

모세관 전기영동법을 이용한 제제중의 수용성 비타민 분석

이종진* · 문동철* · 이공주#

한국표준과학연구원 분석화학실, *충북대학교 약학대학

(Received October 25, 1993)

Analysis of Water-soluble Vitamins in Pharmaceutical Products by Capillary Electrophoresis

Jong Jin Lee*, Dong Cheul Moon* and Kong-Joo Lee#

Chemical Analysis Laboratory, Korea Research Institute of Standards
and Science, P.O. Box 3, Daejonsi, 305-606, Korea

*College of Pharmacy, Chungbuk, National University, Cheongju, 303-763, Korea

Abstract—An analytical method using capillary electrophoresis (CE) was developed for quantitation of water soluble vitamin contents in various vitamin products. The method includes the optimization of separation of 11 water soluble vitamins changing the micellar concentration and pH of running buffer, applied voltage and sample preparation. Best resolution was obtained with 25 mM phosphate buffer (pH=8.0) containing 50 mM sodium dodecyl sulphate (SDS) as micellar phase. At optimum condition, water soluble vitamins were determined in orange juice and vitamin products such as vitamin C pulvis, vitamin injection, coated multivitamin tablet. The quantitative analysis of water soluble vitamins with CE was suitable for quality control of pharmaceutical products with sound reproducibility.

Keyword □ capillary electrophoresis, SDS, micelle, water soluble vitamins.

비타민은 동물의 영양에 필수적인 것으로 생체에서 생합성이 불가능하여 체외에서 섭취하여야 하는 미량유기 화합물이며, 결핍되면 특유의 결핍현상(deficiency symptom)을 일으킨다. 최근들어서는 비타민이 성장과 건강에 중요한 역할이 있음이 밝혀짐에 따라 식품이나 보조식품으로서의 비타민제제의 사용이 크게 증가하고 있다. 이에 따라 빠르고 믿을만한 복합 비타민제제의 동시분석의 필요성이 크게 대두되고 있다.

비타민 분석법의 경우 대부분 크로마토그래피법을 이용한다. 비타민 B군, 비타민 H(*p*-amino benzoic acid), niacinamide의 분석시에는 C₁₈ 컬럼을 이용한 역상의 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용^{1,2)}

하였으며, nicotinic acid와 그 대사체의 분석시에는 양이온 교환컬럼을 사용³⁾하였다. 비타민 분석에 사용되는 대부분의 HPLC 방법은 이온쌍방법^{4,5)}을 사용하며, 종종 기용기용리⁶⁻⁸⁾를 행한다. 또한 검출감도를 향상시키기 위하여 precolumn 또는 postcolumn 유도체화 반응^{9,10)}을 이용한다.

비타민은 대개\음식물중에서 섭취하게 되나 근래에는 약물로서 널리 쓰이게 되었다. 이들 비타민제제는 일반적으로 단독제제보다 2종 이상의 복합 비타민제제로 생산된다. 제약회사에서 생산되는 여러 종류의 비타민제제의 경우, 품질관리부(QC)에서 HPLC를 이용하여 일상적으로 제품의 정도관리를 하고 있다. HPLC를 사용하는 것은 분리의 장점이 있기는 하나 유기용매의 사용이 많고, 사용하는 컬럼이 고가이며, 복잡한 매질을 사용할 경우 쉽게 컬럼이 손

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

상되므로 수명이 짧아 유지비용이 많이 들고, 유기용매는 독성이 크므로 그 처리과정이 문제시 되고 있으며 더 좋은 분해능이 요구되고 있다. 그밖에 기올기용리와 컬럼세척, 시료주입 등 방법자체의 자동화가 어렵고, 가스 크로마토그래피법이나 모세관 전기영동법(capillary electrophoresis; CE)에 비해 분리능이 낮아서 복잡한 시료의 경우 완전한 분리가 어렵다.

1979년 Mikker 등¹¹⁾에 의해 모세관을 이용한 전기영동법이 선을 보였으며 Jorgenson과 Lukac 등이^{12, 13)} 검출시스템을 만들어 지름이 100 μm 이하의 모세관을 이용한 전기영동법을 개발하였다. CE는 전기영동의 문제점인 joule heating에 의해 생성되는 열을 표면적대 부피의 비가 큰 모세관벽을 통해 확산시킴으로써 문제점을 해결하였다. CE가 전하를 띤 물질만을 분리할 수 있다는 한계점을 Terabe 등¹⁴⁾은 이온성 계면활성제에 의해 생성되는 micelle을 사용함으로써 전하를 띠지 않는 중성분자를 소수성에 따라 분리해 내는 micellar electrokinetic capillary chromatography(MECC)를 개발해내어 CE가 유기물의 분석에 폭넓게 이용될 수 있도록 되었다. 현재 CE는 의약품¹⁵⁻¹⁷⁾, 환경시료¹⁸⁾ 및 단백질^{19,20)}, 펩타이드²¹⁾, 핵산²²⁾ 등과 같은 생화학 물질의 분리에 응용되어지고 있으며 그 응용범위가 크게 확대되리라 기대된다.

본 연구에서는 분리능이 매우 좋고, 자동화가 쉽고, 값싼 fused silica 모세관 컬럼을 사용하고, 분리하는 용액을 완충용액으로 사용하므로 값이 싸고 복잡한 매질도 쉽게 사용할 수 있는 CE를 HPLC대신 제품의 품질관리에 응용하고자 CE방법을 수용성 비타민제제의 분리에 응용하기 위한 기본연구가 행해졌다.

실험방법

시약 및 표준용액—수용성 비타민표준품, sodium dodecyl sulphate(SDS), ethyl *p*-aminobenzoate는 Sigma(St. Louis, MO)에서 구입하였으며, sodium phosphate monobasic, sodium phosphate dibasic은 덕산제약(경기도, 대한민국)에서 구입하여 사용하였다. 오렌지 쥬스, 비타민 C 산제, 비타민 주사제, 복합비타민코팅정은 시중에 시판되는 시료를 사용하였다.

표준용액 조제시 riboflavin, 내부표준물질(ethyl *p*-aminobenzoate)은 50% 메탄올에 녹였고, folic acid는 완충용액에 녹였으며, niacinamide, pyridoxine(PN), pyridoxal(PL), cyanocobalamin, pyridoxamine(PM) 5-phosphate, ascorbic acid, niacin, thiamine, pyridoxal 5-phosphate 는 2차증류수에 각각 1000 ppm이 되도록 녹여 압소에 냉동 보관하고, 전기영동시 2차증류수로 희석하여 사용하였다.

기기—CE는 Applied Biosystems model 270A capillary electrophoresis system(San Jose, CA)을 사용하였다. 모세관 전기영동시 670 mm \times 0.05 mm I.D. (검출기까지는 470 mm)인 모세관 컬럼(Polymicro Technologies, Phenex, AZ)을 사용하였다. CE에서 나온 신호는 D-520A integrator(영인과학, 서울, 대한민국)에서 받도록 연결 하였다.

분석조건—CE의 조작전에는 항상 모세관을 0.1 M-NaOH와 완충용액으로 기기내부에 내장되어 있는 진공시스템을 이용하여 508 mm Hg에서 3~5분간 씻어 주었다. 완충용액이 채워져 있는 모세관으로의 시료주입은 동일 진공시스템을 통해 127 mm Hg에서 2.0초간 하였다. 시료주입이 완료된 후 모세관의 양 끝에 20~30 kV의 전압을 걸어주고, 254 nm에서 검출하였다. 이때, 모세관의 온도는 특별한 경우를 제외하고 항상 35 $^{\circ}\text{C}$ 를 유지하였다.

시료용액 조제—시중에서 시판되는 오렌지 쥬스를 동량의 2차 증류수를 가하고 2000 rpm에서 5분동안 원심분리한 후 상층액을 CE로 분석 하였다. 비타민 단일제제로 시중에 시판되는 비타민 C 산제를 2 mg 취하여 2차 증류수 100 ml에 녹이고, 내부표준용액(ethyl *p*-aminobenzoate)를 가하였으며, 이때 내부표준용액의 농도는 50 ppm이 되도록 하여 CE로 분석 하였다. 시중에서 시판되는 비타민 주사제를 2차 증류수로 100배 희석하여 CE로 분석 하였다. 또한 시판 복합비타민코팅정을 분쇄하여 2차 증류수로 추출, 원심분리(2000 rpm, 5 min), 여과한 후 CE로 분석하였다. 표시용량(ascorbic acid-50 mg, thiamin-9.7 mg, riboflavin-6 mg, pyridoxine-1 mg, niacinamide-25 mg)에 해당하는 표준시료를 100 ml의 2차 증류수에 녹이고, 0.45 μm 막여과지로 여과하여 표준용액을 조제하였다. 표준용액을 2차 증류수로 1/2, 1/4, 1/6, 1/8 이 되도록 희석하여 CE로 분석하였다.

실험결과 및 고찰

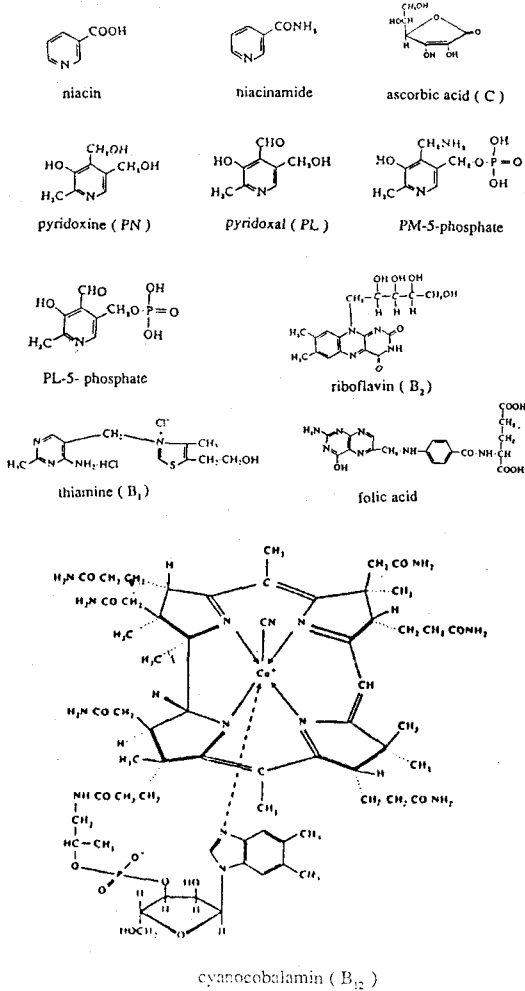


Fig. 1—Structure of water soluble vitamins.

Table I—Physical and chemical properties of water soluble vitamins

Compound	Solubility(g/L)	pKa
niacinamide	1000	2.0, 4.8
pyridoxine(PN)	200	5.0, 9.0
pyridoxal (PL)	soluble	4.23,8.7,13.0
cyanocobalamin(B ₁₂)	12.5	
PM-5-phoshate	soluble	2.5,3.69,5.76,8.61,10.92
ascorbic acid(C)	333.3	4.04, 11.3
riboflavin(B ₂)	0.05~0.33	9.69
niacin	16.7	2.0, 4.8
folic acid	insoluble	4.7, 6.8, 9.0
thiamine(B ₁)	1000	4.8, 9.2
PL-5-phosphate	soluble	2.5, 4.14, 6.2, 8.69

수용성 비타민은 Fig. 1과 Table I에서와 같은 구조와 pKa를 가지며, 수용액의 경우 빛과 pH에 민감하여 쉽게 파괴되므로 분석과정중 이점에 주의를 기울였다.

CE의 최적화

CE분리를 최적화하기 위하여는 CE분리에 관여하는 electrophoretic mobility나 electroosmotic mobility를 변화시키거나, micelle 등을 첨가하여 용질과 micelle간의 상호작용을 조절할 수 있다. Electrophoretic mobility는 용질의 전하의 종류나 크기에 따라 변화될 수 있으므로 pH를 바꿔가며 조절할 수 있다. Electroosmotic mobility는 모세관벽과 완충용액중의 이온들과의 상호작용에 의해 조절되므로 완충용액의 농도나 가해지는 전압의 크기 등에 의하여 변화되어질 수 있다. 완충용액의 농도가 너무 높을 경우 열이 발생하므로 주로 20~50 mM의 완충용액의 농도를 CE에서는 사용한다. 그밖에 electrophoretic mobility가 같은 용질인 경우, 완충용액에 SDS와 같은 micelle을 첨가하여 용질의 전하에 따라서뿐만 아니라 소수성에 의해서 분리되어지도록 할 수 있다. 본 연구에서는 11종의 수용성 비타민이 잘 분리될 수 있는 조건을 찾기 위하여 각 요인들의 최적화가 행해졌다.

pH의 영향—완충용액으로 사용한 25 mM phosphate 완충용액의 pH를 7.0~9.0까지 변화시킬때, 각 용질의 머무름 시간의 변화는 Fig. 2에서와 같다. Pyridine ring (pKa=8.6)을 가진 PL, PN, PM 5-phosphate, PL 5-phosphate, folic acid의 경우 pH가 증가함에 따라 (+)전하가 중성으로되어 electrophoretic mobility가 감소하여 머무름 시간의 급격한 증가가 관찰되었다. (+)전하를 가진 riboflavin의 경우는 electrophoretic mobility에 의해 용출이 빨랐으며, 중성 전하를 가진 niacinamide는 electroosmotic flow와 같이 용출되었으며, 나머지 물질들도 각각의 전하의 밀도에 의해 분리되었다. 그러나, 어떠한 pH에서도 완전한 분리를 이룰수가 없었다.(Fig. 3B)

SDS농도의 영향—전하의 밀도가 비슷하여 electrophoretic mobility에 의하여 완전히 분리할 수가 없는 경우, 물질의 소수성에 의해 분리할 수 있도록 완충용액에 음전하를 띤 micelle인 SDS를 첨가하였다. 50 mM SDS를 함유한 25 mM phosphate 완충용액(pH=8.0)을 사용하여 11종의 수용성 비타민들을

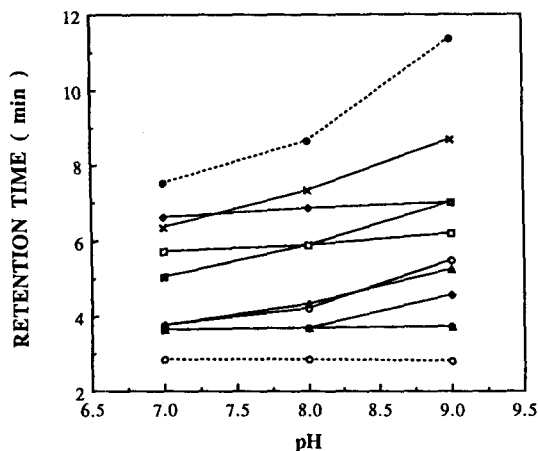


Fig. 2—Effect of pH on migration time. The pH's of buffer were varied from 7.0~9.0. Buffer, 25 mM phosphate buffer; applied voltage, 25 kV; separation capillary, 670×0.05 mm fused silica; oven temperature, 35°C; detection wavelength, 254 nm. Symbols:—●—, niacinamide;—○—, PN;—▲—, PL;—△—, B₁₂;—■—, PM-5-phosphate;—□—, C;—◆—, B₂;—◐—, niacin;—×—, folic acid;—+—, I.S.(EAB);—○—, B₁;—●—, PL-5-phosphate.

완전히 분리할 수 있었다(Fig. 3A). Fig. 4는 SDS의 농도에 따른 용질의 머무름 시간의 변화를 나타낸 것이다. 일반적으로 SDS의 농도가 증가함에 따라 대부분 용질의 머무름 시간의 증가를 관찰할 수 있었다. Riboflavin, thiamine과 내부표준물질인 ethyl *p*-aminobenzoate와 같이 소수성 부위가 있는 물질은 SDS농도 증가에 따라 큰 폭의 증가를 보여주었으나, electroosmotic flow의 속도는 큰 변화가 없었다. Electroosmotic flow와 같이 용출되는 niacinamide의 경우 SDS의 농도가 증가함에 따라 micelle로의 분배가 증가되어 electroosmotic flow로부터 분리되었다. 용액중에서 (+)전하를 지닌 상태로 존재하는 thiamine의 경우, 음이온 계면활성제인 SDS의 SO₄⁻와 이온결합에 의해 micelle과의 분배가 증가되어 머무름 시간이 길어진다

가해준 전압의 영향—Fig. 5는 가해준 전압에 대한 용질의 속도변화를 나타낸 것으로 50 mM SDS을 함유한 25 mM phosphate 완충용액(pH=8.0)에 다양한

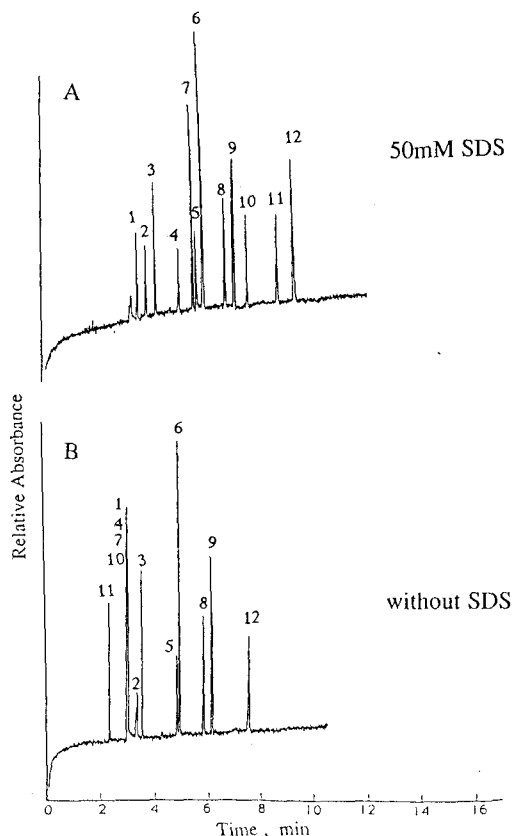


Fig. 3—Typical electropherogram of water soluble vitamins. A. Buffer, 25 mM phosphate(pH=8.0) containing 50 mM SDS. B. Buffer, 25 mM phosphate (pH=8.0) without SDS. Each peak: 1, niacinamide; 2, PN; 3, PL; 4, B₁₂; 5, PM-5-phosphate; 6, C; 7, B₂; 8, niacin; 9, folic acid; 10, I.S.(EAB); 11, B₁; 12, PL-5-phosphate. Other conditions are same as in Fig. 2.

전압 (15~30 kV)을 걸어주었을 경우의 용질의 속도 변화를 나타낸 것이다. 전압이 증가함에 따라 각 용질의 이동속도가 증가하며 분리능이 좋아진다.

방법의 재현성—Table II는 농도에 따른 머무름 시간과 피크 면적의 재현성을 나타낸 것이다. 머무름 시간의 경우 C.V. 값이 1.5%, 피크 면적의 경우 5% 이내의 재현성을 나타내었다. 다른 피크에 비해 피크 면적이 매우 적은 PN의 경우 비교적 높은 5%이상의 높은 C.V. 값을 나타냈으나 그 이외에는 C.V. 값이 5%이하로써 방법의 재현성은 받아들여질 수 있다.

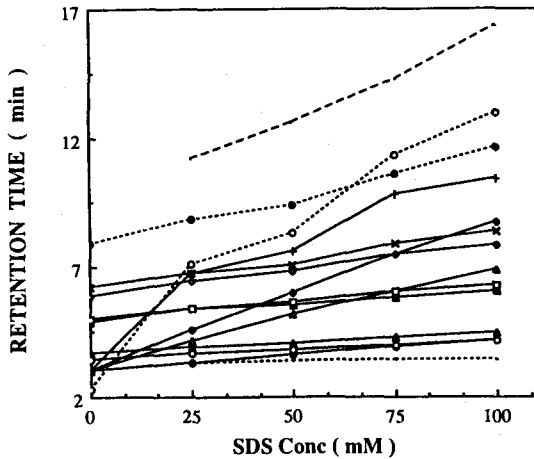


Fig. 4—Effect of SDS concentration in MECC. The concentrations of SDS in 25 mM phosphate buffer(pH=8) were varied from 0 to 100 mM. Symbol: ---, E.O.F; -●-, niacinamide; -○-, PN; -▲-, PL; -△-, B₁₂; -■-, PM-5-phosphate; -□-, C; -◆-, B₂; -◇-, niacin; -×-, folic acid; -+-, I.S.(EAB); -○-, B₁; -●●-, PL-5-phosphate; ---, micelle. Other conditions are same as in Fig. 2.

그러므로 이 방법을 이용한 제제의 정량은 적합한 것으로 보여진다.

CE 분석의 응용

제제 분석—오렌지 주스를 CE분석한 결과 Fig. 6에서와 같은 ascorbic acid의 피크를 관찰할 수 있었

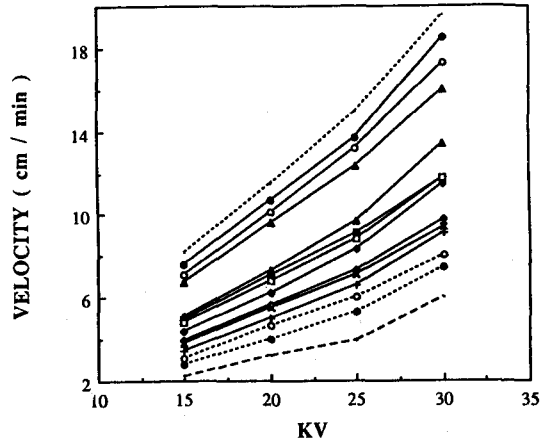


Fig. 5—Effect of applied voltage. Applied voltages were varied from 15 to 30 kV. Symbols are same as in Fig. 4. Other conditions are same as in Fig. 2.

으며, 그외에 다른 피크들도 관찰되었다. 비타민 C 산제를 CE로 분석한 결과 Fig. 7에서와 같이 ascorbic acid와 내부표준물질의 피크가 관찰되었다. Fig. 8은 시판 비타민 주사제를 분석한 electropherogram이며, 표시량의 92.9~107.0%에 해당하는 양이 정량되었으며 C.V. 값이 2% 이내의 좋은 재현성을 나타내었다. 시판되는 복합 비타민코팅정을 실험방법에서 언급한 대로 시료를 전처리 후 CE분석 할 경우 Fig. 9와 같은 electropherogram을 보여주며, Table III에서와같이 표시량의 89.9~105.8%에 해당되는 양이 정량되었다.

Table II—Reproducibility of the migration time and relative peak area of coated multivitamin tablet

DIL.	NA	PN	C	B ₂	B ₁
RETENTION TIME(MIN.)					
1/2	3.28±0.03(0.93)	3.63±0.01(0.12)	5.33±0.03(0.64)	5.56±0.07(1.19)	8.65±0.02(0.22)
1/4	3.33±0.02(0.60)	3.54±0.02(0.67)	5.37±0.06(1.11)	5.66±0.06(0.97)	8.83±0.04(0.49)
1/6	3.27±0.01(0.10)	3.49±0.06(1.57)	5.26±0.06(1.11)	5.48±0.03(0.46)	8.61±0.02(0.18)
1/8	3.31±0.01(0.22)	3.47±0.05(1.41)	5.30±0.01(0.24)	5.63±0.01(0.19)	8.79±0.02(0.17)
PEAK AREA					
1/2	30298±219(2.86)	1966±60(10.47)	24141±770(3.91)	28609±647(2.26)	21862±697(3.19)
1/4	14743±353(2.40)	1019±80(7.87)	11815±678(5.74)	14732±333(2.26)	11018±450(4.09)
1/6	11005±411(3.73)	696±72(10.39)	7934±272(3.43)	10901±276(2.53)	8761±171(1.95)
1/8	7663±219(2.86)	577±60(10.47)	6196±159(2.56)	7603±140(1.84)	6328±180(2.84)

Values are mean±S.D.(n=5): values in parenthese are coefficients of variation(%)

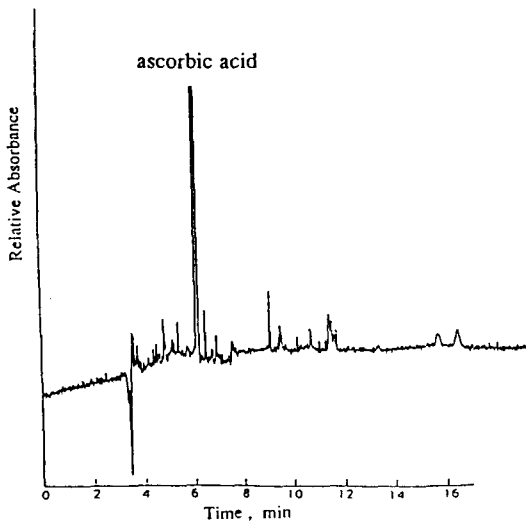


Fig. 6—The electropherogram of ascorbic acid in orange juice. Conditions are same as in Fig. 3A.

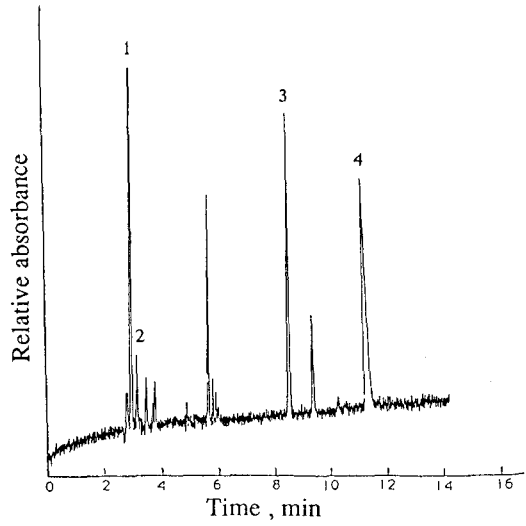


Fig. 8—The electropherogram of vitamin injection. Each peak: 1, niacinamide; 2, PN; 3, I.S.(EAB); 4, B₁. Conditions are same as in Fig. 3A.

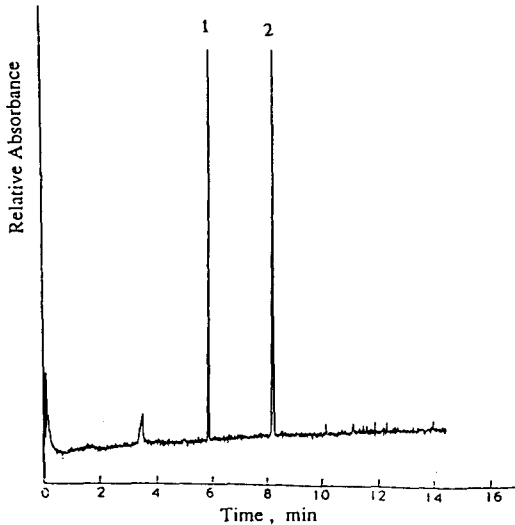


Fig. 7—The electropherogram of ascorbic acid pulvis. Each peak: 1, C; 2, I.S.(EAB). Conditions are same as in Fig. 3A.

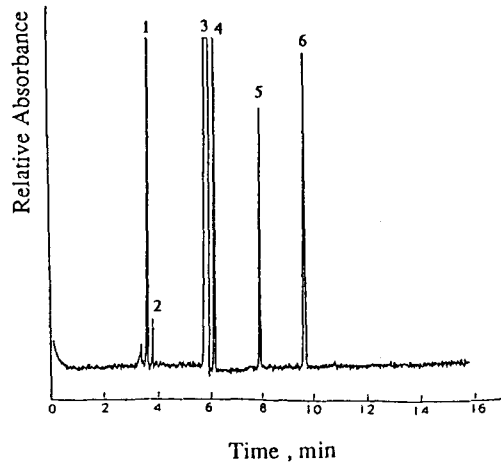


Fig. 9—The electropherogram of multivitamin tablet. Each peak: 1, niacinamide; 2, PN; 3, C; 4, B₂; 5, I.S.(EAB); 6, B₁. Conditions are same as in Fig. 3A.

다른 피크에 비해 피크 면적이 매우 적은 PN의 경우 9.8%의 비교적 높은 C.V. 값을 나타내었으나, 그 이외에는 C.V.가 4%이하로 방법의 재현성은 적합한 것으로 나타났다. 수용성 비타민의 농도(niacinamide ; 31.3~125 mg/L, ascorbic acid ; 62.5~120 mg/L, riboflavin ; 7.5~30 mg/L, thiamin ; 12.1~48.

5 mg/L)와 피크 면적사이의 직선성이 Fig. 10에 나타나 있는데 $r=0.995$ 이상의 좋은 직선성을 보여준다.

결 론

본 연구에서는 micelle을 이용한 모세관 전기영동법

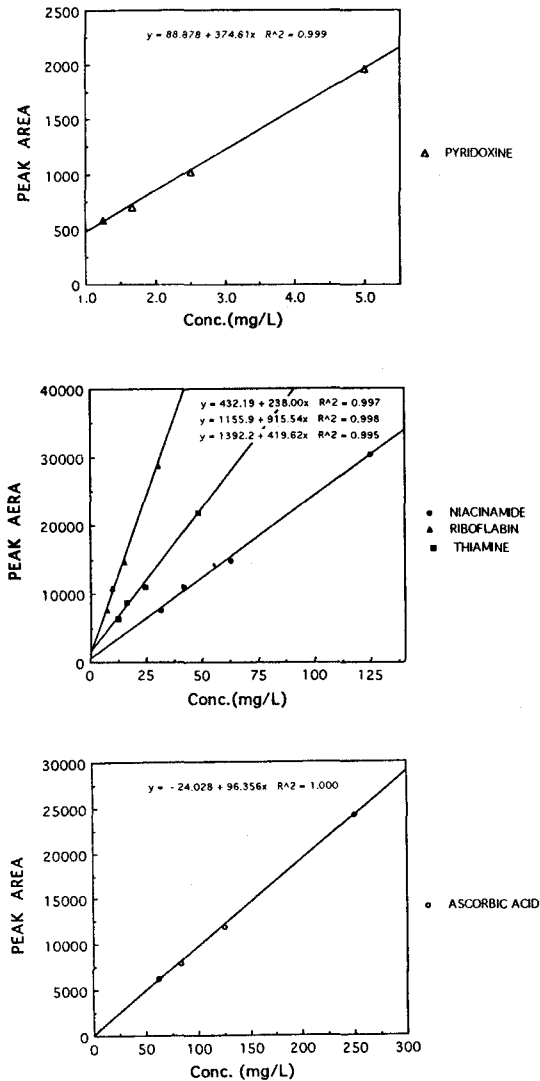


Fig. 10—Calibration curve for multivitamin tablet.

Table III—Accuracy and reproducibility of the determination of the ingredients of multivitamin tablet

Ingredient	Amount indicated	Amount found	Found/ indicated (%)
	on the label (mg)	mean \pm STD.(C.V.%) (n=4)	
Vit.C	50.0	46.0 \pm 1.27(2.8%)	93.2
Vit.B ₁	9.7	10.3 \pm 0.21(2.0%)	105.8
Vit.B ₂	6.0	5.4 \pm 0.21(3.8%)	89.9
PN	1.0	0.98 \pm 0.09(9.8%)	104.3
NA	25.0	24.9 \pm 0.86(3.5%)	99.7

(MECC)을 이용하여 11종의 수용성 비타민을 10분 이내에 완전히 분리할 수 있는 최적 조건을 찾기위한 연구가 행해졌으며, 이 방법이 정량분석에 적합함을 보기위해 재현성과 농도와 피크 면적간의 직선성을 살펴본 결과 좋은 정량방법임이 판명되었다. 이 방법을 이용하여 실제 시료인 오렌지 주스, 단일 비타민 산제, 비타민 주사제, 복합 비타민코팅정 등의 정량적인 측정에 응용하였다. 본 연구 결과는 실제 측정이 간편하고 분석기기로 여러 장점이 있는 CE가 제약회사 등에서 제제의 정도관리 방법으로 현재 사용되고 있는 HPLC방법의 보완적인 방법으로 응용이 크게 확대되리라 기대된다.

문헌

- Walker, M. C., Carpenter, B. E. and Cooper, E. L.: Simultaneous determination of niacinamide, riboflavin and thiamine in multivitamin products by high performance liquid chromatography. *J. Pharma. Sci.*, **70**(1), 99 (1981).
- Amin, M. and Reusch, J.: High performance liquid chromatography of water-soluble vitamins. *J. Chromatogr.*, **390**, 448 (1987).
- Callmer, K. and Davies, L.: Separation and determination of vitamin B₁, B₂, B₆ and nicotinamide in commercial vitamin preparations using high performance cation-exchange chromatography. *Chromatographia*, **7**(11), 644 (1974).
- Gennaro, M. C.: Separation of water-soluble vitamins by reversed-phase ion interaction reagent high performance liquid chromatography. *J. Pharma. Sci.*, **29**, 410 (1991).
- Williams, R. C., Baker, D. R. and Schmit, J. A.: Analysis of water-soluble vitamins by high speed ion-exchange chromatography. *J. Pharma. Sci.*, **11**, 618 (1973).
- Blitek, D. and Sadlej-Sosnowska, N: Determination of menadione sodium hydrogen sulphite and nicotinamide in multivitamin formulations by high performance liquid chromatography. *J.Chromatogr.*, **357**, 227 (1986).
- Dalbacke, J. and Dahlquist, I.: Determination of vitamin B₁₂ in multivitamin-multimineral tablets by

- high performance liquid chromatography after solid-phase extraction, *J.Chromatogr.*, **541**, 383 (1991).
- 8) Rudy, J. L., Ibarra, F., Zeigler, M., Howard, J. and Argyle, C.: Simultaneous determination of retinol, retinyl palmitate, and tocopherol in serum or plasma by reversed-phase high performance liquid chromatography. *LC-GC*, **7**(12), 969 (1990).
 - 9) Wills, R. B. H and Wimalasiri, P.: Simultaneous analysis of thiamin and riboflavin in foods by high performance liquid chromatography. *J.Chromatogr.*, **318**, 412(1985).
 - 10) Boekel, M. A. J. S. and Meeuwissen, C. A. J. M.: High performance liquid chromatography of the bis (dinitrophenyl)hydrazone derivatives of ascorbic acid, applied to analysis of ascorbic acid in beer. *J.Chromatogr.*, **261**, 176 (1983).
 - 11) Mikker, F. M., Everaerts, F. M. and Verheggen, Th. P. E. M., *J.Chromatogr.*, **169**, 11 (1979).
 - 12) Jorgenson, J. W. and Lukacs, K. D.: Zone electrophoresis in open tubular glass capillaries. *Anal. Chem.*, **53**, 1298 (1981).
 - 13) Jorgenson, J. W. and Lukacs, K. D.: Capillary zone electrophoresis *Science*, **222**, 266 (1983).
 - 14) Terabe, S., Otsuka, K. and Ando, T.: Electrokinetic chromatography with micellar solution and open tubular capillaries. *Anal. Chem.* **57**, 834 (1985).
 - 15) Lee, K.-J., Heo, G. S., Kim, N. J. and Moon, D. C.: Analysis of theophylline and its analogues using micellar electrokinetic chromatography. *J.Chromatogr.*, **577**, 135(1992).
 - 16) Lee, K.-J., Heo, G. S., Kim, N. J. and Moon, D. C.: Analysis of antiepileptic drugs in human plasma using micellar electrokinetic capillary chromatography. *J.Chromatogr.*, **608**, 243 (1992).
 - 17) Lee, K.-J., Lee, J. J. and Moon, D. C.: Quantitative analysis of tricyclic antidepressants in human plasma by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J.Chromatogr.*, **616**, 135 (1993).
 - 18) Lee, K.-J., Lee, J. J. and Moon, D. C.: Application of micellar electrokinetic capillary chromatography for monitoring of hippuric acid and methyl hippuric acid in human urine. *Electrophoresis*, in press
 - 19) Lee, K.-J. and Heo, G. S.: Free solution capillary electrophoresis of proteins using untreated fused-silica capillaries. *J.Chromatogr.*, **559**, 317 (1991).
 - 20) Kim, J. W., Park, J. H., Park, J. W., Doh, H. J., Heo G. S. and Lee K.-J.: Quantitative analysis of serum proteins separated by capillary electrophoresis. *Clin. Chem.* **39**, 689 (1993).
 - 21) Yashima, T., Tsuchiya, A., Morita, O and Terabe, S.: Separation of closely related large peptides by micellar electrokinetic chromatography with organic modifiers. *Anal. Chem.*, **64**, 2981 (1992).
 - 22) Oefner, P. J., Bonn, G. K., Huber, C. G. and Nathakarnkitkool, S.: Comparative study of capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography in the analysis of nucleotides and DNA. *J. Chromatogr.*, **625**, 331 (1992).