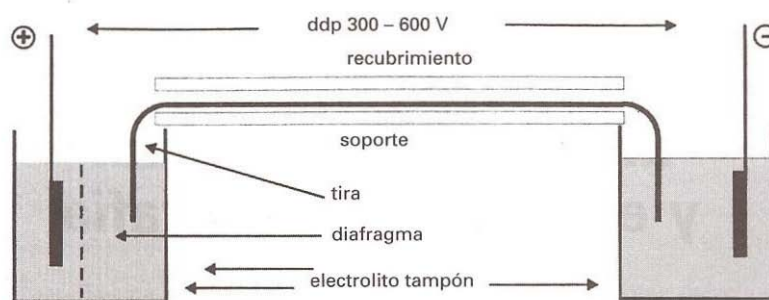
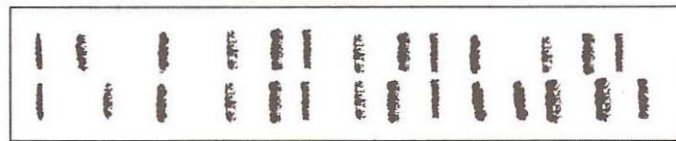


ELECTROFORESIS

La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica, dependiendo de la técnica que se use.

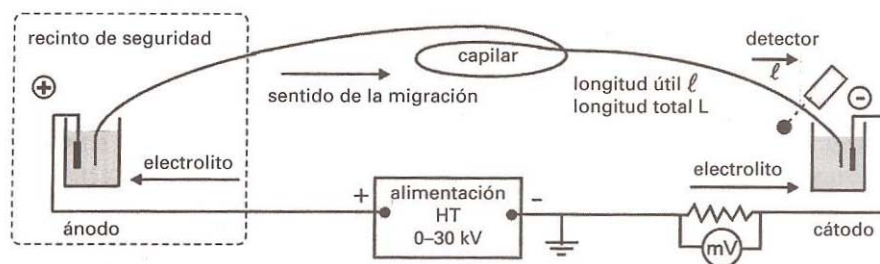


La técnica clásica utiliza una tira recubierta de una sustancia porosa impregnada de un electrolito. Sus extremos se sumergen en dos depósitos independientes que contienen ambos al electrolito y están unidos a los electrodos del generador de corriente. La muestra se deposita en forma de un pequeño trazo transversal en la tira. La distancia de migración se mide en relación un marcador interno. Las placas son reveladas con sales de plata, azul de Coomassie, o reactivos en particular.



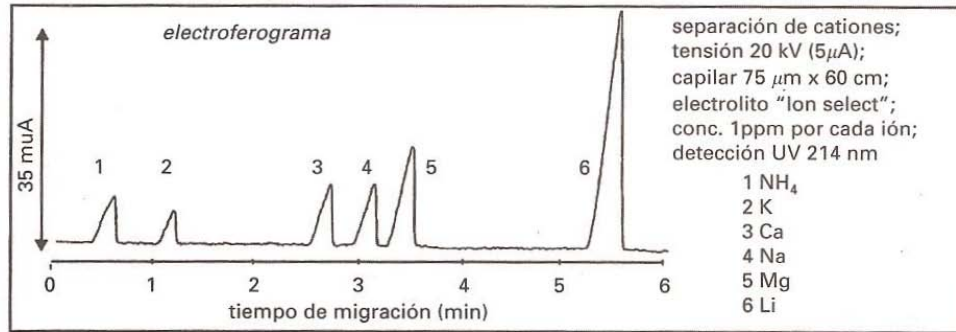
Fundamentos y Conceptos Básicos

La electroforesis capilar (CE) es una técnica de separación que se ha desarrollado gracias a los avances de la cromatografía líquida de alta eficacia junto con los procedimientos más tradicionales de electroforesis. Esta técnica permite separar bastante bien biomoléculas, donde la cromatografía líquida se muestra menos eficaz, y compuestos de pequeña masa molecular, difíciles de estudiar por los procedimientos clásicos de electromigración en soporte.



La electroforesis capilar constituye una adaptación particular de la técnica de electroforesis. Esta técnica separativa se basa en la migración de las especies de la muestra en disolución, portadoras

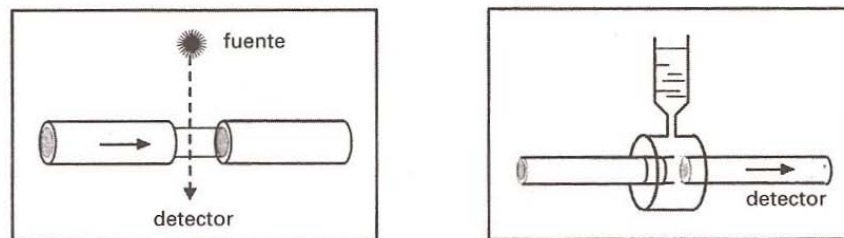
de una carga eléctrica global, bajo el efecto de un campo eléctrico y en contacto con un soporte (medio de desplazamiento) adecuado.



En electroforesis capilar la tira se reemplaza por un tubo capilar abierto en sus extremos, fabricado con un diámetro pequeño (15 a 150 μ m). El capilar oscila entre 20 y 80cm, y está lleno de una solución buffer. Un detector se encuentra ubicado en un extremo del capilar, cerca del compartimiento catódico. La señal obtenida es la base de la obtención del *electroferograma*, que muestra el registro de la composición de la muestra. Solo las especies que se dirigen hacia el cátodo serán detectadas.

Métodos de Detección

En la detección UV-Vis se mide la intensidad de la luz que pasa a través del capilar en una pequeña zona en la que se ha eliminado el revestimiento opaco.



La detección por fluorescencia resulta más sensible si se emplea una fuente láser muy intensa, asociada a menudo a un procedimiento de preformación de derivados de los analitos portadores de un fluoróforo.

Técnicas Electroforéticas

Electroforesis capilar en zona o en disolución libre (CZE)

Es el procedimiento de electroforesis más habitual, en el cual el capilar es recorrido por el electrolito a través de un medio buffer que puede ser ácido (fosfato o citrato), básico (borato), o anfótero (carácter ácido y básico). El flujo electroosmótico crece con el pH del medio electroforético.

Electroforesis capilar electrocinética micelar (MEKC)

En esta variante del procedimiento anterior se añade a la fase móvil un compuesto catiónico o aniónico para formar micelas cargadas. Estas pequeñísimas gotitas inmiscibles con la disolución retienen a los compuestos neutros de un modo más o menos eficaz, por afinidad hidrófila-hidrófoba. Se puede utilizar este tipo de electroforesis para moléculas que tienen tendencia a migrar sin separación, como es el caso de algunos enantiómeros.

Electroforesis capilar en gel (CGE)

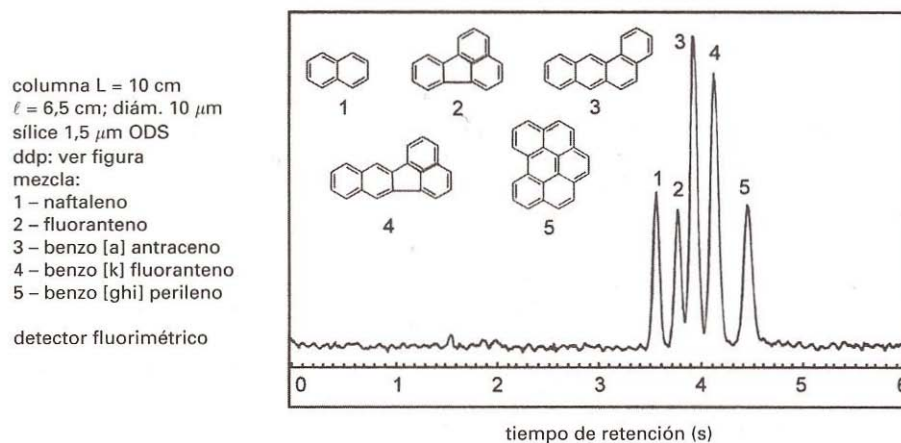
Esta es la transposición de la electroforesis en gel de poliacrilamida o de agarosa. El capilar está relleno con un electrolito que contiene al gel. Se produce un efecto de filtración que ralentiza a las grandes moléculas y que minimiza los fenómenos de convección o de difusión. Los oligonucleótidos, poco frágiles, se pueden separar de este modo.

Isoelectroenfoque capilar (CIEF)

Esta técnica, también conocida como electroforesis en soporte, consiste en crear un gradiente de pH lineal en un capilar con pared tratada que contiene un anfótero. Cada compuesto migra y se enfoca al pH que tenga igual valor que su punto isoeléctrico (al pI su carga neta es nula). Seguidamente, bajo el efecto de una presión hidrostática y manteniendo el campo eléctrico, se desplazan las especies separadas hacia el detector. Las altas eficiencias obtenidas con este procedimiento permiten separar péptidos con pI que apenas difieren entre sí 0.02 unidades de pH.

Electrocromatografía Capilar

Este tipo de separación asocia la electromigración de los iones, propio de la electroforesis, y los efectos de separación entre fases presentes en la cromatografía. La técnica consiste en la utilización de un capilar relleno con una fase estacionaria, cuyo papel es doble: actúa como material selectivo que debe, por otro lado, participar en la migración del electrolito.



El factor de separación es muy elevado, pero existen un cierto número de problemas que limitan su aplicación, como el efecto de los modificadores orgánicos sobre el flujo electroosmótico y la dificultad de un control preciso del volumen de muestra introducido en el capilar.

Referencia

- Castellan, G. (1998) **Fisicoquímica**, 2 ed. México, Pearson-Adisson Wesley. Págs. 461-462
- Rouessac, F. (2003) **Análisis Químico: Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas**. España, McGraw Hill. Págs. 121-133
- Nelson, D. (2001) **Lehninger Principios de Bioquímica**, 3 ed. España, Omega. Págs. 123-125

Mesografía

- Wikipedia (2008) Electrophoresis en <http://en.wikipedia.org/wiki/Electrophoresis> revisado el viernes 19 de septiembre de 2008.
- Wikipedia (2008) Capillary Electrophoresis en http://en.wikipedia.org/wiki/Capillary_electrophoresis revisado el sábado 20 de septiembre de 2008.
- Química Orgánica (2008) Aminoácidos: Punto isoeléctrico en <http://www.quimicaorganica.net/quimica-organica/aminoacidos/ph-isoelctrico/aminoacidos-ph-isoelctrico.htm> revisado el viernes 19 de septiembre de 2008.
- Pontificia Universidad Javeriana (2008) Electroforesis en <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/electroforesis.html> revisado el sábado 20 de septiembre de 2008.