

BIRREFRINGENCIA ELÉCTRICA DEL ADN**ELECTRIC BIREFRINGENCE OF DNA****J. P. Umazano, J.A. Bertolotto***Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad Nacional de La Pampa - IFLYSIB - CONICET
Avenida Uruguay 151- (6300) Santa Rosa – La Pampa - ArgentinaFacultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad Nacional de La Pampa
Avenida Uruguay 151- (6300) Santa Rosa – La Pampa - Argentina

* e-mail: jbertolotto@exactas.unlpam.edu.ar

Se calcula la birrefringencia eléctrica del ADN considerando a la molécula como un conjunto de osciladores que interactúan entre sí y con el campo eléctrico de la luz incidente. Se aplica la teoría clásica de DeVoe de interacción de la luz con sistemas moleculares. La birrefringencia se expresa en función de las polarizabilidades de los osciladores que se obtienen a partir del espectro de absorción del ADN. Se emplean datos experimentales de birrefringencia de saturación para analizar las distintas contribuciones de las polarizabilidades ópticas a la birrefringencia del ADN.

Palabras Claves: birrefringencia eléctrica, ADN, polarizabilidad óptica, dipolos acoplados

The electric birefringence of DNA is calculated considering the molecule as a array of oscillators which interact between them and with the electric field of the incident light. The DeVoe's classic theory of interaction of light with molecular systems is applied. The birefringence is expressed as a function of the oscillators' polarizability, which is obtained from the absorption spectra of DNA. Experimental data of saturation birefringence is used to analyze the different contributions of the optical polarizability to the birefringence of DNA.

Key Word: electric birefringence, DNA, optical polarizability, coupled dipole

I. INTRODUCCIÓN

El ADN es una macromolécula ópticamente anisotrópica. Por lo tanto, una solución acuosa de tales macromoléculas se manifiesta birrefringente cuando sobre ella actúa la influencia orientadora de un campo eléctrico externo. Si bajo esta condición se hace incidir un haz de luz plano polarizado sobre la solución, con el plano de polarización paralelo a la dirección del campo orientador, éste se propagará con diferente velocidad de la que tendría si estuviese plano polarizado en dirección perpendicular al campo eléctrico. Esto ocurre porque según éstas dos direcciones la solución presenta índices de refracción diferentes, la diferencia de los cuales determina la birrefringencia eléctrica de la solución.

En la actualidad existen teorías^[1,2] para el estudio de la birrefringencia eléctrica de macromoléculas y coloides en función de las propiedades eléctricas y ópticas de las mismas. Estas teorías consideran la interacción entre las moléculas y el campo eléctrico de la luz incidente, pero no consideran la interacción entre las distintas partes de la molécula. Una alternativa a las teorías de birrefringencia eléctrica ya existentes, que permite incluir las interacciones intramoleculares, se puede realizar empleando la teoría de DeVoe^[3] de interacción de la luz con la materia. Dicha teoría considera a las moléculas como un conjunto de osciladores que interactúan entre sí y con el haz de luz incidente. La polarizabilidad asignada a los osciladores debe ser representativa de las transiciones electrónicas que el campo eléctrico de la luz incidente induce en la molécula. Una aplicación de la teoría de DeVoe al estudio de las propiedades ópticas del ADN

fue realizada por Self and Moore^[4,5], quienes estudiaron la absorción y el dicroísmo en la región infrarroja del espectro.

Empleando la teoría de DeVoe, en el presente trabajo se expresa la birrefringencia eléctrica del ADN en función de la polarizabilidad óptica de los osciladores y se estudia la contribución a la birrefringencia de la absorción debida a las distintas transiciones en las moléculas de ADN. También se estima la polarizabilidad óptica de los osciladores a partir de medidas experimentales.

II. TEORÍA

Consideremos una solución acuosa de fragmentos de ADN tipo varilla recta, orientados preferencialmente en el espacio por acción de un campo eléctrico externo estático y homogéneo, y sobre la cual incide un haz de luz plano polarizado. El sistema de coordenadas de laboratorio (SL) se elige de manera que el campo eléctrico externo se encuentra dirigido según la dirección positiva del eje z , mientras que el haz de luz incidente se propaga en la dirección positiva del eje x con un vector campo eléctrico dado por

$$\vec{E}(x) = \begin{bmatrix} 0 \\ E_{0y} \exp(-in_y \omega x / c) \\ E_{0z} \exp(-in_z \omega x / c) \end{bmatrix} \quad (1)$$

donde n_y y n_z son los índices de refracción de la solución según las direcciones y y z respectivamente, ω la frecuencia angular de la luz y c la velocidad de la luz en el vacío.

Cada una de las moléculas de la solución se polariza por acción del campo eléctrico de la luz que sobre ellas incide. La expresión macroscópica del vector polarización de la solución tiene la forma

$$\vec{P}(x) = \begin{bmatrix} 0 \\ P_{0y} \exp(-in_y \omega x / c) \\ P_{0z} \exp(-in_z \omega x / c) \end{bmatrix} \quad (2)$$

donde P_{0y} y P_{0z} son amplitudes independientes de la posición.

A escala microscópica la polarización se define como el momento dipolar eléctrico por centímetro cúbico, promediado sobre un volumen representativo pequeño denominado microvolumen. Tal definición microscópica debe ser compatible con la correspondiente definición macroscópica dada por la ec (2). La definición microscópica de \vec{P} que conduce a amplitudes independientes de la posición multiplicados por los correspondientes factores de fase, viene dada por

$$\vec{P}(x) = \frac{N_m}{V} \sum_i \left\langle \begin{bmatrix} 0 \\ \mu_{iy} \exp[-in_y \omega(x-x_i)/c] \\ \mu_{iz} \exp[-in_z \omega(x-x_i)/c] \end{bmatrix} \right\rangle \quad (3)$$

donde N_m es el número de moléculas en el microvolumen de volumen V , μ_{iy} y μ_{iz} son las componentes y , z del momento dipolar μ_i inducido en el oscilador i , x_i la coordenada x de ese oscilador y donde la suma se extiende sobre todos los osciladores en una molécula. Los brackets indican promedio sobre todas las orientaciones.

Consideramos que el microvolumen contiene NV moléculas de soluto y $N_s V$ moléculas de solvente, siendo N y N_s el número de moléculas de soluto y solvente por centímetro cúbico, respectivamente. Considerando que cada molécula de solvente esta caracterizada por un sólo oscilador con un tensor polarizabilidad óptica isotrópico de la forma $\alpha_s = \alpha_s \vec{I}$, donde \vec{I} es la matriz unidad, entonces a partir de la ec (3) la contribución del solvente al vector polarización resulta

$$\vec{P}_s(x) = N_s \alpha_s \vec{I} \left[\vec{E}(x) + \frac{4\pi}{3} \vec{P}(x) \right] \quad (4)$$

donde hemos empleado la aproximación de Lorentz-Lorent para el campo eléctrico local sobre cada molécula de solvente.

Para obtener una expresión para la contribución del soluto al vector polarización, consideramos que cada molécula del mismo esta constituida por M osciladores eléctricos interactuantes, cada uno caracterizado por un tensor polarizabilidad óptica complejo que en el sistema del cuerpo (SC) tiene la forma

$$\alpha_i = \begin{bmatrix} \alpha_{\perp} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_{\perp} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{\parallel} \end{bmatrix} \quad (5)$$

donde α_{\parallel} y α_{\perp} representan las polarizabilidades ópticas de los osciladores según las direcciones paralela y perpendicular al eje de la hélice de la molécula de ADN, respectivamente.

El campo eléctrico sobre el oscilador i se obtiene adicionando al campo de Lorentz-Lorent el campo debido a los otros osciladores contenidos en la molécula. De esta manera el momento inducido en el oscilador i queda determinado por la siguiente ecuación

$$\mu_i = (R^{-1} \alpha_i R) \left[\vec{E}(x_i) + \frac{4\pi}{3} \vec{P}(x_i) \right] - (R^{-1} \alpha_i R) \sum_j (R^{-1} \vec{T}_{ij} R) \cdot \mu_j \quad (6)$$

donde R es la matriz de transformación de Euler del sistema SL al sistema SC y donde \vec{T}_{ij} es el tensor de interacción dipolar entre los osciladores i y j definido por

$$\vec{T}_{ij} = (\vec{I} - 3 \hat{e}_{ij} \hat{e}_{ij}^t) r_{ij}^{-3} \quad (7)$$

siendo \hat{e}_{ij} el versor dirigido desde la posición del dipolo j hacia la posición del dipolo i .

Resolviendo la ec (6) para μ_i obtenemos

$$\mu_i = \sum_j (R^{-1} [A_{ij}] R) \left[\vec{E}(x_j) + \frac{4\pi}{3} \vec{P}(x_j) \right] \quad (8)$$

donde $[A_{ij}]$ son bloques de dimensión 3×3 de la hipermatriz A dada por

$$\begin{bmatrix} [A_{11}] & [A_{12}] & \dots & [A_{1M}] \\ [A_{21}] & [A_{22}] & \dots & [A_{2M}] \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ [A_{M1}] & [A_{M2}] & \dots & [A_{MM}] \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} [B_{11}] & [B_{12}] & \dots & [B_{1M}] \\ [B_{21}] & [B_{22}] & \dots & [B_{2M}] \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ [B_{M1}] & [B_{M2}] & \dots & [B_{MM}] \end{bmatrix}^{-1} \quad (9)$$

siendo

$$[B_{ij}] = \delta_{ij} \alpha_i^{-1} + \vec{T}_{ij} \quad (10)$$

A partir de las ecs (8) y (3) la contribución del solvente a la polarización de la solución resulta

$$\vec{P}(x) = N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle \left[\vec{E}(x) + \frac{4\pi}{3} \vec{P}(x) \right] \quad (11)$$

donde hemos tenido en cuenta que el valor promedio sobre todas las orientaciones de $[A_{ij}]_{a,b}$ es nulo para todos los bloques i, j si a es distinto de b , y donde hemos considerado igual a uno los factores $\exp[-in_{y,z}(x_j - x_i)/c]$ que representan el cambio de fase a través de la molécula. Teniendo en cuenta que la interacción dipolar es apreciable hasta unos $10nm$ de separación entre dipolos, un cálculo numérico nos

indica que en el peor de los casos este factor es realmente $0.99 - i0.15$, para $n_{y,z} = 1.33$ y $\lambda = 589nm$. Considerando las contribuciones del soluto y del solvente resulta la siguiente ecuación para la polarización

$$\bar{P}(x) = \left[N_s \alpha_s \bar{I} + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle \right] \left[\bar{E}(x) + \frac{4\pi}{3} \bar{P}(x) \right] \quad (12)$$

El tensor susceptibilidad eléctrica de la solución, χ , se puede obtener a partir de la ec (12) y de la relación $\bar{P} = \chi \bar{E}$. Las componentes de mismo resultan

$$\chi_x = \frac{N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{1,1}}{-1 + \frac{4\pi}{3} \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{1,1} \right)} \quad (13.a)$$

$$\chi_y = \frac{N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2}}{-1 + \frac{4\pi}{3} \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2} \right)} \quad (13.b)$$

$$\chi_z = \frac{N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{3,3}}{-1 + \frac{4\pi}{3} \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{3,3} \right)} \quad (13.c)$$

Índices de refracción y birrefringencia eléctrica

Los valores de los índices de refracción complejos según las direcciones paralela y perpendicular al campo orientador se relacionan con los elementos del tensor constante dieléctrica de la siguiente manera^[6]

$$n_z^2 = \epsilon_z \quad n_y^2 = \epsilon_y \quad (14)$$

donde ϵ_y y ϵ_z son dos de las componentes de tensor constante dieléctrica de la solución. Empleando las ecs (13.a-c) y la relación $\epsilon = 1 + 4\pi\chi$ resultan dos expresiones para ϵ_y y ϵ_z , que reemplazadas en las ec (14) nos conducen a los siguientes índices de refracción

$$n_y^2 = 1 + \frac{4\pi \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2} \right)}{1 - \frac{4\pi}{3} \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2} \right)} \quad (15.a)$$

$$n_z^2 = 1 + \frac{4\pi \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{3,3} \right)}{1 - \frac{4\pi}{3} \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{3,3} \right)} \quad (15.b)$$

Una vez conocidos los índices de refracción complejos de la solución, la birrefringencia eléctrica se obtiene simplemente mediante la diferencia

$$\Delta n_r = Re(n_z - n_y) \quad (16)$$

Espectro de absorción y relaciones de Kronig-Kramers para la polarizabilidad

Nos interesa obtener una expresión para el coeficiente de absorción de una solución de moléculas aleatoriamente orientadas. En este caso los valores promedios presentes en las ecs (15.a) y (15.b) son iguales y la solución presenta un sólo índice de refracción $n = n_y = n_z$, que satisface la siguiente ecuación

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = \frac{4\pi}{3} \left(N_s \alpha_s + N \sum_{i,j} \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2} \right) \quad (17)$$

Expresando el índice de refracción como suma de su parte real y su parte imaginaria, es decir $n = n_r + in_i$, y teniendo en cuenta que para soluciones diluidas $n_i \ll n_r$, entonces a partir de la ec (17) resulta

$$n_i = -C 2\pi N \sum_{i,j} Im \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2} \quad (18)$$

donde

$$C = \frac{(n_r^2 + 2)^2}{9n_r} \cong \frac{(n_s^2 + 2)^2}{9n_s} \quad (19)$$

siendo n_s el índice de refracción del solvente.

El coeficiente de absorción por mol de molécula, $\gamma(\lambda)$, se obtiene a partir de la parte imaginaria del índice de refracción empleando la ley de Lambert-Beer^[2]

$$\gamma(\lambda) = -\frac{4\pi N_0}{2303\lambda N} n_i \quad (20)$$

$$\gamma(\lambda) = -C \frac{8\pi^2 N_0}{2303\lambda} \sum_{i,j} Im \langle [A_{ij}]_{SL} \rangle_{2,2} \quad (21)$$

Debido a que $\gamma(\lambda)$ es una cantidad medible, la ec (21) provee una forma de conocer la parte imaginaria de la polarizabilidad de los osciladores en función de la longitud de onda, mientras que la parte real se obtiene empleando una de las relaciones Kronig-Kramers^[3]

$$Re \alpha(\lambda) = -\frac{2}{\pi} \int_0^\infty \frac{Im \alpha(\lambda')}{1 - (\lambda'/\lambda)^2} d\lambda' \quad (22)$$

La relación anterior se aplica a cada una de las componentes del tensor polarizabilidad óptica.

Birrefringencia eléctrica de saturación y polarizabilidad molecular

La birrefringencia eléctrica de saturación Δn_{rs} , aquella que corresponde a una orientación completa de

las moléculas en la dirección del eje z , se puede obtener a partir del vector polarización escrito en función de la polarizabilidad molecular α_m

$$\vec{P}(x) = N_s \alpha_s \vec{E} \left[\vec{E}(x) + \frac{4\pi}{3} \vec{P}(x) \right] + N \alpha_m \left[\vec{E}(x) + \frac{4\pi}{3} \vec{P}(x) \right] \quad (23)$$

siendo

$$\alpha_m = \begin{bmatrix} \alpha_{m\perp} & 0 & 0 \\ 0 & \alpha_{m\perp} & 0 \\ 0 & 0 & \alpha_{m\parallel} \end{bmatrix} \quad (24)$$

Aquí $\alpha_{m\parallel}$ y $\alpha_{m\perp}$ son las componentes de la polarizabilidad óptica según las direcciones paralela y perpendicular al eje de la hélice, respectivamente.

Partiendo de la ec (23) y procediendo en forma semejante a lo realizado anteriormente para calcular los índices de refracción dados por las ecs (15.a) y (15.b), podemos determinar a los mismos en función de la polarizabilidad molecular. En este caso resulta

$$n_z^2 = 1 + \frac{4\pi(N_s \alpha_s + N \alpha_{\parallel m})}{1 - 4\pi(N_s \alpha_s + N \alpha_{\parallel m})/3} \quad (25)$$

$$n_y^2 = 1 + \frac{4\pi(N_s \alpha_s + N \alpha_{\perp m})}{1 - 4\pi(N_s \alpha_s + N \alpha_{\perp m})/3} \quad (26)$$

Teniendo en cuenta que a la longitud de onda empleada para medir la birrefringencia (región visible en el caso del ADN) las moléculas no presentan absorción, entonces $n_{rz} = n_z$ y $n_{ry} = n_y$. Finalmente, empleando la aproximación

$$n_{rz}^2 - n_{ry}^2 = (n_{rz} - n_{ry})(n_{rz} + n_{ry}) \cong 2n_{sol} \Delta n_{rs} \quad (27)$$

donde n_{sol} es el índice de refracción del la solución aleatoriamente orientada, que para soluciones diluidas puede considerarse igual al del solvente. La birrefringencia de saturación resulta

$$\Delta n_{rs} = \frac{2\pi}{n_{sol}} \left[\frac{N \alpha_{\parallel m} + N_s \alpha_s}{1 - 4\pi(N \alpha_{\parallel m} + N_s \alpha_s)/3} - \frac{N \alpha_{\perp m} + N_s \alpha_s}{1 - 4\pi(N \alpha_{\perp m} + N_s \alpha_s)/3} \right] \quad (28)$$

La birrefringencia eléctrica de saturación depende de la polarizabilidad óptica de los osciladores a través de la polarizabilidad óptica molecular. Partiendo de la ec (23) y de la relación $\vec{P} = \chi \vec{E}$, las componentes del tensor α_m vienen dadas por

$$\alpha_{\parallel m} = \left[\chi_z - N_s \alpha_s \left(1 + \frac{4\pi}{3} \chi_z \right) \right] \left[N \left(1 + \frac{4\pi}{3} \chi_z \right) \right]^{-1} \quad (29.a)$$

$$\alpha_{\perp m} = \left[\chi_y - N_s \alpha_s \left(1 + \frac{4\pi}{3} \chi_y \right) \right] \left[N \left(1 + \frac{4\pi}{3} \chi_z \right) \right]^{-1} \quad (29.b)$$

donde χ_y y χ_z están dados por la ec (13.b) y (13.c).

Incremento del índice de refracción respecto del solvente

Una solución de moléculas orientadas aleatoriamente presenta un sólo índice de refracción. En la región del espectro donde las moléculas no presentan absorción, el índice de refracción real n_r se puede expresar en forma semejante a las ecs (25) y (26) de la siguiente manera

$$n_r^2 = 1 + \frac{4\pi(N_s \alpha_s + N \alpha_m)}{1 - 4\pi(N_s \alpha_s + N \alpha_m)/3} \quad (30)$$

donde $\alpha_m = (\alpha_{m\parallel} + 2\alpha_{m\perp})/3$ es la polarizabilidad real media de la molécula.

En ausencia de soluto el índice de refracción es simplemente

$$n_{r0}^2 = 1 + \frac{4\pi N_s \alpha_s}{1 - 4\pi N_s \alpha_s / 3} \quad (31)$$

Haciendo la diferencia entre las ecs (30) y (31) y empleando una aproximación análoga a aquella realizada en (27) obtenemos

$$\delta n_r = \frac{2\pi}{n_{sol}} \left[\frac{N \alpha_m + N_s \alpha_s}{1 - 4\pi(N \alpha_m + N_s \alpha_s)/3} - \frac{N_s \alpha_s}{1 - 4\pi N_s \alpha_s / 3} \right] \quad (32)$$

donde $\delta n_r = n_r - n_0$ es el incremento del índice de refracción de la solución respecto del solvente. Notemos que δn_r depende de la polarizabilidad de los osciladores a través de la polarizabilidad media de la molécula.

III. RESULTADOS

En el presente trabajo los osciladores se dispusieron a lo largo de la molécula cada 24 Å y los cálculos fueron realizados empleando un programa escrito en MATLAB 5.1.

La polarizabilidad óptica real de los osciladores en la región visible del espectro se estimó empleando la relación de Kronig-Kramers dada por la ec (22). Previamente se determino la función $Im \alpha(\lambda)$ de manera que el espectro de absorción teórico predicho por la ec (21) reproduzca los resultados experimentales del mismo para varias longitudes de onda.

En este trabajo se empleó el espectro del ADN en solución acuosa medido por Yamaoka y Matsuda^[7]. Dado el problema que representa la intensa absorción del agua para longitudes de onda pequeñas, dicho espectro se completó para las longitudes de onda más bajas con las mediciones del espectro realizadas por Ito e Ito^[8] para el ADN en film, ver Fig. 2. Esto se pudo realizar dado que ambos espectros presentan una forma semejante en la región ultravioleta. Entonces se

determinó un factor de escala de manera que los dos espectros coincidan en dicha región, y se empleó el mismo factor de escala para completar el espectro del ADN en solución acuosa con el espectro del ADN en film para $\lambda < 200nm$.

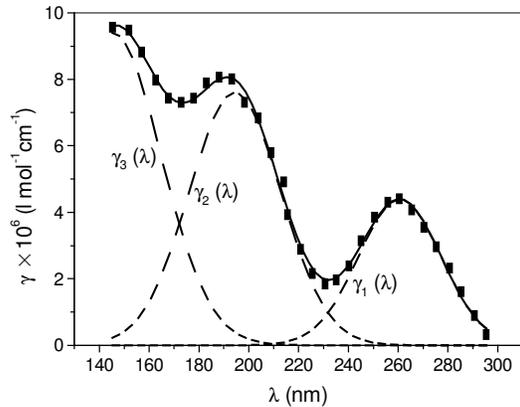


Figura 2: espectro de absorción del ADN (●) valores experimentales (–) ajuste con tres gaussianas

El espectro resultante se ajustó con tres gaussianas caracterizadas por los siguientes valores

$$\lambda_{1m} = 260.61 \text{ nm}$$

$$\sigma_1 = 16.64 \text{ nm}$$

$$\gamma_{1m} = 4.39 \times 10^6 \text{ (l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{)}$$

$$\lambda_{2m} = 194.47 \text{ nm}$$

$$\sigma_2 = 18.44 \text{ nm}$$

$$\gamma_{2m} = 7.59 \times 10^6 \text{ (l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{)}$$

$$\lambda_{3m} = 145.27 \text{ nm}$$

$$\sigma_3 = 19.55 \text{ nm}$$

$$\gamma_{3m} = 9.39 \times 10^6 \text{ (l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{)}$$

donde λ_{im} , σ_i y γ_{im} son la longitud de onda de máxima absorción, la varianza y el valor máximo de la gaussiana i , respectivamente.

La absorción correspondiente a las gaussianas 1 y 2 se atribuyó a polarizabilidades imaginarias de los osciladores asignadas al plano de las bases en forma isotrópica. Dichas polarizabilidades imaginarias se ajustaron para varias longitudes de onda de manera que la ec (21) reproduzca los valores experimentales de $\gamma_I(\lambda) = \gamma_1(\lambda) + \gamma_2(\lambda)$. El ajuste de estos valores permitió conocer la función $Im\alpha_I(\lambda)$, la parte imaginaria de la polarizabilidad asociada a las dos gaussianas de mayor longitud de onda del espectro de absorción, ver Fig. 3. De la misma manera se obtuvo la función $Im\alpha_{II}(\lambda)$, la parte imaginaria de la polarizabilidad correspondiente a la absorción de la gaussiana $\gamma_3(\lambda)$. La absorción de esta tercer gaussiana se consideró isotrópica en espacio, ver Fig. 4.

Una vez conocidas las funciones $Im\alpha_I(\lambda)$ y $Im\alpha_{II}(\lambda)$ se empleó la relación de Kronig-Kramers

dada por la ec (22) para obtener la contribución de cada banda de absorción a la polarizabilidad óptica real en el visible ($\lambda = 589nm$). Sumando dichas contribuciones se obtuvo

$$\alpha_{//} = 2.66 \times 10^{-23} \text{ cm}^3$$

$$\alpha_{\perp} = 8.13 \times 10^{-23} \text{ cm}^3$$

El incremento del índice de refracción de la solución respecto del solvente y la birrefringencia de saturación han sido medidos por Bertolotto y otros^[9] para fragmentos de ADN de 1350 Å de longitud. Nosotros empleamos estas medidas y las ecs (28) y (32) para hacer una segunda estimación de la polarizabilidad óptica de los osciladores. En este caso resulta

$$\alpha_{//} = 1.35 \times 10^{-22} \text{ cm}^3$$

$$\alpha_{\perp} = 2.16 \times 10^{-22} \text{ cm}^3$$

Estos valores de polarizabilidad óptica difieren de los obtenidos anteriormente en aproximadamente un factor 5 para $\alpha_{//}$ y un factor 2.6 para α_{\perp} .

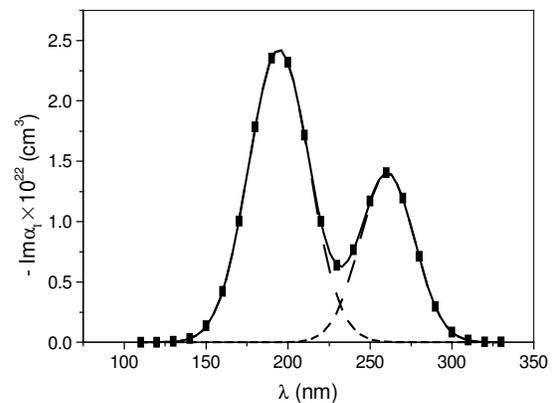


Figura 3: parte imaginaria de la polarizabilidad asociada a las gaussianas γ_1 y γ_2 (●) valores obtenidos empleando la ec(21) (–) ajuste con dos gaussianas

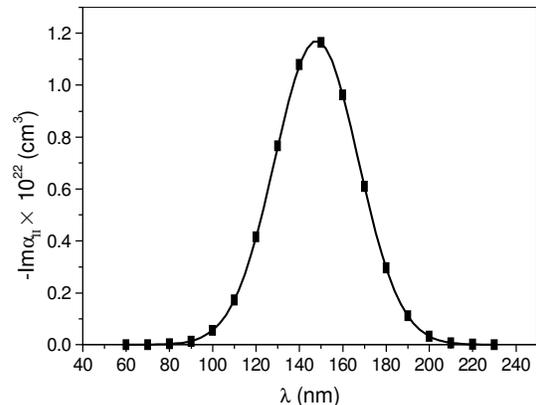


Figura 3: parte imaginaria de la polarizabilidad asociada a la gaussiana γ_3 (●) valores obtenidos empleando la ec(21) (–) ajuste gaussiano

IV. DISCUSIÓN

Los resultados encontrados muestran que la polarizabilidad calculada a partir del espectro de absorción, es apreciablemente inferior a aquella que se obtiene a partir de los datos experimentales de birrefringencia de saturación e incremento del índice de refracción. Es posible que esta diferencia se deba a que al emplear la relación de Kronig-Kramers para el cálculo de la polarizabilidad, solamente hemos incluido las bandas de absorción ultravioleta y ultravioletas lejano y vacío, despreciando toda absorción fuera de dichas regiones del espectro. La absorción infrarroja del ADN no ha sido considerada porque es realmente poco intensa relativa a la absorción ultravioleta. No obstante, existen antecedentes que consideran la absorción en la región de los rayos x. Este es el caso de Shapiro y otros^[10], quienes aplicaron el modelo de osciladores al estudio de la luz dispersada por moléculas de ADN, y asignaron a los osciladores una polarizabilidad en la región de los rayos x. Sin embargo, la polarizabilidad que ellos proviene de datos de absorción del benceno en vez de la absorción del ADN.

Las direcciones asignadas a las diferentes bandas de absorción en que se descompuso al espectro del ADN permitió discriminar a las mismas en función de su origen. La absorción asociada a las dos bandas de mayor longitud de onda se asignó al plano de las bases en forma isotrópica para representar las transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$, predominantes a esa longitud de onda. La absorción de la tercer gaussianiana se consideró isotrópica en el espacio para representar la absorción del azúcar y los grupos fosfatos que Kiselva y otros^[11] observaron experimentalmente.

Es necesario realizar una observación relativa a la validez del modelo de osciladores empleado en el presente trabajo. La distancia entre osciladores adyacentes debe ser suficientemente grande como para que la representación de las bandas de absorción mediante dipolos eléctricos interactuantes sea una aproximación válida. De otra manera sería necesario incluir multipolos de mayor orden. La separación entre dipolos empleada en este trabajo es 24 Å, por lo tanto la polarizabilidad de cada oscilador representa las propiedades ópticas promedios de un bloque de aproximadamente 7 pares de bases de la molécula de ADN.

Referencias

1. Holcomb, D.N. Tinoco, I. *Journal Physical Chemistry*, **67**, 2691 (1963)
2. Fredericq, E., Houssier, C. "Electric dichroism and electric birefringence", Clarendon Press, Oxford (1973)
3. DeVoe, H. *Journal of Chemical Physics*, **43**, 3199 (1964)
4. Self, B.D., Moore, D.S. *Biophysical Journal*, **73**, 339 (1997)S
5. Self, B.D., Moore, D.S. *Biophysical Journal*, **74**, 2249 (1998)
6. Böttcher, C.J.F. "Theory of Electric Polarization", Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam (1973)
7. Yamaoka, K., Matsuda, K. *Macromolecules* **14**, 595

(1981)

8. Ito, A., Ito, T. *Photochemistry and Photobiology*, **44**, 355 (1986)
9. Bertolotto, J.A., Perez Reale, M.V., Bergonzi, M.D. *Anales AFA* **11**, 302 (1999)
10. Shapiro, D.B., Hull, P.G., Hunt, A.J., Hearst, J.E. *Journal of Chemical Physics*, **101**, 4214 (1994)
11. Kiselva, M.N., Zarochentseva, P., Dodonova, N. *Biophysics* **12**, 169 (1975)