



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de agosto hasta el 30 de septiembre de 2026, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sita en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México, o al correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

Dice	Debe decir	Justificación*
MGA 0312. ELECTROFORESIS CAPILAR		
FUNDAMENTOS TEÓRICOS		
La técnica de Electroforesis, realizada ahora en tubos capilares, mejora la modalidad clásica de electroforesis hasta el punto de convertirla en una técnica de separación comparable a la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) con diferentes fundamentos fisicoquímicos, ventajas, desventajas y procedimientos distintivos durante la operación del equipo. El uso de capilares como soporte de la separación ha permitido la automatización de los equipos y ampliado increíblemente el campo de aplicación de esta técnica desde iones simples hasta fragmentos de ADN, además, de aquí derivó el término de Electroforesis Capilar (EC).		
El mecanismo de separación en la EC es el mismo de la electroforesis convencional: las especies		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
cargadas disueltas o suspendidas en una solución amortiguadora presentan una diferente velocidad de migración bajo la influencia de un campo eléctrico. Los cationes migran hacia el cátodo (electrodo de carga negativa) mientras que los aniones migran hacia el ánodo (electrodo de carga positiva) y las especies neutras no migran por sí solas. La migración diferencial dentro de zonas discretas es debido a diferencias en las movilidades electroforéticas, las cuales a su vez están vinculadas a la relación masa/carga y a la conformación de los analitos , así como de la viscosidad del medio. Las propiedades del disolvente tales como la fuerza iónica, pH y la constante dieléctrica, también son importantes porque influyen sobre la carga efectiva del analito y, en el caso de moléculas grandes, sobre su forma y tamaño hidrodinámico.		
La velocidad de un analito, cuando no hay flujo electrosmótico presente está dada por la ecuación (1):		
$v = \mu E$ (1)		
Donde:		
v = Velocidad del analito.		
μ = Movilidad electroforética.		
E = Campo eléctrico.		
El campo eléctrico es una simple función de la aplicación del voltaje y la longitud del capilar (voltios/cm). La movilidad electroforética (velocidad a la que migra) depende en general del tamaño y carga de la especie iónica, naturaleza y		

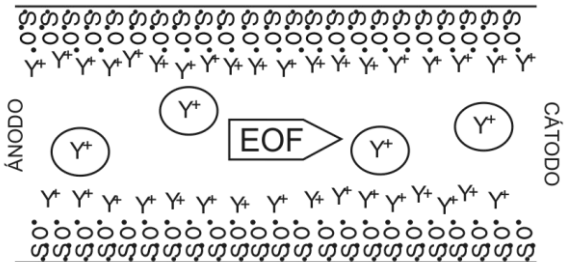


“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
concentración del analito. De la ecuación (2) es evidente que especies o analitos cargados y pequeños tienen alta movilidad, mientras que especies cargadas con gran peso molecular muestran baja movilidad, asumiendo una forma esférica del mismo.		
$\mu = q / (6 \pi r \eta) \quad (2)$		
Donde:		
μ = Movilidad electroforética del analito.		
q = Carga del analito.		
η = Viscosidad de la solución.		
r = Radio molecular.		
Es importante resaltar el fenómeno del Flujo Electrosmótico (EOF por sus siglas en inglés) dentro del capilar. El EOF se origina durante la realización de la separación electroforética cuando dentro del capilar de sílice fundida lleno con solución amortiguadora (conocida como electrolito soporte) se tiene la presencia de grupos silanol (SiO-) cargados negativamente,		
(esto debido a la pérdida de sus protones y aún a valores de pH ácidos), y se forma una doble capa eléctrica con sus contraiones positivos.		
Los grupos silanol (SiO-) forman parte de la pared del capilar de sílice fundida y no pueden moverse, sin embargo, los contraiones (cationes) bajo la influencia del campo eléctrico se mueven hacia el cátodo (véase figura 0312.1). Debido a las fuerzas de fricción entre las moléculas del disolvente, el movimiento de los cationes junto con su esfera de solvatación se extiende inmediatamente por el		

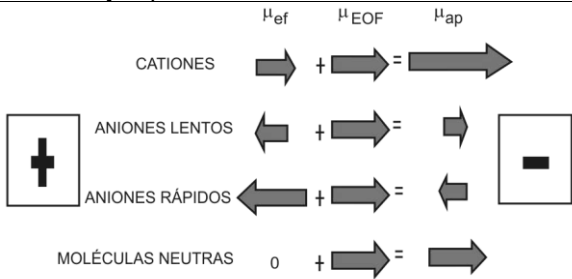


“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
líquido entero generando un flujo de líquido hacia el cátodo al cual se le conoce como flujo electrosmótico y el perfil que resulta es casi plano.		
		
Figura 0312.1. Representación de flujo electrosmótico dentro del capilar de sílice fundida.		
El grado de ionización de los grupos SiO- de la pared interna del capilar depende del pH del electrolito soporte empleado y de la presencia de aditivos orgánicos en el mismo. A valores de pH más ácidos el EOF es menor mientras que aumenta a valores mayores de pH; la adición de disolventes orgánicos al electrolito soporte disminuye el EOF. La importancia del EOF radica en que éste suele tener una velocidad mayor que la velocidad electroforética de especies cargadas, haciendo posible que bajo ciertas condiciones los aniones se muevan hacia el cátodo.		
En presencia de EOF, la movilidad de un analito está dada por la ecuación (3):		
$\mu_{ap} = \mu_{ef} + \mu_{eof} \quad (3)$		
Donde:		
μ_{ap} = Movilidad aparente.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
μ_{ef} = Movilidad efectiva.		
μ_{eof} = Movilidad del flujo electrosmótico.		
Mientras que su velocidad aparente se expresa según la ecuación (4):		
$V_{ap} = (\mu_{ef} \pm \mu_{eof}) V/L$ (4)		
Donde:		
V_{ap} = Velocidad aparente de migración.		
μ_{ef} = Movilidad efectiva del analito.		
μ_{eof} = Movilidad del flujo electrosmótico.		
V = Voltaje aplicado.		
L = Longitud total del capilar.		
El tiempo de migración de un ion estará entonces dado por la ecuación (5):		
$t_m \approx L^2/(\mu_{ef} \pm \mu_{eof}) V$ (5)		
Donde:		
L = Longitud total del capilar.		
μ_{ef} = Movilidad efectiva del analito.		
μ_{eof} = Movilidad del flujo electrosmótico.		
V = Voltaje aplicado.		
		
Figura 0312.2. Movimiento de diferentes analitos bajo la influencia de un EOF considerable.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
De las ecuaciones anteriores, se deduce que la movilidad y velocidad aparente de un analito en la electroforesis capilar depende de la magnitud de la movilidad electroforética del EOF y su dirección, tal y como se esquematiza en la <i>figura 0312.2</i> .		
La movilidad efectiva de un analito se determina usando la ecuación (6):		
$\mu_{ef} = \frac{Ll_d}{V} \left[\frac{1}{t_{ma}} - \frac{1}{t_{eof}} \right]$		
Donde:		
L = Longitud total del capilar		
ld = Longitud del capilar al detector		
V= Voltaje aplicado		
t _{ma} = Tiempo de migración del analito.		
t _{eof} = Tiempo de migración del flujo electrosmótico.		
El EOF puede ser eliminado, disminuido o bien invertido, modificando las condiciones de la pared del capilar o bien cambiando la concentración, composición o el pH del electrolito soporte, a fin de lograr la separación deseada.		
Cada ion del analito de la muestra migra dentro del electrolito de fondo como una zona independiente, de acuerdo con su movilidad electroforética. La dispersión de zona, es decir, el ensanchamiento de cada banda de soluto, resulta de diferentes fenómenos. En condiciones ideales, la única contribución al ensanchamiento de la zona del soluto es la difusión molecular del soluto a lo largo del capilar (difusión longitudinal). En este caso		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

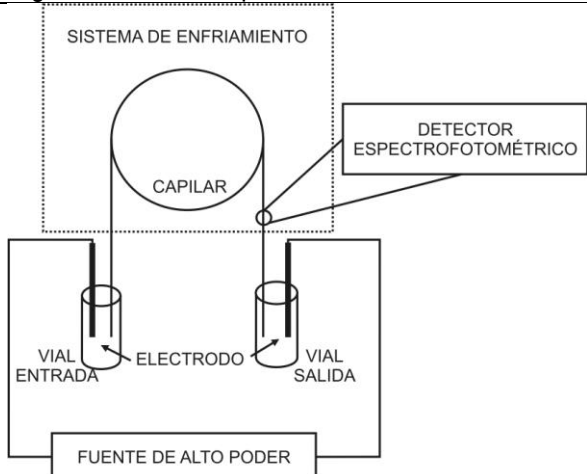
Dice	Debe decir	Justificación*
ideal, la eficiencia de la zona, expresada como el número de platos teóricos (N), está dada por:		
$N = [(\mu_{ef} + \mu_{of}) * V * l_d] / (2DL)$		
Donde:		
μ_{ef} = Movilidad efectiva del analito		
μ_{of} = Movilidad del flujo electrosmótico		
L = Longitud total del capilar		
l_d = Longitud del capilar al detector		
D = coeficiente de difusión molecular del soluto en el amortiguador (buffer)		
V= Voltaje aplicado		
En la práctica, otros fenómenos como la disipación de calor, la adsorción de la muestra en la pared del capilar, las diferencias de conductividad entre la muestra y el amortiguador, la longitud del tapón de inyección, el tamaño de la celda del detector y el desnivel de los reservorios de amortiguador también pueden contribuir significativamente a la dispersión de banda.		
La separación entre dos bandas (expresada como la resolución, R_s) puede obtenerse modificando la movilidad electroforética de los analitos, la movilidad electroosmótica inducida en el capilar y aumentando la eficiencia de la banda de cada analito, de acuerdo con la ecuación:		
$R_s = \sqrt{N}(\mu_{epb} - \mu_{epa}) / [4(\mu_{epm} + \mu_{of})]$		
Donde:		
N=es el número de platos teóricos		
μ_{epa} y μ_{epb} = movilidades electroforéticas de los dos analitos separados		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
μ_{epm} = movilidad electroforética media de los dos analitos, $\mu_{epm} = (\mu_{epa} + \mu_{epb}) / 2$.		
PARTES BÁSICAS DEL EQUIPO		
Las partes básicas de un equipo de electroforesis capilar (véase figura 0312.6) son las siguientes:		
Fuente de alto poder. Proporciona hasta 30 kV de voltaje y/o 300 μ A de corriente eléctrica.		
Electrodos. Un par de electrodos de platino son empleados para imponer el voltaje o la corriente a través del sistema electroforético.		
Capilar. De sílice fundida, con un diámetro interno entre 20 y 200 μ m y longitud total de 30 a 100 cm dependiendo de la configuración del equipo. Cuando se emplea con detectores espectrofotométricos debe de tener una ventana alineada con el detector. La ventana se hace retirando el recubrimiento de poliimida en no más de 5 mm del capilar.		
Viales o depósitos para soluciones. Para colocar las diversas soluciones que se emplean durante el desarrollo de la técnica. Hay de diferentes dimensiones y volúmenes, en general son de vidrio.		
Sistema de introducción de muestra. Que permita la introducción hidrodinámica (por presión o vacío) o la introducción electrocinética (con voltaje).		
Detector. Que permita monitorear la cantidad de las sustancias de interés que pasan por un segmento del capilar a cierto tiempo. Generalmente se usa un detector espectrofotométrico UV-VIS (arreglo de diodos o		

“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
de longitud de onda variable) o de fluorescencia (Fluorescencia inducida por láser). El espectrómetro de masas puede ser muy útil para ciertas aplicaciones. La detección indirecta es un método alternativo que se emplea para compuestos que no presentan absorción en la región UV-VIS o no presentan fluorescencia.		
		
Figura 0312.6. Esquema de las partes básicas de un equipo de electroforesis capilar.		
Sistema de enfriamiento. Que permita mantener la temperatura dentro del capilar constante a fin de obtener resultados reproducibles.		
Sistema de adquisición de datos. Puede ser un registrador, un integrador o una computadora.		
GENERALIDADES DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL		
El procedimiento consiste en llenar el capilar con el electrolito soporte, introducir la muestra, ya sea por		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
presión o por la aplicación de un pequeño voltaje, substituyendo un vial con electrolito soporte por un vial con muestra durante este proceso. Después se aplica una cierta cantidad de potencial (o de corriente) para realizar la separación. Las especies iónicas en la muestra migran con dirección y velocidad determinadas por su carga y masa; eventualmente pasan por un detector y la señal obtenida entonces se conoce como electroferograma.		
La producción de calor de Joule produce gradientes de viscosidad en el electrolito soporte dentro del capilar, ocasionando ensanchamiento de pico y menor resolución, por lo tanto se sugiere no aplicar un voltaje tal que origine una corriente mayor a 150 μ A.		
Al emplear un voltaje positivo (polaridad normal) el ánodo está ubicado en la entrada del capilar mientras que el cátodo se encuentra a la salida, y el EOF se mueve hacia éste último. Si se cambia la polaridad del voltaje se invierte la posición del ánodo y cátodo, por lo que el EOF se mueve en dirección contraria al detector, por lo que solo aquellos compuestos con movilidades mayores a las del EOF pasarán a través del detector.		
A fin de evitar gradientes de viscosidad y cambios conformacionales en proteínas, la temperatura del capilar debe controlarse adecuadamente. Las dimensiones del capilar (diámetro interno y longitud) se relacionan directamente con el tiempo de análisis, eficiencia de la separación y la		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
capacidad de carga. Incrementando la longitud del capilar se disminuye el campo eléctrico (trabajando a un voltaje constante) incrementando el tiempo de migración. Para una solución amortiguadora dada, la disipación de calor y el ensanchamiento de pico dependen del diámetro interno del capilar, afectando además al límite de detección (dependiendo del volumen de muestra introducida y el sistema de detección empleado).		
Para evitar fenómenos de adsorción de componentes de la muestra se pueden emplear capilares recubiertos, adicionar aditivos de carga positiva, trabajar a valores de pH muy ácidos, etc.		
La selección del electrolito soporte en términos de pH, concentración y tipo es importante para lograr la separación de los componentes de la muestra. El pH puede afectar la separación al modificar la carga de los analitos o los aditivos y cambiando la velocidad del EOF. En caso de una separación de péptidos o proteínas el cambio de pH cambia la carga neta del soluto. La concentración del electrolito soporte es importante a fin de amortiguar el pH de trabajo, sin embargo al emplear concentraciones mayores, se generan corrientes más elevadas, es por ello que en general se emplean concentraciones menores a 0.1 M para el sistema amortiguador.		
La adición de modificadores orgánicos al electrolito soporte tales como metanol, acetonitrilo, etc., aumentan la solubilidad de los solutos y/o cambia		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
el grado de ionización de los componentes de la muestra y disminuye el EOF.		
Recomendaciones prácticas		
Es importante el señalar ciertos cuidados que deben de tenerse durante la realización de un análisis por electroforesis capilar.		
1) El capilar debe de ser cortado con un cortador para cerámica y se debe evitar obtener un corte diagonal o con rebabas ya que esto afecta la introducción de la muestra; se recomienda observar las puntas con un microscopio y dejarlo recto. Es importante activar un capilar nuevo, para ello generalmente se le introduce NaOH 1 M por al menos 20 a 30 min, dependiendo del largo del mismo. Al inicio de cada día de trabajo es necesario acondicionar el capilar lavándolo con agua, NaOH 0.1 M, agua y el sistema amortiguador que se va a emplear durante la separación; 5 min con 20 psi., suele ser suficiente para un capilar de 40 cm. En general, al final del día el capilar se lava 20 min con agua y se guarda, sin embargo, si se está trabajando en medios ácidos (pH entre 1 y 3) el capilar se lava con el electrolito soporte que se emplea, diluido 10 veces para evitar la formación de sales y manteniendo el pH empleado.		
2) El electrolito soporte es en general un sistema amortiguador entre los más empleados están sustancias iónicas (acetato, fosfato, borato, citrato, ftalato, etc.) a concentraciones entre 10 a 100 mm y los denominados good buffers, moléculas orgánicas (CAPS, HEPSE, TRIZMA) que generan		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
menores corrientes pero absorben radiación en la región del ultravioleta, los cuales se pueden usar hasta una concentración de 250 mm. La concentración del sistema amortiguador se debe mantener baja a fin de evitar corrientes mayores de 200 μ A, pues esto origina calentamiento de las soluciones en el capilar y por lo tanto, falta de reproducibilidad en los tiempos de migración.		
También se pueden realizar análisis en medios no acuosos, como el acetonitrilo por ejemplo, sin embargo, se adiciona sales al disolvente a fin de que conduzca la corriente generada al aplicarse una diferencia de potencial en el sistema.		
3) La preparación de las soluciones es sencilla, incluyendo la del electrolito soporte, solo hay que asegurar la solución completa de las sales, ajustar el pH con HCl o NaOH 0.1 M y aforar con agua desionizada, no es necesario filtrar o desgasificar. Las soluciones en general se guardan en el refrigerador para evitar el crecimiento de microorganismos, excepto aquellas que contengan surfactantes o ciclodextrinas, porque éstas precipitan.		
Al llenar los viales con las soluciones es vital no llenar más del 70 % el vial y asegurarse de que las tapas y la parte superior interna del vial estén secas antes a fin de evitar fugas de corriente.		
4) Las muestras a ser analizadas deben de ser soluciones sin partículas por lo que si las contienen es pertinente filtrar el volumen que se colocará en el vial, con un acrodisco de nylon de 0.45 μ m. El		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
tratamiento general para la orina es su dilución con agua en una proporción 1:10. Para muestras biológicas como sangre o leche es recomendable eliminar la mayoría de las proteínas presentes, si estás no son de interés en el análisis.		
Para el análisis de proteínas es recomendable evitar la adsorción de éstas en las paredes del capilar, por lo que se emplean capilares neutros o bien la adición de surfactantes al electrolito soporte.		
5) La introducción de la muestra más común es aquella que emplea presión o vacío, ya que introduce una porción homogénea de la muestra. La reproducibilidad mejora cuando la introducción se hace empleando un vial con agua en el extremo opuesto y empleando presiones de 1 a 2 psi, en vez de la menor que acepta el equipo.		
6) La detección de los analitos de interés en general se realiza en su longitud de onda de máxima absorción (detector UV/VIS) o de emisión (detector de fluorescencia) para lo cual se debe de realizar un barrido de cada una de las soluciones estándar por separado o bien, durante el análisis si se cuenta con un detector de arreglo de diodos se puede hacer el barrido en la región UV/VIS de 190 a 800 nm. El equipo puede registrar hasta 3 longitudes de onda distintas durante un análisis.		
7) El voltaje de separación afecta a todos los analitos presentes por lo que emplear 30 kV disminuye el tiempo de análisis sin afectar en gran proporción la resolución, sin embargo, aumenta la		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
corriente que se genera en el sistema, como ya se mencionó hay que evitar corrientes mayores de 200 μ A, pues esto origina calentamiento de las soluciones en el capilar y por lo tanto, falta de reproducibilidad en los tiempos de migración. Si no es pertinente bajar la concentración del sistema amortiguador, es factible disminuir el voltaje aplicado para disminuir la corriente generada.		
8) Durante la separación la corriente generada debe de permanecer constante con una variación entre 3 y 10 μ A durante toda la corrida. Si se emplea el mismo capilar y electrolito soporte esta corriente será reproducible en cada análisis. Si la corriente cae a un valor cercano de cero, es necesario detener la corrida porque es indicio de algún problema como pudiera ser:		
Que algún vial tenga la tapa mojada o alguna solución presente burbujas, que el capilar está tapado o roto, que la posición de los viales con electrolito soporte para la corrida no esté bien programado en el método, etc.		
9) El lavado entre corridas es muy importante porque debe de asegurar que la pared interna del capilar quede limpia y lista para el siguiente análisis. Si las muestras son simples, un lavado con el mismo electrolito soporte es suficiente pero si son complejas como extractos vegetales, fluidos biológicos, será necesario lavar con agua, NaOH 0.1 M, agua y electrolito soporte. Este lavado es parte del desarrollo del método a fin de garantizar la reproducibilidad del mismo.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
La longitud del capilar al detector es menor a la longitud total cuando se emplean detectores espectrofotométricos, tal y como se observa en la figura 0312.5.		
Comercialmente ya existen capilares adecuados de acuerdo con el tamaño molecular de los analitos que se desean separar.		
Este medio de separación es más fácil de preparar, ya que con presión se llena un capilar neutro con la solución.		
Si es necesario, usar aditivos como glicerol, surfactantes, urea o soluciones zwitteriónicas. Sin embargo, dependiendo de la concentración empleada, la urea causa desnaturalización de proteínas.		
MODALIDADES DE SEPARACIÓN		
Existen diferentes modalidades de la electroforesis capilar que pueden ser realizadas con el mismo equipo, la diferencia radica en la composición del electrolito soporte o en las características del capilar a utilizar.		
Electroforesis capilar de zona (ECZ). La separación se basa en las diferencias en las movilidades relativas de los componentes individuales de una muestra o solución prueba. Dichas diferencias en movilidad están en función de la carga y tamaño del analito y del EOF, bajo condiciones específicas, las cuales son optimizadas controlando la composición del electrolito soporte (solución amortiguadora) tanto		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
en fuerza iónica como en pH. Las ecuaciones mencionadas anteriormente (ecuaciones 3 a la 6) son válidas sólo para esta modalidad. Se emplea para el análisis de moléculas pequeñas ($M_r < 2\,000$) y grandes ($2\,000 < M_r < 100\,000$), isómeros estructurales y moléculas con pequeñas diferencias en su relación masa/carga pueden llevarse a cabo con esta modalidad. Los capilares recubiertos (no ionizables) pueden ser utilizados para aumentar la capacidad de separación en sustancias que se adsorben en la superficie interna de los capilares de sílice fundida.		
Para lograr la separación de isómeros ópticos se agrega al sistema amortiguador de trabajo un selector quiral como son las ciclodextrinas; los éteres corona, polisacáridos y algunas proteínas pueden también ser empleados. La resolución depende del tipo de selector usado y su interacción con los enantiómeros, por ello durante el desarrollo de una separación es útil probar ciclodextrinas de diferente tamaño de cavidad o químicamente modificadas con grupos neutros (metil, etil, hidroxialquil) o ionizables (aminometil, carboximetil, etc.) y comparar diferentes concentraciones, así como diversos valores de pH y de temperatura y aún el uso de aditivos tales como metanol o urea.		
Optimización La optimización de la separación es un proceso complejo en el que varios parámetros de separación pueden desempeñar un papel importante. Los principales factores a considerar		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
en el desarrollo de las separaciones son los parámetros instrumentales y los de la solución electrolítica.		
Parámetros instrumentales		
Voltaje. Una gráfica de calentamiento por efecto Joule es útil para optimizar el voltaje aplicado y la temperatura del capilar. El tiempo de separación es inversamente proporcional al voltaje aplicado. Sin embargo, un aumento en el voltaje utilizado puede producir un exceso de calor, lo que genera gradientes de temperatura y, como consecuencia, gradientes de viscosidad en la solución amortiguadora dentro del capilar. Este efecto provoca ensanchamiento de las bandas y disminuye la resolución.		
Polaridad. La polaridad de los electrodos puede ser normal (ánodo en la entrada y cátodo en la salida), y en este caso el flujo electroosmótico se moverá hacia el cátodo. Si la polaridad de los electrodos se invierte, el flujo electroosmótico se aleja de la salida y solo los analitos cargados con movilidades electroforéticas mayores que el flujo electroosmótico alcanzarán la salida.		
Temperatura. El principal efecto de la temperatura se observa sobre la viscosidad y la conductividad eléctrica de la solución amortiguadora, y por lo tanto sobre la velocidad de migración. En algunos casos, un aumento en la temperatura del capilar puede causar un cambio conformacional en proteínas, modificando su tiempo de migración y la eficiencia de la separación.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Capilar. Las dimensiones del capilar (longitud y diámetro interno) contribuyen al tiempo de análisis, a la eficiencia de las separaciones y a la capacidad de carga. El aumento tanto de la longitud efectiva como de la longitud total puede disminuir el campo eléctrico (trabajando a voltaje constante), lo cual incrementa el tiempo de migración. Para un amortiguador y un campo eléctrico dados, la disipación de calor —y por lo tanto el ensanchamiento de banda de la muestra— depende del diámetro interno del capilar. Este último también afecta el límite de detección, dependiendo del volumen de muestra inyectado y del sistema de detección empleado.		
Dado que la adsorción de los componentes de la muestra en la pared del capilar limita la eficiencia, deben considerarse métodos para evitar estas interacciones durante el desarrollo de un método de separación. En el caso específico de las proteínas, se han diseñado diversas estrategias para evitar la adsorción en la pared del capilar. Algunas de estas estrategias (uso de pH extremos y aditivos cargados positivamente en el amortiguador) solo requieren la modificación de la composición del amortiguador para impedir la adsorción proteica. En otras estrategias, la pared interna del capilar se recubre con un polímero unido covalentemente a la sílice, lo que previene la interacción entre las proteínas y la superficie de sílice cargada negativamente. Para este propósito, existen en el mercado capilares listos para usarse		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
con recubrimientos que consisten en polímeros neutro-hidrofílicos, catiónicos y aniónicos.		
Parámetros de la solución electrolítica.		
Tipo y concentración del amortiguador. Los amortiguadores adecuados para la electroforesis capilar deben tener una capacidad amortiguadora apropiada en el intervalo de pH elegido y baja movilidad para minimizar la generación de corriente. Hacer coincidir la movilidad de los iones del amortiguador con la del soluto, siempre que sea posible, es importante para reducir la distorsión de bandas. El tipo de disolvente de la muestra también es relevante para lograr el “focusing” de la muestra en la columna, lo que aumenta la eficiencia de la separación y mejora la detección. Un incremento en la concentración del amortiguador (para un pH dado) disminuye el flujo electroosmótico y la velocidad del soluto.		
pH del amortiguador. El pH del amortiguador puede afectar la separación al modificar la carga del analito o de los aditivos, y al cambiar el flujo electroosmótico. En la separación de proteínas y péptidos, cambiar el pH del amortiguador de un valor superior al punto isoeléctrico a un valor inferior cambia la carga neta del soluto de negativa a positiva. Un aumento en el pH del amortiguador generalmente incrementa el flujo electroosmótico.		
Disolventes orgánicos. Se pueden añadir modificadores orgánicos (metanol, acetonitrilo, etc.) al amortiguador acuoso para aumentar la solubilidad del soluto o de otros aditivos y/o para		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
modificar el grado de ionización de los componentes de la muestra. La adición de estos modificadores orgánicos al amortiguador generalmente provoca una disminución del flujo electroosmótico.		
Aditivos para separaciones quirales. Para la separación de enantiómeros, se añade un selector quiral al amortiguador de separación. Los selectores quirales más comúnmente utilizados son las ciclodextrinas, aunque también pueden emplearse éteres corona, polisacáridos y proteínas. Dado que el reconocimiento quiral está gobernado por las diferentes interacciones entre el selector quiral y cada uno de los enantiómeros, la resolución alcanzada para los compuestos quirales depende en gran medida del tipo de selector quiral empleado.		
En este sentido, para el desarrollo de una separación determinada puede ser útil evaluar ciclodextrinas con diferente tamaño de cavidad (α -, β - o γ -ciclodextrina) o ciclodextrinas modificadas con grupos neutros (metilo, etilo, hidroxialquilo, etc.) o grupos ionizables (aminometilo, carboximetilo, éter sulfobutilo, etc.). Al utilizar ciclodextrinas modificadas, deben tenerse en cuenta las variaciones entre lotes en el grado de sustitución, ya que esto influirá en la selectividad.		
Otros factores que controlan la resolución en separaciones quirales son la concentración del selector quiral, la composición y el pH del amortiguador, así como la temperatura. El uso de		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
aditivos orgánicos, como metanol o urea, también puede modificar la resolución alcanzada.		
Electroforesis Capilar en Gel, (ECG). Se emplean capilares llenos con gel para separar moléculas en base a sus diferencias relativas en cuanto a su respectivo peso o tamaño molecular. La presencia del gel tiene la ventaja de reducir significativamente la adsorción de proteínas en la pared interior del capilar y disminuir el flujo electrosmótico, lo cual reduce los efectos de coqueo de pico. Moléculas con relaciones masa/carga similares se separan de acuerdo a su tamaño, las más pequeñas se mueven más libremente a través de la red de gel y migran más rápido que las moléculas más grandes. Dos tipos de geles se utilizan, los permanentes y los dinámicos. Los geles permanentes como es la red de poliacrilamida, se prepara dentro del capilar por polimerización de los monómeros; generalmente está unido a la pared interna del capilar y no puede ser removido sin destruir el capilar. La porosidad del gel afecta la separación de las moléculas y se puede modificar cambiando la concentración de acrilamida o la proporción del agente polimerizante. Dada la rigidez de los geles permanentes, solo se puede emplear la introducción electrocinética (con voltaje) de la muestra.		
Los geles dinámicos son polímeros hidrofílicos como la celulosa, dextrán, poliacrilamida lineal, etc., los cuales pueden emplearse disueltos en el		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
electrolito soporte. El reemplazar el gel antes de cada inyección generalmente mejora la reproducibilidad de la separación. La porosidad del gel puede ser aumentada empleando polímeros de mayor masa molecular o disminuyendo la concentración del polímero. Debido a que la solución de los polímeros en el electrolito soporte origina soluciones de baja viscosidad, la introducción de la muestra puede ser hidrodinámica o electrocinética.		
Enfoque isoelectrico capilar (EIC). Se utiliza principalmente para la separación de proteínas, ya que los analitos se separan en función de las diferencias en sus puntos isoelectricos relativos. La separación se logra creando un gradiente de pH dentro del capilar, donde el pH ácido se encuentra en el ánodo y el pH alcalino en el cátodo. Este gradiente se establece al aplicar un voltaje a un capilar lleno con una mezcla de sustancias anfotéricas (ácidos poliaminocarboxílicos) que poseen diferentes valores de punto isoelectrico.		
La separación consta de tres etapas principales:		
1. <i>Introducción de la muestra.</i> Una opción consiste en mezclar la muestra con los anfolitos e introducirla al capilar mediante presión o vacío; otra alternativa es introducir primero el electrolito líder, luego los anfolitos, después la mezcla de muestra con anfolitos y finalmente el electrolito terminal. En este caso, la cantidad de muestra debe ser lo suficientemente pequeña para no alterar el gradiente de pH.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
2. Paso de concentración. Cuando se aplica el voltaje, los anfolitos migran hacia el cátodo o el ánodo de acuerdo con su carga, generando el gradiente de pH —ácido en el ánodo y alcalino en el cátodo—. Los componentes de la muestra migran hasta alcanzar el pH correspondiente a su punto isoeléctrico (pI).		
3. Movilización. Si se requiere la movilización para la detección, esta puede realizarse mediante tres métodos diferentes, según las condiciones del análisis y el diseño experimental. En el primer método, la movilización se logra durante la etapa de enfoque, aprovechando la influencia del flujo electroosmótico, siempre que este sea lo suficientemente pequeño como para permitir la adecuada concentración de los componentes. En el segundo método, la movilización se lleva a cabo aplicando una presión positiva una vez finalizado el enfoque. Finalmente, en el tercer método, la movilización se obtiene después del enfoque mediante la adición de sales al recipiente del ánodo o del cátodo, dependiendo del sentido de movilización deseado. Esta adición provoca un cambio en el pH dentro del capilar cuando se aplica el voltaje, lo que induce el desplazamiento de las proteínas y los anfolitos hacia el recipiente que contiene las sales agregadas, permitiendo su paso por el detector.		
Una forma práctica de movilización es disminuir, pero no eliminar, el flujo electroosmótico (EOF), de		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
modo que sea este flujo el que arrastre los analitos hacia el detector.		
La resolución de la separación, expresada como ΔpI , depende del gradiente de pH (dpH/dx), del número de anfolitos con diferentes puntos isoeléctricos, del coeficiente de difusión molecular (D), de la intensidad del campo eléctrico (E) y de la variación de la movilidad electroforética del analito en función del pH ($-d\mu/dpH$). Esta relación puede expresarse de forma simplificada mediante la siguiente ecuación:		
$\Delta pI = 3 \sqrt{\frac{D \cdot (dpH/dx)}{E \cdot (-d\mu/dpH)}}$		
Donde:		
ΔpI = resolución en términos de punto isoeléctrico,		
D = coeficiente de difusión molecular del analito,		
dpH/dx = gradiente de pH a lo largo del capilar,		
E = intensidad del campo eléctrico,		
$-d\mu/dpH$ = variación de la movilidad electroforética con respecto al pH.		
Para optimizar el proceso de separación, es importante considerar diversos parámetros experimentales. Durante el enfoque, se recomienda aplicar campos eléctricos elevados, generalmente entre 300 y 1000 V/cm, con el fin de favorecer una mejor resolución. Según la estrategia de movilización seleccionada, el flujo electroosmótico debe reducirse o eliminarse; para ello, los capilares recubiertos resultan útiles, ya		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
que disminuyen de manera significativa este flujo no deseado.		
En cuanto a las soluciones empleadas, el recipiente correspondiente al ánodo debe contener una solución amortiguadora con un pH inferior al punto isoeléctrico del anfolito más ácido, mientras que el recipiente del cátodo debe tener una solución de pH superior al punto isoeléctrico del anfolito más básico. Es común utilizar ácido fosfórico en el ánodo e hidróxido de sodio en el cátodo.		
La adición de polímeros como la metilcelulosa a la solución de anfolitos ayuda a suprimir las fuerzas convectivas y el flujo electroosmótico al incrementar la viscosidad del medio. Existen anfolitos comerciales que abarcan distintos intervalos de pH, los cuales pueden mezclarse para ampliar el rango de separación. Los intervalos amplios de pH se utilizan principalmente para estimar el punto isoeléctrico, mientras que los rangos más estrechos permiten mejorar la exactitud del análisis.		
La calibración del sistema puede realizarse correlacionando el tiempo de migración con el punto isoeléctrico de una serie de marcadores estándar de proteínas. Durante la etapa de enfoque, también es posible prevenir la precipitación de proteínas en su punto isoeléctrico mediante la adición de glicerol, tensioactivos, urea o amortiguadores zwitteriónicos. No obstante, debe tenerse precaución con la concentración de urea,		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
ya que a niveles elevados puede provocar la desnaturalización de las proteínas.		
Cromatografía electrocinética micelar (CEM). En esta modalidad los tensoactivos son adicionados al electrolito soporte por arriba de su concentración micelar crítica a fin de que formen micelas en el medio. Las micelas proveen una fase pseudoestacionaria en donde los analitos tienen un proceso de partición entre la micela y la solución amortiguadora. La técnica es considerada un híbrido de cromatografía y electroforesis y es adecuada para la separación de especies neutras y cargadas, manteniendo la eficiencia, rapidez y características propias de la electroforesis capilar. El tensoactivo más empleado es el dodecil sulfato de sodio (DSS), el cual es un surfactante aniónico, sin embargo se pueden usar los indicados en la <i>tabla 0312.1</i> .		
<i>Tabla 0312.1.</i> Surfactantes comúnmente empleados en CEM.		

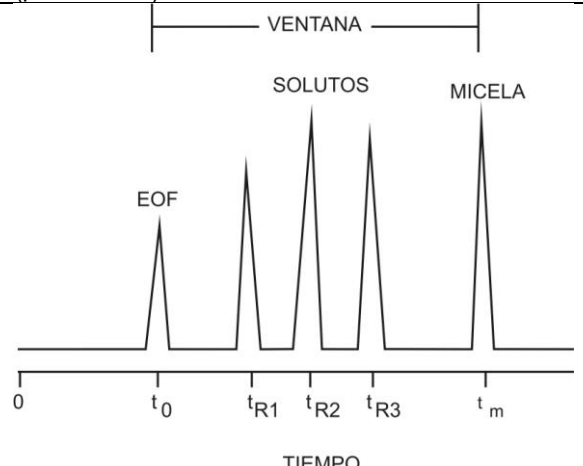


“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice				Debe decir	Justificación*																							
<table><tr><th colspan="2">Surfactantes</th><th>CMC (mM)</th><th>n.º de agregación</th></tr><tr><td>Aniónicos</td><td>Dodecil sulfato de sodio (DSS)</td><td>8.2</td><td>62</td></tr><tr><td rowspan="2">Catiónicos</td><td>Bromuro de cetiltrimetilamonio (BCTA)</td><td>1.3</td><td>78</td></tr><tr><td>Bromuro de dodeciltrimetilamonio (BDTA)</td><td>14.0</td><td>50</td></tr><tr><td>No Iónicos</td><td>Triton X-100</td><td>0.24</td><td>140</td></tr><tr><td>Zwiteriónicos</td><td>Sulfonato de 3-[(3-Colamidopropil)dimetilamonio]-1-propano (CHAPS)</td><td>8.0</td><td>10</td></tr></table>				Surfactantes		CMC (mM)	n.º de agregación	Aniónicos	Dodecil sulfato de sodio (DSS)	8.2	62	Catiónicos	Bromuro de cetiltrimetilamonio (BCTA)	1.3	78	Bromuro de dodeciltrimetilamonio (BDTA)	14.0	50	No Iónicos	Triton X-100	0.24	140	Zwiteriónicos	Sulfonato de 3-[(3-Colamidopropil)dimetilamonio]-1-propano (CHAPS)	8.0	10		
Surfactantes		CMC (mM)	n.º de agregación																									
Aniónicos	Dodecil sulfato de sodio (DSS)	8.2	62																									
Catiónicos	Bromuro de cetiltrimetilamonio (BCTA)	1.3	78																									
	Bromuro de dodeciltrimetilamonio (BDTA)	14.0	50																									
No Iónicos	Triton X-100	0.24	140																									
Zwiteriónicos	Sulfonato de 3-[(3-Colamidopropil)dimetilamonio]-1-propano (CHAPS)	8.0	10																									
El mecanismo de separación, empleando DSS se puede resumir de la siguiente manera: empleando un pH neutro o alcalino, el EOF generado es fuerte y mueve a los iones del electrolito soporte hacia el cátodo. Las micelas de DSS son aniónicas y se mueven hacia el ánodo en dirección opuesta al EOF por lo que la velocidad de migración de las micelas es menor en comparación con la solución amortiguadora ya que se oponen al EOF. El analito neutro sufre una partición entra la micela y la solución acuosa y no tiene movilidad propia, por lo que su velocidad de migración depende solo de su coeficiente de partición (figura 0312.3).																												
+ ÁNODO + MOLÉCULAS 0 NEUTRAS + → + ← = → - CÁTODO μ_{ef} μ_{EOF} μ_m μ_{ap}																												



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Figura 0312.3. Migración de un analito neutro en presencia de micelas aniónicas y un EOF fuerte (pH alcalino). 		
Figura 0312.4. Electroferograma tipo para una separación por CEM.		
En el electroferograma (véase figura 0312.4), el primer pico en aparecer es el del marcador del EOF y el último pico es el de las micelas de DSS. Los picos correspondientes a los analitos neutros salen entre los picos del EOF y las micelas, a esta zona se la llama ventana de separación.		
Para analitos cargados, la velocidad de migración depende tanto del coeficiente de partición del soluto entre la micela y la solución amortiguadora, como de la movilidad electroforética del soluto por sí solo.		
El tipo de tensoactivo empleado y su concentración afecta la resolución debido a que modifica la		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
selectividad de la separación. El pH no modifica en coeficiente de partición de solutos no ionizables pero puede modificar el EOF. El uso de aditivos orgánicos como metanol, propanol, acetonitrilo, etc., para mejorar la separación de compuestos hidrófobos causa generalmente una disminución en el tiempo de migración y en la selectividad de la separación, afectando además la concentración crítica micelar, por lo que deben de emplearse solo hasta ciertos porcentajes a fin de evitar que se rompan las micelas o no se formen en absoluto. La adición de ciclodextrinas puede también reducir la interacción de analitos hidrófobos con las micelas, aumentando la selectividad para este tipo de compuestos y además puede ayudar en la separación de enantiómeros, como ya se mencionó.		
Dado que el mecanismo en la cromatografía electrocinética micelar (CEM) de solutos neutros y débilmente ionizados es esencialmente cromatográfico, la migración del soluto y la resolución pueden racionalizarse en términos del factor de retención del soluto (k'), también denominado cociente de distribución másica (D_m), que es la relación entre el número de moles de soluto en la micela y aquellos en la fase móvil.		
Para un compuesto neutro, k' se expresa como:		
$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0 \times \left(1 - \frac{t_R}{t_{mc}}\right)} = K \times \frac{V_s}{V_M}$		
t_R = tiempo de migración del soluto		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
t_0 = tiempo de análisis de un soluto no retenido (determinado inyectando un marcador de flujo electroosmótico que no entra en la micela, por ejemplo, metanol)		
t_{mc} = tiempo de migración de la micela (medido inyectando un marcador de micela, como Sudan III, que migra asociado continuamente en la micela)		
K = coeficiente de partición del soluto		
V_S = volumen de la fase micelar		
V_M = volumen de la fase móvil		
De igual manera, la resolución entre dos solutos que migran cercanamente (R_s) se expresa mediante:		
$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k'_b}{k'_b + 1} \times \frac{1 - \left(\frac{t_0}{t_{mc}}\right)}{1 + k'_a \times \left(\frac{t_0}{t_{mc}}\right)}$		
N = número de platos teóricos para uno de los solutos		
α = selectividad		
k'_a y k'_b = factores de retención de ambos solutos, respectivamente ($k'_b > k'_a$).		
Ecuaciones similares, aunque no idénticas, proporcionan los valores de k' y R_s para solutos con carga eléctrica.		
Optimización Los principales parámetros a considerar en el desarrollo de separaciones por CEM son los parámetros instrumentales y los de la solución electrolítica.		
Parámetros instrumentales		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Voltaje. El tiempo de separación es inversamente proporcional al voltaje aplicado. Sin embargo, un aumento en el voltaje puede producir un exceso de calor que da lugar a gradientes de temperatura y de viscosidad del amortiguador en la sección transversal del capilar. Este efecto puede ser significativo con amortiguadores de alta conductividad, como aquellos que contienen micelas. Una disipación deficiente del calor provoca ensanchamiento de bandas y disminuye la resolución.		
Temperatura. Las variaciones en la temperatura del capilar afectan el coeficiente de partición del soluto entre el amortiguador y las micelas, la concentración micelar crítica y la viscosidad del amortiguador. Estos parámetros influyen en el tiempo de migración de los solutos. El uso de un buen sistema de enfriamiento mejora la reproducibilidad del tiempo de migración de los solutos.		
Capilar. Al igual que en la electroforesis capilar de zona, las dimensiones del capilar (longitud y diámetro interno) contribuyen al tiempo de análisis y a la eficiencia de las separaciones. El aumento tanto de la longitud efectiva como de la longitud total puede disminuir el campo eléctrico (a voltaje constante), lo que incrementa el tiempo de migración y mejora la eficiencia de la separación. El diámetro interno controla la disipación de calor (para un amortiguador y campo eléctrico dados) y,		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
en consecuencia, el ensanchamiento de banda de la muestra.		
Parámetros de la solución electrolítica		
Tipo y concentración de tensoactivo. El tipo de tensoactivo, de forma análoga a la fase estacionaria en cromatografía, afecta la resolución al modificar la selectividad de la separación. El log k' de un compuesto neutro aumenta linealmente con la concentración de tensoactivo en la fase móvil. La resolución en CEM alcanza un máximo cuando k' se aproxima al valor de la raíz cuadrada de (t_{mc} / t_0), por lo que ajustar la concentración de tensoactivo en la fase móvil modifica directamente la resolución obtenida.		
pH del amortiguador. Aunque el pH no modifica el coeficiente de partición de los solutos no ionizados, sí afecta el flujo electroosmótico en capilares sin recubrimiento. Una disminución en el pH del buffer reduce el EOF y, por tanto, incrementa la resolución de los solutos neutros, a costa de un mayor tiempo de análisis.		
Disolventes orgánicos. Para mejorar la separación de compuestos hidrofóbicos, se pueden añadir modificadores orgánicos (metanol, propanol, acetonitrilo, etc.) al buffer electrolítico. Estos modificadores suelen reducir el tiempo de migración y la selectividad. Sin embargo, afectan la concentración micelar crítica, por lo que una determinada concentración de tensoactivo solo puede utilizarse dentro de un rango específico de modificador orgánico antes de que la micelización		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
se inhiba o altere negativamente. La disociación de micelas en presencia de un alto contenido de disolventes orgánicos no siempre significa que la separación sea imposible; en algunos casos, la interacción hidrofóbica entre el monómero del tensoactivo iónico y los solutos neutros da lugar a complejos hidrofóbicos que pueden separarse electroforéticamente.		
Aditivos para separaciones quirales. Para la separación de enantiómeros mediante CEM, se puede añadir un selector quiral al sistema micelar, ya sea covalentemente unido al tensoactivo o incorporado al electrolito micelar. Ejemplos de micelas con propiedades de discriminación quiral incluyen sales de N-dodecanoil-L-aminoácidos y sales biliares. También puede lograrse resolución quiral mediante el uso de discriminadores quirales, como ciclodextrinas, añadidos a las soluciones electrolíticas que contienen tensoactivos aquirales micelizados.		
Otros aditivos. Pueden emplearse diversas estrategias para modificar la selectividad mediante la adición de compuestos químicos al amortiguador. La incorporación de varios tipos de ciclodextrinas al buffer también puede usarse para reducir la interacción de los solutos hidrofóbicos con la micela, aumentando así la selectividad para este tipo de compuestos.		
La adición de sustancias capaces de modificar las interacciones soluto-micela mediante su adsorción en esta última se utiliza para mejorar la		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

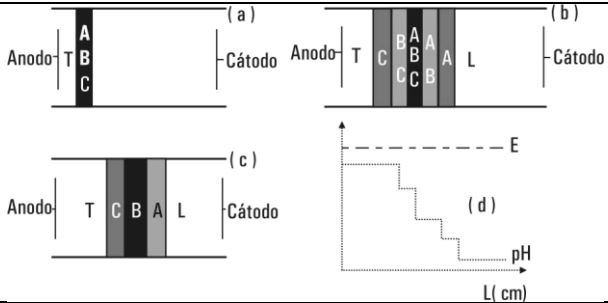
Dice	Debe decir	Justificación*
selectividad de las separaciones en CEM. Estos aditivos pueden ser un segundo tensoactivo (iónico o no iónico), que dé lugar a micelas mixtas, o cationes metálicos que se disuelven en la micela y forman complejos de coordinación con los solutos.		
Isotacoforesis Capilar (ITC). En esta modalidad, dos diferentes soluciones amortiguadoras encierran la zona de la muestra: el electrolito líder y el electrolito terminal, y el campo eléctrico no es homogéneo dada la diferente composición de las zonas. Es una técnica de separación por desplazamiento, donde no se obtienen picos, sino escalones debido a que los analitos se concentran en una zona cuya longitud es proporcional a su cantidad (véase figura 0312.5). Solamente cationes o aniones pueden ser analizados a la vez. Esta modalidad se emplea generalmente para concentrar la muestra previo análisis por otra de las modalidades mencionadas. Antiguamente, la isotacoforesis capilar (ITC) se empleaba como técnica de separación, aunque actualmente ha sido reemplazada por métodos más eficientes como la electroforesis capilar de zona (CZE) y el enfoque isoeléctrico capilar (CIEF), recomendados por las farmacopeas vigentes.		
Se utiliza básicamente para la separación de proteínas. Los analitos se separan debido a las diferencias que tienen en cuanto a sus puntos isoeléctricos relativos. La separación se logra creando un gradiente de pH dentro del capilar, donde el pH ácido se ubica en el ánodo y el		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
alcalino en el cátodo. El gradiente de pH se establece aplicando voltaje a un capilar lleno con una mezcla de sustancias anfotéricas (ácidos poliaminocarboxílicos) que poseen diferentes valores de punto isoelectrico. La separación consta de tres pasos: Introducción de la muestra. Una opción es mezclar la muestra con los anfóteros e introducida al capilar por presión o vacío, o bien, introducir el electrolito líder, luego los anfolitos, después la mezcla de muestra con anfolitos y finalmente el electrolito terminal; la cantidad de muestra en esta opción debe de ser lo suficientemente pequeña para no modificar el gradiente de pH. Paso de concentración. Cuando se aplica el voltaje, los anfolitos migran hacia el cátodo o ánodo de acuerdo a su carga, creando el gradiente de pH; en el ánodo pH ácido y en el cátodo pH alcalino. Los componentes de la muestra migran hasta alcanzar el pH correspondiente a su punto isoelectrico (pI).		
Movilización. Una manera es disminuir pero no eliminar el EOF a fin de que sea este flujo el que mueva los analitos hacia el detector. Una vez terminada el paso de concentración, una opción es aplicar una presión positiva o bien, agregar sales al vial o deposito ubicado en el cátodo o ánodo (dependiendo hacia donde se requiera la movilización) a fin de modificar el valor de pH en el capilar cuando se aplique de nuevo voltaje. Las proteínas y anfolitos se mueven hacia el depósito al cual se le adicionaron las sales.		

“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
		
Figura 0312.5. Esquema representativo de la separación por isotacoforesis capilar.		
Durante el paso de concentración la precipitación de proteínas en la zona de su punto isoeléctrico debe de prevenirse.		
Cuantificación y cálculos		
La cuantificación se realiza midiendo las áreas de los picos obtenidos en el electroferograma. Para compensar posibles variaciones en el tiempo de migración entre corridas, las áreas se corrigen dividiéndolas entre su respectivo tiempo de migración, obteniendo así el área corregida. Este procedimiento también permite compensar las diferencias en la respuesta de los distintos constituyentes de la muestra, que pueden presentar tiempos de migración variables.		
Cuando se emplee un estándar interno, debe verificarse que éste no enmascare ninguno de los picos correspondientes a la sustancia en estudio.		
A partir de los valores obtenidos, se calcula el contenido del componente o componentes presentes en la muestra. Cuando así se indique, el		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
porcentaje de cada componente puede determinarse calculando las áreas corregidas de los picos individuales como porcentaje de la suma total de las áreas corregidas, excluyendo los picos atribuibles a disolventes o reactivos agregados. Este procedimiento se conoce como normalización:		
$\text{Porcentaje del componente} = \frac{A_i/t_i}{\sum(A_n/t_n)} \times 100$		
Donde:		
A _i = área del pico del componente i		
t _i = tiempo de migración del componente i		
Se recomienda emplear un sistema automático de integración o adquisición de datos, que facilite la obtención precisa de los parámetros cromatográficos.		
Aptitud del sistema		
Para verificar el desempeño del sistema de electroforesis capilar, deben evaluarse los parámetros de aptitud del sistema. La selección de estos parámetros dependerá del tipo de técnica electroforética utilizada (por ejemplo, CZE, CIEF o CEM). Los parámetros más comunes incluyen:		
- Número aparente de platos teóricos (N) - Factor de simetría (A) - Resolución (R) - Relación señal-ruido (S/N) - Repetibilidad del tiempo y del área de migración		
Número aparente de platos teóricos		
El número aparente de platos teóricos (N) se calcula a partir de la ecuación:		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
$N = 5.54 (t_R/w_h)^2$		
donde:		
t_R = tiempo de migración del componente (medido desde el punto de inyección hasta la perpendicular trazada desde el máximo del pico),		
w_h = ancho del pico a la mitad de su altura.		
Este parámetro refleja la eficiencia del sistema de separación.		
Resolución		
La resolución (R) entre dos picos de alturas similares se determina mediante:		
$R = 1.18 (t_{R2} - t_{R1})/(w_{h1} + w_{h2})$		
$t_{R2} > t_{R1}$		
donde:		
t_{R1} y t_{R2} = tiempos de migración de los dos picos adyacentes,		
w_{h1} y w_{h2} = anchos de los picos a la mitad de su altura,		
Cuando los picos no están completamente resueltos, la resolución puede estimarse a partir de la relación pico/valle (p/v):		
$p/v = HP/HV$		
donde:		
HP= altura del valle entre dos picos parcialmente resueltos,		
HV = altura del pico más pequeño.		
Factor de simetría		
El factor de simetría (A) de un pico se calcula mediante la siguiente expresión:		
$AS = w_{0.05}/2d$		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Donde:		
W0.05 = ancho del pico a una veinteava parte de su altura,		
d = distancia entre la perpendicular trazada desde el máximo del pico y el borde frontal del mismo (a una veinteava parte de su altura).		
Un valor de AS cercano a 1 indica un pico simétrico; valores mayores reflejan colas, y menores, picos frontales.		
Repetibilidad		
La repetibilidad del sistema se evalúa determinando la desviación estándar de los tiempos de migración y de las áreas (o áreas corregidas). La repetibilidad del tiempo de migración es particularmente útil para comprobar la consistencia del procedimiento de lavado del capilar. Para mejorar la precisión, puede emplearse el tiempo de migración relativo al estándar interno.		
Relación señal-ruido		
Una prueba para verificar la relación señal-ruido de una preparación estándar o para determinar el límite de cuantificación puede ser útil para la determinación de sustancias relacionadas. El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) corresponden a una relación señal-ruido de 3 y 10, respectivamente. La señal-ruido (S/N) se calcula de la siguiente manera:		
$S/N = 2H/h$		
Donde:		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
H = altura del pico correspondiente al analito (medida desde el máximo del pico hasta la línea base extrapolada, sobre una distancia equivalente a 20 veces el ancho del pico a la mitad de su altura),		
h = amplitud del ruido de fondo, medida en una zona equivalente en un electroferograma de blanco.		
Por convención:		
• Límite de detección (LOD): S/N=3		
• Límite de cuantificación (LOQ): S/N=10		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.