

T. ~~19~~
19

JORGE ALBERTO BERTOLOTTO

**PROPIEDADES ELECTRO-OPTICAS
DEL ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS**

1989

El presente trabajo ha sido realizado en los siguientes lugares:

- Laboratoire de Chimie-Physique de la Faculté des Sciences
Université de Liège, Bélgica
- Laboratorio de Física de la Facultad de Ciencias Exactas y
Naturales, Universidad Nacional de la Pampa, Santa Rosa, La
Pampa.
- Instituto de Física de Líquidos y Sistemas Biológicos
(CONICET-UNLP-CIC) de la ciudad de La Plata.

El Director del trabajo es el Dr. José Raúl Grigera.

Fue financiado por los siguientes organismos:

- Facultad de Ciencias Bioquímicas, U.N.R.,
Rosario, Santa Fé.
- Administration Générale de la Coopération au Développement,
Ministère des Affaires Etrangères du Commerce Extérieur et
de la Coopération au Développement, Bruselas, Bélgica.
- Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam.
Santa Rosa, La Pampa.
- Secretaría de Estado de Ciencia y Tecnología (SECYT).
- The Third World Academy of Sciences
Office of the Executive Secretary: International Centre for
Theoretical Physics, Trieste, Italia.

El mismo se presenta a consideración de las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, para optar al título de Doctor en Física.

A mi esposa Mirtha

A mi hijo Manuel

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Raúl Grigera por haber aceptado la dirección de esta Tesis. Gracias a su competencia, disponibilidad y entusiasmo este trabajo llegó a su término.

A los Profesores V. Desreux y E. Fredericq que me han aceptado como investigador en el "Laboratoire de Chimie-Physique" de la Faculté de Sciences, Université de Liège, Bélgica.

Expreso mi sincero reconocimiento al Dr. Claude Houssier, Profesor de esa Institución, maestro y amigo que me inició en la investigación de propiedades electroópticas e hidrodinámicas de biopolímeros.

Al Dr. P. Colson por los consejos y ayuda que me brindara en la parte experimental de este trabajo desarrollada en el Lieja.

Al Dr. Antonio Rodríguez, Director del Instituto de Física de Líquidos y Sistemas Biológicos (CONICET, UNLP Y CIC) que aceptara la realización de parte de este trabajo en esa Institución.

A los Doctores Fernando Vericat, Juan R. de Xammar Oro y Graciela Ruderman del IFLYSIB por sus útiles discusiones en el tema, particularmente los referentes a fuerzas entre macroiones.

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
PARTE PRIMERA	
FUNDAMENTOS TEORICOS	
	13
I BIREFRINGENCIA ELECTRICA DE SOLUCIONES MACROMOLECULARES	14
I.1 Características generales	14
I.2 Modelo molecular	15
I.3 Expresión para la birrefringencia eléctrica de soluciones moleculares	19
I.4 Birrefringencia eléctrica de saturación	21
I.5 Cálculo numérico de la birrefringencia eléctrica.....	23
I.5.1 Caso particular	23
I.5.2 Expresión de $\phi(\beta, \gamma)$ para algunos casos simples.....	24
I.5.3 Caso general	25
I.6 Transitorios de la birrefringencia eléctrica	28
I.6.1 Decaimiento de la birrefringencia eléctrica.....	29
I.6.2 Crecimiento de la birrefringencia eléctrica.....	39
I.6.2 Inversión del campo eléctrico	42
II ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO (ADN).....	46
III DISTRIBUCION IONICA ALREDEDOR DE UN COLOIDE O MACROION EN SOLUCION	50

III.1	Ecuación de Poisson-Boltzmann	50
III.2	Dos placas cargadas paralelas sumergidas en una solución salina.....	51
III.3	Macroiones cilíndricos en solución con exceso de sal.....	53
III.4	Condensación de contraiones.....	58
III.5	Cálculo aproximado de la distribución de iones alrededor de macroiones cilíndricos en solución	59
IV	POLARIZABILIDAD ELECTRICA DE UN POLIELECTROLITO	62
IV.1	Características generales.....	62
IV.2	Polarizabilidad eléctrica de un macroion tipo varilla	63
IV.3	Cálculo alternativo de la polarizabilidad eléctrica de un macroion tipo varilla	67
IV.4	Tiempo de crecimiento del momento dipolar inducido por un campo eléctrico en un macroion lineal	68
V	POLARIZABILIDAD OPTICA	71
V.1	Características generales	71
V.2	Polarizabilidad óptica del ADN	72
V.3	Relación entre la birrefringencia de saturación y la polarizabilidad óptica ...	72
V.4	Diferencia entre los índices de refracción de la solución y del solvente	73
V	INTERACCION ENTRE COLOIDES Y MACROIONES EN SOLUCION	75
VI.1	Energía libre de una partícula cargada en solución salina	75
VI.2	Energía libre para un sistema de dos	

	placas cargadas paralelas sumergidas en una solución salina	76
VI.3	Fuerza de repulsión entre dos placas cargadas	76
VI.4	Fuerza de repulsión entre cilindros cargados	78
VI.5	Fuerzas de atracción de van der Waals ..	81
VI.6	Fuerza atactiva debida a la correlación de las fluctuaciones de carga en los macroiones.....	83
VI.7	Energía potencial total entre coloides o macroiones	87

PARTE SEGUNDA

	PREPARACION Y CARACTERIZACION DE LAS MUESTRAS, TECNICAS EXPERIMENTALES Y CALCULOS	90
VII	PREPARACION Y CARACTERIZACION DE LAS MUESTRAS	91
VII.1	Preparación del ácido desoxirribonucleico y de la desoxirribonucleohistona	91
VII.2	Degradación de las muestras por acción del ultrasonido	91
VII.3	Filtración en gel	92
VII.4	Obtención de los complejos ADN-Histonas	92
VII.5	Determinación de la concentración de las soluciones de ADN y de la DNH.....	92
VII.6	Dosaje de proteínas	92
VIII.	EQUIPO PARA LA DETERMINACION DE LA BIRREFRINGENCIA ELECTRICA DE MACROMOLECULAS EN SOLUCION	93
VIII.1	Descripción general	93
VIII.2	Celda de Kerr	95
VIII.3	Generador de pulsos de baja tensión	96
VIII.4	Generador de pulsos de alta tensión	98

	VIII.5	Generador de pulsos de polaridad opuesta	101
	VIII.6	Procedimiento de medición	104
IX		CALCULO DE LA BIRREFRINGENCIA ELECTRICA	105
	IX.1	Relación entre la birrefringencia eléctrica y las señales ópticas medidas	105
	IX.2	Corrección del error debido a la luz dispersada	108
	IX.3	Determinación de la birrefringencia eléctrica de saturación	110
	IX.4	Determinación del tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica	111
X		ULTRACENTRIFUGACION ANALITICA	111
XI		REFRACTOMETRIA DIFERENCIAL	116

PARTE TERCERA

RESULTADOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS 118

XII		RESULTADOS EXPERIMENTALES	119
	XII.1	Señales de birrefringencia eléctrica del ADN sonicado	119
	XII.2	Efecto de la concentración sobre la birrefringencia eléctrica del ADN sonicado	120
	XII.3	Efecto del MgCl ₂ sobre la birrefringencia eléctrica del ADN sonicado	125
	XII.4	Birrefringencia eléctrica de los complejos ADN-Histonas	127
	XII.5	Birrefringencia eléctrica de soluciones de ADN sonicado previamente filtradas en columna con gel	129
	XII.6	Birrefringencia eléctrica del ADN sonicado obtenido a partir del ADN nativo previamente filtrado a través de gel de	

	agarosa	132
XII.7	Tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica positiva del ADN sonificado	133
XII.8	Transitorio de la birrefringencia eléctrica positiva del ADN sonificado después de invertir el campo eléctrico.	134
XII.9	Refractometría diferencial de soluciones de ADN sonificado	134
XII.10	Determinación de los coeficientes de sedimentación de muestras de ADN sonificado	136
XII.11	Turbiedad de las soluciones de ADN sonificado	138

PARTE CUARTA

DESARROLLOS TEORICOS, CALCULOS, DISCUSION Y CONCLUSIONES

XIII	CALCULOS Y DISCUSION	139
XIII.1	Introducción	139
XIII.2	Características del macroion ADN sonificado	142
XIII.2.1	Determinación de la longitud del macroion	142
XIII.2.2	Determinación de la anisotropía de la polarizabilidad óptica del ADN sonificado	142
XIII.2.3	Determinación de los términos α^{011} y α^{033} del tensor polarizabilidad óptica	143
XIII.2.4	Anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del ADN sonificado-Determinación experimental.....	144
XIII.2.5	Cálculo del número de contraiones ligados, N_b	144
XIII.2.6	Cálculo de la anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del ADN sonificado ...	146
XIII.2.7	Cálculo de la densidad lineal de carga equivalente	146

XIII.3	Energía de interacción entre dos macroiones tipo varilla en una solución de electrolito simple	147
XIII.3.1	Análisis y discusión.....	147
XIII.3.2	Cálculo de la energía de interacción entre dos macroiones tipo varilla paralelos	156
XIII.4	Características de los agregados de ADN sonificado	162
XIII.4.1	Modelo de agregado	162
XIII.4.2	Tamaño de los agregados	162
XIII.4.3	Distribución de contraiones dentro del agregado	164
XIII.4.4	Polarizabilidad eléctrica del agregado .	165
XIII.4.4.1	Polarizabilidad eléctrica debida a la fluctuación de concentración de los contraiones libres dentro del agregado y no ligados a los macroiones del mismo	166
XIII.4.4.2	Polarizabilidad eléctrica originada en la fluctuación de concentración de los contraiones ligados a cada macroion del agregado	171
XIII.4.4.3	Polarizabilidad eléctrica del agregado originada por la fluctuación del número de contraiones ligados a cada uno de sus macroiones.....	172
XIII.4.4.4	Anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del agregado	174
XIII.4.5	Tiempo de relajación del momento dipolar inducido originado en la transferencia de contraiones entre los macroiones del agregado.....	175
XIII.4.6	Polarizabilidad óptica del agregado de ADN sonificado	177
XIII.5	Birrefringencia eléctrica de una mezcla de moléculas de ADN sonificado y diferen-	

	tes agregados de las mismas	178
XIII.6	Transitorio de la birrefringencia eléctrica despues de invertir el campo eléctrico	181
XIII.7	Decaimiento de la birrefringencia eléctrica de la mezcla de ADN sonicado y sus agregados.....	183
CONCLUSIONES	185
APENDICE	191
LISTA DE SIMBOLOS	198
REFERENCIAS	203

INTRODUCCION.

En este trabajo se analiza el comportamiento de la molécula biológica ADN, en solución acuosa, mediante la determinación de algunas de sus propiedades electo-ópticas. Se estudia en particular la birrefringencia eléctrica de soluciones de esa macromolécula.

En 1875 KERR <1> descubre que la mayoría de los líquidos se vuelven birrefringentes cuando en ellos actúa un campo eléctrico. La aplicación de este fenómeno al estudio de soluciones de macromoléculas y coloides comienza en el año 1950 con los trabajos de BENOIT, O'KONSKI y TINOCO <2. 3 y 4>. El método empleado permite conocer propiedades eléctricas, ópticas e hidrodinámicas de las moléculas así como su estado de agregación, flexibilidad y polidispersión.

El sistema para la determinación experimental de la birrefringencia inducida por un campo eléctrico consiste en una celda que contiene la solución que se pretende estudiar entre dos electrodos planos paralelos. A estos se les aplica un pulso de tensión rectangular. La birrefringencia originada en la solución se transforma en una variación de intensidad luminosa con un sistema óptico adecuado y la señal fotoeléctrica resultante se registra conjuntamente con el pulso eléctrico en la pantalla de un osciloscopio. En la Figura 1 se muestra un oscilograma con la señal de birrefringencia y el pulso eléctrico aplicado.

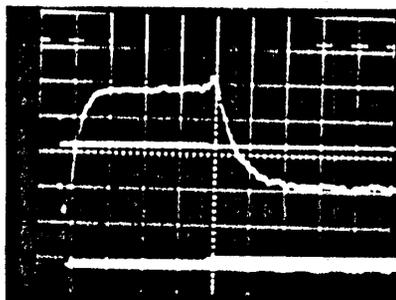


Figura 1

La señal de birrefringencia crece primero hasta llegar a un estado estacionario que corresponde a un grado de orientación máximo de las moléculas para luego decaer al suprimir el campo eléctrico.

Se suele aplicar a la solución dos pulsos de tensión rectangulares consecutivos y de polaridad opuesta, de forma de invertir rápidamente el campo eléctrico que actúa sobre las moléculas. Esta técnica llamada de "pulsos inversos" permite establecer si el mecanismo de orientación molecular es por momento permanente, por momento inducido o una combinación de ambos. En este último caso se puede determinar en que proporción intervienen uno con respecto al otro.

P. COLSON ⁽⁵⁾ mientras estudiaba el efecto del ultrasonido en soluciones de ADN y nucleohistona encontró una inversión en el signo de la birrefringencia eléctrica en soluciones de ADN degradado por ese método. Además las señales de fotocorriente presentan formas particulares no previstas por la teoría de la birrefringencia eléctrica de macromoléculas y coloides.

El ADN nativo tiene una birrefringencia eléctrica negativa originada por la elevada polarizabilidad óptica en la dirección perpendicular al eje de la molécula.

El origen de la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado permanece oscuro hasta el presente y su análisis es el motivo del presente trabajo.

En la referencia 5 se estudia el efecto del tiempo de sonicación en las formas de las señales de la birrefringencia eléctrica. Las señales que se muestran en la Figura 2 corresponden a una intensidad de campo eléctrico $E < 1,5 \text{ KV/cm}$ y los tiempos de sonicación son los siguientes: (a) : 1 min. ; (b) 2 min. ; (c) : 3 min. : (d) : 5 min.

COLSON y otros ⁽⁵⁾ presentan algunas características de este fenómeno. En la Figura 3 se muestran las señales de fotocorriente que aparecen al aplicar pulsos de tensión simples e inversos a una solución de ADN sonificado (5 min. o mas) para distintas intensidades de campo eléctrico, decre-

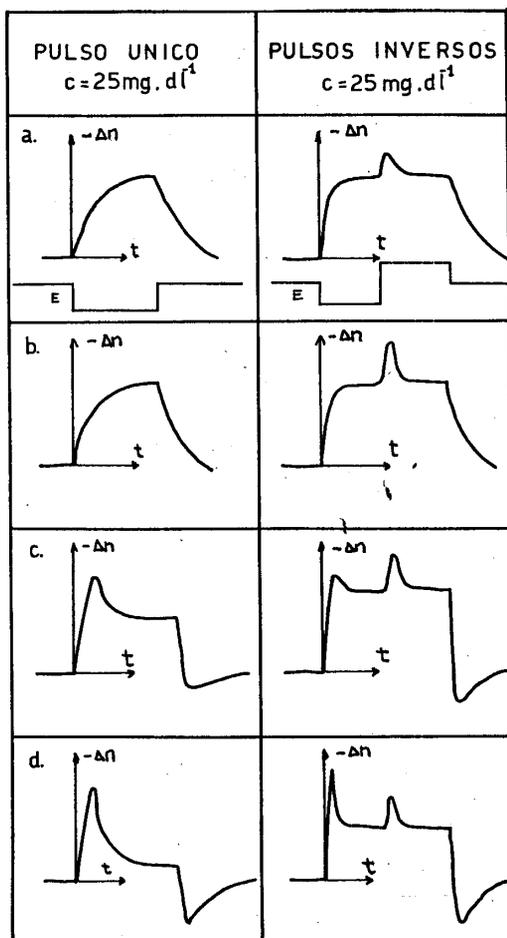


Figura 2

ciendo desde a. ($E=2,5$ KV/cm) hasta f. ($E=0,2$ KV/cm). En ella se observa como la birrefringencia eléctrica es positiva para campos eléctricos pequeños mientras que se transforma en negativa para campos eléctricos elevados pasando por señales donde se mezclan ambas contribuciones. Puede verse además que los tiempos de relajación de las señales positiva y negativa son bastante diferentes, del orden de 30 μs para la señal negativa y de 200 μs para la positiva.

La técnica de pulsos inversos permite apreciar una contribución importante de un momento dipolar permanente en la

señal positiva de la birrefringencia eléctrica.

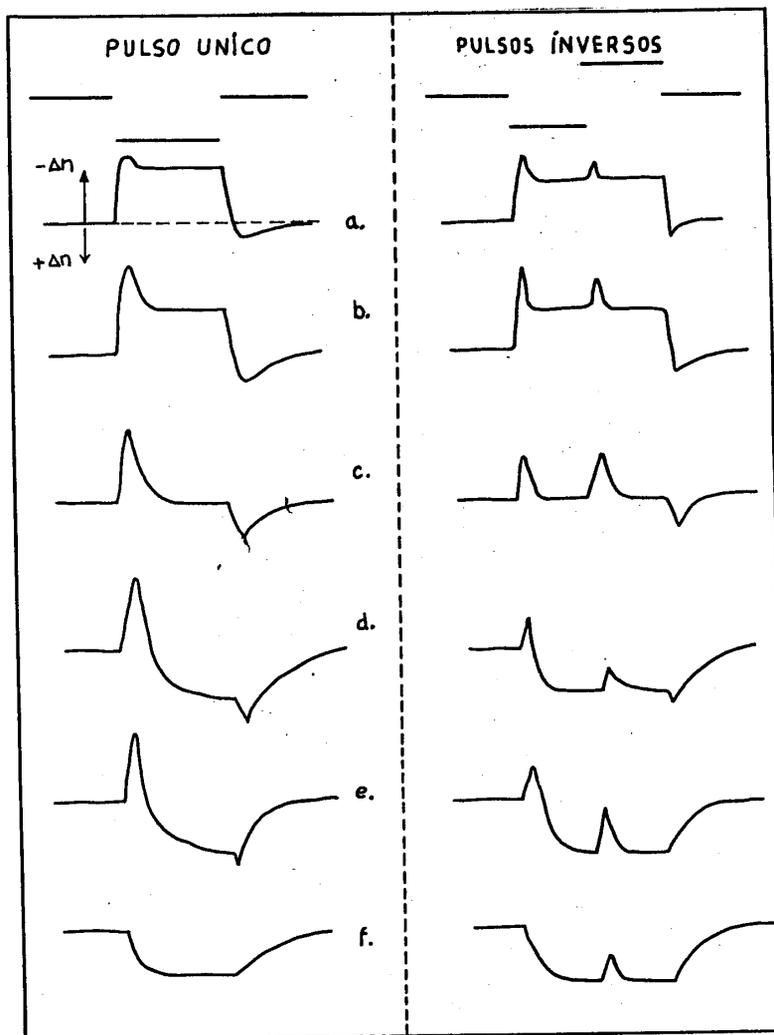


Figura 3

La Figura 4 exhibe la variación de la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado con el cuadrado del campo eléctrico. En esa experiencia el tiempo de sonicación es de 90 min. a 20 kHz; las soluciones tienen NaCl 1 mM, pH 6,6 y la concentración del ADN es de 73,5 mg/dl. En la Figura 4 se incluye también la curva ampliada correspondiente a campos eléctricos pequeños.

La contribución positiva de la birrefringencia eléctrica aumenta apreciablemente con la concentración del ADN en las soluciones.

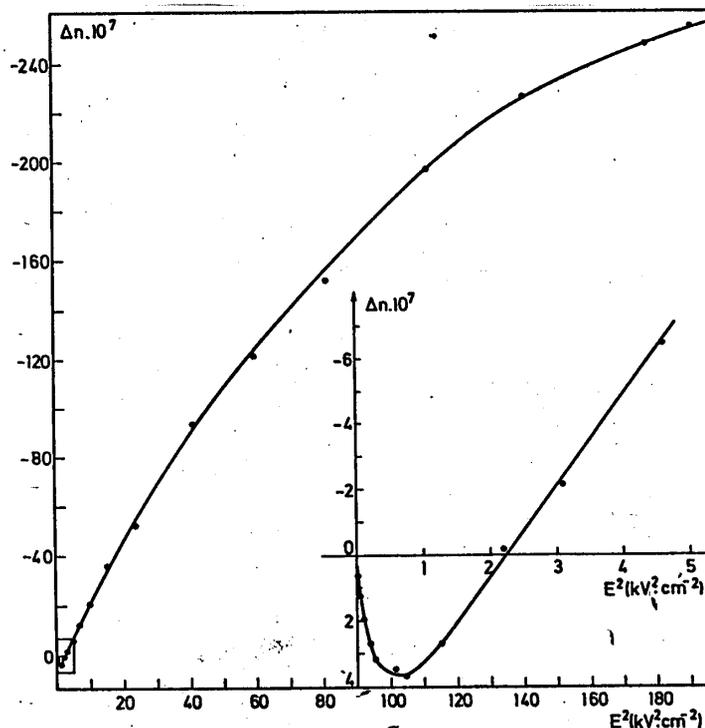


Figura 4

Un resultado interesante descrito en la ref.5 es el que se refiere a mediciones de dicroísmo del complejo ADN (sonicado)-proflavina en la banda de absorción visible del complejo (460nm). La proflavina es un colorante cuyo anillo se intercala entre las bases del ADN, es decir se dispone perpendicularmente al eje de la macromolécula. El dicroísmo del complejo ADN(nativo)-proflavina es negativo. Sin embargo el dicroísmo del complejo con ADN sonicado presenta una componente positiva.

En la discusión de la ref.6 se establece que no se puede pensar en una sola entidad con un momento permanente transversal al eje molecular pues si bien este explica la inversión en el signo de la birrefringencia eléctrica no predice

el transitorio que se observa al suprimir el campo eléctrico. En ese mismo artículo se dice que la interpretación más probable de este problema es la que invoca la existencia de dos entidades moleculares distintas orientadas independientemente por el campo eléctrico. Esta hipótesis explica la forma de las señales de birrefringencia eléctrica y la inversión de su signo y se esquematiza en la Figura 5. En ella:

- (a) representa la curva experimental de la cual se obtienen las curvas (b) y (c) por descomposición.
- (b) Es la curva correspondiente a la entidad con birrefringencia negativa $\Delta n(-)$.
- (c) Es la curva correspondiente a la entidad con birrefringencia positiva $\Delta n(+)$.

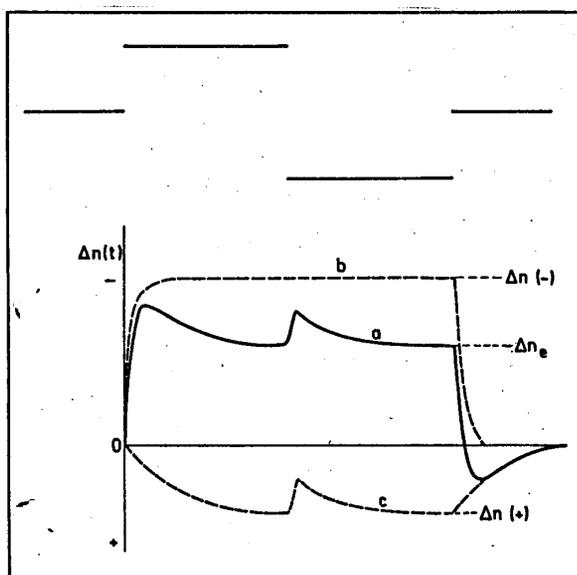


Figura 5

La componente con birrefringencia negativa, $\Delta n(-)$ se orienta mediante un momento dipolar inducido puro y correspondería a la molécula de ADN sonificado con el tiempo de relajación menor. La componente con birrefringencia positiva $\Delta n(+)$ tiene un momento dipolar permanente

importante y se debería a algún tipo de agregado, correspondiéndole el tiempo de relajación mayor. La contribución positiva de la birrefringencia alcanza la saturación para campos eléctricos pequeños (1,5 KV/cm). No se verifica experimentalmente la existencia de agregados en las soluciones de ADN sonicado.

Existen varios trabajos en la literatura científica que se refieren a sustancias que presentan una inversión en el signo de la birrefringencia eléctrica. A continuación se resumen dos de ellos, los cuales han sido elegidos por tratarse de sistemas que tienen un comportamiento muy similar al de las soluciones de ADN sonicado.

Inversión del signo de la birrefringencia eléctrica de suspensiones de bentonita.

Este comportamiento de las suspensiones de bentonita, fue descrito por SHAH y otros (7). La bentonita dispersada en agua se fracciona por ultracentrifugación y se dializa 10 a 30 días en agua desmineralizada. Con microscopio electrónico se determinan las dimensiones de las partículas que presentan la forma de escamas. Se emplean cinco muestras monodispersas en un 70%, con partículas de 100 a 150 Å de espesor y un promedio de semiejes ($r=(ab)^{1/2}$) comprendido en el rango 2500-6000 Å.

Las mediciones de birrefringencia eléctrica muestran que las suspensiones de bentonita poseen una birrefringencia negativa para campos eléctricos pequeños, aún a bajas concentraciones, y cambia su signo al aumentar el campo eléctrico. Se observa que el valor mínimo de la birrefringencia y el campo eléctrico de inversión decrecen al aumentar el promedio de semiejes, r . Se analiza la dependencia con la concentración de bentonita de las curvas del retardo óptico específico, δ/c versus la intensidades de campo eléctrico. El retardo óptico δ es una magnitud proporcional a la birrefringencia (ecuación I.1). Estas gráficas se muestra en la Figura 6, donde se aprecia que δ_{\min}/c y el campo

eléctrico al cual cambia su signo, E_{inv} , decrecen al reducir la concentración de las muestras. Además se verifica que δ_{min}/c vs. la concentración se relacionan linealmente. En la Figura 6 se extrapola δ/c para $c \rightarrow 0$; la curva extrapolada sugiere que la inversión de la birrefringencia persiste aún

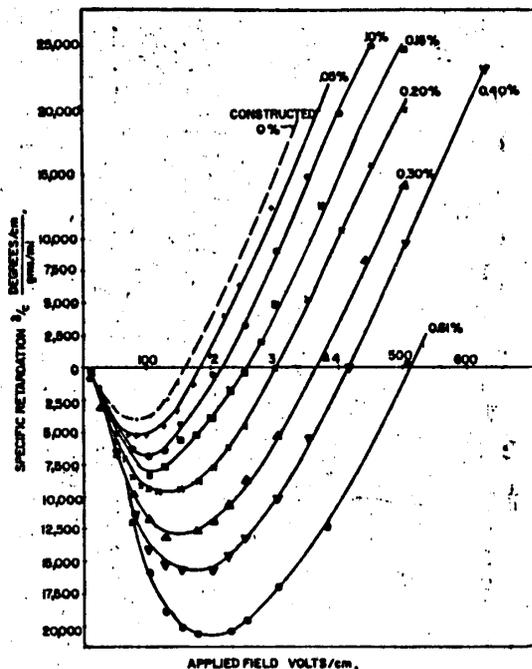


Figura 6 (de la referencia 7)

para soluciones muy diluidas. El tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica casi no varía para concentraciones de hasta 0,3% pero crece rápidamente arriba de este valor.

Se concluye que aunque la interacción entre partículas juega un rol importante en aumentar la birrefringencia negativa, las partículas de bentonita la presentan aún en ausencia de interacciones (para $c \rightarrow 0$) y por lo tanto la inversión de la birrefringencia es debida a una propiedad intrínseca de las mismas.

Se realizaron mediciones de birrefringencia con campos eléctricos sinusoidales y cuadrados a varias frecuencias. Estas mediciones indicaron que las partículas tienen un momento dipolar permanente en la dirección de su eje de

simetría que las lleva a orientar de manera perpendicular a su alineación en campos eléctricos grandes. Para campos eléctricos mayores predomina una orientación por momento inducido sobre la superficie de la partícula (perpendicular al eje de simetría de la misma) y da origen a una birrefringencia positiva. Esto se esquematiza en la Figura 7.

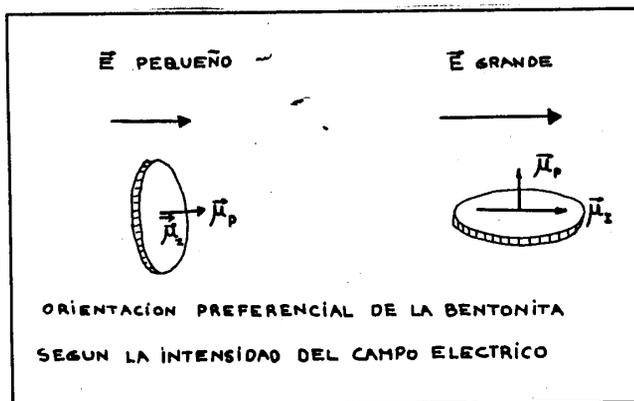


Figura 7

La birrefringencia negativa para campos eléctricos continuos pequeños verifica la ley de Kerr.

Inversión del signo de la birrefringencia eléctrica de soluciones del virus del mosaico del tabaco:

El virus del mosaico del tabaco presenta características electro-ópticas similares a las del ADN sonicado. ASAI H. y WATANABE N.⁽⁸⁾ analizan el efecto en la birrefringencia eléctrica de la concentración de virus en las soluciones. Emplean TMV clase comun (tipo OM) y TMV clase Holmes Rib Grass (clase HB).

Para soluciones de TMV clase comun con concentraciones menores que 0.03% el retardo óptico es positivo lo que indica que la molécula se orienta con su eje de simetría en la dirección del campo eléctrico. La birrefringencia eléctrica, Δn , es proporcional a E^2 para campos pequeños y también es

proporcional a la concentración de TMV. Los tiempos de crecimiento y decaimiento de la birrefringencia eléctrica son iguales a 0,8ms. La longitud de la molécula es de 4000Å . El TMV(OM) no presenta momento dipolar permanente.

El TMV(clase HR) para concentraciones menores que 0,05% presenta un retardo óptico proporcional a E^2 y a la concentración. El tiempo de crecimiento de la birrefringencia es de 0,73ms y el tiempo de decaimiento de 0,5ms. La molécula presenta un momento dipolar permanente a lo largo de su eje estimado entre $1,4 \times 10^{14}D$ y $2,0 \times 10^{14}D$.

La birrefringencia eléctrica se hace negativa para concentraciones grandes de ambas clases de TMV. Según los autores mencionados arriba esto significa que la molécula se orienta con su eje de simetría perpendicular al campo eléctrico. Para campos eléctricos pequeños la birrefringencia negativa verifica la ley de Kerr. Al aumentar la intensidad de campo la birrefringencia eléctrica disminuye hasta cambiar su signo. Aún para concentraciones muy elevadas Δn es positiva para E grande. La concentración crítica para la cual Δn se hace menor que 0 es mayor para el TMV(HR) que para el TMV comun.

La birrefringencia eléctrica se vuelve positiva al aumentar el pH de la solución de TMV(HR). Para el TMV común la dependencia es la misma pero menos significativa.

El campo eléctrico de inversión decrece al aumentar la concentración de buffer. La adición de sal hace que la birrefringencia eléctrica sea mas normal.

Los transitorios de la birrefringencia eléctrica de soluciones concentradas de TMV se muestran en la Figura 8. Para campos eléctricos elevados Δn y sus transitorios se vuelven positivos. El tiempo de relajación no depende mucho de la concentración de las soluciones ni de la intensidad del campo eléctrico. El tiempo de relajación para soluciones de concentración elevada es a lo sumo el doble que el de las soluciones diluidas. Como el tiempo de relajación es proporcional a L^3 , donde L es la longitud del virus, esto fue interpretado como que las moléculas no están significativa-

mente agregadas.

La teoría de la birrefringencia eléctrica de macromoléculas y coloides muestra que si una molécula tiene un gran

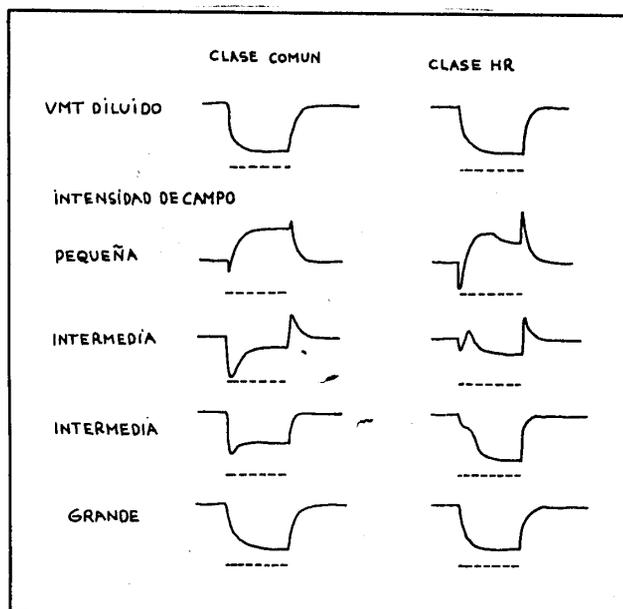


Figura 8

dipolo permanente perpendicular a su eje mayor, la birrefringencia eléctrica presenta un signo para campos eléctricos pequeños y el opuesto para campos suficientemente elevados.

Esto se debe a que el torque orientador para el momento dipolar inducido es proporcional a E^2 mientras que para el momento dipolar permanente es proporcional a E . Los autores mencionados arriba dicen que las relaciones entre la birrefringencia eléctrica y el campo que se obtienen con esta teoría son (contrariamente al caso de las soluciones concentradas de TMV) esencialmente independientes de la concentración. Concluyen entonces que la molécula de TMV común, la cual no tiene un momento dipolar permanente en solución diluida, tiene un momento dipolar permanente "aparente"

perpendicular a su eje mayor en solución concentrada. El TMV(HR) presenta el mismo comportamiento pero la birrefringencia negativa aparece para concentraciones mayores que en el virus común debido al gran momento dipolar permanente a lo largo de su eje mayor.

Los autores mencionados afirman, como se hace frecuentemente, que la teoría de los transitorios de la birrefringencia eléctrica predice que la curva de decaimiento después de suprimir el campo eléctrico debe ser exponencial para una solución monodispersa y diluida. Luego infieren que los transitorios y diagramas anómalos (Figura 8) que aparecen justo antes o después de aplicar el campo eléctrico se deben a interacciones estéricas o eléctricas entre las moléculas en solución. Además excluyen que el efecto anómalo se deba a una agregación lateral o longitudinal de las moléculas, a influencia de las paredes de los electrodos de la celda de Kerr o a un efecto electroforético.

PARTE PRIMERA
FUNDAMENTOS TEORICOS

I. BIRREFRINGENCIA ELECTRICA DE SOLUCIONES DE MACROMOLECULAS

I.1. Características generales

Cuando a una sustancia se le aplica un campo eléctrico uniforme generalmente se vuelve birrefringente. El eje óptico del sistema coincide con la dirección del campo eléctrico. Este efecto fué descubierto por Kerr en 1875. En general este fenómeno tiene su origen en la orientación de moléculas intrinsecamente anisotrópicas por la acción del campo. En un experimento de Kerr se coloca la sustancia entre dos electrodos planos paralelos a los que se aplica una diferencia de potencial para crear un campo eléctrico orientador E ; presentando la muestra dos índices de refracción, $n_{//}$ en la dirección del eje óptico y n_{\perp} en la dirección perpendicular al mismo. La birrefringencia se define como la diferencia de índices de refracción $\Delta n = n_{//} - n_{\perp}$. Para medir la birrefringencia se hace incidir un haz de luz monocromático, plano polarizado como se muestra en la Fig. I. 1.

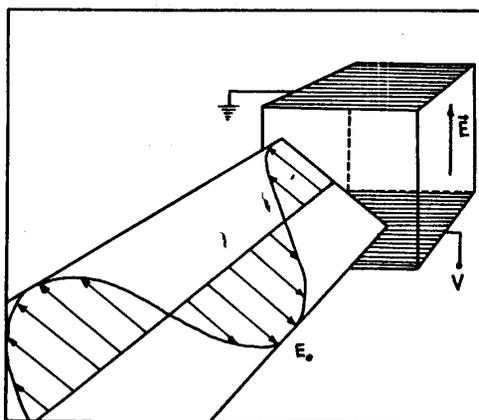


Figura I.1

La dirección del haz es perpendicular al eje óptico mientras que el campo eléctrico de la onda luminosa E_0 , forma 45 grados con el mismo. Dentro del sistema la luz incidente se

descompone en dos ondas plano polarizadas con sus campos eléctricos vibrando en las direcciones paralela y perpendicular al eje óptico (ver Fig.I.2). Estas ondas poseen velocidades diferentes dentro del medio debido a las diferencias de índice de refracción y emergen con una diferencia de fase dada por la expresión:

$$\delta = (2\pi l/\lambda) \cdot (n_{\parallel} - n_{\perp}) \quad (\text{I.1})$$

donde l es el espesor del sistema, λ la longitud de onda de la luz en el vacío y $n_{\parallel} - n_{\perp}$ la birrefringencia.

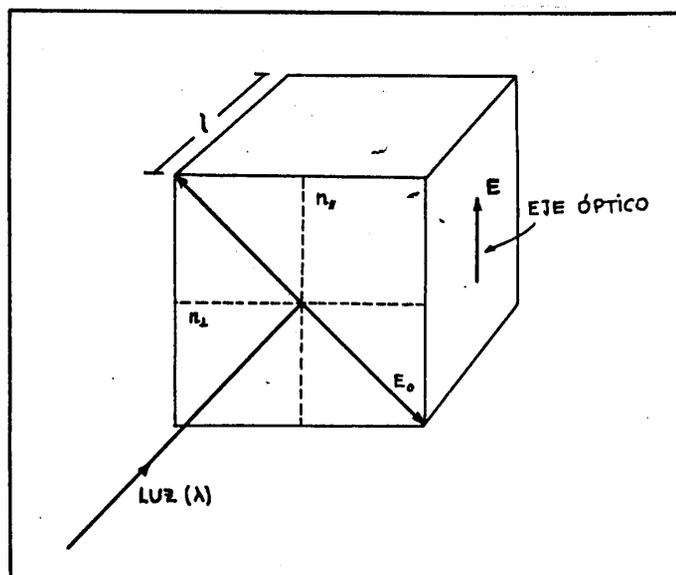


Figura I.2

I.2. Modelo molecular

Nos interesa relacionar la birrefringencia medida, Δn , con las propiedades eléctricas y ópticas de las moléculas que constituyen el sistema. HOLCOMB y TINOCO^(e) desarrollaron una teoría bastante general, para soluciones diluidas, donde la birrefringencia eléctrica se expresa en función de los términos principales de los tensores polari-

zabilidad eléctrica y óptica y del momento dipolar permanente de las moléculas.

Sea $1', 2', 3'$ el sistema cartesiano del laboratorio y $1, 2, 3$ el sistema fijo en la molécula. Se determina la orientación de las moléculas mediante los tres ángulos de Euler ϕ, θ, ψ (10) que se muestra en la Fig. I.3.

Eligiendo adecuadamente al sistema $1, 2, 3$ es siempre posible representar las propiedades eléctricas de cualquier molécula con las tres polarizabilidades eléctricas principa-

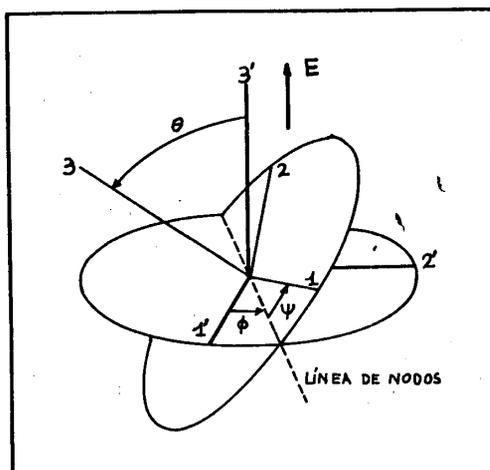


Figura I.3

les y las tres componentes de un momento dipolar eléctrico. Sean entonces $\mu = (\mu_1, \mu_2, \mu_3)^t$ el momento dipolar permanente y

$$\overleftrightarrow{\alpha}^E = \begin{pmatrix} \alpha^{E11} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha^{E22} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha^{E33} \end{pmatrix} \quad (I.2)$$

el tensor polarizabilidad eléctrica respecto al sistema $1, 2, 3$ de ejes principales.

Suponiendo que los ejes principales de la polarizabilidad eléctrica coincide con los de la polarizabilidad óptica, esta última se expresa de la siguiente manera:

$$\vec{\alpha}^0 = \begin{pmatrix} \alpha^{011} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha^{022} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha^{033} \end{pmatrix} \quad (\text{I.3})$$

En realidad a estas polarizabilidades de las partículas en solución deben considerarselas como incrementos de las polarizabilidades del soluto con respecto a las del solvente ($\alpha_{\text{soluto}} - \alpha_{\text{solvente}}$).

Una molécula con las propiedades eléctricas μ y $\vec{\alpha}^E$ interacciona con el campo eléctrico aplicado. Las energías potenciales de estas interacciones se expresan:

$$W_P = -\mu \cdot E \quad (\text{I.4})$$

$$W_I = -(1/2)E \cdot \vec{\alpha}^E \cdot E \quad (\text{I.5})$$

donde W_P representa la energía potencial de la interacción entre el momento dipolar permanente y el campo eléctrico y W_I es la energía potencial de interacción entre el momento dipolar inducido y el campo eléctrico. Estas fórmulas son válidas solamente para moléculas en el vacío. Para aplicarlas al caso de moléculas en solución hay que considerar a E como un campo eléctrico efectivo, E_{ef} . Otra posibilidad es la de tomar a E como el campo eléctrico aplicado y hablar del momento dipolar aparente, μ_{ap} y polarizabilidad eléctrica aparente, α_{ap}^E .

La matriz de la transformación de las coordenadas de la molécula al sistema de ejes del laboratorio es:

$$A^{-1} = \begin{pmatrix} \cos\psi \cos\phi - \cos\theta \sin\phi \sin\psi & -\sin\psi \cos\phi - \cos\theta \sin\phi \cos\psi & \sin\theta \sin\phi \\ \cos\psi \sin\phi + \cos\theta \cos\phi \sin\psi & -\sin\psi \sin\phi + \cos\theta \cos\phi \cos\psi & -\sin\theta \cos\phi \\ \sin\theta \sin\psi & \sin\theta \cos\psi & \cos\theta \end{pmatrix}$$

(I.6)

Es decir que el vector momento dipolar permanente de la mo-

lícula referido al sistema de laboratorio $1', 2', 3'$ es $A^{-1}\mu$ y el tensor polarizabilidad eléctrica referido al mismo sistema vale $A^{-1}\overleftrightarrow{\alpha}^E A$. Teniendo en cuenta estas transformaciones se obtienen las siguientes expresiones para las energías de interacción W_P y W_I :

$$W_P = -\mu_1 E \sin\theta \sin\psi - \mu_2 E \sin\theta \cos\psi - \mu_3 E \cos\theta \quad (I.7)$$

$$W_I = -(E^2/2)[\alpha^{E_{11}}(\sin^2\theta \sin^2\psi) + \alpha^{E_{22}}(\sin^2\theta \cos^2\psi) + \alpha^{E_{33}}(\cos^2\theta)] \quad (I.8)$$

Definiendo las magnitudes adimensionales siguientes:

$$\beta_i = \mu_i E / KT \quad \text{con } i=1, 2, 3 \quad (I.9)$$

$$\gamma_{ij} = E^2(\alpha^{E_{11}} - \alpha^{E_{jj}}) / 2KT \quad \text{con } i=1, 2, 3 \text{ y } j=1, 2, 3 \quad (I.10)$$

donde K es la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta, las expresiones de la energía potencial (I.7) y (I.8) pueden ponerse:

$$W_P / KT = -\beta_1 \sin\theta \sin\psi - \beta_2 \sin\theta \cos\psi - \beta_3 \cos\theta \quad (I.11)$$

$$W_I / KT = \gamma_{21} \sin^2\theta \sin^2\psi - \gamma_{32} \cos^2\theta - \alpha^{E_{22}} E^2 / 2KT \quad (I.12)$$

Cuando el efecto orientador debido al campo eléctrico es exactamente balanceado por el efecto desorientador originado por el movimiento browniano se alcanza un estado estacionario. La función de distribución angular esta dada por la ley de Boltzmann

$$U(\theta, \phi, \psi) = \exp(-W/KT) / \int_0^{2\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^\pi \exp(-W/KT) \sin\theta d\theta d\psi d\phi \quad (I.13)$$

donde W es la energía potencial total $W_P + W_I$.

I.3. Expresión para la birrefringencia de soluciones moleculares.

Para frecuencias ópticas y en sustancias transparentes es válida la siguiente relación entre la constante dieléctrica y el índice de refracción n :

$$\mathcal{E} = n^2 \quad (\text{I.14})$$

Si el medio es anisotrópico existe una diferencia entre la constante dieléctrica paralela ($\mathcal{E}_{\parallel} = n_{\parallel}^2$) y perpendicular ($\mathcal{E}_{\perp} = n_{\perp}^2$) al eje óptico que se expresa:

$$\mathcal{E}_{\parallel} - \mathcal{E}_{\perp} = n_{\parallel}^2 - n_{\perp}^2 = (n_{\parallel} - n_{\perp})(n_{\parallel} + n_{\perp}) = (n_{\parallel} - n_{\perp}) \cdot 2n \quad (\text{I.15})$$

donde n es el índice de refracción de la solución con las moléculas sin orientación preferencial. Esto es, la birrefringencia eléctrica, Δn vale:

$$\Delta n = \Delta \mathcal{E} / 2n \quad (\text{I.16})$$

La relación entre los tensores constante dieléctrica y el tensor polarizabilidad óptica se obtiene a partir de la expresión del vector polarización P del medio:

$$P = \overleftrightarrow{\chi} E = \overleftrightarrow{\chi}_1 E + c_1 \langle A^{-1} \overleftrightarrow{\alpha} \circ A \rangle E \quad (\text{I.17})$$

donde:

- $\overleftrightarrow{\chi}$: susceptibilidad eléctrica de la solución
- $\overleftrightarrow{\chi}_1$: susceptibilidad eléctrica del solvente
- c_1 : número de moléculas por unidad de volumen
- $\langle A^{-1} \overleftrightarrow{\alpha} \circ A \rangle$: polarizabilidad óptica de una molécula referida al sistema del laboratorio.

Empleando la relación $\overleftrightarrow{\chi} = (\overleftrightarrow{\mathcal{E}} - \overleftrightarrow{I}) / 4\pi$ y la expresión (I.17) el tensor constante dieléctrica se escribe:

$$\overleftrightarrow{\mathcal{E}} = \overleftrightarrow{\mathcal{E}}_1 + 4\pi c_1 \langle A^{-1} \overleftrightarrow{\alpha} \circ A \rangle \quad (\text{cgs}) \quad (\text{I.18})$$

Mientras que para las contribuciones de la constante dieléctrica paralela y perpendicular al eje óptico valen:

$$\epsilon_{\parallel} = k \cdot \vec{\epsilon} \cdot k \quad \text{y} \quad \epsilon_{\perp} = j \cdot \vec{\epsilon} \cdot j \quad (\text{I.19})$$

Mediante las expresiones (I.18) y (I.19) se obtiene finalmente la birrefringencia de la solución:

$$\Delta n = (\epsilon_{\parallel} - \epsilon_{\perp}) / 2n = (2\pi c_1 / n) [k \cdot \langle A^{-1} \vec{\alpha} \circ A \rangle \cdot k - j \cdot \langle A^{-1} \vec{\alpha} \circ A \rangle \cdot j] \quad (\text{I.20})$$

En esta fórmula, los valores medios se calculan para todas las orientaciones posibles de las partículas empleando la función de distribución de la ecuación (I.13).

En este tratamiento se supuso que las moléculas anisotrópicas están sumergidas en un solvente isotrópico.

Realizando las operaciones indicadas en la ecuación (I.20) la birrefringencia eléctrica puede expresarse de la siguiente manera:

$$\Delta n = (2\pi c_1 / n) \{ [\alpha_{33} - (\alpha_{11} + \alpha_{22}) / 2] \phi_1 - (3/4) (\alpha_{22} - \alpha_{11}) \phi_2 \} \quad (\text{I.21})$$

donde ϕ_1 y ϕ_2 se escriben en función de los elementos de la matriz A:

$$\phi_1 = \langle a_{33}^2 - a_{13}^2 \rangle$$

$$\phi_2 = (4/3) \langle a_{31}^2 - a_{11}^2 + (a_{33}^2 - a_{13}^2) / 2 \rangle \quad (\text{I.22})$$

Reemplazando estos elementos por sus expresiones en función de los ángulos de Euler dados en la ecuación (I.6) y calculando los promedios se obtienen las funciones ϕ_1 y ϕ_2 siguientes

$$\phi_1 = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} [(3\cos^2\theta - 1) / 2] \cdot U(\theta, \psi) \cdot \sin\theta d\theta d\psi \quad (\text{I.23})$$

y

$$\phi_2 = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} (1 - \cos^2\theta)(2 \cdot \text{sen}^2\Psi - 1) \cdot U(\theta, \Psi) \cdot \text{sen}\theta d\theta d\Psi \quad (\text{I.24})$$

ϕ_1 y ϕ_2 dependen de las propiedades eléctricas $\alpha^{\mathbf{E}_{11}, \mu}$ y del campo eléctrico \mathbf{E} . La función ϕ_1 mide la orientación del eje 3 y ϕ_2 la orientación preferencial alrededor del eje 3. Para el caso de moléculas con simetría cilíndrica $\phi_2=0$. Aún para el caso de partículas asimétricas $\phi_2=0$ si el eje 3 es paralelo al campo eléctrico para $\mathbf{E} \rightarrow \infty$. Si para $\mathbf{E} \rightarrow \infty$, los ejes 1 o 2 son paralelos al campo eléctrico, ϕ_1 tiende a -0,5.

En lugar de la expresión (I.21) para Δn , suele definirse la función $\phi = \Delta n / \Delta n_{\infty}$ donde Δn_{∞} es la birrefringencia eléctrica de saturación para campo eléctrico infinito.

Para el caso particular de orientación débil ($U \ll KT$) es posible integrar directamente ϕ_1 y ϕ_2 . Se obtiene

$$\Delta n = (2\pi c_1/n) (E^2/30KT) \sum_{i,j} (\alpha^{\circ_{11}} - \alpha^{\circ_{33}}) [(\mu_1^2 - \mu_3^2)/KT + (\alpha^{\mathbf{E}_{11}} - \alpha^{\mathbf{E}_{33}})] \quad (\text{I.25})$$

donde i, j toma los valores 1-2, 3-1 y 3-2.

Esta relación lineal entre Δn y E^2 , para campos eléctricos pequeños se denomina ley de Kerr.

I.4. Birrefringencia eléctrica de saturación

El valor de la birrefringencia eléctrica de saturación, Δn_{∞} depende del modelo molecular.

Molécula polar no polarizable: Para un campo eléctrico infinito la molécula se alinea con el momento dipolar paralelo al mismo y puede escribirse

$$\Delta n_{\infty} = (2\pi c_1/n) (\alpha^{\circ_{\mu}} - \alpha^{\circ_{\mathbf{P}}}) \quad (\text{I.26})$$

donde α°_{μ} es la polarizabilidad óptica paralela al momento dipolar y α°_{ρ} es la polarizabilidad óptica promedio perpendicular al momento dipolar. α°_{μ} vale:

$$\alpha^{\circ}_{\mu} = (\mu \cdot \overset{\rightarrow}{\alpha^{\circ}} \cdot \mu) / \mu \cdot \mu = (\alpha^{\circ}_{11}\mu_1^2 + \alpha^{\circ}_{22}\mu_2^2 + \alpha^{\circ}_{33}\mu_3^2) / \mu^2 \quad (I.27)$$

donde $\mu^2 = (\mu_1^2 + \mu_2^2 + \mu_3^2)$
y α°_{ρ} se obtiene calculando el promedio de las α°_{ii} como sigue

$$\langle \alpha^{\circ} \rangle = (\alpha^{\circ}_{11} + \alpha^{\circ}_{22} + \alpha^{\circ}_{33}) / 3 = (\alpha^{\circ}_{\mu} + 2\alpha^{\circ}_{\rho}) / 3 \quad (I.28)$$

En la última igualdad de la ecuación (I.27) se empleó la propiedad del promedio de no depender de la elección de los ejes.

Combinando las relaciones (I.26), (I.27) y (I.28) se llega a la siguiente expresión para la birrefringencia de saturación:

$$\Delta n_s = (\pi c_1 / n \mu^2) \sum_{i,j} (\alpha^{\circ}_{ii} - \alpha^{\circ}_{jj}) \cdot (\mu_i^2 - \mu_j^2) \quad (I.29)$$

donde i, j son los pares 1-2, 3-1, y 3-2.

Molécula polarizable no polar: La birrefringencia de saturación vale

$$\Delta n_s = (2\pi c_1 / n) \cdot [\alpha^{\circ}_{xx} - (\alpha^{\circ}_{yy} + \alpha^{\circ}_{zz}) / 2] \quad (I.30)$$

donde α°_{xx} es la polarizabilidad óptica a lo largo del eje principal con mayor polarizabilidad eléctrica (α°_{yy} y α°_{zz} son las polarizabilidades a lo largo de los ejes perpendiculares).

Molécula polar polarizable: Como la orientación completa se debe solamente al momento inducido, este caso coincide con el anterior.

I.5. Cálculo numérico de la birrefringencia eléctrica

I.5.1. Caso particular

Simetría cilíndrica para las polarizabilidades eléctrica y óptica, y el momento permanente a lo largo del eje 3, es decir

$$\alpha^{\circ 11} = \alpha^{\circ 22} \neq \alpha^{\circ 33} \quad \text{y} \quad \alpha^{\text{E}11} = \alpha^{\text{E}22} \neq \alpha^{\text{E}33}$$

$$\mu = (0, 0, \mu_3) \quad (\text{I.31})$$

La expresión de la birrefringencia eléctrica (I.21) se escribe ahora

$$\Delta n = (2\pi c_1/n) \Delta \alpha^{\circ} \phi_1 \quad (\text{I.32})$$

con $\Delta \alpha^{\circ} = (\alpha^{\circ 33} - \alpha^{\circ 11})$

Se introducen las notaciones

$$u = \cos \theta \quad (\text{I.33})$$

$$\beta = (\mu_3/KT)E = bE \quad (\text{I.34})$$

$$\gamma = [(\alpha^{\text{E}33} - \alpha^{\text{E}11})/2KT]E^2 = cE^2 \quad (\text{I.35})$$

La integral ϕ_1 resulta

$$\phi_1 = \phi = \left\{ 3 \int_{-1}^1 u^2 \exp(\beta u + \gamma u^2) du / 2 \int_{-1}^1 \exp(\beta u + \gamma u^2) du \right\}^{-1/2} \quad (\text{I.36})$$

El cálculo de las integrales de la ecuación (I.36) para intensidad de campo eléctrico arbitraria fué realizado por O' KONSKI, YOSHIOKA y ORTTUNG <11> para $\gamma > 0$ y por SHAH <12> para $\gamma < 0$. En ambos casos $\phi(\beta, \gamma)$ queda en función de integrales del tipo

$$E(x) = \int_0^x \exp(t^2) dt \quad (I.37)$$

MATSUMOTO, WATANABE y YOSHIOKA (13) han publicado tablas de ϕ y $15\phi/(\beta^2 + 2\gamma)$ en función de $\beta^2 + 2\gamma$, para varios valores de $\beta^2/2$.

La Fig. I.4 muestra el comportamiento de ϕ en función de $\beta^2 + 2\gamma$ para diferentes valores de $\beta^2/2$.

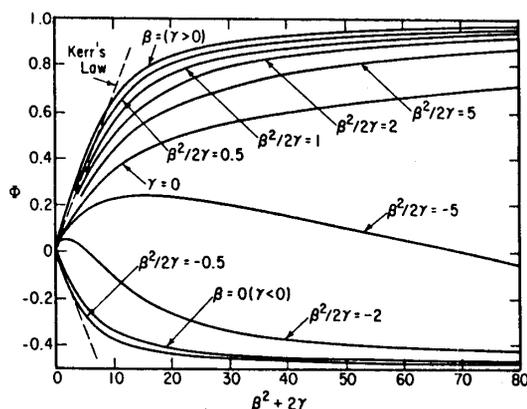


Figura I.4 (de la ref. 30)

1.5.2 Expresión de la función $\phi(\beta, \gamma)$ para algunos casos simples

a) Campos eléctricos pequeños

El límite de la función $\phi(\beta, \gamma)$ para $E \rightarrow 0$ es el siguiente

$$\lim_{E \rightarrow 0} [\phi(\beta, \gamma) / (\beta^2 + 2\gamma)] = 1/15 \quad (I.38)$$

La correspondiente expresión para la birrefringencia eléctrica es

$$(\Delta n/E^2)_{E \rightarrow 0} = (\Delta n_{\infty}/15) [(\beta^2 + 2\gamma)/E^2] \quad (I.39)$$

$$= (\Delta n_{\infty}/15)(b^2 + 2c) \quad (I.40)$$

b) Orientación debida a momento permanente puro ($\beta \gg \gamma$)

$$\phi(\beta) = 1 - 3(\coth\beta - 1/\beta)/\beta \quad (\text{I.41})$$

c) Orientación debida a momento inducido puro ($\gamma \gg \beta$)

Para $\gamma > 0$

$$\phi(\gamma) = (3/4)\{[(\exp\gamma/\gamma^{1/2})/\int_0^{\gamma^{1/2}} \exp(x^2)dx] - 1/\gamma\} - 1/2 \quad (\text{I.42})$$

Para $\gamma < 0$

$$\phi(\gamma) = (3/4)\{1/\gamma - [(\exp(-\gamma)/\gamma^{1/2})/\int_0^{\gamma^{1/2}} \exp(-t^2)dt]\} - 1/2 \quad (\text{I.43})$$

d) Campos eléctricos muy grandes

$$\phi(\beta, \gamma) = 1 - 3/(\beta + 2\gamma) \quad (\gamma > 0) \quad (\text{I.44})$$

I.5.3. Caso general

HOLCOMB y TINOCO⁽⁸⁾ resuelven las integrales ϕ_1 y ϕ_2 expresando el factor $\exp(-W/KT)$ como producto de cinco series de Taylor. Ellos consideran valores de energía de orientación eléctrica ($W=W_p+W_1$) de hasta 30 veces KT .

Aquí encontramos ϕ_1 y ϕ_2 directamente mediante cálculo numérico empleando el método de integración de Gauss que para una función de dos variables se escribe

$$\int_{-1}^1 \int_{-1}^1 F(x,y) dx dy = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m P_i W_j F(x_i, y_j) \quad (\text{I.45})$$

donde x_i y y_j son las raíces de los polinomios de Legendre

$P_n(x)$ y $P_m(y)$ respectivamente y P_i y W_j son los pesos correspondientes (14).

Reemplazando la energía $U(\phi, \Theta, \Psi)$ dada en la ecuación (I.13) en las expresiones de ϕ_1 (I.23) y ϕ_2 (I.24) pueden escribirse las siguientes integrales:

$$E_1 = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} [(3\cos^2\theta - 1)/2] \cdot \exp(-W/KT) \cdot \text{sen}\theta d\theta d\Psi \quad (\text{I.46})$$

$$E_2 = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} (1 - \cos^2\theta) \cdot (2\text{sen}^2\Psi - 1) \cdot \exp(-W/KT) \cdot \text{sen}\theta d\theta d\Psi \quad (\text{I.47})$$

$$C = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi} \exp(-W/KT) \cdot \text{sen}\theta d\theta d\Psi \quad (\text{I.48})$$

de manera que resultan:

$$\phi_1 = E_1/C \quad \text{y} \quad \phi_2 = E_2/C \quad (\text{I.49})$$

Las integrales (I.46), (I.47) y (I.48) se refieren al intervalo $(-1, 1)$ mediante los cambios de variables siguientes:

$$\Theta = (\pi/2) + (\pi/2)x \quad \text{y} \quad \Psi = (\pi) + (\pi)y \quad (\text{I.50})$$

Las expresiones finales para E_1 , E_2 y C se escriben:

$$E_1 = (\pi^2/2) \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m [(3\cos^2\theta - 1)/2] \cdot \exp(-W/KT) \cdot \text{sen}\theta P_i W_j \quad (\text{I.51})$$

$$E_2 = (\pi^2/2) \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (1 - \cos^2\theta) (2\text{sen}^2\Psi - 1) \cdot \exp(-W/KT) \cdot \text{sen}\theta P_i W_j \quad (\text{I.52})$$

$$C = (\pi^2/2) \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m \exp(-W/KT) \cdot \text{sen} \Theta P_i W_j \quad (\text{I.53})$$

donde $\Theta = (\pi/2) + (\pi/2)x_1$ y $\Psi = (\pi) + (\pi)y_2$

La Fig. I.5 muestra el diagrama de flujo del programa utilizado para calcular $\phi = \Delta n / \Delta n_s$.

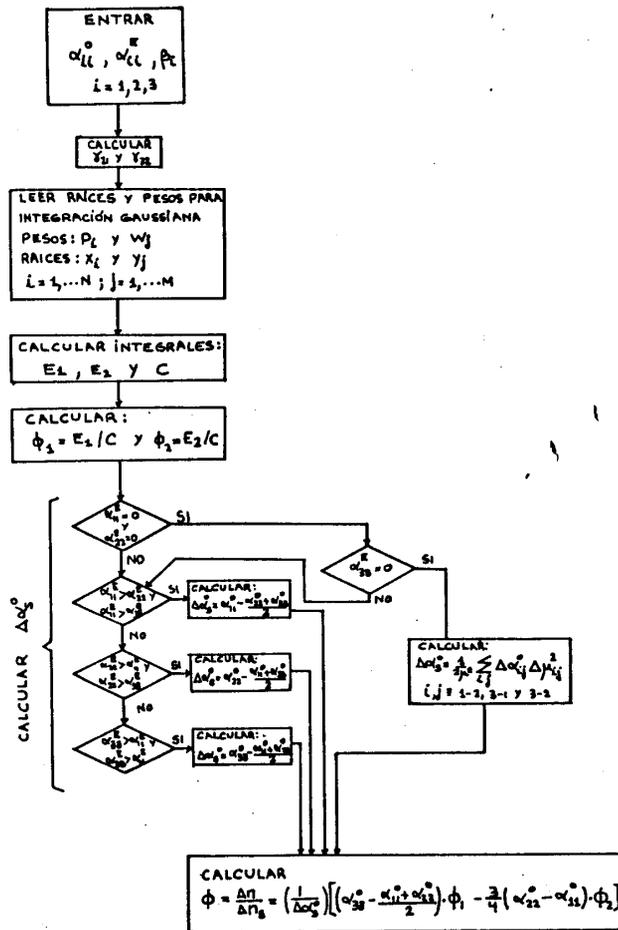


Figura I.5

Los datos de entrada son α^0_{ii} , α^E_{ii} y β_i con $i=1, 2, 3$.

Empleando $n=32$ y $m=64$ el error en el cálculo de las inte-

grales ϕ_1 y ϕ_2 es del orden del 1% en el peor de los casos, para una energía de orientación $W = 30KT$.

I.6. Transitorios de la birrefringencia eléctrica

Cuando se aplica a una solución un pulso rectangular de campo eléctrico se observan dos transitorios de birrefringencia eléctrica:

- 1.-La región de su crecimiento hasta alcanzar el estado estacionario.
- 2.-La región de su decaimiento después de suprimir el campo eléctrico.

Estos fenómenos se muestran en la Fig.I.6.

Si se aplica a la solución un pulso de campo eléctrico rectangular y luego que la birrefringencia eléctrica alcanza el estado estacionario, el campo eléctrico se invierte de sentido rapidamente, aparece un transitorio en la birrefringencia como puede verse en la Fig.I.7.

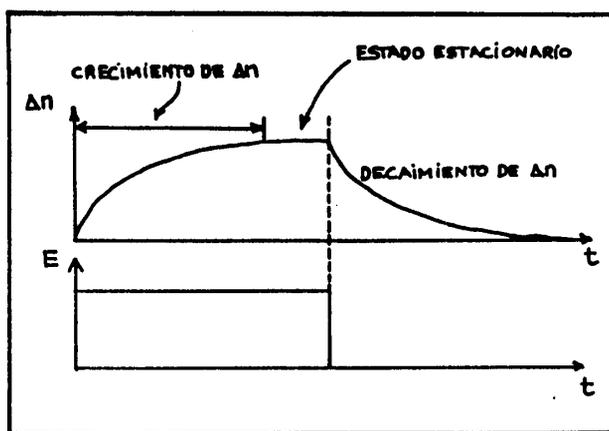


Figura I.6

El análisis cuantitativo de los transitorios de birrefringencia eléctrica indicados arriba, permite determinar ciertas características eléctricas e hidrodinámicas de las moléculas en solución.

I.6.1. Decaimiento de la birrefringencia eléctrica

El decaimiento de la birrefringencia eléctrica de una solución de partículas elipsoidales fué estudiada por DON RIDGEWAY <15>. Su análisis se basa en la teoría del movimiento Browniano de estas partículas realizado por F. PERRIN <16>.

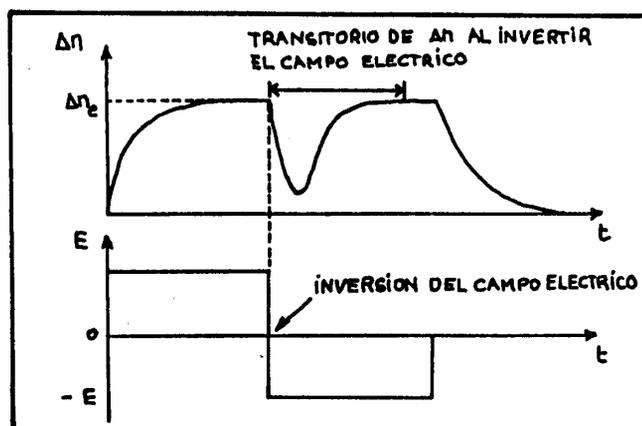


Figura I.7

Las propiedades hidrodinámicas del elipsoide se describen en función de los términos principales del tensor de fricción rotacional. El término C_{11} representa la cupla encontrada la cupla encontrada por la partícula en rotación estacionaria alrededor del eje $2a_1$ con velocidad angular unidad y se expresa de la siguiente manera <17>:

$$C_{11} = (16\pi\eta/3)[(a_j^2 + a_k^2)/(a_j^2\alpha_j + a_k^2\alpha_k)] \quad (\text{I.54})$$

(la terna i, j, k toma los valores 1,2,3; 2,1,3; 3,1,2). donde η es la viscosidad del medio y α_i la siguiente integral:

$$\alpha_i = \int_0^{\infty} \frac{d\lambda}{[(a_i^2 + \lambda)\Delta(\lambda)]} \quad i=1, 2, 3 \quad (\text{I.55})$$

con $\Delta(\lambda) = [(a_1^2 + \lambda)(a_2^2 + \lambda)(a_3^2 + \lambda)]^{1/2}$

Para un esferoide, con su eje de simetría a_3 , las integrales α_i tienen solución analítica⁽¹⁸⁾, resultando:

a) Esferoide prolado con $a_3 > a_2 = a_1$ y excentricidad:
 $e = [1 - (a_2/a_3)^2]^{1/2}$

$$\alpha_3 = [2/(a_1 a_2 a_3)] \cdot [(1-e^2)/2e^3] \cdot \{\ln[(1+e)/(1-e)] - 2e\}$$

$$\alpha_1 = \alpha_2 = (1/2) [(2/a_1 a_2 a_3) - \alpha_3] \quad (\text{I.56})$$

b) Esferoide oblado con $a_3 < a_2 = a_1$ y excentricidad:
 $e = [(a_1/a_3)^2 - 1]^{1/2}$

$$\alpha_3 = [2/(a_1 a_2 a_3)] \cdot [(1+e^2)/a^3] \cdot (e - e \operatorname{ctg} e)$$

$$\alpha_1 = \alpha_2 = (1/2) \cdot [(2/a_1 a_2 a_3) - \alpha_3] \quad (\text{I.57})$$

PERRIN⁽¹⁸⁾ encuentra la ecuación diferencial de la difusión rotacional de un elipsoide. Procede de una manera similar a la que se describe a continuación.

Se considera al elipsoide fijo en el sistema de coordenadas x, y, z con sus ejes $2a_1, 2a_2, 2a_3$ y en la dirección de los versores i_1, i_2, i_3 . El sistema del laboratorio es el x', y', z' con su origen O' coincidente con el origen O del sistema x, y, z fijo en el elipsoide.

Los ángulos de Euler ϕ, θ, ψ determinan la orientación del elipsoide respecto del sistema del laboratorio.

Si el elipsoide con una orientación ϕ, θ, ψ sufre una rotación infinitesimal, esta puede descomponerse en tres rotaciones $d\alpha, d\beta$ y $d\gamma$ efectuadas alrededor de los ejes x, y, z . Estas rotaciones alrededor de los ejes del cuerpo se relacionan con las rotaciones $d\phi, d\theta$ y $d\psi$ alrededor de los ejes: z' , línea de nodos y z respectivamente, mediante la relación:

$$\begin{pmatrix} d\phi \\ d\theta \\ d\psi \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \text{sen}\psi / \text{sen}\theta & \cos\psi / \text{sen}\theta & 0 \\ \cos\psi & -\text{sen}\psi & 0 \\ -\text{sen}\psi \text{ctg}\theta & -\cos\psi \text{cot}\theta & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} d\alpha \\ d\beta \\ d\gamma \end{pmatrix} \quad (\text{I.58})$$

Si se denomina q^1, q^2, q^3 a ϕ, θ, ψ respectivamente; x^1, x^2, x^3 a α, β, γ respectivamente y a_i^p a los términos de la matriz de arriba donde p expresa las filas e i las columnas, la expresión (42) resulta:

$$dq^p = \sum_{i=1}^3 a_i^p dx^i \quad (\text{I.59})$$

El vector corriente de difusión relativo al sistema de coordenadas angulares que mide las rotaciones en torno a los ejes del elipsoide se expresa:

$$i = -(\theta_{11}\partial U/\partial\alpha, \theta_{22}\partial U/\partial\beta, \theta_{33}\partial U/\partial\gamma) \quad (\text{I.60})$$

Con la notación ya indicada los términos de este vector se escriben

$$i_B = -\theta_{BB}\partial U/\partial x^B \quad B=1,2,3 \quad (\text{I.61})$$

Aquí θ_{11} representa los términos principales del tensor de difusión rotacional de la partícula que se vinculan a los términos principales del tensor de fricción rotacional mediante la relación de Einstein

$$\theta_{11} = KT/C_{11} \quad (\text{I.62})$$

$U(\alpha, \beta, \gamma)$ es la densidad de probabilidad de presencia del elipsoide en el instante t en un entorno diferencial alrededor de la posición α, β, γ .

Respecto al sistema de coordenadas ϕ, θ, ψ la expresión (I.61) se transforma de la siguiente manera

$$i^{\rho} = \theta^{\rho\sigma} \partial U / \partial q^{\sigma} \quad (\text{I.63})$$

con

$$\theta^{\rho\sigma} = \sum_{B=1}^3 \rho_{AB} \sigma_{AB} \theta_{BB} \quad (\text{I.64})$$

La ecuación de difusión para el movimiento browniano de rotación de un elipsoide se enuncia de la siguiente manera: La derivada con respecto al tiempo de la densidad de probabilidad $U(\phi, \theta, \psi)$ es igual a la divergencia cambiada de signo del vector corriente de difusión.

La divergencia del vector i se expresa

$$\nabla \cdot i = (1/g^{1/2}) (\partial / \partial q^1) [i^1 g^{1/2}] \quad (\text{I.65})$$

donde g es el determinante de la matriz g_{ij} dada por la relación

$$(dx^1)^2 + (dx^2)^2 + (dx^3)^2 = g_{ij} dq^i dq^j \quad (\text{I.66})$$

es decir

$$g_{ij} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & \cos\theta \\ 0 & 1 & 0 \\ \cos\theta & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad \text{y} \quad g = |g_{ij}| = \text{sen}^2\theta \quad (\text{I.67})$$

La ecuación de difusión será pues

$$\partial U / \partial t = (1/\text{sen}\theta) (\partial / \partial q^{\rho}) [\text{sen}\theta \cdot i^{\rho}] \quad (\text{I.68})$$

Reemplazando en ella la expresión (I.63) para i^{ρ} con los $\theta^{\rho\sigma}$ dados en (I.64) y los términos a_{AB} dados en (I.58), resulta la siguiente ecuación diferencial para la difusión rotacional de un elipsoide:

$$\partial U / \partial t = (\theta_{11} \cos 2\psi + \theta_{22} \text{sen} 2\psi) \partial^2 U / \partial \theta^2 + (\theta_{11} \text{sen}^2 + \theta_{22} \cos 2\psi) \dots$$

$$\begin{aligned}
& [\cot\theta \partial U / \partial \theta + (1/\sin^2\theta) \partial^2 U / \partial \phi^2 + \cot^2\theta \partial^2 U / \partial \psi^2 - 2\cot\theta / \sin\theta \partial^2 U / \partial \psi \partial \phi] + \\
& \Theta_{33} \partial^2 U / \partial \psi^2 + 2(\Theta_{11} - \Theta_{33})(\cos\psi \sin\psi / \sin\theta) \{ \partial^2 U / \partial \theta \partial \phi - \cos\theta \partial^2 U / \partial \theta \partial \psi + \\
& + [(1 + \cos^2\theta) / 2 \sin\theta] \partial U / \partial \psi - \cot\theta \partial U / \partial \phi \} \quad (I.69)
\end{aligned}$$

Para el caso particular de simetría alrededor de uno de los ejes del elipsoide (por ejemplo el a_3) $\Theta_{11} = \Theta_{22}$ y U es independiente de ψ porque todas las orientaciones alrededor de a_3 son físicamente equivalentes. Si además se considera que U tiene simetría axial normal a la dirección de medida de la birrefringencia eléctrica, por ejemplo simetría en torno al eje z' del laboratorio, U se hace independiente de ϕ . Esto se cumple cuando se aplica a una solución un campo eléctrico uniforme en la dirección z' . Con estas restricciones la ecuación (I.69) queda de la siguiente manera:

$$\partial U / \partial t = \Theta_{11} (\partial^2 U / \partial \theta^2 + \cot\theta \partial U / \partial \theta) \quad (I.70)$$

Esta ecuación fue obtenida y resuelta por BENOIT ⁽¹⁸⁾.

DON RIDGEWAY ⁽¹⁵⁾ emplea tres sistemas de referencia:

- 1) El sistema del laboratorio ($1', 2', 3'$).
- 2) Un sistema fijo a los ejes geométricos de la partícula en el instante en que se anula el campo eléctrico, ($1, 2, 3$).
- 3) Un nuevo sistema que se mueve con la partícula, con sus ejes paralelos a los de la misma en todo instante, ($1'', 2'', 3''$).

Si x es un vector fijo en la partícula referido al sistema ($1, 2, 3$), x' y x'' el mismo vector pero referido a los sistemas ($1', 2', 3'$) y ($1'', 2'', 3''$) respectivamente, se definen las matrices de transformación A y C tales que verifican las expresiones siguientes:

$$x = Ax' \quad y \quad x'' = Cx \quad (I.71)$$

Estas definiciones implican que la matriz de transformación

del sistema fijo en la partícula (1,2,3) al sistema del laboratorio es AC.

F. PERRIN ⁽¹⁸⁾ deduce directamente de la ecuación de difusión (I.68) los valores medios (dependientes del tiempo) de los cosenos directores de los ejes del elipsoide (1,2,3) con relación a los ejes del sistema del laboratorio (1',2',3'). Allí emplea la condición inicial, que en promedio los ejes de la partícula coinciden para $t=0$ con los ejes de la celda de Kerr. Esta condición no es satisfecha por la distribución inicial de partículas, esto es $\langle a_{1j} \rangle = \delta_{1j}$, excepto para un campo eléctrico infinito. En cambio los elementos de la matriz C cumplen inicialmente la condición $c_{1j} = \delta_{1j}$. Es así que los resultados de Perrin dan directamente $\langle c_{1j} c_{k1} \rangle$, magnitudes que se emplean en el cálculo siguiente. Este es el motivo de la introducción de la matriz C.

Don Ridgeway encuentra la expresión para el decaimiento de la birrefringencia eléctrica, aplicando la teoría de dispersión de luz de Rayleigh-Gans. Aquí se encuentra el mismo resultado reemplazando en la ecuación (I.20), que da la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario según el modelo de HOLCOMB y TINOCO ⁽¹⁹⁾, a la matriz A por la matriz CA, de lo que resulta:

$$\Delta n = (2\pi c_1/n) \sum_i \sum_j \alpha c_{1i} \langle a_{3j}^2 - a_{1j}^2 \rangle \langle c_{j1}^2 \rangle \quad (I.72)$$

DON RIDGEGAY en la referencia ⁽¹⁵⁾ no calcula los promedios $\langle a_{3j}^2 - a_{1j}^2 \rangle$ para un modelo particular. Aquí los expresamos en términos de las funciones ϕ_1 (I.23) y ϕ_2 (I.24) siguiendo el modelo general de Holcomb y Tinoco.

La ecuación (I.72) se transforma para dar:

$$\Delta n = (2\pi c_1/n) [S_1 \phi_1 - S_2 \phi_2] \quad (I.73)$$

donde S_1 y S_2 son funciones de los términos principales de los tensores de polarizabilidad óptica y de fricción rotacional de la partícula y tienen la siguiente forma:

$$\begin{aligned}
S_1 = & \exp(-6\theta-t) \left\{ (1/2)[\alpha_{33} - (\alpha_{11} + \alpha_{22})/2] + \right. \\
& (\theta_1/3)[\alpha_{22} - (\alpha_{11} + \alpha_{33})/2] + (\theta_2/3)[\alpha_{11} - (\alpha_{22} + \alpha_{33})/2] + \\
& \left. (\theta_3/3)[\alpha_{33} - (\alpha_{11} + \alpha_{22})/2] \right\} + \exp(-6\theta+t) \cdot \\
& \left\{ (1/2)[\alpha_{33} - (\alpha_{11} + \alpha_{22})/2] - (\theta_1/3)[\alpha_{22} - (\alpha_{11} + \alpha_{33})/2] - \right. \\
& \left. (\theta_2/3)[\alpha_{11} - (\alpha_{22} + \alpha_{33})/2] - (\theta_3/3)[\alpha_{33} - (\alpha_{11} + \alpha_{22})/2] \right\}
\end{aligned} \tag{I.74}$$

$$\begin{aligned}
S_2 = & (3/4)\exp(-6\theta-t) \left\{ (1/2)(\alpha_{22} - \alpha_{11}) + (\theta_1/2)(\alpha_{33} - \alpha_{11}) + \right. \\
& \left. (\theta_2/3)(\alpha_{22} - \alpha_{33}) + (\theta_3/3)(\alpha_{11} - \alpha_{22}) \right\} + (3/4)\exp(-6\theta+t) \cdot \\
& \left\{ (1/2)(\alpha_{22} - \alpha_{11}) - (\theta_1/3)(\alpha_{33} - \alpha_{11}) - (\theta_2/3)(\alpha_{22} - \alpha_{33}) - \right. \\
& \left. (\theta_3/3)(\alpha_{11} - \alpha_{22}) \right\}
\end{aligned} \tag{I.75}$$

Aquí θ_1 , R , P^2 y θ_{\pm} se expresan de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
\theta_1 = & [(KT/C_{11}) - R] / [2(R^2 - P^2)^{1/2}] & R = (1/3) \sum_1 KT/C_{11} \\
P^2 = & (1/3) \sum_{i>j} (KT)^2 / (C_{11} \cdot C_{jj}) & \theta_{\pm} = R \pm (R^2 - P^2)^{1/2}
\end{aligned} \tag{I.76}$$

Para partículas esferoidales ($a_1 = a_2 \neq a_3$) $C_{11} = C_{22} \neq C_{33}$ y las definiciones (I.76) implican que

$$\begin{aligned}
\theta_1 = \theta_2 = & 1/2, \quad \theta_3 = -1 \\
\text{y } \theta_+ = & \theta_{11}, \quad \theta_- = (\theta_{11} + 2\theta_{33})/3
\end{aligned} \tag{I.77}$$

Si además $\alpha_{011} = \alpha_{022} \neq \alpha_{033}$, la birrefringencia de la solución decae en una forma exponencial combinada con los tiempos de relajación siguientes:

$$1/(6\theta_{11}) \quad \text{y} \quad 1/[2(\theta_{11} + 2\theta_{33})] \quad (\text{I.78})$$

pero si la polarizabilidad óptica de las partículas poseen simetría cilíndrica, esto es $\alpha_{011} = \alpha_{022} \neq \alpha_{033}$, las funciones S_1 y S_2 valen

$$S_1 = \exp(-6\theta_{11}t)[\alpha_{033} - \alpha_{011}]$$

$$S_2 = 0 \quad (\text{I.79})$$

y el decaimiento de la birrefringencia eléctrica se expresa

$$\Delta n = (2\pi c_1/n)(\alpha_{033} - \alpha_{011}) \phi_1 \exp(-6\theta_{11}t) \quad (\text{I.80})$$

De las ecuaciones (I.73) a (I.76) conjuntamente con las ecuaciones (I.23) y (I.24) se desprenden las siguientes características del decaimiento de la birrefringencia eléctrica:

1 Ω A través de las funciones ϕ_1 y ϕ_2 depende de las propiedades eléctricas de las moléculas, esto es de $\vec{\alpha}^E$ y μ , y de la intensidad de campo eléctrico.

2 Ω A través de las funciones S_1 y S_2 el decaimiento de la birrefringencia depende de las propiedades ópticas ($\vec{\alpha}^O$) e hidrodinámicas (C_{11}) de las moléculas

Aquí presentamos un ejemplo que muestra como para ciertas características moleculares, no solo aparece una inversión en el signo de la birrefringencia en el estado estacionario al aumentar el campo eléctrico $\langle E \rangle$, sino también en los transitorios de birrefringencia que siguen a la supresión de dicho campo.

Se considera que las moléculas tienen las siguientes características:

Simetría cilíndrica para sus propiedades hidrodinámicas

$$C_{11}=C_{22}=1.449 \times 10^{-17} \text{ gcm}^2\text{s}^{-1}, \quad C_{33}=6.376 \times 10^{-17} \text{ gcm}^2\text{s}^{-1}$$

Simetría cilíndrica para su polarizabilidad eléctrica, es decir $\gamma_{21} = 0$ y $\gamma_{32} = 0$.

El momento dipolar permanente es perpendicular al eje 3, ($\mu = (\mu_1, 0, 0)$).

Se verifica la siguiente relación entre las propiedades eléctricas:

$$\beta_{12}^2 = 25 \gamma_{32}$$

Los términos principales del tensor polarizabilidad óptica se relacionan de la siguiente manera:

$$\alpha_{22}^o/\alpha_{11}^o = 1,5 \quad \text{y} \quad \alpha_{33}^o/\alpha_{11}^o = 0,3256$$

Mediante el programa cuyo diagrama de flujo se muestra en la Fig.I.5 se calculó $\Delta n/\Delta n_0$ en función de β_{12}^2 (ver Fig.I.8).

En la Fig.I.9 se exhiben el transitorio ocurrido después de suprimir el campo eléctrico para el caso siguiente:

β_{12}^2	ϕ_1	ϕ_2
50	-.2213	.5829

Sistema polidisperso:

Para una solución conteniendo partículas con un eje de simetría común para sus propiedades eléctricas, ópticas e hidrodinámicas, pero de varias longitudes, el decaimiento de la birrefringencia está dado por la expresión

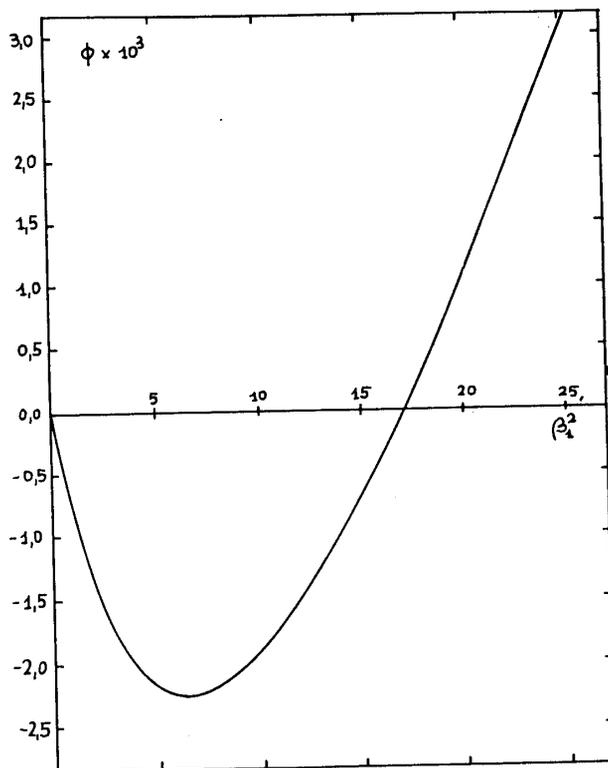


Figura I.8

$$\Delta n = \sum_i n_{e1} \exp(-t/\tau_i) \quad (\text{I.81})$$

donde Δn_{e1} es la contribución de la i -ésima especie a la birrefringencia a $t=0$ y τ_i es el tiempo de relajación de la misma. La expresión (I.81) es válida para soluciones diluidas (18).

YOSHIOKA y WATANABE (20) calculan el siguiente tiempo de relajación promedio

$$\begin{aligned} \langle \tau \rangle &= \left[\sum_i \tau_i \Delta n_{e1} \right] / \left[\sum_i \Delta n_{e1} \right] = \\ &= \int_0^{\infty} (\Delta n / \Delta n_e) dt \end{aligned} \quad (\text{I.82})$$

donde $\Delta n_e = \sum_i \Delta n_{e,i}$ es la birrefringencia de la solución polidispersa en el instante $t=0$.

Esta última expresión surge de integrar la ecuación (I.81) con respecto al tiempo entre los límites cero e infinito. Ella indica que el área total debajo de la curva, $\Delta n / \Delta n_e$ en función del tiempo, es igual a $\langle \tau \rangle$. Si el decaimiento se mide después de aplicar un campo eléctrico muy grande (con Δn próxima a Δn_e) el tipo de promedio es en peso.

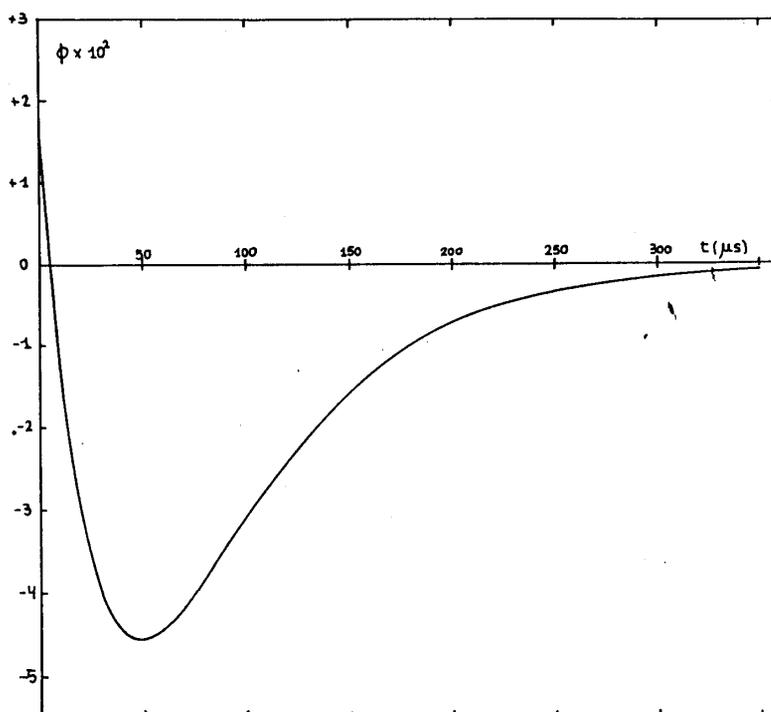


Figura I.9

I.6.2. Crecimiento de la birrefringencia eléctrica

El análisis del crecimiento de la birrefringencia eléctrica requiere el conocimiento de la ecuación de difusión que describe el movimiento browniano de rotación de partículas elipsoidales, en presencia de un campo eléctrico orientador. Esta ecuación fue obtenida por F. PERRIN en la referencia (1^o). El elipsoide tiene, respecto a su sistema

(1,2,3), un momento dipolar $\mu=(\mu_1,\mu_2,\mu_3)^t$ y un tensor polarizabilidad eléctrica con términos principales $\alpha^{E_{11}}$. El campo eléctrico está dirigido según el eje z' del sistema del laboratorio. Referido al sistema del elipsoide este campo vale:

$$A \cdot \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ E \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \text{sen}\theta \text{sen}\psi \\ \text{sen}\theta \text{cos}\psi \\ \text{cos}\theta \end{pmatrix} \cdot E \quad (\text{I.83})$$

y la energía de interacción es:

$$W = -\mu \cdot E - (1/2) E \cdot \overleftarrow{\alpha}^E \cdot E = -(\mu_1 \text{sen}\theta \text{sen}\psi + \mu_2 \text{sen}\theta \text{cos}\psi + \mu_3 \text{cos}\theta) E \\ - (1/2) E^2 (\alpha^{E_{11}} \text{sen}^2\theta \text{sen}^2\psi + \alpha^{E_{22}} \text{sen}^2\theta \text{cos}^2\psi + \alpha^{E_{33}} \text{cos}^2\theta) \quad (\text{I.84})$$

El momento del par de fuerzas que actúa sobre la partícula puede escribirse en la forma

$$M_1 = -\partial W / \partial q^{\sigma} \cdot \partial q / \partial x^1 = -a_1^{\sigma} \cdot \partial W / \partial q^{\sigma} \quad (\text{I.85})$$

Si esta cupla se encuentra constantemente en equilibrio con la originada por la fricción debida a la viscosidad, las velocidades angulares alrededor de los ejes del elipsoide resultan

$$\omega_B = dx^B / dt = M_B / C_{BB} \quad B=1,2,3 \quad (\text{I.86})$$

Mientras que en el sistema de ángulos de Euler se escriben

$$\omega^{\rho} = dq^{\rho} / dt = \sum_{i=1}^3 a_i^{\rho} dx^i / dt = \\ \sum_{i=1}^3 a_i^{\rho} (M_i / C_{11}) = - \sum_{i=1}^3 (a_i^{\rho} a_i^{\sigma} / C_{11}) \partial W / \partial q^{\sigma} \quad (\text{I.87})$$

Estas velocidades angulares determinan una "corriente de convección" con componentes, $U\omega^p$, que se suma a la corriente de difusión originada por el movimiento browniano y resulta la ecuación diferencial siguiente

$$\partial U/\partial t = (1/g^{1/2})\partial/\partial q^p [g^{1/2}(\Theta^{\alpha p} \partial U/\partial q^{\alpha} - U\omega^p)] \quad (I.88)$$

Para el caso particular de una molécula con un eje de simetría común para sus propiedades eléctricas, ópticas e hidrodinámicas y con un momento dipolar permanente μ a lo largo de dicho eje, esto es:

$$\Theta_{11} = \Theta_{22} \neq \Theta_{33} ; \alpha_{11}^{\epsilon,0} = \alpha_{22}^{\epsilon,0} \neq \alpha_{33}^{\epsilon,0} \quad \text{y} \quad \mu = (0,0,\mu_3) \quad (I.89)$$

la ecuación (I.88) se escribe de la siguiente manera

$$\partial U/\partial t = \Theta_{11} \cdot (\partial^2 U/\partial \theta^2 + \cot \theta \partial U/\partial \theta) - \text{div}(UM/C_{11}) \quad (I.90)$$

donde $M = (M_1^2 + M_2^2)^{1/2}$ se expresa

$$M = -\mu_3 E \sin \theta - (\alpha_{33}^{\epsilon,0} - \alpha_{11}^{\epsilon,0}) E^2 \sin \theta \cos \theta \quad (I.91)$$

M. MATSUMOTO y otros ⁽²¹⁾ resuelven la ecuación (I.90) usando el método de perturbación para obtener la función de distribución angular de las partículas y con estas calculan los transitorios de birrefringencia que ocurren al aplicar un pulso de campo eléctrico rectangular y al invertir el sentido del mismo. Los cálculos los realizan hasta la perturbación de cuarto orden en el caso general y hasta la perturbación de sexto orden en el caso de orientación por momento permanente puro.

La condición inicial para el caso de crecimiento de la birrefringencia es

$$U(\cos \theta, t=0) = 1/(4\pi) \quad (\text{orientación al azar}) \quad (I.92)$$

mientras que la función de distribución correspondiente a la inversión del campo eléctrico se encuentra reemplazando en el tratamiento del crecimiento de la birrefringencia a E por $-E$ y aplicando la condición inicial

$$U(\cos\theta, t=0) = \exp(-W/KT) / \int_{\Omega} \exp(-W/KT) d\Omega \quad (I.83)$$

donde W es la energía de interacción entre la la partícula y el campo eléctrico.

Si a las condiciones particulares anteriores dadas por las expresiones (I.89) se cambia el momento dipolar permanentemente por el mas general

$$\mu = (\mu_1, \mu_2, \mu_3)$$

la ecuación diferencial (I.88) resulta

$$\begin{aligned} \partial U / \partial t = & (\theta_{11} / \text{sen}\theta) \partial / \partial \theta (\text{sen}\theta \partial U / \partial \theta) + \\ & (\theta_{11} \text{ctg}^2\theta + \theta_{33}) \partial^2 U / \partial \psi^2 + (1 / \text{sen}\theta) \partial / \partial \theta (\text{sen}\theta \cdot U \partial W / \partial \theta) (1 / C_{11}) + \\ & \partial / \partial \psi \{ U \partial W / \partial \psi [(1 / C_{11}) \text{ctg}^2\theta + (1 / C_{33})] \} \end{aligned} \quad (I.94)$$

Esta ecuación fué resuelta por I. TINOCO (22) usando un método de perturbación. Calcula el crecimiento de la birrefringencia eléctrica considerando solo términos de hasta E^2 en sus desarrollos.

I.6.3. Inversión del campo eléctrico

I. TINOCO y K. YAMAOKA (23), amplian el análisis anterior, agregando el caso del transitorio que ocurre al invertir el campo eléctrico. Consideran además la posibilidad de una polarizabilidad inducida lenta con un tiempo de crecimiento y decaimiento del orden del tiempo de relajación de las partículas debido a la difusión rotacional.

Contrariamente al trabajo de M. MATSUMOTO y otros (21),

éste es válido para de campos eléctricos pequeños ($W \ll KT$).

A continuación presentamos los resultados de la referencia (23).

IA. Crecimiento

(a) $5\theta_{11} \neq \theta_{33}$

$$A = \Delta n / \Delta n_e = 1 - [3p_3 / 2(p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-2\theta_{11}t) + \\ + [6\theta_{11} / (5\theta_{11} - \theta_{33})] [p_1 / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp[-(\theta_{11} + \theta_{33})t] + \\ + [p_3 / 2 + p_1 - q - 6\theta_{11}p_1 / (5\theta_{11} - \theta_{33})] [1 / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-6\theta_{11}t) \quad (I.95)$$

(b) $5\theta_{11} = \theta_{33}$

$$B = 1 - [3p_3 / 2(p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-2\theta_{11}t) + \\ + [(p_3 / 2 + p_1 - q + 6p_1\theta_{11}t) / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-6\theta_{11}t) \quad (I.96)$$

II.A Inversión

(a) $5\theta_{11} = \theta_{33}$

$$C = 1 - [3p_3 / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-2\theta_{11}t) + \\ + [12\theta_{11} / (5\theta_{11} - \theta_{33})] [p_1 / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp[-(\theta_{11} + \theta_{33})t] + \\ + [3p_3 - 12\theta_{11}p_1 / (5\theta_{11} - \theta_{33})] [1 / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-6\theta_{11}t) \quad (I.97)$$

(b) $5\theta_{11} = \theta_{33}$

$$D = 1 - [3p_3 / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-2\theta_{11}t) + \\ + [(3p_3 + 12p_1\theta_{11}t) / (p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-6\theta_{11}t) \quad (I.98)$$

Si existe un momento dipolar inducido lento las ecuaciones anteriores se modifican sumando los siguientes términos:

(a) $6\theta_{11}t_3 \neq 1$; $6\theta_{11}t_1 \neq 1$

$$E = -[6\theta_{11}t_3q_3 / (6\theta_{11}t_3 - 1)(p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-t/t_3) + \\ + [6\theta_{11}t_1q_1 / (6\theta_{11}t_1 - 1)(p_3 - p_1 + q)] \cdot \exp(-t/t_1) +$$

$$+[6\theta_{11t_3}q_3/(6\theta_{11t_3}-1)-6\theta_{11t_1}q_1/(6\theta_{11t_1}-1)] \cdot [1/(p_3-p_1+q)].\exp(-6\theta_{11t}) \quad (\text{I.99})$$

$$(b) \quad 6\theta_{11t_3} = 1; \quad 6\theta_{11t_1} = 1$$

$$F = -[6\theta_{11t}(q_3-q_1)/(p_3-p_1+q)].\exp(-6\theta_{11t}) \quad (\text{I.100})$$

donde:

Δn_e = birrefringencia eléctrica en el estado estacionario para un campo eléctrico determinado.

$$p_1 = (\mu_1^2 + \mu_2^2) / 2(KT)^2$$

$$p_3 = (\mu_3 / KT)^2$$

K = constante de Boltzmann

T = temperatura absoluta

KT para $j = 1$ o 3

La polarizabilidad eléctrica a lo largo de los ejes de simetría ($j=3$) y transversal ($j=1$), se escriben de la siguiente manera:

$$\alpha^{E_{jJ}}(t) = \alpha^{E_{jJ}} + (\alpha_1)^{E_{jJ}} [1 - \exp(-t/t_j)] \quad (\text{I.101})$$

$\alpha^{E_{jJ}}$ representa la componente rápida, con tiempo de relajación mucho menor que los tiempos correspondientes a la difusión rotacional de las moléculas.

$(\alpha_1)^{E_{jJ}}$ simbolizan las contribuciones a la polarizabilidad eléctrica lenta, con tiempo de relajación, t_j , del orden de los tiempos de relajación de la difusión rotacional.

Se definen los parámetros:

$$q = (\alpha^{E_{33}} - \alpha^{E_{11}}) / KT$$

$$q(t) = [\alpha^{E_{33}}(t) - \alpha^{E_{11}}(t)] / KT \quad (\text{I.102})$$

En la Fig.I.10 se muestra el diagrama de flujo del programa escrito para efectuar el cálculo de los transitorios de la birrefringencia eléctrica.

Si existen momentos dipolares inducidos lentos $\Delta n / \Delta n_e$ vale

II. ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO (ADN).

El ADN es una molécula compuesta por unidades repetidas llamadas polinucleótidos. Cada nucleótido está formado por el azúcar desoxirribosa, una base nitrogenada derivada de una purina o una pirimidina y ácido fosfórico. En la Fig.II.1 se muestran los componentes del ADN.

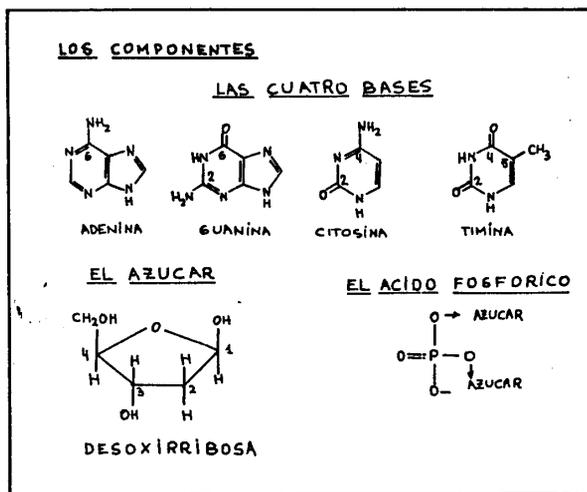


Figura II.1

Los nucleótidos están conectados por enlaces azúcar-fosfato que unen el carbono 3' de un azúcar con el carbono 5' de la siguiente. La Fig.II.2 corresponde a una cadena de polinucleótido de ADN.

Estudios Bioquímicos y de difracción de rayos X llevaron a WATSON y CRICK (24) en 1953, a proponer un modelo en doble helicoide para el ADN que explica tanto las propiedades fisicoquímicas como la función biológica de la macromolécula. Este modelo consiste en dos cadenas de polinucleótidos en ordenación antiparalela (5'-3' en un helicoide y 3'-5' en el otro), mantenidos equidistantes mientras se enrollan en torno a un eje común formando un doble helicoide dextrógiro. Las bases se dirigen desde las cadenas al eje central. Las bases de ambas cadenas se en-

frentan de a pares. Estas parejas de bases estan contenidas en un mismo plano perpendicular al eje y se unen entre si

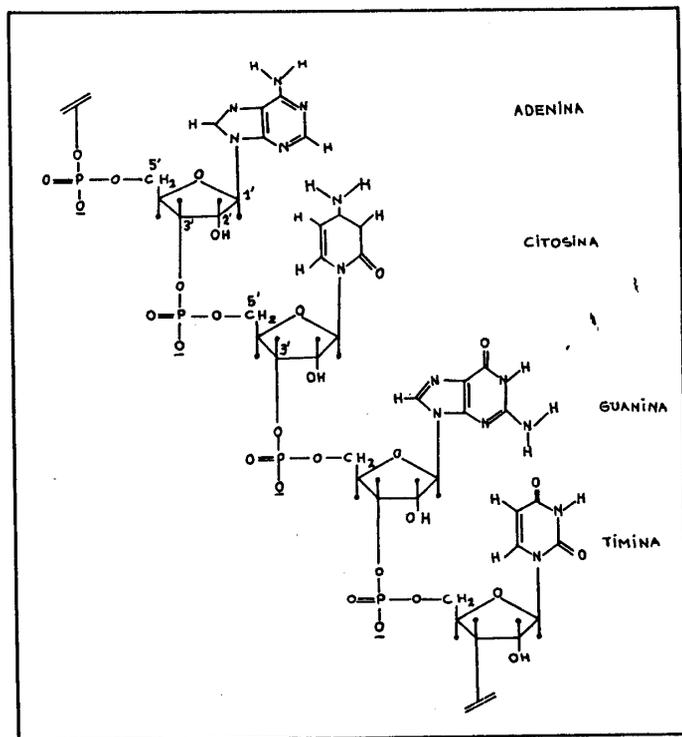


Figura II.2

mediante enlaces de hidrógeno. A cada base púrica se le opone una pirimídica: a la adenina, la timina y a la guanina la citosina. No hay restricciones en la secuencia de los pares de bases a lo largo de las cadenas.

La Fig.II.3 muestra el doble helicoide de ADN. Las dos cintas simbolizan las dos cadenas de azúcar-fosfatos y las barras horizontales los pares de bases que mantienen juntas las cadenas. La línea vertical marca el eje de la molécula. Cada vuelta tiene una longitud de 34 \AA y comprende 10 pares de bases. El diámetro del doble helicoide es de 20 \AA . De acuerdo con la estructura de Watson y Crick, el peso molecular del ADN es de 180 Dalton por \AA de longitud.

La estructura del ADN en solución acuosa de baja fuerza iónica (25) se corresponde con la denominada forma B que coincide con la descripta arriba.

La Fig.II.2 muestra que en cada fosfato queda libre una carga negativa. Para soluciones acuosas de ADN con $\text{pH} > 4$ la ionización de los grupos fosfatos es total (28). En estas condiciones se puede decir que el ADN posee una carga (-e) por cada 1,7 Å de longitud. La electro-neutralidad se satisface debido a los cationes (contraiones) que rodean a la molécula, cuya distribución se tratará en el sección III.

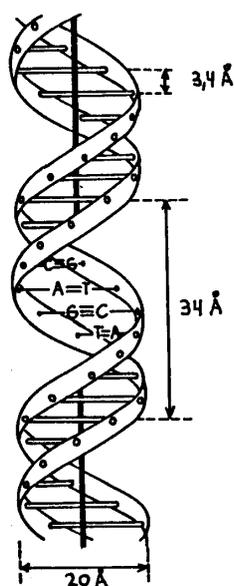


Figura II.3

SANDRON, CERF y LITZER (27) encuentran que el ADN puede fragmentarse mediante degradación ultrasónica en moléculas que retienen la estructura de Watson y Crick.

Los fragmentos de ADN sonicado con peso molecular del orden de 300.000 Dalton tienen una polidispersión limitada (28).

Mediciones de los tiempos de relajación de la birrefringencia eléctrica de soluciones acuosas de ADN sonicado muestran que, para pesos moleculares menores que

300.000 Dalton (longitudes de cadena menores que 1500 Å), se verifica la relación de Broersma (28) correspondiente a varillas cilíndricas:

$$\tau_1 = [\pi\eta(L)^3/18KT]\{\ln(L/a)-1,57+7[(1/\ln(L/a))-0,28]^2\}^{-1} \quad (II.1)$$

donde L es la longitud y a es el radio del cilindro, η es el coeficiente de viscosidad, K es la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta.

La relación experimental entre el peso molecular y el tiempo de relajación, para pesos moleculares menores de 300.000 Dalton se expresa (30)

$$\tau_1 \mu s = 2,5 \times 10^{-11} M^{2.2} \quad (II.2)$$

Pero solo las moléculas de ADN con longitudes menores que 600 Å muestran un decaimiento monoexponencial de la birrefringencia eléctrica (30) y se presentan como verdaderas varillas rígidas. Sin embargo este comportamiento puede extenderse a moléculas de ADN con longitudes comprendidas entre 600 y 1500 Å si están en solución acuosa diluida y con fuerza iónica menor que 1mM (31 y 32).

III. DISTRIBUCION IONICA ALREDEDOR DE UN COLOIDE O MACROION EN SOLUCION.

III.1. Ecuación de Poisson-Boltzmann.

El análisis de la interacción entre las cargas fijas a una partícula (coloide o macroion) y los iones móviles que la rodean se realiza mediante la ecuación de Poisson-Boltzmann (33 y 34). Dada una partícula con una distribución promedio de cargas fijas y con un sistema de referencia solidario a la misma, la función potencial eléctrico con respecto a ese sistema se obtiene mediante la ecuación de Poisson:

$$\nabla^2 \Psi = -(4\pi/\epsilon_1)(\rho_f + \rho_m) \quad (\text{III.1})$$

donde el significado de cada símbolo es el siguiente:

∇^2 operador laplaciano.

ϵ_1 constante dieléctrica del solvente.

ρ_f densidad volumétrica de cargas fijas.

ρ_m densidad volumétrica de cargas móviles.

En la ecuación (III.1) el potencial eléctrico Ψ y la densidad de carga ρ_m son promedios estadísticos y ρ_f es distinto de cero solo dentro de una región bien definida del espacio. Suponiendo que las cargas fijas en la partícula son negativas, la ecuación de Poisson-Boltzmann se obtiene reemplazando en la ec. (III.1) a ρ_m por la expresión siguiente:

$$\rho_m = Ze[c_+(r) - c_-(r)] \quad (\text{III.2})$$

donde Z es la valencia de los iones ($Z_+ = Z_- = Z$), e es la carga del electrón, $c_+(r)$ y $c_-(r)$ son las concentraciones numéricas de cationes y aniones respectivamente que se calculan mediante las distribuciones de Boltzmann siguientes:

$$c_+(r) = c_+(r_0) \exp(-Ze\Psi(r)/KT) \quad (\text{III.3})$$

$$c_-(r) = c_-(r_0) \exp(+Ze\Psi(r)/KT) \quad (\text{III.4})$$

donde $c_+(r_0)$ y $c_-(r_0)$ son las concentraciones numéricas de cationes y aniones respectivamente en el punto de referencia r_0 para el cual $\Psi(r_0)=0$, K es la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta.

III.2 Dos placas cargadas paralelas sumergidas en una solución salina

Este sistema es analizado por VERWEY y OVERBEEK (35). Suponen que las placas tienen una extensión infinita, que las caras planas enfrentadas están a una distancia $2d$ y tienen una densidad superficial de carga uniforme, σ . Despreciando efectos de borde, el potencial, Ψ , y la densidad de carga, ρ_m , dependen solo de la coordenada (x) normal a las placas. En estas condiciones, la ecuación de Poisson-Boltzmann (III.1) para la región $0 < x < 2d$ resulta:

$$d^2\Psi/dx^2 = -(4\pi/\epsilon_1)\rho_m \quad (\text{III.5})$$

donde:

$$\begin{aligned} \rho_m &= e\{c_+(x=\infty)\exp(-Ze\Psi/KT) - c_-(x=\infty)\exp(+Ze\Psi/KT)\} \\ &= 2ec_0\sinh(Ze\Psi/KT) \end{aligned} \quad (\text{III.6})$$

aquí $c_+(x=\infty) = c_-(x=\infty) = c_0$ y c_0 es el número de iones por cm^3 lejos de las superficies donde el potencial eléctrico se anula. Si se definen las magnitudes dimensionales :

$$y = Ze\Psi/KT, \quad z = Ze\Psi_0/KT \quad \text{y} \quad \xi = \kappa x \quad (\text{III.7})$$

donde Ψ_0 es el potencial eléctrico sobre las placas y

$$\kappa = (8\pi c_0 Z^2 e^2 / \epsilon_1 K T)^{1/2} \quad (\text{III.8})$$

es la constante de Debye-Hückel

$$d^2y/d\xi^2 = \sinh y \quad (\text{III.9})$$

con las condiciones de contorno siguientes:

$$y = Ze\psi(d)/KT = u \quad \text{y} \quad dy/d\xi = 0 \quad \text{para } x=d \quad (\text{III.10})$$

Integrando una vez la ecuación (III.9) se obtiene:

$$dy/d\xi = -[2 \cosh(y) - 2 \cosh(u)]^{1/2} \quad (\text{III.11})$$

A fin de encontrar la función potencial eléctrico se integra una segunda vez y resulta:

$$\int_z^u [2 \cosh(y) - 2 \cosh(u)]^{-1/2} dy = -\kappa d \quad (\text{III.12})$$

Una vez hallado el valor del potencial eléctrico (adimensional), u , a media distancia entre las placas, d , se obtiene el potencial eléctrico y en función de x empleando nuevamente la ecuación (III.11):

$$\int_z^y [2 \cosh(y) - 2 \cosh(u)]^{-1/2} dy = -\kappa x \quad (\text{III.13})$$

Si no existe interacción entre las placas, es decir si el potencial eléctrico y su derivada $dy/d\xi$ se anulan para $d=\infty$, la solución de la ecuación (III.9) es:

$$ey/2 = \{e^{z/2} + 1 + (e^{z/2} - 1)e^{-\xi}\} / \{e^{z/2} + 1 - (e^{z/2} - 1)e^{-\xi}\} \quad (\text{III.14})$$

Para $\xi \gg 1$ y z arbitrario:

$$y = 4\mathcal{V}e^{-\xi} \quad \text{con} \quad \mathcal{V} = (e^{z/2} - 1) / (e^{z/2} + 1) \quad (\text{III.15})$$

La relación entre la densidad superficial de carga y el campo eléctrico para $x=0$ se obtiene mediante la ley de Gauss de la electrostática y vale:

$$\sigma = -(\epsilon_1/4\pi)(d\psi/dx)_{x=0} \quad (\text{III.16})$$

La Figura III.1 muestra una representación esquemática del potencial eléctrico entre dos placas en interacción en comparación con el de la región exterior a las mismas.

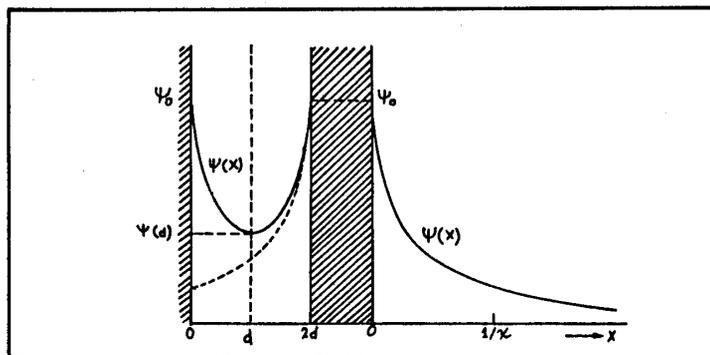


Figura III.1

III.3 Macroiones cilíndricos en solución con exceso de sal.

ALEXANDROWICZ (38) aplica la ecuación de Poisson-Boltzmann a una solución de macroiones cilíndricos, de radio a y longitud L con N cargas fijas distribuidas uniformemente sobre su superficie. La valencia de los iones de la sal adicionada la elige $Z=1$.

Realiza las siguientes suposiciones:

- Los cilindros en solución están dispuestos en forma paralela y son equidistantes, a una distancia $2R$ entre sus ejes.
- El potencial eléctrico ψ tiene simetría cilíndrica alrededor de cada partícula.
- El valor absoluto del potencial eléctrico, $|\psi|$, que es máximo sobre la superficie de los cilindros, pasa por un mínimo ($(\nabla\psi)_{R=0}$) en la superficie del subvolumen cilíndrico de radio R que encierra a cada macroion. Este mínimo es el mismo para todos los macroiones del conjunto (solución).

-El subvolumen mencionado arriba, denominado tambien "volumen libre", coincide con el ocupado en promedio por cada macroion en la solución, es decir:

$$\pi R^2 L = c_1^{-1} \quad (\text{III.17})$$

donde c_1 es el número promedio de macroiones por unidad de volumen en la solución.

-El sistema de varillas cargadas se encuentran en equilibrio de diálisis con una solución salina.

Con la condicion $(\nabla\psi)_{R=0}$ se establece la electro-neutralidad en cada subvolumen. Pero además existe una diferencia de potencial entre las capas superficiales de los subvolumenes por un lado y la solución salina externa por el otro. Esto se muestra en la Figura III.2 que es una representación esquemática del potencial eléctrico ψ dentro de la solución de polielectrolito y fuera de ella.

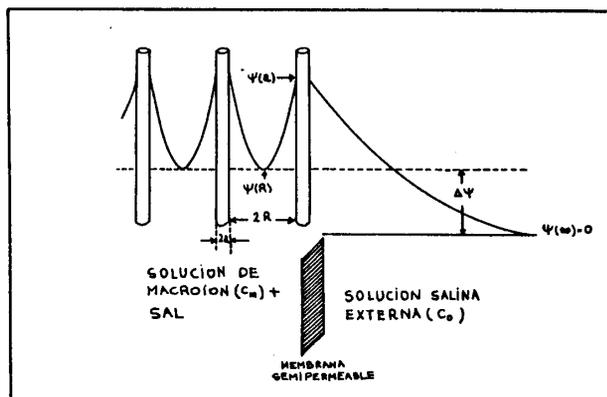


Figura III.2

La ecuación de Poisson-Boltzmann (III.5) para este sistema se escribe:

$$(1/r)(d/dr)[r(d\psi/dr)] = -(8\pi e/\epsilon_1)c_o \sinh(e\psi/KT) \quad (\text{III.18})$$

Esta ecuación difiere de la presentada por ALEXANDROWICZ (38) debido a un cambio en la elección del punto de referen-

cia para el potencial nulo. Mientras que en aquel trabajo se hace cero el potencial en la periferia de los subvolumenes cilindricos de radio R, aquí tomamos como referencia un punto dentro del solvente en equilibrio de diálisis con la solución de macroiones, $r_0 = \infty$.

Para ρ_m se usó la ec.(III.6), con $c_+(r=\infty) = c_-(r=\infty) = c_0$, donde c_0 es el número de iones por cm^3 en la solución salina externa.

Las condiciones de contorno para la ecuación (III.18) son las siguientes:

$$d\Psi/dr]_{r=R} = 0 \quad , \quad d\Psi/dr]_{r=a} = -(4\pi/\epsilon_1) \quad (\text{III.19})$$

donde $\sigma = -Ne/(2\pi aL)$ es la densidad superficial de carga.

Introduciendo el potencial adimensional $y = e\Psi/KT$ y la distancia adimensional $x = \kappa r$, donde κ es la constante de Debye-Hückel dada en la ecuación (III.8), la ecuación de Poisson-Boltzmann se reduce a:

$$(1/x)(d/dx)[x(dy/dx)] = \sinh y \quad (\text{III.20})$$

Esta última ecuación no tiene solución analítica, excepto para algunos casos especiales. Por ejemplo para potenciales débiles con $y \ll 1$ la ecuación (III.20) se transforma en la siguiente ecuación de Bessel modificada de orden cero:

$$x^2(d^2y/dx^2) + x(dy/dx) - x^2y = 0 \quad (\text{III.21})$$

Si no existe interacción entre los macroiones, es decir si $y(R=\infty) = 0$ la solución de esta ecuación es:

$$y^{(DH)} = (y_0^{(DH)}/K_0(x_0)) K_0(x) \quad y \ll 1 \quad (\text{III.22})$$

donde y_0 es el potencial en la superficie del cilindro $x_0 = \kappa a$ y $K_0(x)$ es la función modificada de Bessel de segunda clase y orden cero.

Relación entre la densidad numérica lineal de carga,

$\psi = N/L$, y el potencial eléctrico y_0 :

El campo eléctrico en la superficie del cilindro se obtiene aplicando el teorema de Gauss del flujo eléctrico:

$$\left(\frac{dy^{(DH)}}{dx}\right)_{x_0} = -2(N/L)e^2/(x_0\epsilon_1KT) \quad (\text{III.23})$$

Otra expresión para el campo eléctrico en la superficie se encuentra derivando $y_0^{(DH)}$ de la ecuación (III.22) respecto de x

$$\left(\frac{dy^{(DH)}}{dx}\right)_{x_0} = -y_0^{(DH)}K_1(x_0)/K_0(x_0) \quad (\text{III.24})$$

Igualando las ecuaciones (III.23) y (III.24) resulta la siguiente expresión para $y_0^{(DH)}$

$$y_0^{(DH)} = (2e^2/\epsilon_1KT)(N/L)[K_0(x_0)/x_0K_1(x_0)] \quad (\text{III.25})$$

Para eliminar la restricción de validez para potenciales pequeños se introduce un factor de corrección β dependiente de x_0 e y_0 que se determina mediante la integración numérica de la ecuación (III.20). Este procedimiento es realizado por STIGTER (37).

$$y_0 = [1/\beta(x_0, y_0)](2e^2/\epsilon_1KT)(N/L)[K_0(x_0)/x_0K_1(x_0)] \quad (\text{III.26})$$

Para cilindros con una gran densidad de carga STIGTER (38) define una densidad de carga equivalente de manera que su curva potencial-distancia coincida en la región de potenciales pequeños ($y_0 \ll 1$) con la curva correspondiente al potencial de Debye-Hückel de la ecuación (III.22). En la Fig. III.3 se aclara esta definición.

Para encontrar la densidad de carga equivalente se realizan las mismas operaciones que llevaron a las ecuaciones (III.23) y (III.24) pero correspondientes a superficies cilíndricas con radio arbitrario x en lugar de x_0 . Se llega a la siguiente expresión para la densidad lineal numérica de carga equivalente

$$V_e = [\epsilon_1 KT / (2e^2)] [y_0^{(DH)} / K_0(x_0)] \lim_{x \rightarrow 0} [x K_1(x)] \quad (\text{III.27})$$

El limite en la ecuación (III.27) vale 1. Además se define el factor de corrección $\chi(x_0, y_0) = y_0 / y_0^{(DH)}$ que elimina la restricción de validez para potenciales pequeños. Este se encuentra resolviendo numéricamente la ecuación (III.20).

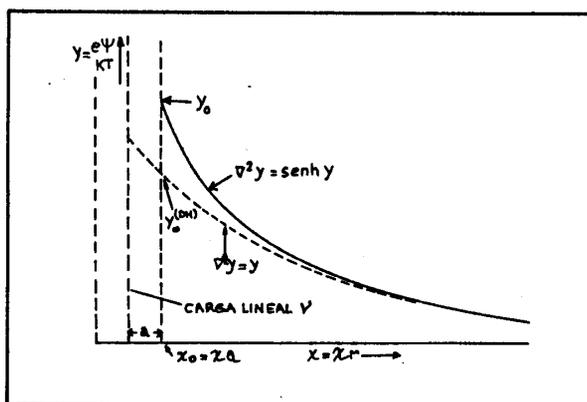


Figura III.3

Procediendo de esta manera se llega a la siguiente expresión para la densidad numérica lineal de carga equivalente

$$V_e = \{\epsilon_1 KT / [2e^2 \chi(x_0, y_0)]\} [y_0 / K_0(x_0)] \quad (\text{III.28})$$

STIGTER (37) tabula los factores de corrección $\beta(x_0, y_0)$ y $\chi(x_0, y_0)$.

Empleando las ecuaciones (III.22) y (III.27) el potencial lejos del macroion, donde $y \ll 1$, puede escribirse

$$\Psi = (2V_e e / \epsilon_1) K_0(\kappa r) \quad (\text{III.29})$$

Mientras que el campo eléctrico resulta

$$E = -\partial\psi/\partial r = (2V_0 e/\epsilon_1) \kappa K_1(\kappa r) \quad (\text{III.30})$$

III.4. Condensación de contraiones.

G. S. MANNING⁽³⁹⁾ elaboró una teoría que analiza la interacción entre pequeños iones con macroiones cilíndricos. De acuerdo con esta teoría, los contraiones se "condensan" alrededor del polielectrolito cilíndrico hasta que la suma de sus cargas originales más las de los iones condensados cae a un valor característico dependiente de la valencia de los contraiones, de la constante dieléctrica del solvente y de la temperatura del sistema. La demostración de la condensación de contraiones está basada en un análisis de la interacción entre un cilindro cargado y iones pequeños según la teoría de la mecánica estadística para soluciones iónicas de Mayer. Este análisis muestra la divergencia de la energía libre cuando la densidad de carga lineal del macroion es mayor que un valor crítico y cuando la concentración de cilindros tiende a cero. Se define la densidad de carga adimensional $Q = (e^2/\epsilon_1 kT)(N/L)$ donde (N/L) es el número de cargas por unidad de longitud del macroion. El valor crítico de Q resulta ser $Q_{\text{crit.}} = |z|^{-1}$ donde z es la valencia de los contraiones. Para $z=1$ el valor crítico de la densidad lineal de carga real correspondiente es $e(N/L)_{\text{crit.}} = 6,6 \times 10^{-3}$ esu/cm. Si el parámetro Q es mayor que la unidad, y solo están presentes contraiones univalentes, entonces esos contraiones se condensan en la línea cargada hasta que el valor neto de Q sea igual a 1.

Un concepto fundamental de la teoría de condensación es que después de ocurrida la misma, esto es, cuando $Q = Q_{\text{crit.}}$, toda interacción entre los iones sin condensar y la entidad compuesta por el cilindro más los iones condensados puede tratarse mediante la aproximación de Debye-Hückel.

En un trabajo posterior ⁽⁴⁰⁾ MANNING cuantifica el volumen de la solución dentro del cual están localizados los contraiones condensados. Supone que los contraiones condensados ocupan una capa cilíndrica libre de coiones de volumen

V_p rodeando al polion. Aunque los contraiones condensados estan atrapados radialmente, se los considera libre de trasladarse sobre la superficie del macroion, es decir se los considera territorialmente ligados. La carga del macroion se reemplaza por una linea de cargas discretas igualmente espaciadas. Para el caso de macroiones de ADN los contraiones ligados ($1-Q^{-1}=0,76$ por grupo fosfato) ocupan una región que se extiende radialmente desde la superficie de la molécula (radio= 10Å) hasta una distancia de 7Å .

III.5. Cálculo aproximado de la distribución de iones alrededor de macroiones cilindricos en solución.

-Sin exceso de sal:

La distribución de los iones alrededor de los macroiones de una solución, es determinada en forma aproximada por F.OOSAWA (41) empleando un modelo de "dos fases" que se explica a continuación.

En la figura III.4, r es la distancia al eje del cilindro, $r=R$ es la periferia del subvolumen de cada macroion definido en la sección III.3 y $r=b$ determina la superficie cilindrica de separación entre "dos fases", la fase de contraiones ligados (pero móviles) al macroion (región $a < r < b$) y la fase de contraiones libres (región $b < r < R$).

La distribución de equilibrio entre los iones libres y ligados se expresa, de la siguiente manera:

$$N_B/v = \{(N-N_B)/[(V/M)-v]\} \exp(-e\delta\psi/KT) \quad (\text{III.31})$$

donde el significado de cada simbolo es el siguiente:

M : número de macroiones de la solución.

V : volumen de la solución.

N_B : número de contraiones ligados al macroion

v : volumen aparente del macroion (cilindro de longitud L y radio b).

$\delta\psi = \psi_1 - \psi_0$ es la diferencia de potencial promedio entre la región interna (con potencial ψ_1) y la región externa (con

potencial Ψ_*). Esta diferencia de potencial promedio, $\delta\Psi$, es una función de $(N-N_B)$ y del tamaño y forma del macroion. Para el modelo cilíndrico se expresa aproximadamente mediante la siguiente relación:

$$\delta\Psi = -[2e(N-N_B)/\epsilon_1 L] \ln(R/b) \quad (\text{III.32})$$

Reemplazando la ecuación (III.32) en la ecuación (III.31) y definiendo la fracción de volumen de contraiones ligados $f=Mv/V$ y el grado de disociación $\xi=(N-N_B)/N$, la ecuación que determina el equilibrio entre iones libres y ligados resulta:

$$\ln[(1-\xi)/\xi] = \ln[f/(1-f)] + \xi Q \ln(1/f) \quad (\text{III.33})$$

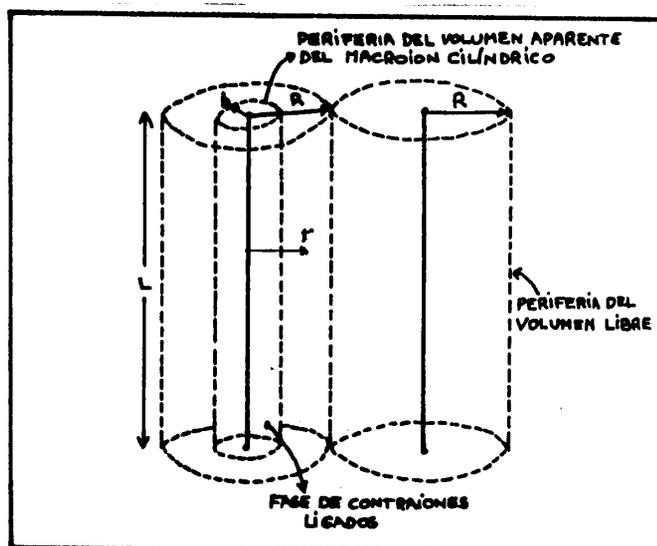


Figura III.4

donde $Q=(e^2/\epsilon_1 KT)(N/L)$.

-Con exceso de sal:

Si J es el número total de moléculas de sal en la solución y se supone $Jv/NV = j \ll 1$ (pequeña concentración sa-

lina), la ecuación de equilibrio iónico (III.33) se transforma de la siguiente manera

$$\ln\left[\frac{1-\xi}{\xi+j/f}\right] = \ln\left[\frac{f}{1-f}\right] + \xi Q \ln(1/f) \quad (\text{III.34})$$

OOSAWA⁽⁴²⁾ fue capaz de predecir el fenómeno de condensación de contraiones empleando el modelo en dos fases para describir la distribución de contraiones y encontró el mismo valor crítico para el parámetro Q , que la teoría más rigurosa de MANNING (sección III.4). El requerimiento matemático para la condensación de contraiones establecido por el modelo de dos fases es que la concentración de macroiones sea nula. Sin embargo también a la luz de este modelo se prueba que la condensación de contraiones es numéricamente insensible de la concentración especialmente para concentración de volumen menores que 0,1⁽⁴²⁾.

IV POLARIZABILIDAD ELECTRICA DE UN POLIELECTROLITO.

IV.1. Características generales:

Aquí se presenta la formulación de F.OOSAWA (42), extendida a tres dimensiones para calcular la polarizabilidad eléctrica de un polielectrolito.

En el equilibrio los contraiones de un macroion se distribuyen de tal manera que el sistema en conjunto no posee momento dipolar eléctrico. En cambio si se le aplica al polielectrolito un campo eléctrico la distribución de los contraiones se corre respecto de su cadena cargada y aparece en él un momento dipolar.

El valor medio de las componentes del momento dipolar eléctrico del sistema "macroion-contraiones" en un campo eléctrico se expresa de la siguiente manera:

$$\langle \mu'_i \rangle = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} \mu'_i \exp(-F(\mu')/KT + \mu'_i E_i / KT) d\mu'_i}{\int_{-\infty}^{\infty} \exp(-F(\mu')/KT + \mu'_i E_i / KT) d\mu'_i} \quad (IV.1)$$

donde el índice i corresponde a las coordenadas x, y o z ; $F(\mu')$ es la energía libre del sistema en un estado con momento dipolar μ' , que tiene un mínimo $F(0)$ para $\mu'=0$. La probabilidad de un estado con momento dipolar μ' es proporcional a $e^{-F(\mu')/KT}$, aún en ausencia de campo eléctrico. Usando la ecuación (IV.1) se pueden obtener las componentes principales del tensor polarizabilidad eléctrica $\overset{\leftrightarrow}{\alpha}^E$:

$$\alpha_{11}^E = (d\langle \mu'_i \rangle / dE_i)_{E_i=0} = (1/KT) \langle \mu'^2 \rangle_{E_i=0} - (1/KT) (\langle \mu'_i \rangle_{E_i=0})^2 \quad (IV.2)$$

Para $E=0$, $\langle \mu'_i \rangle_{E_i=0} = 0$ y los términos principales de $\overset{\leftrightarrow}{\alpha}^E$ resultan:

$$\alpha_{11}^E = (1/KT) \langle \mu'^2 \rangle_{E_i=0} \quad (IV.3)$$

donde $\langle \mu_i'^2 \rangle_{E_1=0}$ es el promedio del cuadrado de la componente i del momento dipolar originado por las fluctuaciones térmicas de carga en el sistema (fluctuaciones de la concentración de contraiones).

IV.2. Polarizabilidad eléctrica de un macroion tipo varilla.

F.OOSAWA (43) considera un macroion tipo varilla con una densidad lineal de cargas fijas uniforme N/L . Los contraiones ligados también están distribuidos en promedio con una concentración uniforme $V_B = N_B/L$ a lo largo de la varilla.

Cuando en el intervalo $x-x+dx$ la concentración se desvía del promedio una cantidad $\delta V_B(x)$ aparece en la varilla un momento dipolar eléctrico dado por la expresión siguiente:

$$\mu' = e \int_{-L/2}^{+L/2} x \delta V_B(x) dx \quad (IV.4)$$

y la polarizabilidad eléctrica se expresa según la ec.(IV.3) de la siguiente manera:

$$\alpha_x = \langle \mu'^2 \rangle / KT = (e^2 / KT) \int_{-L/2}^{+L/2} \int_{-L/2}^{+L/2} xx' \langle \delta V_B(x) \delta V_B(x') \rangle dx dx' \quad (IV.5)$$

Los valores medios que figuran en la integral de la ecuación (IV.5) se calculan conociendo la probabilidad de que ocurra una fluctuación $\delta V_B(x)$. Esta probabilidad es proporcional a $\exp(-\delta F / KT)$, donde δF es el exceso de energía libre debida a la fluctuación de carga en todo el sistema (44) que se expresa: $\delta F = \delta U - T \delta S$ donde δU y δS son los excesos de energía interna y entropía respectivamente, T es la temperatura absoluta, constante en el sistema, y K es la constante de Boltzmann.

El dominio a lo largo de la varilla en el cual los contraiones estan ligados pero móviles se supone una "fase" solución de contraiones con una concentración promedio $\bar{V}_B = N_B/L$.

En este caso el exceso de entropía debido a las fluctuaciones de concentración puede escribirse aproximadamente (43.44):

$$T\delta S = -(KT/2)(1/\bar{V}_B) \int_{-L/2}^{+L/2} (\delta V_B(x))^2 dx \quad (IV.6)$$

Mientras que el exceso de energía interna δU se expresa:

$$\delta U = (1/2) \int_{-L/2}^{+L/2} \int_{-L/2}^{+L/2} \delta V_B(x) \delta V_B(x') \Psi(|x-x'|) dx dx' \quad (IV.7)$$

donde $\Psi(|x-x'|)$ es la energía de interacción entre los contraiones en x y x' . Esta se supone que depende unicamente de la distancia $|x-x'|$.

Desarrollando $\delta V_B(x)$ en serie de Fourier:

$$\delta V_B(x) = \sum_m c_m \exp[i(2\pi m/L)x] \quad (IV.8)$$

donde el coeficiente c_m vale:

$$c_m = (1/L) \int_{-L/2}^{+L/2} \delta V_B(x) \exp[-i(2\pi m/L)x] dx \quad (IV.9)$$

Reemplazando la ec.(IV.8) en (IV.6) resulta para $T\delta S$ la siguiente expresión:

$$T\delta S = -(KT/2)(L/\gamma_B) \sum_m c_m^2 \quad (\text{IV.10})$$

Mientras que el desarrollo en serie de Fourier de δU se obtiene reemplazando la ec.(IV.8) en la ec.(IV.7). Suponiendo que la longitud L de la varilla es mucho mayor que el rango efectivo de la interacción $\varphi(|x-x'|)$ y cambiando las variables x y x' por x y $r=x'-x$, resulta:

$$\delta U = (1/2) \sum_m \sum_{m'} c_m c_{m'} \int_{-L/2}^{+L/2} \exp[i(2\pi/L)(m+m')x] dx (L\varphi_{m+m'}/2) \quad (\text{IV.11})$$

donde el coeficiente de Fourier $\varphi_{m'}$ vale:

$$\begin{aligned} \varphi_{m'} &= (1/L) \int_{-L}^{+L} \exp[-i(2\pi m'/L)r] \varphi(|r|) dr = \\ &= (2/L) \int_0^L \cos(2\pi m' r/L) \varphi(|r|) dr \end{aligned} \quad (\text{IV.12})$$

Esta integral sobre r es independiente de la localización de dx , excepto cuando está en una región de extensión despreciable de los extremos de la varilla. Con estas consideraciones se llega a la siguiente expresión para δU :

$$\delta U = (L/2)^2 \sum_m c_m^2 \varphi_m \quad (\text{IV.13})$$

El exceso de energía libre $\delta F = \delta U - T\delta S$ resulta:

$$\delta F = (KT/2) \sum_m c_m^2 [(\varphi_m/2KT) + 1/N_B] L^2 \quad (\text{IV.14})$$

La teoría de las fluctuaciones termodinámicas da el siguiente resultado para el valor medio del producto $c_m c_{m'}$ (43.44):

$$\langle c_m c_{m'} \rangle = \{L^2 [(\psi_m/2KT) + 1/N_B]\}^{-1} \delta_{(m+m')} \quad (\text{IV.15})$$

Reemplazando el desarrollo en serie de Fourier para $\delta V_B(x)$ de la ec.(IV.8) en la ec.(IV.5) se obtiene la siguiente expresión para la polarizabilidad eléctrica:

$$\alpha_x = -(eL^2/2\pi)^2 (1/KT) \sum_m \sum_{m'} [(-1)^{m+m'} \langle c_m c_{m'} \rangle / mm'] \quad (\text{IV.16})$$

Sustituyendo en la ec.(IV.16) los valores medios de los productos $c_m c_{m'}$ dados en la ec.(IV.15), la polarizabilidad eléctrica resulta:

$$\alpha_x = \sum_m \{ (eL/2\pi)^2 (N_B/KT) [1 + (N_B \psi_m/2KT)]^{-1} (1/m^2) \} \quad (\text{IV.17})$$

La expresión entre llaves representa la contribución a la polarizabilidad eléctrica total, de la fluctuación de carga de modo m , $(\alpha_x)_m$. Para el caso de varillas suficientemente largas, ψ_m es independiente de m , para pequeños valores de este índice y puede ponerse:

$$\psi_m = (2/L) \int_0^L \psi(r) dr = \psi \quad (\text{IV.18})$$

F.OOSAWA (43.42) obtiene el valor de ψ , calculando la energía para construir la atmósfera de contraiones del macroion. Empleando el modelo de "dos fases" (ver sección III.5.) para describir la distribución de contraiones, resulta la siguiente expresión:

$$\psi = (4e^2/\epsilon_1 L) \ln(R/b) \quad (IV.19)$$

La fórmula final para α_x se obtiene reemplazando en la ec.(IV.17) el valor de ψ dado por la ec.(IV.19) y la suma: $\sum_{m=1}^{\infty} (1/m^2) = \pi^2/3$, resultando:

$$\alpha_x = (e^2 L^2 N_B / 12KT) [1 + (2N_B e^2 / \epsilon_1 KTL) \ln(R/b)]^{-1} \quad (IV.20)$$

IV.3. Cálculo alternativo de la polarizabilidad eléctrica de un macroion tipo varilla:

Aquí se presenta el cálculo desarrollado en la sección (IV.2), adaptado para su posterior aplicación en la Parte Cuarta: "Cálculos y Discusión".

1a.- Se calculan los valores medios $\langle \delta V_B(x) \delta V_B(x') \rangle$ expresándolos en función de los valores medios $\langle c_m c_{m'} \rangle$ empleando la ecuación (IV.8):

$$\langle \delta V_B(x) \delta V_B(x') \rangle = \sum_m \sum_{m'} \langle c_m c_{m'} \rangle \exp[i(2\pi m/L)x] \exp[i(2\pi m'/L)x'] \quad (IV.21)$$

Reemplazando los valores medios $\langle c_m c_{m'} \rangle$ dados en la ecuación (IV.15) y calculando las sumas sobre m , sustituyéndolas por integrales sobre dm , se obtiene:

$$\langle \delta V_B(x) \delta V_B(x') \rangle = (N_B/L) [1 + (\psi N_B / 2KT)]^{-1} \delta(x-x') \quad (IV.22)$$

2a.- Sustituyendo la ecuación (IV.22) en la ecuación (IV.5) y calculando la integral, se obtiene el mismo resultado para α_x que la ecuación (IV.20). Si no se tiene en cuenta la interacción entre los contraiones, las expresiones para α_x y

$\langle \delta V_B(x) \delta V_B(x') \rangle$ se obtienen suprimiendo el factor $[1 + (\psi N_B / 2KT)]^{-1}$ en las ecuaciones (IV.20) y (IV.22) respectivamente. El valor de α_x que resulta es el siguiente:

$$\alpha_x = (e^2 N_B L^2) / 12KT \quad (\text{IV.23})$$

que coincide con el calculado por MANDEL (45).

IV.4. Tiempo de crecimiento del momento dipolar inducido por un campo eléctrico en un macroion lineal.

El tiempo de crecimiento del momento dipolar inducido por un campo eléctrico es estimado por Mandel (45). Este autor calcula el tiempo necesario para que los N_B contraiones, ligados al macroion, se desplacen una distancia media $\langle \Delta x \rangle$ y originen el mismo momento dipolar que el inducido por el campo eléctrico E . Procediendo de esta manera, el momento dipolar inducido se expresa:

$$\mu' = N_B Z e \langle \Delta x \rangle = \alpha_x E \quad (\text{IV.24})$$

donde Z es la valencia de los contraiones. Si se emplea la expresión para α_x dada por la ecuación (IV.23) el desplazamiento medio $\langle \Delta x \rangle$ resulta:

$$\langle \Delta x \rangle = (Z e L^2 / 12KT) E \quad (\text{IV.25})$$

Además, la velocidad media de los contraiones se escribe:

$$\langle v \rangle = (D/KT) Z e E \quad (\text{IV.26})$$

donde D es el coeficiente de difusión de traslación de los contraiones a lo largo del valle de potencial cilíndrico del macroion.

El tiempo necesario para establecer el momento dipolar eléctrico es $t_s = \langle \Delta x \rangle / \langle v \rangle$. Reemplazando los valores de $\langle \Delta x \rangle$ y $\langle v \rangle$ dados por las ecuaciones (IV.25) y (IV.26) respectivamente se obtiene:

$$t_s = L^2 / 12D \quad (\text{IV.27})$$

F OOSAWA(43.42) tiene en cuenta que el desplazamiento de los contraiones ligados no es uniforme, sino que se realiza al azar y en distintos rangos a lo largo del macroion. Plantea la ecuación de difusión para la fluctuación de concentración $\delta V_B(x,t)$ de la siguiente manera:

$$\zeta \partial \delta V_B(x,t) / \partial t = (\partial / \partial x) [KT \partial \delta V_B(x,t) / \partial x + (N_B/L) (\partial / \partial x) \int_{-L/2}^{+L/2} \delta V_B(x',t) \psi(|x-x'|) dx'] \quad (IV.28)$$

donde ζ es la constante de fricción de traslación de los contraiones, y $\psi(|x-x'|)$ es la energía de interacción entre los contraiones en x y x' ya mencionada en la sección IV.2. Desarrollando $\delta V_B(x,t)$ en la serie de Fourier siguiente:

$$\delta V_B(x,t) = \sum_m c_m(t) \exp[i(2\pi m/L)x] \quad (IV.29)$$

donde:

$$c_m(t) = (1/L) \int_{-L/2}^{+L/2} \delta V_B(x,t) \exp[-i(2\pi m/L)x] dx \quad (IV.30)$$

Reemplazando el desarrollo dado en la ecuación (IV.29) en la ecuación (IV.28), haciendo el cambio de variables $(x,x') \rightarrow (x,r=x'-x)$, multiplicando ambos miembros de la expresión resultante por $\exp[i(2\pi m'/L)x]$ e integrando respecto de la variable x entre $-L/2$ y $+L/2$, resulta la siguiente ecuación para las componentes de Fourier $c_m(t)$:

$$\partial c_m(t) / \partial t = -(KT/\zeta) (2\pi m/L)^2 [1 + (N_B \psi_m / 2KT)] c_m(t) \quad (IV.31)$$

donde ψ_m es la transformada de Fourier de $\psi(|r|)$ ya definida en la sección IV.2. La ecuación (IV.31) implica que el

tiempo de relajación de la fluctuación de concentración de modo m es:

$$(t_3)_m = (\zeta/KT)(L/2\pi m)^2 [1 + (N_B \varphi_m / 2KT)]^{-1} \quad (\text{IV.32})$$

Como vimos arriba el coeficiente φ_m se expresa aproximadamente mediante el valor constante φ dado en la ecuación (IV.19). El tiempo de relajación mayor es el correspondiente a $m=1$ que resulta ser:

$$(t_3)_1 = (1/D)(L/2\pi)^2 [1 + (N_B \varphi / 2KT)]^{-1} \quad (\text{IV.33})$$

Aquí se empleó la relación de Einstein entre los coeficientes de fricción y de difusión de traslación:

$$\zeta/KT = 1/D \quad (\text{IV.34})$$

Como se desprende de la ecuación (IV.17), la contribución a la polarizabilidad eléctrica de la fluctuación de modo $m=1$ es el 61% del total.

Se observa que la consideración de la interacción entre los contraiones, hace disminuir el tiempo de relajación del momento dipolar inducido en un factor $[1 + (N_B \varphi / 2KT)]^{-1}$.

V. POLARIZABILIDAD OPTICA.

V.1. Características generales.

La polarizabilidad óptica de un átomo, lejos de su frecuencia característica ν_{ab} se expresa, según la teoría cuántica, de la siguiente manera⁽⁴⁶⁾:

$$\alpha^0 = [2/(3h)] \sum_b (\nu_{ab} R_{ab}^2) / (\nu_{ab}^2 - \nu^2) \quad (V.1)$$

R_{ab} es el momento dipolar asociado con la transición entre los estados a y b, es decir:

$$R_{ab} = e \langle \Psi_a | r | \Psi_b \rangle \quad (V.2)$$

donde Ψ_a y Ψ_b son las funciones de onda de los estados a y b y E_a y E_b las energías correspondientes.

y $\nu_{ba} = (E_a - E_b)/h$ es la frecuencia característica del sistema y h la constante de Planck. La magnitud $|R_{ab}|$ se denomina momento de transición o intensidad dipolar de la transición.

V.2. Polarizabilidad óptica del ADN.

En el ADN la polarizabilidad óptica en la región visible del espectro se origina en las transiciones de la región ultravioleta ocurridas en las bases heterocíclica púricas y pirimidicas. Estas transiciones son las $n-\pi^*$ y $\pi-\pi^*$ que producen momentos de transición perpendiculares y paralelos a los anillos heterocíclicos respectivamente. El valor absoluto del momento de transición correspondiente a la transición $\pi-\pi^*$ es mucho mayor que el de la transición $n-\pi^*$ (30 y 47).

Películas orientadas de ADN o soluciones de ADN orientadas en un campo eléctrico presentan una birrefringencia negativa. Esta se origina predominantemente en las transiciones $\pi-\pi^*$ de las bases púricas y pirimidicas. La

transición que produce el máximo de absorción a los 260 nm no es la principal responsable para este efecto sino otras transiciones de mayor intensidad ubicadas debajo de los 200 nm (46).

La polarizabilidad óptica total de la molécula de ADN suele considerarse compuesta por la suma de las contribuciones de los pares de bases heterocíclicas.

M.F. MAESTRE y R. KILKSON (46) calculan la birrefringencia del ADN enrollado en superhélice (el doble hélice del ADN se dispone en el espacio formando otro hélice). Consideran en su análisis las polarizabilidades ópticas paralela ($\alpha_{\parallel}^{\circ}$) y perpendicular (α_{\perp}°) de cada par de bases. Definen una densidad de pares de bases y una densidad de polarizabilidad óptica con el fin de integrar (sumar) sobre todo el volumen que ocupa la estructura supramolecular considerada. Los cálculos así realizados se aplican a dos sistemas biológicos con el ADN dispuesto en forma de superhélice. Los resultados están de acuerdo con las mediciones experimentales.

Una molécula completamente extendida de ADN, posee un tensor polarizabilidad óptica que se expresa mediante los términos principales de la siguiente manera:

$$\alpha^{\circ 11}, \alpha^{\circ 22} = \alpha^{\circ 11} \text{ y } \alpha^{\circ 33} \quad (\text{V.3})$$

donde se supone que eje de simetría de la molécula coincide con el eje 3 de un sistema cartesiano ortogonal (1,2,3). Estos términos pueden determinarse mediante mediciones separadas de la birrefringencia de saturación, Δn_s , de la solución con las moléculas completamente orientadas y de la diferencia de índices de refracción, δn , entre la solución y el solvente para una solución sin orientación preferencial de sus moléculas (47).

V.3. Relación entre la birrefringencia de saturación y la polarizabilidad óptica.

Los términos principales del tensor polarizabilidad eléctrica para macroiones cilíndricos como son los de ADN verifican las siguientes relaciones:

$$\alpha^{E_{33}} > \alpha^{E_{11}} = \alpha^{E_{22}} \quad (V.4)$$

Teniendo en cuenta además la simetría cilíndrica de la polarizabilidad óptica (relaciones V.3), la ecuación (I.28) que relaciona Δn_s con los términos $\alpha^{o_{11}}$, puede expresarse de la siguiente manera:

$$\Delta n_s = (2\pi c_1/n)(\alpha^{o_{33}} - \alpha^{o_{11}}) \quad (V.5)$$

donde c_1 es el número de moléculas por unidad de volumen y n es el índice de refracción de la solución sin orientar.

La birrefringencia Δn_s se escribe también en función de la fracción de volumen del soluto, f , y del volumen molecular v :

$$\Delta n_s = (2\pi f/n)[(\alpha^{o_{33}} - \alpha^{o_{11}})/v] \quad (V.6)$$

Para soluciones diluidas f puede reemplazarse por $c\bar{v}$ donde c es la concentración del soluto y \bar{v} es el volumen específico parcial.

V.4. Diferencia entre los índices de refracción de la solución y del solvente.

La relación entre el índice de refracción y la polarizabilidad óptica se obtiene empleando la ecuación (I.14) $n^2 = \epsilon$ válida para frecuencias ópticas en sustancias transparentes y la relación entre la constante dieléctrica y la polarizabilidad óptica (ec.(I.18)) que se escribe de la siguiente manera para el caso particular de soluciones con moléculas sin orientación preferencial:

$$\epsilon = \epsilon_1 + 4\pi c_1 [(\alpha^{o_{33}} + 2\alpha^{o_{11}})/3] \quad (V.7)$$

donde ϵ_1 es la constante dieléctrica del solvente. La expresión para la diferencia $\delta n = n - n_1$ entre los índices de refracción de la solución, n , y del solvente, n_1 , resulta:

$$\delta n = (2\pi c_1/n_1)[(\alpha_{33} + 2\alpha_{11})/3] \quad (\text{V.8})$$

donde se empleó la aproximación $n + n_1 = 2n_1$, válida para soluciones diluidas.

Aquí las polarizabilidades ópticas de las partículas en solución se consideran como incrementos de las polarizabilidades del soluto con respecto a las del solvente ($\alpha_{\text{soluto}} - \alpha_{\text{solvente}}$).

VI. INTERACCION ENTRE COLOIDES Y MACROIONES EN SOLUCION.

VI.1. Energia libre de una partícula cargada en solución salina.

La energía libre de una partícula con cargas fijas sumergida en una solución iónica esta dada por la siguiente expresión⁽⁴²⁾:

$$F = U_e - TS \quad (\text{VI.1})$$

donde U_e es la energía interna eléctrica de la partícula y los iones que la neutralizan, S es la entropía de la distribución de esos iones y T la temperatura absoluta del sistema.

La energía interna U_e se escribe mediante la siguiente integral en el volumen del sistema:

$$U_e = (1/2) \int (\rho_r + \rho_m) dv \quad (\text{VI.2})$$

y la entropía S vale:

$$-TS = KT \int [c_+ \ln(c_+) + c_- \ln(c_-)] dv \quad (\text{VI.3})$$

donde ρ_r es la densidad de cargas fijas en la partícula, ρ_m la densidad de carga iónica dada por la ecuación (III.2) y c_+ y c_- son las concentraciones numéricas de cationes y aniones respectivamente (ecuaciones (III.3) y (III.4)).

Este método de obtener la energía libre se compone de los siguientes procesos:

- 1^a Se llevan los iones a la distribución final.
- 2^a Se cargan los iones y la partícula manteniendo fija la distribución.

Otro procedimiento para hallar la energía libre, cuya equivalencia con el anterior se demuestra en la ref.⁽⁴²⁾, emplea la expresión siguiente:

$$F = F_0 + F_e \quad (\text{VI.4})$$

donde F_0 es la energía libre standard de una solución de iones sin carga y F_e vale:

$$F_e = 2 \int_0^{\infty} U_e(de/e) \quad (\text{VI.5})$$

En este último método se considera primero una solución ideal de iones que posteriormente se cargan conjuntamente con el macroion. La distribución de los iones se cambia durante el proceso de carga.

VI.2 Energía libre para un sistema de dos placas cargadas paralelas, sumergidas en una solución salina.

La energía libre para este sistema se calcula empleando la ecuación (VI.5) con las relaciones entre Ψ , ρ_m y d dadas en la sección III.2 (35). Se llega al siguiente resultado para la energía libre de 1 cm² de placas para la región comprendida entre 0 y d :

$$F = -(2c_0KT/\kappa) \{ (\kappa d/2)(3e^u - 2 - e^{-u}) + 2[2\cosh(z) - 2\cosh(u)]^{1/2} + 2 \int_u^z \{ (e^{-y} - e^u) / [2\cosh(y) - 2\cosh(u)]^{1/2} \} dy \} \quad (\text{VI.6})$$

Cuando la distancia entre las placas es infinitamente grande la energía libre F se escribe:

$$F_{\infty} = -(2c_0KT/\kappa) \{ 4\cosh(z/2) - 4 \} \quad (\text{VI.7})$$

VI.3 Fuerza de repulsión entre dos placas cargadas.

La fuerza p por cm² entre dos placas cargadas sumergidas en una solución de electrolito se calcula derivando, respec-

to de la distancia d , la energía libre F dada en la ecuación (VI.6):

$$p = -(\partial F / \partial d)_z \quad (\text{VI.8})$$

Se obtiene para p la siguiente expresión:

$$p = 2c_0KT[\cosh(u)-1] \quad (\text{VI.9})$$

A este mismo resultado se llega (35) calculando la presión osmótica del exceso de iones presentes entre las placas. El incremento de la concentración de iones en el plano central ($x=d$) es: $2c_0[\cosh(u)-1]$ y aplicando la ecuación de van't Hoff para la presión osmótica se obtiene la ecuación (VI.9).

El potencial repulsivo por cm^2 que equivale al trabajo necesario para llevar a las placas desde el infinito a la distancia $2d$ se expresa de la siguiente manera:

$$V_R = 2(F - F_\infty) = -2 \int_{\infty}^d p dx \quad (\text{VI.10})$$

Si la interacción entre las placas es débil ($u < 1$) el potencial eléctrico para $x=d$ puede obtenerse en primera aproximación como la suma de los potenciales eléctricos debidos a las dos placas sin interacción entre ellas. Es decir:

$$u = 2y(d) \quad (\text{VI.11})$$

Ademas puede emplearse para $y(d)$ la expresión aproximada dada en la ecuación (III.15), y se obtiene:

$$u = 8\mathcal{V}\exp(-\xi) = 8\mathcal{V}\exp(-Kd) \quad (\text{VI.12})$$

con $\mathcal{V} = [\exp(z/2)-1]/[\exp(z/2)+1]$.

Con estas aproximaciones el potencial de la fuerza de re-

pulsión se escribe:

$$V_R = (64c_0KT/K)\gamma^2 \exp(-2Kd) \quad (\text{VI.13})$$

VI.4. Fuerza de repulsión entre cilindros cargados.

G.F.ELLIOTT ⁽⁵⁰⁾ realiza un cálculo aproximado de la energía de repulsión de dos cilindros cargados paralelos y sumergidos en una solución de electrolito. Supone las superficies cilíndricas enfrentadas seccionadas en pequeñas placas paralelas.

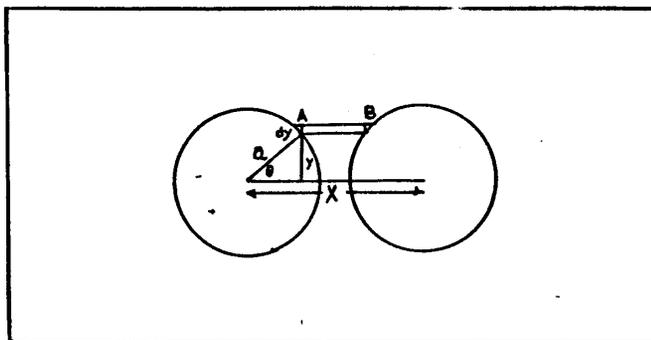


Figura VI.1

La Fig. VI.1 muestra un corte transversal de los dos cilindros; A y B son dos pequeños incrementos de la coordenada $y=asen\theta$ que representa pequeñas placas paralelas a una distancia $AB=(X-2acos\theta)$. Si V_R es la energía potencial repulsiva por unidad de área entre dos placas cargadas paralelas sumergidas en una solución de electrolito, el diferencial de energía libre correspondiente a los incrementos A y B resulta:

$$dV_R = LV_R a \cos\theta d\theta \quad (\text{VI.14})$$

Se emplea para V_R la ecuación (VI.13) válida para interacciones débiles ($u < 1$). Se integra la ecuación (VI.14) para las superficies cilíndricas enfrentadas (entre $-\pi/2$ y $+\pi/2$)

y resulta para la energía de repulsión por unidad de longitud de los dos cilindros la siguiente expresión:

$$V_R = (16\varepsilon_1 K^2 T^2 \mathcal{V}^2 a / \pi e^2) \exp(-\kappa X) \cdot J' \quad (\text{VI.15})$$

donde \mathcal{V} viene dada por la ecuación (III.15) y J' es la integral:

$$J' = \int_0^{\pi/2} \exp(2\kappa a \cos\theta) \cos\theta d\theta \quad (\text{VI.16})$$

que se resuelve numéricamente.

La fuerza de repulsión por unidad de longitud entre los dos cilindros se calcula de la siguiente manera:

$$(dV_R/dX) = -(16\varepsilon_1/\pi)(KTK\mathcal{V}/e)^2 \exp(-\kappa X) \cdot J' \quad (\text{VI.17})$$

BRENNER Y PARSESIAN ⁽⁵¹⁾ analizaron la interacción coulombiana entre macroiones cilíndricos en solución con un electrolito. Suponen que la interacción se realiza por la superposición de las curvas potencial distancia de cada varilla en las regiones donde $e\psi < KT$. Procediendo de esta forma el potencial eléctrico de las varillas se pueden determinar empleando la definición de densidad equivalente de carga introducida en la sección III.3. La energía de interacción electrostática por unidad de longitud de dos varillas cargadas paralelas (de longitud infinita y radio a) en un medio iónico y separadas una distancia X , se calcula como el producto de la densidad lineal de carga equivalente de una de ellas por el potencial que sobre la misma ejerce la otra varilla. Emplendo el potencial de un macroion cilíndrico dado en la ecuación (III.29) se obtiene la siguiente expresión para la energía

$$W(X) = 2(e^2 \mathcal{V}_0^2 / \varepsilon_1) K_0(\kappa X) \quad (\text{VI.18})$$

La fuerza electrostática por unidad de longitud entre las dos varillas es el producto del campo eléctrico de una de

Las varilla a la distancia X por la densidad lineal de carga equivalente. El campo eléctrico se obtiene de la ecuación (III.30) y la fuerza vale

$$f_{//}(X) = 2(e^2 V_0^2 / \epsilon_1) K_1(KX) \quad (\text{VI.19})$$

Esta aproximación es válida si el potencial en alguna superficie entre las varillas es la suma de los potenciales sin perturbar de cada una de las varillas y esto se cumple cuando la distancia $X-2a$ es mayor que $1/K$, que es la longitud de Debye del medio (52).

F. OOSAWA(53,42) calcula la fuerza repulsiva entre macroiones, tipo varilla, paralelos en una solución en función de la densidad de carga de las varillas. El modelo propuesto por OOSAWA consiste de m varillas de radio a en la región central del volumen libre de radio R , formando un agregado cilindrico de diámetro $X \ll R$. Supone que el número de varillas es grande con el fin de poder considerar dos fases; la fase del agregado y la fase externa. La mayoría de los contraiones están condensados entre las varillas y casi neutralizan al conjunto. Empleando la ecuación de Poisson-Boltzmann demuestra que la energía libre del sistema es función solamente de las coordenadas relativas R/a y X/a . Aprovechando esta característica, sin conocer la expresión exacta de la energía libre, encuentra una expresión para la fuerza extensiva del agregado, $\partial F / \partial X$, que se compone de dos términos. Uno de ellos representa la fuerza auto extensiva de m varillas cargadas que cuya expresión encuentra empleando el modelo de dos fases para determinar la distribución de contraiones (sección III.5.) y el otro posee como única incognita la concentración $c(R)$ de contraiones en la periferia del volumen libre del agregado para la cual emplea (para $X \ll R$) el valor de la concentración correspondiente a una varilla con una densidad de carga mQ colocada en el centro del volumen libre.

Finalmente la fuerza extensiva $\partial F / \partial X$ del conjunto de m

varillas, cada una con N cargas, que forma un agregado cilíndrico de longitud L y diámetro X ($X \ll L$) en ausencia de sal esta dada por

$$X(\partial F/\partial X) = -Nm(m-1)QKT \quad \text{para } 0 < Q < 1/(mz) \quad (\text{VI.20})$$

$$= -Nm(2/z - Q - 1/mz^2Q)KT \quad \text{para } 1/mz < Q < 1/z \quad (\text{VI.21})$$

$$= -Nm[(m-1)/mz^2Q]KT \quad \text{para } 1/z < Q \quad (\text{VI.22})$$

donde $Q = [e^2/(\epsilon_1 KT)](N/L)$ y z la valencia de los contraiones.

La fuerza de repulsión entre dos varilla se encuentre poniendo $m=2$ en las expresiones (VI.20), (VI.21) y (VI.22).

VI.5. Fuerzas de atracción de van der Waals.

Una de las fuerzas atractivas consideradas en sistemas coloidales es la de van der Waals. La energía de interacción mutua entre dos átomos iguales separados por una distancia r está dada por la expresión siguiente:

$$V_A = \lambda' r^{-6} \quad (\text{VI.23})$$

donde λ' es una constante que depende de las propiedades de los átomos (o moléculas) en consideración.

El potencial atractivo entre dos partículas se puede calcular mediante la suma de los potenciales atractivos de todos los pares atómicos formados por dos átomos pertenecientes a diferentes partículas. Se introduce la magnitud $A = \pi^2 q^2 \lambda'$ donde q es el número de átomos por cm^3 de la sustancia que forma las partículas. La integración para el sistema de dos placas planas paralelas de espesor δ' y colocadas a una distancia $2d$ (entre superficies interiores), lleva al siguiente resultado para el potencial atractivo por unidad de área (35).

$$V_A = -(A/48\pi) \{1/d^2 + 1/(d+\delta')^2 - 2/[d+(\delta'/2)]^2\} \quad (\text{VI.24})$$

que puede escribirse aproximadamente:

$$V_A = -(A\delta'^2/32\pi)(1/d^4) \quad \text{para } d \gg \delta' \quad (\text{VI.25})$$

$$V_A = -(A/48\pi)(1/d^2 - 7/\delta'^2) \quad \text{para } d \delta' \quad \text{y} \quad (\text{VI.26})$$

$$V_A = -A/(48\pi d^2) \quad \text{para } d \ll \delta' \quad (\text{VI.27})$$

G.F.Elliott ⁽⁵⁰⁾ calcula la energía de interacción de Van der Waals para dos cilindros de radio a colocados con sus ejes paralelos a una distancia X entre ellos. Encuentra primero la energía de interacción entre un cilindro infinitamente largo y un solo átomo a una distancia R del eje del cilindro (Fig. VI.2).

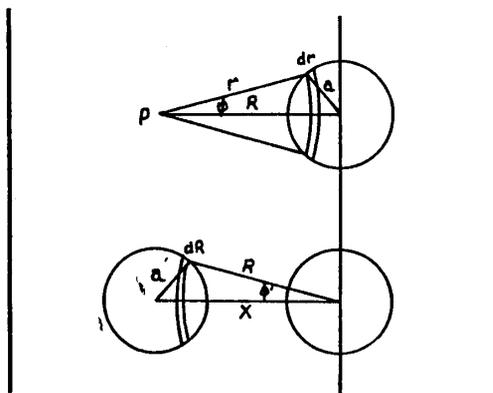


Figura VI.2

La integración sobre las variables z y ϕ , donde z coincide con el eje del cilindro, lleva a la siguiente expresión para esa energía de interacción:

$$U_P = (3/4)(A/\pi q) \int_{R+a}^{R-a} (1/r^4) \cos^{-1}[(R^2+r^2-a^2)/2Rr] dr \quad (\text{VI.28})$$

Luego se considera al otro cilindro, de longitud unidad, a una distancia X (Fig. VI.2). Se integra sobre las variables ϕ' y R y se multiplica por 6 para tener en cuenta que un cilindro (de longitud unidad) interacciona con seis

vecinos en un empaquetado hexagonal. Esto conduce a la siguiente expresión para la energía de interacción de un cilindro de longitud unidad con sus seis vecinos:

$$F_v = -(9A/\pi) \int_{R=X-a}^{X+a} \int_{r=R-a}^{R+a} (R/r^4) \cos^{-1}[(X^2+R^2-a^2)/2XR] \cos^{-1}[(R^2+r^2-a^2)/2Rr] dr dR. \quad (\text{VI.29})$$

Esta integral fue resuelta numéricamente en la ref. (50) para cilindros de 100\AA de radio y con la constante $A=10^{-12}\text{erg}$.

La fuerza atractiva de van der Waals del sistema con 7 cilindros en un empaquetado hexagonal, se encuentra calculando numéricamente la derivada (dF_v/dX).

Si los cilindros son tan delgados que su masa se la puede considerar concentrada en una línea, la energía de interacción mutua por unidad de longitud de un cilindro con sus 6 vecinos es (50):

$$(2,25A\pi a^4)(1/X^5) \quad (\text{VI.30})$$

VI.6. Fuerza atractiva debida a la correlación de las fluctuaciones de carga en los macroiones

J. G. KIRKWOOD y J. B. SHUMAKER (54) calculan la fuerza de interacción electrostática entre dos proteínas cuando están en su punto isoiónico. Consideran dos moléculas de proteína en una solución acuosa, con sus centros de masa separados una distancia R . suponen que la molécula 1 tiene n_1 grupos cargados de carga intrínseca $e_1^{(1)}$ y la molécula 2 con n_2 grupos cargados de carga intrínseca $e_k^{(2)}$. Definen las variables de ocupación protónica $x_1^{(1)}$ y $x_k^{(2)}$ que valen 1 cuando el grupo básico está ocupado por un proton y cero cuando está desocupado. Para configuraciones protónicas especificadas las cargas de los grupos valen:

$$q_1^{(1)} = e_1^{(1)} + ex_1^{(1)}$$

$$q_k^{(2)} = e_k^{(2)} + ex_k^{(2)} \quad (\text{VI.31})$$

La energía de interacción electrostática entre las dos moléculas para una determinada orientación y configuración protónica de las mismas la escriben de la siguiente manera

$$V = \sum_{i=1}^{n_1} \sum_{k=1}^{n_2} q_i^{(1)} q_k^{(2)} / \epsilon_1 R_{ik}^{(12)} \quad (\text{VI.32})$$

donde ϵ_1 es la constante dieléctrica del solvente y $R_{ik}^{(12)}$ es la distancia entre el grupo i de la molécula 1 y el grupo k de la molécula 2. En la ec. (VI.32) no tienen en cuenta el apantallamiento del electrolito que lo introducen posteriormente para el caso particular de moléculas esféricas.

El potencial $W(R)$ de la fuerza promedio entre las dos moléculas lo relacionan al potencial V de la fuerza para orientaciones y configuración protónicas fijadas con la siguiente definición

$$\exp[-W(R)/(KT)] = \langle \exp[-V/(KT)] \rangle \quad (\text{VI.33})$$

para $V/(KT) \ll 1$ escriben

$$W(R) = \langle V \rangle - (1/2KT) [\langle V^2 \rangle - \langle V \rangle^2] \quad (\text{VI.34})$$

donde el promedio se toma para todas las orientaciones y configuraciones protónicas de las dos moléculas, con funciones de distribución no correlacionadas.

Separan las contribuciones a $W(R)$ de las distribuciones de carga media y fluctuante escribiendo la carga de los grupos de la siguiente manera

$$\begin{aligned} q_i^{(1)} &= \langle q_i^{(1)} \rangle + \Delta q_i^{(1)} \\ q_k^{(2)} &= \langle q_k^{(2)} \rangle + \Delta q_k^{(2)} \\ \Delta q_i^{(1)} &= e[x_i^{(1)} - \langle x_i^{(1)} \rangle] \end{aligned}$$

$$\Delta q_k^{(2)} = e[x_k^{(2)} - \langle x_k^{(2)} \rangle] \quad (\text{VI.35})$$

obteniendo para $W(R)$ la siguiente expresión

$$W(R) = \langle q^{(1)} \rangle \langle q^{(2)} \rangle / \epsilon_1 R + W^{(00)}(R) + W^{(10)}(R) + W^{(01)}(R) + W^{(11)}(R) \quad (\text{VI.36})$$

donde $\langle q^{(1)} \rangle$ y $\langle q^{(2)} \rangle$ son las cargas totales promedios de las dos moléculas y los restantes términos de la ec. (VI.36) se escriben

$$W^{(00)}(R) = -(2\epsilon_1^2 R^2 K T)^{-1} \sum_{i,l=1}^{n_1} \sum_{k,s=1}^{n_2} \langle q_i^{(1)} \rangle \langle q_l^{(1)} \rangle \langle q_k^{(2)} \rangle \langle q_s^{(2)} \rangle f_{ikls}$$

$$W^{(10)}(R) = -(2\epsilon_1^2 R^2 K T)^{-1} \sum_{i,l=1}^{n_1} \sum_{k,s=1}^{n_2} \langle \Delta q_i^{(1)} \Delta q_l^{(1)} \rangle \langle q_k^{(2)} \rangle \langle q_s^{(2)} \rangle f_{ikls}$$

$$W^{(01)}(R) = -(2\epsilon_1^2 R^2 K T)^{-1} \sum_{i,l=1}^{n_1} \sum_{k,s=1}^{n_2} \langle q_i^{(1)} \rangle \langle q_l^{(1)} \rangle \langle \Delta q_k^{(2)} \Delta q_s^{(2)} \rangle f_{ikls}$$

$$W^{(11)}(R) = -(2\epsilon_1^2 R^2 K T)^{-1} \sum_{i,l=1}^{n_1} \sum_{k,s=1}^{n_2} \langle \Delta q_i^{(1)} \Delta q_l^{(1)} \rangle \langle \Delta q_k^{(2)} \Delta q_s^{(2)} \rangle f_{ikls}$$

con $f_{ikls} = \langle R^2 / (R_{ik}^{(12)} R_{ls}^{(12)}) \rangle \quad (\text{VI.37})$

Luego consideran que el pH de la solución corresponde al punto isoiónico de las proteínas donde se anulan las cargas totales promedio de las mismas. De esta manera el término $W^{(11)}(R)$ es el único distinto de cero en la expresión (VI.36) de $W(R)$. Suponen que las proteínas son esféricas y que están a una distancia R mucho mayor que sus radios de manera de los factores f_{ikls} valgan 1. Al término $W^{(11)}(R)$ le incluyen un factor de Debye-Hückel que tenga en cuenta el

apantallamiento a la interacción electrostática fluctuante debido a los contraiones de las proteínas y los iones de otros electrolitos presentes en la solución.

Los valores medios de las cargas fluctuantes que figuran en la expresión de $W^{(11)}(R)$ los calculan empleando la teoría del equilibrio ácido-base de anfólitos desarrollada previamente por KIRKWOOD.

F.OOSAWA (53) estima la fuerza de atracción entre dos macroiones tipo varilla originada por la correlación de la fluctuación de la concentración de los contraiones ligados.

Debido a las fluctuaciones térmicas la concentración de los contraiones ligados a un macroion se desvía de su valor promedio. Cuando dos macroiones se aproximan estas fluctuaciones de carga se correlacionan para dar como resultado una fuerza atractiva semejante a la de van der Waals.

Los macroiones se colocan en forma paralela y a una distancia X uno del otro. Las coordenadas, x_1 y x_2 , determinan la posición a lo largo de sus respectivos ejes. Cada macroion tiene una densidad lineal de contraiones promedio $\bar{V}_B(x) = (N_B/L)$. Se denominan $\delta V_B(x_1)$ y $\delta V_B(x_2)$ a las desviaciones del valor promedio de las densidades de contraiones en los puntos x_1 y x_2 .

Para dos varillas paralelas próximas la energía de interacción debida a la fluctuación de carga en los puntos x_1 y x_2 se escribe:

$$e^2 Z^2 \int \delta V_B(x_1) dx_1 \int \delta V_B(x_2) dx_2 / \epsilon_1 r_{12} \quad (\text{VI.38})$$

donde r_{12} es la distancia entre los dos puntos x_1 y x_2 .

Si se ignora la correlación de fluctuaciones de alto orden entre tres o mas puntos diferentes de las dos varillas la energía de interacción promedio entre los dos puntos x_1 y x_2 se escribe aproximadamente:

$$-e^4 Z^4 \{ \langle [\int \delta V_B(x_1) dx_1]^2 \rangle \langle [\int \delta V_B(x_2) dx_2]^2 \rangle \} / (\epsilon_1^2 r_{12}^2 K T) \quad (\text{VI.39})$$

donde los valores cuadráticos medios de los excesos de con-

centración de contraiones se calculan suponiendo que no existe correlación entre los macroiones. F.OOSAWA estima el valor medio $\langle [\delta v_B(x)dx]^2 \rangle$ en cualquiera de los dos macroiones calculando el exceso de energía libre debido a las desviaciones de concentración $\delta v_B(x)$ en x , $x+dx$. La energía total de la interacción, F' , se obtiene integrando (VI.39) con respecto a x_1 y x_2 a lo largo de las dos varillas. La expresión final de la energía total, para $X \ll L$ resulta ser

$$\langle F' \rangle = -[(N_B/N)z^2Q]^2/[1+(N_B/N)z^2Q]^2(L/X)KT \quad (\text{VI.40})$$

y la fuerza atractiva debida a esta energía

$$dF'/dx = [(N_B/N)z^2Q]^2/[1+(N_B/N)z^2Q]^2(L/X^2)KT \quad (\text{VI.41})$$

VI.7 Energía potencial total entre coloides y macroiones.

VERWEY y OVERBEEK ⁽³⁵⁾ analizaron la estabilidad de suspensiones coloidales de partículas tipo "placa". Suponen el espesor de las placas mayor que la distancia entre ellas y emplean la ecuación (VI.27) para el potencial atractivo V_A . Usan para el potencial de repulsión la ecuación (VI.13), válida para interacciones débiles entre las placas. De esta manera se verifican las siguientes propiedades para este sistema:

-El potencial repulsivo V_R decrece al aumentar la distancia entre las placas de una manera mas o menos exponencial. (para distancias moderadas y grandes).

-El potencial atractivo decrece como el cuadrado de la distancia.

-La energía potencial total (V_A+V_R) se hace negativa para distancias entre las placas muy grandes o muy pequeñas, mientras que para distancias intermedias (d del orden de K^{-1}) pueden ocurrir dos casos:

i) $V_R+V_A > 0$ con curvas de energía potencial, como la (a) de la Fig.VI.3, con un máximo para distancias intermedias y un mínimo a grandes distancias.

ii) $V_R + V_A < 0$ con curvas de energía potencial siempre negativas como la (b) de la Fig VI.3.

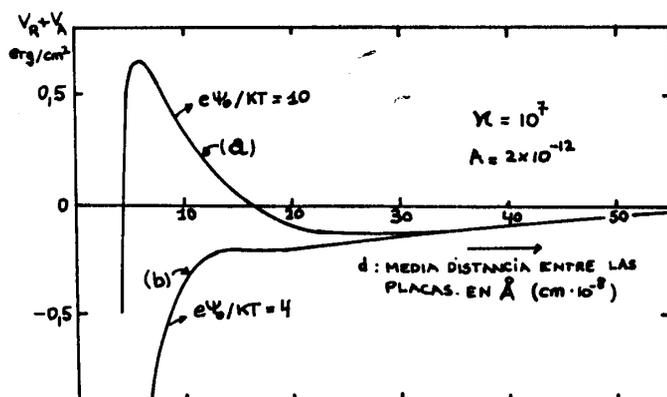


Figura VI.3

Los parámetros que determinan la forma de las curvas de energía potencial son: la constante A de van der Waals, el potencial eléctrico (ψ_0 o z) sobre la superficie del coloide y la constante de Debye-Hückel del sistema.

El máximo de la curva (a) evita que las partículas en sus encuentros debidos al movimiento Browniano caigan en la región de atracción con la consecuente floculación del sistema. La magnitud de este máximo respecto de KT es un parámetro que caracteriza la estabilidad del sistema.

El mínimo secundario de energía que aparece cuando las fuerzas de van der Waals superan a la repulsión electrostática sería el responsable de la formación de agregados reversibles como son los "tactoids" que aparecen en ciertas suspensiones coloidales con partículas tipo placa o varilla (55).

G.F.ELLIOTT (50) calcula la energía potencial total ($V_R + V_A$) de la interacción (por unidad de longitud) de un cilindro con sus seis vecinos de un empaquetado hexagonal (ecuaciones (VI.15) y (VI.29)). Los parámetros son elegidos similares a los que caracterizan al sistema muscular de una red de filamentos de miosina.

Los parámetros del sistema son los siguientes:
 radio de los cilindros: $a=100 \text{ \AA}$
 potencial eléctrico en la superficie: $z=(e\psi_0/KT)=2$
 constante de Debye-Hückel: $\kappa=4 \times 10^8$
 constante de van der Waals: $A=10^{-12}$
 $KT=4,0 \times 10^{-14} \text{ erg.}$

La curva de la energía potencial en función de la distancia muestra un máximo de $2700 \text{ KT}/\mu\text{m}$ y un mínimo secundario de $25 \text{ KT}/\mu\text{m}$ a una distancia entre los cilindros de $X=370 \text{ \AA}$.

Este mismo punto de balance estable se encuentra también en la intersección de las curvas de las fuerzas atractiva y repulsiva (por unidad de longitud) en función de la distancia.

F.OOSAWA (53.42) compara las fuerzas de repulsión y de atracción de dos macroiones cilíndricos con alta densidad de carga empleando las ecuaciones: (VI.22) con $m=2$ y (VI.41) respectivamente. Infiere que prácticamente aparece una atracción antes del contacto directo de los macroiones solo en el caso de contraiones divalentes.

PARTE SEGUNDA

**PREPARACION Y CARACTERIZACION DE LAS MUESTRAS,
TECNICAS EXPERIMENTALES Y CALCULOS**

VII. PREPARACION Y CARACTERIZACION DE LAS MUESTRAS

VII.1 Preparación del ácido desoxirribonucleico y la desoxirribonucleohistona

El ADN de timo de ternera se prepara con el método de KAY y otros (56). También se emplea el ADN comercial marca Sigma, tipo I, cat. D 1501. Ambas muestras presentan características electroópticas similares y pueden considerarse equivalentes para este trabajo.

La desoxirribonucleohistona (DNH) se prepara con el método de FREDERICQ (57).

VII.2 Degradación de las muestras por la acción del ultrasonido

Se emplea un generador ultrasónico marca Mullard de 60 W con una frecuencia de 20 KHz y otro marca Lab Line Ultratip de la misma frecuencia que el anterior.

Las soluciones de ADN y DNH, con concentraciones comprendidas entre 25 y 120 mg/dl, se colocan en un recipiente de vidrio enfriado con hielo. El volumen de la solución es de 25 ml. El transmisor de ultrasonido se introduce en la solución 2 mm.

La degradación ultrasónica se realiza durante el tiempo necesario para llegar al límite de menor peso molecular, que es de $1,5 \times 10^5$ Dalton para el ADN y $5,5 \times 10^5$ Dalton para la DNH (58).

Para estimar el peso molecular de las muestras degradadas de ADN se realizan medidas de viscosidad intrínseca a 25 °C empleando viscosímetros de Ostwald con gradientes de velocidad del orden de 150 (1/s) y usando la relación: $(\eta) = 1,05 \times 10^{-7} M^{1,32}$, donde (η) es la viscosidad intrínseca y M es el peso molecular (59). Esta expresión es válida hasta pesos moleculares de 2×10^6 Dalton en soluciones acuosas con NaCl 0,2 M.

VII.3 Filtración en gel

Para realizar las experiencias de cromatografía en gel se emplea una columna de 50 cm de altura y 2,6 cm de diámetro marca Pharmacia, llena con gel de agarosa, Sepharose 4B de la misma marca. El volumen inicial de la muestra es de 10 a 25 ml. El tiempo de elución se mantiene aproximadamente en 22 ml por hora. Las condiciones particulares de cada experiencia se detallan en la secciones XII.5 y XII.6.

VII.4 Obtención de los complejos ADN-Histonas

Las distintas fracciones de histonas de la nucleohistona sonicada se disocian mediante el agregado de NaCl con concentraciones 0,6; 2,1; 1,6 y 2 M. En cada caso se separan los complejos ADN-Histonas de las histonas disociadas realizando cromatografías en columna con gel. Los complejos así obtenidos se dializan contra una solución acuosa de NaCl 1mM con un Ph de 6,5.

VII.5 Determinación de la concentración de las soluciones de ADN y de DNH:

Las concentraciones en g/dl de las soluciones de ADN y DNH se encuentran midiendo la absorbancia de las mismas a 260 nm y en un trayecto óptico de 1 cm. Se emplean los coeficientes de extinción $E = 200 \text{ dl}/(\text{g}\cdot\text{cm})$ para el ADN y $215 \text{ dl}/(\text{g}\cdot\text{cm})$ para la DNH.

Las mediciones de absorbancia se realizan con los espectrofotómetros Shimadzu QV 50 y Metrolab UV 250.

VII.6 Dosaje de proteínas:

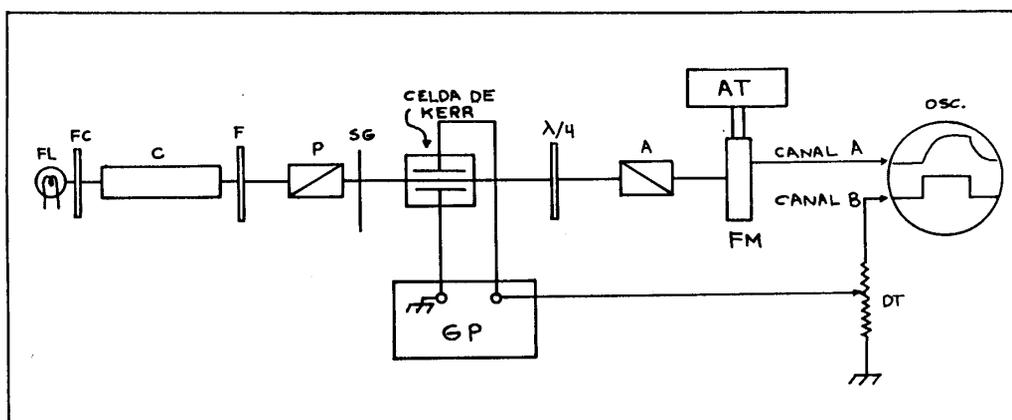
Tanto las proteínas residuales del ADN como la razón en peso Proteína/ADN de la DNH y de los complejos ADN-Histonas se determinan con el método de FOLIN-LOWRY (80).

VIII EQUIPO PARA LA DETERMINACION DE LA BIRREFRINGENCIA ELECTRICA DE MACROMOLECULAS EN SOLUCION.

VIII.1 Descripción general

Se construyó un equipo similar al descrito por FREDERICQ y HOUSSIER ⁴⁷ o HOUSSIER y O'KONSKI⁽⁸¹⁾. La parte electrónica se basa en el trabajo de BERNENGO⁽⁸²⁾. Consiste en una versión con tiristores de sus generadores de pulsos con tiratrones.

En la Fig.VIII.1 se muestra un esquema general del instrumento. A una solución de macromoléculas ubicada en la celda de Kerr (CK) se le aplica un pulso de tensión rectangular proveniente del generador de pulsos (GP). La birrefringencia producida en la solución se determina mediante el siguiente sistema óptico: La luz proveniente de una lámpara de tungsteno de 250 W (FL) se hace pasar por un filtro calórico (FC), un colimador (C), un filtro de color (F) y un polarizador (P) colocado de manera que la luz emergente del mismo vibre formando un ángulo de 45° con el campo eléctrico orientador de la celda de Kerr. Este haz



Instrumento para medir la birrefringencia eléctrica
Figura VIII.1

polarizado atraviesa sucesivamente la celda de Kerr, una lámina cuarto de onda ($\lambda/4$) con su eje lento formando un ángulo de 135° con el campo orientador y un analizador (A), volcado un ángulo α respecto de esta última posición hacia el polarizador, e incide finalmente sobre un fotomultiplicador (FM) el cual traduce eléctricamente el cambio óptico de la muestra. En la Fig.VIII.2 se muestra el circuito de polarización del fotomultiplicador y el circuito seguidor de fuente que permite registrar la señal de fotocorriente en un osciloscopio.

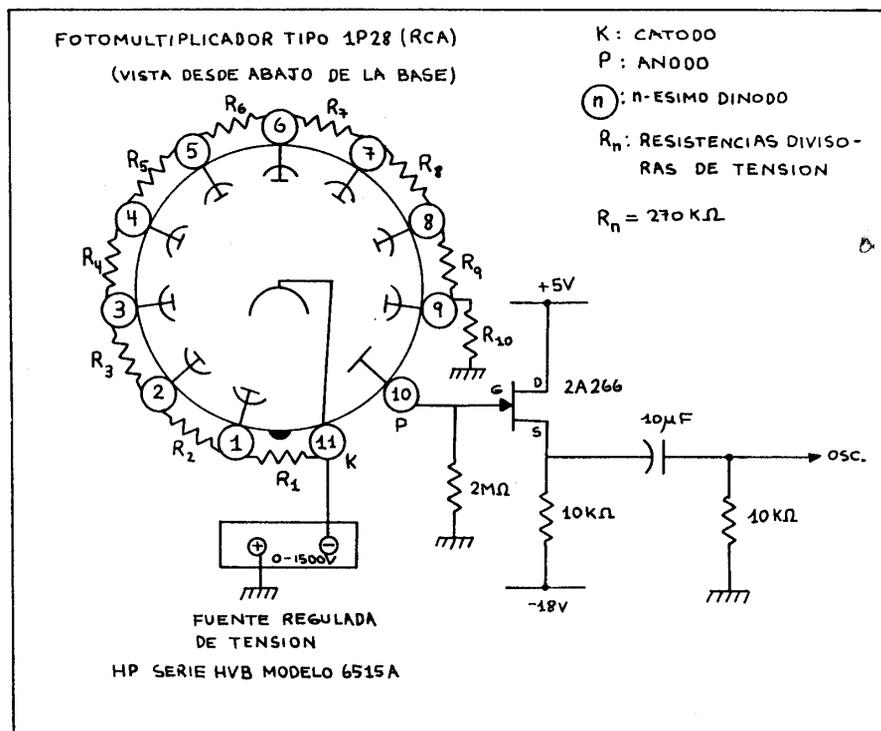


Figura VIII.2

El sistema de medición se completa mediante un osciloscopio de doble haz Philips PM 3233 y una cámara fotográfica adaptada al mismo. En uno de los canales del osciloscopio (canal A) se registra la señal de fotocorriente y en el otro

canal (canal B) el pulso de campo eléctrico atenuado mediante un divisor de tensión (DT). Un sector giratorio (SG) ubicado entre el polarizador y la celda de Kerr, que corta alternativamente el haz luminoso, permite comparar en el osciloscopio las señales entregadas por el fotomultiplicador cuando incide o no luz sobre él.

VIII.2 Celda de Kerr:

Se emplean dos tipos de celdas, una de ellas para determinar la birrefringencia eléctrica de soluciones diluidas de ADN con un camino óptico de 1 cm y la otra para emplear con soluciones concentradas (mayores que 100 mg/dl) con un trayecto óptico de 1 mm. La primera fue suministrada por C. Houssier (Profesor de la Universidad de Lieja, Bélgica) y se describe en la referencia 6. Consta de dos electrodos planos de platino de 1,5 cm por 1,0 cm mantenidos paralelos y a una distancia de 0,15 cm mediante un soporte y espaciadores de teflón. Este soporte se introduce en una cubeta de espectrofotómetro de 1,0 cm de trayectoria óptica que contiene la solución en estudio :

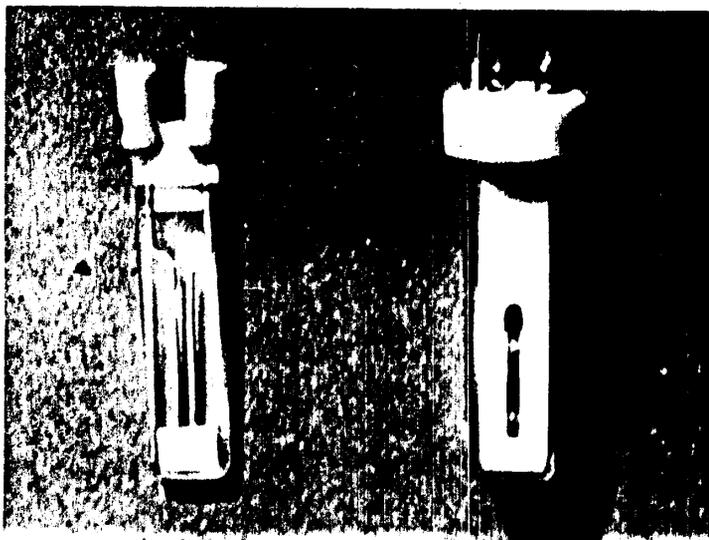


Figura VIII.3

(celda "b" en la Fig. VIII.3). La segunda se construye especialmente para este trabajo. Está formada por dos alambres de platino de sección rectangular mantenidos paralelos a una distancia de 0,15 cm con un soporte de teflón e introducidos en una cubeta de espectrofotómetro de 0,1 cm de espesor (celda "a" en la Fig. VIII. 3).

6

VIII.3 Generador de pulsos de baja tensión:

Este equipo suministra un único pulso rectangular, disparado manualmente, de tensión variable en forma continua de 0 a 300 V, corriente de hasta 3 A y tiempo de duración de 10 μ s a 100 ms^(e3).

Etapa de potencia

Permite aplicar a la celda de Kerr el pulso de tensión. Su circuito se muestra en la Fig. VIII.4 con (B), y funciona del siguiente modo:

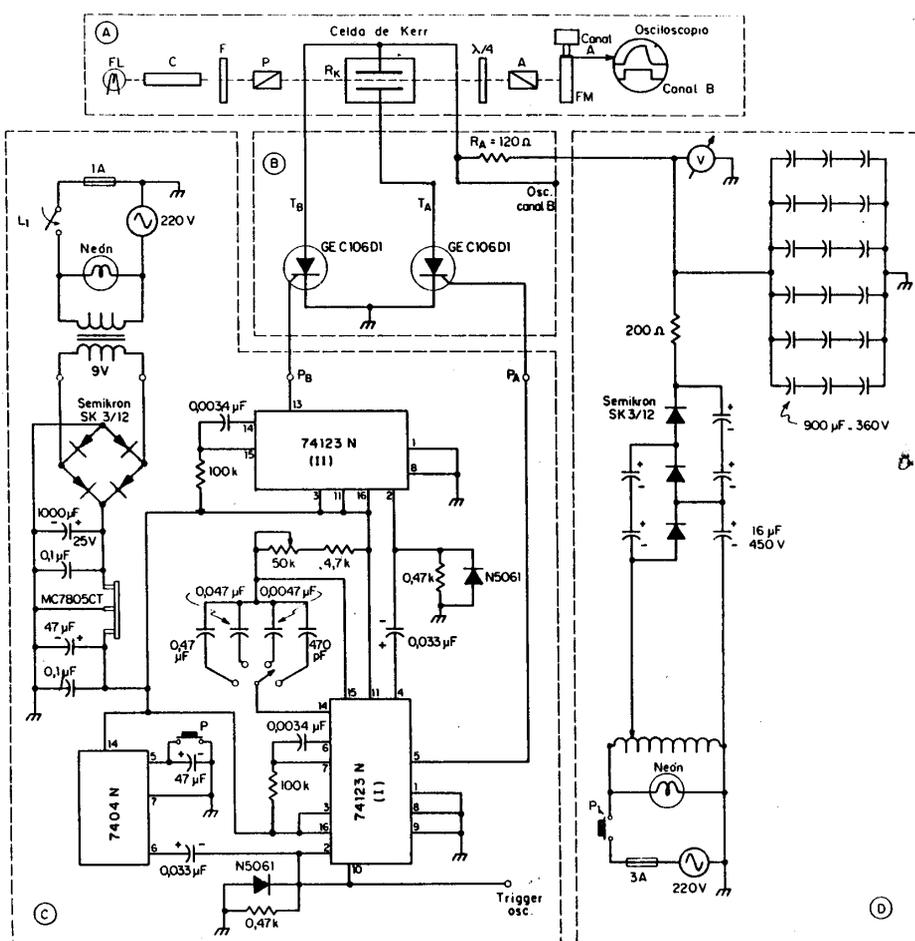
Al ser disparado el tiristor T_A por el pulso P_A , proveniente del generador de pulsos de disparo mostrado en la Fig. VIII.4 con (C), queda aplicada a la celda de Kerr la tensión de la batería de capacitores, Fig. VIII.4 parte (D), la cual ha sido cargada mediante el multiplicador de tensión. Su descarga se produce con una constante de tiempo determinada por la capacidad de la batería y las resistencias asociadas (de la celda de Kerr y limitadoras, R_A). El pulso finaliza al disparar T_B , por medio de P_B , y la duración del mismo está definida por el desfase relativo entre los pulsos.

El funcionamiento de los tiristores es no-repetitivo y su corriente máxima está determinada por R_K y R_A .

Con respecto a los requerimientos de corriente, estos son muy diferentes: mientras que para T_A actúan como resistencias limitadoras R_K y R_A ; para T_B sólo lo hace R_A debido a que R_K ha sido anulada al ser disparado T_B . Por otra parte, como R_A es muy inferior a R_K (para mayor eficiencia en el uso de la tensión provista por el

multiplicador), se concluye que la corriente máxima para T_B es muy superior a la de T_A .

Finalmente y en relación a los tiempos de conmutación, es inmediato comprobar que el crecimiento y el decaimiento del pulso dependen principalmente del tiempo de encendido de los tiristores. Este ha sido especificado en $1 \mu s$ a fin de que no afecte las mediciones en el caso mas desfavorable (ancho de pulso $10 \mu s$).



Circuito del generador de pulsos de baja tensión
Figura VIII.4

Generador de pulso de disparo:

Tiene por función dar origen a los pulsos que serán aplicados a los tiristores de la etapa de potencia. Al pulsar P, se descarga el capacitor de $45 \mu\text{F}$ produciendo un escalón negativo de tensión, que después de ser invertido y diferenciado, se usa para disparar uno de los monoestables del integrado 74123N (I) cuya salida, pulso (PA), se halla conectada a la compuerta de TA. El mismo pulso activa al segundo monoestable del mismo integrado, dando origen a un pulso de mayor duración que el primero, que después de ser diferenciado se utiliza para disparar uno de los monoestables del integrado 74123 (II). A su salida se tiene el pulso Pa que se aplica a la compuerta de TB.

Multiplicador de tensión:

En la Fig. VIII.4, parte D, se muestra el circuito de esta etapa y su funcionamiento es como sigue: al pulsar P₁ la tensión de entrada queda conectada por medio de un transformador al triplicador, éste a su vez, carga la batería de capacitores que aplica la tensión continua a la celda de Kerr.

En el diseño de esta etapa hay que destacar que la elección de los capacitores se realiza teniendo presente que la descarga a través de R_k, R_A y T_A no debe afectar en más de un 2% la amplitud del pulso, para un ancho de pulso de 100 ns.

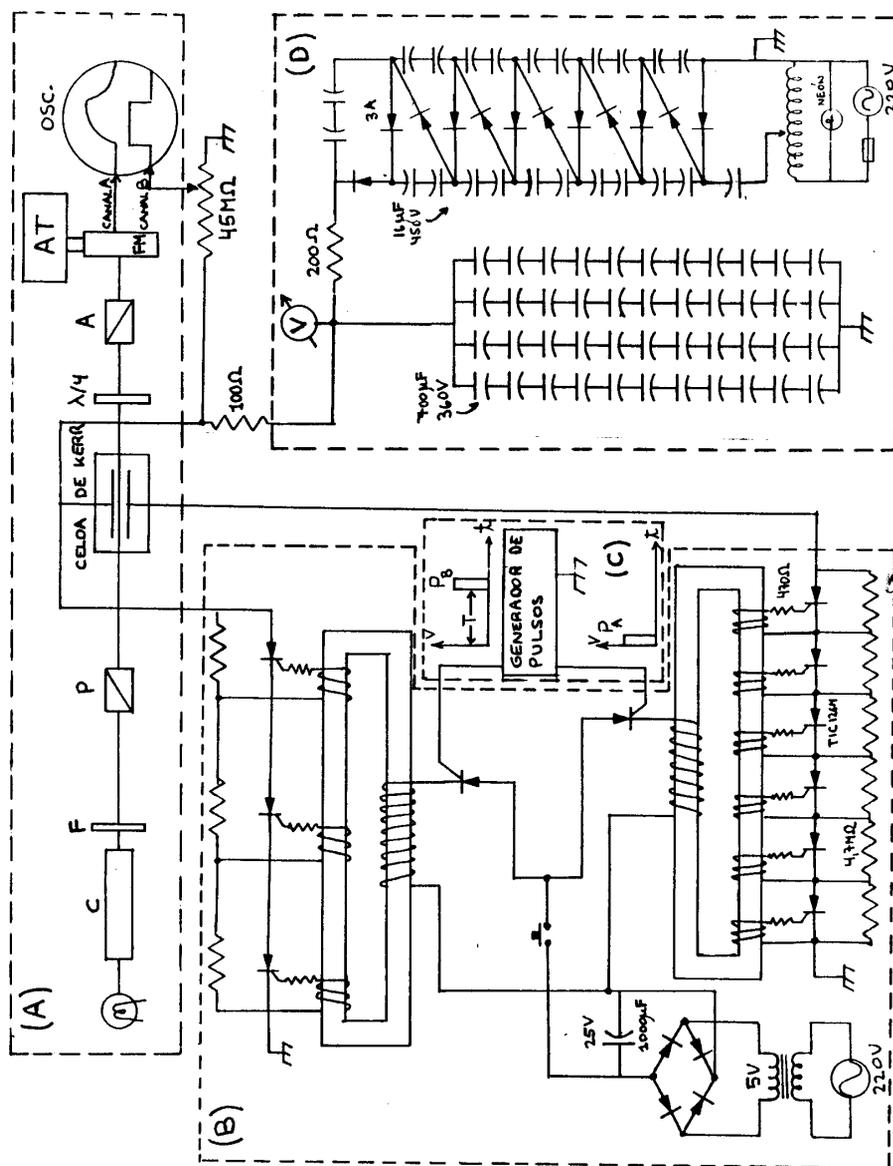
VIII.4 Generador de pulsos de alta tensión:

Este equipo suministra un único pulso rectangular disparado manualmente y de amplitud variable en forma continua de 50 a 3000 V, siendo su corriente de hasta 3 A y la duración desde $10 \mu\text{s}$ a 10 ms.

Descripción del circuito:

Consta básicamente de las mismas partes que el generador de pulsos de baja tensión visto arriba como se muestra en el circuito de la Fig. VIII.5. Se incluye en dicha figura, el

sistema óptico (A), la etapa de potencia (B), el generador de pulso de disparo (C) y el multiplicador de tensión (D). Habiéndose realizado modificaciones en las etapas B y D a fin de adaptarlas a la generación de pulsos de alta tensión.



Circuito del generador de pulsos de alta tensión

Figura VIII.5

A continuación se describen las mismas, remitiéndose para el análisis de las restantes, a la explicación del generador de pulsos de baja tensión.

Etapa de potencia:

En su diseño se reemplazan los tiristores T_A y T_B del generador de pulsos de baja tensión por las cadenas de tiristores en serie CA y CB los cuales permiten bloquear la tensión de 3KV que queda aplicada en el sentido directo por la batería de capacitores cargados mediante el multiplicador de tensión (ver Fig. VIII.5).

La ecualización debida a las distintas corrientes de bloqueo directo se realiza mediante las resistencias en paralelo con los tiristores. Se conectan además redes RC para ecualizar los tiempos de conmutación y evitar el riesgo de disparo por dV/dt .

Para el disparo simultaneo de los tiristores de CA y CB es necesario implementar un circuito adicional con los tiristores T_1 y T_2 los cuales al ser disparados por P_A y P_B permiten aplicar un escalón de tensión (7V) sobre los bobinados primarios de los transformadores de pulso TrA y TrB , que determinan los disparos de CA y CB .

Multiplicador de tensión:

Consta de seis mallas duplicadoras, las cuales permiten obtener una tensión variable de 0V a 3000V. Esta tensión es aplicada a la caja de capacitores en cuyo diseño se ha tenido en cuenta el requerimiento de una constante de tiempo suficiente para evitar que la amplitud del pulso no disminuya por debajo del 98% de su valor inicial.

Funcionamiento:

Inicialmente se procede a cargar la caja de capacitores por medio del multiplicador, hasta que alcance la tensión al cual se realiza la experiencia, siendo esto controlado por medio del voltímetro V. Posteriormente se activa el generador de pulsos (Fig. VIII.5 bloque (C)) mediante un pulsador, que actúa simultaneamente con el P, y que conecta la fuente de 7V CC. El pulso P_A dispara simultaneamente los

tiristores de CA a través del transformador de pulsos, TrA. Esto determina la aplicación de la alta tensión a la celda de Kerr y cuya finalización la define el disparo de CB por medio de Pb.

El generador de pulsos de disparo de este equipo, es idéntico al bloque (C) de la Fig. VIII.4 correspondiente al circuito del generador de pulsos de baja tensión visto anteriormente.

VIII.5 Generador de pulsos de polaridad opuesta

Este equipo suministra dos pulsos rectangulares inmediatamente consecutivos, de polaridad opuesta, tensión variable en forma continua de 0 V a 300 V, intensidad de corriente de hasta 3 A duración de los pulsos de 10 μ s a 100 ms⁽⁸⁴⁾.

Descripción del equipo:

Consta de las siguientes partes indicadas en la Fig. VIII.6. Fuente de tensión con el sistema de conmutación (B) y generador de pulsos de disparo (C). Se incluye en la figura el sistema óptico y de registro (A).

La fuente de tensión esta constituida por los diodos 1N5408 y la batería de capacitores. Esta fuente permite disponer de dos tensiones, una positiva y otra negativa (aproximadamente el doble que la primera), necesarias para obtener los dos niveles de tensión de los pulsos. Los tiristores TIC 126M forman el sistema de conmutación por medio del cual se aplican a la celda de Kerr sucesivamente la tensión positiva (por medio de TA), seguida de la tensión negativa (TB), para finalizar cortocircuitando dicha celda (TC). La ecualización de las tensiones se efectúa mediante el reóstato no inductivo de 100 Ω /400 W.

El generador de pulsos de disparo ha sido diseñado con el integrado 74123N (monoestable dual) y tiene por función generar los pulsos PA, PB y PC, que accionan sucesivamente los tiristores TA, TB y TC, mediante los respectivos trans-

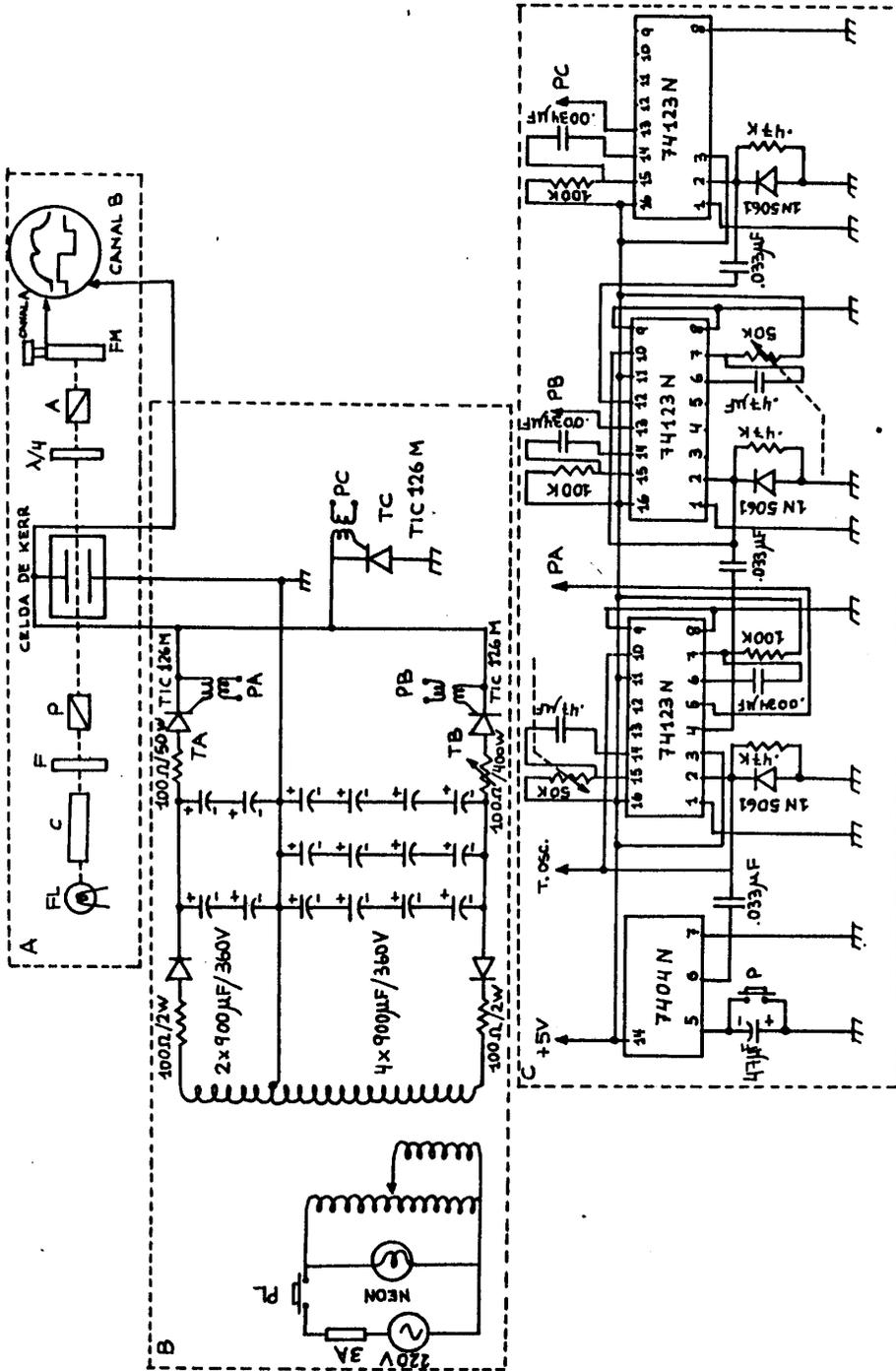
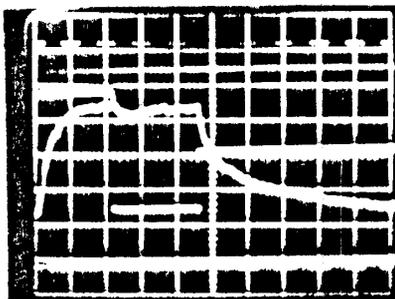


Figura VIII.6

formadores de pulsos.

Funcionamiento:

El autotransformador de entrada permite disponer de una tensión positiva y otra negativa en la batería de capacitores. Al ser activado TA queda aplicada a la celda de Kerr la tensión positiva determinada por el divisor de tensión entre la resistencia de 100Ω y la celda de Kerr. Posteriormente, el tiristor TB (que ha sido activado por el pulso PB) aplica una tensión negativa a la celda con lo que se consigue la inversión. Finalmente el pulso PC activa al tiristor TC, el cual cortocircuita la celda, obteniéndose la forma de onda indicada en la Fig. VIII.7.



Oscilograma obtenido al aplicar pulsos de campo de campo eléctrico de polaridad opuesta a una solución de ADN nativo con una concentración de 50 mg/dl, ($E=1,1$ KV/cm y $\Delta n = -2,3 \cdot 10^{-7}$).

Figura VIII.7

El generador de pulsos de disparo es puesto en funcionamiento al pulsar P lo cual origina un escalón negativo que luego de ser invertido es derivado y aplicado al terminal N° 2 del primer 74123N. Se obtiene así un pulso PA en el terminal N° 5 cuya duración está determinada por el capacitor y la resistencia asociados a los terminales 6 y 7. Con el mismo pulso inicial se genera un pulso negativo (terminal N° 4) de mayor duración (definida por el

potenciómetro y capacitor de los terminales 14 y 15). Este pulso, una vez derivado es aplicado al terminal N° 2 del segundo intrgrado 74123N, obteniéndose así el segundo pulso PB (terminal N° 13). Para finalizar, el pulso PC se logra en forma similar al anterior. En la Fig. VIII.7 se muestra el pulso de campo eléctrico y la señal óptica correspondientes a una solución de ADN nativo (marca Sigma, tipo I, N° catálogo 1501) en solución acuosa con NaCl 1 mM y Ph 6,5. Se observa el mantenimiento de la amplitud de los pulsos de tensión y la simetría de los mismos respecto del campo nulo. Además el tiempo de inversión del campo eléctrico es despreciable frente a los tiempos de relajación que se aprecian en la señal óptica al aplicar, invertir y suprimir el campo eléctrico.

VIII.6 Procedimiento de medición

Para medir la birrefringencia eléctrica con el equipo descrito se procede de la siguiente manera:

- 1º-Se coloca la solución en estudio en la celda de Kerr.
- 2º-Se pone en marcha el sector giratorio (SG) que corta alternativamente el haz luminoso. Se observan sobre la

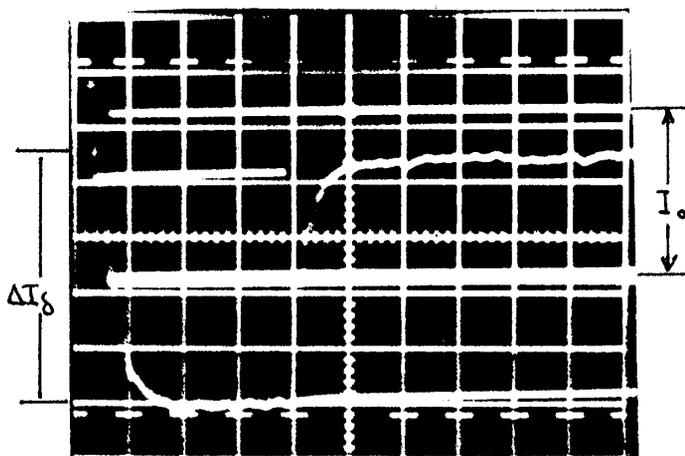


Figura VIII.8

pantalla del osciloscopio dos líneas paralelas. Una correspondiente a la señal del fotomultiplicador cuando sobre él incide luz y la otra cuando no incide. La distancia entre esas líneas es proporcional a la intensidad luminosa incidente sobre el fotomultiplicador (FM), I_{α} en la Fig. VIII.8.

3q-Con el sector giratorio en reposo de manera que permita el paso del haz luminoso, se aplica un pulso de campo eléctrico a la solución. Se observa en la pantalla del osciloscopio la variación de intensidad de luz en uno de los canales (ΔI_{β} en la Fig. VIII.8) y el pulso eléctrico en el otro. La duración del pulso de tensión se ajusta de manera que la señal de fotocorriente llegue a un valor estacionario.

4q-Se fotografian las señales mencionadas en los pasos 2q y 3q, y se obtiene el oscilograma mostrado en la Fig. VIII.8.

Sobre la fotografía se miden las magnitudes ΔI_{β} y I_{α} .

El cálculo de la birrefringencia eléctrica a partir de las señales registradas se explica a continuación.

IX CALCULO DE LA BIRREFRINGENCIA ELECTRICA

IX.1 Relación entre la birrefringencia eléctrica y las señales ópticas medidas

Se necesita una expresión que relacione la birrefringencia eléctrica de la solución con las señales ópticas medidas. Esta se obtiene caracterizando las componentes del sistema óptico, ya descrito en la en la sección VIII.1, mediante las matrices de Mueller correspondientes $\langle S^S \rangle$ y determinando los parámetros de Stokes del haz emergente.

Las posiciones y orientaciones de los elementos del sistema óptico para determinar la birrefringencia se especifican en el diagrama de la Fig. IX.1. El haz incidente es no polarizado y de intensidad I_0 , el polarizador (P)

$$M_A = (1/2) \begin{pmatrix} 1 & -\text{sen}(2\alpha) & -\text{cos}(2\alpha) & 0 \\ -\text{sen}(2\alpha) & \text{sen}^2(2\alpha) & \text{sen}(2\alpha) \cdot \text{cos}(2\alpha) & 0 \\ -\text{cos}(2\alpha) & \text{sen}(2\alpha) \cdot \text{cos}(2\alpha) & \text{cos}^2(2\alpha) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{IX.2})$$

Mientras que la matriz de Mueller de la muestra es:

$$M_m = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \text{cos}(\delta) & -\text{sen}(\delta) \\ 0 & 0 & \text{sen}(\delta) & \text{cos}(\delta) \end{pmatrix} \quad (\text{IX.3})$$

Aquí δ es el retardo óptico de la solución que está dentro de la celda de Kerr y que se relaciona con su birrefringencia, Δn , mediante la expresión:

$$\delta = (2\pi l \Delta n) / \lambda \quad (\text{IX.4})$$

Donde l es el espesor de la celda de Kerr y λ es la longitud de onda de la luz empleada.

La matriz de Mueller correspondiente al sistema óptico completo es:

$$M = M_A \cdot M_{\lambda/4} \cdot M_m \cdot M_P \quad (\text{IX.5})$$

De lo cual resulta:

$$M = (1/4) \begin{pmatrix} 1 - \text{cos}(2\alpha + \delta) & 0 & 1 - \text{cos}(2\alpha + \delta) & 0 \\ -\text{sen}(2\alpha)(1 - \text{cos}(2\alpha + \delta)) & 0 & -\text{sen}(2\alpha)(1 - \text{cos}(2\alpha + \delta)) & 0 \\ -\text{cos}(2\alpha)(1 - \text{cos}(2\alpha + \delta)) & 0 & -\text{cos}(2\alpha)(1 - \text{cos}(2\alpha + \delta)) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (\text{IX.6})$$

El vector de Stokes del haz incidente es $S_0 = (I_0, 0, 0, 0)^t$.
El vector de Stokes del haz emergente del sistema es $S = MS_0$

$$S_\delta = (I_0/4) \begin{pmatrix} 1 - \cos(2\alpha + \delta) \\ -\text{sen}(2\alpha)(1 - \cos(2\alpha + \delta)) \\ -\cos(2\alpha)(1 - \cos(2\alpha + \delta)) \\ 0 \end{pmatrix} \quad (\text{IX.7})$$

De este vector se obtiene que la intensidad luminosa que llega al fotomultiplicador, denominada I_δ , es:

$$I_\delta = (I_0/4)[1 - \cos(2\alpha + \delta)] \quad (\text{IX.8})$$

La intensidad del haz emergente en ausencia de campo eléctrico ($\delta = 0$), que se denomina I_α , es:

$$I_\alpha = (I_0/4)[1 - \cos(2\alpha)] \quad (\text{IX.9})$$

resultando que el cambio relativo de la intensidad luminosa con respecto a la intensidad I_α es:

$$\Delta I_\delta / I_\alpha = (I_\delta - I_\alpha) / I_\alpha = [\cos(2\alpha) - \cos(2\alpha + \delta)] / [1 - \cos(2\alpha)] \quad (\text{IX.10})$$

Si se tiene en cuenta la birrefringencia residual de las paredes de vidrio de la celda de Kerr, denominada δ_0 , la ec. (IX.10) debe escribirse

$$\Delta I_\delta / I_\alpha = [\cos(2\alpha + \delta_0) - \cos(2\alpha + \delta + \delta_0)] / [1 - \cos(2\alpha + \delta_0)] \quad (\text{IX.11})$$

IX.2 Corrección debida a la luz dispersada:

La luz dispersada en los componentes del sistema óptico para medir Δn , dispuestos como en la Fig. IX.1, hace que la intensidad de luz medida por el fotomultiplicador sea:

$$(I_\alpha)_{\text{medida}} = I_0 \text{sen}^2(\alpha) + I_{SL} \quad (\text{IX.12})$$

donde I_{SL} es la intensidad de luz dispersada por los componentes ópticos y I_o' la intensidad de luz que emerge del polarizador P. La intensidad de luz residual I_{SL} es proporcional a la intensidad de luz incidente, es decir:

$$I_{SL} = K_{SL} \cdot I_o' \quad (IX.13)$$

Eliminando I_o' de las expresiones (IX.12) y (IX.13) se obtiene el valor de la constante K_{SL}

$$K_{SL} = [I_{SL} \cdot \text{sen}^2(\alpha)] / [(I_{\alpha})_{medida} - I_{SL}] \quad (IX.14)$$

Esta constante se obtiene midiendo la intensidad luminosa, I_{SL} , cuando A y P están en extinción y la intensidad luminosa $(I_{\alpha})_{medida}$ para un ángulo α cualquiera.

La expresión para el valor corregido de $(\Delta I_{\delta} / I_{\alpha})$, en función de K_{SL} y el ángulo α , se obtiene de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} (\Delta I_{\delta} / I_{\alpha})_{medida} &= (I_{\delta} \text{ medida} - I_{\alpha} \text{ medida}) / I_{\alpha} \text{ medida} = \\ &= (I_{\delta} \text{ corregido} - I_{\alpha} \text{ corregido}) / (I_{\alpha} \text{ corregido} + I_{SL}) \end{aligned} \quad (IX.15)$$

donde se ha definido $I_{\text{corregida}} = I_{\text{medida}} - I_{SL}$.

Reemplazando aquí el valor de I_{SL} despejado de la ecuación (IX.14) de K_{SL} se obtiene

$$(\Delta I_{\delta} / I_{\alpha})_{medido} = [1 / (1 + K_{SL} / \text{sen}^2 \alpha)] \cdot (\Delta I_{\delta} / I_{\alpha})_{\text{corregido}} \quad (IX.16)$$

Finalmente se escribe:

$$(\Delta I_{\delta} / I_{\alpha})_{\text{corregido}} = (1 + K_{SL} / \text{sen}^2 \alpha) \cdot (\Delta I_{\delta} / I_{\alpha})_{\text{medido}} \quad (IX.17)$$

Para nuestro equipo $K_{SL} = 0,0012$.

La expresión completa para determinar δ a partir de las señales de fotocorriente registradas (ΔI_β y I_α), teniendo en cuenta la luz dispersada en los componentes ópticos del sistema y la birrefringencia residual de la celda de Kerr, es:

$$(\Delta I_\beta / I_\alpha)_{med} \cdot (1 + K_{SL} / \sin^2 \alpha) =$$

$$= [\cos(2\alpha + \delta_0) - \cos(2\alpha + \delta + \delta_0)] / [1 - \cos(2\alpha + \delta_0)] \quad (IX.18)$$

IX.3 Determinación de la birrefringencia eléctrica de saturación

Como se vió en la sección (I.5.2), para soluciones diluidas de macromoléculas rígidas con un eje de simetría común para sus propiedades eléctricas, ópticas e hidrodinámicas y el momento dipolar permanente a lo largo de este eje, la expresión para $\phi(\beta, \gamma)$ en el límite para $E \rightarrow \infty$ vale:

$$\phi(\beta, \gamma) = 1 - [3 / (\beta + 2\gamma)] \quad (I.44)$$

con $\beta = bE$ y $\gamma = cE^2$. Además $\Delta n = \Delta n_\infty \phi(\beta, \gamma)$.

Cuando la curva de birrefringencia muestra una aproximación a la saturación, para campos eléctricos elevados, se puede realizar una extrapolación a intensidad de campo infinito.

Casos particulares:

a) Orientación molecular debida un momento inducido ($\beta = 0$)

Para campos eléctricos elevados se verifica la relación

$$\Delta n = \Delta n_\infty \cdot [1 - 3 / (2cE^2)] \quad (IX.19)$$

Es decir que si se grafica Δn en función de $1/E^2$ se obtiene

Δn_{∞} para $1/E^2 \rightarrow 0$.

b) Orientación molecular originada por un momento permanente puro ($\gamma=0$).

La ecuación de la birrefringencia para campos eléctricos elevados es

$$\Delta n = \Delta n_{\infty} [1 - 3/(bE)] \quad (\text{IX.20})$$

por lo tanto se obtiene Δn_{∞} extrapolando $1/E \rightarrow 0$ en una gráfica de Δn en función de $1/E$.

c) Orientación molecular producida por la combinación de momentos dipolares eléctricos permanentes e inducidos ($\beta \neq 0$ y $\gamma \neq 0$).

Δn para E grande vale:

$$\Delta n = \Delta n_{\infty} [1 - 3/(bE + 2cE^2)] \quad (\text{IX.21})$$

Para campos eléctricos suficientemente elevados el término con E^2 predomina sobre el término lineal en E . Es así que puede obtenerse Δn_{∞} procediendo como en el caso a).

IX.4 Determinación del tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica

Se determina el área total limitada por la curva de decaimiento normalizada de la birrefringencia eléctrica ($\Delta n / \Delta n_{\infty}$ en función del tiempo) y el eje t . Como se muestra en la sección I.6.1, ec.(I.82), este área equivale al tiempo de relajación promedio (en birrefringencia), $\langle \tau \rangle$.

X ULTRACENTRIFUGACION ANALITICA

Se emplea una ultracentrifuga analítica Spinco-Beckman, modelo E con el sistema óptico Schlieren^(ee).

En la Fig. X.1 se muestra un corte esquemático del rotor de este instrumento con su celda y referencias así como algunas dimensiones características.

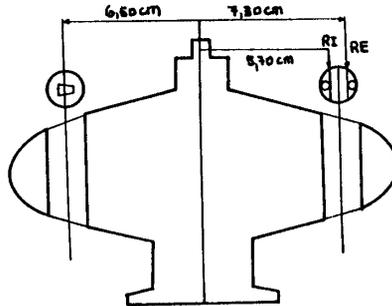


Figura X.1

Una solución de macromoléculas colocadas en la celda y con el rotor girando a una velocidad angular ω está actuada por un campo de aceleración $\omega^2 r$ donde r es la distancia desde el eje de rotación hasta un punto cualquiera dentro de la celda. De esta manera las moléculas se mueven con una velocidad (dr/dt) .

Se define como coeficiente de sedimentación S a la velocidad del desplazamiento de las moléculas dentro del campo de aceleración:

$$S = (dr/dt)/\omega^2 r \quad (X.1)$$

Inicialmente se puede imaginar a las moléculas distribuidas uniformemente en toda la celda. Cuando se aplica el campo de fuerzas, la región próxima al menisco aire-solución se libera totalmente del soluto. Se forma un frente móvil (ver Fig. X.2). A partir de la velocidad del movimiento de este frente se puede calcular el coeficiente de sedimentación. La posición del frente móvil se determina mediante el sistema óptico Schlieren cuyo esquema se exhibe en la Fig. X.3. Este sistema óptico está constituido por los siguientes elementos: Una ranura fuente R , una lente colimadora LC , una

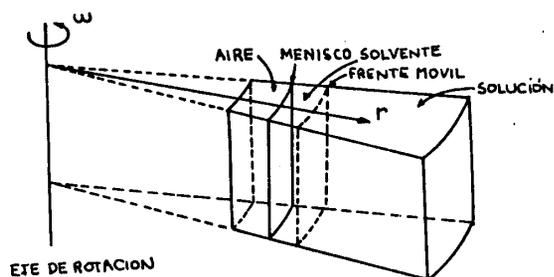
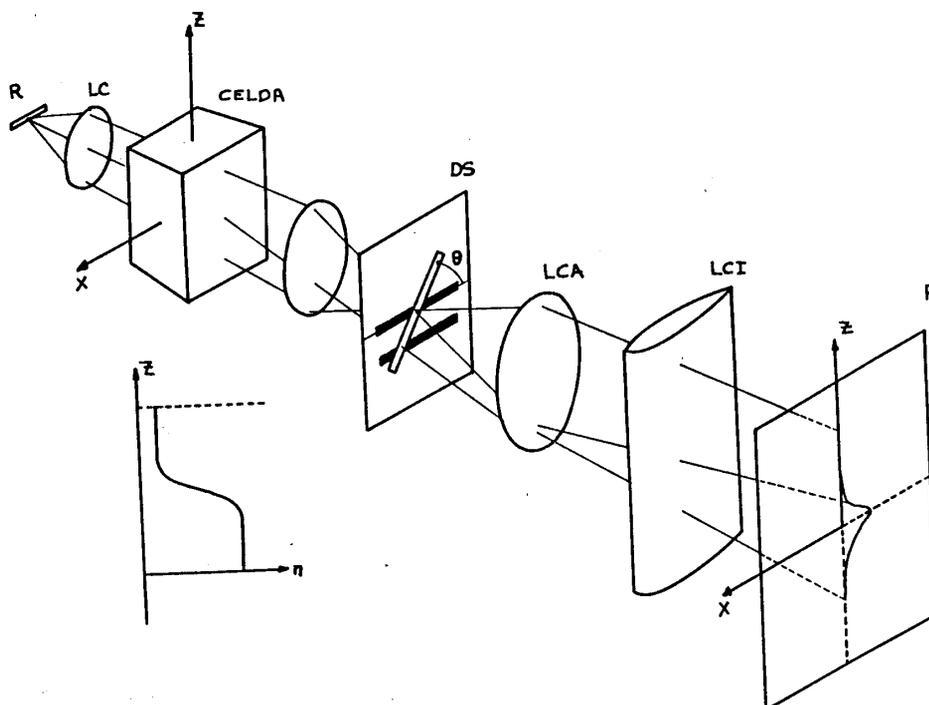


Diagrama de un experimento de sedimentación en el rotor de una ultracentrifuga analítica.

Figura X.2



Sistema óptico Schlieren para determinar la posición del frente móvil de una solución de macromoléculas en la celda de una ultracentrifuga analítica y gráfica del índice de refracción en función del eje de la celda (r).

Figura X.3

lente que enfoca la ranura R en el plano DS, el diafragma Schlieren DS con una ranura diagonal, una lente de cámara LCA que enfoca la celda en la placa fotográfica P y una lente cilíndrica LCI que enfoca en la dirección x el plano DS sobre la placa P, sin modificar el enfoque de la celda sobre P en la dirección r.

La celda de la ultracentrifuga tiene un gradiente de índice de refracción en la dirección r. Este gradiente ocurre en la región del frente entre el soluto y el solvente. Puede verse en la gráfica de n versus r en la parte inferior de la Fig. X.3.

El sistema óptico Schlieren funciona de la siguiente manera: Se forman una sucesión de imágenes de la ranura R en el diafragma DS. Las que están sobre el eje óptico corresponden a los rayos que atraviesan la celda en las regiones de gradiente nulo. Mientras que las formadas fuera del eje corresponden a los rayos que atraviesan a la celda en las zonas con un gradiente de índice de refracción. Cuanto mayor es el gradiente, más lejos del eje se forman las imágenes de R.

Debido a la ubicación de la lente de cámara LCA, cualquier rayo que atraviese al sistema, independientemente de su desviación, se enfoca en la placa fotográfica en el punto correspondiente de la imagen de la celda. Como la lente cilíndrica LCI enfoca las desviaciones laterales del plano DS en la placa, cualquier rayo desviado aparece en la misma con un corrimiento lateral proporcional a la desviación hacia abajo que sufre la luz en la celda. Esta desviación es proporcional al gradiente de índice de refracción. Puede demostrarse que la desviación lateral es:

$$X = (\text{cte.}) \cdot (\cotg \theta) \cdot (dn/dr) \quad (X.2)$$

Este dispositivo óptico permite obtener fotografías como la que se muestra en la Fig. X.4, en la que puede verse la desviación lateral X en la región donde existe un gradiente de

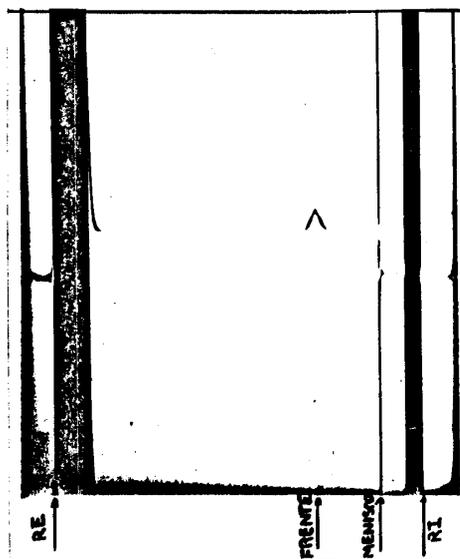
índice de refracción. El máximo del pico observado determina la posición del frente móvil solvente-solución.

Teniendo en cuenta que $v=dr/dt=S\omega^2r$, e integrando se obtiene:

$$\ln r = \omega^2 St + \text{cte. (en unidades cgs)} \quad (\text{X.3})$$

De manera que una gráfica de $\ln r$ versus t da una recta de cuya pendiente se extrae el coeficiente de sedimentación S .

$$S = (tg)/\omega^2 \text{ donde } \omega = ((2\pi/60)(\text{vueltas/minuto})) \text{ radianes/s.} \quad (\text{X.4})$$



Fotografía obtenida mediante el sistema óptico Schlieren. En ella se observan las referencias interna (RI) y externa (RE), el menisco aire-solución y el pico cuyo máximo corresponde al frente solvente-solución.

Figura X.4

r puede expresarse en cm medidos sobre fotografías ampliadas, en lugar del valor real, pues esto solo afecta a la

constante de la ecuación (X.3) y no a su pendiente. Por lo que r puede ponerse:

$$r = (5,7/1,6) \cdot (RE - RI) + \text{distancia medida en foto ampliada desde RI a la frontera solvante-solución (pico en el método Schlieren)} \quad (X.5)$$

XI REFRACTOMETRIA DIFERENCIAL

Para determinar el incremento del índice de refracción de una solución con respecto al del solvente, $\delta n = n - n_0$, se construyó un refractómetro diferencial similar al presentado por BRICE y HALWER⁽⁸⁷⁾. Un esquema de ese instrumento se exhibe en la Fig. XI.1. Se compone de los siguientes elementos:

FL: fuente luminosa (lámpara de sodio)

L: lente condensadora

R: rendija

CD: celda diferencial del tipo "doble prisma"

P: lente proyectora

C: catetómetro colocado para medir desplazamientos horizontales, d .

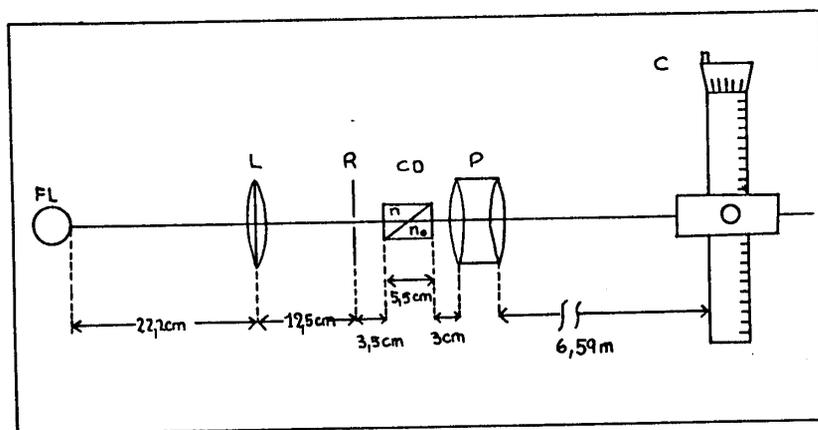


Figura XI.1

Los autores mencionados arriba demuestran que el incremento δn es proporcional al desplazamiento d del haz luminoso, es decir $\delta n = K \cdot \Delta d$. Se calibró el equipo mediante soluciones de sacarosa a $20^{\circ}\text{C} + 0,1^{\circ}\text{C}$ para las cuales $(\delta n/c) = 0.1436 \text{ ml/g}$.

PARTE TERCERA

RESULTADOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS

XII RESULTADOS EXPERIMENTALES

XII.1 Señales de birrefringencia eléctrica del ADN soni- cado

Las señales de birrefringencia obtenidas al aplicar un campo eléctrico (pulso rectangular) a una solución acuosa de ADN sonificado se pueden, despreciando en primera aproximación la polidispersión de la muestra, descomponer en una suma de dos señales de birrefringencia con signos opuestos y con decaimientos exponenciales. En la Fig. XII.1 se exhibe el transitorio completo de la birrefringencia eléctrica para una solución acuosa de ADN sonificado con una concentración de 38 mg/dl en presencia de NaCl 1 mM y un pH de 6,5. El campo eléctrico aplicado es de 1 KV/cm.

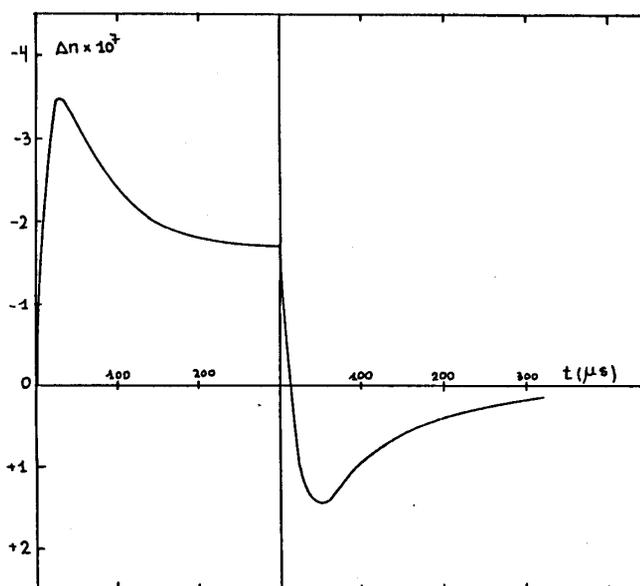


Figura XII.1

En la Fig. XII.2 se muestra el ajuste de este mismo transitorio, a partir del instante en el que se suprime el campo eléctrico, mediante la función:

$$\Delta n \cdot 10^7 = 2,55 \cdot \exp(-t/105\mu\text{s}) - 4,26 \cdot \exp(-t/17\mu\text{s})$$

Este ajuste se realiza mediante el método de los cuadrados mínimos.

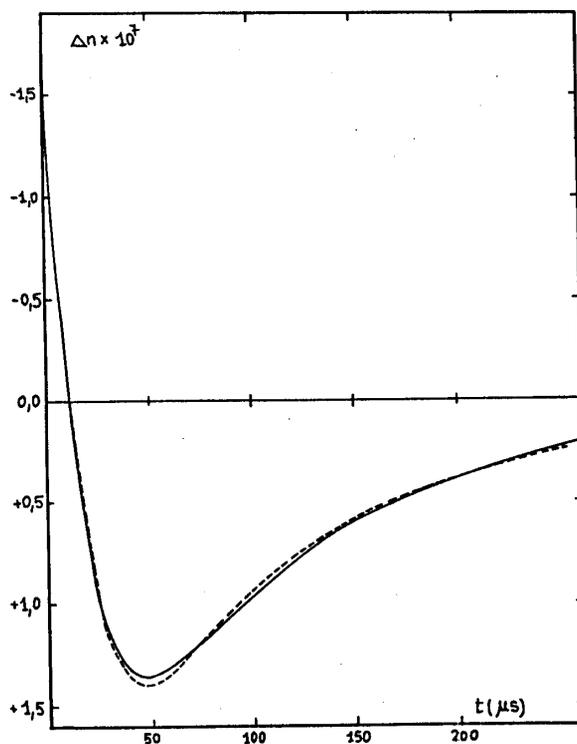


Figura XII.2

XII.2 Efecto de la concentración sobre la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado

En la Fig. XII.3 se muestran las señales de fotocorriente obtenidas al aplicar un pulso de campo eléctrico rectangular a soluciones de ADN sonificado progresivamente diluidas desde 94 mg/dl hasta 5,9 mg/dl. En ella se puede apreciar como la componente positiva de la birrefringencia eléctrica disminuye con la dilución hasta desaparecer para una concentración en ADN de 5,9 mg/dl (foto f) para la cual la señal es

completamente negativa. Las características de la experiencia son las siguientes: Intensidad de campo eléctrico $E = 1,1 \text{ KV/cm}$. Las soluciones son acuosas, con $\text{NaCl } 1\text{mM}$ y $\text{pH } 6.5$

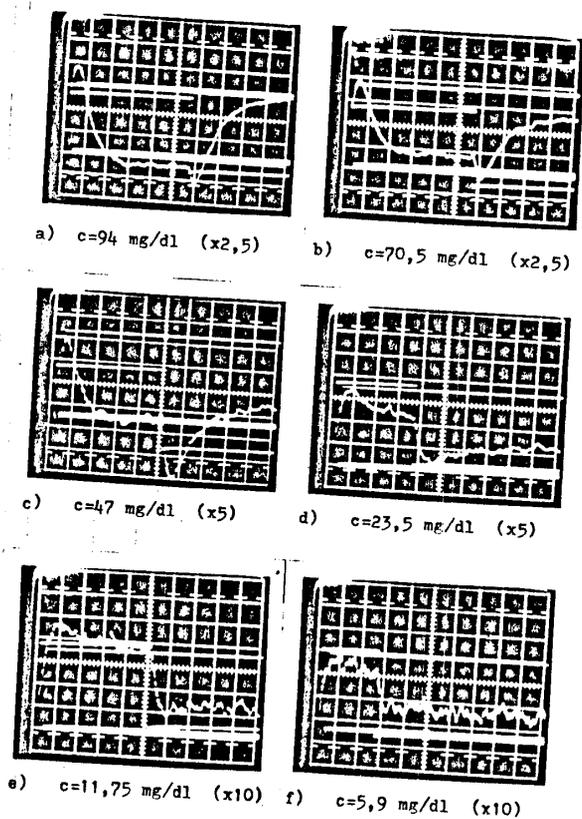


Figura XII.3

Debajo de cada foto figura la concentración del ADN en las soluciones. La base de tiempo es de $0,1 \text{ ms/cm}$ para todas las fotos menos para la foto f que es de $0,2 \text{ ms/cm}$. El número entre paréntesis en cada foto corresponde al factor de amplificación de la escala vertical, respecto de la referencia I_{α} , que se adoptó en cada registro de señal. El ángulo α en el sistema óptico es de 5 grados.

En la Fig. XII.4 se representa la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario, Δn , de soluciones de ADN sonificado progresivamente diluidas en función del cuadrado de la intensidad del campo eléctrico. Son soluciones acuosas

con NaCl 1mM y pH 6,5. Las concentraciones en mg/dl del ADN en las soluciones son las siguientes: (○) 37,7; (●) 55,5; (□) 73,6; (■) 92,0; (△) 115,0.

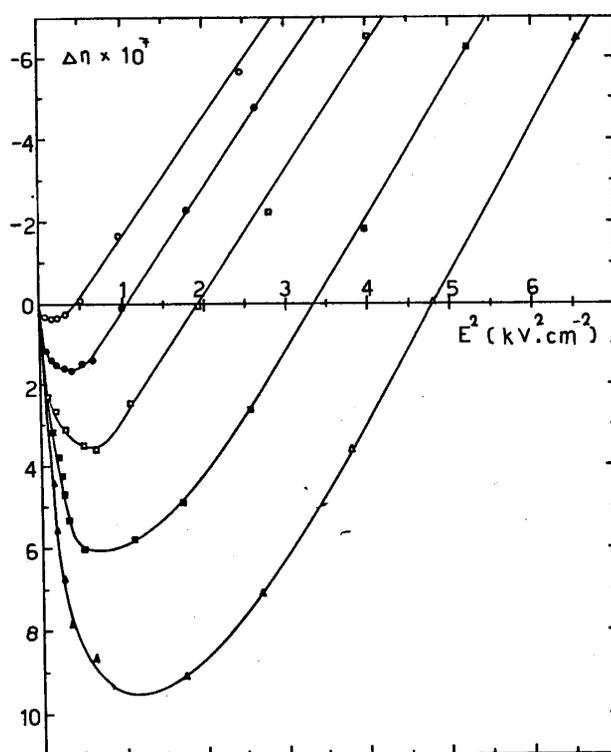


Figura XII.4

En la Fig. XII.5 se grafican los valores máximos de la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario, Δn_m , en función del cuadrado de la concentración, correspondientes a las gráficas Δn vs. E^2 de la Fig. XII.4. Se observa una dependencia aproximadamente lineal entre estas dos magnitudes.

El valor de saturación de la birrefringencia eléctrica, Δn_s , se obtiene extrapolando a intensidad de campo eléctrico infinito empleando un gráfico de Δn en función de $(1/E^2)$ como en la Fig. XII.6. En ella las concentraciones, en mg/dl, del ADN en las soluciones son las siguiente: (▲) 18,4; (○) 37,7; (●) 55,5; (□) 73,6; (■) 92,0; (△) 115.

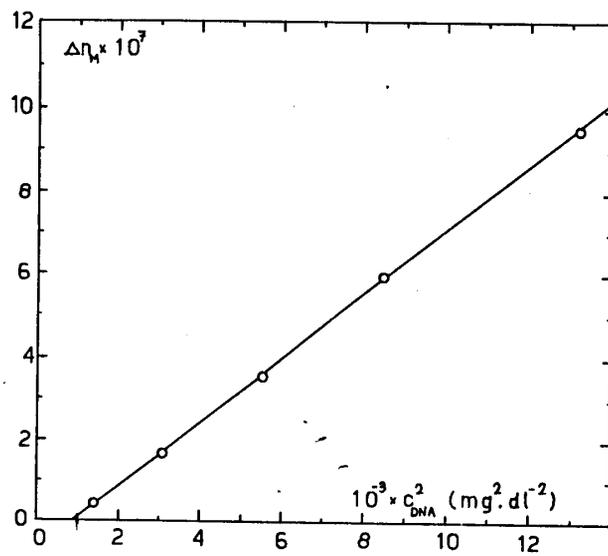


Figura XII.5

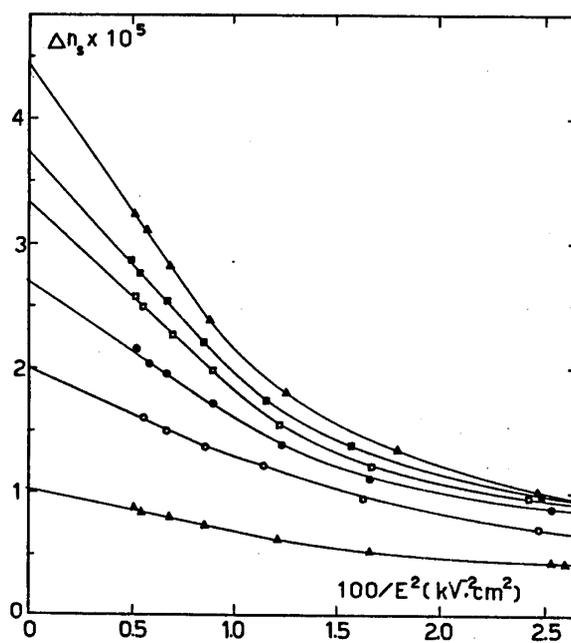


Figura XII.6

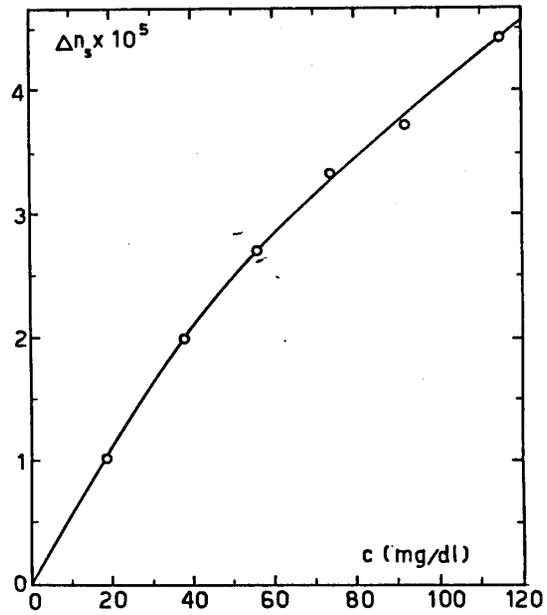


Figura XII.7

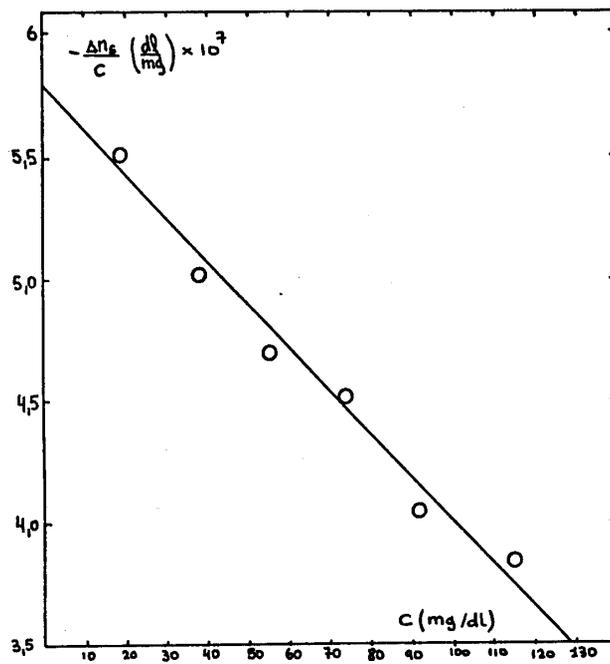


Figura XII.8

La Fig. XII.7 muestra la dependencia entre Δn_e y la concentración c . De una manera empírica se determina el valor de $(\Delta n_e/c)$ para c tendiendo a 0, dado que la relación entre la birrefringencia eléctrica de saturación por unidad de concentración $(\Delta n_e/c)$ y la concentración c es lineal. Del gráfico de la Fig. XII.8 se obtiene $(\Delta n_e/c)_{c \rightarrow 0} = -5,8$ dl/mg.

XII.3 Efecto del $MgCl_2$ sobre la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado

La componente positiva de la birrefringencia eléctrica de soluciones acuosas de ADN sonificado desaparece con el agregado de $MgCl_2$. Esto puede verse en la Fig. XII.9 donde se

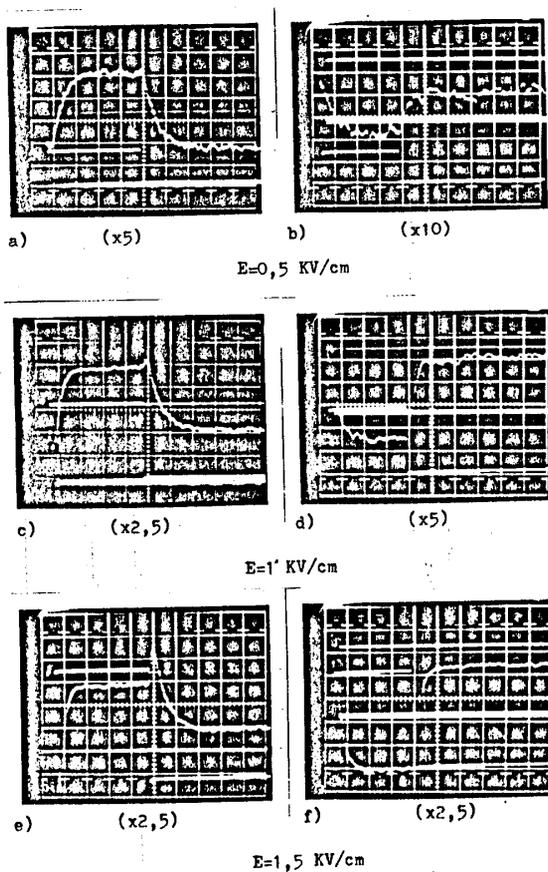


Figura XII.9

muestran las señales de fotocorriente correspondientes a soluciones de ADN sonicado, para tres intensidades de campo eléctrico diferentes, con y sin presencia de $MgCl_2$. Las características de las mediciones son las siguientes: La concentración del ADN es de 94,0 mg/dl para todos los casos. Las soluciones son acuosas con $NaCl$ 1 mM y pH 6,5. Las soluciones correspondientes a las fotos b, d y f tienen además $MgCl_2$ 1 mM. La intensidad del campo eléctrico es de 0,5 KV/cm para las fotos a y b, 1 KV/cm para las fotos c y d y 1,5 KV/cm para las fotos e y f. La base de tiempo es de 0,2 ms/cm para las fotos a, c y e y 0,1 ms/cm para las fotos b, d y f. El número entre paréntesis debajo de cada foto corresponde al factor de amplificación de la escala vertical, respecto de la referencia I_α , que se adoptó en cada registro de señal. El ángulo α en el sistema óptico es de 5 grados.

La Fig. XII.10 muestra la birrefringencia eléctrica en el

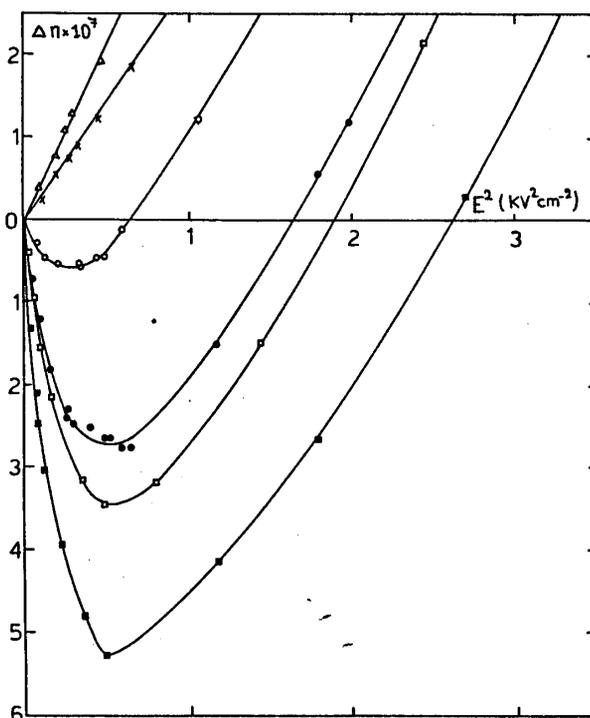


Figura XII.10

estado estacionario Δn para soluciones de ADN sonificado con diferentes concentraciones de $MgCl_2$ en función del cuadrado de la intensidad de campo eléctrico E . En todos los casos las soluciones son acuosas, con una concentración de ADN de 71 mg/dl y con $NaCl$ 1mM. El pH es de 6,5. Las concentraciones, en moles por litro, del $MgCl_2$ correspondientes a las distintas gráficas son las siguientes: (■) 0,0; (□) 5×10^{-5} ; (●) 1×10^{-4} ; (○) $2,5 \times 10^{-4}$; (×) 5×10^{-4} ; (△) 1×10^{-4}

Se observa que el valor máximo Δn_m de la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario disminuye con el incremento de la concentración de $MgCl_2$ y no ocurre la inversión de su signo para una concentración de $MgCl_2$ mayor que 3×10^{-4} M.

XII.4 Birrefringencia eléctrica de los complejos ADN-Histonas

Las soluciones de nucleohistona sonificada presentan una birrefringencia eléctrica negativa aún para campos eléctricos pequeños. Se estudia aquí el efecto sobre la birrefringencia eléctrica de ir extrayendo progresivamente las histonas de la nucleohistona. Se disocian distintas fracciones de histonas de la nucleohistona sonificada mediante el agregado de $NaCl$ en concentraciones 0,6; 1,2; 1,6 y 2 M. En cada caso se separan los complejos ADN-histonas de las histonas disociadas mediante cromatografías en columna con gel de agarosa (Sephrose 4B de Pharmacia). Los complejos así obtenidos se dializan siempre contra una solución acuosa de $NaCl$ 1mM/l con un pH de 6,5.

La Fig. XII.11 muestra la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario Δn y para los complejos ADN-histonas en función del cuadrado de la intensidad de campo eléctrico. El número que precede al símbolo DNH (desoxirribonucleohistona) indica la concentración molar de $NaCl$ empleada para disociar la DNH. Las concentraciones, en mg/dl, correspondientes a las gráficas de la Fig. XII.11 son las siguientes: 0,6DNH (○) 108.9; 1,2DNH (•) 78,3; 1,6DNH (△) 68.9 y 2DNH (□) 26.5.

La componente positiva de la birrefringencia eléctrica no se manifiesta en los complejos 0,6DNH y 1,2DNH mientras que se observan en los complejos 1,6DNH y 2DNH. La tabla siguiente muestra la razón en peso Proteína/ADN para los distintos complejos ADN-Histonas.

Complejo	Proteína/ADN.
0,6DNH	1,55
1,2DNH	1,11
1,6DNH	0,40
2DNH	0,05

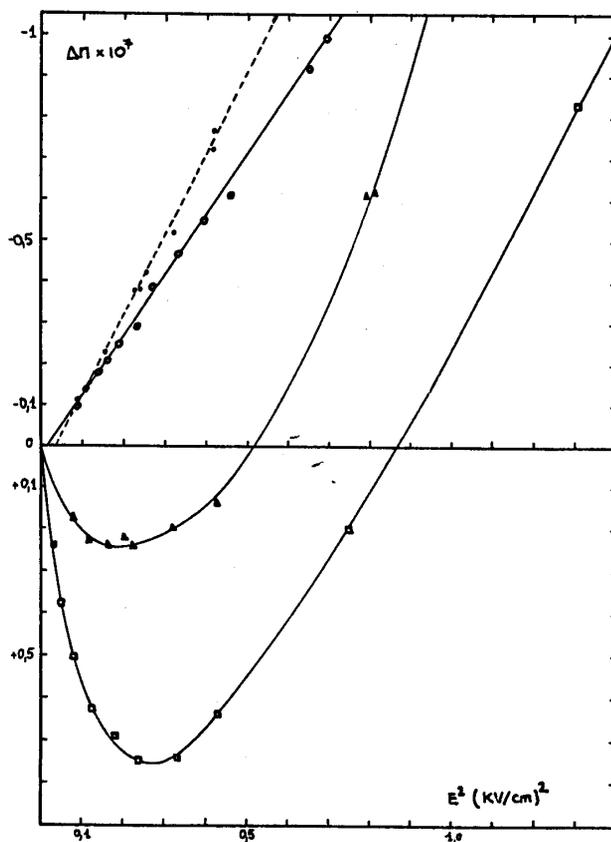


Figura XII.11

XII.5 Birrefringencia eléctrica de soluciones de ADN sonificado previamente filtradas en columna con gel

A una solución acuosa de ADN sonificado con NaCl 1mM se cromatografía en una columna con gel de agarosa (Sephacrose 4B de Pharmacia). La elución se realiza con una solución acuosa de NaCl 1mM con un pH de 6,5. La concentración inicial de la muestra de ADN es de 105,6 mg/dl. La gráfica siguiente (Fig. XII.12) muestra la absorbancia, medida con luz de 260 nm de longitud de onda y en un camino óptico de 10 mm, en función del número de tubos recogidos. Cada tubo contiene 6 ml de muestra.

Se efectúa una mezcla de los tubos 13 a 20. La muestra así obtenida se denomina "cromatografiada". Se realizan mediciones de birrefringencia eléctrica de esta muestra y la "original" sin cromatografiar llevada a la misma concentración.

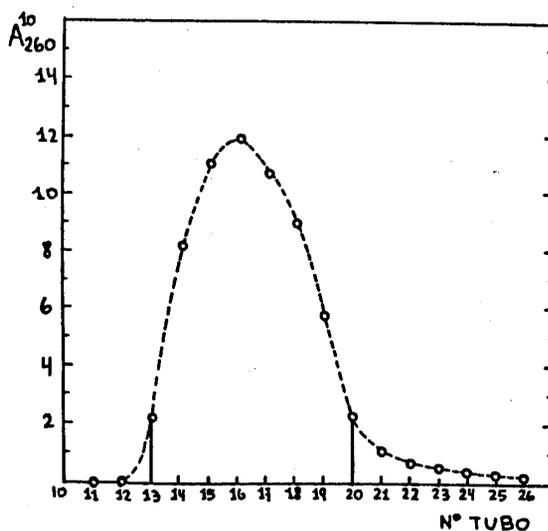


Figura XII.12

La muestra "cromatografiada" no presenta una inversión en el signo de la birrefringencia eléctrica, en el dominio de campos eléctricos pequeños, ni señales de fotocorriente con alguna componente positiva de la birrefringencia.

En la Fig. XII.13 se exhiben las señales de fotocorriente producidas al aplicar dos pulsos de tensión rectangulares consecutivos y de polaridad opuesta (inversión del campo eléctrico) a la solución "original" (a) y a la "cromatografiada" (b). Esta última no presenta cambio apreciable de la birrefringencia cuando se invierte el campo eléctrico. Ambas soluciones tienen una concentración en ADN de 38 mg/dl, poseen NaCl 1 mM y un pH de 6,5. El campo eléctrico en estas experiencias (cada pulso) es de 0,57 KV/cm con una duración de 0,7 ms en la foto a y 1 ms para la foto b. El número entre paréntesis en cada foto corresponde al factor de amplificación de la escala vertical, respecto de la referencia I que se adoptó en cada registro de señal. El ángulo α en el sistema óptico es de 5 grados.

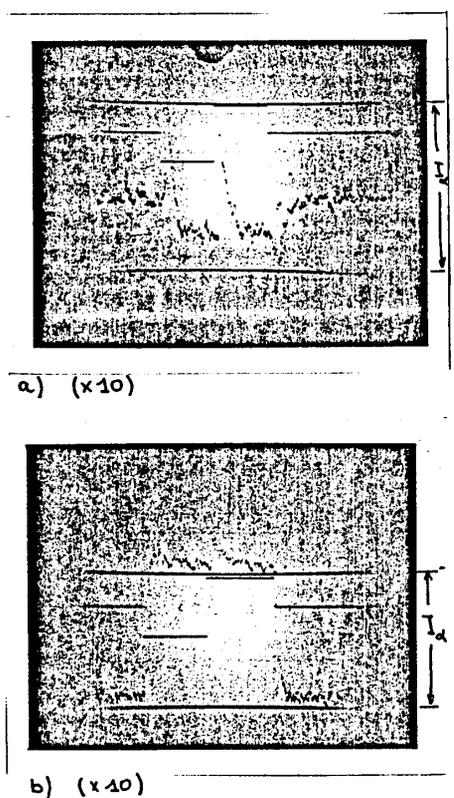


Figura XII.13

La Fig. XII.14 muestra la birrefringencia eléctrica en función del cuadrado de la intensidad de campo eléctrico para las muestras "cromatografiada" (a) y la "original" (b). Se observa que la muestra "cromatografiada" verifica la ley de Kerr.

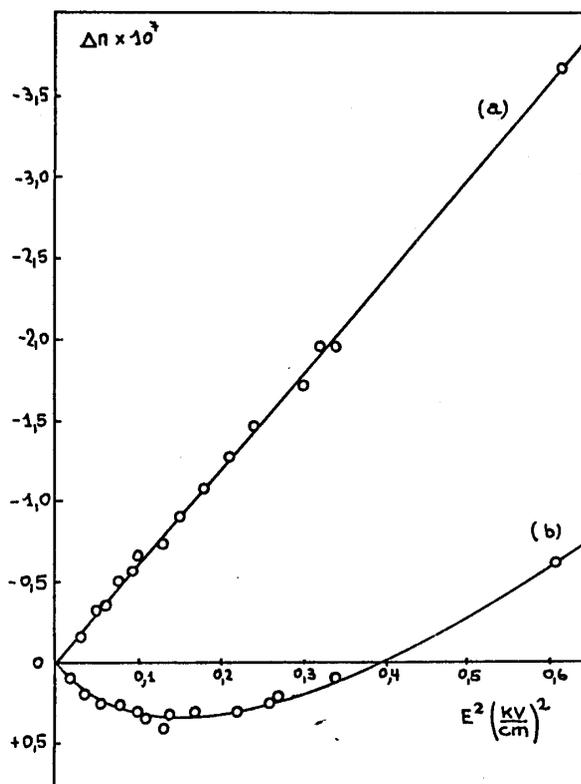


Figura XII.14

El ADN sonificado "cromatografiado" vuelve a presentar un componente positivo de la birrefringencia eléctrica al ser actuado por concentraciones elevadas de NaCl. La solución "cromatografiada" se lleva a una concentración 2 M en NaCl y a las 8 horas se dializa contra una solución acuosa de NaCl 1mM. La solución así obtenida presenta señales de fotocorriente como la exhibida en la Fig. XII.15, que corresponde a una concentración en ADN de 29,5 mg/dl, a una intensidad de campo eléctrico de 0,97 KV/cm con una duración de

0,8 ms. El número debajo de la foto corresponde al factor de amplificación de la escala vertical, respecto de la referencia I_{α} , que se adoptó al registrar la señal. El ángulo α en el sistema óptico es de 5 grados.

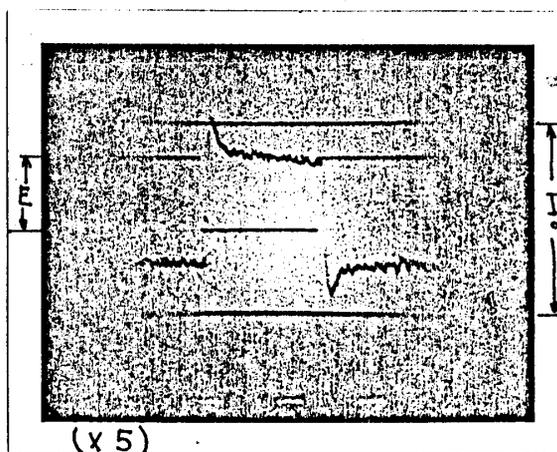


Figura XII.15

XII.6 Birrefringencia eléctrica del ADN sonificado obtenido a partir de ADN nativo previamente filtrado a través de gel de agarosa

El proceso de obtención de la muestra es el siguiente: Se realiza una cromatografía del ADN nativo en columna con gel de agarosa (Sephacrose 4B de Pharmacia). La elución se efectúa con una solución acuosa de NaCl 1 mM con un pH de 6,5. Se mezclan las fracciones extraídas de mayor concentración. La muestra así obtenida se concentra de 5 mg/dl a 26 mg/dl, se dializa luego contra una solución acuosa de NaCl con una concentración 1 mM y finalmente se somete a la acción del ultrasonido. La solución obtenida de esta manera no presenta un componente positiva de la birrefringencia eléctrica. Además al aplicar a la solución dos pulsos de tensión rectangulares consecutivos y de polaridad opuesta (inversión del campo eléctrico) no hay cambio apreciable de la birrefringencia eléctrica cuando se produce la inversión. La foto de la Fig. XII.16 corresponde a una concentración de ADN de

26,1 mg/dl, una intensidad de campo eléctrico $E=0,57$ KV/cm y una duración de 0,6 ms (cada pulso). En esta experiencia $\alpha=5$ grados.

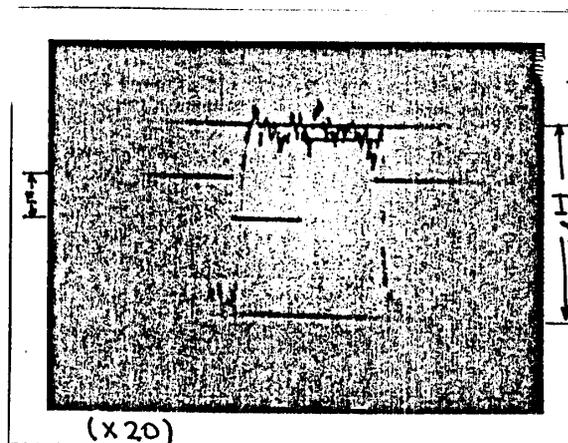


Figura XII.16

XII.7 Tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica positiva del ADN sonificado

-Tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica Δn en función de la concentración de ADN para un campo eléctrico de 228 V/cm :

Puede considerarse constante e igual a 200 μ s, dentro de un error experimental del 10 %, para las siguientes concentraciones de ADN: 37,7; 55,5; 73,5; 92 y 115 mg/dl. Las soluciones son acuosas con NaCl 1 mM/l y pH 6,5.

-Efecto del $MgCl_2$ sobre el tiempo de relajación de la birrefringencia eléctrica positiva del ADN sonificado:

A una solución de ADN sonificado con una concentración de 71,4 mg/dl en NaCl 1 mM y pH 6,5 se le agrega distintas cantidades de $MgCl_2$.

El campo eléctrico empleado en la experiencia es de 228 V/cm.

Los resultados se muestran en la tabla siguientes.

Tabla 1

Concentración molar de $MgCl_2$	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-5}	0
Tiempo de relajación (μs)	140	160	184	200

Con un error del 10 %.

XII.8 Transitorio de la birrefringencia eléctrica positiva del ADN sonificado después de invertir el campo eléctrico.

Las mediciones se realizaron con un campo eléctrico de 228 V/m para el cual la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado es completamente positiva.

El transitorio de la birrefringencia eléctrica después de invertir el campo presenta un mínimo Δn_{\min} tal que el cociente $[\Delta n_{\min} / \Delta n_e]$, donde Δn_e representa la birrefringencia en el estado estacionario antes de invertir el campo eléctrico, vale 0,5 con un error del 10 % para una concentración en ADN de 37.5 mg/dl.

El tiempo transcurrido entre el momento de invertir el campo eléctrico y el instante en que la birrefringencia toma su valor mínimo es de 230 μs para la misma concentración de ADN mencionada arriba (error del 10%).

XII.9 Refractometría diferencial de soluciones de ADN sonificado

En la Fig. XII.17 se exhibe la gráfica de calibración del refractómetro diferencial descrito en la sección (XI), que relaciona los incrementos de índice de refracción con los desplazamientos $\delta n = K \cdot \Delta d$. Esta calibración se realizó con soluciones de sacarosa a $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ para las cuales: $(\delta n/c) = 0,1436 \text{ ml/g}$. El valor de la constante K obtenido de la gráfica es de $2,333 \times 10^{-6}$ (1/división).

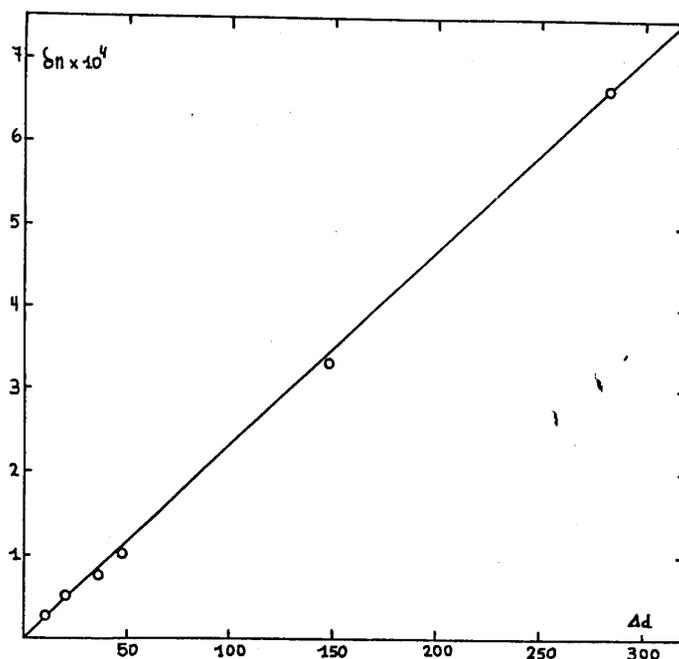


Figura XII.17

En la tabla 2 se indican los valores de δn obtenidos para soluciones de ADN sonificado con distintas concentraciones. Las mismas son acuosas con NaCl 1 mM y pH 6,5.

Tabla 2

Concentración de ADN (mg/dl)	$\delta n \times 10^4$
94	2,33
70,5	1,89
47	1,28
23	0,68

En la Fig. XII.18 se representan los valores del incremento de índices de refracción con respecto al solvente, por unidad de concentración, en función de la concentración para las soluciones mencionadas arriba. De esta gráfica se obtie-

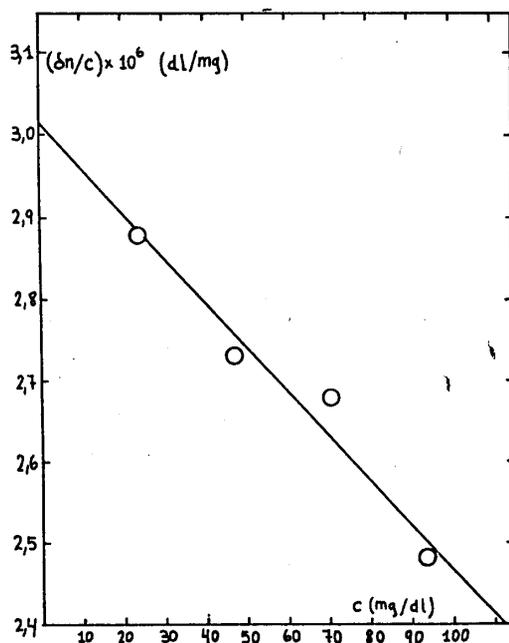


Figura XII.18

ne el valor de $(\delta n/c)$ extrapolando a concentración nula :
 $(\delta n/c)=3,0 \times 10^{-8}$ dl/mg. Temperatura de la experiencia:
 $20^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

XII.10 Determinación de los coeficientes de sedimentación de muestras de ADN sonicado

La tabla 3 muestra cuatro experiencias de sedimentación realizadas con soluciones de ADN sonicado y las condiciones experimentales en las que se desarrollaron. En la última columna se indican los valores obtenidos para el coeficiente de sedimentación S en cada caso. Se observa una dependencia de S con la concentración (comparar experiencias 1 y 2) y un efecto de carga (comparar las experiencias 1 con la 3 y la 2 con la 4) presente en estas muestras. Esta variación de S con la concentración es el producto de las interacciones de las moléculas cargadas de ADN y es un fenómeno ya conocido.

Nº de experiencia	Condiciones Experimentales	Velocidad angular del rotor (rpm)		Tiempo de llegada a velocidad (s)	Tiempo primera foto (s)	Foto siguiente cada (minutos)	S (Svedberg)
1	c _{ADN} =53,5mg/dl en NaCl 1mM, PH 6,5	60.000	70	507	964	16	4,12
2	c _{ADN} =107mg/dl en NaCl 1mM, PH 6,5	60.000	70	520	1103	16	3,6
3	c _{ADN} =70mg/dl en NaCl 0,1 M, PH 6,5	60.000	60	540	956	16	6,18
4	c _{ADN} =96,3mg/dl en NaCl 1mM+MgCl ₂ 1mM	60.000	70	521	944	16	4,72

Tabla 3

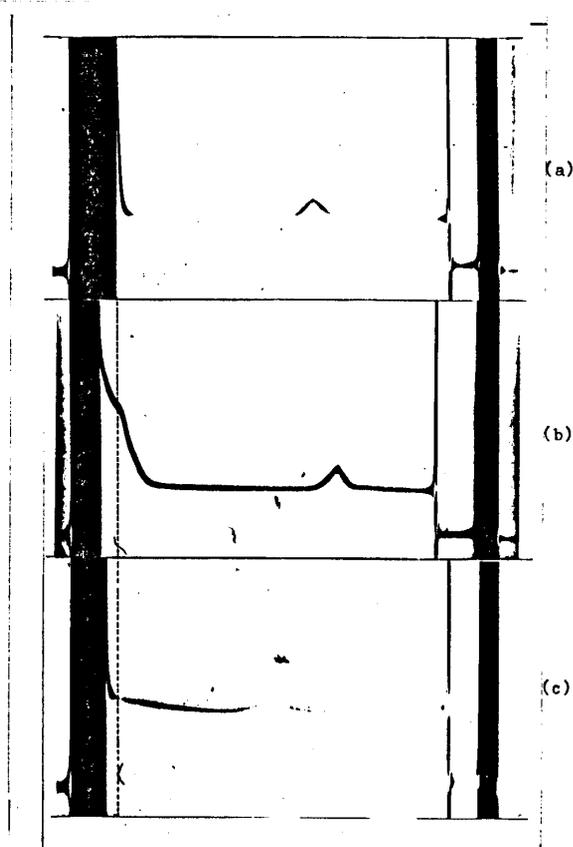


Figura XII.19

Pero estas interacciones se ponen de manifiesto además en la manera que tienen las moléculas de acumularse en el fondo de la celda. En la Fig. XII.19 se muestran los perfiles de sedimentación de las experiencias 2, 3 y 4 después de transcurridos 80 minutos de centrifugación. En dicha figura se observa que el espesor de la capa de moléculas que se acumula en el fondo de la celda disminuye al aumentar la concentración del electrolito adicionado.

La sedimentación completa de la solución indicada en la experiencia N° 1, con una concentración en ADN de 53,5 mg/dl, muestra que el volumen ocupado por todas las moléculas de ADN en el fondo de la celda es la décima parte del volumen total de la solución en la celda. Esto significa que la interacción (repulsión) de las moléculas evitan su acercamiento (volumen excluido) produciendo, en el fondo de la celda de la ultracentrífuga, una solución bastante diluida de 535 mg/dl.

XII.11 Turbiedad de las soluciones de ADN sonicado

Las soluciones concentradas de ADN sonicado con NaCl 1mM presentan una turbiedad apreciable que desaparece con el aumento de la fuerza iónica del medio.

La absorbancia medida con luz de longitud de onda de 550 nm en celdas de 1 cm de espesor es del orden de 0,1 para soluciones de ADN sonicado con una concentración de 100 mg/dl. Esta absorbancia se anula (no es medible con el espectrofotómetro) aumentando la fuerza iónica de las soluciones, por ejemplo, agregando MgCl₂, 1mM.

PARTE CUARTA

DESARROLLOS TEORICOS Y CALCULOS

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

o

XIII CALCULOS Y DISCUSION

XIII.1. Introducción.

En la búsqueda de la interpretación de la inversión del signo de la birrefringencia eléctrica de soluciones de ADN sonificado, descrita en la INTRODUCCION, comenzamos este trabajo analizando la teoría de la birrefringencia eléctrica de soluciones diluidas (secciones I.1 hasta I.6). La teoría de HOLCOMB y TINOCO ⁽⁸⁾ desarrollada en las secciones I.1 a I.4 muestran que eligiendo adecuadamente los parámetros eléctricos y ópticos de las moléculas se pueden obtener curvas de birrefringencia eléctrica vs el campo eléctrico que muestran una inversión en su signo (Figura I.8, sección I.6.1).

Los curvas de la birrefringencia eléctrica en función del tiempo, después de suprimir el campo eléctrico, de soluciones de ADN sonificado tienen un comportamiento no exponencial e incluso presentan una inversión de signo para campos eléctricos pequeños (Figs. 2 y 3 de la INTRODUCCION).

H. ASAI y N. WATANABE ⁽⁹⁾ al interpretar los transitorios que ocurren en soluciones de VMT (Fig. 8 de la INTRODUCCION) similares a los que ocurren en soluciones de ADN, afirman que la teoría de la birrefringencia dinámica para soluciones diluidas y monodispersas predice que la curva de decaimiento después de suprimir el campo eléctrico debe ser exponencial. Pero la teoría a la que se refieren dichos autores es la desarrollada para partículas con simetría cilíndrica para sus propiedades hidrodinámicas, eléctricas y ópticas ⁽¹⁰⁾. Nosotros en la sección I.6.1 completamos la teoría de DON RIDGEWAY ⁽¹⁵⁾ con el fin de calcular el decaimiento de la birrefringencia eléctrica de moléculas que posean características físicas representables por el modelo de HOLCOMB y TINOCO ⁽⁸⁾. El resultado de este cálculo muestra que, si la polarizabilidad óptica de las moléculas no posee simetría cilíndrica, cuando existe una inversión

del signo de la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario al aumentar el campo eléctrico, también se observan una inversión de signo en los transitorios de la birrefringencia que siguen a la supresión de dicho campo (Fig. I.9). Las formas de los transitorios (al suprimir el campo) de la birrefringencia eléctrica mostradas en las Figs.3(a-f) y 8 de la INTRODUCCION para el ADN y VMT (clase común) respectivamente pueden explicarse mediante esta teoría del decaimiento de la birrefringencia eléctrica, eligiendo adecuadamente las propiedades eléctricas, ópticas e hidrodinámicas de las moléculas. Sin embargo se hace difícil emplear esta teoría para explicar todas las características de la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado. Uno de los motivos fundamentales es la gran dependencia de la magnitud de la birrefringencia eléctrica positiva (anómala) con la concentración de las soluciones de ADN sonificado que revela que se está ante un sistema con partículas interactuantes.

Como se dijo en la INTRODUCCION de este trabajo, en la ref.(6) se establece que la explicación más probable de las características particulares de la birrefringencia eléctrica del ADN sonificado, es la que invoca la existencia de agregados de estas moléculas.

La turbiedad apreciable de las soluciones de ADN sonificado y la desaparición de la birrefringencia positiva cuando estas se filtran previamente en gel de agarosa, son experiencias que refuerzan esta idea (secciones XII.10 y XII.5).

En esta Parte se analizan primero las características electroópticas del macroion ADN sonificado empleando los resultados experimentales descriptos en la Parte Tercera. Se calcula la energía de interacción entre dos macroiones con las características del ADN sonificado y se prueba la factibilidad de formación de agregados de los mismos.

Posteriormente se propone un modelo de agregado de macroiones cilíndricos y se realizan los cálculos necesarios para establecer la siguiente característica del mismo:

-Su tamaño.

- Las polarizabilidades eléctrica y óptica.
- El tiempo de relajación de un momento dipolar inducido lento.

Luego se efectúa el ajuste entre los parámetros experimentales y los calculados mediante ese modelo.

XIII.2. Características del macroion ADN sonicado

XIII.2.1. Determinación de la longitud del macroion

El tiempo de relajación medio para el ADN sonicado, determinado en la forma descripta en la sección IX.4, es de $13,2 \mu\text{s}$ para el rango de concentración $18,4 \text{ mg/dl}$ - $55,5 \text{ mg/dl}$ y medido con un campo eléctrico de 14 KV/cm (sección XII.7).

Suponiendo que el ADN tiene la forma de un elipsoide de revolución prolado, su tiempo de relajación está dado por la ecuación (I.80) y vale $\tau_1 = 1/(6\theta_{11})$. Empleando la ecuación (I.62) se expresa el término C_{11} del tensor de fricción rotacional (correspondiente al giro entorno al eje 1, perpendicular al de simetría del esferoide) en función del tiempo de relajación de la siguiente manera:

$$C_{11} = 6KT\tau_1 = 3,203 \times 10^{-18} \text{ gcm}^2/\text{s} \quad (\text{XIII.1})$$

Para que el término C_{11} tome este valor, un esferoide prolado con semiejes $a_1=a_2=6 \text{ \AA}$, adecuado para el ADN, debe tener una longitud $2a_3 = 1130 \text{ \AA}$ de acuerdo con las expresiones I.54 y I.56 para los términos C_{11} .

XIII.2.2 Determinación de la anisotropía de la polarizabilidad óptica del ADN sonicado

La ecuación V.5 relaciona a la anisotropía de la polarizabilidad óptica ($\alpha^{\circ 33} - \alpha^{\circ 11}$) con birrefringencia eléctrica de saturación Δn_s .

$$\Delta n_s = (2\pi c_1/n)(\alpha_{\circ 33} - \alpha_{\circ 11}) \quad (\text{V.5})$$

donde n es el índice de refracción de la solución sin orientación preferencial de sus moléculas (aproximadamente el índice de refracción del agua para soluciones diluidas) y c_1 es el número de macroiones por cm^3 que se relaciona con la concentración c , expresado en mg/dl , de la siguiente manera

$$c_1 = N_A \cdot c \cdot 10^{-5} / (\text{PM}) \quad (\text{XIII.2})$$

aquí (PM) es el peso molecular expresado en Dalton que en función de la longitud L (\AA) de la macromolécula vale $180L$ (ver sección II).

Además de la Fig. XII.8 se obtiene

$$\Delta n_s = -5,8 \cdot 10^{-7} \cdot c \quad (\text{para } c \text{ pequeña}) \quad (\text{XIII.3})$$

Las tres expresiones (V.5), (XIII.2) y (XIII.3) permiten calcular

$$(\alpha_{\circ 33} - \alpha_{\circ 11}) = -4,146 \times 10^{-21} \text{ cm}^3 \quad (L=1130 \text{ \AA}) \quad (\text{XIII.4})$$

XIII.2.3. Determinación de los términos $\alpha_{\circ 11}$ y $\alpha_{\circ 33}$ del tensor de polarizabilidad óptica

De la Fig. XII.18 correspondiente a las experiencias de refractometría diferencial se obtiene para el incremento de índices de refracción $\delta n = n - n_1$ el siguiente valor

$$\delta n = 3,0 \times 10^{-8} c \quad (\text{XIII.5})$$

con c medido en mg/dl .

Además en la ecuación V.8 de la Parte Primera se vió la relación entre δn y los términos $\alpha_{\circ 33}$ y $\alpha_{\circ 11}$

$$\delta n = (2\pi c_1/n_1)[(\alpha_{\circ 33} + 2\alpha_{\circ 11})/3] \quad (\text{V.8})$$

Empleando las expresiones (XIII.5), (V.8) y (XIII.4) se obtienen los siguientes valores para los términos principales del tensor polarizabilidad óptica

$$\begin{aligned}\alpha_{e11} &= 2,283 \times 10^{-20} \text{ cm}^3 \\ \alpha_{e33} &= 1,8685 \times 10^{-20} \text{ cm}^3 \quad (\text{longitud } L=1130 \text{ \AA}) \quad (\text{XIII.6})\end{aligned}$$

XIII.2.4 Anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del ADN sonificado-Determinación experimental

La Fig. XII.14 a se emplea para obtener la constante de Kerr, K_{Kerr} , de una solución de ADN sonificado "cromatografiado", con una concentración de 38 mg/dl, en la que se verifica la ley de Kerr.

$$\Delta n = K_{\text{Kerr}} E^2 \quad (\text{I.25})$$

El valor de la constante resulta:

$$K_{\text{Kerr}} = 0,529 \times 10^{-7} (\text{stat volt/cm})^{-2} \quad (\text{XIII.7})$$

Además las ecuaciones (I.39) y (I.35) permiten escribir a constante de Kerr en función de Δn_s y $(\alpha^{E_{33}} - \alpha^{E_{11}})$

$$K_{\text{Kerr}} = \Delta n_s (\alpha^{E_{33}} - \alpha^{E_{11}}) / (15KT) \quad (\text{XIII.8})$$

Reemplazando en la ecuación (XIII.8) la expresión (XIII.3) para Δn_s con $c=38$ mg/dl y el valor de K_{Kerr} dado en la ecuación (XIII.7) se encuentra

$$(\alpha^{E_{33}} - \alpha^{E_{11}}) = 1,455 \times 10^{-15} \text{ cm}^3 \quad (\text{XIII.9})$$

XIII.2.5. Cálculo del número de contraiones ligados, N_a

Se emplea el modelo de dos fases para determinar la distribución de contraiones en un macroion cilíndrico (sección

III.5). Se aplica el método de iteraciones a la ec. (III.34) para obtener el grado de disociación $\xi = (N - N_B)/N$. Con ese fin se dispone (III.34) de la siguiente manera:

$$\xi = \{1/[Q \ln(1/f)]\} \{ \ln[(1-\xi)/(\xi + j/f)] - \ln[f/(1-f)] \} \quad (\text{XIII.10})$$

donde Q es el parámetro ya definido en la sección III.4.

$$Q = [e^2/(\epsilon_1 K T)](N/L) \quad (\text{XIII.11})$$

La densidad lineal numérica de cargas fijas del ADN se toma

$$N/L = 1/(1,7 \times 10^{-8}) \quad (\text{ver sección II})$$

$$j/f = c_0/(N c_1) \quad f = b^2/R^2 \quad (\text{XIII.12})$$

con $c_0 = N_A c_s / 1000$ (N_A : número de Avogadro)

c_1 es el número de macroiones por cm^3 (ec. XIII.2).

El valor del radio R del volumen libre cilindrico se encuentra empleando la relación

$$\pi R^2 L = 1/c_1 \quad (\text{XIII.17})$$

b se toma igual a 17 \AA , dado que MANNING G. S. (40) predice que los contraiones ligados ocupan una región que se extiende radialmente de la superficie de la molécula de ADN (radio 10 \AA) una distancia de 7 \AA .

Los valores de los otros parámetros del sistema son los siguientes:

- longitud molecular, $L = 1130 \text{ \AA}$
- temperatura del sistema, $T = 293 \text{ }^\circ\text{K}$
- concentración de NaCl, $c_s = 1 \text{ mM}$
- concentración de ADN, $c = 38 \text{ mg/dl}$

Se encuentran los siguientes valores para el número de cargas fijas N, el número de contraiones ligados N_B y el grado de disociación :

$N = 662$, $N_B = 508$ y $\xi = 0,23$.

Con este valor de N_B la densidad lineal de carga ligada resulta:

$$eV_B = (N_B/L)e = 0,0216 \text{ esu/cm} \quad (\text{XIII.13})$$

XIII.2.6. Cálculo de la anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del ADN sonicado

Se emplea la ecuación IV.20 obtenida por Oosawa

$$\alpha_x = [e^2 L^2 N_B / (12KT)] \{1 + [2N_B e^2 / (\epsilon_1 KTL)] \ln(R/b)\}^{-1} \quad (\text{IV.20})$$

con el valor de N_B calculado en la sección XIII.2.5. Se encuentra el siguiente valor de la anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del ADN sonicado

$$(\alpha^{E_{33}} - \alpha^{E_{11}}) = 1,36 \times 10^{-15} \text{ cm}^3 \quad (\text{XIII.14})$$

XIII.2.7. Cálculo de la densidad lineal de carga equivalente

Se calcula la densidad lineal de carga equivalente, eV_e , donde e es la carga del electron y V_e es la densidad numérica lineal de carga equivalente (ec. III.28), correspondiente a un macroion de ADN en una solución de NaCl 1mM definida con la ecuación (III.28)

$$V_e = \{ \epsilon_1 KT / [2e^2 \chi(x_0, y_0)] \} [y_0 / K_0(x_0)] \quad (\text{III.28})$$

Se encuentra primero $y_0^{(DH)}$ mediante la ecuación (III.25) con $N/L = 1/(1,7\text{\AA})$, $\kappa = 1038763 \text{ cm}^{-1}$ (correspondiente a una concentración de NaCl 1mM y $T=293 \text{ }^\circ\text{K}$) y $x_0 = \kappa a = 0,1246 = 1/8$, resultando

$$y_0^{(DH)} = 18,94 \quad (\text{XIII.15})$$

Se calcula luego y_0 empleando la ecuación (III.26) y la tabla I de la referencia (37) para extraer el factor de co-

corrección $\beta(x_0, y_0)$. Se obtienen los valores siguientes

$$\beta(x_0, y_0) = 2,38 \qquad y_0 = 7,92 \qquad (\text{XIII.16})$$

Con este valor de y_0 se encuentra el factor de corrección de la fórmula (III.28) mediante la tabla III de la referencia (37) que resulta $\gamma(x_0, y_0) = 1,49$. El valor de eV_0 es el siguiente:

$$eV_0 = -8,100 \times 10^{-3} \text{ esu/cm} \qquad (\text{XIII.17})$$

XIII.3. Energía de interacción entre dos macroiones en una solución de electrolito simple

XIII.3.1. Introducción

Analizamos aquí el balance entre las energías repulsiva y atractivas entre dos macroiones tipo varilla en una solución de electrolito. La energía repulsiva es la correspondiente a la interacción entre grupos cargados de los macroiones, apantallada por la atmósfera iónica del sistema, y las energías atractivas son la de van der Waals y la debida a la correlación de las fluctuaciones de cargas de ambos macroiones.

En la sección VI describimos algunos tratamientos, realizados por otros autores, referidos a la interacción entre coloides o macroiones. Elegimos en especial aquellos coloides tipo placa o tipo varilla debido a que, como se explicó en la INTRODUCCION de este trabajo, son la clase de partículas que presentan una inversión en el signo de su birrefringencia eléctrica. El análisis de VERWEY y OVERBEEK (35) sobre coloides tipo placa considera la energía de repulsión electrostática, con el apantallamiento de los pequeños iones del electrolito presente, y la energía atractiva de van der Waals. Suponen que el espesor de las placas es mucho mayor que la distancia que las separa. En estas condiciones se observa que para que exista un mínimo (del orden de algunas

unidades de KT) en la curva de la energía potencial total (V_R+V_A) vs. distancia la densidad superficial de carga debe ser pequeña o la concentración del electrolito grande ($>0.01M$). El análisis realizado por ELLIOTT ⁽⁵⁰⁾ de la energía potencial total de la interacción de cilindros se basa en el trabajo de VERWEY y OVERBEEK ⁽³⁵⁾ y presenta por lo tanto las mismas limitaciones respecto de la densidad de carga y la fuerza iónica del medio electrolítico circundante.

Estas características experimentales hacen que los trabajos mencionados resulten inadecuados para explicar la formación de agregados en soluciones coloidales como las presentadas en la INTRODUCCION (bentonita ⁽⁷⁾, TMV ⁽⁸⁾, ADN ⁽⁹⁾) y consecuentemente la inversión del signo de la birrefringencia eléctrica observadas en las mismas. Todos esos sistemas están compuestos por partículas con alta densidad de carga en soluciones de electrolito de baja concentración ($c_e=1mM$). En esas condiciones se hace imposible explicar la existencia de energías de interacción negativas, necesarias para la formación de agregados entre las moléculas, con la única consideración de fuerzas repulsivas entre cargas (con apantallamiento iónico) y atractivas de van der Waals.

Tenemos evidencias experimentales que indican que el volumen excluido de los macroiones de ADN es el correspondiente a cilindros de 133 \AA de radio cuando la concentración de NaCl presente es de $1mM$. Esto surge de las experiencias de sedimentación descritas en la sección XII.10. Los macroiones de ADN se acumulan en el fondo de la celda de ultracentrífuga después de la sedimentación completa produciendo una capa con una concentración promedio de 535 mg/dl . Este valor de concentración corresponde a cilindros duros de 133 \AA de radio como se obtiene empleando las ecuaciones (III.17) y (XIII.2). A estas distancias la energía de interacción de van der Waals para las moléculas cilíndricas de ADN de 10 \AA de radio, ec.(VI.30), se hace despreciable frente a la energía de interacción coulombiana de los cilindros en solución con un electrolito, ec. (VI.18).

Como se vió en la sección VI.4 la energía de interacción electrostática de dos varillas cargadas paralelas (de longitud infinita y radio a) en un medio iónico y separados una distancia X , se calcula como el producto de la carga lineal equivalente (ec. III.28) de una de ellas por el potencial que sobre la misma ejerce la otra varilla (ec. III.29). La densidad de carga equivalente se define de manera que la curva potencial-distancia de cada varilla no perturbada coincida en la región de potenciales pequeños con la solución de la ecuación de Poisson-Boltzmann linealizada.

Para el cálculo posterior de la energía de interacción entre macroiones lineales conviene agregar que el potencial eléctrico que se obtiene mediante la ecuación de Poisson-Boltzmann linealizada coincide con el calculado mediante la superposición de los potenciales coulombianos apantallados (Debye-Hückel) de segmentos infinitesimales de longitud dx , esto es

$$\begin{aligned}\phi(r) &= (e\gamma_0/\epsilon_1) \int_{-\infty}^{\infty} \{\exp[-(X^2+x^2)^{1/2}]/(X^2+x^2)^{1/2}\} dx = \\ &= (2e\gamma_0/\epsilon_1) K_0(\kappa r)\end{aligned}\quad (\text{XIII.18})$$

Si la varilla no es infinita con este último método el cálculo numérico es fácilmente aplicable por la posibilidad de integrar sobre la extensión finita de la varilla.

Un tratamiento alternativo de la interacción eléctrica entre los macroiones, descrito en la sección III.4, es el que considera el fenómeno de condensación de contraiones sobre los mismos^(39 y 40). Los contraiones forman una fase ligada a cada macroion que neutraliza parcialmente a los grupos cargados, produciendo cadenas cuyas interacciones con los pequeños iones pueden tratarse mediante la aproximación de Debye-Hückel (ecuación de Poisson-Boltzmann linealizada). La distribución entre iones ligados al macroion y iones libres al mismo se puede determinar aproximadamente con el modelo de dos fases descrito en la sección III.5.

Para calcular la energía de interacción entre dos

macroiones suponemos que los grupos cargados de cada macroion mas los iones ligados (condensados) estan sobre una linea con una densidad lineal de carga residual $\gamma^* = \gamma - \gamma_B$. La energia de interacción entre dos varillas paralelas separadas por una distancia X y con densidades de carga $e\gamma^*$ se calcula tambien mediante el producto del potencial eléctrico de una de ellas sobre la otra multiplicada por la densidad lineal de carga de esta última.

Como se observa comparando los resultados de las secciones XIII.2.5 y XIII.2.7, las densidades de carga $e\gamma^*$ y $e\gamma_e$ son aproximadamente iguales sobre todo para concentraciones de electrolito pequeñas ($\gamma^* - \gamma_e / \gamma_e = 0,2$). Esta observación permite considerar a los dos métodos descriptos arriba para calcular la energia de interacción de macroiones como equivalentes. Hay que destacar que las aproximaciones para calcular la energia de interacción entre macroiones descriptas arriba tienen validez si la distancia entre las superficies mas próxima de los macroiones es mayor que la longitud de Debye del medio, $1/\kappa$ (52). Además esos tratamientos son aplicables a los casos donde intervienen cargas estacionarias con la atmósfera de iones circundantes en equilibrio. Sin embargo los macroiones presentan fluctuaciones de cargas originadas por las fluctuaciones térmicas de la concentración de contraiones ligados, o por las fluctuaciones en número y configuración de contraiones ligados a los grupos cargados de las macromoléculas. Cuando dos macroiones se aproximan se produce una correlación entre sus fluctuaciones de cargas que origina una fuerza atractiva (53), (54).

En la sección VI.6. describimos el trabajo de F. OOSAWA (53) que calcula la energia de interacción debida a la correlación de la fluctuación de concentración de contraiones ligados en dos macroiones tipo varilla paralelos. Si se compara la energia atractiva (F') obtenida por OOSAWA, dada por la ec. (VI.40), con la energia repulsiva ($W(X)$) entre las mismos macroiones segun la relación (VI.18) de BRENNER Y PARSEGHIAN (51) se observa que la primera es despreciable

frente a la segunda.

Un análisis del cálculo realizado por OOSAWA ⁽⁵³⁾ de la energía atractiva de dos macroiones tipo varilla revela que su fundamento es esencialmente el mismo que el de un trabajo anterior de KIRKWOOD y SHUMAKER ⁽⁵⁴⁾ en el cuál calculan la energía de interacción eléctrica entre dos proteínas, en su punto isoionico, debida a la correlación de la fluctuación de la carga de sus grupos básicos. La expresión para la energía $W^{(11)}(R)$ de KIRKWOOD y SHUMAKER dada en las ecs. (VI.37) es equivalente a la integral sobre las dos varillas de la ec (VI.39) de OOSAWA. Lamentablemente la expresión para la energía $W(R)=W_{11}(R)$ es válidas para partículas sin carga neta, como ocurre con las proteínas en su punto isoiónico pero no para macroiones que, a pesar de tener contraiones condensados, poseen una carga residual apreciable (ver secciones III.4 y III.5). Esto hace que los términos $W^{(10)}(R)$ y $W^{(01)}(R)$, ecs. (VI.37), de la energía $W(R)$, ec.(VI.36), no se anulen y representan una contribución importante para la energía atractiva. OOSAWA además de no tener en cuenta estos términos, tampoco considera el apantallamiento de la energía debido a contraiones no ligados. En cambio KIRKWOOD y SHUMAKER consideran el apantallamiento iónico agregando un factor de Debye-Hückel al término $W^{(11)}(R)$ de la energía originada en la fluctuaciones de carga. Sin embargo en ese factor no tienen en cuenta la influencia de la frecuencia de oscilación o fluctuación de las cargas de macroiones en el apantallamiento de las fuerzas entre ellas producido por los iones del electrolito. Este hecho fué analizado recientemente J. R. Grigera y otros⁽⁵⁵⁾. Consideraron la frecuencia crítica de Maxwell $\nu_c = \sigma/\epsilon$ donde σ y ϵ son la conductividad y la constante dieléctrica del medio respectivamente. Si las cargas estan a una distancia r mucho mayor que λ^{-1} , para frecuencias mucho mayores que la crítica la solución ionica se comporta como un dieléctrico puro y la fuerza entre las cargas se determina mediante la ecuación de Coulomb, mientras que para frecuencia cero el

medio iónico se comporta como un conductor y las fuerza entre las cargas se anula. En general el factor de apantallamiento de las fuerzas coulombianas resulta ser para distancias entre las cargas mucho mayores que κ^{-1}

$$f(\gamma) = \left\{ \frac{\epsilon^2}{\epsilon^2 + (\kappa/\gamma)^2} \right\} \quad (\text{XIII.19})$$

donde γ es la frecuencia de fluctuación de las cargas. Este comportamiento fué verificado experimentalmente en ese trabajo⁽⁶⁶⁾.

Para realizar el cálculo de la energía de interacción entre macroiones se necesita conocer el factor de apantallamiento de la energía entre dos cargas fluctuantes, en presencia de un electrolito, sin la restricción de que la distancia entre ellas sea mucho mayor que κ^{-1} . Esto significa que hay que calcular el potencial eléctrico, a cualquier distancia r , de una carga fluctuante en función de la frecuencia de oscilación de la misma y de la concentración del electrolito presente.

En el APENDICE se encuentra la expresión analítica de la energía entre dos cargas con una variación armónica con el tiempo. El cálculo realizado es válido para cargas débiles separadas una distancia r arbitraria. El modelo empleado es el siguiente:

Se suponen dos cargas puntuales, una de ellas $q_1 = q_{1e} + q_{1o} \cos(\omega t)$ ubicada en el origen de coordenadas y la otra a una distancia r , $q_2 = q_{2e} + q_{2o} \cos(\omega t + \delta)$. En estas expresiones q_{1e} y q_{2e} representan las componentes estacionarias de las cargas, $\omega = 2\pi\gamma$ la frecuencia angular de las componentes fluctuantes de las mismas y δ una diferencia de fase. Ambas cargas están en el seno de una solución de electrolito simple tal que a distancias grandes de ellas es homogénea con una densidad numérica promedio de cationes y aniones igual a ρ_0 . Se supone que tanto las componentes estacionaria como la fluctuante de las cargas son suficientemente pequeñas. Esto se hace para posibilitar la aplicación de la aproximación de Debye Hückel en la determinación de las

distribuciones iónicas y de potencial eléctrico originadas por las cargas estacionarias y además para poder considerar al efecto inducido por las cargas fluctuantes como variaciones de las distribuciones iónicas con respecto a las densidades de equilibrio.

La energía de interacción entre las cargas q_1 y q_2 es el valor medio temporal del producto del potencial eléctrico, $\phi(r)$ de la carga q_1 en q_2 por la carga q_2 . Este potencial eléctrico $\phi(r)$ se obtiene como la suma del potencial eléctrico estacionario, ϕ_0 , producido por la carga q_{10} mas el potencial eléctrico, $\delta\phi$ de la carga fluctuante $q_{10}\cos(\omega t)$.

$$\phi(r) = \phi_0 + \delta\phi \quad (\text{XIII.20})$$

El primero es el típico resultado de Debye-Hückel

$$\phi_0 = (q_{10}/\epsilon_{1r})P_0 \quad (\text{XIII.21})$$

$$P_0 = \{\exp[-\kappa(r-a)]/(\kappa a+1)\} \quad (\text{XIII.22})$$

donde P_0 es un factor que determina el apantallamiento del potencial de la carga q_{10} debido a los iones. Mientras que el segundo se encuentra aquí suponiendo que la parte fluctuante de la carga q_1 es compleja, esto es, $q_{10} \exp(i\omega t)$ y aplicando las ecuaciones de continuidad del flujo de iones y la ecuación de Poisson del sistema. La parte real del potencial eléctrico así calculado resulta (ver APENDICE):

$$R\{\phi\} = (q_{10}/\epsilon_{1r})[V_1(r)\cos\omega t + V_2(r)\sin\omega t] \quad (\text{XIII.23})$$

donde $V_1 = 1-X+X(PL-QM)-Y(PM+QL) \quad (\text{XIII.24})$

y $V_2 = -Y+Y(PL-QM)+X(PM+QL) \quad (\text{XIII.25})$

$$X = [1+(\sqrt{\nu/\nu_0})^2]^{-1} \quad (\text{XIII.26})$$

$$Y = (\sqrt{\nu/\nu_0})[1+(\sqrt{\nu/\nu_0})^2]^{-1} \quad (\text{XIII.27})$$

$$L = \exp[-(\kappa^+)(r-a)] \cos[(\kappa^-)(r-a)] \quad (\text{XIII.28})$$

$$M = \exp[-(\kappa^+)(r-a)] \text{sen}[(\kappa^-)(r-a)] \quad (\text{XIII.29})$$

$$\kappa_{+-} = \{[1+(\nu/\nu_0)^2]^{1/2} \pm 1\}^{1/2} (1/2)^{1/2} \quad (\text{XIII.30})$$

Aquí ν_0 es la frecuencia crítica de Maxwell ya mencionada que puede expresarse en función de la constante de Debye-Hückel del medio y del coeficiente de difusión de traslación de los iones de la siguiente manera $\nu_0 = \kappa^2 D/2$.

$$P = [(\kappa^+)^{a+1}] / \{[(\kappa^+)^{a+1}]^2 + [(\kappa^+)^a]^2\} \quad (\text{XIII.31})$$

$$Q = [(\kappa^-)^a] / \{[(\kappa^+)^{a+1}]^2 + [(\kappa^-)^a]^2\} \quad (\text{XIII.32})$$

En la expresión de la energía de interacción se emplea la parte real del potencial eléctrico así calculado, es decir

$$\langle W_{12} \rangle = \langle [\phi_e + R\{\delta\phi\}] q_2 \rangle \quad (\text{XIII.33})$$

La energía total entre las dos cargas resulta

$$\langle W_{12} \rangle = W_e + \langle \delta W_{12} \rangle \quad (\text{XIII.34})$$

donde

$$W_e = \phi_e q_2 = (q_1 q_2 / \epsilon_1 r) [1/(\kappa a + 1)] \exp[-\kappa(r-a)] \quad (\text{XIII.35})$$

$$\langle W_{12} \rangle = (q_1 q_2 / 2\epsilon_1 r) g(r, \nu) \quad (\text{XIII.36})$$

El factor 1/2 en la expresión de Coulomb de la energía surge en éste cálculo después de tomar el valor medio, dado que las cargas alternas intervienen con su valor eficaz $q_{1,2}/(2)^{1/2}$.

$g(r, \nu)$ es el factor de apantallamiento:

$$g(r, \nu) = \{V_1 \cos \delta - V_2 \sin \delta\} \quad (\text{XIII.37})$$

Para $\delta=0$ y $r \gg \kappa^{-1}$, donde κ^{-1} es la distancia de apantallamiento de Debye, la expresión del factor de apantallamiento de la energía se escribe de la siguiente manera

$$g(r, \nu) = [1-X] = \{\epsilon^2 / [\epsilon^2 + (\sigma/\nu)^2]\} \quad (\text{XIII.38})$$

Este resultado coincide con el obtenido por GRIGERA y otros⁽⁵⁸⁾.

Para $\delta=0$ y $\nu=0$ el factor de apantallamiento de la energía de interacción dado por la ec. (XIII.37) se transforma en el siguiente

$$g(r, 0) = [1/(\kappa a + 1)] \exp[-\kappa(r-a)] \quad (\text{XIII.39})$$

que coincide con el factor de apantallamiento de la energía W_e para cargas estacionarias dado por la ec. (XIII.35). \circ

La fluctuación de carga en cada punto de un macroion puede expresarse en términos de componentes armónicas

$C(\omega) \exp(i\omega t)$. Un tratamiento completo de la fuerza entre macroiones requiere conocer las componentes de Fourier $C(\omega)$.

Si bien no conocemos esa distribución, sabemos que la frecuencia de relajación dieléctrica de soluciones de ADN sonificado, similares a las empleadas en este trabajo, es de 2MHz ⁽⁵⁹⁾. Como los contraiones ligados no pueden seguir campos alternos de frecuencias mayores que la de relajación, esto implica que la frecuencia de fluctuación de los contraiones debe ser menor que el valor arriba mencionado.

Cuando los dos macroiones están próximos, la fluctuación de contraiones se correlacionan. Las fluctuaciones que dan menor energía de interacción son más frecuentes. Cuando en una posición dada de uno de ellos ocurre una desviación positiva de la carga promedio, en un lugar del otro se produce con mayor probabilidad una desviación negativa⁽⁵³⁾. Esto significa que la diferencia de fase más probable entre las fluctuaciones de las cargas es $\delta = \pi$. Estas

consideraciones indican que es posible estimar la energía de interacción entre cargas fluctuantes de distintos macroiones considerando que la frecuencia de oscilación es menor que la frecuencia de relajación dieléctrica de los mismos y que la diferencia de fase entre las fluctuaciones es igual a π radianes.

Se emplea aquí el método aproximado para calcular la energía y la fuerza de interacción entre macroiones introducido por J. G. KIRKWOOD y J. B. SHUMAKER (54) (ver sección VI.6). Según estos autores el potencial $W(X)$ de la fuerza promedio de los dos macroiones está relacionado al potencial V de la fuerza para una configuración de contraiones determinada de la siguiente manera

$$\exp[-W(X)/KT] = \langle \exp(-V/KT) \rangle \quad (\text{XIII.40})$$

donde el promedio se toma sobre todas las configuraciones de contraiones de las dos moléculas, con funciones de distribución no correlacionadas.

XIII.3.2. Cálculo de la energía de interacción entre dos macroiones tipo varilla paralelos

Sean dos macroiones lineales paralelos de longitud L a una distancia X uno del otro ($L \ll X$). Las coordenadas x_1 y x_2 determinan posiciones sobre los ejes de cada uno de ellos a partir de extremos contiguos. La densidad numérica lineal de cargas fijas en cada macroion es $\nu_i = N_i/L$ y la densidad numérica lineal promedio de contraiones ligados $\nu_{B_i} = N_{B_i}/L$, con $i=1, 2$.

Debido a las fluctuaciones térmicas la densidad lineal de contraiones ligados se desvía del valor promedio. La densidad numérica promedio aparente de cargas de cada macroion es $\nu_i^* = \nu_i - \nu_{B_i}$. En cierto tiempo y posición, x_1 , a lo largo de cada varilla, la densidad de contraiones condensados se desvía del promedio en una cantidad $\delta\nu_{B_1}(x_1)$ y consecuentemente la densidad numérica aparente de cargas se desvía en

una cantidad

$$\delta V^*(x_1) = - \delta V_{B1}(x_1). \quad (\text{XIII.41})$$

La densidad numérica aparente de cargas en x_1 se escribe

$$V^*(x_1) = V_1^* + \delta V^*(x_1) \quad (\text{XIII.42})$$

Para calcular el potencial V de la fuerza entre dos macroiones para una configuración determinada de contraiones, es necesario integrar sobre toda la extensión de los dos macroiones la energía de interacción entre los diferenciales de carga $e V^*(x_1)dx_1$ y $e V^*(x_2)dx_2$ ubicados en macroiones distintos y a una distancia $r=[X^2+(x_1-x_2)^2]^{1/2}$. Se considera que la componente fluctuante de las cargas diferenciales tienen una variación armónica con el tiempo y se escriben

$$V^*(x_1)dx_1 = V_1^*dx_1 + V_0^*(x_1)\cos(\omega t)dx_1 \quad (\text{XIII.43})$$

$$V^*(x_2)dx_2 = V_2^*dx_2 + V_0^*(x_2)\cos(\omega t + \delta)dx_2 \quad (\text{XIII.44})$$

La energía de interacción entre los diferenciales de carga puede escribirse como el producto del potencial eléctrico de la carga $e V^*(x_1)dx_1$ en x_2 por la carga $e V^*(x_2)dx_2$. El potencial eléctrico de la carga $e V^*(x_1)dx_1$ se puede obtener empleando la ec. del potencial eléctrico de una carga $q_1=q_{1e}+q_{10}\cos(\omega t)$ sumergida en una solución de electrolito simple calculada en el APENDICE

$$\begin{aligned} \phi_{12}(r) = & (eV_1^*P_e/\epsilon_{1r})dx_1 + \\ & (e\delta V^*(x_1)/\epsilon_{1r})[V_1(r)\cos\omega t + V_2(r)\sin\omega t]dx_1 \end{aligned} \quad (\text{XIII.45})$$

El primer término representa el potencial eléctrico Coulombiano de una carga puntual estacionaria con un factor P_e que determina el apantallamiento debido a los iones del medio

$$P_e = \{ \exp[-\kappa(r-a)] / (\kappa a + 1) \} \quad (\text{XIII.46})$$

El segundo término de la ec. (XIII.45) representa el potencial eléctrico de la componente fluctuante de la carga en el punto x_1 ; en él figura el factor de apantallamiento $[V_1(r)\cos\omega t + V_2(r)\sin\omega t]$.

La energía de interacción entre los dos diferenciales de carga se escribe

$$d^2V = \phi_{12}(e \psi^*(x_2)dx_2) = F(x_1, x_2)dx_1dx_2 \quad (\text{XIII.47})$$

donde $F(x_1, x_2) = \phi_{12}e \psi^*(x_2)dx_2$ con ϕ_{12} y $\psi^*(x_2)dx_2$ dados por las ecs. (XIII.45) y (XIII.44) respectivamente.

Para calcular el potencial de la fuerza promedio $W(X)$ definimos el potencial diferencial dV de la siguiente manera

$$dV = dx_1 \int_0^L F(x_1, x_2)dx_2 \quad (\text{XIII.48})$$

Esto representa la energía potencial eléctrica entre todo el macroion 2 con el dx_1 del macroion 1.

Se reemplaza dV en la ec (XIII.40).

$$\exp[-dW/(KT)] = \langle \exp[-dV/(KT)] \rangle \quad (\text{XIII.49})$$

Se toma \ln en ambos miembros de la ec (XIII.49), y se desarrolla en serie de potencias el exponencial dado que siempre se puede hacer $dV \ll KT$ resulta

$$dW = \langle dV \rangle - (1/2KT)[\langle (dV)^2 \rangle - \langle dV \rangle^2] \quad (\text{XIII.50})$$

donde se despreciaron los términos de potencias mayores que 2 de $1/KT$.

Cálculo de $\langle dV \rangle$:

La suposición de que los promedios se toman sobre todas las configuraciones de contraiones de los dos macroiones con

funciones de distribución no correlacionadas llevan a la siguiente expresión para $\langle dV \rangle$

$$\langle dV \rangle = (e^2/\epsilon_1) V_1^* V_2^* dx_1 \int_0^L (P_e/r_{12}) dx_2 \quad (\text{XIII.51})$$

Por otro lado $\langle (dV)^2 \rangle$ se escribe

$$\begin{aligned} \langle (dV)^2 \rangle = & \langle dV \rangle^2 + (e^4/\epsilon_1^2) V_1^{*2} E_2 (dx_1)^2 + (e^4/\epsilon_1^2) V_2^* E_3 (dx_1)^2 + \\ & + (e^4/\epsilon_1^2) E_4 (dx_1)^2 \end{aligned} \quad (\text{XIII.52})$$

$$E_2 = \int_0^L \int_0^L (P_e(r)/r) (P_e(r')/r') \langle \delta V^*(x_2) \delta V^*(x_2') \rangle dx_2 dx_2' \quad (\text{XIII.53})$$

$$E_3 = \int_0^L \int_0^L \langle (\delta V^*(x_1))^2 \rangle G_1(r, r') (1/r) (1/r') dx_2 dx_2' \quad (\text{XIII.54})$$

donde $G_1(r, r') = V_1(r) V_1(r') + V_2(r) V_2(r')$ (XIII.55)

$$E_4 = \int_0^L \int_0^L \left\{ \langle [\delta V^*(x_1)]^2 \rangle \langle \delta V^*(x_2) \delta V^*(x_2') \rangle G_2(r, r') (1/r) (1/r') dx_2 dx_2' \right. \quad (\text{XIII.56})$$

$$\begin{aligned} G_2(r, r') = & V_1(r) V_1(r') [(3 \cos^2 \delta + \text{sen}^2 \delta)/2] + \\ & + V_2(r) V_2(r') [(\cos^2 \delta + 3 \text{sen}^2 \delta)/2] - \\ & [V_1(r) V_2(r') + V_2(r) V_1(r')] \cos \delta \text{sen} \delta \end{aligned} \quad (\text{XIII.57})$$

que para $\delta = \pi$ se escribe

$$G_2(r, r') = [3V_1(r) V_1(r') + V_2(r) V_2(r')]/2 \quad (\text{XIII.58})$$

donde $r = [X^2 + (x_1 - x_2)^2]^{1/2}$, $r' = [X^2 + (x_1 - x_2')^2]^{1/2}$ (XIII.59)

Los valores medios que figuran en las integrales E_2 , E_3 y E_4 de los productos de las desviaciones de la densidad numé-

rica aparente de cargas en dos puntos de un mismo macroion se pueden expresar en función de las desviaciones de contracciones ligados empleando la ec. (XIII.41). Se obtiene la siguiente relación

$$\langle \delta Y^*(x_1) \delta Y^*(x_1') \rangle = \langle \delta Y_{B1}(x_1) \delta Y_{B1}(x_1') \rangle \quad (\text{XIII.60})$$

Los valores medios del segundo miembro de la ec. (XIII.60) fueron calculados por F. Oosawa F. <43 y 42> y están dados por la expresión IV.22 con el valor de φ la ec. IV.19.⁵ La expresión que resulta finalmente para los valores medios es la siguiente

$$\langle \delta Y_{B1}(x_1) dx_1 \delta Y_{B1}(x_1') dx_1' \rangle = R_1 \delta(x_1 - x_1') dx_1 dx_1' \quad (\text{XIII.61})$$

donde $i=1,2$ y

$$R_1 = V_{B1} / [1 + (2V_{B1}e^2 / \epsilon_1 K T) \ln(X/2b)] \quad (\text{XIII.62})$$

como los dos macroiones son idénticos $V_{B1} = V_{B2} = V_B$ y $R_1 = R_2 = R$.

Reemplazando las ecs. (XIII.51) y (XIII.52), para $\langle dV \rangle$ y $\langle (dV)^2 \rangle$ respectivamente, en la ec. (XIII.50) e integrando con respecto a x_1 resulta la siguiente expresión para el potencial de la fuerza promedio $W(X)$:

$$W = (e^2 / \epsilon_1) V_1 * V_2 * I_1 + (e^4 / \epsilon_1^2) V_2 * I_3 + (e^4 / \epsilon_1^2) I_4 \quad (\text{XIII.63})$$

$$\text{donde} \quad I_1 = \int_0^L \int_0^L (1/r) P_e(x_1, x_2) dx_1 dx_2 \quad (\text{XIII.64})$$

$$I_3 = R \int_0^L \int_0^L \int_0^L G_1(r, r') (1/r) (1/r') dx_1 dx_2 dx_2' \quad (\text{XIII.65})$$

$$I_4 = R^2 \int_0^L \int_0^L G_2(r, r'=r) (1/r)^2 dx_1 dx_2 \quad (\text{XIII.66})$$

Se realiza un programa en lenguaje Basic para calcular el potencial de la fuerza promedio $W(X)$. En el mismo se calcula primero densidad lineal de contraiones ligados a los macroiones con el modelo de dos fases. Con ese fin se emplea la ecuación (XIII.10) donde en este caso $j/f = c_0 / (Nc_2)$ con $c_2 = 1 / [\pi L (H/2)^2]$.

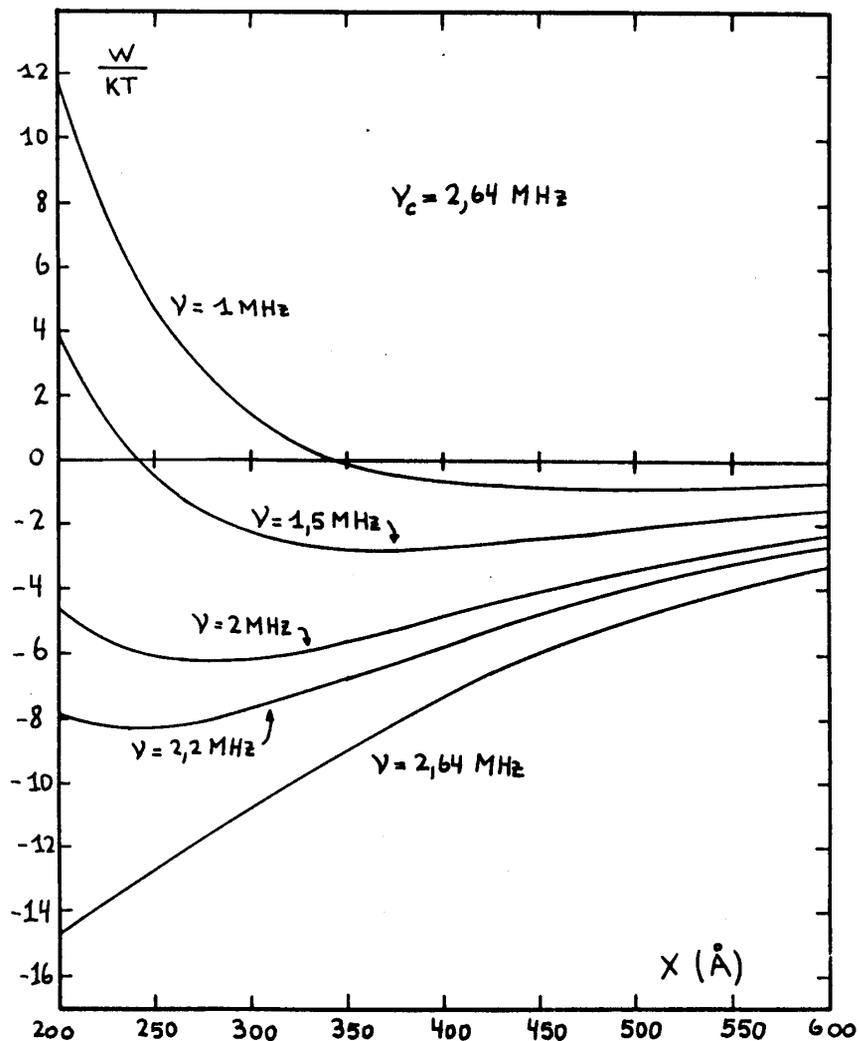


Figura XIII.1

Las integrales I_1 , I_3 y I_4 se calculan empleando el método numérico de Gauss⁽¹⁴⁾ con el grado de los polinomios de Legendre $n=20$.

La Figura XIII.1 muestra los gráficos de $W(X)/KT$ en función de X para dos macroiones lineales paralelos en una solución de electrolito con una frecuencia crítica de $V_c = 2,64$ MHz ($c_s = 1mM$) para varias frecuencias de fluctuación de contraiones ($\gamma = 1; 1,5; 2; 2,2; 2,64$ MHz). Se observa que las curvas presentan para ciertas frecuencias de fluctuación, mínimos de energía de interacción que pueden originar la formación de agregados de los macroiones.

XIII.4. Características de los agregados de ADN sonificado

XIII.4.1. Modelo de agregado.

Suponemos m macroiones tipo varilla de carga ($-Ne$), longitud L y radio a , dispuestos paralelamente unos a otros constituyendo un agregado de forma aproximadamente cilíndrica, de longitud L_a y radio A_a .

Para la determinación de sus propiedades hidrodinámicas consideramos que el agregado está contenido en un esferoide de longitud L_a y semieje transversal A_a .

El empaquetado más probable de los macroiones sería el hexagonal, como el encontrado en fases anisotrópicas de coloides cilíndricos ⁽⁷⁰⁾. A pesar de ello, para simplificar los cálculos de la polarizabilidad eléctrica de los agregados, luego consideraremos que los macroiones se disponen formando una red cuadrada.

Suponemos que el agregado está sumergido en una solución acuosa de electrolito con una concentración molar c_s (un número de cationes o aniones por cm^3 igual a c_0).

XIII.4.2. Tamaño del agregado

El tamaño del agregado se estima suponiéndolo de forma esferoidal y eligiendo adecuadamente los semiejes a_2 y a_1 ,

de simetría y transversal respectivamente, de manera ajustar las experiencias de birrefringencia eléctrica, estática y dinámica (secciones XIII.4 a XIII.7).

El tiempo de relajación de un esferoide, τ_1 , en función del semi-eje a_1 , para un a_3 dado, se calculan empleando las expresiones (I.54), (I.56) y (I.57). En la Figura XIII.2 se muestra esta dependencia para $L = 2a_3 = 600 \text{ \AA}$, longitud adecuada para ajustar las experiencias de Δn en función del campo eléctrico (sección XIII.5), los transitorios de la birrefringencia eléctrica después de invertir el campo eléctrico (sección XIII.6) y el decaimiento de la birrefringencia eléctrica (sección XIII.7) de las soluciones de ADN sonificado.

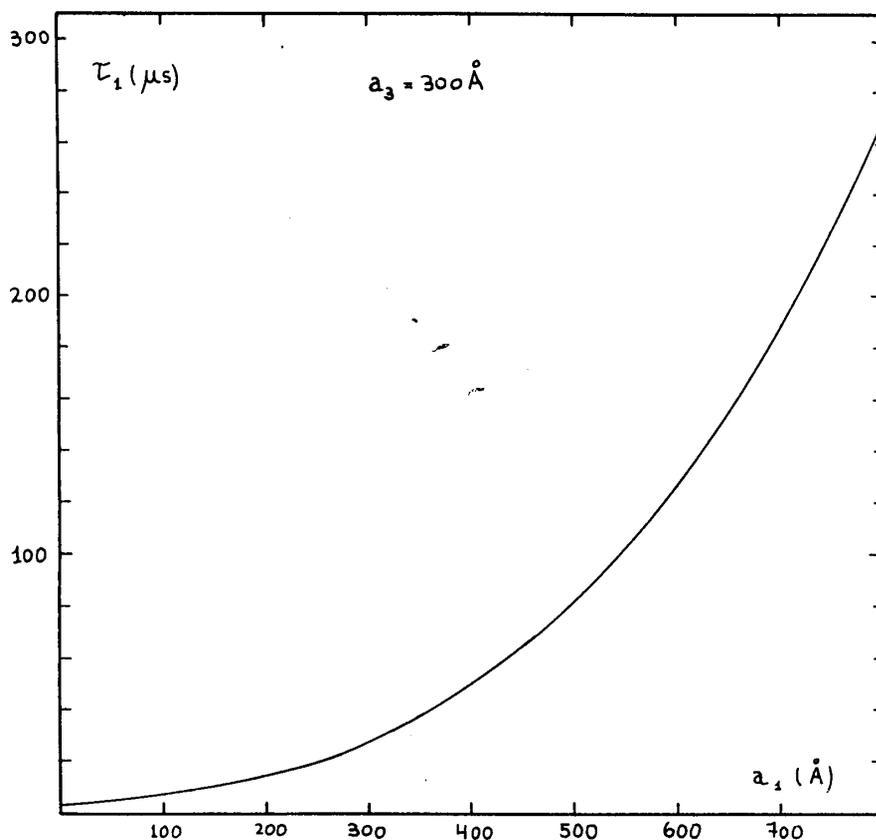


Figura XIII.2

XIII.4.3 Distribución de contraiones dentro del agregado

La distribución de contraiones dentro del agregado se encuentran también empleando el modelo de dos fases explicados en las secciones III.5 y XIII.2.5.

Se supone que los contraiones se distribuyen en dos fases: 1) libres dentro del agregado y 2) ligados a cada macroion del sistema. Para aplicar dicho modelo hay que definir los siguientes parámetros adicionales:

L_a : Longitud de los macroiones del agregado.

c_a : Concentración del ADN del agregado en mg/dl.

c_z : Número de macroiones por cm^3 en el agregado.

b_m : Radio de la fase de contraiones ligados a cada macroion del agregado.

R_a : Radio del volumen cilíndrico eléctricamente neutro del agregado.

N_B : Número de iones móviles en el volumen $v = b_m^2 L_a$ de cada macroion del agregado.

N_F : Número de contraiones no ligados correspondiente a cada macroion del agregado.

La ecuación que establece el equilibrio entre contraiones libres y ligados es la (XIII.10). Para este caso particular se verifican las siguientes relaciones:

$$j/f = c_o/(Nc_z) \quad ; \quad f = b_m^2/R_m^2 \quad (\text{XIII.67})$$

$$N_B = N(1-\xi) \quad ; \quad N_F = N - N_B \quad (\text{XIII.68})$$

donde:

$$c_o = N_A c_a / 1000 \quad (N_A: \text{número de Avogadro}) \quad (\text{XIII.69})$$

$$c_z = N_A c_a 10^{-5} / (180 L_a) \quad (\text{XIII.70})$$

b_m se toma igual a 17 \AA , dado que MANNING G. S. ⁽⁴⁰⁾ predice que los contraiones ligados ocupan una región que se extiende radialmente de la superficie de la molécula de ADN

(radio 10 \AA) una distancia de 7 \AA .

XIII.4.4. Polarizabilidad eléctrica del agregado.

Para simplificar el cálculo de la polarizabilidad eléctrica del agregado, se supone ahora que el empaquetado de los macroiones es cuadrado en lugar de hexagonal. La forma del agregado es la de un prisma de base cuadrada (longitud L_a y lados de la base A), con los macroiones paralelos a su eje. La Figura XIII.3 muestra una sección transversal del a-

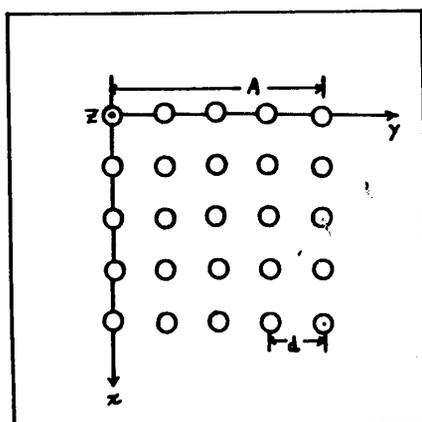


Figura XIII.3

gregado. Siendo m el número de macroiones del agregado, la distancia, d , en esa figura vale, $d=A/[m^{1/2}-1]$.

Se ubica al agregado en un sistema de ejes ortogonales xyz con el eje z paralelo a las varillas. El centro del paralelepipedo de base cuadrada, que contienen a los macroiones coincide con el origen del sistema de coordenadas.

Se realiza la suposición adicional de considerar a los contraiones ligados a cada macroion condensados en una línea (eje del macroion) y a los contraiones libres distribuidos en toda la extensión del agregado con concentración uniforme (mN_F/V_a). La distribución de ambos tipos de contraiones se determina con el modelo de dos fases.

En la sección IV.1 se vió que los términos principales

del tensor polarizabilidad eléctrica se escriben de la siguiente manera:

$$\alpha^{E_{11}} = (1/KT)\langle(\mu_1)^2\rangle_{E=0} \quad i=x,y,z \quad (IV.3)$$

donde $\langle(\mu_1)^2\rangle$ es el promedio del cuadrado de la i -ésima componente del momento momento dipolar eléctrico, originado por las fluctuaciones de concentración de contraiones para campo eléctrico cero.

Se pueden considerar tres contribuciones a este momento dipolar :

- a) La producida por la fluctuación de concentración de contraiones ligados a cada varilla (región 1).
- b) La originada por la fluctuación de concentración de los contraiones ligados al agregado pero libres de los macroiones del mismo (region 2).
- c) La debida a la fluctuación del número de contraiones ligados a cada macroion. Este último fenómeno puede ocurrir por la transferencia de contraiones entre la región del valle de potencial cilindrico de los macroiones (región 1) y la región complementaria dentro del agregado (región 2) o por transferencia de contraiones ligados de macroiones contiguos.

Se supone despreciable la correlación entre las fluctuaciones de concentración de contraiones pertenecientes a regiones diferentes.

XIII.4.4.1 Polarizabilidad eléctrica debida a la fluctuación de concentración de los contraiones libres dentro del agregado y no ligados a los macroiones del mismo.

Se calcula la polarizabilidad eléctrica de un paralelepípedo cuadrado de longitud L_a y base rectangular de lados A y B , con una concentración uniforme de contraiones $c_F = (mN_F/V_a)$. Al terminar el cálculo se hace $A=B$ para considerar al prisma de base cuadrada del modelo propuesto.

Se realiza una extensión del cálculo de la polarizabilidad eléctrica de un macroion tipo varilla, tratado en la sección IV.2.

Cuando en el diferencial de volumen dv , en r , la concentración de contraiones se desvía del promedio una cantidad $\delta_{cF}(r)$, aparece en el sistema un momento dipolar eléctrico dado por la expresión siguiente:

$$\mu = e \int_{V_a} r \delta_{cF}(r) dv \quad (\text{XIII.71})$$

y los términos principales del tensor polarizabilidad eléctrica se expresan según la ec.(IV.3) de la siguiente manera:

$$\alpha_{aa} = \langle \mu_a^2 \rangle / KT = (e^2 / KT) \int_{V_a} \int_{V_a} aa' \langle \delta_{cF}(r) \delta_{cF}(r') \rangle dv dv' \quad (\text{XIII.72})$$

donde $aa = xx, yy$ o zz . Los valores medios que figuran en la integral de la ecuación (XIII.72) se calculan conociendo la probabilidad de que ocurra una fluctuación $\delta_{cF}(r)$. Esta probabilidad es proporcional a $\exp(-\delta F / KT)$, donde δF es el exceso de energía libre debida a la fluctuación de carga en todo el sistema (42 y 43) que se expresa: $\delta F = \delta U - T \delta S$ donde δU y δS son los excesos de energía interna y entropía respectivamente, T es la temperatura absoluta, constante en el sistema, y K es la constante de Boltzmann.

Los contraiones libres, dentro del agregado, se consideran formando una solución con una concentración promedio $c_F = (mN_F / V_a)$. En este caso el exceso de entropía debido a las fluctuaciones de concentración puede escribirse aproximadamente (43 y 44):

$$T \delta S = -(KT/2) (1/c_F) \int_{V_a} (\delta_{cF}(r))^2 dv \quad (\text{XIII.73})$$

Mientras que el exceso de energía interna δU se expresa:

$$\delta U = (1/2) \int_{V_a} \int_{V_a} \delta c_F(\mathbf{r}) \delta c_F(\mathbf{r}') \Psi(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|) dv dv' \quad (\text{XIII.74})$$

donde $\Psi(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|)$ es la energía de interacción entre los contraiones en \mathbf{r} y \mathbf{r}' que se supone una función de la distancia $|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|$ solamente.

Desarrollando $\delta c_F(\mathbf{r})$ en serie de Fourier:

$$\delta c_F(\mathbf{r}) = \sum_{\mathbf{k}} c_{\mathbf{k}} \exp[i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}] \quad (\text{XIII.75})$$

donde $\mathbf{k} = (2\pi p/A, 2\pi q/B, 2\pi r/C)$ con p, q y r enteros positivos y negativos. El coeficiente de Fourier $c_{\mathbf{k}}$ se escribe:

$$c_{\mathbf{k}} = (1/V_a) \int_{V_a} \delta c_F(\mathbf{r}) \exp[-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}] dv \quad (\text{XIII.76})$$

Reemplazando la ec.(XIII.75) en (XIII.73) resulta para T δ S la siguiente expresión:

$$T\delta S = -(KT/2)(V_a/c_F) \sum_{\mathbf{k}} c_{\mathbf{k}}^2 \quad (\text{XIII.77})$$

Mientras que el desarrollo en serie de Fourier de δU se obtiene reemplazando la ec.(XIII.75) en la ec.(XIII.74). Suponiendo que las dimensiones del sistema, A, B y L_a son mucho mayores que el rango efectivo de la interacción $\Psi(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|)$ y cambiando las variables \mathbf{r} y \mathbf{r}' por \mathbf{r} y $\mathbf{d}=\mathbf{r}'-\mathbf{r}$, resulta:

$$\delta U = (V_a/2) \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} c_{\mathbf{k}} c_{\mathbf{k}'} \int_{V_a} \Psi_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} \exp[i(\mathbf{k}+\mathbf{k}') \cdot \mathbf{r}] dv \quad (\text{XIII.78})$$

donde el coeficiente de Fourier $\Psi_{\mathbf{k}\mathbf{k}'}$ vale:

$$\Psi_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} = (2/V_a) \int_{V_a} \exp(i\mathbf{k}' \cdot \mathbf{d}) \Psi(|\mathbf{d}|) dd \quad (\text{XIII.79})$$

Esta integral sobre d es independiente de la localización de dv , excepto cuando está en una región de extensión despreciable de la periferia del agregado. Con estas consideraciones se llega a la siguiente expresión para δU :

$$\delta U = (V_a^2/2) \sum_k c_k^2 \varphi_k \quad (\text{XIII.80})$$

El exceso de energía libre $\delta F = \delta U - T\delta S$ resulta:

$$\delta F = (KT/2) \sum_k c_k^2 [(\varphi_k/2KT) + 1/(mN_F)] V_a^2 \quad (\text{XIII.81})$$

La teoría de las fluctuaciones termodinámicas da el siguiente resultado para el valor medio del producto $c_k c_{k'}$:

$$\langle c_k c_{k'} \rangle = \{V_a^2 [(\varphi_k/2KT) + 1/mN_F]\}^{-1} \delta(k+k') \quad (\text{XIII.82})$$

Para un agregado suficientemente grande φ_k es independiente de k (para pequeños valores de k), y puede escribirse aproximadamente:

$$\varphi_k = (2/V_a) \int_{V_a} \varphi(|d|) dd = \varphi \quad (\text{XIII.83})$$

El valor de φ se puede obtener calculando la energía para construir la distribución de iones, con concentración uniforme $c_F = (mN_F/V_a)$, dentro del agregado. Aquí lo estimamos empleando un modelo de dos fases para un agregado cilíndrico, de longitud L_a arbitraria, para el cual resulta⁽⁴²⁾

$$\varphi = (4e^2/\epsilon_1 L_a) \ln(R_a/A_a) - (4e^2/\epsilon_1 L_a^3)(R_a^2 - A_a^2) \quad (\text{XIII.84})$$

Para un agregado suficientemente denso, solo en su periferia hay una desviación de la neutralidad. Es en esta región donde se establece la diferencia de potencial, $\delta\psi$, entre el interior y el exterior del agregado. El espesor

($1/\chi'$) de la misma se calcula segun la referencia (42) mediante la siguiente expresi3n

$$1/\chi' = [(\xi_1KT/4\pi e^2)(V_a/N_{FM})]^{1/2} \quad (\text{XIII.85})$$

De esta manera R_a se obtiene sumando ($1/\chi'$) al radio A_a del agregado

$$R_a = A_a + (1/\chi') \quad (\text{XIII.86})$$

Reemplazando el desarrollo en serie de Fourier para $\delta c_F(r)$ de la ec.(XIII.75) en la ec.(XIII.72) se obtienen las siguientes expresiones para los t3rminos principales del tensor polarizabilidad el3ctrica:

$$(\alpha^F)_{xx} = -(eAV_a/2\pi)^2 (1/KT) \sum_p \sum_{p'} [(-1)^{p+p'} \langle c_p c_{p'} \rangle / pp'] \quad (\text{XIII.87})$$

$$(\alpha^F)_{yy} = -(eBV_a/2\pi)^2 (1/KT) \sum_q \sum_{q'} [(-1)^{q+q'} \langle c_q c_{q'} \rangle / qq'] \quad (\text{XIII.88})$$

$$(\alpha^F)_{zz} = -(eL_a V_a/2\pi)^2 (1/KT) \sum_r \sum_{r'} [(-1)^{r+r'} \langle c_r c_{r'} \rangle / rr'] \quad (\text{XIII.89})$$

donde c_p indica al coeficiente $c_{(2\pi p/A, 0, 0)}$,
 c_q indica al coeficiente $c_{(0, 2\pi q/A, 0)}$ y
 c_r indica al coeficiente $c_{(0, 0, 2\pi r/A)}$.

8

Sustituyendo en las ecuaciones (XIII.87), (XIII.88) y (XIII.89) los valores medios de los productos $c_m c_{m'}$ dados en la ec.(XIII.82) y realizando las sumas, los t3rminos principales de la polarizabilidad el3ctrica resultan:

$$(\alpha^F)_{xx} = (e^2 A^2 m N_F / 12KT) G_F \quad (\text{XIII.90})$$

$$(\alpha^F)_{yy} = (e^2 B^2 m N_F / 12KT) G_F \quad (\text{XIII.91})$$

$$\langle Q^F \rangle_{zz} = (e^2 L_a^2 m N_F / 12KT) G_F \quad (\text{XIII.92})$$

donde $G_F = [1 + m N_F \psi / 2KT]^{-1}$

Estos resultados se utilizarán en la sección XIII.4.4.4.

XIII.4.4.2. Polarizabilidad eléctrica originada en la fluctuación de concentración de los contraiones ligados a cada macroion del agregado

La densidad numérica de contraiones ligados a los macroiones, en el volumen del agregado, se expresa de la siguiente manera:

$$c_B(x, y, z) = (N_B / L_a) \left[\sum_{i=0}^{m_B-1} \delta(x-d_i) \right] \left[\sum_{j=0}^{m_B-1} \delta(y-d_j) \right] \quad (\text{XIII.93})$$

Una simple generalización del cálculo realizado en la sección IV.3 para un macroion tipo varilla, permite escribir la siguiente expresión para el valor medio del producto de las desviaciones de concentración en r y r' :

$$\langle \delta c_B(r) \delta c_B(r') \rangle = G_B V_B \sum_{i=0}^{m_B-1} \delta(x-d_i) \sum_{j=0}^{m_B-1} \delta(y-d_j) \delta(z-z') \delta(x-x') \delta(y-y') \quad (\text{XIII.94})$$

donde $V_B = N_B / L_a$ y el factor G_B tiene en cuenta la interacción entre los contraiones de un mismo macroion que fue calculado en la sección IV.2.:

$$G_B = [1 + (2N_B e^2 / \epsilon_1 K T L_a) \ln(R_m / b_m)]^{-1} \quad (\text{XIII.95})$$

Los términos principales de la polarizabilidad eléctrica se encuentran reemplazando los valores medios $\langle \delta c_B(r) \delta c_B(r') \rangle$ dados en la ecuación (XIII.94) en las expresiones (XIII.72); estos resultan:

$$(\alpha^B)_{zz} = (e^2 L_a^2 m N_B / 12KT) G_B \quad (\text{XIII.96})$$

$$(\alpha^B)_{xx} = (\alpha^B)_{yy} = (e^2 A^2 m N_B / 12KT) [2(m^{1/2} - 1)^{-1} + 1] G_B \quad (\text{XIII.97})$$

Resultado que se utilizará para calcular la anisotropía de la polarizabilidad eléctrica en la sección XIII.4.4.4.

XIII.4.4.3. Polarizabilidad eléctrica del agregado originada por la fluctuación del número de contraiones ligados a cada uno de sus macroiones.

Esta contribución a la polarizabilidad puede expresarse de la siguiente manera:

$$\alpha^T_{xx} = \langle \mu_x^2 \rangle / KT = (e^2 / KT) \int_{V_a} \int_{V_a} xx' \langle \delta c_B(r) \delta c_B(r') \rangle dv dv' \quad (\text{XIII.98})$$

donde en el integrando figura el valor medio del producto de las desviaciones de concentración de contraiones debidas a los cambios en el número de contraiones ligados en cada macroion. Para calcular este valor medio es necesario conocer la energía libre del sistema. Suponiendo un sistema en "dos fases" como el descrito en la sección III.5. y empleando las ecuaciones (VI.2) y (VI.3) se obtienen las siguientes expresiones para la energía interna y entropía respectivamente:

$$U_a = -(1/2)e(N - N_B) \delta \Psi \quad (\text{XIII.99})$$

$$-TS = KTN_B \ln(N_B/v) + KT(N - N_B) \ln\{(N - N_B)/[(V/N) - v]\} \quad (\text{XIII.100})$$

La variación de la energía libre δF correspondiente a un cambio en el número de contraiones δN_B se puede escribir de la siguiente manera:

$$\delta F = (\partial^2 F / \partial N_B^2) (\delta N_B)^2 \quad (\text{XIII.101})$$

donde la derivada primera de la energía libre, $\partial F/\partial N_B$, se anula en el equilibrio. De acuerdo con la teoría de fluctuaciones termodinámicas (44), el valor cuadrático medio del la desviación δN_B del número de contraiones N_B vale:

$$\langle \delta N_B^2 \rangle = (KT/2)[1/(\partial^2 F/\partial N_B^2)] \quad (\text{XIII.102})$$

Derivando respecto de N_B la expresión de la energía libre $F=U_e-TS$ con U_e y $-TS$ dados en las ecuaciones (XIII.99) y (XIII.100) respectivamente resulta:

$$\langle \delta N_B^2 \rangle = \{(1/2)(N-N_B)/[(N/N_B)-(\delta\psi_e/KT)]\} \quad (\text{XIII.103})$$

Empleando el resultado obtenido en la ecuación (XIII.94) el valor medio $\langle \delta_{CB}(r) \delta_{CB}(r') \rangle$ puede escribirse de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \langle \delta_{CB}(r) \delta_{CB}(r') \rangle = \\ \langle \delta N_B^2 \rangle L_a^{-1} \left[\sum_{i=0}^{m_a-1} \delta(x-d_i) \right] \left[\sum_{j=0}^{m_a-1} \delta(y-d_j) \right] \delta(x-x') \delta(y-y') \delta(z-z') \end{aligned} \quad (\text{XIII.104})$$

Reemplazando la ecuación (XIII.104) en la ecuación (XIII.98) y calculando la integral, se obtiene la siguiente expresión para la polarizabilidad eléctrica:

$$\langle \alpha^T \rangle_{xx} = (e^2 A^2 / 12KT) \langle \delta N_B^2 \rangle [2(m^{1/2}-1)^{-1}+1]m \quad (\text{XIII.105})$$

donde $\langle \delta N_B^2 \rangle$ está dado por la ecuación (XIII.103) que puede escribirse usando el $\delta\psi$ para un modelo cilíndrico (ec.III.32) de la siguiente manera

$$\langle \delta N_B^2 \rangle = N_B G_T \quad (\text{XIII.106})$$

con $G_T = (\xi/2)\{1+[2\xi N_B e^2/(\epsilon_1 K T L_a)] \ln(R_m/b_m)\}^{-1}$

Estos resultados se utilizarán en la sección siguiente.

XIII.4.4.4 Anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del agregado

Para calcular la anisotropía de la polarizabilidad eléctrica del agregado, $\alpha_{a^E_{zz}} - \alpha_{a^E_{xx}}$, se tienen en cuenta todas las contribuciones analizadas en las secciones (XIII.4.4.1), (XIII.4.4.2) y (XIII.4.4.3), esto es:

$$\Delta\alpha_{a^E} = (\alpha_{a^E})_{zz} - (\alpha_{a^E})_{xx} = (\alpha^F)_{zz} + (\alpha^B)_{zz} - (\alpha^F)_{xx} - (\alpha^B)_{xx} - (\alpha^T)_{xx} \quad (\text{XIII.107})$$

Empleando las expresiones (XIII.90), (XIII.92) y (XIII.96) (XIII.97) y (XIII.105) esta anisotropía se escribe de la siguiente manera

$$\Delta\alpha_{a^E} = (\alpha_{a^E})_{zz} - (\alpha_{a^E})_{xx} = [e^2m/(12KT)]\{L_a^2(N_F G_F + N_B G_B) - A^2[N_F G_F + [2(m^{1/2}-1)^{-1}+1](G_B+G_T)N_B]\} \quad (\text{XIII.108})$$

Se obtienen los siguientes valores de la anisotropía de la polarizabilidad eléctrica (en cm^3):

número de macroiones del agregado: m	$\Delta\alpha_{a^E} = (\alpha_{a^E})_{zz} - (\alpha_{a^E})_{xx}$
9	$-1,481 \times 10^{-14}$
16	$-4,525 \times 10^{-14}$
25	$-1,045 \times 10^{-13}$

(XIII.109)

Los otros parámetros que caracterizan al sistema son los siguientes:

$Q=4,19$; $c_e=1$ mM; $T=293$ °K; $L_a=600$ Å; $c_a=535$ mg/dl; $R_m=133,3$ Å
 $N=359$; $N_B=258$; $N_F=101$.

Aquí se consideró la distancia d (Figura XIII.3) igual a $2R_m$.

Para cálculos posteriores referentes a la técnica de pulsos inversos es necesario conocer las contribuciones parciales de la polarizabilidad eléctrica, estas son las siguientes (en cm^3):

m	$(\alpha^F)_{zz}+(\alpha^B)_{zz}$	$(\alpha^F)_{xx}+(\alpha^B)_{xx}$	$(\alpha^T)_{xx}$
9	$6,753 \times 10^{-15}$	$1,719 \times 10^{-14}$	$4,3662 \times 10^{-15}$
16	$1,056 \times 10^{-14}$	$4,432 \times 10^{-14}$	$1,150 \times 10^{-14}$
25	$1,504 \times 10^{-14}$	$9,427 \times 10^{-14}$	$2,527 \times 10^{-14}$

(XIII.110)

XIII.4.5 Tiempo de relajación del momento dipolar inducido originado en la transferencia de contraiones entre los macroiones del agregado

En nuestro criterio el modelo de agregado definido en la sección XIII.4.1 posee un tiempo de relajación del momento inducido transversal a los macroiones de ADN bastante más lento que el longitudinal. En esta sección estimamos ese tiempo de relajación para luego emplearlo en el cálculo del transitorio de la birrefringencia eléctrica después de invertir el campo eléctrico (sección XIII.6).

Los contraiones ligados a un macroion deben atravesar una barrera de potencial elevada para pasar a otros macroiones del agregado. Estos contraiones permanecen dentro del valle cilíndrico de potencial de los macroiones un intervalo de tiempo bastante mayor que el característico de los otros procesos que contribuyen a la polarizabilidad eléctrica del agregado. Como se vió en la sección XIII.4.4 estos procesos son los siguientes:

- a) La fluctuación de concentración de los contraiones condensados en cada varilla.

b) La fluctuación de concentración de los contraiones libres de los macroiones pero retenidos dentro del agregado.

El tiempo de transferencia de contraiones se estima mediante la relación

$$t_t = t_0 \exp(e\delta\psi/KT) \quad (\text{XIII.111})$$

donde t_0 es del orden del tiempo de difusión libre de un ion a través de una distancia igual a la existente entre macroiones contiguos, $e\delta\psi$ es la barrera de potencial entre la región de contraiones ligados y la zona de campo eléctrico nulo entre los macroiones. El coeficiente de difusión de los contraiones disminuye debido a estas barreras de potencial y se expresa aproximadamente

$$D = D_0 \exp(-e\delta\psi/KT) \quad (\text{XIII.112})$$

En la escala de tiempo de la transferencia de contraiones entre macroiones, puede considerarse que la densidad lineal de contraiones condensados es independiente de z , es decir que este proceso contribuye solo a la polarizabilidad eléctrica en la dirección transversal.

Se puede calcular la polarizabilidad eléctrica en la dirección z considerando que el sistema alcanza el equilibrio en un tiempo mucho menor que t_t .

El tiempo de relajación de los contraiones de transferencia a través de todo el agregado se calcula conociendo el diámetro del mismo y empleando el coeficiente de difusión D dado por la ecuación (XIII.112). Se obtiene la siguiente expresión para :

$$t_a = (2xA_a)^2/2D = [(2xA_a)^2/D_0] \exp(e\delta\psi/KT) \quad (\text{XIII.113})$$

donde $D_0 = 1,35 \times 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ (válido para pequeños iones en agua).

La ecuación (XIII.113) representa la relación entre el valor cuadrático medio del desplazamiento de una partícula

con el tiempo que tarda en realizarlo según la teoría del movimiento browniano unidimensional.

El radio del agregado se escribe

$$A_a = [m/(\pi L_a c_2)]^{1/2} \quad (\text{XIII.114})$$

donde c_2 se expresa mediante la ecuación (XIII.70).

En la tabla siguiente se dan los valores de t_a , $e\delta\Psi/KT$ y para el número de macroiones del agregado $m=9, 16$ y 25 . Los valores de $e\delta\Psi/KT$ se encuentran resolviendo primero la ecuación (III.33) para el grado de disociación $\xi = (N-N_B)/N$ y empleando luego la expresión para $\delta\Psi$ (III.32) con $R=A_a$.

m	9	16	25
$e\delta\Psi/KT$	4,86	4,86	4,86
t_a (μs)	$t_A = 306$	$t_B = 544$	$t_C = 850$
A_a (Å)	400	533	667

XIII.4.6 Polarizabilidad óptica del agregado de ADN sonificado

De la misma manera que se hizo para el cálculo de la polarizabilidad eléctrica, se supone que el empaquetado de los macroiones es cuadrado, mientras que la forma del agregado es un prisma de base cuadrada (longitud L_a y lados de la base A) con los macroiones paralelos a su eje. Se define una densidad de polarizabilidad óptica del agregado, originada por la polarizabilidad óptica de los macroiones de ADN de la siguiente manera

$$\rho_{ox} = (\alpha_{oxx}/L) \left[\sum_{i=0}^{m_a-1} \delta(x-di) \right] \left[\sum_{j=0}^{m_a-1} \delta(y-dj) \right] \quad (\text{XIII.115})$$

$$\rho_{oz} = (\alpha_{ozz}/L) \left[\sum_{i=0}^{m_a-1} \delta(x-di) \right] \left[\sum_{j=0}^{m_a-1} \delta(y-dj) \right] \quad (\text{XIII.116})$$

donde $d=A/(m^{1/2}-1)$ y $m_a=m^{1/2}$

Los términos principales del tensor polarizabilidad óptica del agregado se obtienen integrando las densidades definidas arriba sobre el volumen del agregado y se obtiene:

$$(\alpha_{a^{\circ}})_{xx} = \int \rho_{ox} dv = (\alpha^{\circ}_{xx}/L)L_{am} = (\alpha_{a^{\circ}})_{yy} \quad (\text{XIII.117})$$

$$(\alpha_{a^{\circ}})_{zz} = \int \rho_{oz} dv = (\alpha^{\circ}_{zz}/L)L_{am} \quad (\text{XIII.118})$$

La anisotropía de la polarizabilidad óptica del agregado resulta

$$\Delta\alpha_{a^{\circ}} = (\alpha_{a^{\circ}})_{zz} - (\alpha_{a^{\circ}})_{xx} = [(\alpha^{\circ}_{zz} - \alpha^{\circ}_{xx})/L]L_{am} \quad (\text{XIII.119})$$

Empleando $(\alpha^{\circ}_{zz} - \alpha^{\circ}_{xx})$ dado en la (XIII.4) obtenemos los siguientes valores para la anisotropía de la polarizabilidad óptica de un agregado de longitud $L_a = 600 \text{ \AA}$:

número de macroiones del agregado: m	$\Delta\alpha_{a^{\circ}} = (\alpha_{a^{\circ}})_{zz} - (\alpha_{a^{\circ}})_{xx}$
9	$\Delta\alpha_{A^{\circ}} = -1,981 \times 10^{-20}$
16	$\Delta\alpha_{B^{\circ}} = -3,523 \times 10^{-20}$
25	$\Delta\alpha_{C^{\circ}} = -5,504 \times 10^{-20}$

(XIII.120)

XIII.5. Birrefringencia eléctrica de una mezcla de moléculas de ADN sonificado y diferentes agregados de las mismas

Se considera una mezcla de macroiones tipo varilla de ADN sonificado (con una longitud de $L = 1130 \text{ \AA}$ como se determinó en la sección XIII.2.1 y agregados de macroiones de ADN como los del modelo propuesto en la sección XIII.4.1 pero de una longitud L_a , en principio distinta que L .

La concentración de cada componente de la mezcla se indica de la siguiente manera:

c_m : número de macroiones (totales) de ADN por cm^3

c_A , c_B y c_C número de agregados tipo A, B y C por cm^3

respectivamente. El tipo de agregado está determinado por el número, m , de macroiones que lo constituye. Aquí tomamos los tipos de agregados A, B y C correspondientes a $m=9, 16$ y 25 respectivamente.

El número de macroiones de ADN sin agregar (libres) por cm^3 , que se denomina c_1 , se expresa de la siguiente manera

$$c_1 = (c_m N_A \times 10^{-5} / 180L) - (9c_A + 16c_B + 25c_C)(L_a/L) \quad (\text{XIII.121})$$

donde N_A es el número de Avogadro, L es la longitud de los macroiones y L_a la longitud del agregado.

Las anisotropías de la polarizabilidad eléctrica del macroion ADN y de los distintos tipos de agregados se expresan $\Delta\alpha_m^E$, $\Delta\alpha_A^E$, $\Delta\alpha_B^E$ y $\Delta\alpha_C^E$.

Para $\Delta\alpha_m^E$ se emplea el valor experimental dado en la ecuación (XIII.9) y para $\Delta\alpha_i^E$ (con $i=A, B$ y C) los valores calculados en la sección XIII.4.4.4 (ver tabla).

Los factores de orientación χ_1 (ecuación I.35) se escriben

$$\chi_1 = E^2 \Delta\alpha_i^E / 2KT \quad (\text{XIII.122})$$

donde $i=m, A, B$ o C según se refiera al macroion ADN o a los agregados tipo A, B o C respectivamente. Introduciendo estos valores en el programa cuyo diagrama de flujo se muestra en la Fig.I.5 se determinan las funciones de orientación

ϕ_m , ϕ_A , ϕ_B , y ϕ_C correspondientes a los macroiones libres (m) y a los distintos tipos de agregados A, B y C respectivamente.

Las contribuciones a la birrefringencia eléctrica de los distintos componentes de la mezcla pueden escribirse, de acuerdo con la ecuación (I.32) de la siguiente manera

$$\Delta n_m = (2\pi/n)c_1 \Delta\alpha_m^o \phi_m \quad \delta$$

$$\Delta n_A = (2\pi/n)c_A \Delta\alpha_A^o \phi_A$$

$$\Delta n_B = (2\pi/n)c_B \Delta\alpha_B^o \phi_B$$

$$\Delta n_c = (2\pi/n) c_c \Delta \alpha_{c^0} \phi_c \quad (\text{XIII.123})$$

donde para $\Delta \alpha_{m^0}$ se emplea el valor experimental dado en la ec.(XIII.4) y para $\Delta \alpha_{i^0}$ (i=A, B y C) los valores calculados de las ecs. (XIII.120).

La birrefringencia eléctrica total de la mezcla resulta

$$\Delta n = \Delta n_m + \Delta n_A + \Delta n_B + \Delta n_C \quad (\text{XIII.124})$$

Para una solución de ADN sonicado con una concentración de 38 mg/dl, se eligen las siguientes concentraciones numéricas de agregados:

$$c_A = 2,8 \times 10^{12} \text{ cm}^{-3}$$

$$c_B = 2,4 \times 10^{12} \text{ cm}^{-3}$$

$$c_C = 1,1 \times 10^{12} \text{ cm}^{-3} \quad (\text{XIII.125})$$

Estas concentraciones se encuentran mediante el método de ensayo y error con el fin de obtener el mejor ajuste posible entre los valores calculados y los medidos de la birrefringencia eléctrica Δn en función del cuadrado del campo eléctrico.

El valor correspondiente para c_1 , según la ecuación (XIII.121), es el siguiente

$$c_1 = 1,08 \times 10^{15} \text{ cm}^{-3}$$

Con estos valores para las concentraciones de los componentes de la mezcla se obtiene la dependencia entre la birrefringencia eléctrica y el campo eléctrico mostrada en la Fig.XIII.4. Los círculos en esa figura son valores experimentales de la birrefringencia eléctrica correspondientes a una solución de ADN con una concentración de 38 mg/dl con NaCl 1mM.

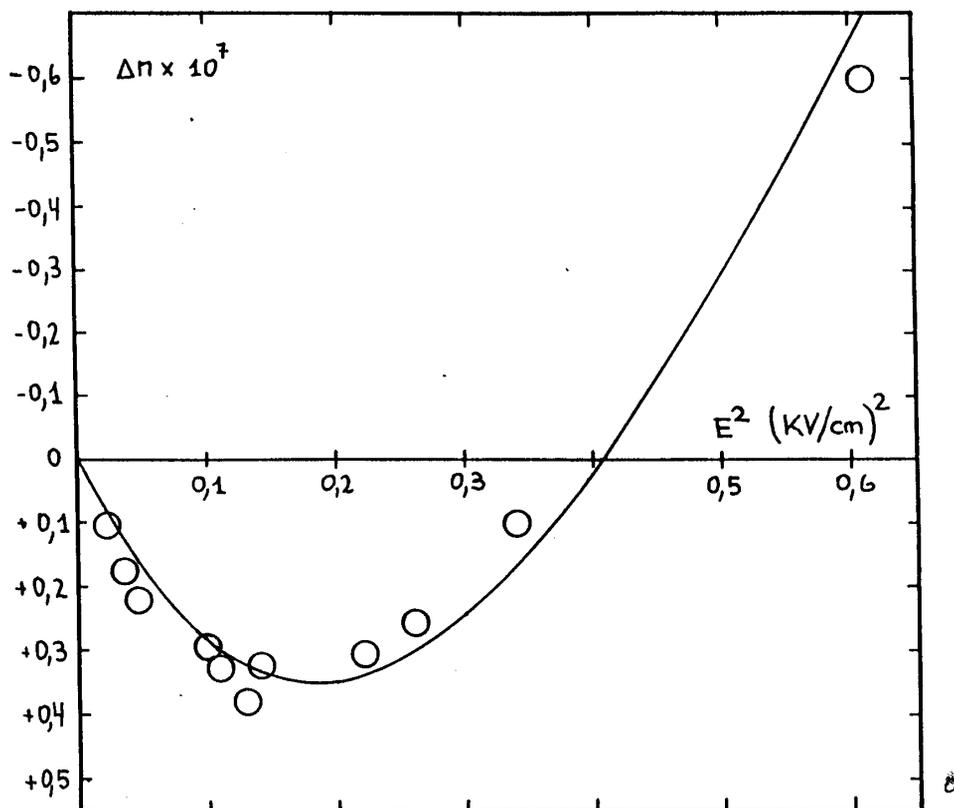


Figura XIII.4

XIII.6. Transitorio de la birrefringencia eléctrica después de invertir el campo eléctrico.

Como se vió en la sección I.6.3 una polarizabilidad inducida lenta produce un transitorio después de invertir el campo eléctrico. Para el caso particular de una mezcla de moléculas de ADN sonicado y distintos tipos de agregados de las mismas, la dependencia de la birrefringencia eléctrica con el tiempo después de la inversión se expresa de la siguiente manera

$$\Delta n(t) = [\Delta n_m x_1 + \Delta n_A \Delta A + \Delta n_B \Delta B + \Delta n_C \Delta C] / [\Delta n_m + \Delta n_A + \Delta n_B + \Delta n_C] \quad (\text{XIII.126})$$

donde Δn_m , Δn_A , Δn_B y Δn_C representan la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario de los macroiones libres y de los agregados tipo A, B y C respectivamente. Estos valores se calculan de la manera indicada en la sección XIII.5 (ecs. XIII.123) con las mismas características para el ADN y sus agregados y las mismas concentraciones que las allí enunciadas, que permitieron ajustar las curvas experimentales de Δn vs. E^2 .

ΔA , ΔB y ΔC son los transitorios de la birrefringencia eléctrica normalizada que se calculan con la teoría de TINOCO y YAMAOKA (23) mediante el programa cuyo diagrama de flujo se muestra en la Fig.I.10. En él se emplean los siguientes parámetros:

-Los tiempos de relajación del momento inducido transversal para cada tipo de agregado t_i ($i=A, B$ y C) que se muestran en la tabla de la sección XIII.4.5.

-Los tiempos de relajación correspondientes a la difusión rotacional del eje de simetría de los distintos tipos de agregados que valen:

m	9	16	25
τ_a (μs)	$\tau_A=49$	$\tau_B=95$	$\tau_C=165,5$

estos tiempos se obtienen de la manera explicada en la sección XIII.4.2. mediante la relación existente entre el tiempo de relajación, τ_1 , de un esferoide con su semi-eje a_1 , que se iguala al radio del agregado cilíndrico dado por la ecuación (XIII.114).

Los coeficientes de difusión rotatoria $(\theta_{11})_a$ correspondientes a cada tipo de agregado, necesarios para la determinación del transitorio de Δn , se calculan mediante la primera de las expresiones I.78.

La Fig.XIII.5 muestra el transitorio después de invertir el campo eléctrico para la mezcla de ADN sonificado y sus agregados, calculados como se explicó en esta sección. Damos los siguientes parámetros experimentales del transitorio de

la birrefringencia eléctrica después de invertir el campo eléctrico de una solución de ADN sonificado de 38 mg/dl con NaCl 1mM para compararlos con los resultados obtenidos en este cálculo (Ver sección XII.8).

-Tiempo transcurrido entre la inversión del campo eléctrico y el valor mínimo del transitorio de birrefringencia eléctrica, $t_{\min.} = 230 \mu\text{s} \pm 20 \mu\text{s}$.

-Valor mínimo de $(\Delta n / \Delta n_e) = 0,5$ (error 10%).

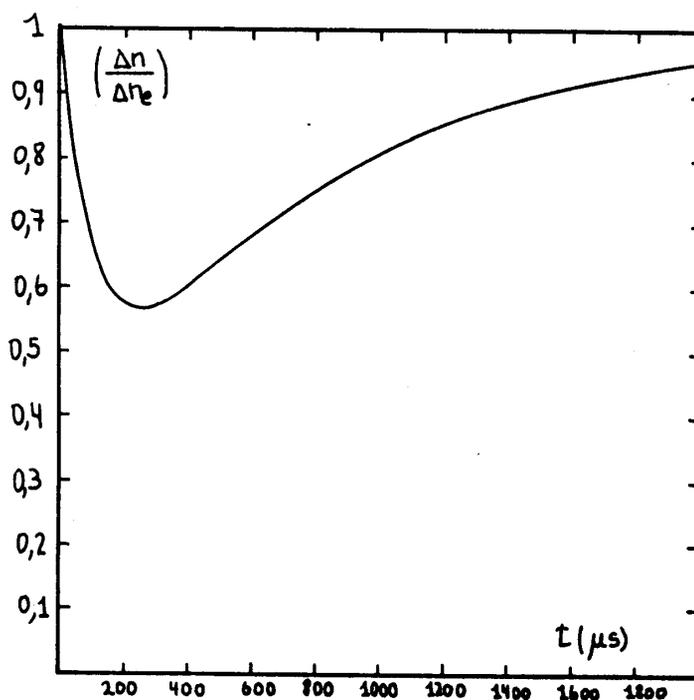


Figura XIII.5

XIII.7 Decaimiento de la birrefringencia eléctrica de la mezcla de ADN sonificado y sus agregados

El transitorio de la birrefringencia eléctrica de la mezcla de ADN sonificado y sus agregados, después de suprimir el campo eléctrico, se expresa de la siguiente manera

$$\Delta n(t) = \Delta n_m \exp(-t/\tau_m) + \sum_{I=A,B,C} \Delta n_i \exp(-t/\tau_i) \quad (\text{XIII.127})$$

donde Δn_m y Δn_i representan la birrefringencia eléctrica en el estado estacionario de los macroiones de ADN sonificado y de los agregados del tipo I= A, B y C respectivamente. Estas magnitudes se determinan, para un campo eléctrico dado, con el procedimiento explicado en la sección XIII.5 empleando las ecuaciones (XIII.123). Los tiempos de relajación de los agregados se extraen de la sección XIII.6 (ver tabla) En la Fig. XIII.6 se observa el transitorio de Δn después de suprimir el campo eléctrico calculados con la ecuación XIII.127, de la manera explicada en esta sección, para la mezcla de ADN sonificado y sus agregados, para un campo eléctrico $E^2=0,05 \text{ (KV/cm)}^2$. La línea cortada corresponde a la curva experimental $\Delta n(t)$, para ese campo eléctrico, de una solución de ADN sonificado de 38 mg/dl con NaCl 1mM.

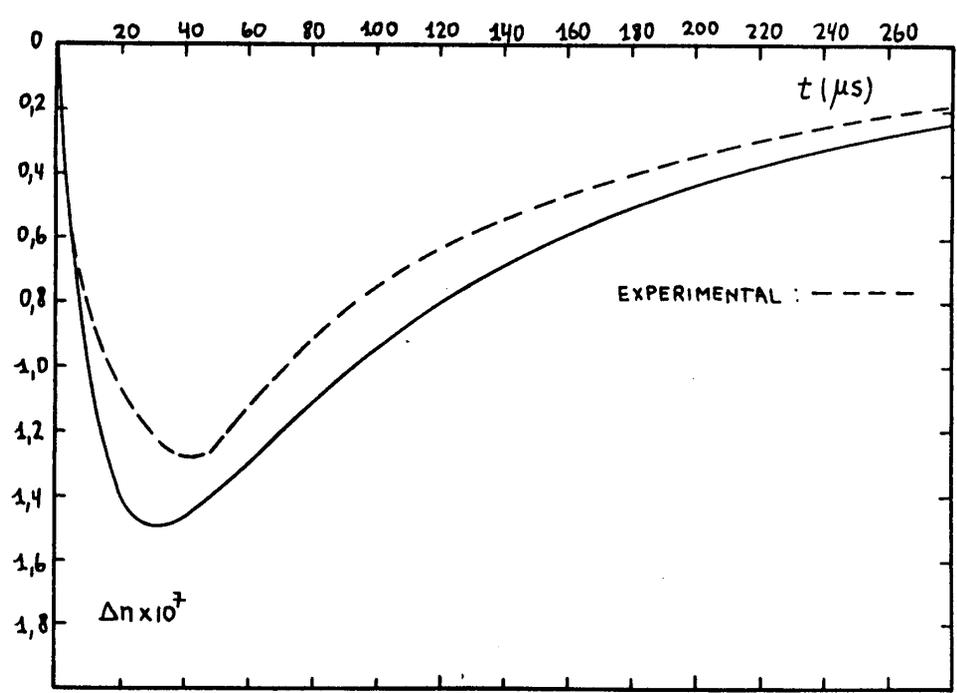


Figura XIII.6

CONCLUSIONES

El origen de este trabajo ha sido el de interpretar las medidas de birrefringencia eléctrica de soluciones acuosas de ADN sonificado en presencia de concentraciones débiles de NaCl (1mM)⁽⁶⁾. Las mismas muestran la aparición de una birrefringencia anómala positiva que desaparece con el aumento de la concentración de electrolito. Además los transitorios de birrefringencia eléctrica después de suprimir o invertir el campo eléctrico presentan una mezcla de componentes de birrefringencia eléctrica negativa (normal) y positiva (anormal) no explicado por la teoría de la birrefringencia eléctrica de soluciones macromoleculares diluidas.

La extensión realizada en este trabajo de la teoría del decaimiento de la birrefringencia eléctrica para soluciones diluidas de RIDGEWAY ⁽¹⁵⁾ empleando el modelo molecular de HOLCOMB y TINOCO ⁽⁸⁾ (sección I.6.1) permite concluir que los transitorios anormales de la birrefringencia eléctrica pueden explicarse eligiendo adecuadamente los parámetros eléctricos (polarizabilidad eléctrica y momento eléctrico permanente), óptico (polarizabilidad óptica) e hidrodinámicos (coeficientes de fricción rotacional). Sin embargo ciertos resultados experimentales indican que los macroiones de ADN sonificado en soluciones con concentraciones mayores de 5 mg/dl y concentraciones salinas débiles (<1mM en NaCl) son partículas interactuantes. Estas experiencias son:

-La dependencia de la magnitud de la componente positiva de la birrefringencia eléctrica con la concentración de ADN en las soluciones (sección XII.2).

-La turbiedad apreciable de las soluciones de ADN sonificado que dan una absorbancia de 0,1 (longitud de onda 550 nm y trayecto óptico de 1cm) para concentraciones de 100 mg/dl en ADN con NaCl 1mM que desaparece completamente con el aumento de la fuerza iónica del medio. Por ejemplo la adición de MgCl₂ 1mM elimina la turbiedad (XII.11) y paralelamente la componente positiva de la birrefringencia eléctrica (sección XII.3).

Estas experiencias inducen a postular la existencia de agregados en las soluciones de ADN sonicado para explicar el comportamiento anómalo de la birrefringencia eléctrica (ϵ).

El análisis de la energía de interacción entre macroiones tipo varilla realizado en la sección XIII.3 nos mostró que para concentraciones salinas débiles (NaCl 1 mM) las curvas de energía en función de la distancia $W(X)$ presentan mínimos del orden de algunas unidades de KT . Este nos permite decir que desde el punto de vista teórico están establecidas las condiciones para que se formen agregados de macroiones de ADN sonicado. Hay que destacar aquí la importancia de reconocer la influencia de la frecuencia de fluctuación de las cargas de los macroiones en el apantallamiento de la energía de interacción entre ellas. El apantallamiento de la energía de interacción (repulsión) entre las cargas estacionarias se tiene en cuenta mediante el típico factor exponencial de Debye-Huckel mientras que el apantallamiento de la energía de interacción originada en la correlación de cargas fluctuantes depende de la frecuencia de oscilación de estas y la concentración iónica del medio. Para fluctuaciones con frecuencias mucho mayores que un cierto valor crítico dependiente de la concentración del electrolito presente el medio se comporta como un dieléctrico puro con el consecuente apantallamiento débil de la energía (ϵ_{∞}).

Del cálculo de la energía de interacción entre macroiones (sección XIII.3) surge que el aumento de concentración del electrolito del medio disminuye drásticamente las energías de interacción entre los macroiones y consecuentemente la posibilidad de formación de agregados. Paralelamente el aumento de la fuerza iónica del medio hace desaparecer la birrefringencia positiva de las soluciones de ADN, por ejemplo cuando se le agrega $MgCl_2$ (sección XII.3).

Refiriendonos todavía al cálculo desarrollado en la sección XIII.3, vemos que la fuerza atractiva entre los macroiones tiene su origen en la correlación de fluctuaciones de la carga ligada (contraiones condensados) en ellos y crece con el aumento de la misma. Este hecho es

corroborado por la aparición del efecto anómalo en la birrefringencia eléctrica de la DNH (desoxirribonucleoproteína) cuando al extraerle progresivamente las histonas, se logran razones en peso Proteína/ADN menores que 1. Este proceso de desproteínización de la DNH va liberando grupos fosfatos cargados del ADN y aumentando la cantidad de contraiones condensados (secciones XII.4 y III.4).

Las experiencias de birrefringencia eléctrica de soluciones de ADN sonificado previamente filtradas en columna con gel (XII.5) muestran la ausencia de componente positiva de la birrefringencia eléctrica. Las soluciones de ADN sonificado obtenidas de ADN nativo previamente filtrado en columna con gel tampoco presentan componente positiva de la birrefringencia eléctrica (sección XII.6). Estos resultados podrían explicarse como sigue:

- a) El ADN utilizado experimentalmente por nosotros (y otros) tiene un cierto porcentaje de proteínas (0,5 a 5 % según las muestras). Los resultados experimentales del comportamiento electro-óptico han sido obtenidos con ese material, por lo tanto las conclusiones sobre la posibilidad de la existencia de los agregados basadas en esos datos corresponde exclusivamente a material ligeramente contaminado. La purificación con gel eliminaría las fracciones contaminadas. Esta contaminación debería ser tal que afecte los perfiles de potencial eléctrico donde se condensan los contraiones.
- b) Aún después de cromatografiado cabe la posibilidad de existencia de pequeñas fracciones proteicas intimamente unidas al ADN, por ejemplo en la garganta menor, que no sería excluida en la cromatografía de relativa baja resolución. La posterior adición de NaCl 2 M podría liberar o exponer mas a la superficie estas fracciones protéicas, modificando las propiedades superficiales desde el punto de vista de la superficie eléctrica y permitiendo el reestablecimiento del efecto anómalo (sección XII.5). Obviamente debido a la purificación efectuada este efecto remanente debe ser considerablemente menor que el original.

La posibilidad de existencia de agregados se demuestra

mediante el ajuste de las curvas experimentales de la birrefringencia eléctrica estacionaria ($\Delta n = f(E^2)$) y dinámica ($\Delta n = f(t)$ para $E = \text{cte.}$) con las curvas teóricas. Estas últimas se obtienen considerando una mezcla de macroiones de ADN libres (sin agregar) y distintos tipos de agregados. Cada agregado está formado por un número m de macroiones tipo varilla de ADN de longitud L_a dispuestos en forma paralela. Se determinan experimentalmente las propiedades hidrodinámicas, eléctricas, y ópticas de los macroiones de ADN sonificado (secciones XIII.2) y se calculan las correspondientes a los agregados (secciones XIII.4)

El mejor ajuste se logra mediante el método de ensayo y error variando la longitud del agregado y la concentración en la mezcla de los distintos tipos de agregados. Los tipos de agregados seleccionados son los formados con $m=9, 16$ y 25 macroiones. La longitud de agregado que dió mejores resultados es $L_a = 600 \text{ \AA}$

Las características medias de los macroiones libres de ADN sonificado son las siguientes:

- longitud $L = 1130 \text{ \AA}$
- anisotropía de la polarizabilidad óptica:
 - (experimental) $(\alpha^o_{33} - \alpha^o_{11}) = -4,15 \times 10^{-21} \text{ cm}^3$
- términos del tensor polarizabilidad óptica:
 - (experimentales) $\alpha^o_{11} = 2,28 \times 10^{-20} \text{ cm}^3$
 - $\alpha^o_{33} = 1,87 \times 10^{-20} \text{ cm}^3$
- anisotropía de la polarizabilidad eléctrica:
 - (experimental) $(\alpha^E_{33} - \alpha^E_{11}) = 1,46 \times 10^{-15} \text{ cm}^3$
 - (calculada) $(\alpha^E_{33} - \alpha^E_{11}) = 1,36 \times 10^{-15} \text{ cm}^3$

Las características calculadas de los agregados son las siguientes:

- longitud $L_a = 600 \text{ \AA}$
- radio del agregado correspondientes a una concentración de macroiones en el mismo de 535 mg/dl :

número de macroiones del agregado:	radio del agregado supuesto cilindrico A_a (Å)
m	
9	400
16	533
25	667

-anisotropía de la polarizabilidad eléctrica:

número de macroiones del agregado: m	$\Delta\alpha_{a^E} = (\alpha_{a^E})_{zz} - (\alpha_{a^E})_{xx}$
9	$-1,48 \times 10^{-14}$
16	$-4,52 \times 10^{-14}$
25	$-1,04 \times 10^{-13}$

-tiempo de relajación del momento inducido transversal al eje del agregado originado por la transferencia de contraiones entre los macroiones del agregado:

m	t_a (µs)
9	306
16	544
25	850

-anisotropía de la polarizabilidad óptica:

número de macroiones del agregado: m	$\Delta\alpha_{a^o} = (\alpha_{a^o})_{zz} - (\alpha_{a^o})_{xx}$
9	$-1,98 \times 10^{-20}$
16	$-3,52 \times 10^{-20}$
25	$-5,50 \times 10^{-20}$

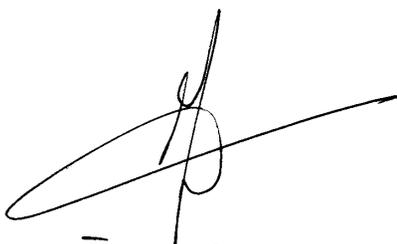
Se concluye que el mejor ajuste entre las curvas experimentales y las calculadas de $\Delta n = f(E^2)$ se logran para las siguientes concentraciones de macroiones de ADN y agregados (sección XIII.5):

$$\begin{aligned}
 c_{ADN} &= 1,08 \times 10^{15} \text{ cm}^{-3} \\
 c_{m=9} &= 2,8 \times 10^{12} \text{ cm}^{-3} \\
 c_{m=16} &= 2,4 \times 10^{12} \text{ cm}^{-3} \\
 c_{m=25} &= 1,1 \times 10^{12} \text{ cm}^{-3}
 \end{aligned}$$

Con estas características de macroiones de ADN y agregados de los mismos se explican también los resultados

experimentales de la birrefringencia dinámica: El transitorio de la birrefringencia eléctrica después de invertir el campo eléctrico (sección XIII.6) y el decaimiento de la birrefringencia eléctrica (sección XIII.7).

La existencia de agregados resulta ser la explicación más plausible de la birrefringencia eléctrica positiva en soluciones de ADN sonificado ya que, a pesar de las consideraciones cualitativas necesarias para interpretar los efectos de la cromatografía sobre gel, este modelo resulta hasta el momento la única propuesta que de cuenta de los resultados experimentales disponibles.



J. BERTOLOTTO

APENDICE

Energía de interacción eléctrica entre dos cargas fluctuantes en una solución iónica

Se calcula la energía entre dos cargas fluctuantes en presencia de un electrolito, sin la restricción de que la distancia entre ellas sea mucho mayor que λ^{-1} . Como siempre es posible expresar la dependencia temporal de una carga fluctuante como una suma de componentes armónicas, en este apéndice se encuentra la expresión analítica de la fuerza entre dos cargas con una variación armónica con el tiempo. El cálculo realizado es válido para cargas débiles separadas una distancia r arbitraria.

Modelo

Sea la carga $q_1 = q_{1e} + q_{10} \cos(\omega t)$ ubicada en el origen de coordenadas y a una distancia r la carga $q_2 = q_{2e} + q_{20} \cos(\omega t + \delta)$. En estas expresiones q_{1e} y q_{2e} representan las componentes estacionarias de las cargas, $\omega = 2\pi\nu$ la frecuencia angular de las componentes fluctuantes de las mismas y δ una diferencia de fase. Ambas cargas están en el seno de una solución de electrolito simple tal que a distancias grandes de ellas es homogénea con una densidad numérica promedio de cationes y aniones igual a ρ_0 . Se supone que tanto las componentes estacionaria como la fluctuante de las cargas son suficientemente pequeñas. Esto se hace para posibilitar la aplicación de la aproximación de Debye Hückel en la determinación de las distribuciones iónicas y de potencial eléctrico originadas por las cargas estacionarias y además para poder considerar al efecto inducido por las cargas fluctuantes como variaciones de las distribuciones iónicas con respecto a las densidades de equilibrio.

La energía de interacción entre las cargas q_1 y q_2 es el valor medio temporal del producto del potencial eléctrico, $\phi(r)$ de la carga q_1 en q_2 por la carga q_2 . Este potencial

eléctrico se obtiene como la suma del potencial eléctrico estacionario, ϕ_0 , producido por la carga q_1 , mas el potencial eléctrico, $\delta\phi$ de la carga fluctuante $q_1 \cos(\omega t)$.

$$\phi(r) = \phi_0 + \delta\phi \quad (\text{A.1})$$

El primero es el típico resultado de Debye-Hückel

$$\phi_0 = (q_1 / \epsilon_1 r) P_0 \quad (\text{A.2})$$

$$P_0 = \{ \exp[-\kappa(r-a)] / (\kappa a + 1) \} \quad (\text{A.3})$$

donde P_0 es un factor que determina el apantallamiento del potencial de la carga q_1 debido a los iones. Mientras que el segundo se encuentra aquí suponiendo que la parte fluctuante de la carga q_1 es compleja, esto es, $q_1 \exp(i\omega t)$ y aplicando las ecuaciones de continuidad del flujo de iones y la ecuación de Poisson del sistema. En la expresión de la energía de interacción se emplea la parte real del potencial eléctrico así calculado, es decir

$$\langle W_{12} \rangle = \langle [\phi_0 + R\{\delta\phi\}] q_2 \rangle \quad (\text{A.4})$$

Obtención del campo eléctrico δE

La componente armónica de la carga q_1 , esto es $q_1 \exp(i\omega t)$ induce variaciones en las densidades iónicas del electrolito circundante. Se denominan $\delta\rho^+$ y $\delta\rho^-$ a las variaciones de la densidad de cationes y aniones inducidas por el campo eléctrico, δE , con respecto a las densidades de equilibrio que existe para $q_1 = q_{10}$.

Las variaciones de las densidades de flujo de iones de cada signo, inducidas por la carga $q_1 \exp(i\omega t)$, se obtienen mediante las ecuaciones de continuidad siguientes

$$\text{div } j^{\pm} = -\partial\delta\rho^{\pm} / \partial t \quad (\text{A.5})$$

donde j^{+-} es la densidad de flujo de iones determinada por la expresión

$$j^{+-} = -D^{+-}(e/KT) \rho^{+-} \text{grad } \delta\phi - D^{+-}(e/KT) \delta\rho^{+-} \text{grad } \phi_e - D^{+-} \text{grad } \delta\rho^{+-} \quad (\text{A.6})$$

donde D^{+-} es el coeficiente de difusión de traslación de cationes (D^+) y aniones (D^-) que se suponen iguales a D , e es la carga electrónica, K la constante de Boltzmann, T la temperatura absoluta del sistema, ρ^{+-} las densidades de equilibrio (originadas por q_{1e}) de cationes y aniones respectivamente, ϕ_e es el potencial de equilibrio correspondiente y $\delta\phi$ el potencial eléctrico inducido por la carga fluctuante $q_{1e} \exp(i\omega t)$. La expresión (A.6) se simplifica considerando que $\rho^{+-} = \rho_0(1 - e\phi_e/KT)$ con $e\phi_e/KT \ll 1$ y conservando en ella solamente los dos términos predominantes, resultando así

$$j^{+-} = -D(e/KT) \rho_0 \text{grad } \delta\phi - D \text{grad } \delta\rho^{+-} \quad (\text{A.7})$$

El potencial eléctrico $\delta\phi$ se determina mediante la ecuación de Poisson

$$\nabla^2 \delta\phi = -(4\pi e/\epsilon_1) \quad (\text{A.8})$$

donde ϵ_1 es la constante dieléctrica del solvente,

$$e\delta\rho = e(\delta\rho^+ - \delta\rho^-) \quad (\text{A.9})$$

es la densidad de carga.

Combinando las ecuaciones (A.5), (A.7)-(A.9) se obtienen las siguientes relaciones

$$\nabla^2 \delta\rho = g^2 \delta\rho \quad (\text{A.10})$$

$$\nabla^2 \delta\rho_0 = h^2 \delta\rho_0 \quad (\text{A.11})$$

donde
$$g^2 = i(\omega/D) + \kappa^2 \quad (\text{A.12})$$

con
$$\kappa^2 = 8\pi\rho_0 e^2 / \epsilon_1 K T \quad (\text{A.13})$$

la constante de Debye Hückel de la solución iónica.

$$h^2 = i(\omega/D) \quad (\text{A.14})$$

$$\delta\rho_0 = \delta\rho^+ + \delta\rho^- \quad (\text{A.15})$$

es la variación de la densidad iónica total.

Las soluciones de las ecuaciones (A.10) y (A.11) son

$$\delta\rho = (A/r) \exp(-gr) \quad (\text{A.16})$$

$$\delta\rho_0 = (B/r) \exp(-hr) \quad (\text{A.17})$$

Condiciones de contorno

Para determinar el campo eléctrico δE se emplean las siguientes condiciones de contorno en $r=a$, donde a es la distancia de aproximación mínima de los iones a la carga.

I. Valor del campo eléctrico en $r=a$, originado solamente por la carga $q_{10} \exp(i\omega t)$ en un medio de constante dieléctrica ϵ_1

$$E|_a = -d\delta\phi/dr|_{r=a} = (q_{10}/\epsilon_1 a^2) \exp(i\omega t) \quad (\text{A.18})$$

II. Valor de la densidades de flujo de iones en $r=a$. Dado que los iones no pueden penetrar en la región $r < a$ la densidad de flujo de cationes y aniones deben anularse para $r=a$:

$$j^+ = -(De \rho_0 / KT) [d\delta\phi/dr]_{r=a} - (D/2) [d(\delta\rho_0 + \delta\rho)/dr]_{r=a} = 0 \quad (\text{A.19})$$

$$j^- = +(De \rho_0 / KT) [d\delta\phi/dr]_{r=a} - (D/2) [d(\delta\rho_0 - \delta\rho)/dr]_{r=a} = 0 \quad (\text{A.20})$$

Para obtener el campo eléctrico δE se integra una vez la ecuación de Poisson (A.8) y se emplea la condición de contorno I

$$\delta E = (4\pi e A / \epsilon_1 r^2) (g^{-1}) [-(r+g^{-1}) \exp(-gr) + (a+g^{-1}) \exp(-gr)] + (q_{10} / \epsilon_1 r^2) \exp(i\omega t) \quad (A.21)$$

La constante A se determina mediante la condición de contorno resultante de hacer la diferencia $j^- - j^+$ de las ecs. (A.19) y (A.20). El campo eléctrico complejo δE resulta

$$\delta E = (q_{10} / \epsilon_1 r^2) \exp(i\omega t) S(r, \omega) \quad (A.22)$$

$$S(r, \omega) = \{1 - (\kappa/g)^2 + (\kappa/g)^2 [(gr+1)/(ga+1)] \exp[-g(r-a)]\} \quad (23)$$

Obtención del potencial

El potencial $\delta\phi$ se obtiene integrando la ecuación (A.21) del campo eléctrico

$$\delta\phi = - \int \delta E dr + \text{cte.} \quad (A.24)$$

La constante de integración surge (cte. = 0) de la condición de contorno $\delta\phi = 0$ para $r \rightarrow \infty$.

El potencial complejo $\delta\phi$ resulta

$$\delta\phi = (q_{10} / \epsilon_1 r) \exp(i\omega t) \{ [1 - (\kappa/g)^2] + (\kappa/g)^2 [1/(ga+1)] \exp[g(r-a)] \} \quad (A.25)$$

La parte real de $\delta\phi$ vale

$$R\{\delta\phi\} = (q_{10} / \epsilon_1 r) [V_1 \cos(\omega t) + V_2 \sin(\omega t)] \quad (A.26)$$

donde $V_1 = 1 - X + X(PL - QM) - Y(PM + QL)$ (A.27)

y $V_2 = -Y + Y(PL - QM) + X(PM + QL)$ (A.28)

$$X = [1 + (\nu / \nu_c)^2]^{-1} \quad (\text{A.29})$$

$$Y = (\nu / \nu_c) [1 + (\nu / \nu_c)^2]^{-1} \quad (\text{A.30})$$

$$L = \exp[-(\kappa^+)(r-a)] \cos[(\kappa^-)(r-a)] \quad (\text{A.31})$$

$$M = \exp[-(\kappa^+)(r-a)] \text{sen}[(\kappa^-)(r-a)] \quad (\text{A.32})$$

$$\kappa^{\pm} = \{ [1 + (\nu / \nu_c)^2]^{1/2} \pm 1 \}^{1/2} (1/2)^{1/2} \quad (\text{A.33})$$

Aquí ν_c es la frecuencia crítica de Maxwell ya mencionada que puede expresarse en función de la constante de Debye-Hückel del medio y del coeficiente de difusión de traslación de los iones de la siguiente manera $\nu_c = \kappa^2 D / 2$.

$$P = [(\kappa^+)^{a+1}] / \{ [(\kappa^+)^{a+1}]^2 + [(\kappa^+)^a]^2 \} \quad (\text{A.34})$$

$$Q = [(\kappa^-)^a] / \{ [(\kappa^+)^{a+1}]^2 + [(\kappa^-)^a]^2 \} \quad (\text{A.35})$$

La energía $\langle W_{12} \rangle$ se calcula mediante la ecuación (A.4), tomando la parte real del potencial eléctrico dado en la ecuación (A.26) y teniendo en cuenta que

$$\langle \cos(\omega t) \cos(\omega t + \delta) \rangle = (1/2) \cos \delta \quad (\text{A.36})$$

$$\langle \text{sen}(\omega t) \cos(\omega t + \delta) \rangle = -(1/2) \text{sen} \delta \quad (\text{A.37})$$

$$\langle \text{sen}(\omega t) \rangle = \langle \cos(\omega t) \rangle = 0 \quad (\text{A.38})$$

La energía total entre las dos cargas resulta

$$\langle W_{12} \rangle = W_0 + \langle \delta W_{12} \rangle \quad (\text{A.39})$$

donde

$$W_0 = \phi_0 q_{20} = (q_1 q_{20} / \epsilon_1 r) [1 / (\kappa a + 1)] \exp[-\kappa(r-a)] \quad (\text{A.40})$$

$$\langle \delta W_{12} \rangle = (q_{10}q_{20}/2\epsilon_1 r) g(r, \nu) \quad (\text{A.41})$$

El factor 1/2 en la expresión de Coulomb de la energía surge en éste cálculo después de tomar el valor medio, dado que las cargas alternas intervienen con su valor eficaz $q_{1,2}/(2)^{1/2}$.

$g(r, \nu)$ es el factor de apantallamiento:

$$g(r, \nu) = \{V_1 \cos \delta - V_2 \sin \delta\} \quad (\text{A.42})$$

Para $\delta = 0$ y $r \gg \kappa^{-1}$, donde κ^{-1} es la distancia de apantallamiento de Debye, la expresión del factor de apantallamiento de la energía se escribe de la siguiente manera δ

$$g(r, \nu) = [1-X] = \{\epsilon^2 / [\epsilon^2 + (\nu/\nu)^2]\} \quad (\text{A.43})$$

Este resultado coincide con el obtenido por GRIGERA y otros⁽⁶⁸⁾.

Para $\delta = 0$ y $\nu = 0$ el factor de apantallamiento de la energía de interacción dado por la ec. (A.42) se transforma en el siguiente

$$g(r, 0) = [1/(\kappa a + 1)] \exp[-\kappa(r-a)] \quad (\text{A.44})$$

que coincide con el factor de apantallamiento de la energía W_e para cargas estacionarias dado por la ec. (A.40).

LISTA DE SIMBOLOS

Todas las expresiones han sido escritas en el sistema cgs
 Los principales simbolos empleados son los siguientes:

- a El radio del macroion cilindrico
- a₁ semiejes de un esferoide, a₁=a₂=a₃
- b radio hasta donde se extiende la región de contra-
iones ligados a un macroion cilindrico
- c concentración de una solución de macroiones en mg/dl
- c_o concentración numérica de iones (número de cationes o
aniones por cm³ para Z₊=Z₋=Z)
- c₁ concentración numérica de moléculas de soluto (número
de moléculas por cm³)
- c₋(r) concentración numérica de aniones en r (cm⁻³)
- c₊(r) concentración numérica de cationes en r (cm⁻³)
- c_B concentración numérica de los contraiones ligados a un
a un macroion cilindrico (cm⁻³)
- c_F concentración numérica de los contraiones libres den-
tro del agregado de macroiones tipo varilla (cm⁻³)
- c_s concentración molar de electrolito
- c_a concentración de macroiones dentro del agregado en
mg/dl
- c₂ concentración numérica de macroiones dentro del agre-
gado (cm⁻³)
- c_A concentración numérica del agregado tipo A (el tipo
de agregado está determinado por el número A de ma-

	croiones que contiene)	
e	carga electrónica	e
f	fracción de volumen de contraiones ligados (Mv/V)	
h	constante de Planck	
l	longitud de el trayecto óptico dentro de la celda de Kerr	
m	número de macroiones de un agregado	
n	índice de refracción de una solución (sin orientación preferencial de sus moléculas)	
n_1	índice de refracción del solvente	
$n_{//}$	índice de refracción de la solución en la dirección del eje óptico	
n_{\perp}	índice de refracción de la solución en la dirección perpendicular al eje óptico	
$\Delta n, \Delta n_e$	birrefringencia eléctrica en el estado estacionario	
Δn_s	birrefringencia eléctrica de saturación	
$\Delta n(t)$	transitorio de birrefringencia eléctrica	
t_3, t_1	tiempo de relajación de la polarizabilidad eléctrica "lenta", para un macroion tipo varilla, a lo largo del eje de simetría y transversal respectivamente	
$(t_a)_i$	tiempo de relajación de la polarizabilidad eléctrica "lenta", para un agregado de macroiones tipo varilla, a lo largo del eje de simetría ($i=3$) y transversal ($i=1$) respectivamente	
v	volumen aparente del macroion	
\bar{v}	volumen específico parcial	
A_a	radio de un agregado cilíndrico de macroiones tipo	

	varilla
C_{11}	términos principales del tensor de fricción rotacional
D	coeficiente de difusión traslacional de iones
E	campo eléctrico aplicado a una solución
E_0	campo eléctrico de la luz
F	energía libre por macroión
K	constante de Boltzmann
L	longitud de un macroión cilíndrico
L_a	longitud del agregado cilíndrico de macroiones tipo varilla.
M	número de macroiones de una solución
N	número de cargas fijas de un macroión
N_A	número de Avogadro
N_b	número de contraiones ligados a un macroión
P	vector polarización
Q	$= (e^2 / \epsilon_1 K T) (N/L)$ magnitud adimensional que da una medida de la energía potencial eléctrica de un macroión cilíndrico
R	radio del volumen libre de un macroión cilíndrico
R_a	radio del volumen cilíndrico de electroneutralidad del agregado
R_{ab}	momento dipolar asociado con una transición electrónica entre los estados a y b
T	temperatura absoluta
V	volumen de una solución
V_a	volumen del agregado de macroiones cilíndricos

W_I	energía potencial de interacción entre el momento dipolar inducido y el campo eléctrico E
W_P	energía potencial de interacción entre el momento dipolar permanente y el campo eléctrico E
Z	valencia de los iones ($Z = Z_+, Z_-$)
α_K	tensor polarizabilidad eléctrica
α_{K11}	términos principales del tensor polarizabilidad eléctrica
α^o	tensor polarizabilidad óptica
α^{o11}	términos principales del tensor polarizabilidad óptica
β_i	término de momento permanente ($i=1,2,3$)
β	término de momento permanente para el caso particular de simetría cilíndrica para la polarizabilidades eléctrica y óptica y $\mu=(0,0,\mu_3)$
γ_{ij}	término de momento inducido ($i=1,2,3$ y $j=1,2,3$)
γ	término de momento inducido para el caso particular de simetría cilíndrica para la polarizabilidades eléctrica y óptica y $\mu=(0,0,\mu_3)$
δ	retardo óptico o diferencia de fase
ϵ	constante dieléctrica de una solución (sin orientación preferencial de sus moléculas)
ϵ_1	constante dieléctrica del solvente
$\epsilon_{ }$	constante dieléctrica en la dirección paralela al eje óptico
ϵ_{\perp}	constante dieléctrica en la dirección perpendicular al eje óptico

ζ	constante de fricción traslacional de los contraiones
η	coeficiente de viscosidad
θ_{11}	términos principales del tensor de difusión rotacional de una molécula
ξ	grado de disociación de los contraiones
K	constante de Debye-Hückel
λ	longitud de onda de la luz en el vacío
μ	momento dipolar eléctrico permanente
μ'	momento dipolar eléctrico inducido
γ	densidad numérica lineal de cargas fijas de un macroion
γ_B	densidad numérica lineal de contraiones ligados igual a (N_B/L)
γ_0	densidad numérica lineal de carga equivalente para un macroion cilíndrico
γ_{ab}	frecuencia característica de un átomo
ρ_f	concentración de cargas fijas
ρ_m	concentración de cargas móviles
σ	densidad superficial de carga
τ_1	tiempo de relajación correspondiente a la difusión rotacional del eje de simetría de un esferoide
ϕ	función de orientación $(\Delta n/\Delta n_0)$
$\overleftrightarrow{\chi}$	tensor susceptibilidad eléctrica de una solución
$\overleftrightarrow{\chi}_1$	tensor susceptibilidad eléctrica del solvente
ψ	función potencial eléctrico

REFERENCIAS

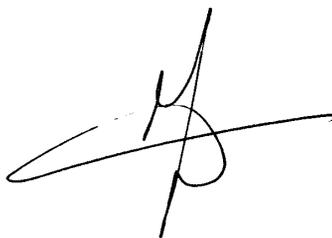
- 1) KERR, J. (1875) *Phil. Mag.* **50**, 337.
- 2) BENOIT, T. (1951) *Ann. Phys.(Paris)* **6**, 561.
- 3) O'KONSKI, C. T. , ZIMM, B. H. (1950) *Science*, **111**, 113.
- 4) TINOCO, I. (1955) *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 4486.
- 5) COLSON, P. (1972) Tesis de la Universidad de Lieja. Bélgica.
- 6) COLSON, P. , HOUSIER, C. y FREDERICQ, E. , y BERTOLOTTO, J. A. (1974) *Polymer* **15**, 396
- 7) SHAH, M. J. , THOMPSON, D. C. y HART, C. M. (1963) *J. Phys. Chem.* **67**, 1170.
- 8) ASAI H. y WATANABE, N. (1976) *Biopolymers* **15**, 383.
- 9) HOLCOMB, D. N. y TINOCO JR. , I. (1963) *J. Phys. Chem.* **67**, 2691.
- 10) GOLDSTEIN, H. (1963) *Mecánica Clásica*, Aguilar, Madrid.
- 11) O'KONSKI, C. T. , YOSHIOKA, K. , ORTTUNG, W. H. (1959) *J. Phys. Chem.* **63**, 1558.
- 12) SHAH, M. J. (1963) *J. Phys. Chem.* **67**, 2215.
- 13) MATSUMOTO, M. , WATANABE, H. y YOSHIOKA, K. (1967) *Sci. Papers Coll. Gen. Educ. , Univ. Tokyo* **17**, 173.
- 14) GORDON, J. (1985) *Algoritmos Numéricos*, La Plata. Argentina.
- 15) RIDGEWAY, D. (1966) *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 1104.
- 16) PERRIN, F. (1934) *J. Phys. Radium* **5**, 497.
- 17) BRENNER, H. (1964) *Chem. Engng. Sci.* **19**, 631.
- 18) LANDAU, L. D. y LIFSHITZ, E. M. (1960) *Electrodynamics of Continuous Media*, Pergamon Press, Oxford.
- 19) BENOIT, H. (1951) *Ann. Phys.* **6**, 561.
- 20) YOSHIOKA, K. y WATANABE, H. (1969) En "Physical Principles and Techniques of Protein Chemistry, Part A", S. J. Leach, Ed. , Academic Press, 335.
- 21) MATSUMOTO, M. , WATANABE, H. y YOSHIOKA, K. (1970) *J. Phys. Chem.* **74**, 2182.
- 22) TINOCO JR. , I. (1955) *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 4486.
- 23) TINOCO JR. , I. y YAMAOKA, K. (1959) *J. Phys. Chem.* **63**, 423.

- 24) WATSON, J. D. y CRICK, F. H. C. (1953) *Nature* **171**, 737 y 964.
- 25) TUNIS-SCNEIDER, M. J. B. y MAESTRE, M. F. (1970) *J. Mol. Biol.* **52**, 521.
- 26) LEHNINGER, A. L. (1972) *Bioquimica*, Ed. Omega S. A. , Barcelona.
- 27) LITZLER, R. , CERF, R. y SANDRON, C. (1964) *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **259**, 473.
- 28) COHEN, G. y EISENBERG, H. (1966) *Biopol.* **4**, 429.
- 29) BROERSMA, S. (1960) *J. Chem. Phys.* **32**, 1626.
- 30) HOUSSIER, C. (1981) *En: Molecular Electro-Optics, Electro-Optic Properties of Macromolecules and Colloids in Solution* (ed. Sonja Krause), p. 363. Plenum Press, New York.
- 31) HOGAN, M. , DATTA GUPTA, N. y CROTHERS, D. M. (1978) *Proc. Natl. Ac. Sc.* **76**, 195.
- 32) WEILL, G. , HORNICK, C. y STOYLOV, S. (1968) *J. Chem. Phys.* **65**, 162.
- 33) OOSAWA F. , IMAI, N. y KAGAWA, I. (1954) *J. Polymer Sci.* **25**, 94.
- 34) MANDEL, M. (1981) *En: Molecular Electro-Optics, Electro-Optic Properties of Macromolecules and Colloids in Solution* (ed. Sonja Krause), p. 285. Plenum Press, New York.
- 35) VERWEY, E. J. W. y OVERBEEK, J. TH. C. (1948) *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*, Elsevier, Amsterdam.
- 36) ALEXANDROWICZ, Z. y KATCHALSKY, A. (1963) *J. Polymer Sci. A*, **1**, 3231.
- 37) STIGTER, D. (1975) *J. Colloid. Interf. Sci.* , **53**, 296.
- 38) STIGTER, D. (1977) *Biopolymers*, **16**, 1435.
- 39) MANNING, G. S. (1969) *J. Chem. Phys.*, **51**, 3249.
- 40) MANNING, G. S. (1977) *Biophys. Chem.*, **7**, 95.
- 41) OOSAWA, F. (1957) *J. Polymer Sci.* , **23**, 421.
- 42) OOSAWA, F. (1971) *Polyelectrolytes*, Marcel Dekker Inc. , New York.
- 43) OOSAWA, F. (1970) *Biopolymers* **9**, 677.
- 44) LANDAU, L. D. y LIFSHITZ, E. M. (1958) *Statistical Physics*, Pergamon Press, Londres.
- 45) MANDEL, M. (1961) *Mol. Phys.* **4**, 489.

- 46) EYRING, H. , WALTER, T. L. J. y KIMBALL, G. E. (1963) John Wiley and Sons, Inc., New York.
- 47) FREDERICQ, E. y HOUSIER, C. (1973) Electric Dichroism and Electric Birefringence, Clarendon Press, Oxford, U.K.
- 48) YAMAOKA, K. y CHARNEY, E. (1973) Macromolecules **6**, 66.
- 49) MAESTRE, M. F. y KILKSON, R. (1965) Biophysical Journal **5**, 275.
- 50) ELLIOTT, G. F. (1968) J. Theoret. Biol. , **21**, 71.
- 51) BRENNER, S. L. y PARSESIAN, V. A. (1974) Biophys. J., **14**, 327.
- 52) BRENNER, S. L. y MC. QUARRIE, D. A. (1973) J. Colloid Interf. Sci., **44**, 298.
- 53) OOSAWA, F. (1968) Biopolymers, **6**, 1633.
- 54) KIRKWOOD, J. G. y SHUMAKER, J. B. (1952) Proc. N. A. S., **38**, 863.
- 55) OKAMOTO, S. y HACHISU, S. (1973) J. Colloid Interf. Sci., **43**, 30.
- 56) KAY, E. R. M. , SIMMONS, N.S. y DOUNCE, A. L. (1952) J. Am. Chem. Soc. , **74**, 1724.
- 57) FREDERICQ, E. (1962) Biochim. Biophys. Acta, **55**, 300.
- 58) COLSON, P. , HOUSIER, C. y FREDERICQ, E. (1974) Biochim. Biophys. Acta **340**, 244.
- 59) EIGNER, J. y DOTY, P. (1965) J. Mol. Biol. , **12**, 549.
- 60) LOWRY, O. H. , ROSELBROUGH, N. J. , FARR, A. L. y RANDALL, R. J. (1951) J. Biol Chem. , **193**, 265.
- 61) HOUSIER, C. y O' KONSKI, CH. T. (1981) " Molecular Electro-optics. Electro-optic Properties of Macromolecules and Colloids in Solution" (ed. Sonja Krause), p. 309. Plenum Press, New York.
- 62) BERNENGO, J. C. , ROUX, B. y HANSS, M. (1973) Rev. Sci. Instrum. , **44**, 1083.
- 63) BERTOLOTTO, J. A. y FARIAS DE LA TORRE, E. M. (1986) Revista Telegráfica Electrónica, **871**, 218.
- 64) BERTOLOTTO, J. A. , FARIAS DE LA TORRE, E. M. y CORRAL, G. M. (1987) Revista Telegráfica Electrónica, **888**, 1590.
- 65) BURCH, J. M. y GERRARD, A. Introduction to Matrix

Methods in Optics. Wiley & Sons, New York.

- 66) VAN HOLDE, K. E. (1979) Bioquímica Física, Ed. Alhambra, Madrid.
- 67) BRICE, B. A. y HALWER, M. (1951) J. Opt. Soc. Am., **41**, 1033.
- 68) GRIGERA, J. R., VERICAT, F., RUDERMAN, G. y DE XAMMAR ORO, J. R. (1989) Chem. Phys. Letter, **156**, 615.
- 69) DE XAMMAR ORO, J. R. (1981) Propiedades dieléctricas del ácido desoxirribonucleico en solución, Tesis Doctoral de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.
- 70) BERNAL, J. D. y FANKUCHEN, I. (1941) J. Gen. Physiol. **25**, 111.

A handwritten signature or set of initials in black ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke extending to the right.