

บทที่ 7

การเปรียบเทียบค่าจำเพาะการแยกในเทคนิคอะทราอิเล็คโตรโฟรีซิสสำหรับสารกลุ่ม แอมโรแมติกแอซิดที่มีหมู่แทนที่เป็นคลอโรและเมทิล¹

7.1 คำนำ

ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว CE เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการแยกสารทั้งสารที่มีและไม่มีประจุ โดยเกิดการแยกสารได้เนื่องจากเกิดความแตกต่างของค่าความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้า (μ) ค่าจำเพาะการแยกสาร (α) เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อค่าการแยกของสาร สำหรับเทคนิค CZE ที่สารเกิดการแยกได้เนื่องจากความแตกต่างของอัตราส่วนของประจุต่อขนาดของสาร ทำให้เทคนิคนี้แยกสารกลุ่มที่มี μ ใกล้เคียงกันหรือ α มีค่าน้อยๆ ประมาณ 1 ได้ยาก จากรายงานที่ผ่านมา ได้มีวิธีการเพื่อปรับปรุงการแยกสารของเทคนิค CZE หลากหลายวิธี เช่น การปรับ pH ให้มีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของ pK_a ของสาร [Wren: 1991, Terebe *et al.*: 1988] ทำให้ความสามารถในการแตกตัวของสารเปลี่ยนไป ส่งผลต่อความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสาร อย่างไรก็ตาม วิธีการปรับเปลี่ยน pH ไม่ค่อยเหมาะสมกับทางปฏิบัติ เช่น การแยกสารหลายๆชนิดที่มี pK_a แตกต่างกันมากในคราวเดียวกัน หรืออาจปรับปรุงการแยกได้โดยเติมสารเติมแต่งลงไป เช่น ionic liquids [Yu *et al.*: 2005] และตัวทำละลายอินทรีย์ [Isemura *et al.*: 2009, Benz and Fritz: 1995, Farran *et al.*: 1999, Sarmini and Kenndler: 1997, Sarmini and Kenndler: 1998, Sarmini and Kenndler: 1999, Lee *et al.*: 1995, Fujiwara and Honda, 1987] ซึ่งสารเติมแต่งที่เติมลงไปมีผลต่อ μ ของสารและ EOF ทำให้ α เปลี่ยนไป นอกเหนือจากการแยกด้วย CZE แล้ว การเติมเฟสเทียมลงไปมีผลต่อ μ ของสารและ EOF เช่น ไมเซลล์ในเทคนิค MEKC (บทที่ 5) หรือ CD ในเทคนิค CD-EKC (บทที่ 6) ส่งผลให้ค่าจำเพาะการแยกสารเปลี่ยนไปได้

จากงานวิจัยที่ผ่านมา [Li and Lucy: 2001] มีรายงานว่า chlorobenzoate (C^-) และ methylbenzoate (M^-) มีค่าความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าสัมบูรณ์ (μ^0 , $10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$) ของแต่ละไอโซเมอร์ใกล้เคียงกัน ได้แก่ -3.16/-3.07, -3.22/-3.11 และ -3.17/-3.07 สำหรับ $2C^-/2M^-$, $3C^-/3M^-$ และ $4C^-/4M^-$ ตามลำดับ เมื่อคำนวณค่าจำเพาะการแยกสาร มีค่าดังนี้ 1.029, 1.035 และ 1.033 สำหรับไอโซเมอร์ของ 2-, 3- และ 4- C^-/M^- แสดงให้เห็นว่า R_f ของสารแต่ละคู่ย่อย

¹งานวิจัยนี้ได้นำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ APCE2010HongKong และเขียนเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารคังภาคผนวก 5

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาและเปรียบเทียบ α ในเทคนิค CE ทั้ง 3 ประเภท เพื่อให้สำหรับการแยกอนุพันธ์กรดเบนโซอิกที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่เมทิลและหมู่คลอโร เทคนิค CE ที่ใช้ได้แก่ 1) CZE ที่มีการปรับเปลี่ยนชนิดและปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ 2) MEKC ที่ปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ SDS และชนิดและปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ และ 3) CD-EKC ที่ปรับเปลี่ยนชนิดและปริมาณของ CD จากนั้นนำมาประยุกต์ใช้สำหรับแยกสารปราบวัชพืชที่มีฤทธิ์เป็นกรด โดยเน้นสารในกลุ่มกรดฟีนอกซีที่มีหมู่แทนที่บนวงเบนซีนแตกต่างกันเพียงหมู่เมทิลและหมู่คลอโร 1 ตำแหน่ง โดยเมื่อเปรียบเทียบกับ CZE แล้ว การเปลี่ยนค่าจำเพาะการแยกสารใน MEKC และ CD-EKC สามารถอธิบายได้โดยใช้แบบจำลองของ α ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 5 และ 6

7.2 การทดลอง

7.2.1 สารเคมี

(2-, 3- และ 4-) methylbenzoic acid; (2-, 3- และ 4-) chlorobenzoic acid; (2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- และ 3,5-) dimethylbenzoic acid (DM^-); (2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- และ 3,5-) dichlorobenzoic acid (DC^-); 4-Chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA), 4-(2-methyl-4-chlorophenoxy) butyric acid (MCPB), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 4-(2,4-dichlorophenoxy) butyric acid (2,4-DB), (2,4,5-trichlorophenoxy) acetic acid (2,4,5-T), acifluorfen, clopyralid, 2-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid (dicamba), mecoprop (MCP), และ picloram; disodium tetraborate decahydrate, sodium hydroxide, α -cyclodextrin (α -CD), β -cyclodextrin (β -CD), dimethyl- β -cyclodextrin (DM - β -CD), methanol (MeOH), acetonitrile (ACN), sodium dodecyl sulfate (SDS), mesityl oxide, thiourea และ 1-phenyldodecane (DB)

7.2.2 การเตรียมบัฟเฟอร์และสารทดสอบ

1) บัฟเฟอร์

- บัฟเฟอร์สำหรับเทคนิค capillary zone electrophoresis (CZE) เตรียมโดยเปิดสารละลาย 100 mM โซเดียมเตตระโบเรต และตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาตรตามต้องการและเจือจางด้วยน้ำ

- บัฟเฟอร์สำหรับเทคนิค micellar electrokinetic chromatography (MEKC) เตรียมได้โดยเปิดสารละลาย 500 mM โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 100 mM โซเดียมเตตระโบเรต และตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาตรตามต้องการ และปรับปริมาตรด้วยน้ำ

- บัฟเฟอร์สำหรับเทคนิค cyclodextrin electrokinetic chromatography (CD-EKC) เตรียมโดยชั่ง α -CD, β -CD หรือ DM - β -CD และละลายให้สารละลายสุดท้ายประกอบด้วย 10 mM โซเดียมเตตระโบเรต

2) สารทดสอบ

- สำหรับเทคนิค CZE และ CD-EKC ปิเปตสารละลายมาตรฐานปริมาณตามต้องการและนำไปเจือจางด้วยสารละลาย 1 mM โซเดียมเตตระบอเรต

- สำหรับเทคนิค MEKC ปิเปตสารละลายมาตรฐานปริมาณตามต้องการและนำไปเจือจางด้วยสารละลาย 20 mM SDS

ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย CE นำสารละลายบัฟเฟอร์และสารทดสอบมา sonicate 5 นาที เพื่อกำจัดแก๊สที่ละลายอยู่ในสารละลาย และกรองด้วย 0.45 μm nylon syringe filter

7.2.3 ภาวะของ CE

เครื่อง CE ยี่ห้อ Beckman รุ่น P/ACE™ MDQ capillary electrophoresis system และเคพิลลารีเป็น uncoated fused silica capillary column 50 μm ความยาว 40.2 cm (30 cm ถึง detector) ทำการบรรจุสารด้วยความดัน 0.5 psi เป็นเวลา 3 วินาที โดยใช้ความต่างศักย์ 15 kV, ควบคุมอุณหภูมิด้วยระบบหล่อเย็นที่ 25 °C และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 214 nm

ก่อนทำการวิเคราะห์ในแต่ละวัน ล้างคอลัมน์ด้วย 0.1 M NaOH และบัฟเฟอร์ อย่างละ 10 นาที ระหว่างการวิเคราะห์แต่ละรัน ล้างคอลัมน์ด้วย 0.1 M NaOH และ บัฟเฟอร์อย่างละ 3 นาที และหลังการทดลองในแต่ละวัน ล้างคอลัมน์ด้วย 0.1 M NaOH และน้ำ อย่างละ 10 นาที

7.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

7.3.1 Capillary zone electrophoresis (CZE) สำหรับ C^-/M^- และ DC^-/DM^- แต่ละคู่

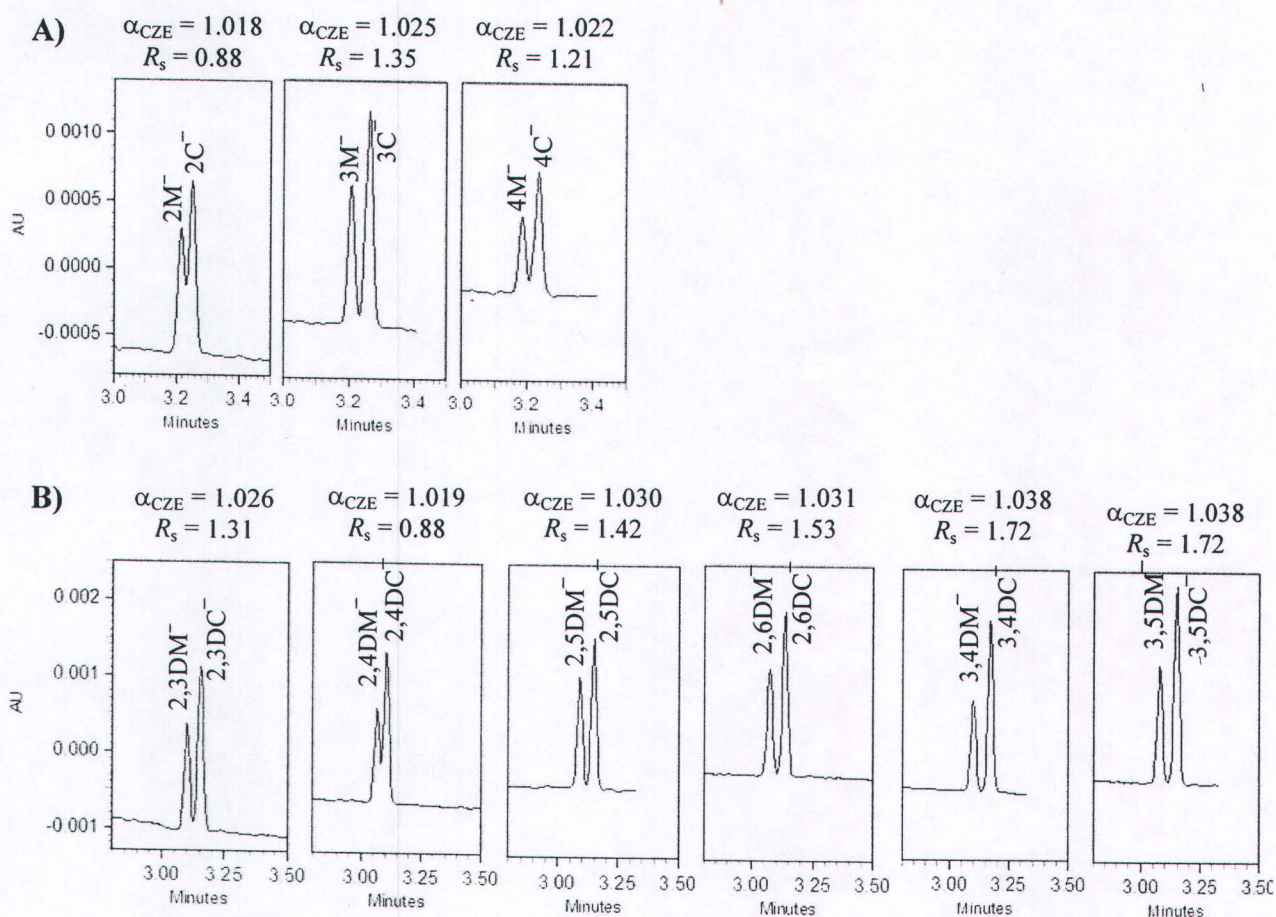
CZE เป็นเทคนิคการแยกสารที่เหมาะสมสำหรับสารที่มีประจุ โดยกลไกการแยกสารอาศัยความแตกต่างของค่าความสามารถในการเคลื่อนที่ทางไฟฟ้าของสาร (electrophoretic mobility, μ) ซึ่งขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของประจุต่อขนาดของสาร รูปที่ 7.1A แสดงอิเล็กโตรฟีโกราแกรมของการแยกคู่ C^- และ M^- ในแต่ละ positional isomer ในเทคนิค CZE ที่ BGE ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 และไม่มีการเติมตัวทำละลายอินทรีย์ใดๆ ที่ภาวะดังกล่าวสารแต่ละตัวซึ่งมี $\text{pK}_a < 4.5$ แยกตัวเป็นประจุลบได้สมบูรณ์ ดังนั้นสารเคลื่อนที่ไปในทิศทางตรงข้ามกับ EOF แต่ EOF มีค่า μ มากกว่า สารจึงเคลื่อนที่ออกมาทีหลัง EOF marker โดยมีลำดับการออกของสารหรือลำดับของ $|\mu|$ เป็น $\text{C}^- > \text{M}^-$ จากรูปสังเกตได้ว่า พิกของ C^- และ M^- เคลื่อนที่ออกมาใกล้ๆ กัน และค่า μ ของสารที่คำนวณ ($10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$) แสดงดังตารางที่ 7.1 และมี %RSD < 1.0 จากรูปที่ 7.1A พิกของ C^- และ M^- ในแต่ละ positional isomer แยกออกจากกันไม่สมบูรณ์ และเมื่อพิจารณารูปที่ 7.1B แสดงการแยกของ disubstituted benzoates (DC^-/DM^-) ในแต่ละ positional isomer ด้วย CZE พบว่าลำดับของ $|\mu|$ เป็น $\text{DC}^- > \text{DM}^-$ เหมือนกับลำดับของ $|\mu|$ ใน monosubstituted benzoates ที่ $\text{C}^- > \text{M}^-$ และการแยกของคู่ DC^- และ DM^- สำหรับ 2,6-, 3,4- และ 3,5-ไอโซเมอร์สามารถแยกออกจากกันได้

สมบรูณ์ ($R_s = 1.53$ ถึง 1.72) ในขณะที่ 2,3-, 2,4- และ 2,5-ไอโซเมอร์ไม่สามารถแยกได้สมบรูณ์ ($R_s = 0.88$ ถึง 1.42)

จากรูปที่ 7.1 สามารถคำนวณค่าจำเพาะการแยกของสารใน CZE (α_{CZE}) สำหรับการแยกของ C^- และ M^- ได้ดังนี้ 1.018, 1.025 และ 1.023 สำหรับ 2-, 3- และ 4-ไอโซเมอร์ ตามลำดับ ค่าที่ทดลองได้มีแนวโน้มเหมือนกัน แต่มีค่าน้อยกว่าเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่คำนวณโดยใช้ μ^0 ดังแสดงในหัวข้อ 7.1 และ สำหรับ DC^- และ DM^- ได้ค่า α_{CZE} อยู่ในช่วง 1.019-1.038 เห็นได้ว่าค่า separation selectivity (α) (เป็นอัตราส่วนของค่า μ) ใกล้ 1 มาก แสดงว่ามีความแตกต่างของ μ น้อย หรือมีการแยกน้อยนั่นเอง

จากนั้นได้ศึกษาผลของตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีต่อค่า α_{CZE} โดยเติมตัวทำละลายอินทรีย์ MeOH หรือ ACN ในช่วง 10-20 % โดยปริมาตรลงใน 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ พบว่าเมื่อเติมตัวทำละลายอินทรีย์มากขึ้น ลำดับการออกของสารยังคงเหมือนเดิม แต่เวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่เพิ่มขึ้น เนื่องจาก ความหนืดของ BGE เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเติมตัวทำละลายอินทรีย์ยังส่งผลต่อ μ_∞ และ μ ของสารด้วย รูปที่ 7.2 แสดงตัวอย่างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง α_{CZE} และ R_s ของ C^- และ M^- ที่ความเข้มข้นของ MeOH ต่างๆ กัน จากรูปที่ 7.2A1 เมื่อเติม MeOH เพิ่มขึ้น ค่า α_{CZE} ลดลงเล็กน้อย แต่ค่า R_s เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจาก mobility term และ $\bar{N}$ มีค่ามากขึ้น ดังสมการที่ 7.1 และเมื่อใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็น ACN (ไม่ได้แสดงกราฟ) ผลที่ได้เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับ MeOH

จากผลการทดลองที่ได้ การแยกของอนุพันธ์ benzoic acid ที่มีหมู่แทนที่เป็น methyl หรือ คลอโร ซึ่งมีค่า μ ใกล้เคียงกันมาก แยกออกจากกันได้ยาก มีค่า α_{CZE} ใกล้ 1 และถ้าต้องการปรับปรุงการแยกด้วยการปรับเปลี่ยนค่า α ทำได้ยาก เนื่องจากถึงแม้เติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไป α_{CZE} ก็เปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นจึงได้ศึกษาแยกสารเหล่านี้ด้วยเทคนิค CE แบบอื่นๆ เช่น MEKC และ CD-EKC ซึ่งเทคนิคเหล่านี้การเติม micelle หรือ CD ลงไปทำให้สารจะมีค่า μ ที่แตกต่างกัน เนื่องจากเกิดความแตกต่างของการเกิดอันตรกิริยากับ micelle หรือ CD นอกเหนือจากการแยกด้วยความแตกต่างของค่า μ ของสารเอง ส่งผลให้ค่า α เพิ่มขึ้น การแยกจะดีขึ้น



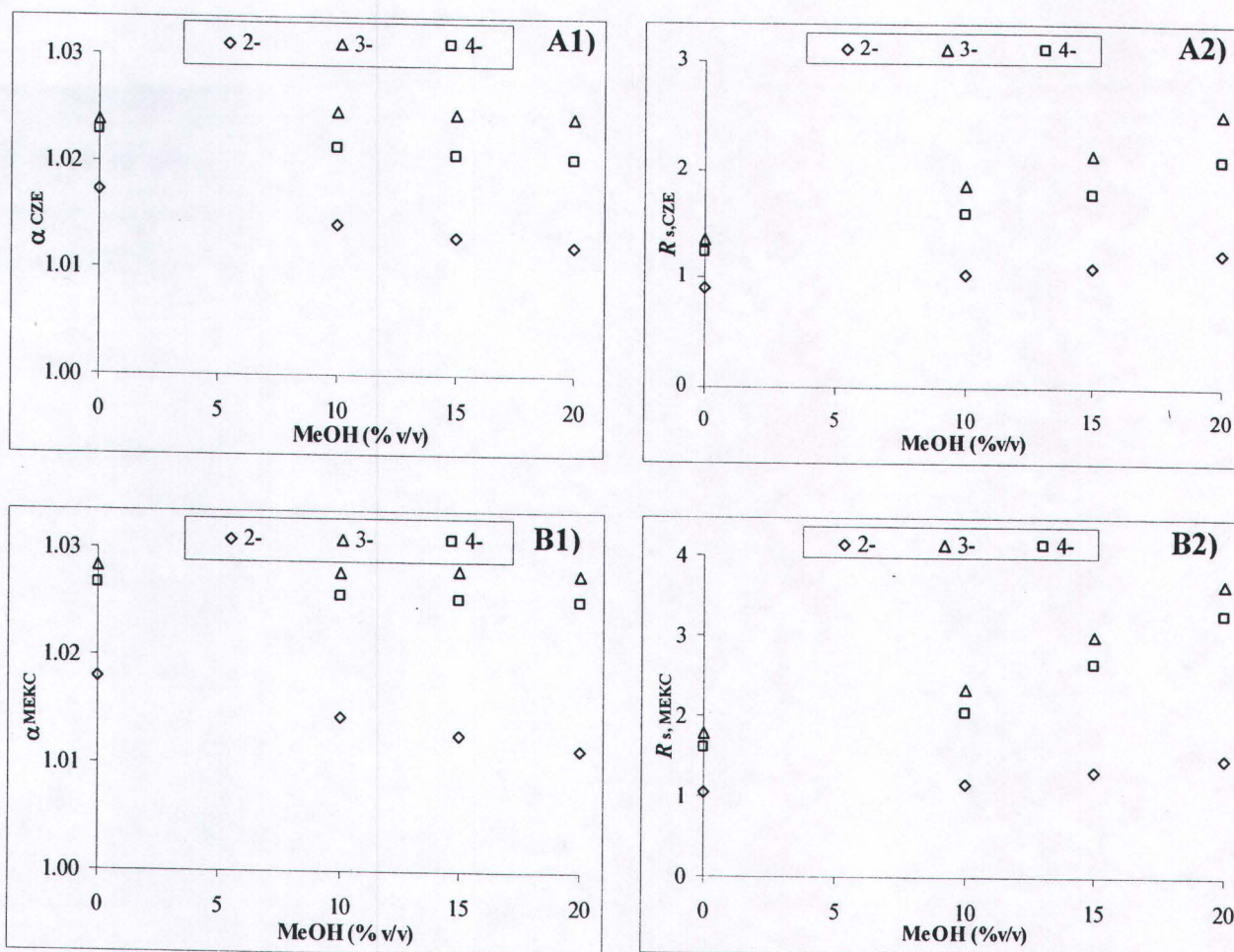
รูปที่ 7.1 อิเล็กโทรโฟโกราฟีของอนุพันธ์ benzoic acid ที่มีหมู่แทนที่เป็นคลอโรหรือเมทิล ในแต่ละไอโซเมอร์ ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค CZE ที่มี BGE ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 และไม่มีการเติมตัวทำลายอินทรีย์ ส่วนภาวะอื่นๆ ดังหัวข้อที่ 7.2.3

ตารางที่ 7.1 Mobilities (μ), mobility selectivities (α_{CZE} หรือ α_{MEKC}) และ retention selectivities (α_k) สำหรับ C^- , M^- , DC^- และ DM^- ใน CZE และ MEKC ที่ไม่มีการเติมตัวทำละลายอินทรีย์

Analytes		CZE ^a		MEKC ^b		
		μ_{eff} ($10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	α_{CZE}	μ_{eff} ($10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	$\alpha_{m, MEKC}$	α_k
2-	C^-, M^-	-2.83, -2.78	1.02	-2.63, -2.59	1.02	1.03
3-	C^-, M^-	-2.86, -2.79	1.03	-2.66, -2.59	1.03	1.06
4-	C^-, M^-	-2.82, -2.76	1.02	-2.63, -2.56	1.03	1.05
2,3-	DC^-, DM^-	-2.74, -2.67	1.03	-2.47, -2.40	1.03	1.05
2,4-	DC^-, DM^-	-2.67, -2.62	1.02	-2.41, -2.36	1.02	1.04
2,5-	DC^-, DM^-	-2.73, -2.65	1.03	-2.48, -2.40	1.03	1.05
2,6-	DC^-, DM^-	-2.70, -2.62	1.03	-2.45, -2.37	1.04	1.06
3,4-	DC^-, DM^-	-2.75, -2.65	1.04	-2.52, -2.41	1.05	1.10
3,5-	DC^-, DM^-	-2.72, -2.62	1.04	-2.47, -2.39	1.04	1.10

^a BGE ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2

^b BGE ประกอบด้วย 40 mM SDS และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2



รูปที่ 7.2 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ MeOH ต่อ α และ R_s ของ C^- และ M^- ใน CZE (A1, B1) และ MEKC (A2, B2): (A1) mobility selectivity in CZE (α_{CZE}), (B1) resolution in CZE ($R_{s,CZE}$), (A2) mobility selectivity in MEKC (α_{MEKC}) and (B2) resolution in MEKC ($R_{s,MEKC}$) โดย BGE ใน CZE ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 และ MEKC ประกอบด้วย 40 mM SDS และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 ส่วนภาวะอื่นๆ ดังหัวข้อที่ 7.2.3

7.3.2 MEKC สำหรับ C^-/M^- และ DC^-/DM^- แต่ละคู่

การแยกสารทดสอบในเทคนิค MEKC ใช้ BGE ประกอบด้วย 40 mM SDS และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ที่ pH 9.2 และไม่มีการเติมตัวทำละลายอินทรีย์ ทั้งไมเซลล์ที่มีประจุลบและสารทดสอบที่มีประจุลบเคลื่อนที่ไปทางด้านขั้วลบในภาวะที่มี EOF จากตารางที่ 7.1 เห็นได้ว่าลำดับการออกของสารใน MEKC เหมือนกับ CZE คือ มีลำดับของ $|\mu|$ เป็น $C^- > M^-$ และ $DC^- > DM^-$ กลไกการแยกสารในเทคนิค MEKC ขึ้นกับความแตกต่างของการ partitioning ของสารระหว่าง micelle กับ aqueous phase และความแตกต่างของ μ ของสารที่มีประจุ

จากงานวิจัยในบทที่ 5 ได้สร้างแบบจำลองของค่าจำเพาะการแยกสำหรับสารที่มีประจุใน MEKC (α_{MEKC}) เพื่อใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่าจำเพาะการแยกและลำดับการออกของสาร

เปรียบเทียบกับใน CZE โดยสมการที่ใช้สำหรับสร้างแบบจำลองของ α_{MEKC} ได้จัดรูปแบบสมการให้มีความสัมพันธ์กับ α_k (อัตราส่วนของค่ารีเทนชันใน MEKC) และ α_{CZE} ดังสมการที่ 5.xx

ตารางที่ 7.1 แสดงค่า μ ใน CZE และ MEKC, α_{MEKC} , α_{CZE} และ α_k (อัตราส่วนของค่ารีเทนชันใน MEKC) สำหรับสาร C^- , M^- , DC^- และ DM^- เมื่อเปรียบเทียบการแยกสารใน MEKC กับ CZE เห็นได้ว่าค่า α_{MEKC} มีค่าสูงกว่า α_{CZE} เพียงเล็กน้อยเท่านั้น เนื่องจากสารมี α_k น้อยทำให้อัตราส่วนของ $\alpha_k / \alpha_{\text{CZE}}$ มีค่าน้อย อยู่ในช่วง 1.013 ถึง 1.063 (สมการที่ 7.2) หรือกล่าวอย่างง่ายว่าสารที่ทำการวิเคราะห์ซึ่งมีประจุลบ partitioning เข้าไปใน micelles ได้พอๆ กันทำให้ไม่ค่อยเกิดความแตกต่างของค่า μ และจากแบบจำลองของ α_{MEKC} ที่ได้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ ค่า α_{MEKC} ของคู่สาร C^-/M^- และ DC^-/DM^- มีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ SDS ซึ่งสอดคล้องกับแบบจำลองประเภทที่ 1 ที่ $\alpha_{\text{CZE}} \geq 1.0$ and $\alpha_k > \alpha_{\text{CZE}}$ โดยที่อัตราส่วนของ $\alpha_k / \alpha_{\text{CZE}}$ มีค่าน้อยเมื่อเปรียบเทียบการแยกกับ CZE การแยกของคู่ C^-/M^- และ DC^-/DM^- ใน MEKC ดีขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจาก α_{MEKC} สูงกว่า α_{CZE} เพียงเล็กน้อย และเทอมของ mobility ใน MEKC มีค่ามากกว่าในขณะที่ N พอๆ กัน การแยกของคู่ C^-/M^- และ DC^-/DM^- ด้วย MEKC ส่วนใหญ่ให้การแยกที่สมบูรณ์ โดย C^-/M^- มี R_s ในช่วง 1.59 ถึง 1.77 และ DC^-/DM^- มี R_s ในช่วง 1.73 ถึง 2.67 ยกเว้น $2\text{C}^-/2\text{M}^-$ ($R_s = 1.09$) และ $2,4\text{DC}^-/2,4\text{DM}^-$ ($R_s = 1.25$).

นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของ SDS (ช่วง 20-80 mM) ต่อ α_{MEKC} พบว่าค่า α_{MEKC} ของคู่สาร C^-/M^- และ DC^-/DM^- ไม่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ SDS รูปที่ 7.2B1 และ 7.2B2 แสดงผลของ MeOH ต่อ α_{MEKC} และ R_s ตามลำดับ สำหรับการแยก C^- และ M^- จากรูปที่ 7.2B พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์ส่งผลให้ α_{MEKC} ลดลงเล็กน้อย (รูปที่ 7.2B1) แต่ค่าการแยกสารกลับดีขึ้น (รูปที่ 7.2B2) ซึ่งแนวโน้มดังกล่าวเหมือนกับผลของการเติมตัวทำละลายอินทรีย์ใน CZE ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 7.3.1

7.3.3 CD-EKC สำหรับ C^-/M^- และ DC^-/DM^- แต่ละคู่

ได้ศึกษาการแยกสารใน 10 mM บอเรนบัฟเฟอร์ pH 9.2 ที่เติม CD ได้แก่ α -CD (2 ถึง 60 mM), β -CD (2 ถึง 16 mM) และ $\text{DM-}\beta$ -CD (2 ถึง 50 mM) โดยที่ β -CD 16 mM เป็นความเข้มข้นที่มากที่สุดที่ β -CD ละลายน้ำได้, α -CD 60 mM เพียงพอสำหรับแยกคู่สาร C^-/M^- และ DC^-/DM^- แล้ว มี $R_s > 2.4$ ยกเว้น $2,6\text{DC}^-/2,6\text{DM}^-$ เช่นเดียวกับ $\text{DM-}\beta$ -CD 50 mM ก็เพียงพอสำหรับแยกคู่สาร C^-/M^- และ DC^-/DM^- แล้ว มี $R_s > 4.5$ ยกเว้น $2\text{C}^-/2\text{M}^-$ และ $2,6\text{DC}^-/2,6\text{DM}^-$

จากงานวิจัยในบทที่ 6 ได้สร้างแบบจำลองของค่าจำเพาะการแยกสำหรับสารที่มีประจุใน CD-EKC (α_{CD}) เพื่อใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของค่าจำเพาะการแยกและลำดับการออกของสารเปรียบเทียบกับใน CZE โดยสมการที่ใช้สำหรับสร้างแบบจำลองของ α_{CD} ได้จัดรูปแบบสมการให้มี



ความสัมพันธ์กับ κ (อัตราส่วนของ binding constant, K ของสารกับ CD) และ α_{CZE} ดังสมการที่ 6.2

ตารางที่ 7.2 แสดงค่า K , κ และ α_{CD} ที่มากที่สุดที่ความเข้มข้น CD ใดๆ ของคู่สาร C^-/M^- และ DC^-/DM^- พบว่า K ของ C^- และ DC^- มีค่ามากกว่า M^- และ DM^- แสดงให้เห็นว่า C^- เกิด complex กับ CD ได้ดีกว่า M^- เช่นเดียวกับ DC^- ที่ดีกว่า DM^- ที่เป็นเช่นนั้นเนื่องจากอนุพันธ์เบนซีนที่มีหมู่แทนที่เป็นคลอโรมีความไฮโดรโฟบิกมากกว่าหมู่เมทิลทำให้ C^- และ DC^- เกิด complex กับ CD ได้ดี นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลจากความกะกะของหมู่เมทิลที่มากกว่าหมู่คลอโร ส่งผลให้ M^- และ DM^- เกิด complex กับ CD ได้น้อยลง และเมื่อเปรียบเทียบคู่ C^-/M^- และ DC^-/DM^- ของไอโซเมอร์อื่นๆ คู่ของ $2C^-/2M^-$ และ $2,6DC^-/2,6DM^-$ เกิด complex กับ CD ได้น้อยมาก อาจเป็นไปได้ว่าเป็นผลของความกะกะของหมู่แทนที่ที่อยู่ติดกับหมู่คาร์บอนซีเลต

ปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเกิด inclusion complex ระหว่างสารกับ CD คือ ความเหมาะสมของขนาดโพรงของ CD กับขนาดของโมเลกุลของสาร เมื่อเปรียบเทียบ α -CD กับ β -CD ซึ่งขนาดโพรงของ β -CD มีขนาดใหญ่กว่า พบว่า K ใน α -CD มากกว่า β -CD สำหรับ C^- และ DC^- ยกเว้น $2C^-$, $2,3DC^-$, $2,6DC^-$ และ $3,4DC^-$ ในขณะที่ K ใน β -CD มากกว่าสำหรับ M^- และ DM^- ยกเว้น $3,5DM^-$ และเมื่อเปรียบเทียบ β -CD และอนุพันธ์ของ β -CD พบว่า ค่า K ใน DM - β -CD มีค่าน้อยกว่า β -CD สำหรับทุกไอโซเมอร์ทั้งนี้เนื่องจากผลของความกะกะของหมู่เมทิลที่อยู่ด้านขอบบนของโพรง DM - β -CD และผลการทดลองที่ได้ส่วนใหญ่สังเกตเห็นว่า α -CD และ DM - β -CD ให้ κ มากกว่า β -CD แสดงว่า α -CD และ DM - β -CD เป็น CD ที่เหมาะสมสำหรับการแยก C^-/M^- และ DC^-/DM^- ที่ดีกว่า และค่า κ ที่ได้มีค่าอยู่ในช่วงกว้าง ตั้งแต่ 1.0 ถึง 21.2 แสดงให้เห็นว่าตำแหน่งของหมู่แทนที่บนวงเบนซีนมีผลต่อการเกิด complex ระหว่างสารกับ CD

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ CD ส่งผลให้ค่า α_{CD} เพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดจากนั้นค่อยๆ ลดลง ซึ่ง α_{CD} ที่ได้จากการทดลองที่มีค่าสูงที่สุดที่ความเข้มข้น CD ต่างๆ สำหรับการแยกแต่ละคู่สารของ C^-/M^- และ DC^-/DM^- แสดงดังตารางที่ 7.2 จากแบบจำลองของ α_{CD} ในบทที่ 6 เมื่อเปรียบเทียบกับ CZE การเพิ่มขึ้นของ α_{CD} สำหรับ C^-/M^- หรือ DC^-/DM^- แต่ละคู่จัดอยู่ในแบบจำลองแบบที่ III ($\kappa \geq 1 > \alpha_{CZE}$) ยกเว้นคู่ของ $2C^-/2M^-$ กับ α -CD ที่จัดอยู่ในแบบจำลองแบบที่ I ($\kappa > \alpha_{CZE} \geq 1$) เมื่อเปรียบเทียบกับ CZE การแยกสารใน CD-EKC ให้การแยกที่ดีกว่าสำหรับคู่ของ $2C^-/2M^-$ กับ α -CD ที่จัดอยู่ในแบบจำลองแบบที่ I และคู่ C^-/M^- หรือ DC^-/DM^- คู่อื่นๆ ที่จัดอยู่ในแบบจำลองแบบที่ III โดยที่แบบจำลองแบบที่ III สามารถปรับปรุงการแยกได้ที่มีความเข้มข้นของ CD มากๆ และ κ มีค่ามากกว่า α_{CZE} และสำหรับคู่ที่เหลืออีก 4 คู่ ได้แก่ $2C^-/2M^-$ กับ DM - β -CD และ $2,6DC^-/2,6DM^-$ กับ α -CD, β -CD หรือ DM - β -CD ให้การแยกสารใน CD-EKC แย่กว่าใน CZE เนื่องจากมีอัตราส่วนของ κ/α_{CZE} น้อย

จากผลการทดลองที่ได้ ส่วนใหญ่แล้ว CD-EKC ให้ค่าการแยกสำหรับ C^-/M^- และ DC^-/DM^- ที่ดีกว่า CZE และ MEKC ($\alpha_{CD} > \alpha_{MEKC} > \alpha_{CZE}$) เมื่อใช้ α -CD 2-60 mM, β -CD 2-16 mM และ DM- β -CD 2-50 mM สามารถแยกคู่ C^-/M^- และ DC^-/DM^- ได้สมบูรณ์ยกเว้น $2C^-/2M^-$ และ $2,6DC^-/2,6DM^-$ ใน β -CD หรือ DM- β -CD โดยมี R_s ของ C^-/M^- ในช่วง 1.51 ถึง 15.8 และ DC^-/DM^- ในช่วง 1.66 ถึง 28.5

ตารางที่ 7.2 Mobilities (μ), binding constants (K), binding selectivities (κ), mobility selectivities ที่มากที่สุด ($\alpha_{CD, max}$) สำหรับ C^-/M^- , DC^-/DM^- , $2,4\text{-DB}/MCPB$ และ $2,4\text{-D}/MCPA$ ใน CD-EKC

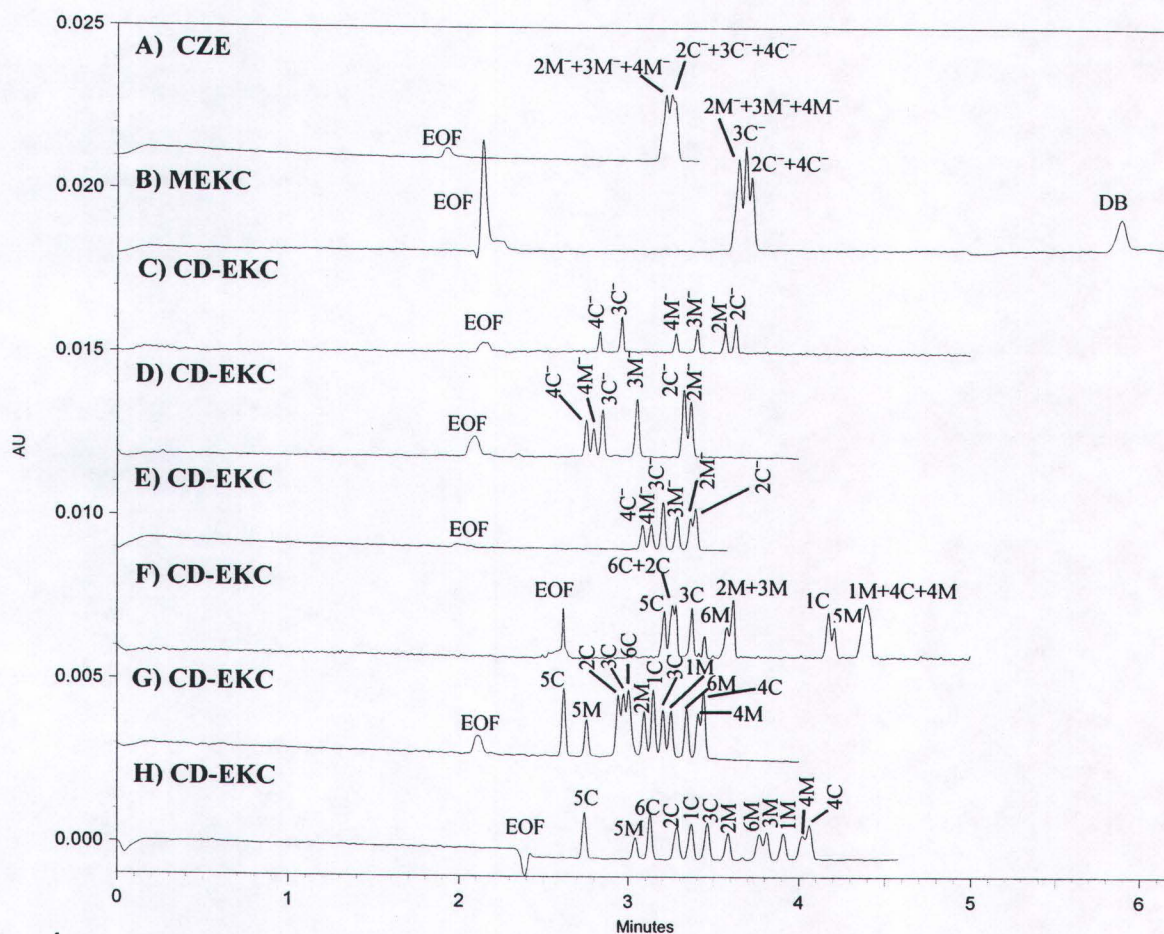
สาร	α -CD (0 ถึง 60 mM)			β -CD (0 ถึง 16 mM)			DM- β -CD (0 ถึง 50 mM)		
	K (M^{-1})	κ	$\alpha_{CD, max}$ ($[CD]^a$)	K (M^{-1})	κ	$\alpha_{CD, max}$ ($[CD]^a$)	K (M^{-1})	κ	$\alpha_{CD, max}$ ($[CD]^a$)
$2C^-/2M^-$	$2.7 \pm 0.5 / 2.9 \pm 0.5$	1.07	1.036 (60)	$6.5 \pm 0.5 / 4.8 \pm 0.3$	1.35	1.021 (16)	$< 1.0 / < 1.0$	~ 1.0	1.018 (0)
$3C^-/3M^-$	$80.7 \pm 2.0 / 22.3 \pm 0.6$	3.62	1.408 (50)	$70.8 \pm 0.4 / 29.7 \pm 0.2$	2.38	1.183 (16)	$30.7 \pm 0.8 / 8.4 \pm 0.2$	3.65	1.404 (50)
$4C^-/4M^-$	$129.0 \pm 3.0 / 27.5 \pm 0.6$	4.69	1.444 (30)	$104.7 \pm 0.6 / 84.8 \pm 0.3$	1.23	1.048 (14)	$45.4 \pm 1.1 / 29.5 \pm 0.5$	1.54	1.264 (40)
$2,3DC^-/2,3DM^-$	$3.5 \pm 0.9 / 2.0 \pm 0.8$	1.75	1.074 (60)	$52.9 \pm 0.5 / 45.0 \pm 0.9$	1.18	1.081 (16)	$15.2 \pm 0.4 / 8.2 \pm 0.5$	1.85	1.417 (50)
$2,4DC^-/2,4DM^-$	$204.5 \pm 3.8 / 35.1 \pm 0.8$	5.83	1.452 (20)	$79.7 \pm 0.8 / 50.0 \pm 0.6$	1.59	1.141 (16)	$22.7 \pm 0.5 / 15.7 \pm 0.5$	1.45	1.260 (50)
$2,5DC^-/2,5DM^-$	$97.3 \pm 2.9 / 37.2 \pm 1.1$	2.62	1.247 (30)	$80.5 \pm 0.6 / 43.3 \pm 0.7$	1.86	1.206 (16)	$21.0 \pm 0.6 / 2.2 \pm 0.3$	9.55	1.241 (50)
$2,6DC^-/2,6DM^-$	$1.2 \pm 0.2 / 1.1 \pm 0.4$	1.09	1.031 (0)	$4.5 \pm 0.5 / 4.3 \pm 0.7$	1.05	1.031 (0)	$< 1.0 / < 1.0$	~ 1.0	1.031 (0)
$3,4DC^-/3,4DM^-$	$14.5 \pm 2.8 / 2.1 \pm 0.5$	6.90	2.025 (60)	$404.1 \pm 3.1 / 167.6 \pm 1.2$	2.41	1.217 (6)	$203.6 \pm 3.5 / 68.5 \pm 1.2$	2.97	1.679 (50)
$3,5DC^-/3,5DM^-$	$191.9 \pm 5.8 / 38.8 \pm 1.3$	4.95	1.444 (20)	$66.5 \pm 0.1 / 6.2 \pm 1.4$	10.7	1.298 (16)	$40.3 \pm 0.9 / 1.9 \pm 0.3$	21.2	1.627 (50)
$2,4\text{-DB}/MCPB$	$381.5 \pm 12.0 / 235.9 \pm 4.9$	1.61	1.157 (6)	$434.8 \pm 9.8 / 460.4 \pm 7.1$	1.06	1.027 (10)	$211.8 \pm 4.2 / 275.4 \pm 6.6$	1.30	1.077 (6)
$2,4\text{-D}/MCPA$	$274.3 \pm 7.8 / 197.3 \pm 6.0$	1.39	1.072 (6)	$108.2 \pm 1.6 / 110.6 \pm 1.3$	1.02	1.037 (10)	$41.9 \pm 1.1 / 59.1 \pm 1.1$	1.41	1.178 (50)

^a ความเข้มข้นของ CD ที่ให้ค่า $\alpha_{CD, max}$ แสดงในวงเล็บ

7.3.4 การแยก C^-/M^- และ DC^-/DM^- ทุกไอโซเมอร์ในคราวเดียวกัน

รูปที่ 7.3 แสดงการแยก C^-/M^- และ DC^-/DM^- ทุกไอโซเมอร์ในคราวเดียวกันด้วย CZE, MEKC และ CD-EKC สำหรับการแยกสารใน CZE ด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ (รูปที่ 7.3A) พบว่า C^-/M^- ทั้ง 3 ไอโซเมอร์ขึ้นพิคทับกัน เนื่องจาก μ ที่ใกล้เคียงกันของสารแต่ละไอโซเมอร์ และเมื่อพิจารณาการแยกสารใน MEKC ด้วย 40 mM SDS (รูปที่ 7.3B) พบว่าการแยกของ C^-/M^- ทั้ง 3 ไอโซเมอร์ดีขึ้นเล็กน้อยทั้งนี้เนื่องจากผลของ α_k ที่มากกว่า α_{CZE} และเมื่อแยกสารด้วย CD-EKC (รูปที่ 7.3C-E) พบว่าลำดับการออกของ C^- และ M^- สลับกับใน CZE และ MEKC ดังที่แสดงในอิเล็กทรอนิกส์โทรฟีโรแกรมที่ใช้ α -CD 20 mM (รูปที่ 7.3C), β -CD 16 mM (รูปที่ 7.3D) และ DM- β -CD 5 mM (รูปที่ 7.3E) ยกเว้น $2C^-/2M^-$ ใน α -CD 20 mM และ DM- β -CD 5 mM ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากการเกิด binding ของ C^- กับ CD เกิดได้มากกว่า M^- กับ CD ส่งผลให้ $|\mu|$ ของสารและ complex ของสารกับ CD ลดลง เมื่อเปรียบเทียบการแยกสารใน CD-EKC กับ CZE และ MEKC พบว่า CD-EKC ให้การแยก C^-/M^- ทุกไอโซเมอร์พร้อมกันได้ดีกว่าเนื่องจาก α_{CD} มีค่ามากกว่า โดยเมื่อใช้ α -CD 15-60 mM ตัวอย่างเช่น α -CD 20 mM (รูปที่ 7.3C) สามารถแยก C^-/M^- ทุกไอโซเมอร์พร้อมกันได้สมบูรณ์

CD-EKC ให้การแยก DC^-/DM^- (รูปที่ 7.3F-H) ทุกไอโซเมอร์พร้อมกันได้ดีกว่า CZE และ MEKC เช่นเดียวกับ C^-/M^- โดยเมื่อใช้ DM- β -CD 40 mM (รูปที่ 7.3H) สามารถแยก DC^-/DM^- ทุกไอโซเมอร์พร้อมกันได้สมบูรณ์ยกเว้น $2,3DC^-/2,5DM^-$ และ $2,6DC^-/2,6DM^-$ โดยอาจปรับปรุงการแยก DC^-/DM^- ทุกไอโซเมอร์ในคราวเดียวกันได้ด้วยการเติมตัวทำลายอินทรีย์, เปลี่ยนชนิดและความเข้มข้นของ CD หรือใช้ CD พร้อมกัน

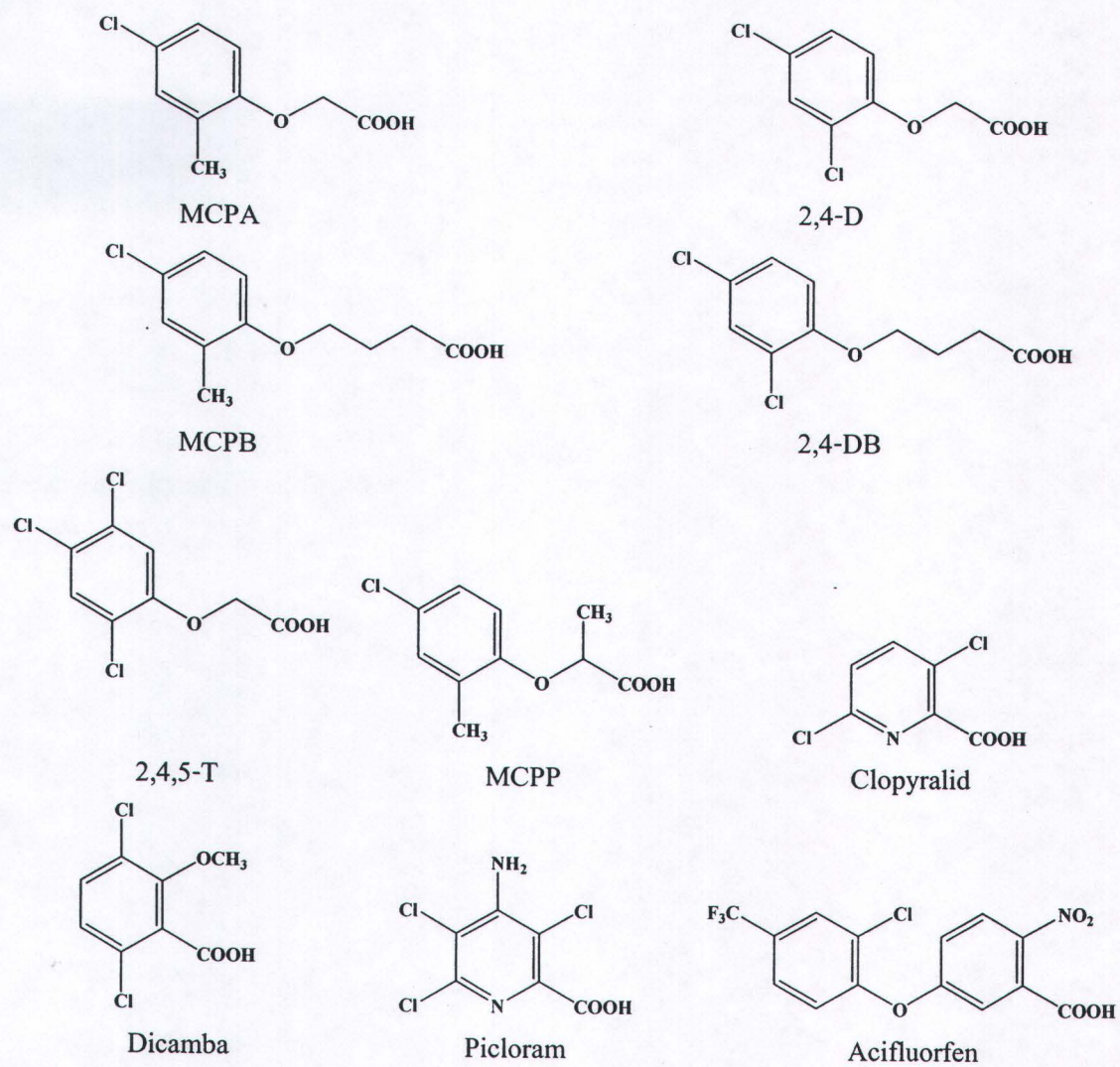


รูปที่ 7.3 การแยก C^- และ M^- ทุกไอโซเมอร์พร้อมกันด้วยเทคนิค CE แบบต่างๆ: (A) CZE ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, (B) MEKC ประกอบด้วย 40 mM SDS และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, (C) CD-EKC ประกอบด้วย 20 mM α -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, (D) CD-EKC ประกอบด้วย 16 mM β -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, และ (E) CD-EKC ประกอบด้วย 5 mM DM- β -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 สำหรับ C^-/M^- ; (F) CD-EKC ประกอบด้วย 60 mM α -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, (G) CD-EKC ประกอบด้วย 12 mM β -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, และ (H) CD-EKC ประกอบด้วย 40 mM DM- β -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 สำหรับ DC^-/DM^- [2,3DC $^-$ (1C), 2,4DC $^-$ (2C), 2,5DC $^-$ (3C), 2,6DC $^-$ (4C), 3,4DC $^-$ (5C), 3,5DC $^-$ (6C), 2,3DM $^-$ (1M), 2,4DM $^-$ (2M), 2,5DM $^-$ (3M), 2,6DM $^-$ (4M), 3,4DM $^-$ (5M), 3,5DM $^-$ (6M)] ภาวะอื่นๆ แสดงหัวข้อที่ 7.2.3

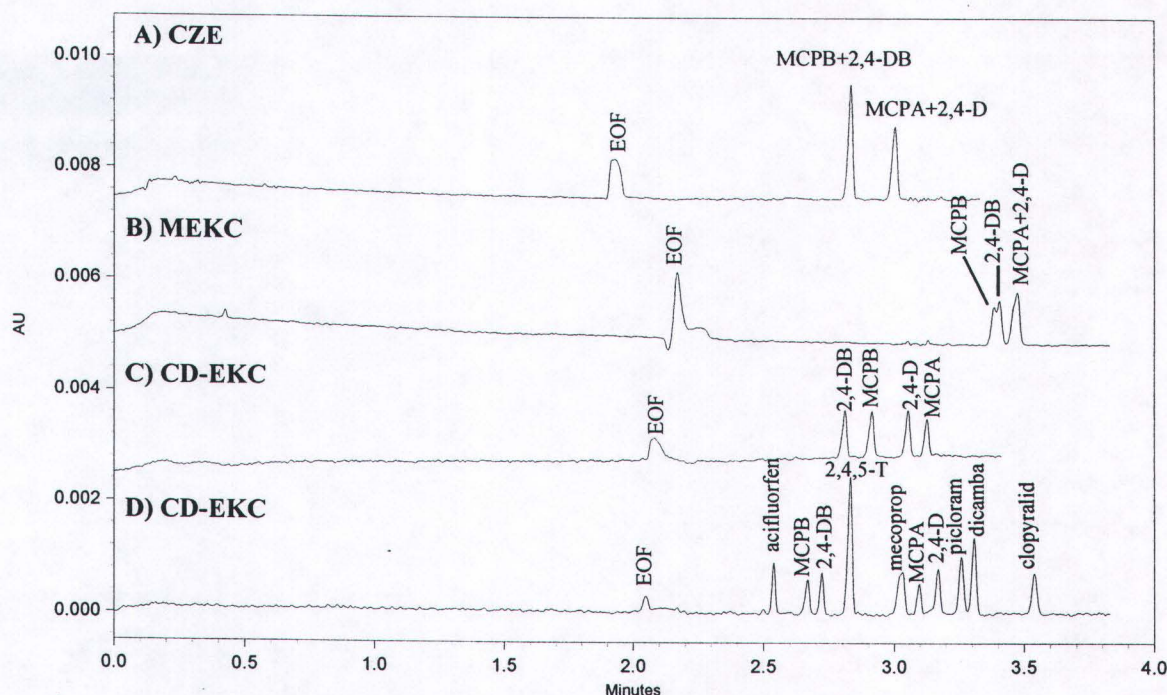
7.3.5 การประยุกต์สำหรับการแยก phenoxy acid herbicides

ได้ประยุกต์ใช้เทคนิค CE แบบต่างๆ สำหรับการแยกสารกลุ่ม phenoxy acid herbicides ซึ่งสูตรโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 7.4 จากสูตรโครงสร้างจะเห็นว่า โมเลกุลของ 2,4-DB และ MCPB แตกต่างกันเพียงตำแหน่งเดียวที่เป็นหมู่คลอโรกับหมู่เมทิลบนวงแอโรแมติก เช่นเดียวกับ 2,4-D และ MCPA ในตอนเริ่มต้นจึงสนใจศึกษาสารทั้งสองคู่นี้ก่อน

รูปที่ 7.5 แสดงการแยกสารกลุ่ม phenoxy acids ด้วยเทคนิค CE ต่างๆ ได้แก่ CZE, MEKC และ CD-EKC พบว่าพีคของ 2,4-DB/MCPB และ 2,4-D/MCPA ซ้อนทับกันเมื่อวิเคราะห์ด้วย CZE ใน BGE ที่ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ที่ pH 9.2 (รูปที่ 7.5A) เนื่องจากสารดังกล่าวมีค่า μ ใกล้เคียงกันมาก และการเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไปใน BGE ส่งผลต่อ α_{CZE} เพียงเล็กน้อย จากนั้นเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วย MEKC ที่ประกอบด้วย 40 mM SDS และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ที่ pH 9.2 (รูปที่ 7.5B) พบว่า พีคของสารยังคงซ้อนทับกันอยู่ เมื่อเติมตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งที่เป็น MeOH หรือ ACN จนถึง 20% v/v ลงในบัฟเฟอร์ของ CZE และ MEKC ก็ไม่สามารถแยกสารได้ สมบูรณ์ เมื่อแยกสารด้วยเทคนิค CD-EKC โดยใช้ CD ที่มีชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ได้ K , κ และ α_{CD} ที่มากที่สุดที่ความเข้มข้น CD ใดๆ ของ 2,4-DB/MCPB และ 2,4-D/MCPA ดังตารางที่ 7.2 เมื่อใช้ β -CD พบว่าไม่สามารถแยก 2,4-DB/MCPB และ 2,4-D/MCPA ออกจากกันได้ เนื่องจาก κ ของสารกับ β -CD มีค่าน้อย แต่เมื่อเปลี่ยนไปใช้ α -CD และ DM- β -CD ได้ κ ของสารกับ CD มากส่งผลให้ α_{CD} มาก รูปที่ 7.4 แสดงตัวอย่างของอิเล็กโตรฟีโรแกรมการแยก 2,4-DB/MCPB และ 2,4-D/MCPA ที่ใช้ α -CD 2 mM (รูปที่ 7.4C) หรือ DM- β -CD 3 mM (รูปที่ 7.4D) โดยสารแยกออกจากได้สมบูรณ์เมื่อใช้ α -CD 2 ถึง 30 mM สำหรับ 2,4-DB/MCPB และ 2 ถึง 15 mM สำหรับ 2,4-D/MCPA หรือ DM- β -CD 2 ถึง 8 mM สำหรับ 2,4-DB/MCPB และ 2 ถึง 50 mM สำหรับ 2,4-D/MCPA นอกจากนี้เมื่อใช้ BGE ประกอบด้วย 2 ถึง 8 mM DM- β -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ สำหรับการแยก 2,4-DB/MCPB และ 2,4-D/MCPA และ phenoxy acids อื่นๆ อีก 6 ชนิด พร้อมกัน พบว่าสามารถแยกพีคสารออกจากกันได้สมบูรณ์ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 7.5D



รูปที่ 7.4 สูตรโครงสร้างของสารกลุ่ม phenoxy acid herbicides



รูปที่ 7.5 การแยก phenoxy acid herbicides ด้วยเทคนิค CE แบบต่างๆ (A) CZE ประกอบด้วย 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, (B) MEKC ประกอบด้วย 40 mM SDS และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2, (C) CD-EKC ประกอบด้วย 2 mM α -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 (D) CD-EKC ประกอบด้วย 3 mM DM- β -CD และ 10 mM บอเรตบัฟเฟอร์ pH 9.2 ภาพอื่นๆ ดังหัวข้อที่ 7.2.3

7.4 สรุปผลการทดลอง

ได้ศึกษาค่าจำเพาะการแยกสารใน CE ทั้ง 3 ประเภท ได้แก่ CZE, MEKC และ CD-EKC สำหรับแยกสารที่มีค่า μ ใกล้เคียงกัน เช่น C^-/M^- และ DC^-/DM^- พบว่า α_{CZE} มีค่าน้อย ในขณะที่ α_{MEKC} มีค่าสูงกว่า α_{CZE} เล็กน้อย เนื่องจากมีความแตกต่างของ partitioning ของสารเข้าไปในไมเซลล์น้อยเมื่อเทียบกับ α_{CZE} และเมื่อเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไปไนบัฟเฟอร์ของ CZE และ MEKC พบว่า α_{CZE} และ α_{MEKC} ลดลงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับ CZE และ MEKC พบว่า CD-EKC ให้ α_{CD} มากกว่า α_{CZE} และ α_{MEKC} เนื่องจากความแตกต่างของ binding constant มีค่ามากเมื่อเทียบกับ α_{CZE} และเมื่อทำการแยก C^-/M^- หรือ DC^-/DM^- ทุกไอโซเมอร์พร้อมกัน CD-EKC ให้การแยกสารที่ดีที่สุดเช่นเดียวกันเมื่อเทียบกับอีก 2 เทคนิค นอกจากนี้ได้แยกสารในกลุ่มกรดฟีนอลิก พบว่า สารแยกออกจากกันได้ดีขึ้นเมื่อใช้ CD-EKC ที่เติม α -CD หรือ DM- β -CD ในขณะที่ไม่สามารถแยกได้ใน CZE และ MEKC ดังนั้น CD-EKC สามารถใช้เป็นทางเลือกที่ดีกว่าสำหรับการแยกสารที่มีหมู่แทนที่ที่แตกต่างกันเพียงหมู่คลอโรหรือหมู่เมทิล เมื่อเทียบกับ CZE และ MEKC

เอกสารอ้างอิง

- Benz, N. J., and Fritz, J. S., "Optimization of Separations of Alkyl-Substituted Phenolate Anions by Capillary Zone Electrophoresis" *Journal of High Resolution Chromatography* **18** (1995) 175-178.
- Farran, A., Serra, C., Sepaniak, M. J., "Three Different Approaches for the Separation of MCPA and 2,4-D by Capillary Electrophoresis" *Journal of Chromatography A* **835** (1999) 209-215.
- Fujiwara, S., and Honda, S., "Effect of Addition of Organic Solvent on the Separation of Positional Isomers in High-Voltage Capillary Zone Electrophoresis" *Analytical Chemistry* **59** (1987) 487-490.
- Wren, S. A. C., "Optimization of pH in the Electrophoretic Separation of 2-, 3- and 4-Methylpyridines" *Journal of Microcolumn Separations* **3** (1991) 147-154.
- Isemura, T., Kitagawa, F., and Otsuka, K., "Separation of Complex Mixtures of Fluorobenzoic Acids by Capillary Electrophoresis" *Journal of Separation Science* **32** (2009) 381-387.
- Lee, Y. J., Price, W. E., and Sheil, M. M., "Effect of Organic Solvents on the Separation of Benzoic Acids by Capillary Electrophoresis" *Analyst* **120** (1995)
- Li, D., and Lucy, C. A., "Prediction of Electrophoretic Mobilities. 4. Multiply Charged Aromatic Carboxylates in Capillary Zone Electrophoresis" *Analytical Chemistry* **73** (2001) 1324-1329.
- Sarmini, K., and Kenndler, E., "Capillary Zone Electrophoresis in Mixed Aqueous-Organic Media: Effect of Organic Solvents on Actual Ionic Mobilities, Acidity Constants and Separation Selectivity of Substituted Aromatic Acids. IV. Acetonitrile" *Journal of Chromatography* **833** (1999) 245-259.
- Sarmini, K., and Kenndler, E., "Capillary Zone Electrophoresis in Mixed Aqueous-Organic Media: Effect of Organic Solvents on Actual Ionic Mobilities, Acidity Constants and Separation Selectivity of Substituted Aromatic Acids. I. Methanol" *Journal of Chromatography* **806** (1998) 325-335.
- Sarmini, K., and Kenndler, E., "Influence of Organic Solvents on the Separation Selectivity in Capillary Electrophoresis" *Journal of Chromatography A* **792** (1997) 3-11.
- Terabe, S., Yashima, T., Tanaka, N., and Araki, M., "Separation of Oxygen Isotopic Benzoic Acids by Capillary Zone Electrophoresis Based on Isotope Effects on the Dissociation of the Carboxyl Group" *Analytical Chemistry* **60** (1988) 1673-1677.
- Yu, L., Qin, W., and Li, S. F. Y., "Ionic Liquids as Additives for Separation of Benzoic Acid and Chlorophenoxy Acid Herbicides by Capillary Electrophoresis" *Analytica Chimica Acta* **547** (2005) 165-171.