

## ***I. Localización de la tesis***

La importancia de las técnicas de separación es notoria dentro de la Química y en especial en la Química Analítica. La gran importancia y desarrollo de la cromatografía ha conducido a una división de las técnicas de separación en técnicas cromatográficas y no cromatográficas. Las técnicas cromatográficas son aquellas que separan mezclas de analitos en función de su diferente velocidad de desplazamiento al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o gas) a través de un fase estacionaria (líquida o sólida). Estas técnicas sobretodo la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de gases (GC) son técnicas ampliamente establecidas en los laboratorios de análisis y han reducido en gran medida el uso de las técnicas de separación no cromatográficas.

La electroforesis es en sus orígenes una técnica de separación no cromatográfica basada en el fenómeno de la migración diferencial. Este fenómeno podemos describirlo como la diferente velocidad que presentan partículas cargadas cuando se las somete a la acción de un campo eléctrico. El uso de la electroforesis como técnica de separación podemos situarlo en los trabajos de Tiselius a finales de los años treinta. Es por tanto, una técnica conocida y aplicada desde hace tiempo pero que llamó muy poco la atención del químico analítico. Este desinterés es consecuencia de que en disolución el fenómeno de la migración no puede aislarse de otros fenómenos de transporte indeseados como la convección o la difusión térmica. Estos inconvenientes fueron solucionados en parte llevando a cabo la separación electroforética en un medio anticonvectivo (básicamente geles) y sobre un soporte plano, dando lugar a la slab-gel electrophoresis. La falta de eficiencia en la separación, los largos tiempos de análisis y las dificultades en la detección y automatización provocaron que la técnica tuviera un campo de aplicación reducido (básicamente separación de macromoléculas) y usada para el análisis cualitativo o semicuantitativo.

El desarrollo actual de la electroforesis se debe a la utilización de un nuevo soporte donde llevar a cabo la separación: los capilares de sílice fundida. Como estos capilares son de un diámetro interno muy reducido y de un material anticonvectivo no es necesario el uso de geles. Además permiten la detección en el mismo capilar y el uso de pequeños volúmenes de muestra lo que permite de forma indirecta la fácil automatización de equipos. Esta innovación técnica introducida por Hjerten en 1967 y la descripción del fundamento teórico por parte de Jorgenson a principios de la década de los 80 disparó el interés por la técnica (rebautizada como electroforesis capilar) e impulsó la comercialización de los primeros equipos automatizados a finales de esa década. Desde entonces, los mecanismos de separación de la técnica han sido ampliados, dando lugar a diversos modos de operación, y consecuentemente también el campo de aplicación. La técnica ha sido aplicada al análisis alimentario, farmacéutico, bioquímico o medioambiental

y constituye una técnica alternativa en muchos casos para aplicaciones que tradicionalmente se han llevado a cabo mediante cromatografía de líquidos, de gases o de intercambio iónico.

En la actualidad, la técnica ha alcanzado un estadio de madurez y prueba de ello es su paulatina aplicación en diversos campos industriales y la aceptación de los primeros métodos oficiales de análisis. Sin embargo, la utilización de la electroforesis capilar como técnica de análisis en rutina para resolver problemas analíticos reales es menor de lo que se podría prever a partir del gran número de artículos de investigación publicados o de las expectativas de los fabricantes de equipos. Una posible explicación de este hecho es la falta de aplicaciones convincentes y la inercia existente a continuar utilizando otras técnicas analíticas más establecidas. Es en esta línea donde se enfoca esta tesis que pretende mostrar la capacidad de la técnica para resolver problemas de interés en diversos campos como el medioambiental o el farmacéutico.

## **1. Objetivos y contenido de la tesis**

El objetivo de esta tesis es desarrollar y aplicar nuevos métodos de análisis mediante electroforesis capilar (CE). Estos métodos propuestos, son en general, una alternativa a métodos convencionales bien por que presentan una mayor rapidez de análisis o una mejor capacidad de resolución. Se pretende probar la potencia y versatilidad de la técnica para el análisis de compuestos neutros y cargados de interés medioambiental y farmacéutico. En el caso concreto del análisis de preparados farmacéuticos, se intenta demostrar que la CE es una técnica adecuada para el control de calidad de la industria farmacéutica tanto en el análisis de contenido de principio activo como de sustancias relacionadas e impurezas.

El trabajo experimental de esta tesis se puede dividir en tres bloques. En un primer bloque, la CE ha sido aplicada como técnica de seguimiento de la oxidación de un blanqueante óptico con el hipoclorito. En un segundo bloque se aplica la técnica al control de calidad de un preparado farmacéutico que contiene tres broncodilatadores de la familia de las alquixantinas. Previamente, se ha evaluado el comportamiento electroforético de esta familia de principios activos usando diversos modos de operación. Finalmente, se estudia la capacidad de la CE para la resolución enantiomérica de compuestos quirales. En un primer trabajo se revisa críticamente la bibliografía sobre las separaciones quirales mediante CE y se proponen criterios para la correcta elección del selector quiral (agente responsable de la discriminación enantiomérica). Los otros trabajos son dos aplicaciones cuantitativas al control de la pureza enantiomérica de un producto acabado o de un producto sometido a un test de estabilidad previo a su comercialización.

Esta memoria se presenta en forma de compendio de trabajos publicados tal y como esta universidad permite. Este formato más moderno, según marca la normativa, contiene unos objetivos, una introducción, una discusión global de los resultados, unas conclusiones generales y unos anexos. En esta memoria los objetivos se exponen en este capítulo y la introducción se divide en tres capítulos donde se comentan los aspectos más relevantes de la técnica, de las separaciones quirales y del blanqueo óptico de tejidos. En la parte de metodología y discusión global de los resultados se justifica la unidad temática de la tesis y se discute de forma conjunta los resultados obtenidos en los distintos trabajos. Finalmente, se incorporan las conclusiones más destacables de la tesis y se presentan en forma de artículo los trabajos publicados o en fase de publicación.