

## APLICACION TEORICA DE LA ELECTROFORESIS A PROBLEMAS DE GEOQUIMICA ORGANICA

R. MOLINA BERBEYER \* y J. TÉLLEZ GARCÍA \*

### RESUMEN

Se presenta una discusión de las posibilidades de aplicar la electroforesis a la determinación de sustancias orgánicas (como aminoácidos) en tierras de zonas petrolíferas. A través de los resultados se deduce que tales sustancias pueden usarse como indicadores de la existencia subterránea de petróleo y productos aliados en las mismas zonas.

### ABSTRACT

A discussion of the possibilities of applying electrophoresis to the determination of organic substances (such as aminoacids) in soils from oil-bearing zones is presented. Through results obtained, it is deduced that such substances may be used as indicators of the underground existence of oil and allied products in the same zones.

### INTRODUCCION

En el presente trabajo se trata de definir las posibilidades de la aplicación de la electroforesis en la determinación de sustancias orgánicas tales como aminoácidos en suelos de zonas petroleras, para deducir si pueden ser usados como indicadores de presencia de hidrocarburos en el subsuelo. Asimismo, este trabajo está relacionado con el estudio de geoquímica orgánica del petróleo que se está realizandó actualmente en el Departamento de Geoquímica y Geocronología del Instituto de Geofísica de la Universidad Nacional Autónoma de México.

### DISCUSION TEORICO-MATEMATICA DE LA ELECTROFORESIS

La electroforesis de zona, también conocida como ionografía o electrocromatografía, se aplica al estudio de electromigración de iones y materiales coloidales. Por este método es posible fraccionar, separar e identificar pequeñas cantidades de sustancias de peso molecular elevado, tales como proteínas y lipoproteínas, las cuales son difíciles de separar por cromatografía en papel.

---

\* Departamento de Geofísica y Geocronología, Instituto de Geofísica, U.N.A.M.

En una solución electrolítica, el potencial electrostático en cualquier punto de esta solución es cero, lo cual se debe a que las cargas positivas y negativas están uniformemente distribuidas. Cerca de la superficie de la partícula el potencial se atribuye a carga superficial ( $V_s$ ) y a la carga de los iones circundantes ( $V_i$ ); de donde el potencial ( $V_s$ ) se define como el trabajo requerido para traer la unidad de carga del infinito a una distancia dada ( $r$ ), introduciendo la constante dieléctrica ( $D$ ) y por lo tanto, el potencial a una distancia ( $r$ ) de una carga ( $Q$ ) es

$$\frac{Q}{Dr} \quad (1)$$

El potencial en la superficie de una esfera de radio ( $r$ ) y la carga total ( $-Q$ ) es

$$V_s = -\frac{Q}{Dr} \quad (2)$$

El potencial ( $V_i$ ) es más difícil de calcular por la naturaleza difusa de la atmósfera iónica. El tratamiento clásico para resolver este problema es imaginar que todos los iones positivos en exceso se encuentran en una "capa delgada", localizada a una distancia tal que tenga el mismo efecto que la atmósfera iónica real; en tales condiciones se tiene

$$V_i = \frac{Q}{D(r+d)} \quad (3)$$

El potencial electrocinético ( $Pe$ ) es igual a la suma de ( $V_s + V_i$ ), de donde las ecuaciones anteriores (2) y (3) se pueden sumar

$$Pe = -\frac{Q}{Dr} + \frac{Q}{D(r+d)} \quad (4)$$

Rearreglando términos en la ecuación (4) se tiene:

$$Pe = \frac{Q}{Dr} \cdot \frac{d}{r+d} \quad (5)$$

Para partículas que varían sensiblemente en tamaño, su área superficial y su carga neta, se recomienda expresar el potencial electrocinético en términos de la densidad de carga ( $\sigma$ ), que es igual a la carga total por área superficial

$= \frac{Q}{4\pi r^2}$ . Substituyendo este valor en la ecuación (5) resulta

$$Pe = \frac{4\pi d\sigma}{D} \cdot \frac{r}{r+d} \quad (7)$$

Helmholtz, en su desarrollo matemático del potencial electrocinético, supone como primera aproximación que el ion cerca de una superficie cargada se encuentra a una distancia fija de la superficie; en dicha aproximación ( $d$ ) representa el grosor llamado "doble capa de Helmholtz".

El concepto de nube iónica o de "doble capa difusa" representa una segunda aproximación. Este argumento puede ser incorporado en la teoría de acción inter-iónica de Debye Hückel, en la cual el término ( $K$ ) con dimensiones  $l/d$  se expresa como

$$K = \left[ \frac{8 N^2 \epsilon^2}{1000 D R T} \cdot \mu \right]^{1/2} \quad (8)$$

donde  $N$  = número de Avogadro;  $\epsilon$  = carga;  $D$  = constante dieléctrica del medio;  $R$  = constante de los gases;  $T$  = temperatura en  $^{\circ}K$  y  $\mu$  = fuerza iónica =  $1/2 \sum C_i^0 Z_i^2$ .

Las dimensiones de  $K$  son  $cm^{-1}$  y su recíproco se considera una medida del grosor de la atmósfera iónica. Si la fuerza iónica se incrementa, el grosor de la atmósfera iónica decrece.

Si  $\mu \rightarrow 0$ ,  $K \rightarrow \infty$  y en este caso la ecuación (8) se puede escribir

$$K = \frac{1}{d} = K_1 \sqrt{\mu} \quad (9)$$

A  $25^{\circ}C$ ,  $K_1 = 0.33 \times 10^8$  (constante dieléctrica del agua).

$$K = \frac{1}{d} = 0.33 \times 10^8 \sqrt{\mu} \text{ cm}^{-1} \quad (10)$$

En una solución cuya fuerza iónica es de 0.01, ( $d$ ) que representa el grosor efectivo de la nube iónica es calculada dando un valor de  $30 \times 10^{-8}$ , que representa el orden de magnitud del tamaño de una proteína de peso molecular de 35,000. Considerando partículas esféricas de una fuerza iónica interna, ( $r$ ) es mucho mayor que ( $d$ ) y la ecuación (7) se convierte en

$$Pe = \frac{4 \pi d \sigma}{D} \quad (11)$$

Substituyendo la ecuación (10) en la ecuación (11) resulta

$$Pe = \frac{4 \pi \sigma}{D \times 0.33 \times 10^8 \sqrt{\mu}} \quad (12)$$

En estas condiciones el potencial electrocinético es proporcional a la densidad de carga superficial ( $\sigma$ ) e inversamente proporcional a la raíz cuadrada de la fuerza iónica.

Una partícula cargada tal como un ión o una proteína cuando se disuelve o se suspende en un medio líquido conductor y sujeto a la fuerza de un campo eléctrico uniforme, logra una velocidad constante de migración determinada por la viscosidad del medio y por la magnitud del campo eléctrico aplicado. El campo de fuerza ( $X$ ) se define como

$$X = \frac{E}{L}$$

donde  $E$  = diferencia de potencial en volts entre los electrodos separados por una distancia ( $L$ ) en cm. Por definición de electrostática ( $X$ ) es equivalente a la fuerza eléctrica por unidad de carga.

La movilidad electroforética ( $u$ ) se define como la velocidad ( $v$ ) en un campo con la unidad de fuerza, esto es

$$u = \frac{v}{X} \quad (13)$$

La fuerza de oposición o de retardo depende del tamaño y de la forma de la partícula, de la viscosidad del medio y de la velocidad de migración. El coeficiente de viscosidad  $\eta$  se define tal que aplicando una fuerza ( $F$ ) requerida para imprimir una velocidad ( $v$ ), entre dos superficies con la unidad de área y separadas por una distancia ( $d$ ), se logre

$$F = \eta \frac{v}{d} \quad (14)$$

La fuerza eléctrica que causa la migración, depende de la fuerza del campo y del potencial electrocinético.

Considerando en primer lugar una partícula no conductora de tamaño apreciable en una solución de fuerza iónica alta tal que ( $r$ ) sea mucho mayor que ( $d$ ), la fuerza eléctrica que causa el movimiento de la partícula en cada unidad de superficie es

$$F = X \sigma \quad (15)$$

Si suponemos una velocidad de migración constante ( $X \sigma$ ), es igual a la fuerza de retardo ( $F$ ) por unidad de superficie y se tiene

$$X \sigma = \eta \frac{v}{d} \quad (16)$$

como  $u = \frac{v}{X}$  resulta substituyendo en (16),

$$d = \eta \frac{u}{\sigma} \quad (17)$$

de donde

$$Pe = \frac{4\pi\sigma}{D} \cdot \frac{\eta u}{\sigma} = \frac{4\pi}{D} \eta u \quad (18)$$

Cuando las dimensiones de la partícula y la fuerza iónica son suficientemente grandes, el potencial electrocinético expresado en la ecuación (12) es función únicamente de la densidad de carga neta, haciendo constantes la viscosidad y la fuerza iónica.

En el caso de partículas pequeñas y de baja fuerza iónica ( $d$ ) es mucho mayor que ( $r$ ) y el potencial electrocinético se aproxima al potencial ( $V_s$ ) considerando a la esfera en forma aislada. En este caso la fuerza eléctrica es ( $QX$ ), que puede ser igualada a la fuerza de fricción dada en la ecuación de Stokes.

$$QX = 6\pi\eta v r \quad (19)$$

y reemplazando ( $Q$ ) por ( $Pe Dr$ ) y ( $\frac{v}{X}$ ) por ( $u$ ) se tiene

$$Pe = \frac{6\pi u}{D} \mu \quad (20)$$

En la ecuación (20) la constante  $6\pi$  depende de la naturaleza esférica de la partícula. Tratando las ecuaciones (18) y (20) en forma más general, Henry (1931) obtiene

$$Pe = \frac{C\eta u}{D} \quad (21)$$

donde  $C$  = constante para cada migrante en particular que varía entre  $4\pi$  y  $6\pi$ , dependiendo de la fuerza iónica;  $u$  = movilidad electroforética en cm/seg;  $Pe$  = potencial electrocinético en unidades electrostáticas;  $D$  = constante dieléctrica del solvente y  $\eta$  = coeficiente de viscosidad en poises o en dinas seg/cm<sup>2</sup>.

Para convertir a volts el segundo miembro de la ecuación (21) se multiplica por  $(300)^2$  ya que una unidad electrostática de potencial es igual a 300 volts (*Handbook of Physics*, 1957).

Suponiendo la movilidad electroforética ( $u$ ) sin estabilizador o en condiciones tales que su presencia no interfiera apreciablemente en la electromigración, se tiene

$$u = \frac{Pe D}{c \eta} \quad (22)$$

## ALGUNOS FACTORES FISICO-QUIMICOS QUE AFECTAN LA ELECTROMIGRACION

### 2.1 INFLUENCIA DEL pH

Para sustancias anfóteras como aminoácidos, proteínas y lipo-proteínas, el pH de la solución *buffer* que empapa a la tira de papel tiene una gran influencia en la movilidad de migración. Si la movilidad de sustancias semejantes se mide en varias soluciones *buffer* a fuerza iónica constante pero variando el pH, se observa que a un cierto pH (punto isoeléctrico, pIe), la movilidad tiende a cero. A valores de pH menores del punto isoeléctrico los migrantes se dirigen hacia el cátodo y a valores mayores migran hacia el ánodo (Fig. 1).

### 2.2 INFLUENCIA DE LA FUERZA IÓNICA

La movilidad se incrementa cuando hay un decremento de la fuerza iónica, de donde es evidente que el tiempo requerido para separar una mezcla es menor cuando menor sea la fuerza iónica de la solución *buffer* usada para saturar el soporte. Como fue demostrado anteriormente, si la sustancia migrante se ve desde el punto de vista de la teoría de los electrólitos fuertes de Debye Hückel el potencial electrocinético (Pe) de una partícula cargada o ión, puede ser relacionado con la fuerza iónica de la solución, de donde se tiene a isoterma de 25° C

$$Pe = \frac{4\pi\sigma}{D} \cdot \frac{1}{0.33 \times 10^8} \sqrt{\mu} \quad (23)$$

siendo  $\sigma$  = densidad de carga superficial de la sustancia migrante;  $D$  = constante dieléctrica y  $\mu$  = fuerza iónica.

Con la ecuación (23) se puede deducir que mientras mayor sea el potencial electrocinético, mayor será la movilidad de la partícula.

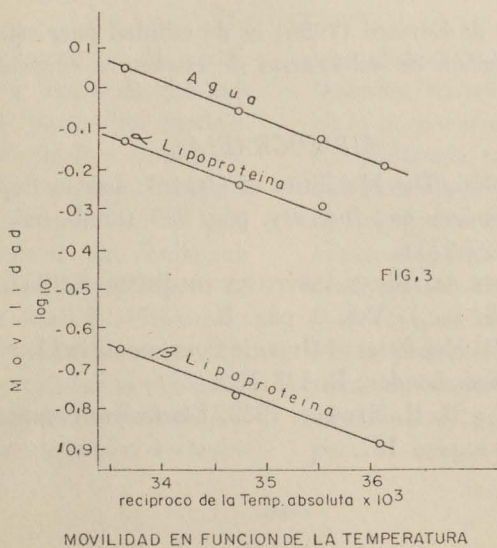
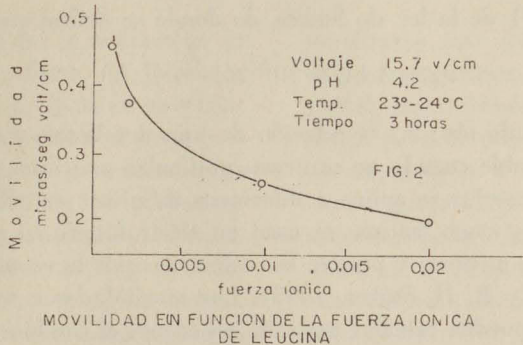
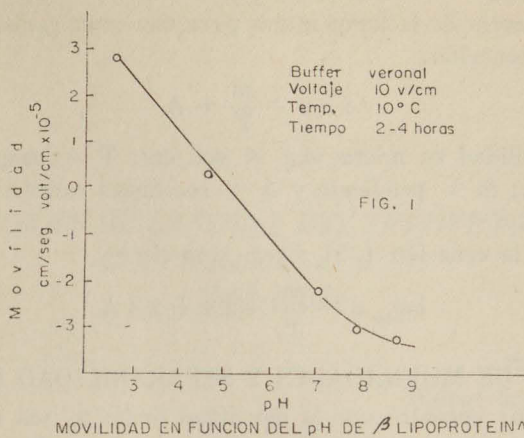
La movilidad ( $u$ ) de la partícula se puede expresar:

$$u = K \frac{4\pi\sigma}{D} \cdot \frac{1}{0.33 \times 10^8} \sqrt{\mu} \quad (24)$$

donde  $K$  = constante de proporcionalidad entre la movilidad y el potencial electrocinético. Si se grafica la movilidad versus el recíproco de la raíz cuadrada de la fuerza iónica se obtiene una línea recta (Fig. 2).

### 2.3 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA MOVILIDAD

La movilidad del migrante se incrementa con el aumento de la temperatura. Si se grafica el logaritmo de la movilidad versus recíproco de la temperatura absoluta, se obtiene una línea recta (Fig. 3). Prácticamente el efecto de la temperatura en las movilidades de las sustancias comúnmente estudiadas (aminoácidos, proteínas y lipo-proteínas) es la misma, por lo que es posible repre-



sentar la dependencia de la temperatura para una gran variedad de migrantes por la siguiente ecuación:

$$\ln u = \frac{m}{T} + A \quad (25)$$

donde  $u$  = movilidad en micras/seg  $\times$  volt/cm;  $T$  = temperatura absoluta en grados Kelvin;  $m$  = pendiente y  $A$  = constantes características para cada migrante.

Convirtiendo la ecuación (25) a  $\log_{10}$ , se tiene

$$\log_{10} u = \frac{m}{T} \times 2.3 + 2.3 A \quad (26)$$

### PREDICCIÓN DE MOVILIDADES Y SEPARABILIDAD DE MEZCLAS

Edward (1956) encontró que la movilidad límite  $u_0$  (en cm/seg volt/cm) de iones orgánicos a isoterma 25° C, está dada por la modificación de la ecuación empírica (19) de la ley de Stokes, de donde se define que

$$u_0 = 1.14 \times 10^{-3} \times \frac{Z}{r_w} (f/f_0) \quad (27)$$

siendo  $Z$  = carga de ión;  $r_w$  = relación de Van der Waals y  $f/f_0$  = relación de fricciones aplicable cuando no se tienen partículas esféricas.

La ecuación anterior se aplica a diluciones infinitas; en soluciones de concentraciones finitas como las que se usan en electroforesis en papel, las movilidades iónicas son menores y pueden ser calculadas por la ecuación de Onsager (Robinson, R. A. y R. H. Stokes, 1955). Las movilidades a temperaturas menores de 25°C se pueden calcular tomando en cuenta el cambio de la viscosidad del agua.

La ecuación (27) de Edward (1956) es de utilidad para estimar *a priori* la facilidad de la separación de sustancias de estructura conocida por métodos ionográficos.

### BIBLIOGRAFIA

- EDWARD, J. T. 1956. The Mobilities of Organic Ion in Paper Electro-phoresis. *Chemistry and Industry*, pág. 929 (tamb. *Sci. Proc. Roy. Soc. Dublin*, 27:273).
- HANDBOOK OF THE AMERICAN INSTITUTE OF PHYSICS. 1957. New York (McGraw Hill, Inc.), Vol. 8, pág. 8.
- HENRY, D. C. 1931. Mobilities of Organic Compounds in Electrical Fields. *Proc. Royal Soc. London*, B, 133:106.
- ROBINSON, R. A. y R. H. STOKES. 1935. *Electrolyte Solutions*. London (Butterworths), pág. 137.