60	0.443±0.013	-2.534±0.096	0.9984

จากการใช้ homologous series ของเบนซีน (C6 ถึง C9) เป็นสารมาตรฐาน ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่าง $\log k$ และ z ที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1 จากตารางค่า methylene selectivity (α_{CH2}) โดยที่ค่า $\alpha_{CH2} = a$ [Mertzman และ Foley: 2005] นั้นมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าไมโครอิมัลชันเฟสและไมเซลล์าร์เฟสในงานวิจัยนี้มีความเป็น hydrophobicity เหมือนกัน [Poouthree et al.: 2007a]



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงค่า $\log k$ (a และ c) และ I (b และ d) ของสารประกอบเบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ที่ได้จาก MEEKC เปรียบเทียบกับ MEKC

รูปที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบของค่า $\log k$ และ I ของสารประกอบเบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ที่ได้จาก MEEKC เทียบกับค่าที่ได้จาก MEKC โดยใช้ homologous series ของเบนซีนเป็นสารมาตรฐานอ้างอิงสำหรับคำนวณค่า I จะเห็นได้ลักษณะของรูปที่ 4.1b และ 4.1c เหมือนกัน แสดงว่าค่า I สัมพัทธ์ของสารแต่ละชนิดใน MEEKC เทียบกับ MEKC มีค่าใกล้เคียงกันทั้งที่ความเข้มข้นของ SDS ที่เหมือน (4.1b) และแตกต่างกัน (4.1d) ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าค่า I ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของ SDS ในขณะที่ลักษณะของรูปที่ 4.1a และ 4.1c มีความแตกต่างกัน แสดงว่า k สัมพัทธ์ของสารแต่ละชนิดใน MEEKC เทียบกับ MEKC มีค่าแตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของ SDS ดังนั้นจึงควรใช้ค่า I ในการเปรียบเทียบค่าแอฟฟินิตีสัมพัทธ์ของสารในเฟสคงที่เทียมหรืออัตราส่วนเฟสที่แตกต่างกัน

จากรูปที่ 4.1 ค่า I ของ xylene, dihalogenated benzenes และ halogenated toluenes ที่ได้ใน MEKC มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้ใน MEEKC ขณะที่ค่า I ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่เป็น diCHO, diMeO และ OMe/CHO ที่ได้ในเทคนิค MEEKC มีค่าน้อยกว่าใน MEKC นอกจากนี้ค่า I ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่อย่างน้อยหนึ่งหมู่เป็น เมทอกซี หรือ อัลคิลไฮด์ เช่น OMe/X,

Me/OMe, CHO/X และ Me/CHO ที่ได้จากเทคนิค MEEKC มีค่าน้อยกว่าใน MEKC เล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะเด่นที่มีความไม่ชอบน้ำเหมือนกันของเฟสคงที่เทียม และสารที่มีความไม่ชอบน้ำ เช่น xylene และ dihalogenated benzenes ทำให้ประสิทธิภาพของสารในไมเซลล์และไมโครอิมัลชันมีค่าใกล้เคียงกัน ด้วยเหตุที่หมู่เมทอกซีกับหมู่อัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นหมู่ที่มีขั้วสูงกว่าหมู่อัลคิลและเฮโลเจน และ 1-บิวทานอลอิสระที่ใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมที่ผิวหยดนํ้ามันใน MEEKC ช่วยเพิ่มการละลายของอนุพันธ์เบนซีนที่มีขั้วในเฟสเอควียส ทำให้ค่า K ของสารที่มีขั้วในเฟสไมโครอิมัลชันลดลง จึงทำให้ค่า I ใน MEEKC มีค่าน้อยกว่าใน MEKC และเป็นที่น่าสังเกตว่าค่ารีเทนชันของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่จะมีลำดับเป็นดังนี้ (1) diCHO < diOMe < diMe < diF < diCl < diBr < และ (2) F/Cl < F/Br < Cl/Br โดยลำดับของ I จะเหมือนกับลำดับของ $\log K_{ow}$ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

4.3.2 การหาค่าคงที่การกระจายตัวของ ออกทานอล-น้ำ ($\log K_{ow}$) โดย MEKC และ MEEKC

ค่า $\log K_{ow}$ สามารถหาค่าได้จากความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่าง $\log K_{ow}$ และ $\log k$ [Klotz *et al.*: 2001, Gong *et al.*: 2004, Molina และ Silva: 2000] หรือ $\log K_{ow}$ และ I [Poonthree *et al.*: 2007, Ishihama *et al.*: 1995] ซึ่งจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ของกลุ่มวิจัยเราพบว่า ค่า K_{ow} ที่หาได้จาก k หรือ I นั้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกราฟเส้นตรงที่ได้จากการเขียนกราฟ $\log K_{ow}$ เทียบกับ I นั้นสามารถทำได้ง่ายกว่า เมื่อทราบค่าตัวเลข I ของแอลคิลเบนซีนที่ใช้เป็น I มาตรฐานอ้างอิง [Poonthree *et al.*: 2007] ดังสมการที่ 4.4 เมื่อ c และ d คือ ความชัน และจุดตัดแกน Y ตามลำดับ

$$\log K_{ow} = cI + d \quad (4.4)$$

กราฟเส้นตรงระหว่าง $\log K_{ow}$ กับค่า I เมื่อใช้ C6-C9 ของอนุพันธ์เบนซีนเป็นสารมาตรฐานอ้างอิง [Poonthree *et al.*: 2007, David: 2008] ที่ได้ ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีดังสมการเส้นตรง ($\log K_{ow} = 0.00516(\pm 0.0001)I - 0.970(\pm 0.080)$), ค่า $r^2 = 0.9992$ โดยค่า $\log K_{ow}$ ที่ได้จากการทดลองและค่าอ้างอิงของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่จากเทคนิค MEKC และ MEEKC แสดงดังตารางที่ 4.2 ซึ่งค่า $\log K_{ow}$ ของ xylene, dihalogenated benzenes และ halogenated toluenes ที่ได้จาก MEKC จะให้ค่าเท่ากับค่าที่ได้จาก MEEKC ขณะที่ค่า $\log K_{ow}$ ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่อย่างน้อยหนึ่งหมู่เป็นเมทอกซี หรือ อัลดีไฮด์ ที่ได้จากเทคนิค MEEKC มีค่าน้อยกว่าใน MEKC โดยสามารถอธิบายความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้ได้เช่นเดียวกับค่า I ดังที่กล่าวไปแล้วก่อนหน้านี้ นอกจากนี้พบว่า ค่า $\log K_{ow}$ จากการทดลองของสารบางตัวที่ได้จากเทคนิค MEKC และ MEEKC มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่อ้างอิงไว้ ยกเว้น o-methylbenzaldehyde แสดงว่าทั้ง MEKC และ MEEKC สามารถใช้ในการหาค่า $\log K_{ow}$ ได้

ตารางที่ 4.2 ค่า $\log K_{ow}$ ที่ได้จากการทำนายและค่าอ้างอิงของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่
ใน MEKC และ MEEKC

Disubstituted benzene	log K_{ow}			Disubstituted benzene	log K_{ow}		
	Observed ^{a)}		Literature [David: 2008]		Observed ^{a)}		Literature [David: 2008]
	MEKC	MEEKC			MEKC	MEEKC	
<i>o</i> -diMe	3.12	3.10	3.12	<i>o</i> -Me/CHO	2.68	2.47	2.26
<i>m</i> -diMe	3.18	3.17	3.20	<i>m</i> -Me/CHO	2.74	2.51	NA
<i>p</i> -diMe	3.18	3.17	3.15	<i>p</i> -Me/CHO	2.71	2.48	NA
<i>o</i> -diF	2.33	2.38	NA	<i>o</i> -OMe/F	2.46	2.36	NA
<i>m</i> -diF	2.33	2.37	NA	<i>m</i> -OMe/F	2.61	2.53	NA
<i>p</i> -diF	2.26	2.27	NA	<i>p</i> -OMe/F	2.54	2.41	NA
<i>o</i> -diCl	3.42	3.45	3.38	<i>o</i> -OMe/Cl	2.69	2.50	NA
<i>m</i> -diCl	3.46	3.48	3.48	<i>m</i> -OMe/Cl	2.80	2.64	NA
<i>p</i> -diCl	3.34	3.34	3.38	<i>p</i> -OMe/Cl	2.84	2.64	NA
<i>o</i> -diBr	3.78	3.76	NA	<i>o</i> -OMe/Br	3.33	3.27	NA
<i>m</i> -diBr	3.87	3.85	NA	<i>m</i> -OMe/Br	3.32	3.24	NA
<i>p</i> -diBr	3.74	3.71	NA	<i>p</i> -OMe/Br	3.13	3.02	NA
<i>o</i> -F/Cl	2.87	2.91	NA	<i>o</i> -CHO/F	2.16	1.96	NA
<i>m</i> -F/Cl	2.88	2.91	NA	<i>m</i> -CHO/F	2.25	2.08	NA
<i>p</i> -F/Cl	2.79	2.80	NA	<i>p</i> -CHO/F	2.26	2.08	NA
<i>o</i> -F/Br	3.06	3.09	NA	<i>o</i> -CHO/Cl	2.95	2.86	NA
<i>m</i> -F/Br	3.09	3.11	NA	<i>m</i> -CHO/Cl	3.17	3.12	NA
<i>p</i> -F/Br	3.00	2.99	NA	<i>p</i> -CHO/Cl	3.14	3.08	NA
<i>o</i> -Cl/Br	3.61	3.62	NA	<i>o</i> -CHO/Br	2.87	2.66	NA
<i>m</i> -Cl/Br	3.68	3.68	NA	<i>m</i> -CHO/Br	2.99	2.80	NA
<i>p</i> -Cl/Br	3.55	3.54	NA	<i>p</i> -CHO/Br	3.03	2.82	NA
<i>o</i> -Me/F	2.85	2.86	NA	<i>o</i> -OMe/CHO	2.53	2.28	NA
<i>m</i> -Me/F	2.81	2.81	NA	<i>m</i> -OMe/CHO	2.56	2.32	NA
<i>p</i> -Me/F	2.80	2.80	NA	<i>p</i> -OMe/CHO	2.56	2.29	NA
<i>o</i> -Me/Cl	3.42	3.42	3.42	<i>o</i> -diOMe	2.59	2.33	NA
<i>m</i> -Me/Cl	3.38	3.38	3.28	<i>m</i> -diOMe	2.72	2.54	NA
<i>p</i> -Me/Cl	3.34	3.35	3.33	<i>p</i> -diOMe	2.63	2.42	NA
<i>o</i> -Me/Br	3.59	3.59	NA	<i>o</i> -diCHO	1.60	1.34	NA
<i>m</i> -Me/Br	3.55	3.56	NA	<i>m</i> -diCHO	2.09	1.80	NA
<i>p</i> -Me/Br	3.54	3.54	NA	<i>p</i> -diCHO	2.06	1.80	NA
<i>o</i> -Me/OMe	2.95	2.88	2.74				
<i>m</i> -Me/OMe	2.87	2.78	2.66				
<i>p</i> -Me/OMe	2.91	2.80	2.81				

NA = Not available.

^{a)}SD $\leq \pm 0.08$.



4.3.3 รีเทนชันจากการทำนายและการทดลองของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ต่างกัน

ทฤษฎีหลักการเติมหมู่ (group additive approach) อาศัยหลักการของสมบัติที่เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ (additive-constitutive properties) [Ahuja และ Foley: 1994, Leo: 1993, Smith *et al.*: 1987] ซึ่งหลักการเติมหมู่ดังกล่าวนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการคำนวณค่า $\log K_{ow}$ [Mertzman และ Foley: 2005, Herbert และ Dorsey: 1995, Xia *et al.*: 2008] ดังสมการที่ 4.5

$$\log K_{ow}(PR) = \kappa(P) + \sum \kappa(R) \quad (4.5)$$

เมื่อ $\kappa(P)$ and $\kappa(R)$ คือค่า $\log K_{ow}$ ของหมู่ parent P และหมู่แทนที่ R ตามลำดับ

ค่า $\log K_{ow}$ ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่ R เหมือนหรือต่างกัน แสดงดังสมการ 4.6 ถึง 4.8 ซึ่ง P ในงานวิจัยนี้แสดงถึง C_6H_4

$$\log K_{ow}(PR^1R^1) = \kappa(P) + 2\kappa(R^1) \quad (4.6)$$

$$\log K_{ow}(PR^2R^2) = \kappa(P) + 2\kappa(R^2) \quad (4.7)$$

$$\log K_{ow}(PR^1R^2) = \kappa(P) + \kappa(R^1) + \kappa(R^2) \quad (4.8)$$

จากสมการที่ 4.6 ถึง 4.8 จะได้ว่า

$$\log K_{ow}(PR^1R^2) = \frac{\log K_{ow}(PR^1R^1) + \log K_{ow}(PR^2R^2)}{2} \quad (4.9)$$

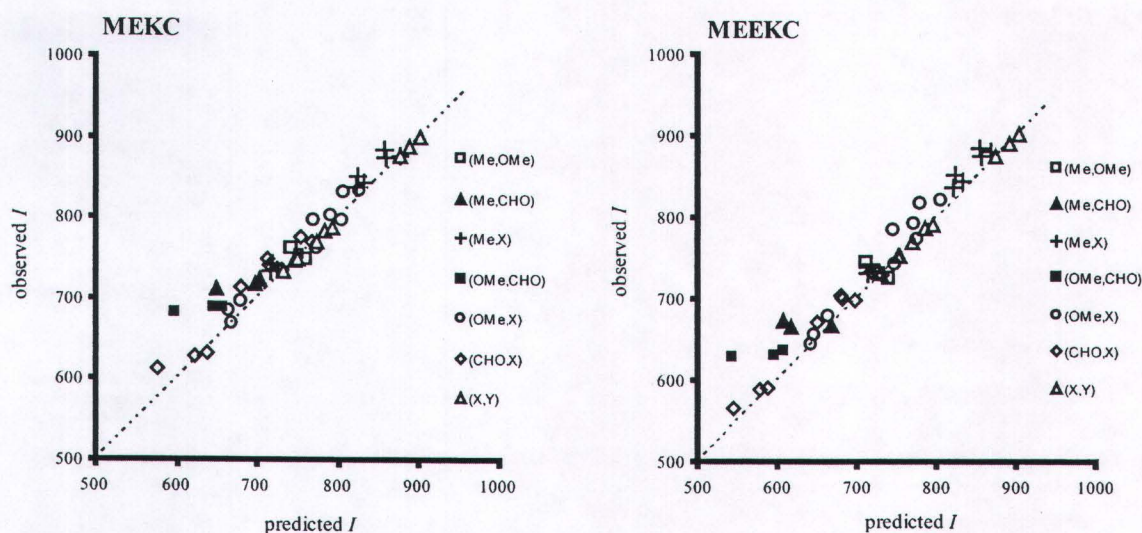
เมื่อ $\log k$ และ I มีความสัมพันธ์โดยตรงกับ $\log K_{ow}$ จากสมการที่ 4.2, 4.4 และ 4.8 จะได้ว่า

$$I(PR^1R^2) = \frac{I(PR^1R^1) + I(PR^2R^2)}{2} \quad (4.10)$$

และดังนั้น

$$\log k(PR^1R^2) = \frac{\log k(PR^1R^1) + \log k(PR^2R^2)}{2} \quad (4.11)$$

ดังนั้น เมื่อทราบค่า $\log K_{ow}$, I และ $\log k$ ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่ R สองหมู่เหมือนกัน ก็สามารถทำนายค่าเหล่านี้ของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่ R สองหมู่ต่างกันได้จากค่าเฉลี่ยของ PR^1R^1 และ PR^2R^2 โดยที่ไม่จำเป็นต้องทราบค่า κ



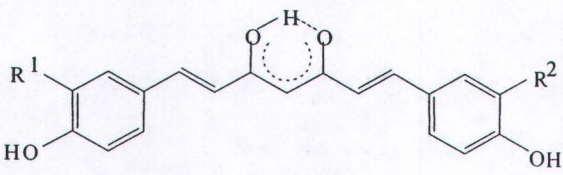
รูปที่ 4.2 กราฟเปรียบเทียบค่า I จากการทำนายและการทดลองของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ต่างกัน (เส้นตรงประแดงสมการ $Y = X$)

รูปที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบค่า I จากการทดลองและการทำนายของอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่สองหมู่ต่างกัน โดยค่าทำนายคำนวณจากสมการที่ 4.11 และใช้ข้อมูลของ I ที่ได้จากหมู่แทนที่ R สองหมู่เหมือนกัน ตัวอย่างเช่น ค่าทำนาย I ของ p-chlorofluorobenzene คือ ค่าเฉลี่ย I ที่ได้จากค่า I ของ p-chlorobenzene และ p-fluorobenzene เป็นต้น จากรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าถ้าสัญลักษณ์ส่วนอยู่ใกล้กับเส้นประ ดังนั้นแสดงว่าค่า I ที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับการทำนายเป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับ halogenated benzenes (X,Y) และ halogenated toluenes (X,Me) จะเห็นได้ว่า แต่ค่อนข้างแตกต่างกันสำหรับ methoxybenzaldehydes (OMe,CHO) และ tolualdehydes (Me,CHO) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เป็นไอโซเมอร์ตำแหน่งออร์โท ทั้งนี้อาจเป็นผลของ electronic effect ที่แตกต่างกันของตำแหน่งแทนที่ เช่น อัลดีไฮด์จัดเป็นหมู่ electron withdrawing ขณะที่เมทอกซีจัดเป็นหมู่ electron releasing [Streitwieser *et al.*: 2006] นอกจากนี้อันตรกิริยาภายในโมเลกุล (intramolecular interaction) ของหมู่แทนที่ตำแหน่งออร์โท มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความมีขั้วของโมเลกุล ดังนั้นอาจกล่าวเป็นนัยได้ว่าการทำนายค่า I นี้ด้วยหลักการเดิมหมู่ อาจเหมาะสมสำหรับอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่มีผลของ electronic effect น้อย และให้ข้อสังเกตว่างานวิจัยก่อนหน้านี้ [Kelly *et al.*: 2001] ได้ใช้หลักการเดิมหมู่สำหรับทำนายค่า micelle-water distribution constant (K_{mw}) ใน MEKC โดยใช้ความสัมพันธ์คล้ายกับสมการที่ 4.5 อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทราบค่า K_{mw} ของ P และ R เพื่อการทำนายดังกล่าว นอกจากนี้ค่าทำนาย K_{mw} เท่ากันสำหรับ o-, m- และ p-PR¹R² ในขณะที่ค่าจากการทดลองแตกต่างกันสำหรับไอโซเมอร์ทั้งสามนี้

4.3.4 ค่า $\log K$ จากการทดลองและการทำนายของสารประกอบแอโรแมติกที่มีหมู่แทนที่สองหมู่จากผลงานวิจัยก่อนของเรา

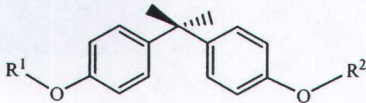
งานวิจัยของเราก่อนหน้านี้ได้ศึกษาพฤติกรรมการเคลื่อนที่และการแยกของ bisphenol-A-diglycidyl ether derivatibe (BADGEs) ใน MEKC และ MEEKC [Pooutree *et. al.*: 2007] และ curcuminoids ใน MEEKC [Nhujak *et. al.*: 2006] ซึ่งสารเหล่านี้ประกอบด้วยหมู่แทนที่สองหมู่เหมือนกันและต่างกัน เมื่อนำข้อมูลของค่า $\log k$ ที่ได้จากการทดลองมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการทำนาย (ใช้สมการ 4.11) ในทำนองเดียวกับตอนที่ 4.3.4 ดังแสดงผลในตารางที่ 4.3 และ 4.4 จะเห็นได้ว่าค่า $\log k$ ที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับการทำนาย แสดงว่าการทำนายด้วยหลักการเดิมสามารถใช้ได้ดีอีกด้วยกับสารประกอบแอโรแมติกที่เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่

ตารางที่ 4.3 ค่าการทดลองและการทำนายของ $\log k$ สำหรับเคอร์คูมินอยด์ที่ประกอบด้วยหมู่แทนที่ R ต่างกัน ($-\text{OCH}_3$, $-\text{H}$)

 demethoxycurcumin ($R^1 = -\text{OCH}_3$, $R^2 = -\text{H}$)		
MEEKC conditions	$\log k$	
	Predicted ^{c)}	Observed ^{d)}
(a) ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์ (+ 180 mM SDS)		
25% (v/v) ACN	0.651	0.649
25% (v/v) EtOH	0.828	0.825
25% (v/v) 2-PrOH	0.700	0.698
30% (v/v) 2-PrOH	0.602	0.600
(b) [SDS] ต่างๆ ที่ 25% (v/v) 2-PrOH		
130 mM	0.646	0.643
180 mM	0.700	0.698

บัฟเฟอร์ของ MEEKC ประกอบด้วย 50 mM phosphate ที่ pH 2.5, 1.1% (v/v) *n*-octane, 890 mM 1-butanol และ SDS กับตัวทำละลายอินทรีย์ดังในตาราง ภาวะอื่นของ CE ดังรายงานใน [Nhujak *et. al.*:2006]. ^{c)}ได้จากค่าเฉลี่ย $\log k$ สำหรับ bis-demethoxycurcumin ($R^1 = R^2 = -\text{OCH}_3$) และ curcumin ($R^1 = R^2 = -\text{H}$). ^{d)}ข้อมูลจากผลงานวิจัยก่อนนี้ [Nhujak *et. al.*:2006]. RSD สำหรับ $k < 1.0$ %

ตาราง 4.4 ค่าการทดลองและการทำนายของ $\log k$ สำหรับ BADGE และ BADGE.HCl ที่ประกอบด้วยหมู่แทนที่ R ต่างกัน

		BADGE.HCl.H ₂ O (R ¹ = 2,3-dihydroxypropyl, R ² = 3-chloro-2-hydroxypropyl)				BADGE.H ₂ O (R ¹ = 2,3-dihydroxypropyl, R ² = glycidyl ether)			
		log <i>k</i> in MEEKC				log <i>k</i> in MEKC			
		BADGE.HCl.H ₂ O		BADGE.H ₂ O		BADGE.HCl.H ₂ O		BADGE.H ₂ O	
CE	conditions	Predicted	Observed	Predicted	Observed	Predicted	Observed	Predicted	Observed
(a) ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ 25% (v/v) และ 180 mM SDS									
ACN		0.591	0.613	0.567	0.569	1.00	1.03	0.945	0.950
EtOH		0.571	0.582	0.538	0.531	1.44	1.48	1.36	1.36
2-PrOH		0.502	0.506	0.481	0.469	0.887	0.914	0.850	0.849
(b) [SDS] ต่างๆ ที่ 25% (v/v) EtOH									
180 mM		0.571	0.582	0.538	0.531	1.44	1.48	1.36	1.36
140 mM		0.511	0.524	0.474	0.467	1.38	1.41	1.29	1.28
100 mM		0.413	0.424	0.368	0.362	1.31	1.34	1.20	1.19

บัฟเฟอร์ของ MEKC ประกอบด้วย 50 mM phosphate ที่ pH 2.5, และ SDS กับตัวทำละลายดังในตาราง ส่วนบัฟเฟอร์ของ MEEKC ประกอบด้วย 50 mM phosphate ที่ pH 2.5, 1.0% (v/v) *n*-octane, 890 mM 1-butanol, และ SDS กับตัวทำละลายอินทรีย์ดังตาราง ภาวะอื่นๆของ CE ดังที่รายงานไว้ใน [Pooutree *et.al.*: 2007b] ค่า RSD สำหรับ $k < 1.5\%$.

4.4 สรุปผลการทดลอง

จากการหาค่า k และ I ของอนุพันธ์เบนซีนใน MEKC และ MEEKC พบว่าค่า I ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว SDS ในขณะที่ค่า k ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ SDS ดังนั้นสามารถใช้ค่า I ในการเปรียบเทียบแอฟฟินิตีสัมพัทธ์ของสารใน MEEKC และ MEKC ที่มีชนิดของเฟสเทียมต่างกันและอัตราส่วนเฟสแตกต่างกันได้ ค่า I ที่ได้จาก MEEKC และ MEKC มีความสอดคล้องกันสำหรับอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่เป็นเมทิล ($-\text{CH}_3$) และหรือแฮโลเจน ($-\text{F}$, $-\text{Cl}$, และ $-\text{Br}$) แต่ค่า I ที่ได้จาก MEEKC น้อยกว่าที่ได้จาก MEKC สำหรับหมู่แทนที่อัลดีไฮด์ ($-\text{CHO}$) และ/หรือเมทอกซี ($-\text{OCH}_3$) อาจเป็นเพราะ 1-butanol ที่เติมลงไปใน MEEKC ไปเพิ่มการละลายของสารในเอควิวเฟสและลดแอฟฟินิตีในเฟสเทียม นอกจากนี้การทำนายค่า I ด้วยหลักการเติมหมู่สำหรับอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่ต่างกันมีความสอดคล้องกับการทำนายสำหรับหมู่แทนที่ที่มีผลของ electronic effect น้อย (เช่นแฮโลเจน และเมทิล) แต่ค่าทำนายและการทดลองของ I แตกต่างกันเล็กน้อยสำหรับหมู่แทนที่ที่มีผลของ electronic effect น้อย (เช่นเมทอกซี และอัลดีไฮด์)

เอกสารอ้างอิง

- Ahuja, E. S., Foley, J. P. "Retention Index for Micellar Electrokinetic Chromatography" *The Analyst* **119** (1994) 353-360.
- Altria, K. D. "Background Theory and Applications of Microemulsion Electrokinetic Chromatography." *Journal of Chromatography A* **892** (2000) 171-186.
- Altria, K. D., Clark, B. J., Mahuzier, P. E. "The Effect of Operating Variables in Microemulsion Electrokinetic Capillary Chromatography" *Chromatographia* **52** (2000) 758-768.
- Altria, K. D., Broderick, M. F., Donegan, S. Power J. "The Use of Novel Water-in – Oil Microemulsions in Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Electrophoresis* **25** (2004) 645-652.
- David, R. L., "Handbook of Chemistry and Physics" 88th Edition, CRC Press, Taylor and Francis Group, London 2007-2008, Chapter 16, pp. 16-41.
- Gong, S., Bo, T., Huang, L., Li, K. A., Liu, H. "Separation and Determination of Biphenyl Nitrile Compounds by Microemulsion Electrokinetic Chromatography with Mixed Surfactants" *Electrophoresis* **25** (2004) 1058-1064.
- Hansen, S. H. "Recent Applications of Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Electrophoresis* **24** (2003) 3900-3907.
- Herbert, B. J., Dorsey, J. G. "n-Octanol Water Partition Coefficient Estimation by Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography" *Analytical Chemistry* **67** (1995) 744-749.
- Huhn, C., Pütz, M., Pyell, U. "Separation of Very Hydrophobic Analytes by Micellar Electrokinetic Chromatography III. Characterization and Optimization of the Separation Electrolyte Using Carbon Numbers" *Electrophoresis* **29** (2008) 783-795.
- Huie, C. W. "Coupling of Acetonitrile Deproteinization and Salting-out Extraction with Acetonitrile Stacking for Biological Sample Clean-up and the Enrichment of Hydrophobic Compounds (porphyrins) in Capillary Electrophoresis" *Electrophoresis* **27** (2006) 60-75.
- Ishihama, Y., Oda, Y., Uchikawa, K., Asakawa, N. "Evaluation of Solute Hydrophobicity by Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Analtical Chemistry* **67** (1995) 1588-1595.
- Kelly, K. A., Burns, S.T., Khaledi, M. G. "Evaluation of Solute Hydrophobicity by Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Analtical Chemistry* **73** (2001) 6057-6062.
- Klotz, W. L., Schure, M. R., Foley, J. P. "Determination of Octanol–Water Partition Coefficients of Pesticides by Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **930** (2001) 145-154.
- Leo, A.J. "Calculating log Poct from Structures" *Chemical Reviews* **93** (1993) 1281-1306.
- McEvoy, E., Donegan, S., Power, J., Altria, K.D. "Application of MELC and MEEKC for the Analysis of Paracetamol and Related Impurities in Suppositories" *Chromatographia* **68** (2008) 56-59.
- Mertzman, M. D., Foley, J. P. "Temperature Effects on Chiral Microemulsion Electrokinetic Chromatography Employing the Chiral Surfactant Dodecoxycarbonylvaline" *Journal of Chromatography A* **1073** (2005) 181-189.

- Miola, M. F., Snowden, M. J., Altria, K. D. "The Use of Microemulsion Electrokinetic Chromatography in Pharmaceutical Analysis" *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **18** (1998) 785-797.
- Molina, M., Silva, M. "Rapid Determination of Fungicides in Fruit Juices by Micellar Electrokinetic Chromatography: Use of Organic Modifiers to Enhance Selectivity and On-Column High-Salt Stacking to Improve Sensitivity" *Electrophoresis* **21** (2000) 3625-3633.
- Muijselaar, P. G. "Retention Indices in Micellar Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **780** (1997) 117-127.
- Muijselaar, P. G. H. M., Claessens, H.A., Cramers, C. A. "Application of the Retention Index Concept in Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography" *Analytical Chemistry* **66** (1994) 635-644.
- Nhujak, T., Saisuwan, W., Srisa-art, M., Petsom, A. "Microemulsion Electrokinetic Chromatography for Separation and Analysis of Curcuminoids in Turmeric Samples" *Journal of Separation Science* **29** (2006) 666-676.
- Okamoto, H., Nakajima, T., Ito, Y. "Simultaneous Determination of Water-Soluble Vitamins in a Vitamin-Enriched Drink by an in-Capillary Enzyme Reaction Method" *Journal of Chromatography A* **986** (2003) 153-161.
- Pappas, T. J., Gayton-Ely, M., Holland, L. A. "Recent Advances in Micellar Electrokinetic Chromatography" *Electrophoresis* **26** (2005) 719-734.
- Pedersen-Bjergaard, S., Gabel-Jensen, C., Honoré Hansen, S. "Selectivity in Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **897** (2000) 375-381.
- Poole, S. K., Poole, C. F. "Quantitative Structure-Retention (property) Relationships in Micellar Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **1182** (2008) 1-24.
- Poonthree, K., Leepipatpiboon, N., Petsom, A., Nhujak, T. "Retention Factor and Retention Index of Homologous Series Compounds in Microemulsion Electrokinetic Chromatography Employing Suppressed Electroosmosis" *Electrophoresis* **28** (2007a) 767-778.
- Pooutree, K., Soonthorntantikul, W., Leepipatpiboon, N., Nhujak, T. "Comparison of Resolution in Microemulsion EKC and MEKC Employing Suppressed Electroosmosis: Application to Bisphenol-A-Diglycidyl Ether and Its Derivatives" *Electrophoresis* **28** (2007b) 3705-3711.
- Ryan, R., Donegan, S., Power, J., McEvoy, E., Altria, K. "Recent Advances in the Methodology, Optimisation and Application of MEEKC" *Electrophoresis* **30** (2009) 65-82.
- Silva, M. "Micellar electrokinetic chromatography: Methodological and Instrumental Advances Focused on Practical Aspects" *Electrophoresis* **30** (2009) 50-64.
- Smith, G. A., Christian, S. D., Tucker, E. E., "Group Contribution Model for Predicting the Solubilization of Organic Solutes by Surfactant Micelles" *Langmuir* **3** (1987) 598-599.
- Song, L., Ou, Q., Yu, W., Li, G. "Separation of Six Phenylureas and Chlorsulfuron Standards by Micellar, Mixed Micellar and Microemulsion Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **699** (1995) 371-382.
- Streitwieser, A., Heathcock, C. H., Kosower, E. M., Introduction to Organic Chemistry, 4th Edition, Macmillan Publishing Company, New York 2006.

- Terabe, S., Matsubara, N., Ishihama, Y., Okada, Y. "Microemulsion Electrokinetic Chromatography: Comparison with Micellar Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography* **608** (1992) 23-29.
- Terabe, S., Otsuka, K., Ichikawa, K., Ando, T. "Electrokinetic Separations with Micellar Solutions and Open-Tubular Capillaries" *Analytical Chemistry* **56** (1984) 111-113.
- Terabe, S., Otsuka, Y., Ando, T. "Electrokinetic Chromatography with Micellar Solution and Open-Tubular Capillary" *Analytical Chemistry* **57** (1985) 834.
- Tripodi, V., Flor, S., Carlucci, A., Lucangioli, S. "Simultaneous Determination of Natural and Synthetic Estrogens by EKC Using a Novel Microemulsion" *Electrophoresis*, **27** (2006) 4431-4438.
- Wu, C. H., Chen, T. H., Huang, K. P., Wang, G. R., Liu, C. Y. "Separation of Corticosteroids by Microemulsion EKC with Diethyl L-Tartrate as the Oil Phase" *Electrophoresis* **28** (2007) 3691-3696.
- Xia, Z., Jiang, X., Mu, X., Chen, H. "Improvement of Microemulsion Electrokinetic Chromatography for Measuring Octanol-Water Partition Coefficients" *Electrophoresis* **29** (2008) 835-842.
- Yang, S., Khaledi, M. G. "Linear solvation Energy Relationships in Micellar liquid Chromatography and Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography" *Journal of Chromatography A* **692** (1995a) 301-310.
- Yang, S., Khaledi, M. G. "Chemical Selectivity in Micellar electrokinetic Chromatography: Characterization of Solute-Micelle Interactions for Classification of Surfactants" *Analytical Chemistry* **67** (1995b) 499-510.
- Zhao, Y., Ming, Y., Zhang, H., Luo, X., Chen, L., Li, Y. "Rapid Determination of Diterpenoids in *Andrographis Paniculata* by Microemulsion Electrokinetic Capillary Chromatography with Short-End Injection" *Chromatographia* **62** (2005) 611-615.