

## บทที่ 5

### แบบจำลองทางทฤษฎีของค่าจำเพาะการแยกสำหรับสารที่มีประจุ ในไมเซลล์าร์อิเล็กโตรไคเนติกโครมาโทกราฟี<sup>1</sup>

#### 5.1 คำนำ

ดังที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 1.1.3.2 ไมเซลล์าร์อิเล็กโตรไคเนติกโครมาโทกราฟี (micellar electrokinetic chromatography, MEKC) เป็นประเภทหนึ่งของ CE ที่มีบัฟเฟอร์ประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว เช่น SDS โดยจะฟอร์มตัวเป็นไมเซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสคงที่เทียม [Terabe *et al.*: 1992, Altria *et al.*: 2000, Pappas *et al.*: 2005, Iadarola *et al.*: 2008, Terabe *et al.*: 1985] MEKC เป็นเทคนิคที่ใช้อย่างกว้างขวางสำหรับแยกสารที่ไม่มีประจุและสารที่มีประจุซึ่งมีรายงานในงานวิจัยในปี 1999 [Quirino and Terabe: 1999], 2002 [Molina and Silva: 2002], 2003 [Welsch and Michalke: 2003], 2005 [Pappas *et al.*: 2005] สำหรับการแยกสารที่ไม่มีประจุจะใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุ [Terabe *et al.*: 1992, Pappas *et al.*: 2005, Iadarola *et al.*: 2008, Terabe *et al.*: 1985, Quirino and Terabe: 1999, Terabe: 2009, Riekkola *et al.*: 1997, Ehala *et al.*: 2007, Gong *et al.*: 2006, Dubber and Kanfer: 2006] ขณะที่ใช้สารลดแรงตึงผิวที่มีหรือไม่มีประจุสำหรับแยกสารที่มีประจุ [Terabe *et al.*: 1992, Pappas *et al.*: 2005, Iadarola *et al.*: 2008, Quirino and Terabe: 1999, Terabe: 2009, Riekkola *et al.*: 1997, Mallampati *et al.*: 2005, Cesla *et al.*: 2006, Damic and Nigovic: 2009] เนื่องจากความแตกต่างของการกระจายตัวของสารในไมเซลล์และความแตกต่างของความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าปรากฏของสารที่มีประจุ (effective electrophoretic mobility,  $\Delta\mu$ ) จึงสามารถแยกสารใน MEKC ได้ [Altria *et al.*: 2000, Pappas *et al.*: 2005, Quirino and Terabe: 1999, Mallampati *et al.*: 2005, Iadarola *et al.*: 2005, Tellez *et al.*: 2007] โดยทั่วไปค่าการแยก (resolution,  $R_s$ ) ของสารใน CE แสดงได้ดังสมการที่ 5.1 [Giddings: 1969, Jogenson and Lukacs: 1981]

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{\Delta\mu}{\mu + \mu_{eo}} \quad (5.1)$$

เมื่อ  $N$  คือ จำนวนเพลตทางทฤษฎีหรือประสิทธิภาพ,  $\mu$  คือ ความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าปรากฏของสาร,  $\Delta\mu$  คือ ความแตกต่างของ  $\mu$  หรือ  $\mu_2 - \mu_1$  สำหรับสารสองตัว และ  $\mu_{eo}$  คือ ความสามารถในการเคลื่อนที่ด้วยอิเล็กโตรออสโมซิส สำหรับสารสองตัวที่มีทิศทางของ  $\mu$  ไปทาง

<sup>1</sup>งานวิจัยนี้ได้นำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติที่ ITP2010Maryland และ APCE2010HongKong และตีพิมพ์ใน Electrophoresis 32 (2011) 203-209 ดังภาคผนวก 3

เดียวกัน สมการที่ 5.1 อาจจัดรูปให้มีความสัมพันธ์กับค่าการแยกหรือ  $R_s$  ในรูปของ efficiency term, selectivity term และ mobility term ดังแสดงในสมการที่ 5.2

$$R_s = \left( \frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left( \frac{\alpha_m - 1}{\alpha_m} \right) \left| \frac{\mu_2}{\mu + \mu_{eo}} \right| \quad (5.2)$$

เมื่อ  $\alpha_m$  คือ separation selectivity หรือ mobility selectivity ซึ่งนิยามเป็นอัตราส่วนของความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าปรากฏของสารสองตัว เช่น  $\mu_2/\mu_1$  โดย  $|\mu_2| > |\mu_1|$

ใน MEKC ที่ใช้ normal elution mode จะมีทิศทางของความเร็วเล็กโทรอสโมซิส ( $v_{eo}$ ), ความเร็วของสารและความเร็วของไมเซลล์ ( $v_{mc}$ ) โดย  $|v_{eo}| > |v_{mc}|$  สมการค่าการแยกของสารที่ไม่มีการแสดงให้มีความสัมพันธ์กับ retention term ดังสมการที่ 5.3 [Nielsen and Foley: 1993, Pyell: 2006]

$$R_s = \left( \frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left( \frac{\alpha_k - 1}{\alpha_k} \right) \left( \frac{k_2}{1 + k} \right) \left( \frac{1 - t_{eo}/t_{mc}}{1 + (t_{eo}/t_{mc})k} \right) \quad (5.3)$$

เมื่อ  $k$  คือ รีเทนชันแฟกเตอร์,  $\alpha_k$  คือ retention selectivity นิยามเป็นอัตราส่วนของ  $k$  เช่น  $k_2/k_1$  และ  $t_{eo}$  กับ  $t_{mc}$  คือ ไมเกรชันไทม์ของ EOF marker และ micelle marker ตามลำดับ

การแยกสารที่มีประจุสมบูรณ์ใน MEKC โดยใช้ normal elution mode อาศัยความแตกต่างของการกระจายตัวของสารในไมเซลล์และความแตกต่างของความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสาร ค่าการแยกสามารถแสดงได้ดังสมการที่ 5.4 [Nielsen and Foley: 1993]

$$R_s = \left( \frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left( \frac{\alpha_k - 1}{\alpha_k} \right) \left( \frac{k_2}{1 + k} \right) \left( \frac{1 + t_{eo}/t_{ep} - t_{eo}/t_{mc}}{1 + t_{eo}/t_{ep} + (t_{eo}/t_{mc})k} \right) \quad (5.4)$$

เมื่อ  $t_{ep}$  คือ ไมเกรชันไทม์ที่สัมพันธ์กับความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสารที่มีประจุ และในกรณีนี้  $t_{ep} = t_{ep2} = t_{ep1}$

จากสมการที่ 5.3 และ 5.4 จะแสดงให้เห็นว่า separation selectivity อาจหมายถึง retention selectivity ได้ ในกรณีสารที่วิเคราะห์มีความแตกต่างของความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้า ( $\mu_0$ ) ภายใต้ภาวะที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในบัฟเฟอร์มีค่าเท่ากับศูนย์หรือ CZE เมื่อทำการวิเคราะห์สารดังกล่าวใน MEKC การแยกของสารจะขึ้นอยู่กับทั้ง  $k$  และ  $\mu_0$  เมื่อเปรียบเทียบการแยกสารที่มีประจุใน CZE กับ MEKC ที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวลงในบัฟเฟอร์พบว่า MEKC สามารถแยกสารบางชนิดได้ดีขึ้น แต่ก็สามารถทำให้การแยกของสารบางชนิดแย่ลงได้เช่นกัน [Iadarola et al.: 2008, Riekkola et al.: 1997, Dubber and Kanfer: 2006, Mallampati et al.: 2005,

Cesla *et al.*: 2006, Damic and Nigovic: 2009, Iadarola *et al.*: 2005, Huang *et al.*: 2005, Nhujak *et al.*: 2005, Huertas-Perez *et al.*: 2006, Huang *et al.*: 2003] ซึ่งผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในการแยกโครมาตที่ใช้ dual cyclodextrins ซึ่งได้รายงานในงานวิจัยเราก่อนหน้านี้ [Nhujak *et al.*: 2005]

เพื่ออธิบาย separation selectivity และ electrophoretic mobility order ใน MEKC สำหรับสารที่มีประจุที่มี  $\mu_0$  แตกต่างกัน งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อสร้างแบบจำลองทางทฤษฎีของ separation selectivity ใน MEKC ที่สัมพันธ์กับตัวแปรที่ไม่มีหน่วยของ mobility selectivity ใน CZE และ retention selectivity ใน MEKC และเปรียบเทียบ separation selectivity ที่ได้จากการทดลองและที่ได้จากการทำนายใน MEKC โดยทำการทดลองด้วย normal elution mode และใช้บัฟเฟอร์เป็น 10 mM ไดโซเดียมบอเรต (pH 10.2) ที่มีการเติม SDS เป็นสารลดแรงตึงผิว โดยมีอัลคิลพาราเบนเป็นสารทดสอบ

## 5.2 การทดลอง

### 5.2.1 เครื่องมือ

- 1) เครื่องอะนาลิซีสโครมโทกราฟีของ บริษัท Beckman รุ่น MDQ
- 2) เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ของ Metrohm รุ่น 744
- 3) เครื่อง sonication ของ ultrasonic steri-cleaner
- 4) เครื่องผลิตน้ำ Milli Q

### 5.2.2 สารเคมี

- 1) อัลคิลพาราเบน (PB) ได้แก่ isoparaben (IP), ethylparaben (EP), propylparaben (PP) และ butylparaben (BP) ของบริษัท Sigma-Aldrich
- 2) โดเดซิลเบนซีน (DB) ของบริษัท Sigma-Aldrich
- 3) โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ของบริษัท Sigma
- 4) ไดโซเดียมเตตระบอเรตเดคาไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท Fluka
- 5) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท Fluka

### 5.2.3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CE

ภาวะของ CE ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้ คือ (ในกรณีที่แตกต่างไปจากนี้จะระบุ)

- |                      |                                                                                                    |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| เครื่อง CE           | : Beckman รุ่น MDQ                                                                                 |
| อะนาลิซีสโครมโทกราฟี | : uncoated fused silica capillary 50 $\mu\text{m}$ i.d. $\times$ 40.2 cm (30 cm ถึงเครื่องตรวจวัด) |
| การบรรจุสาร          | : อัตราความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 3 วินาที                                                           |
| การตรวจวัด           | : photodiode array ช่วง 190-300 nm และตรวจวัดที่ 220 nm                                            |

Capillary rinse : ก่อนการทดลองแต่ละวัน ล้างภายในแคพิลลารีด้วยเมทานอล, 0.1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำอย่างละ 15 นาที และบัฟเฟอร์ 15 นาที และก่อนการวิเคราะห์แต่ละครั้งล้างด้วย 0.1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์และบัฟเฟอร์อย่างละ 2 นาที

อุณหภูมิของแคพิลลารี : 25°C

ศักย์ไฟฟ้า : 15 kV

BGE : 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ที่ pH 10.2 ที่ประกอบด้วย SDS เป็นสารลดแรงตึงผิว

#### 5.2.4 การเตรียมบัฟเฟอร์

บัฟเฟอร์ที่ใช้ในการทดลองหาค่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของสารมี 2 ระบบ คือ

1) บัฟเฟอร์ใน CZE ประกอบด้วย 10 mM  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  ปรับ pH เป็น 10.2 ด้วย 1.0 M NaOH

2) บัฟเฟอร์ใน MEKC ประกอบด้วย 20-60 mM SDS ใน 10 mM  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  pH 10.2

บัฟเฟอร์ทั้งสองระบบเตรียมโดยใช้น้ำ Milli Q จากนั้นนำไป sonicate ประมาณ 30 นาที

แล้วกรองบัฟเฟอร์ผ่าน 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE filter ก่อนการวิเคราะห์

#### 5.2.5 การเตรียมสารทดสอบ

เตรียม stock solution ความเข้มข้น 1000 ppm ของสารทดสอบโดยละลายสารทดสอบแต่ละตัวแยกกันด้วยอะซิโตนในไทรล์ จำนวน 5 mL จากนั้นเจือจางแต่ละสารละลายด้วยน้ำ Milli Q ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL สำหรับ stock solution ของ DB และ thiourea เตรียมโดยละลายสารแต่ละตัวแยกกันด้วยเอทานอลและเจือจางจนได้ความเข้มข้น 20000 ppm ด้วยน้ำ Milli Q ส่วนสารละลายมาตรฐานประกอบด้วย 20-60 ppm ของสารทดสอบ, 30 ppm thiourea และ 150 ppm DB เตรียมได้โดยเจือจาง stock solution ด้วย 1.0 mM บอเรตบัฟเฟอร์ หลังจากนั้นนำไปกรองผ่าน 0.45  $\mu\text{m}$  PTFE filter ก่อนการวิเคราะห์

### 5.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 5.3.1 แบบจำลองทางทฤษฎี ของ separation selectivity ใน MEKC สำหรับสารที่มีประจุ

ความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสารที่มีประจุสองตัวใน MEKC ( $\mu_{\text{MEKC}}$ ) แสดงดังสมการที่ 5.5 และ 5.6 [Nielsen and Foley: 1993]

$$\mu_{(\text{MEKC},1)} = \left( \frac{\mu_{0,1} + k_1 \mu_{\text{mc}}}{1 + k_1} \right) \quad (5.5)$$

$$\mu_{(\text{MEKC},2)} = \left( \frac{\mu_{0,2} + k_2 \mu_{\text{mc}}}{1 + k_2} \right) \quad (5.6)$$

เมื่อ  $\mu_0$  คือ ความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสารภายใต้ภาวะที่มีความเข้มข้นของ SDS เท่ากับศูนย์หรือ CZE และ  $\mu_{mc}$  คือความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของไมเซลล์ marker ตัวห้อย 1 และ 2 หมายถึงสารตัวที่ 1 และ 2 ตามลำดับ separation selectivity ใน MEKC ( $\alpha_{MEKC}$ ) นิยามเป็นอัตราส่วนของ  $\mu_{MEKC}$  เมื่อ  $k_2 \geq k_1 > 0$  สามารถจัดรูปได้ดังสมการที่ 5.7

$$\alpha_{MEKC} = \alpha_{CZE} \left( \frac{\beta + \frac{\alpha_k}{\alpha_{CZE}} k_1}{\beta + k_1} \right) \left( \frac{(1 + k_1)}{1 + \alpha_k k_1} \right) \quad (5.7)$$

เมื่อ  $\alpha_{CZE}$  คือ mobility selectivity ใน CZE หรืออัตราส่วนของ  $\mu_0$ , เช่น  $\mu_{0,2}/\mu_{0,1}$ ,  $\alpha_k$  คือ retention selectivity ของสารลดแรงตึงผิว SDS สำหรับสารที่มีประจุสองตัว หรืออัตราส่วนของ  $k$ , เช่น  $k_2/k_1$ , และ  $\beta$  อัตราส่วนของ  $\mu_{0,1}/\mu_{mc}$  โดยที่  $\alpha_k \geq 1.0$  เสมอ สำหรับค่า  $\alpha_{CZE} > 1.0$  หมายถึงลำดับการเคลื่อนที่ของสารซึ่งมี  $|\mu|$  ใน CZE และ  $k$  ใน MEKC เหมือนกัน เช่น  $k_2 > k_1$  และ  $|\mu_2| > |\mu_1|$ , ในขณะที่  $\alpha_{CZE} < 1.0$  หมายถึงลำดับการเคลื่อนที่ของสารซึ่งมี  $|\mu|$  ใน CZE และ  $k$  ใน MEKC สลับกัน เช่น  $k_2 > k_1$  ในขณะที่  $|\mu_2| < |\mu_1|$

จากสมการที่ 5.7 และงานวิจัยที่ผ่านมาของกลุ่มเราเกี่ยวกับแบบจำลองทางทฤษฎีของ separation selectivity สำหรับการแยกโครมาตด้วย dual cyclodextrins [Nhujak *et al.*: 2005] สามารถเสนอแบบจำลองทางทฤษฎีของ  $\alpha_{MEKC}$  สำหรับสารที่มีประจุสองตัวใน MEKC ได้ 4 แบบ ดังแสดงในตารางที่ 5.1 โดยอ้างอิงตามช่วงของค่า  $\alpha_{CZE}$ ,  $\alpha_k$ ,  $\rho$  และลำดับของค่า  $|\mu|$  ใน CZE และ  $k$  ใน MEKC สำหรับการทำนายค่าของ  $\alpha_{MEKC}$  สำหรับสารที่มีประจุสองตัว ค่า  $\beta$  ในสมการที่ 5.7 ประมาณให้มีค่าเท่ากันเท่ากับ 0.5 รูปที่ 5.1 แสดงพล็อตของ  $\alpha_{MEKC}$  model Types I–III กับ  $k_1$  ซึ่งการเพิ่มค่า  $k$  สามารถทำได้โดยการเพิ่มความเข้มข้น SDS ([SDS]) ในบัฟเฟอร์ของ MEKC

ตารางที่ 5.1 แบบจำลองทางทฤษฎีของ separation selectivity ใน MEKC ( $\alpha_{MEKC}$ )

| Type | Order of $ \mu $ in CZE and $k$ in MEKC | $\alpha_{CZE}$        | $\alpha_k$                          | $\rho$        | Assumed values |            |         |
|------|-----------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|---------------|----------------|------------|---------|
|      |                                         |                       |                                     |               | $\alpha_{CZE}$ | $\alpha_k$ | $\beta$ |
| I    | Same                                    | $\alpha_{CZE} \geq 1$ | $\alpha_k > \alpha_{CZE} \geq 1$    | $\rho > 1$    | 1.1            | 1.2–3.3    | 0.5     |
| II   | Same                                    | $\alpha_{CZE} > 1$    | $\alpha_{CZE} \geq \alpha_k \geq 1$ | $\rho \leq 1$ | 1.5            | 1.0–1.5    | 0.5     |
| III  | Reversed                                | $\alpha_{CZE} < 1$    | $\alpha_k \geq 1 > \alpha_{CZE}$    | $\rho > 1$    | 0.8            | 1.0–6.4    | 0.5     |
| IV   | Co-migration                            | $\alpha_{CZE} = 1$    | $\alpha_k = \alpha_{CZE} = 1$       | $\rho = 1$    | –              | –          | 0.5     |

จากแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 1 ในรูปที่ 5.1a สำหรับค่า  $\rho$  ที่แน่นอนใด ๆ ยกเว้น  $\rho \approx 1.0$  พบว่าค่า  $\alpha_{MEKC}$  มีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงค่าสูงสุดเมื่อ  $k_1$  มีค่าเพิ่มขึ้น จากนั้นมีค่าลดลงที่ค่า  $k_1$  สูงขึ้น สำหรับค่า  $k_1$  ค่าหนึ่ง ๆ เมื่อค่า  $\alpha_k$  มีค่าเพิ่มขึ้นจะได้ค่า  $\alpha_{MEKC}$  ที่สูงขึ้น สำหรับช่วงของค่า  $k_1$  ที่สนใจ พบว่าค่า  $\alpha_{MEKC}$  สูงสุดจะลดลงเมื่อค่า  $\alpha_k$  เพิ่มขึ้น ดังนั้นแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 1 แสดงลำดับ

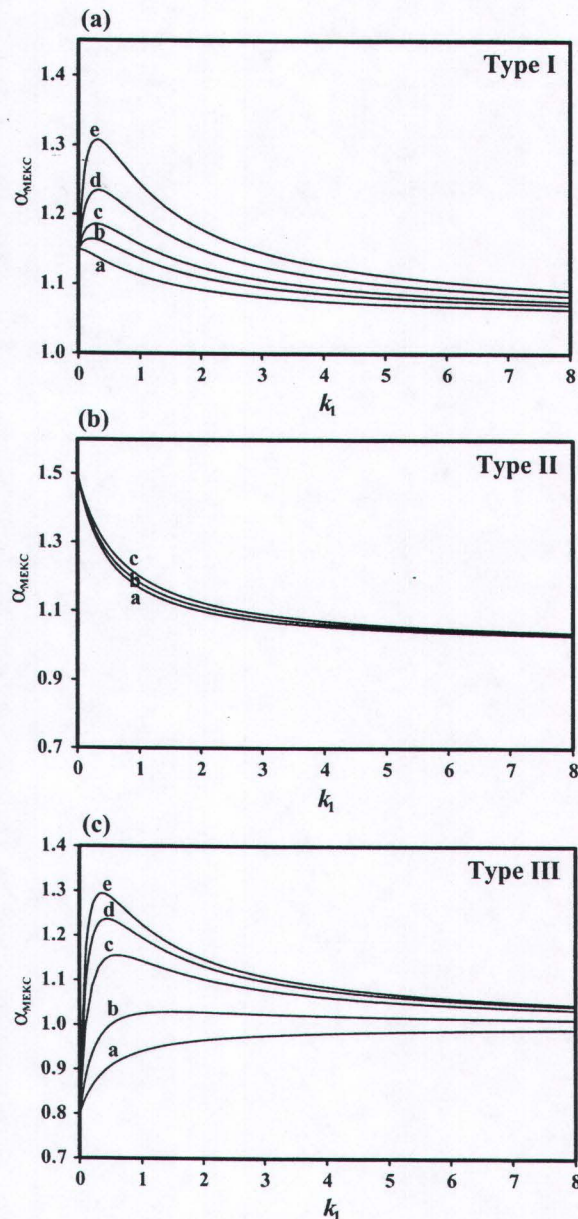
เหมือนกันของค่า  $|\mu|$  ใน CZE และ  $k$  ใน MEKC ของสารที่มีประจุ และเมื่อค่า  $\alpha_k$  สูงกว่าค่า  $\alpha_{CZE}$  นั่นคือสามารถเพิ่ม  $\alpha_{MEKC}$  สำหรับสารที่มีประจุสองตัวใน MEKC ได้ ในทางตรงกันข้ามกับแบบที่ 1 พบว่าแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 2 ( $\alpha_k \leq \alpha_{CZE}$ ) ในรูปที่ 5.1b แสดงค่า  $\alpha_{MEKC}$  มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มค่า  $k_1$  แสดงให้เห็นการแยกที่แย่ลงของสารที่มีประจุสองตัว สำหรับลำดับที่สลับกันของค่า  $|\mu|$  ใน CZE และ  $k$  ใน MEKC ของสารที่มีประจุแสดงในรูปที่ 5.1c ในแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 3 ซึ่งแบบจำลองจะเริ่มจากค่า  $\alpha_{MEKC}$  ที่น้อยกว่า 1.0 ( $1/\alpha_{MEKC} > 1$ ) และเข้าใกล้ 1.0 (การแยกที่ไม่ดี) ที่  $k_1$  เพิ่มขึ้น จากนั้นมีค่ามากกว่า 1.0 (การแยกดีขึ้น) เมื่อเพิ่มค่า  $k_1$  มากขึ้นที่ค่า  $\alpha_{MEKC}$  เท่ากับ 1.0 ค่า  $k_1$  มีค่าดังสมการที่ 5.8

$$k_1 = \frac{(1 - \alpha_{CZE})}{(\alpha_{CZE} - \alpha_k) + (\alpha_k - 1)/\beta} \quad (5.8)$$

เมื่อค่า  $\alpha_k$  มีค่าน้อย ๆ ที่ค่า  $k_1$  สูงขึ้นจะได้ค่า  $\alpha_{MEKC}$  มีค่าเท่ากับ 1.0 ซึ่งสอดคล้องกับเส้นกราฟล่างสุดของแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 3 ซึ่งมีค่า  $\alpha_{MEKC}$  เท่ากับ 0.99 ที่ค่า  $k_1$  เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 5.1c เป็นที่สังเกตว่าสำหรับค่าทางทฤษฎีของ  $\alpha_{CZE}$  หรือ  $\alpha_{MEKC}$  น้อยกว่า 1.0 ค่าในทางปฏิบัติจะมีค่าเท่ากับ  $1/\alpha_{CZE}$  หรือ  $1/\alpha_{MEKC}$  ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่า  $k_1$  อาจทำให้เกิดการสลับลำดับของความสามารถในการเคลื่อนที่ของไฟฟ้าของสารที่มีประจุสองตัวได้ใน MEKC สำหรับแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 3 ( $\alpha_k = 1.0$  และ  $\alpha_{CZE} = 1.0$ ) หมายถึงไม่เกิดการแยกของสารสองที่มีประจุสองตัว

จากรูปที่ 5.1 แบบจำลองทางทฤษฎีของ  $\alpha_{MEKC}$  สามารถอธิบายการแยกสารที่มีประจุสองตัว โดยเมื่อค่า  $\alpha_{MEKC}$  เพิ่มขึ้นจะให้การแยกของสารดีขึ้น สำหรับแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 1 ( $\alpha_k > \alpha_{CZE}$ ) หรือแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 2 ( $\alpha_k \gg \alpha_{CZE}$ , or  $\alpha_k > 1/\alpha_{CZE}$ ) separation selectivity ใน MEKC จะมีค่ามากกว่าใน CZE ที่ค่า  $k_1$  ที่เหมาะสม

ในทางทฤษฎีนั้นทิศทางของ EOF และความเร็วทั้งหมดจะไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสารและไมเซลล์ รวมทั้งรีเทนชันแฟกเตอร์ของสารในไมเซลล์ จากการที่ค่า  $\alpha_m$  และ  $\alpha_k$  ไม่แปรตามทิศทางของความเร็วที่กล่าวข้างต้น ดังนั้นแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  ในงานวิจัยนี้สามารถใช้สำหรับ MEKC ที่เป็น normal mode, reversed mode และ restricted mode ซึ่งแต่ละ mode นี้ได้แบ่งตามทิศทางของ EOF และความเร็วทั้งหมดโดยรายละเอียดได้กล่าวไว้ใน [Pyell: 2006]



รูปที่ 5.1 แบบจำลองทางทฤษฎีของ  $\alpha_{\text{MEKC}}$  ที่ได้จากการทำนายสำหรับสารที่มีประจุสองตัว คำนวณโดยใช้สมการที่ 5.7 และข้อมูลในตารางที่ 5.1 ตัวแปร a-e แทนค่าของ  $\alpha_k$  สำหรับ (a) 1.2, 1.4, 1.7, 2.2 และ 3.3 ตามลำดับ (b) 1.0, 1.2 และ 1.5 ตามลำดับ และ (c) 1.0, 1.6, 3.2, 4.8 และ 6.4 ตามลำดับ

### 5.3.2 ค่า $\alpha_{\text{MEKC}}$ ที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายสำหรับสารที่มีประจุลบใน MEKC

ภายใต้ภาวะ normal elution mode โดยใช้สารลดแรงตึงผิวเป็น SDS ซึ่งมีประจุลบ

ในงานวิจัยนี้สารทดสอบเป็นสารประกอบพาราเบน ได้แก่ IP, BP, PP และ EP ซึ่งเป็นกรดอ่อนที่มี  $\text{HO-C}_6\text{H}_4\text{COOR}$  ใน basic buffer ที่มี  $\text{pH} > \text{pK}_a$  ของพาราเบน สารประกอบพาราเบนเหล่านี้จะสามารถแตกตัวได้ประจุลบ มีค่า  $\text{pK}_a$  ปรากฏเท่ากับ 8.80, 7.98, 8.00 และ 7.97 ตามลำดับ (ค่าอ้างอิงสำหรับ IP เท่ากับ 9.2 [Pirslova *et al.*: 1996] และสำหรับพาราเบนตัวอื่นๆ เท่ากับ 8.4 [Wilson and Gisvold: 1998]) สำหรับค่า  $\text{pK}_a$  ปรากฏนี้สามารถหาได้จากการวัดค่าความสามารถใน

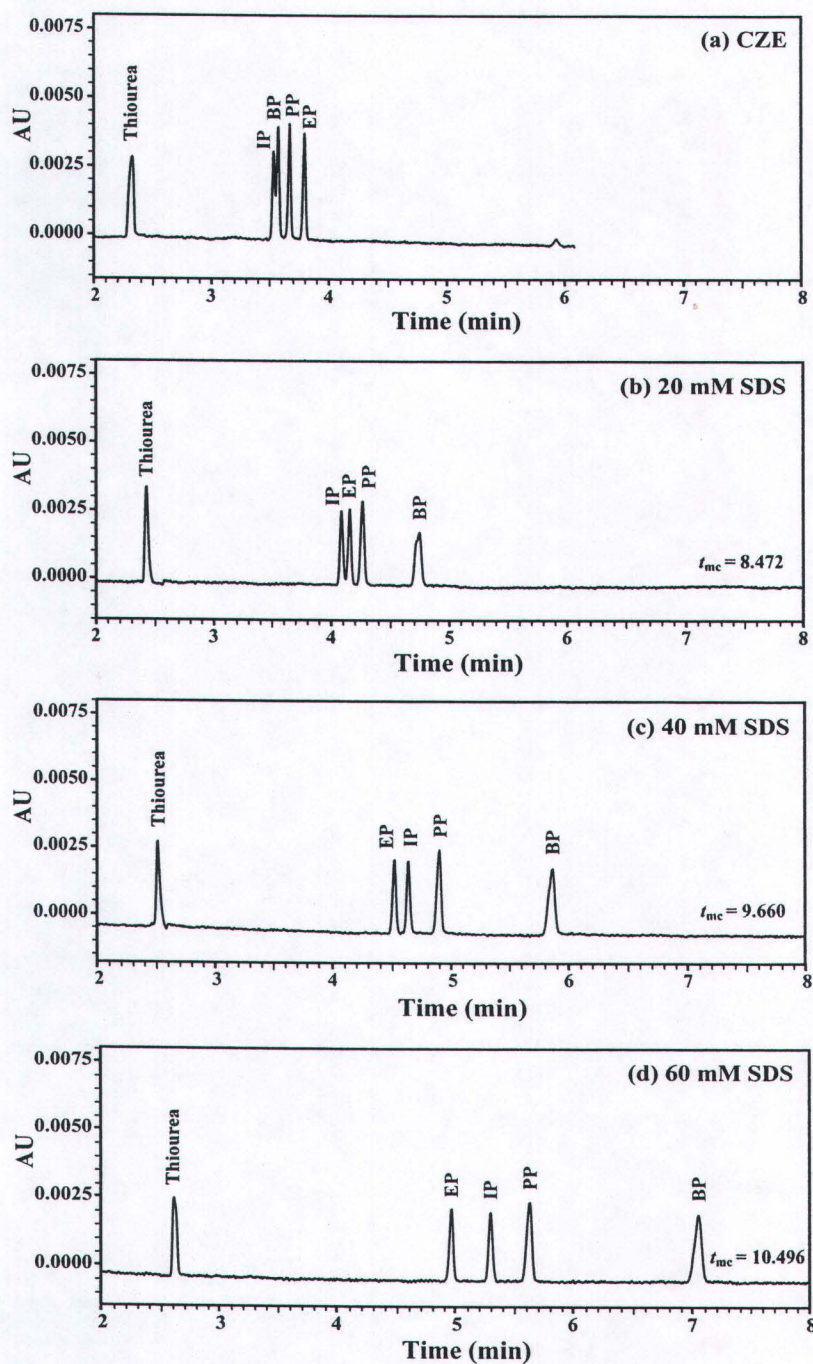
การเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสารปรากฏ ( $\mu_{\text{eff}}$ ) ใน CZE ภายใต้บัฟเฟอร์ที่ประกอบด้วย 10 mM  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  ที่ค่า pH ต่าง ๆ ตั้งแต่ 7.8 ถึง 10.2 จากนั้นเขียนกราฟเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่าง  $1/\mu_{\text{eff}}$  และ  $10^{-\text{pH}}$  ( $[\text{H}_3\text{O}^+]$ ) และหาค่า  $\text{pK}_a$  จาก  $\log (\text{slope/Y-intercept})$  [Jerez *et al.*: 2009] สำหรับบอเรตบัฟเฟอร์ pH 10.2 ที่ใช้เพื่อทำให้สารทดสอบแตกตัวเป็นประจุอย่างสมบูรณ์ด้วยวิธีการแตกตัวเท่ากับ 0.96 สำหรับ IP และ 0.99 สำหรับพาราเบนตัวอื่นๆ ซึ่งวิธีการแตกตัวคำนวณโดยใช้พารามิเตอร์ต่าง ๆ ภายใต้ภาวะ CE ที่ใช้ทดลองและใช้สมการวิธีการแตกตัวซึ่งได้มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ [Nielsen and Foley: 1993]

เพื่อที่จะสามารถทำนายค่าของ  $\alpha_{\text{MEKC}}$  สำหรับสารที่มีประจุสองตัวใน MEKC จะต้องรู้พารามิเตอร์ต่างๆ คือค่า  $\alpha_{\text{CZE}}$  ใน CZE และค่า  $\alpha_k$ ,  $k$  ใน MEKC รูปที่ 5.2 แสดงการแยกของพาราเบนโดยใช้ภาวะที่ไม่มี SDS หรือ CZE และภาวะที่มี SDS หรือ MEKC ซึ่งมีค่า [SDS] ต่าง ๆ (20-60 mM) จากรูปที่ 5.1a คือการแยกใน CZE ซึ่งมีเวกเตอร์ของความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของพาราเบนที่มีประจุลบมีทิศทางตรงข้ามกับเวกเตอร์ของ EOF มีลำดับการเคลื่อนที่ของสาร  $\text{EP} > \text{PP} > \text{BP} > \text{IP}$  และมีค่า  $\mu_{\text{eff}}$  เท่ากับ -2.25, -2.13, -2.03 และ  $-1.97 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ตามลำดับ ดังนั้นลำดับของค่า  $|\mu|$  คือ  $\text{EP} > \text{PP} > \text{BP} > \text{IP}$  ส่วนค่า  $|\mu|$  ของ IP ที่มีค่าน้อยกว่าพาราเบนอื่นๆ อาจเนื่องมาจากวิธีการแตกตัวที่น้อยกว่าและ/หรือขนาดของไฮโดรไดนามิกที่มีขนาดใหญ่กว่า

ในทางทฤษฎีสำหรับการแยกสารที่ไม่มีประจุใน MEKC ภายใต้ภาวะ normal elution mode โดยใช้สารลดแรงตึงผิวที่เป็นประจุลบ พฤติกรรมเคลื่อนที่ของสารขึ้นอยู่กับค่า  $k$  ของสารเท่านั้น คือสารที่มีค่า  $k$  มากกว่าจะใช้เวลาในการวิเคราะห์นานกว่า อย่างไรก็ตามการแยกสารที่มีประจุใน MEKC ภายใต้ภาวะข้างต้นนั้น พฤติกรรมเคลื่อนที่ของสารขึ้นอยู่กับค่า  $\mu$  และ  $k$  ของสารที่วิเคราะห์แต่ละตัว ทำให้ยากต่อการทำนายลำดับการเคลื่อนที่ของ migration time หรือ  $\mu_{\text{eff}}$  ของสารใน MEKC รีเทนชันแฟกเตอร์ ( $k$ ) คำนวณจากอิเล็กโตรโฟโแกรมของ MEKC และใช้สมการที่ 5.9 [Tellez *et al.*: 2007, Nielsen and Foley: 1993, Tellez *et al.*: 2007]

$$k = \frac{\mu_{\text{MEKC}} - \mu_0}{\mu_{\text{mc}} - \mu_{\text{MEKC}}} \quad (5.9)$$

พารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้นิยามไว้แล้วก่อนหน้านี้ในสมการที่ 5.5 และ 5.6 จากจากอิเล็กโตรโฟโแกรมของ MEKC ในรูปที่ 5.2b-d, ค่า  $k$  (ตารางที่ 5.2) สำหรับสารประกอบพาราเบนที่มีประจุลบซึ่งมีลำดับการออกคั้งนี้  $\text{BP} > \text{PP} > \text{IP} > \text{EP}$  ซึ่งสอดคล้องกับลำดับของค่าคงที่การกระจายตัวของสารในออกทานอลและน้ำ  $\text{BP} > \text{PP} > \text{EP}$  [Poouthree *et al.*: 2007, Golden *et al.*: 2005, Tavares *et al.*: 2009]



รูปที่ 5.2 อิเล็กโตรโฟโกราฟีของพาราเบนภายใต้ภาวะ (a) 0 CZE, (b) 20, (c) 40, และ 60 mM SDS ใน 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ที่ปรับ pH ด้วย 1.0 M NaOH ภาวะอื่นๆ ของ CE: uncoated fused-silica capillary 50  $\mu\text{m}$  i.d.  $\times$  40.2 cm (30 cm ถึงเครื่องตรวจวัด) อุณหภูมิคอลัมน์ 25  $^{\circ}\text{C}$ , ศักย์ไฟฟ้า 15 kV, ตรวจวัดที่ 220 nm การบรรจุสารแบบอัดความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 3 วินาที

จากรูปที่ 5.2d สำหรับการแยกใน MEKC ที่บัฟเฟอร์ประกอบด้วย 60 mM SDS พบว่า ลำดับของ  $t_m$  หรือ  $|\mu_{\text{MEKC}}|$  คือ BP > PP > IP > EP ซึ่งแตกต่างจากลำดับใน MEKC ที่บัฟเฟอร์ประกอบด้วย 20 mM SDS (รูปที่ 5.2b) BP > PP > EP > IP และใน CZE (รูปที่ 5.2a) EP > PP >



BP > IP พฤติกรรมการเคลื่อนที่ที่ต่างกันนี้สามารถอธิบายด้วย separation selectivity models ในหัวข้อ 5.3.1

ตารางที่ 5.2 Mobility selectivity ( $\alpha_{CZE}$ ), retention selectivity ( $\alpha_k$ ), retention factor ( $k_1$ ), selectivity ratio ( $\rho$ ), และชนิดของแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$

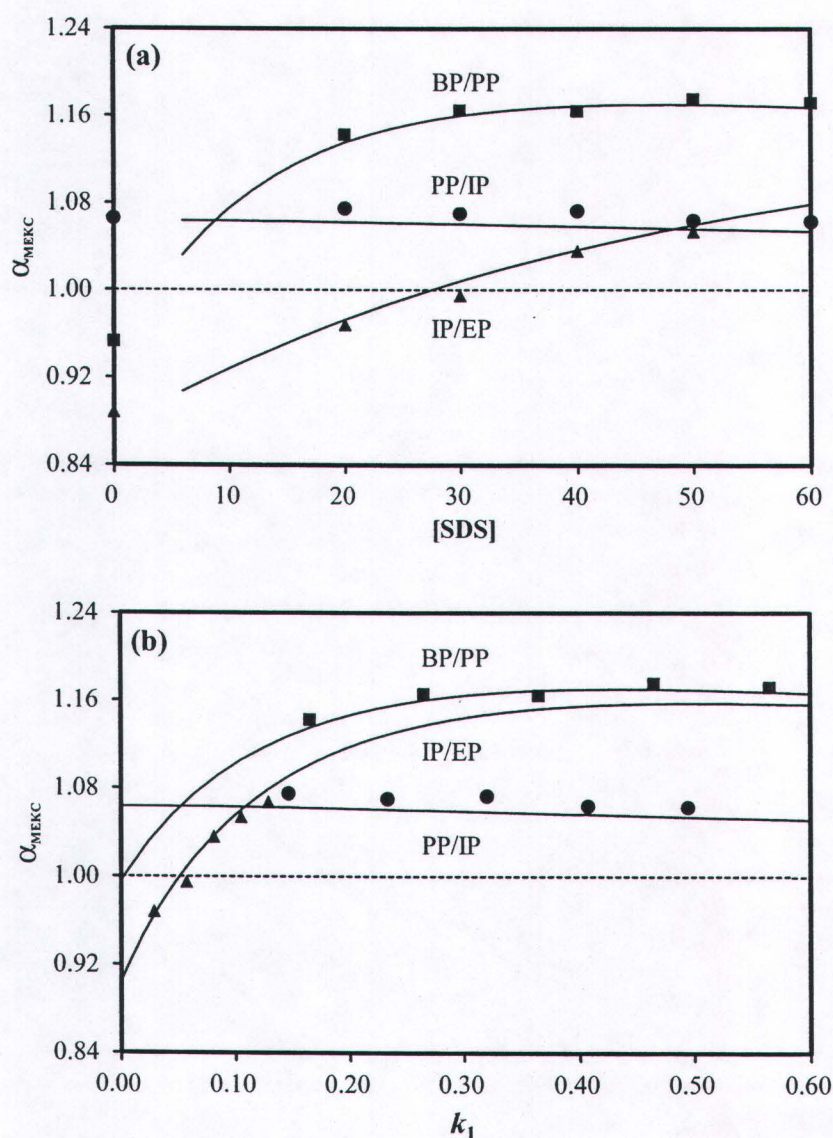
| Pair  | Solute 1 | $k_1 = a[\text{SDS}] + b$     | $\alpha_{CZE}$ | $\alpha_k$      | $\beta$ | $\rho$     | Types of model for $\alpha_{MEKC}$ |
|-------|----------|-------------------------------|----------------|-----------------|---------|------------|------------------------------------|
| IP/EP | EP       | $0.00236[\text{SDS}] - 0.013$ | 0.888          | $k_{IP}/k_{EP}$ | 0.575   | $\rho > 1$ | III                                |
| PP/IP | IP       | $0.00871[\text{SDS}] - 0.028$ | 1.066          | $k_{PP}/k_{IP}$ | 0.511   | $\rho > 1$ | I                                  |
| BP/PP | PP       | $0.01004[\text{SDS}] - 0.035$ | 0.953          | $k_{BP}/k_{PP}$ | 0.544   | $\rho > 1$ | III                                |
|       | BP       | $0.03068[\text{SDS}] - 0.057$ | -              | -               | -       | -          | -                                  |

รูปที่ 5.3 แสดงค่า  $\alpha_{MEKC}$  ที่ได้จากการทดลองและการทำนายสำหรับพาราเบนใน MEKC ภายใต้ภาวะที่มี [SDS] ต่าง ๆ (รูปที่ 5.3a) และค่า  $k_1$  ต่าง ๆ (รูปที่ 5.3b) พบว่าความสัมพันธ์แรกใช้ในการพิจารณาหา [SDS] ที่สามารถแยกสารออกจากกันหรือทำให้ลำดับการเคลื่อนที่ของสารเกิดการสลับที่กัน ในขณะที่ความสัมพันธ์หลังใช้เปรียบเทียบค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ได้จากการทำนายเมื่อไม่ทราบ [SDS] ค่า  $\alpha_{MEKC}$  ที่ได้การทำนายที่ [SDS] ต่าง ๆ (6.0-60 mM) คำนวณโดยใช้ข้อมูลในตารางที่ 5.2 และสมการที่ 5.7 ตารางที่ 5.2 แสดงค่า  $\alpha_{CZE}$ ,  $\alpha_k$ ,  $\rho$  และแบบจำลองของ  $\alpha_{MEKC}$  ดังที่ได้อธิบายไว้ก่อนหน้านี้ สำหรับการแยกใน MEKC ของคู่สารหนึ่ง ๆ เช่น PP และ IP ค่า  $k_1$  นิยามเป็น  $k$  ของสารที่มีค่า  $k$  น้อยกว่า เช่น  $k_{PP}$  เมื่อใช้ [SDS] (20-60 mM) และเขียนกราฟระหว่างค่า  $k_1$  ที่ได้จากการทดลองกับ [SDS] จะได้กราฟเส้นตรง ซึ่งสามารถใช้ทำนายค่า  $k_1$  ที่ [SDS] ต่าง ๆ ได้ เมื่อใช้ข้อมูลจากตารางที่ 5.2 และสมการที่ 5.7 พบว่าค่า  $\alpha_{MEKC}$  ที่ได้จากการทดลองในรูปที่ 5.3 สอดคล้องกับค่าที่ได้จากการทำนาย แสดงให้เห็นว่าสมการที่ 5.7 สามารถใช้ในการทำนายค่า  $\alpha_{MEKC}$  ในช่วงของ [SDS] และค่า  $k_1$  ต่าง ๆ ได้

จากจากอิเล็กโตรโฟเรสิสในรูปที่ 5.2 และข้อมูลในตารางที่ 5.2 พบว่าค่า  $|\mu|$  ใน CZE และค่า  $k$  ใน MEKC มีลำดับที่เหมือนกัน นั่นคือ  $\alpha_{CZE} > 1.0$  และ  $\alpha_{MEKC} > 1.0$  แม้ว่าค่า  $\rho > 1.0$  แต่พบค่า  $\alpha_{MEKC}$  ที่ได้จากการทำนายและจากการทดลองลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเพิ่ม [SDS] และ  $k_1$  เนื่องจากค่า  $\rho$  ที่ได้จากการคำนวณนั้นมีค่าเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเท่ากับ 1.032 และ 1.072 สำหรับ 10-60 mM SDS ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของค่า  $\alpha_{MEKC}$  ของคู่สาร PP/IP ใน MEKC สอดคล้องกับแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 1 ซึ่งได้อธิบายก่อนหน้านี้ในกรณีที่มีค่า  $\rho$  น้อยๆ

เนื่องจากคู่สาร IP/EP และ BP/PP เกิดการสลับที่กันของค่า  $|\mu|$  ใน CZE และค่า  $k$  ใน MEKC และค่า  $\alpha_{CZE}$  มีค่าน้อยกว่า 1.0 ดังนั้นการสลับลำดับของค่า  $|\mu|$  สำหรับคู่สาร IP/EP และ BP/PP ที่ [SDS] สูงและที่ [SDS] ต่ำ หรือเท่ากับศูนย์ สอดคล้องกับแบบจำลอง  $\alpha_{MEKC}$  แบบที่ 3 เมื่อค่า  $\alpha_{MEKC}$  เท่ากับ 1.0 พบว่าค่า  $k_1$  ที่ได้จากการทำนายในรูปที่ 5.3b มีค่าประมาณ 0.003 สำหรับ

BP/PP ที่ [SDS] ต่ำ ๆ และเท่ากับ 0.052 สำหรับ IP/EP ซึ่งค่านี้สอดคล้องกับค่า  $k_1$  ที่ได้จากการทดลองเท่ากับ 0.064 นอกจากนี้พบว่าเมื่อใช้สมการที่ 5.8 และใช้ค่า  $\alpha_k$  เฉลี่ยเท่ากับ 3.831 สำหรับคู่สาร IP/EP ที่ 6.0-60 mM SDS ซึ่งให้ค่า  $\alpha_{\text{MEKC}}$  เท่ากับ 1.0 ได้ค่า  $k_1$  ที่ได้จากการทำนายเท่ากับ 0.057 ซึ่งสอดคล้องกับค่า  $k_1$  ในรูปที่ 5.3b (0.052)



รูปที่ 5.3  $\alpha_{\text{MEKC}}$  ที่ได้จากการทดลอง (สัญลักษณ์) และจากการทำนาย (เส้นทึบ) สำหรับสารที่มีประจุสองตัวใน MEKC (a) ที่ [SDS] ต่าง ๆ (b) ที่ค่า  $k_1$  ต่าง ๆ สำหรับค่าที่ได้จากการทำนายคำนวณโดยใช้สมการที่ 5.7 และข้อมูลในตารางที่ 5.2

#### 5.4 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของ separation selectivity ใน MEKC สำหรับสารที่มีประจุสองตัวในภาวะที่ความเข้มข้นของ SDS และค่า  $k$  ต่าง ๆ สามารถอธิบายและทำนายโดยใช้สมการและแบบจำลองทางทฤษฎีของ separation selectivity ใน MEKC ที่สัมพันธ์กับตัวแปรที่ไม่มีหน่วยของ mobility selectivity ใน CZE และ retention selectivity ใน MEKC เมื่อเปรียบเทียบกับ CZE พบว่า MEKC สามารถเพิ่มหรือลด separation selectivity ของสารที่มีประจุสองตัวได้ขึ้นอยู่กับแต่ละแบบจำลองทางทฤษฎี นอกจากนี้พบว่า separation selectivity ที่ได้จากการทดลองมีความสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการทำนายโดยใช้แบบจำลองทางทฤษฎีของ MEKC ในภาวะที่ความเข้มข้นของ SDS และค่า  $k$  ต่าง ๆ

#### เอกสารอ้างอิง

- Terabe, S., Matsubara, N., Ishihama, Y., Okada, Y. "Microemulsion Electrokinetic Chromatography: Comparison with Micellar Electrokinetic Chromatography" *J. Chromatography*. **608** (1992) 23-29.
- Altria, K. D., Clark, B. J., Mahuzier, P. E. "The Effect of Operating Variables in Microemulsion Electrokinetic Capillary Chromatography" *Chromatographia* **52** (2000) 758-768.
- Pappas, T. J., Gayton-Ely, M., Holland, L. A. "Recent Advances in Micellar Electrokinetic Chromatography" *Electrophoresis* **26** (2005) 719-734.
- Iadarola, P., Ferrari, F., Fumagalli, M., Viglio, S. "Determination of Amino Acids by Micellar EKC: Recent Advances in Method Development and Novel Applications to Different matrices" *Electrophoresis* **29** (2008) 224-236.
- Terabe, S., Otsuka, K., Ando, T. "Electrokinetic Chromatography with Micellar Solution and Open-Tubular Capillary" *Analytical Chemistry*. **57** (1985) 834-841.
- Quirino, J. P., Terabe, S. "Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **856** (1999) 465-482.
- Molina, M., Silva, M. "Micellar Electrokinetic Chromatography: Current Developments and Future" *Electrophoresis* **23** (2002) 3907-3921.
- Welsch, T., Michalke, D. "(Micellar) Electrokinetic Chromatography: an Interesting Solution for the Liquid Phase Separation Dilemma" *Journal of Chromatography A* **1000** (2003) 935-951.
- Terabe, S. "Capillary Separation: Micellar Electrokinetic Chromatography" *Annual Reviews of Analytical Chemistry* **2** (2009) 99-120.
- Riekkola, M. -L., Wiedmer, S. K., Valkó, I. E., Sirén, H. "Selectivity in Capillary Electrophoresis in the Presence of Micelles, Chiral Selectors and Non-Aqueous Media" *Journal of Chromatography A* **792** (1997) 13-35.
- Ehala, S., Vaher, M., Kaljurand, M. "Separation of Aromatic Hydrophobic Sulfonates by Micellar Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **1161** (2007) 322-326.
- Gong, S., Liu, F., Li, W., Gao, F., Gao, C., Liao, Y., Liu, H. "Separation of Hydrophobic Solutes by Organic-Solvent-Based Micellar Electrokinetic

- Chromatography Using Cation Surfactants" *Journal of Chromatography A* **1121** (2006) 274-279.
- Dubber, M. J., Kanfer, I. "Application of Reverse-Flow Micellar Electrokinetic Chromatography for the Simultaneous Determination of Flavonols and Terpene Trilactones in Ginkgo Biloba Dosage Forms" *Journal of Chromatography A* **1122** (2006) 266-274.
- Mallampati, S., Leonard, S., De Vulder, S., Hoogmartens, J., Van Schepdael, A. "Method Development and Validation for the Analysis of Didanosine Using Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography" *Electrophoresis* **26** (2005) 4079-4088.
- Česla, P., Blomberg, L., Hamberg, M., Jandera, P. "Characterization of Anacardic Acids by Micellar Electrokinetic Chromatography and Mass Spectrometry" *Journal of Chromatography A* **1115** (2006) 253-259.
- Damić, M., Nigović, B. "Fast Analysis of Statins in Pharmaceuticals by MEKC" *Chromatographia* **71** (2009) 233-240.
- Iadarola, P., Cetta, G., Luisetti, M., Annovazzi, L., Casado, B., Baraniuk, J., Zanone, C., Viglio, S. "Micellar Electrokinetic Chromatographic and Capillary Zone Electrophoretic Methods for Screening Urinary Biomarkers of Human Disorders: A Critical Review of the State-of-the-Art" *Electrophoresis* **26** (2005) 752-766.
- Téllez, A., Fuguet, E., Rosés, M. "Comparison of migration models for acidic solutes in micellar electrokinetic chromatography" *Journal of Chromatography A* **1139** (2007) 143-151.
- Giddings, J. C. "Generation of Variance, Theoretical Plates, Resolution, and Peak Capacity in Electrophoresis and Sedimentation" *Journal of Separation Science* **4** (1969) 181-189.
- Jorgenson, J. W., Lukacs, K. D. "Zone electrophoresis in open-tubular glass capillaries" *Analytical Chemistry* **53** (1981) 1298-1302.
- Nielsen, K. R., Foley, J. P., in: Camilleri, P. (Eds.) "Capillary Electrophoresis: Theory and Practice" CRC Press, Inc., Boca Raton 1993, pp. 117-161.
- Pyell, U. "Electrokinetic Chromatography: Theory, Instrumentation, and Application" John Wiley & Sons, West Sussex, 2006, pp. 4-10.
- Huang, H. -Y., Chiu, C. -W., Chen, Y. -C., Yeh, J. -M. "Comparison of microemulsion Electrokinetic Chromatography and Micellar Electrokinetic Chromatography as Methods for the Analysis of Ten Benzophenones" *Electrophoresis* **26** (2005) 895-902.
- Nhujak, T., Srisa-art, M., Kalampakorn, K., Tolieng, V., Petsom, A. "Determination of Gibberellic Acid in Fermentation Broth and Commercial Products by Micellar Electrokinetic Chromatography" *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 1884-1889.
- Huertas-Pérez, J. F., del Olmo Iruela, M., García-Campaña, A. M., González-Casado, A., Sánchez-Navarro, A. "Determination of the Herbicide Metribuzin and its Major Conversion Products in Soil by Micellar Electrokinetic Chromatography" *Journal of Chromatography A* **1102** (2006) 280-286.
- Huang, H. -Y., Lai, Y. -C., Chiu, C. -W., Yeh, J. -M. "Comparing Micellar Electrokinetic Chromatography and Microemulsion Electrokinetic Chromatography for the Analysis of Preservatives in Pharmaceutical and Cosmetic Products" *Journal of Chromatography A* **993** (2003) 153-164.
- Nhujak, T., Sastravaha, C., Palanuvej, C., Petsom, A. "Chiral Separation in Capillary Electrophoresis Using Dual Neutral Cyclodextrins: Theoretical Models of

- Electrophoretic Mobility Difference and Separation Selectivity" *Electrophoresis* **26** (2005) 3814-3823.
- Norinder, U., Lidén, P., Boström, H. "Discrimination Between Modes of Toxic Action of Phenols Using Rule Based Methods" *Molecular Diversity* **10** (2006) 207-212.
- Boyce, M., Spickett, E. "Separation and Quantification of Preservatives Using ion Pair HPLC and CZE: An Extended Investigation of Separation Mechanisms" *Journal of Chemistry Education*. **77** (2000) 740-742.
- Jerez, G., Kaufman, G., Prystai, M., Schenkeveld, S., Donkor, K. K. "Determination of Thermodynamic pKa Values of Benzimidazole and Benzimidazole Derivatives by Capillary Electrophoresis" *Journal of Separation Science* **32** (2009) 32, 1087-1095.
- Kenndler, E., in: Khaledi, M. G. (Eds.), "High Performance Capillary Electrophoresis: Theory, Techniques, and Applications" John Wiley & Sons, Inc., New York 1998, pp. 25-76.
- Téllez, A., Fuguet, E., Rosés, M. "Optimization of the Separation of Ionizable Compounds in Micellar Electrokinetic Chromatography by Simultaneous Change of pH and SDS Concentration" *Electrophoresis* **28** (2007) 3712-3721.
- 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** (2007) 767-778.
- Golden, R., Gandy, J., Vollmer, G. "A Review of the Endocrine Activity of Parabens and Implications for Potential Risks to Human Health" *Critical Reviews in Toxicology* **35** (2005) 435-458.
- Tavares, R. S., Martins F. C., Oliveira, P. J., Ramalho-Santos, J., Peixoto, F. P. "Parabens in Male Infertility-is There a Mitochondrial Connection?" *Reproductive Toxicology* **27** (2009) 1-7.