

Diseño y evaluación de un equipo de electroforesis de zona, construido con materiales de bajo costo

Design and to evaluate a zone electrophoresis apparatus, using materials of low cost

Daniel E. Rojas J.

danielchemicaljreds@gmail.com

danieljreds@hotmail.com

Unidad Educativa Nacional Miguel Antonio Caro. Caracas

RESUMEN

El propósito fue diseñar, construir y evaluar un equipo de electroforesis de zona, utilizando materiales de bajo costo, para ser empleado como técnica de separación de especies químicas. Este equipo representa una solución viable para utilizarlo en experiencias de laboratorio de los centros educativos. La fase de diseño y construcción del equipo propició la búsqueda de materiales de bajo costo, fiables y de fácil adquisición, teniendo un costo de 58,8 bolívares fuertes (73,25 \$) para el año 2003. Se evaluó con una separación de aminoácidos y comparando los resultados con un equipo comercial Shandon UNIKIT.

Palabras clave: *Equipo; electroforesis; técnica de separación; especies químicas*

ABSTRACT

The porpuse was to designed, to build and to evaluate a zone electrophoresis apparatus, using materials of low cost, to be employed as a technique for separation of chemical species. This apparatus represents a viable solution to be used in laboratory experiences of educational centers. The design and construction phase consisted on the search of materials of low cost, reliable and easy obtention, having a cost of B^s 58,80 (73,25 \$) for 2003 year. It was evaluated to separation of amino acids, comparing the results with a commercial apparatus Shandon UNIKIT.

Key words: *Kit; electrophoresis; technique for separation; chemical species*

INTRODUCCIÓN

La electroforesis es una técnica utilizada para hacer separaciones de mezclas complejas y facilitar los análisis, permite hacer separaciones a niveles de microgramo de sustancias ionizables (Smith y Feinberg, 1965). La electroforesis se ha aplicado para resolver problemas en la separación de macromoléculas de interés en la industria biotecnológica y en las investigaciones de biólogos y bioquímicos por su gran poder resolutivo y su utilidad para lograr separaciones de componentes de mezclas complejas entre las que destaca: aniones y cationes inorgánicos, aminoácidos, catecolaminas, fármacos, vitaminas, carbohidratos, péptidos, proteínas, aminoácidos, ácidos nucleicos, nucleótidos (Skoog, James Holler y Nieman, 2001).

A pesar de su extensa aplicación, los componentes del equipo son de elevado costo, por lo que la aplicación del método, por parte de los químicos y en centros educativos, se ha retrasado. En este sentido, la presente investigación tuvo como propósito diseñar, construir, y evaluar un equipo de electroforesis de zona con materiales de bajo costo, como alternativa de solución a la falta de una instrumentación sencilla y fiable, la cual permita realizar prácticas de laboratorios donde esté inmersa ésta técnica de separación en los diferentes centros educativos, tanto a nivel de Secundaria, como en la Universidad.

Según confirma Mathews (1998), al aplicar un campo eléctrico a una disolución, las moléculas de soluto con carga eléctrica neta positiva se desplazan hacia el cátodo y las moléculas con carga negativa se desplazan hacia el ánodo. Este desplazamiento se denomina *electroforesis*.

Para Bohinski (1987) la electroforesis implica el movimiento de una partícula cargada eléctricamente (ion) en un campo eléctrico. El movimiento de las partículas se realiza en un medio líquido que está sometido por una sustancia sólida inerte, como por ejemplo papel o gel.

La electroforesis es una técnica analítica que puede definirse como un

proceso en el cual las especies químicas cargadas eléctricamente (iones, partículas y coloides) se separan en función de sus distintas velocidades de migración en un campo eléctrico (Skoog, y otros, 1998/1995). En tal sentido, sus métodos de aplicación surgen como una poderosa herramienta de separación (Koper, 1998). Esto se debe a que los métodos electroforéticos a escala analítica son de alta sensibilidad y poseen un gran poder de resolución y versatilidad (García, 2000), por lo que los métodos analíticos clásicos o tradicionales han sido desplazados a un segundo plano en los análisis químicos.

La electroforesis, de acuerdo con el medio donde es posible la migración de las partículas para su separación, se puede clasificar en: electroforesis sobre papel; electroforesis sobre gel y electroforesis capilar. En esta clasificación también entra en juego el diseño del instrumento, ya que los equipos utilizados difieren en algunos de sus componentes.

Según Skoog y otros (2001) las separaciones electroforéticas se pueden realizar considerando dos modalidades: (a) electroforesis convencional y (b) electroforesis capilar. La primera modalidad, se basa en una metodología clásica donde las separaciones se llevan a cabo sobre una capa delgada y plana o una placa de un gel semisólido y poroso. Y en la segunda, las separaciones ocurren dentro de un capilar de sílice, en esta última modalidad parece ser el sustituto de la electroforesis convencional, porque permite obtener resultados más satisfactorios.

Suele emplearse para separar mezclas de moléculas pequeñas cargadas eléctricamente. Se extiende un trozo de papel de filtro humedecido con una disolución tampón (buffer) para controlar el pH, entre dos cubetas que contienen electrodos. Se coloca en el punto medio del papel una gota de la mezcla que se va a analizar y se aplica la corriente eléctrica. Cuando ha transcurrido un período de tiempo suficiente, lo que puede durar horas, se retira el papel, se seca y se tiñe con un colorante que le proporciona un tono específico a las sustancias que se analizan (Mathews, 1998).

En relación a la electroforesis en gel, es importante señalar que un gel en forma de lámina se coloca entre dos placas de cristal que contengan la disolución tampón adecuada. Los materiales que se utilizan para la fabricación del gel son la poliacrilamida, un polímero reticulado soluble en agua y la aarosa, un plisacárido. La lámina se sitúa entre los compartimientos de los electrodos y en el punto medio del gel se coloca cuidadosamente una pequeña cantidad de muestra en un orificio que se hace previamente en la parte superior del gel, para así aplicar el campo eléctrico (Mathews, 1998).

En relación a la electroforesis capilar, como su nombre lo indica, separa especies dentro de un capilar perforado lleno de un electrolito, el embalse que contiene los electrolitos posee electrodos conectados a una fuente de poder de alto voltaje. En el análisis son separados los componentes a través de la migración dentro del capilar hacia secciones opuestas, debido a sus cargas también opuestas, donde son registrados por un detector de señal electrónica. Se emplea para separaciones de sustancias neutras o iones cargados eléctricamente (Wher y otros, 1999).

De acuerdo a los señalamientos de Skoog y otros (2001), la electroforesis se ha aplicado para separaciones analíticas difíciles de lograr por otros métodos, entre las que destaca: aniones y cationes inorgánicos, aminoácidos, fármacos, vitaminas, carbohidratos entre muchas otras sustancias. Su ventaja radica en la capacidad de separar macromoléculas de interés para la industria biotecnológica y en las investigaciones biológicas y bioquímicas, por su alta resolución.

La electroforesis se aplica en laboratorios para el análisis de proteínas en suero sanguíneo, indicando la proporción relativa de cada fracción de proteína; también se utiliza en la determinación de la cantidad de lipoproteínas, como el colesterol. De acuerdo a lo que señala Bohinski (1987) se utilizan tiras de acetato de celulosa para los análisis cuantitativos de las proteínas en los laboratorios.

MÉTODO

El presente estudio se refiere a un proyecto factible que implicó elaborar una alternativa de solución ante la ausencia del instrumental necesario, en los centros educativos, para la aplicación de esta técnica de separación. Su diseño y validación se llevó a cabo tres en las siguientes fases: (a) fase de diseño, (b) fase de construcción y (c) fase de evaluación.

Los materiales utilizados en la fase de construcción del equipo de electroforesis fueron: (a) cubetas plásticas (30 cm x 15 cm x 5 cm); (b) cubetas para las disoluciones buffer (2,5 cm x 12 cm); (c) electrodos de platino o carbón, con cubierta de vidrio; (d) papel de filtro, (e) varilla de vidrio; (f) fuentes de poder de 250 a 359 voltios; (g) bases para los electrodos y (h) cables.

Fase de diseño: En ella se tomaron las decisiones en cuanto a cuales serían los materiales que se podían utilizar en la construcción del equipo de electroforesis. Estos materiales debían permitir un buen funcionamiento del equipo construido y además ser de bajo costo, de fácil adquisición y manipulación.

Fase de construcción: Se realizó el análisis de los diferentes diseños del prototipo del equipo, tomando en cuenta aspectos como: (a) ventajas y desventajas que podrían presentarse en el proceso de construcción, (b) cantidad de material utilizado, (c) ubicación espacial de cada uno de los componentes, de manera que permita una mejor manipulación en la utilización y funcionamiento del equipo. En el siguiente grafico se muestra la versión final del equipo de electroforesis.

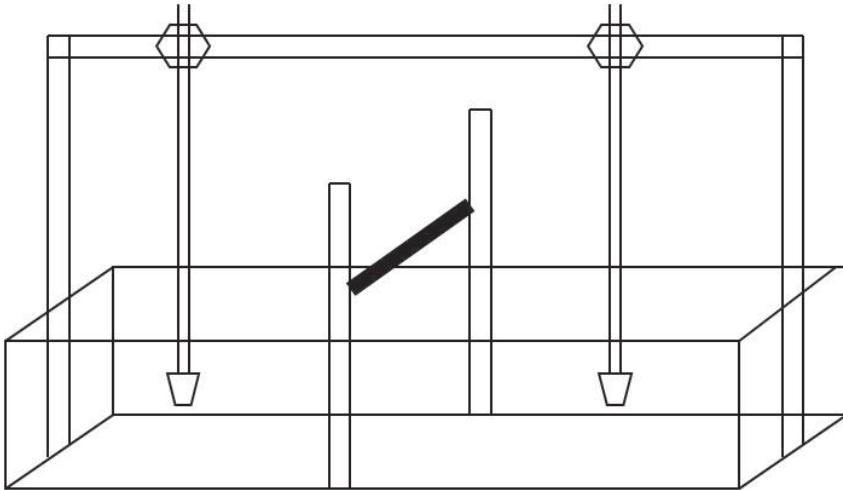


Gráfico 1. Prototipo del modelo de equipo de electroforesis construido con materiales de bajo costo

Fase de evaluación: Una vez construido el equipo, se procedió a evaluar su funcionamiento a través de una separación de aminoácidos en jugo de limón, y comparar los resultados obtenidos en el equipo construido con los de un equipo comercial. Los aminoácidos seleccionados para ser determinados en el jugo de limón fueron: ácido aspártico, ácido glutámico, histidina y lisina. Esta selección estuvo en función de una separación de aminoácidos en jugos de fruta reportada por otros autores (Smith y Feinberg, 1965).

RESULTADOS

Considerando que se refiere a un equipo elaborado con materiales de bajo costo, el equipo de electroforesis diseñado está muy por debajo del valor de un aparato similar de confección comercial para el momento de la investigación, según lo reportado por Hartman y Courtney (1990) cuyo valor para los años 90 era de 600 dólares.

Cuadro 1. Rf experimentales de los aminoácidos separados del jugo de limón en el equipo comercial y el equipo construido con materiales de bajo costo

Aminoácidos	Rf Patrones (1)	Muestra (1)	Rf Patrones (2)	Muestra (2)
A. Aspártico	2,8	2,5	2,5	2,3
A. Glutámico	1,9	1,6	1,8	1,5
Lisina	3,2	---	3,6	---
Histidina	3	---	3,4	---

(1) Equipo Comercial: Shandon UNIKIT; (2) Equipo Construido

Como se observa en el cuadro 1, los aminoácidos separados de la muestra, utilizando el método de electroforesis de papel, en el equipo comercial y el construido como parte de este trabajo, fueron: ácido aspártico y glutámico, los cuales presentaron Rf experimentales próximos a los patrones, lo que indica que los resultados obtenidos son comparables.

En el electroforetograma del equipo construido se puede apreciar mayor migración de los analitos Lisina e Histidina y los resultados bajo las mismas condiciones en el equipo son reproducibles.

Estos hechos se deben: primero, al diseño utilizado para el equipo, el cual permite que haya una mejor aplicación de las técnicas al puntear la muestra, minimizando el error humano, porque los electrodos están colocados muy separados del medio de recorrido, lo cual hace que haya menor interferencia. En segundo lugar, la fuente de poder construida tiene mayor amperaje (5 A) que la fuente del equipo comercial (0,1 A), por lo que suministra mayor intensidad de corriente, aun cuando se trabaje con el mínimo de voltaje, permitiendo la separación en menor tiempo.

CONCLUSIONES

El equipo de electroforesis de zona diseñado, como parte del presente trabajo es de bajo costo y de fácil adquisición, ensamblaje y manipulación al utilizarse en la separación de especies químicas.

La medición de los Rf evidencia que el equipo construido a bajo costo permitió separaciones electroforéticas comparables con el dispositivo comercial. El aparato de bajo costo presentó mejor reproducibilidad en las separaciones de los aminoácidos en comparación con el equipo comercial.

Es importante señalar que la realización del presente trabajo demuestra la capacidad inventiva de los venezolanos y las posibilidades reales de desarrollar una tecnología fundamentada en los conocimientos básicos de la ciencia.

El dispositivo diseñado y construido puede servir como una alternativa de solución viable para su utilización en centros educativos debido a que es de bajo costo, fácil elaboración y de resultados óptimos.

REFERENCIAS

- Bohinski, R. (1987). *Bioquímica*. México: Addeson – Wesley Iberoamericano.
- García, H. (2000). Electroforesis en geles de poliacrilamida, fundamentos, actualidades e importancia. *Universo Diagnóstico*. 1(2)
- Hartman, D. y Courtney, W. (1990). Economical electrophoresis with a controlled – current power supply. *Journal of Chemical Education*. 67(8), pp. 703
- Koper, C. (1998). Capillary electrophoresis. Part I theoretical and experiment background. *Journal of Chemical Education*. 75(8), pp. 343 – 346
- Mathews, C. (1988). *Bioquímica*. España: McGraw – Hill
- Skoog, D. A.; West, D. M. y James Holler, F. (1998). *Química analítica*. (6a. ed.). México: McGraw – Hill (trabajo original publicado en 1995)
- Skoog, D. A.; James Holler, F. y Nieman, T. (2001). *Principios de análisis instrumental*. (5a. ed.). Madrid: McGraw – Hill / Interamericana de España, S. A. U. (Trabajo original publicado en s/f)
- Smith, I. y Feinberg, J. (1965). *Paper and thin layer chromatography and electrophoresis*. (2a. ed.). London: Shandon (trabajo original publicado en s/f)
- Wehr, T.; Rodríguez, R. y Zhu, M. (1999). *Chromatography science series*. EEUU: Marcel inc