

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 sonicado, 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 sonicado 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 ⁽¹¹⁾ 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 sonificado

XIII.2.1. Determinación de la longitud del macroion

El tiempo de relajación medio para el ADN sonificado, determinado en la forma descripta en la sección IX.4, es de 13,2 μ s para el rango de concentración 18,4 mg/dl-55,5 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 sonificado

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

$$\Delta n_s = (2\pi c_1/n)(\alpha_{33}^0 - \alpha_{11}^0) \quad (\text{V.5})$$

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

$$(\alpha_{33}^0 - \alpha_{11}^0) = -4,146 \times 10^{-21} \text{ cm}^3 \quad (L=1130 \text{ \AA}) \quad (\text{XIII.4})$$

XIII.2.3. Determinación de los términos α_{11}^0 y α_{33}^0 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 α_{33}^0 y α_{11}^0

$$\delta n = (2\pi c_1/n_1)[(\alpha_{33}^0 + 2\alpha_{11}^0)/3] \quad (\text{V.8})$$

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 $(\alpha_{E33} - \alpha_{E11})$

$$K_{\text{Kerr}} = \Delta n_s (\alpha_{E33} - \alpha_{E11}) / (15KT) \quad (\text{XIII.8})$$

Reemplazando en la ecuación (XIII.8) la expresión (XIII.3) para Δn_s con $c=38 \text{ mg/dl}$ y el valor de K_{Kerr} dado en la ecuación (XIII.7) se encuentra

$$(\alpha_{E33} - \alpha_{E11}) = 1,455 \times 10^{-15} \text{ cm}^3 \quad (\text{XIII.9})$$

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.

$$Q = [e^2/(\epsilon_1 KT)](N/L) \quad (\text{XIII.11})$$

La densidad lineal numérica de cargas fijas del ADN se toma

$$N/L = 1/(1,7 \times 10^{-8}) \quad (\text{ver sección II})$$

$$j/f = c_0/(Nc_1) \quad f = b^2/R^2 \quad (\text{XIII.12})$$

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 $V_1 = 1-X+X(PL-QM)-Y(PM+QL)$ (XIII.24)

y $V_2 = -Y+Y(PL-QM)+X(PM+QL)$ (XIII.25)

$$X = [1+(\sqrt{\epsilon}/\epsilon_0)^2]^{-1} \quad (\text{XIII.26})$$

$$Y = (\sqrt{\epsilon}/\epsilon_0)[1+(\sqrt{\epsilon}/\epsilon_0)^2]^{-1} \quad (\text{XIII.27})$$

$$L = \exp[-(\kappa^+)(r-a)] \cos[(\kappa^-)(r-a)] \quad (\text{XIII.28})$$

$$M = \exp[-(\kappa^+)(r-a)] \text{sen}[(\kappa^-)(r-a)] \quad (\text{XIII.29})$$

$$\kappa_{+-} = \{[1+(\nu/\nu_0)^2]^{1/2} + -1\}^{1/2} (1/2)^{1/2} \quad (\text{XIII.30})$$

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:

$$g(r, V) = \{V_1 \cos \delta - V_2 \sin \delta\} \quad (\text{XIII.37})$$

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

$$g(r, V) = [1-X] = \{\epsilon^2 / [\epsilon^2 + (\sigma/V)^2]\} \quad (\text{XIII.38})$$

Este resultado coincide con el obtenido por GRIGERA y otros⁽⁵⁸⁾.

Para $\delta=0$ y $V=0$ 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 $\langle dV \rangle$

$$\langle dV \rangle = (e^2/\epsilon_1) \nu_1 \nu_2 dx_1 \int_0^L (P_e/r_{12}) dx_2 \quad (\text{XIII.51})$$

Por otro lado $\langle (dV)^2 \rangle$ se escribe

$$\begin{aligned} \langle (dV)^2 \rangle = & \langle dV \rangle^2 + (e^4/\epsilon_1^2) \nu_1^2 E_2 (dx_1)^2 + (e^4/\epsilon_1^2) \nu_2^2 E_3 (dx_1)^2 + \\ & + (e^4/\epsilon_1^2) E_4 (dx_1)^2 \end{aligned} \quad (\text{XIII.52})$$

$$E_2 = \int_0^L \int_0^L (P_e(r)/r) (P_e(r')/r') \langle \delta V^*(x_2) \delta V^*(x_2') \rangle dx_2 dx_2' \quad (\text{XIII.53})$$

$$E_3 = \int_0^L \int_0^L \langle (\delta V^*(x_1))^2 \rangle G_1(r, r') (1/r) (1/r') dx_2 dx_2' \quad (\text{XIII.54})$$

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 $c_2=1/[\pi L(H/2)^2]$.

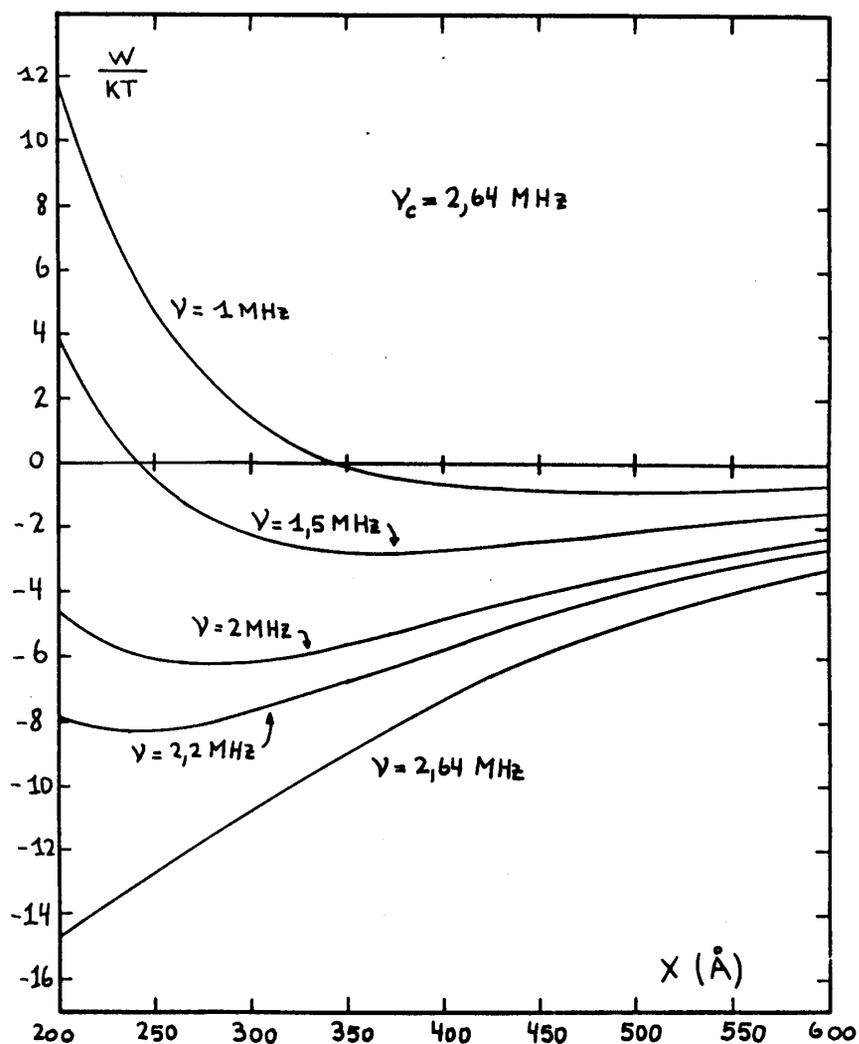


Figura XIII.1

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.

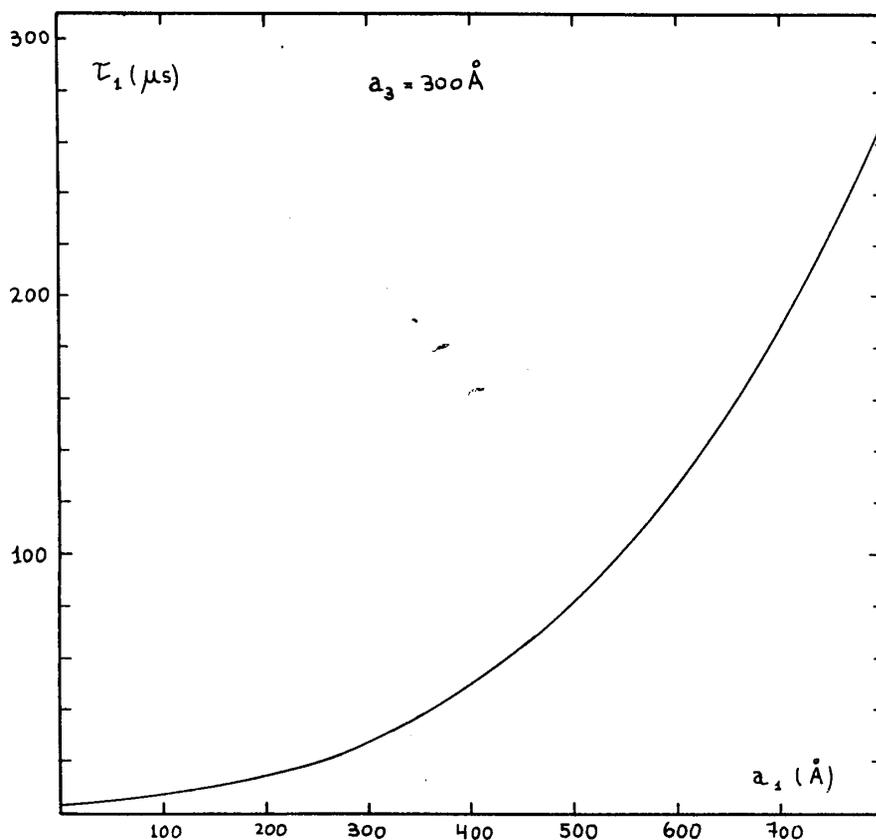


Figura XIII.2

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-

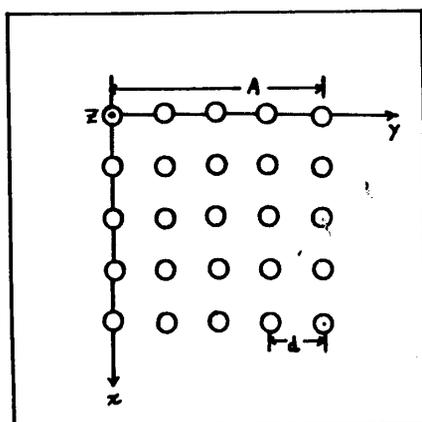


Figura XIII.3

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:

$$\delta U = (1/2) \int_{V_a} \int_{V_a} \delta c_F(\mathbf{r}) \delta c_F(\mathbf{r}') \Psi(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|) d\mathbf{v} d\mathbf{v}' \quad (\text{XIII.74})$$

donde $\Psi(|\mathbf{r}-\mathbf{r}'|)$ es la energía de interacción entre las contraciones 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:

$$c_{\mathbf{k}} = (1/V_a) \int_{V_a} \delta c_F(\mathbf{r}) \exp[-i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}] d\mathbf{v} \quad (\text{XIII.76})$$

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:

$$\delta U = (V_a/2) \sum_{\mathbf{k}} \sum_{\mathbf{k}'} c_{\mathbf{k}} c_{\mathbf{k}'} \int_{V_a} \Psi_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} \exp[i(\mathbf{k}+\mathbf{k}') \cdot \mathbf{r}] d\mathbf{v} \quad (\text{XIII.78})$$

donde el coeficiente de Fourier $\Psi_{\mathbf{k}\mathbf{k}'}$ vale:

$$\Psi_{\mathbf{k}\mathbf{k}'} = (2/V_a) \int_{V_a} \exp(i\mathbf{k}' \cdot \mathbf{d}) \Psi(|\mathbf{d}|) d\mathbf{d} \quad (\text{XIII.79})$$

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 cilindrico 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 segun la teoria 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 sonificado 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.

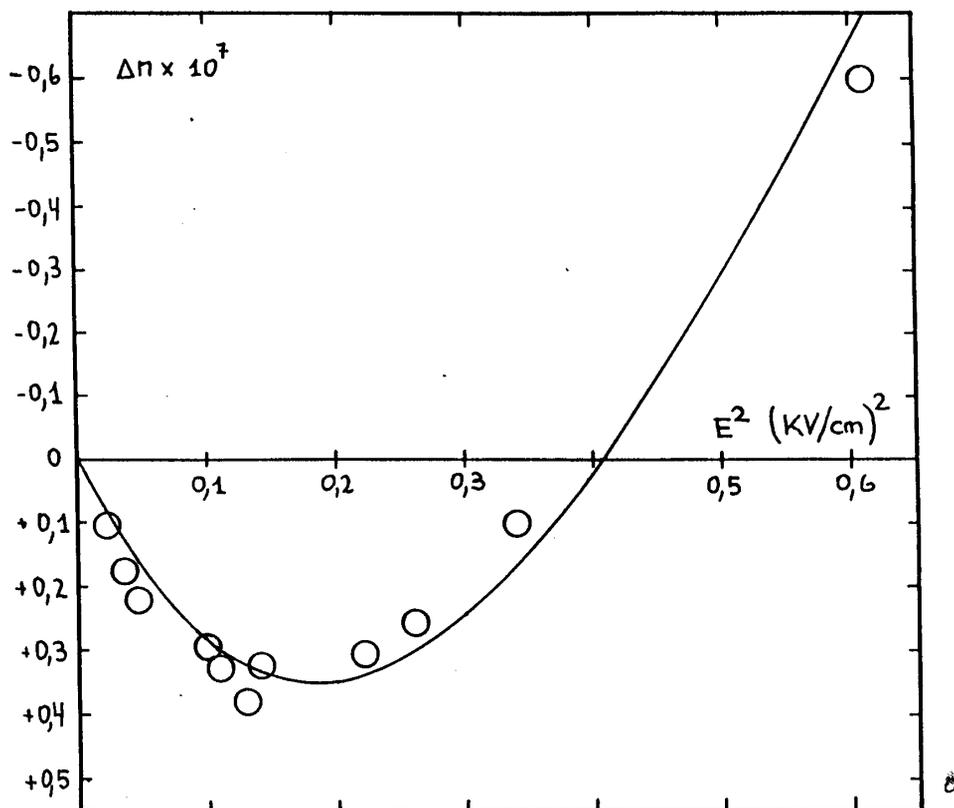


Figura XIII.4

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%).

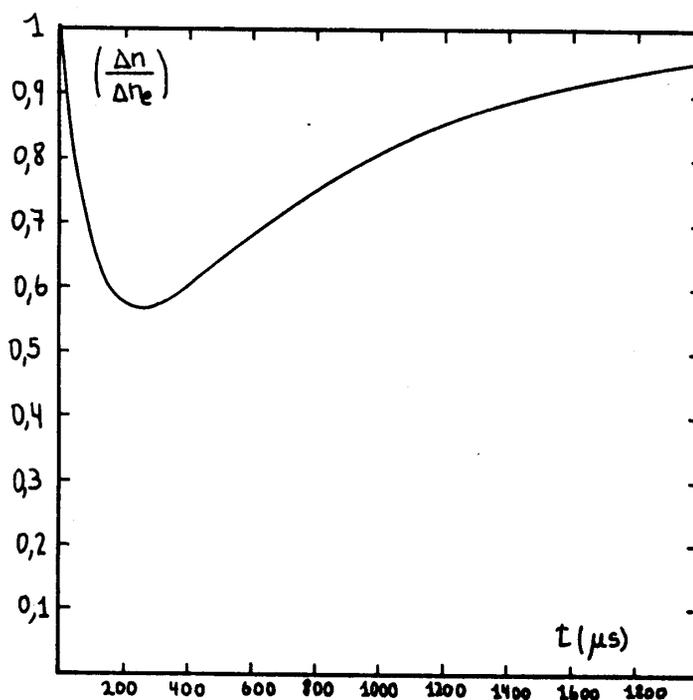


Figura XIII.5

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.

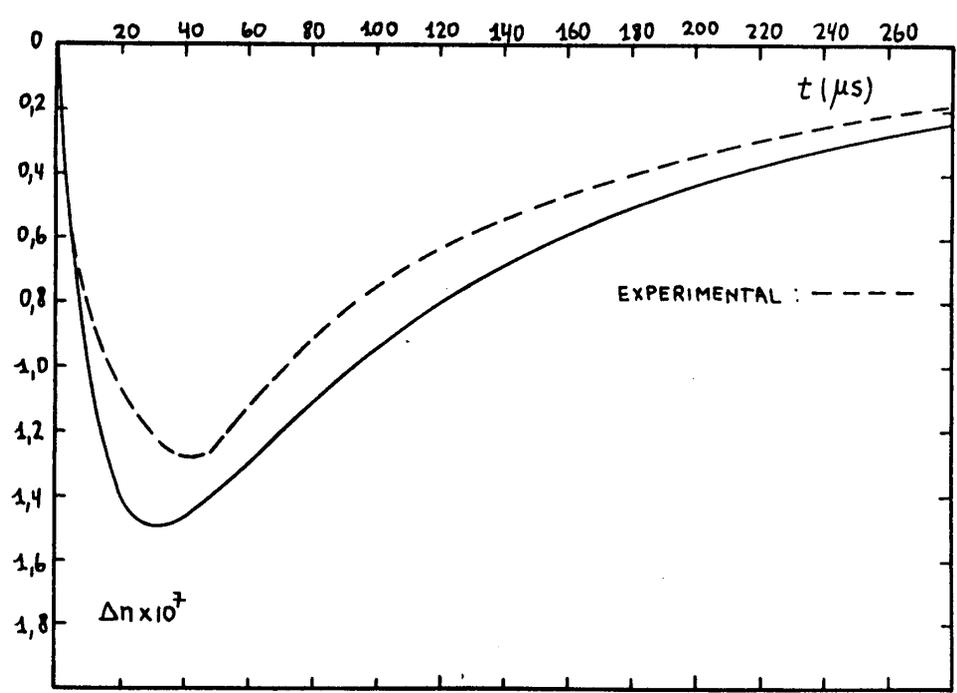


Figura XIII.6