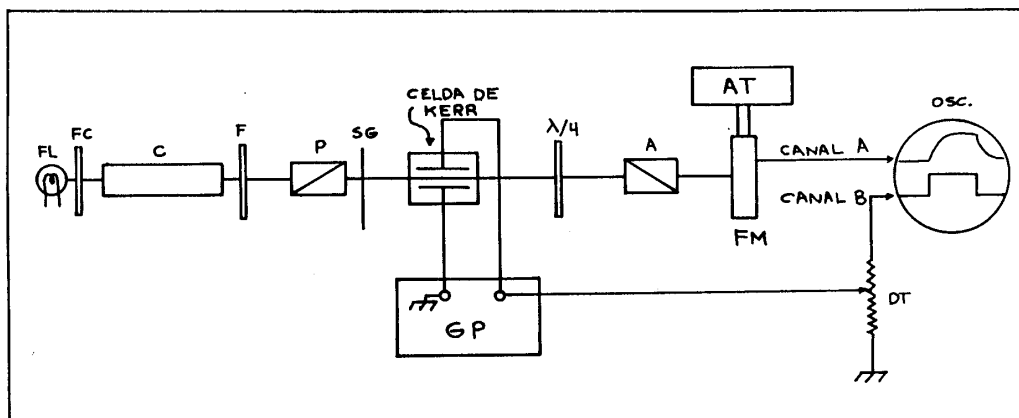


VIII EQUIPO PARA LA DETERMINACION DE LA BIRREFRINGENCIA ELECTRICA DE MACROMOLECULAS EN SOLUCION.

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.

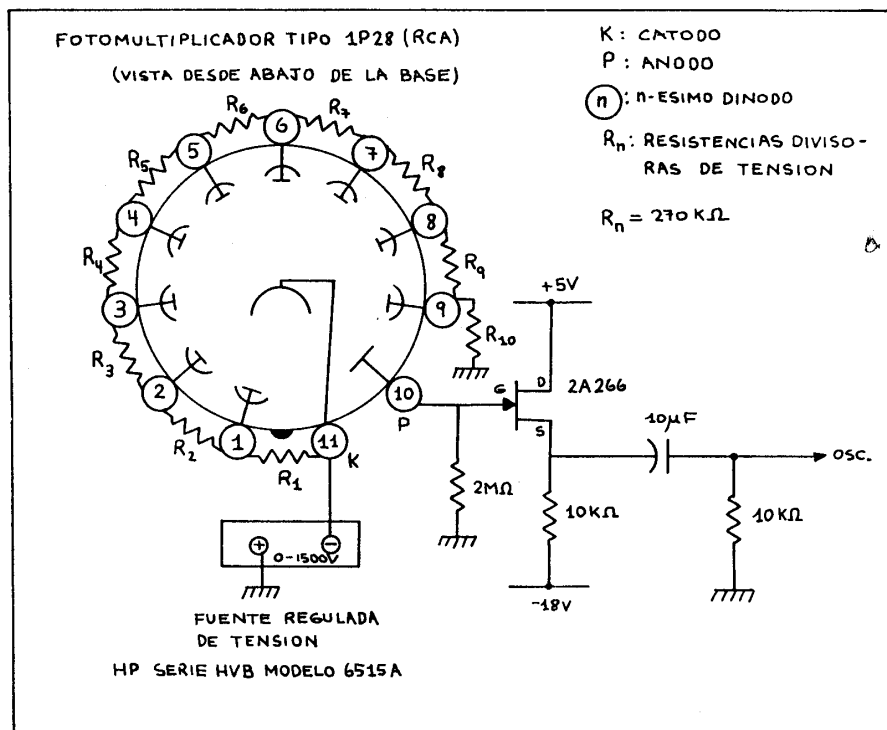


Figura VIII.2

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 :

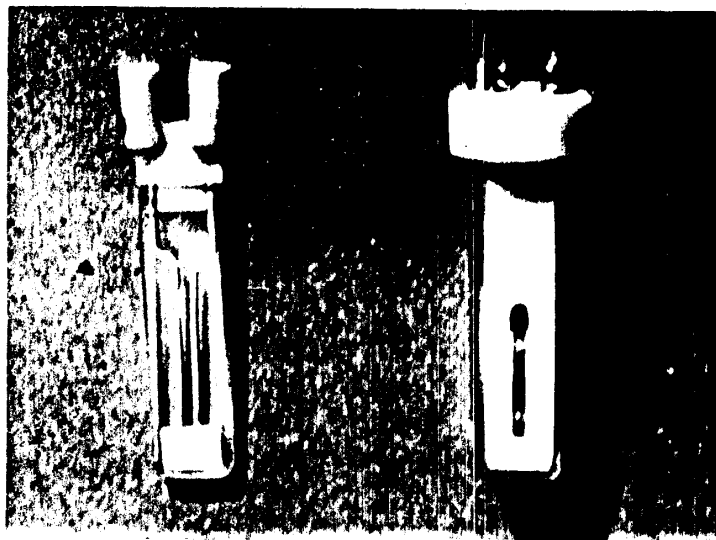


Figura VIII.3

(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:

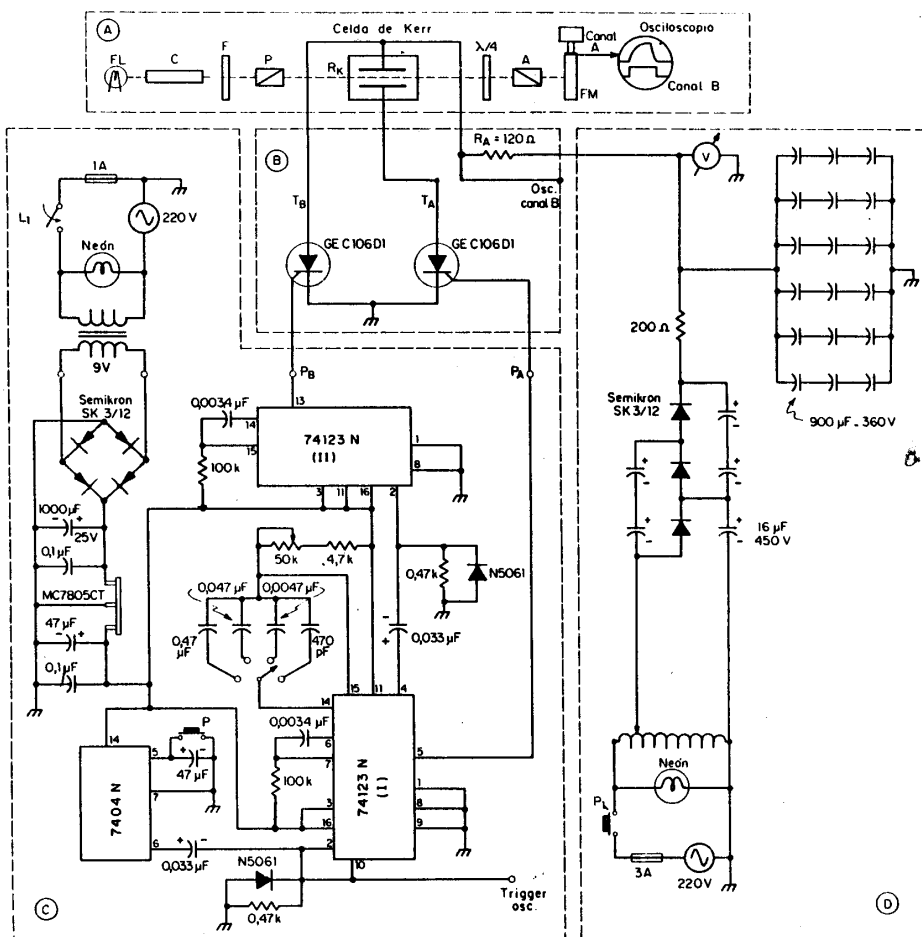
Al ser disparado el tiristor T_A por el pulso P_A , proveniente del generador de pulsos de disparo mostrado en la Fig. VIII.4 con (C), queda aplicada a la celda de Kerr la tensión de la batería de capacitores, Fig. VIII.4 parte (D), la cual ha sido cargada mediante el multiplicador de tensión. Su descarga 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.

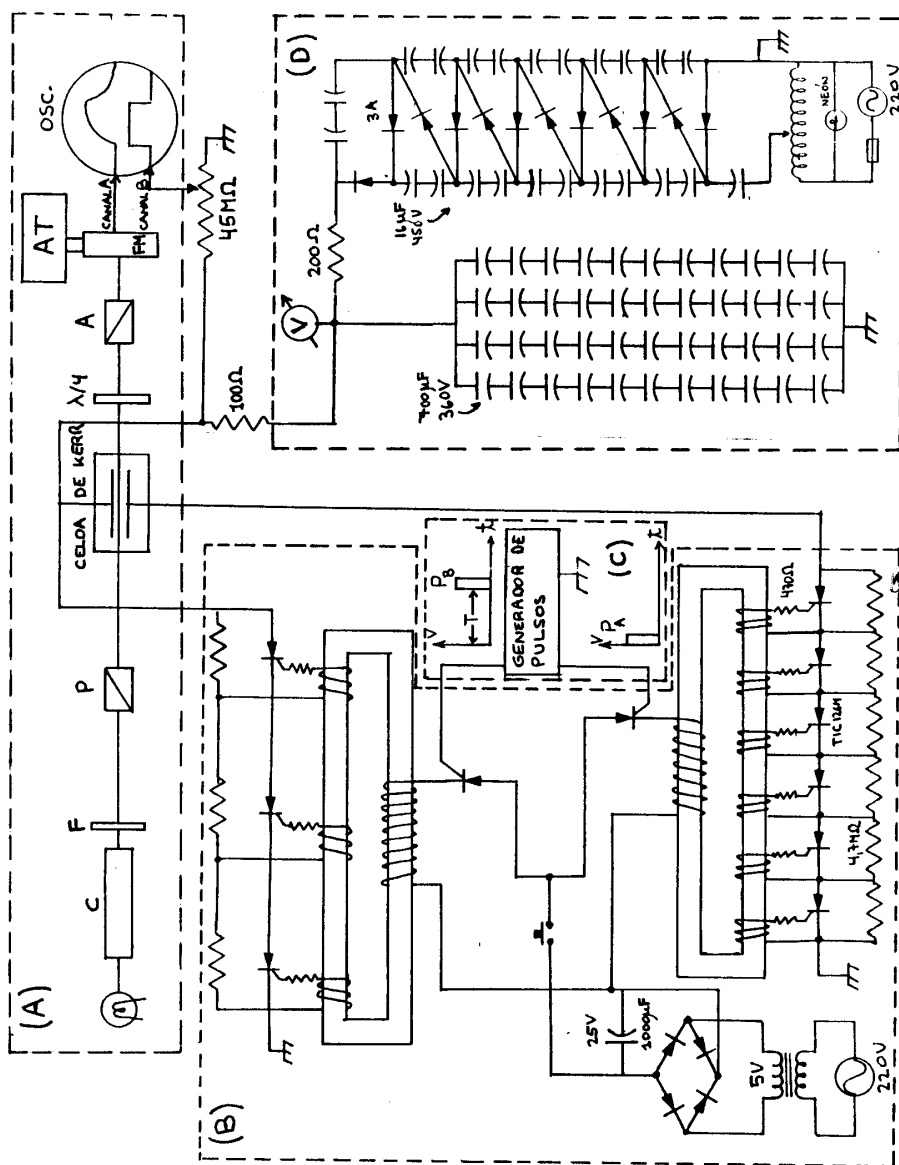
VIII.4 Generador de pulsos de alta tensión:

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-

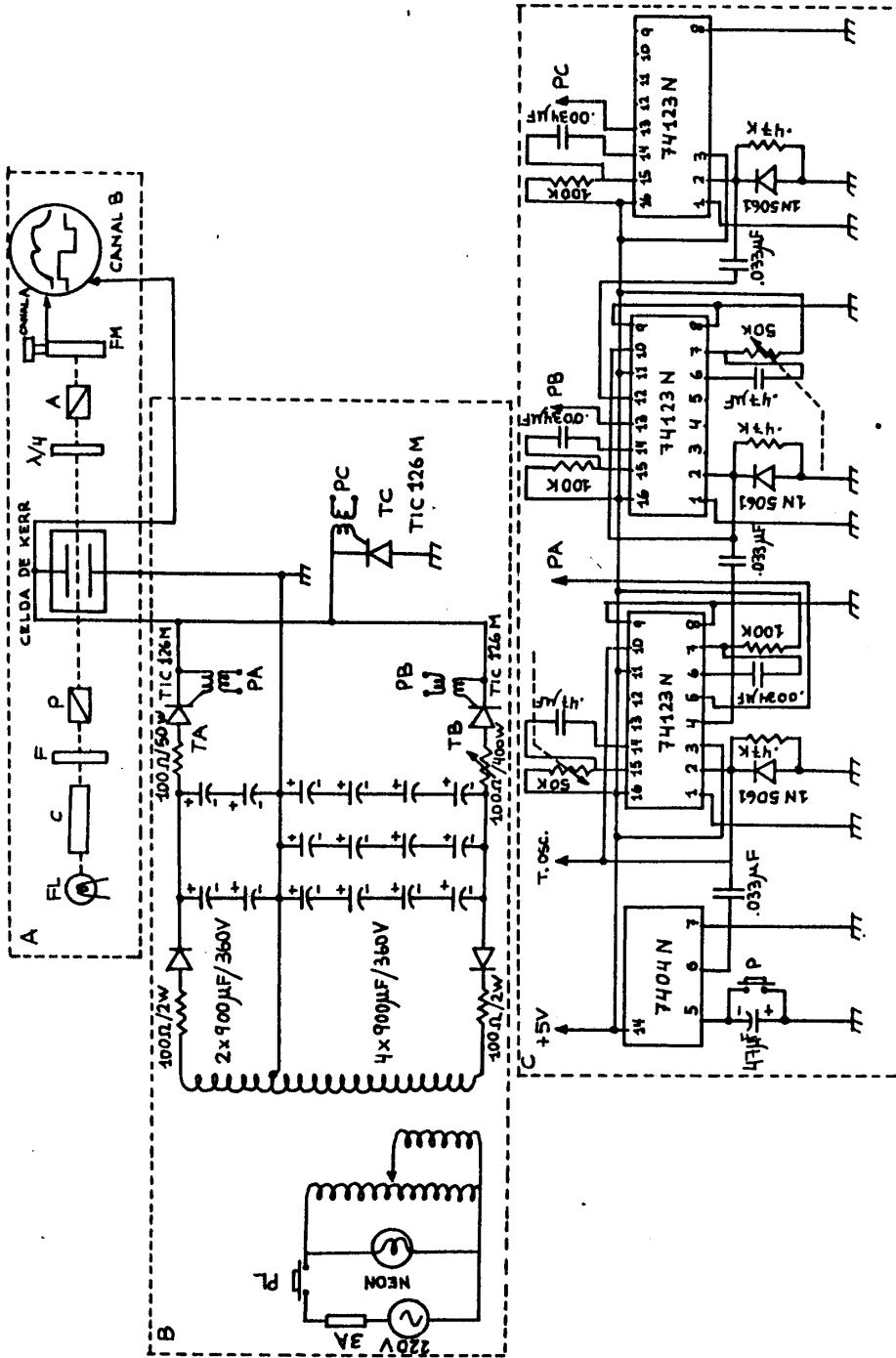
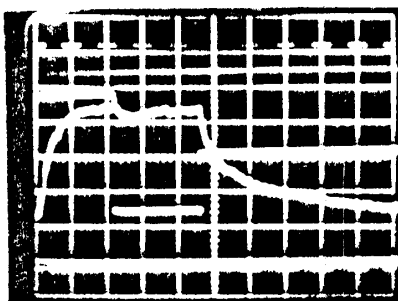


Figura VIII.6

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

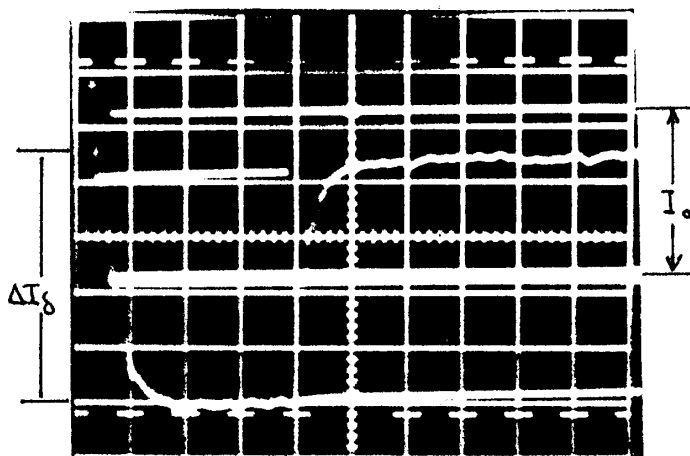


Figura VIII.8

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)