



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

FACULTAD DE FÍSICA

DEPARTAMENTO DE ASTRONOMÍA Y ASTROFÍSICA

Quiralidad como un biomarcador

por

FABIOLA MURIEL SALINAS DÍAZ.

Informe de práctica presentado a la Facultad de Física de la Pontificia
Universidad Católica de Chile, como requisito para optar al grado
académico de Licenciado en Astronomía.

PROFESOR GUÍA : Dr. Jorge Alfaro

COMISIÓN EXAMINADORA : Dr. Michael Sterzik

Dr. Rafael Vicuña

Dr. Dante Minitti

Julio de 2010

SANTIAGO – CHILE

A mi familia.

Agradecimientos

A mis profesores, Jorge Alfaro por su invaluable apoyo, consejo y disposición, a Michael Sterzik por todas las oportunidades de aprender, conocer y crecer que me ha dado durante el desarrollo de este semestre. A Stefano Bagnulo y Armando Azúa, que sin ser directamente mis profesores, destacan por su paciencia y dedicación para responder todas mis dudas. A mi familia por darme la fuerza para seguir adelante, por creerme invencible. A mis amigos, por su confianza, su calma y su presencia en los momentos más difíciles.

Índice general

1. Introducción	13
2. Experimento	21
2.1. Instrumento de Medición: ESO Faint Object Spectrograph and Camera (EFOOSC2)	21
2.2. Las muestras	24
3. Datos Experimentales y Procesamiento	27
3.1. Imágenes	27
3.2. Calibración	31
3.2.1. Imágenes de calibración:Darks y Flat Fields	31
3.2.2. Calibración de Longitud de Onda	31
3.2.3. Alineación del Prisma de Wollaston con la Lámina Retardadora	34
3.3. Procesamiento	36
4. Resultados	38
5. Conclusiones	48

Índice de Gráficos

1. Astrobiología	11
1.1. Quiralidad	14
1.2. Luz polarizada	16
2.1. Vista esquemática de los instrumentos ópticos en EFOSC2.	25
3.1. Prisma de Wollaston	28
3.2. Imágenes obtenidas con EFOSC2	30
3.3. Identificación de Líneas para la Grisma #3	32
3.4. Gráfico de Alineación. Intensidad vs Angulo	35
4.1. Señal de Polarización en Muestra de Filodendro	42
4.2. Señal de Polarización en Muestra de Filodendro usando Gr#3 y Gr#5	43
4.3. Señal de Polarización en Muestras de Vegetación	44
4.4. Señal de Polarización en Chroococciopsis	45
4.5. Bandas de absorción de pigmentos presentes en plantas	46
4.6. Bandas de Absorción de Pigmentos de Cianobacterias	47

Índice de Tablas

2.1. Configuraciones para los modos de observación de EFOSC2	23
3.1. Grismas de EFOSC2 ocupadas en el experimento	29
3.2. Tiempos de exposición para la Calibración de Longitud de Onda con diferentes Grismas	33

Resumen

Las moléculas más importantes que definen la vida en nuestro planeta son quirales, los azúcares que llevan nuestra información genética son dextrógiros, mientras que los aminoácidos que definen a las proteínas son levógiros. Estas características hacen que la vida que conocemos sea ópticamente activa y pueda generar una señal específica. Para identificar esta señal se realizó un experimento usando espectropolarimetría en muestras de vegetación y de microorganismos extremófilos. El objetivo final es intentar definir la señal de polarización de los sistemas vivos de manera que a futuro se pueda identificar en planetas similares a la Tierra.

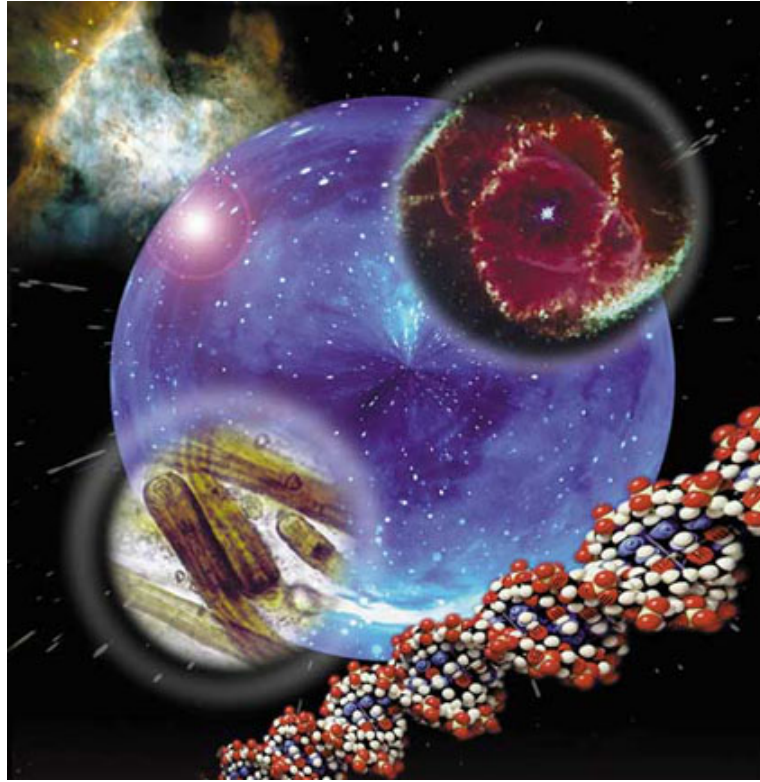


Gráfico 1: Imagen artística que resume algunos tópicos de la Astrobiología. Fuente: Centro de Radioastronomía y Astrofísica, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)

Capítulo 1

Introducción

La astrobiología es una ciencia con unos pocos años de vida de manera oficial, pero su temática ha estado presente a lo largo de la historia. Surge de la necesidad de investigar el origen de la vida en el universo, su evolución y cuáles son las condiciones necesarias para que ésta pueda generarse. De acuerdo al Instituto de Astrobiología de la NASA (NAI) creado en 1998 el objetivo de esta disciplina es responder tres preguntas básicas: ¿Cómo comienza y evoluciona la vida?, ¿Existe vida en otra parte del universo? y ¿Cuál es el futuro de la vida en la Tierra o en otros lugares donde exista vida? [1]. El campo de esta nueva ciencia es muy amplio y multidisciplinario ya que para responder las preguntas anteriores se necesita del aporte de variadas disciplinas como astronomía, biología molecular, química, geología, física, tecnología, entre otras.

Una de las metas definidas por el NAI es la determinación de marcadores biológicos (biomarcadores, *biomarkers* o *biosignatures*) para identificar vida en otros planetas o en las llamadas *early Earths* (Tierras jóvenes) que corresponden a planetas similares a la Tierra pero en sus etapas iniciales. Un marcador biológico se considera a cualquier elemento, compuesto o fenómeno que pueda indicar la presencia de vida, el más conocido es el agua. Para buscar biomarcadores en Exoplanetas ubicados a grandes distancias de la Tier-

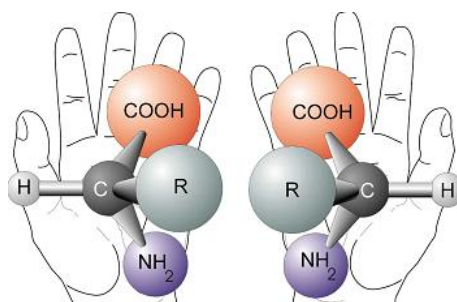


Gráfico 1.1: Dibujo esquemático de la quiralidad. Tanto las manos como las moléculas dibujadas son quirales, ya que una es imagen especular de la otra y no son superponibles.

ra se ocupa espectroscopía y con ella se pueden identificar varios elementos y compuestos químicos. En exoplanetas tipo Tierra se pueden encontrar elementos como O_2 y O_3 , el primero producido en nuestro planeta por la fotosíntesis de las plantas y el segundo generado por reacciones químicas a partir del O_2 . También se pueden encontrar compuestos como el Óxido Nitroso (N_2O), producido en la Tierra por bacterias que desnitrifican el suelo, y el Metano (CH_4) producido también por bacterias llamadas “metanógenos” [3]. Por lo tanto, un biomarcador se define estudiando en la Tierra los compuestos y elementos que benefician la generación de vida como también aquellos que son producidos por los organismos vivos. Pero también existen fenómenos físicos que pueden ser definidos como biomarcadores, este es el caso de la quiralidad.

La quiralidad es una propiedad de asimetría de objetos que no son superponibles con su imagen especular. Por ejemplo, la mano izquierda es la imagen especular de la mano derecha y si ponemos la primera sobre la segunda, veremos que los dedos de ambas manos no encajan, a excepción del dedo anular (ver Gráfico 1.1). En química la quiralidad se refiere a las moléculas. Dos imágenes especulares de una molécula se llaman enantiómeros o isómeros ópticos y ambos tienen las mismas propiedades químicas y físicas, difieren sólo en su actividad óptica y en las interacciones biológicas [2]. La diferencia en cuanto a activi-

dad óptica consiste en la rotación del plano de polarización de la luz, ambos enantiómeros rotan dicho plano en el mismo ángulo pero en sentidos opuestos. Cuando el enantiómero rota el plano de polarización en el sentido de las agujas del reloj recibe el nombre de *dextrógiro* o *right-handed* y se identifica con la letra D o con un signo + y si rota el plano en el sentido opuesto a las agujas del reloj se denomina *levógiro* o *left-handed* y se designa por la letra L o el signo -. Por otro lado, en biología la interacción que tienen los enantiómeros puede ser bastante diferentes, pueden provocar efectos adversos o bien ser inactivos. Es el caso de la Levo-dopa, una sustancia que se utiliza para el tratamiento del Parkinson, mientras que su enantiómero, la Dextro-dopa, es biológicamente inactivo.

La polarización está relacionada con el continuo movimiento del campo eléctrico durante la propagación de una onda electromagnética. Una onda se encuentra no polarizada cuando su campo eléctrico puede oscilar en cualquier dirección siempre manteniéndose en el plano de polarización, que es el plano perpendicular a la dirección de propagación de la onda. Para polarizar la onda se puede ocupar un instrumento llamado polarizador. Este instrumento cumple la función de anular una de las direcciones de oscilación del campo eléctrico, dejando pasar el resto (ver Gráfica 1.2). Existen tres tipos de polarización; Lineal, Circular, Elíptica. La polarización lineal ocurre cuando el campo eléctrico se mueve sólo en una dirección, recibe este nombre porque si se pudiera observar el movimiento del campo eléctrico de frente se vería sólo una línea, tal como se muestra en la imagen de la Gráfica 1.2. La polarización circular es una mezcla de dos direcciones de oscilación del campo eléctrico, pero estas direcciones de oscilación son perpendiculares y están desfasadas en un ángulo de 90° , si miráramos el movimiento del campo eléctrico de frente, se vería un círculo. Finalmente, la polarización elíptica es similar a la polarización circular, sin embargo el desfase es distinto de 90° y al observar el campo eléctrico de frente se vería

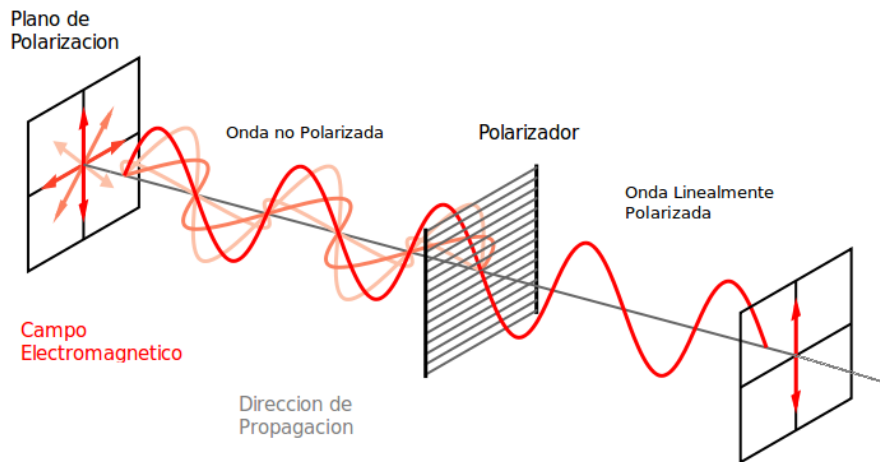


Gráfico 1.2: Polarización de la Luz. Al principio la luz viene sin polarizar ya que el campo eléctrico oscila en todas las direcciones posibles (flecha roja). Sin embargo, luego de pasar por un polarizador, el campo oscila sólo en una dirección. Este es el caso de la Polarización Lineal.

una elipse.

Para estudiar la polarización se ocupan los parámetros de Stokes, introducidos en 1853 por George Gabriel Stokes. Los parámetros de Stokes son cuatro cantidades independientes que describen las propiedades de polarización de un rayo de luz, comúnmente se conocen con las letras I, Q, U y V. Para definirlos primero debemos elegir una dirección de propagación de la onda luminosa y el plano perpendicular (plano de polarización) a ella donde se encuentra el Campo Eléctrico. Si suponemos un sistema de referencia (x, y, z) con el eje z en la dirección de propagación de onda y el eje x como la dirección de referencia, entonces, de acuerdo a las ecuaciones de Maxwell, en el plano de polarización existirán dos componentes perpendiculares del campo eléctrico que definiremos $E_x(t)$ y $E_y(t)$. Estas componentes se mueven de manera sinusoidal y dependen del tiempo. Las transformadas

de Fourier de estas componentes (para obtener su dependencia con la frecuencia) son:

$$\begin{aligned}\varepsilon_x(\omega) &= \int_{-\infty}^{\infty} E_x(t)e^{-i\omega t} dt \\ \varepsilon_y(\omega) &= \int_{-\infty}^{\infty} E_y(t)e^{-i\omega t} dt\end{aligned}\tag{1.1}$$

Los parámetros de Stokes usando las expresiones de 1.1 están descritos por las siguientes ecuaciones.

$$\begin{aligned}I(\omega) &= k[\langle \varepsilon_x(\omega)^* \varepsilon_x(\omega) \rangle + \langle \varepsilon_y(\omega)^* \varepsilon_y(\omega) \rangle] \\ Q(\omega) &= k[\langle \varepsilon_x(\omega)^* \varepsilon_x(\omega) \rangle - \langle \varepsilon_y(\omega)^* \varepsilon_y(\omega) \rangle] \\ U(\omega) &= k[\langle \varepsilon_x(\omega)^* \varepsilon_y(\omega) \rangle + \langle \varepsilon_y(\omega)^* \varepsilon_x(\omega) \rangle] \\ V(\omega) &= ik[\langle \varepsilon_x(\omega)^* \varepsilon_y(\omega) \rangle - \langle \varepsilon_y(\omega)^* \varepsilon_x(\omega) \rangle]\end{aligned}\tag{1.2}$$

donde k es una constante positiva, el símbolo $*$ indica el complejo conjugado y los corchetes $\langle \dots \rangle$ refieren al valor medio.

El valor I corresponde a la intensidad total de la radiación. El valor Q corresponde a la diferencia de intensidad de radiación del campo eléctrico oscilando a lo largo de la dirección de referencia (eje x , es decir $E_x(t)$) y la intensidad de radiación con el campo oscilando en la dirección perpendicular ($E_y(t)$). El valor U es la diferencia de intensidad de radiación con el campo eléctrico oscilando a 45° en relación al plano de referencia y la intensidad de radiación con el campo magnético oscilando en la dirección perpendicular a la anterior (135° , ángulo medidos en dirección contraria a las agujas del reloj). Finalmente, el valor V corresponde a la diferencia entre intensidad con polarización hacia la derecha y polarización hacia la izquierda ([10]).

Sin embargo, si normalizamos todos los valores por la intensidad I , tendremos los

valores

$$\begin{aligned}P_Q &= Q/I \\P_U &= U/I \\P_V &= V/I\end{aligned}\tag{1.3}$$

así, podemos olvidarnos de la constante k . Finalmente, estos últimos valores nos darán el grado de polarización que tendrá una onda luminosa. Por ahora, si queremos estudiar polarización circular, entonces el valor de P_V es el que nos interesa en nuestro experimento y debe ser distinto de cero.

La quiralidad tiene la importancia de definir las moléculas que construyen la vida en la Tierra; los azúcares de los ácidos nucleicos son dextrógiros, mientras que los aminoácidos que forman las proteínas son levógiros. Como las moléculas quirales son ópticamente activas, podríamos detectar si una molécula es levógira o dextrógira estudiando la luz que reflejan. Se ha estudiado que la selección de quiralidad descrita anteriormente induce polarización circular en el espectro de reflexión ([5]), mientras que estudios más recientes (Sparks et al, 2009) han detectado polarización circular en microorganismos, como también en vegetación macroscópica y minerales. El caso de Sparks et al. es interesante ya que, en vez de ocupar sólo vegetales u organismos comunes, uno de los microorganismos utilizados es una cianobacteria llamada *Synechococcus*([4]).

Las cianobacterias son organismos procariontes fotosintéticos de gran antigüedad. Se han encontrado fósiles que datan de al menos 3500 millones de años, durante los cuales las diferentes subespecies han evolucionado permitiéndoles adaptarse a variados y extremos ambientes. Existen especies adaptadas altas a temperaturas como algunas *Synechococcus* (misma especie ocupada por Sparks et al.) encontradas en fuentes termales a 73°C o adaptadas a desiertos polares y desiertos cálidos como *Chroococcidiopsis*. También ex-

isten otras variedades en ambientes hipersalinos y ácidos ([7]). Otras propiedades de las cianobacterias son su importancia en la oxigenación de la atmósfera terrestre a través de la fotosíntesis y su capacidad de fijar el nitrógeno en la atmósfera. Esta última propiedad consiste en la transformación del nitrógeno inerte del aire en nitrógeno orgánico para ser absorbido por las plantas, es posible que el crecimiento de vegetación diferente a la bacterias durante el periodo Cretáceo (alrededor de 45 millones de años atrás) se deba a la presencia de esta especie de microorganismo ([8]).

Los organismos que viven en hábitats extremos, como los escritos anteriormente para las cianobacterias, reciben el nombre de extremófilos y son muy importantes en el estudio de la astrobiología. Su capacidad de sobrevivir en estos hábitats los hace un material interesante para estudiar la posibilidad de vida en planetas cuyas condiciones son muy diferentes a las de nuestro planeta. En particular, en Chile es de gran interés el estudio de extremófilos que habitan en el desierto de Atacama por sus similitudes con el planeta Marte. La superficie de Marte se caracteriza por tener cráteres de impacto, cauces de ríos secos, dunas de arenas y volcanes de gran tamaño, además el viento cumple un papel erosivo importante, formando tormentas de arenas capaces de trasladar todo tipo de escombros alrededor del planeta. Posee también una atmósfera bastante delgada compuesta mayoritariamente por CO_2 y capaz de producir un efecto invernadero que provoca temperaturas entre -80° y 20° . Estas y otras características lo hacen un planeta con bajas probabilidades de albergar vida, sin embargo, las muestras tomadas por las misiones Vikings han demostrado que algunos sectores de Marte tienen en sus suelos compuestos similares a los encontrados en los suelos del desierto de Atacama, lugar donde sí se han encontrado especies orgánicas ([12]).

En este trabajo se estudia la posibilidad de detectar polarización circular utilizando espectropolarimetría en cianobacterias hipolíticas de la especie *Chroococcidiopsis* prove-

nientes del desierto de Atacama. Para este efecto se usa un espectrógrafo de objetos débiles cuyo objetivo de construcción es medir señales de objetos astronómicos.

Capítulo 2

Experimento

2.1. Instrumento de Medición: ESO Faint Object Spectrograph and Camera (EFOSC2)

El New Technology Telescope (NTT) es un telescopio de 3.58 metros ubicado en el Observatorio La Silla. Este telescopio tiene la particularidad de haber sido construido con una nueva tecnología, de modo que el telescopio se pueda mover entre 0° - 90° en declinación (DEC), mientras que la estructura completa del edificio donde se encuentra el telescopio gira para alcanzar una determinada ascensión recta (RA). Además, fue el primero en implementar la tecnología denominada “Óptica Activa” la cual consiste en el control computacional del espejo principal para permitir una mejor calidad de imagen. Este telescopio posee dos instrumentos:

- 1.-SOFI (Son Of ISAAC): cámara y espectrógrafo infrarrojo. Es una versión simplificada del Infrared Spectrometer And Array Camera (ISAAC), espectrógrafo del Very Large Telescope (VLT) para longitudes de onda corta.

2.- EFOSC2 (ESO Fain Object Spectrograph and Camera 2): es un instrumento para espectrografía de baja resolución y para imágenes en el visible y en UV. EFOSC2 tiene como característica principal la versatilidad, ya que puede ser ocupado en diferentes modos de observación (imágenes, espectrografía de múltiples objetos, polarimetría de imágenes, espectropolarimetría y coronografía) cada uno con distintos submodos de manera que no se pierda una cantidad significativa de tiempo al cambiar de un submodo a otro. Para este efecto se compone de tres ruedas principales que permiten cambiar los instrumentos ópticos según el objetivo a observar.

Los instrumentos ópticos que ocupa EFOSC2 son:

- 1.-Rueda de Apertura:** permite ocupar diferentes tipos de “slits”(aperturas), “masks” (máscaras), y “Star plates”(placas con dos o más aperturas para realizar espectrografía de dos o más estrellas, también llamadas “MOS Plates”). La rueda tiene diez posiciones de las cuales seis están disponibles para usar y cambiar, mientras que cuatro posiciones tienen filtros fijos para calibraciones y tareas específicas.
- 2.-Colimador:** transforma los rayos de la luz incidente en un haz de rayos paralelos.
- 3.-Lámina Retardadora $\frac{\lambda}{4}$ o $\frac{\lambda}{2}$:** son polarizadores para estudiar polarimetría. La primera se utiliza para estudiar polarización circular y la segunda para polarización lineal.
- 4.- Rueda de Filtros:** permite ocupar once diferentes tipos de filtros según el objetivo de observación.
- 5.- Rueda de Grismas:** permite ocupar ocho grismas diferentes en la rueda. Una grisma es una combinación entre una rejilla (“grating”) y un prisma y tiene la capacidad de dispersar la luz y seleccionar un rango de longitud de onda. Cada grisma centra

Modo de Observación	Rueda de Apertura	Rueda de Filtros	Rueda de Grismas
Imagen	Libre	Filtro	Libre
Coronografía	Cor. Mask	Filtro	Lyot Stop
Polarimetría	Woll. Mask	Filtro	Woll. Prism
Espectroscopía	Slit	Libre	Grisma
Espectroscopía de Múltiples Objetos	MOS Plate	Libre	Libre
Espectroscopía de Apertura	Libre	Libre/Filtro	Grisma/Prisma
Espectropolarimetría	Slit/Mask	Woll. Prism	Grisma

Tabla 2.1: Configuraciones posibles de los instrumentos ópticos de EFOSC2 según el tipo de observación que se desee realizar.

la imagen en una longitud de onda. Todas las grismas están montadas en la rueda de manera que las longitudes de onda mayores (más rojas) se ubiquen en la parte superior de las imágenes.

6.- Cámara CCD: Su tamaño es de 2048×2048 píxeles, cada uno con un tamaño de $15 \mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$. El tamaño de la imagen de observación es de 2060×2060 píxeles debido a que se agregan 6 columnas en cada lado y 12 filas en la parte superior durante la lectura de la imagen. Tiene distintos modos de lectura según el objetivo de observación (por defecto, el modo de lectura es de 2×2 *binning*).

Además EFOSC2 posee un tubo superior que recibe la señal desde el telescopio y dos lámparas de calibración (de He/Ar y de Cuarzo) y una lámpara de luz blanca ubicadas luego de dicho tubo. La Figura 2.1 nos muestra un esquema de EFOSC2 donde podemos ver el orden que tienen los instrumentos ópticos mencionados anteriormente.

Finalmente, de acuerdo al modo de observación que se necesite ocupar se pueden combinar los distintos filtros, slits, máscaras y grismas. La Tabla 2.1 nos muestra las diferentes configuraciones posibles.

2.2. Las muestras

Las muestras utilizadas en el experimento consisten en cianobacterias de la especie *Chroococcidiopsis hipolíticas* encontradas bajo rocas de cuarzo por el equipo de estudio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad de Católica de Chile (PUC). Esta especie de cianobacteria se caracteriza por su tolerancia a la disecación y por su antigüedad. Se cree que es una de las más antiguas debido a su semejanza con fósiles de la era Proterozoica (1500 a 750 millones de años atrás) y es la de mayor dominio en comunidades microbianas de desiertos áridos cálidos y fríos. Mediciones de larga duración en desiertos fríos en la Antártica han demostrado que estos microorganismos se encuentran metabólicamente activos entre 500 y 800 horas al año (entre 21 y 33 días) y se cree que en desiertos cálidos, como el desierto Negev en Israel, la cantidad de horas activas es aún menor ([13]).

La muestra de cianobacterias ocupadas ha sido cultivada en papel filtro durante el primer semestre del presente año. Esta muestra es de forma circular y tiene un radio aproximado de 8cm. Para cultivarlas se colocó un medio líquido (BG-11) conteniendo las cianobacterias en placas Petri, en estas placas se ubicaron también filtros de papel estéril y se dejaron crecer durante un mes. Luego, las placas se abrieron por un día y medio para permitir que los filtros se secaran. No se pudo especificar la densidad de material biológico de cada muestra, ni se pudo controlar la dispersión de ellas en el papel.

También se usaron como muestras hojas de diferentes plantas para estudiar su grado de polarización circular y para comparar sus señales con los resultados de las cianobacterias.

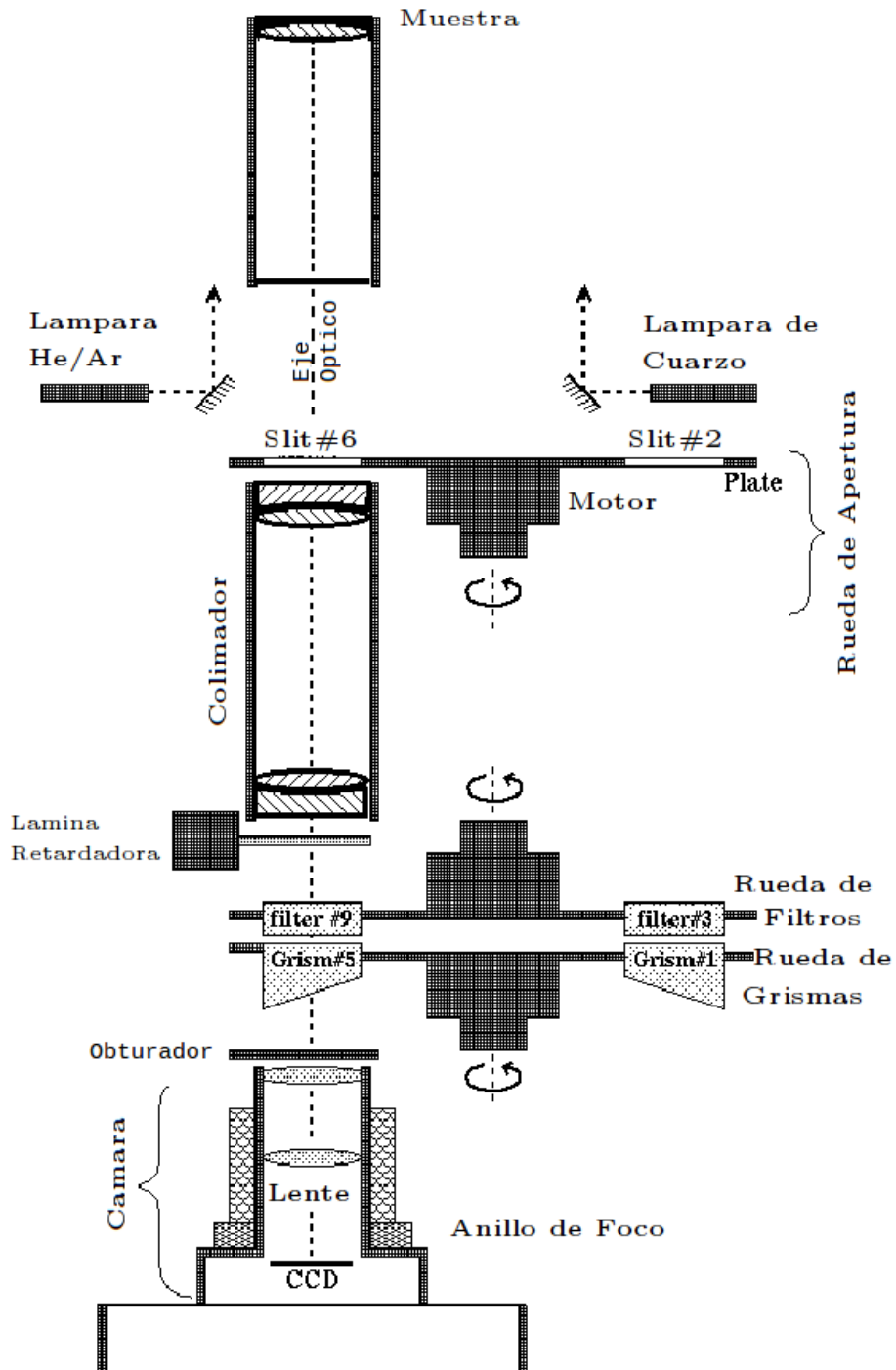


Gráfico 2.1: Vista esquemática de los instrumentos ópticos en EFOSC2.

La plantas utilizadas fueron Filodendro, Schefflera y Ficus.

Para ubicar las muestras utilizamos una placa circular de un radio de 20cm en la parte superior del instrumento de medición (ver Gráfica 2.1). Se intentó que todas las muestras cubrieran completamente la superficie de la placa circular, sin embargo, las muestras de cianobacterias no pudieron ser totalmente distribuidas.

Capítulo 3

Datos Experimentales y Procesamiento

3.1. Imágenes

Para poder obtener las imágenes de ciencia, se debe ocupar a EFOSC2 en el modo de Espectropolarimetría y es necesario desmontarlo del NTT, ya que las muestras a ocupar se ubican en la parte anterior a las lámparas de calibración y de luz blanca. De acuerdo a la Tabla 2.1, para observar en modo de Espectropolarimetría se necesita ocupar una Máscara de Wollaston, un Prisma de Wollaston y una Grisma a elección. Además, para estudiar polarización circular se debe ocupar la lámina retardadora $\frac{\lambda}{4}$ la cual debe ubicarse entre el colimador y la rueda de filtros (ver Gráfica 2.1).

La Máscara de Wollaston es una placa que posee un cierto número de rendijas que pueden estar ubicadas de manera paralela o perpendicular con respecto al eje x de la CCD, en este caso se ocupan de forma perpendicular. La cantidad de rendijas de esta máscara está relacionada con el ángulo de separación del Prisma de Wollaston (explicado

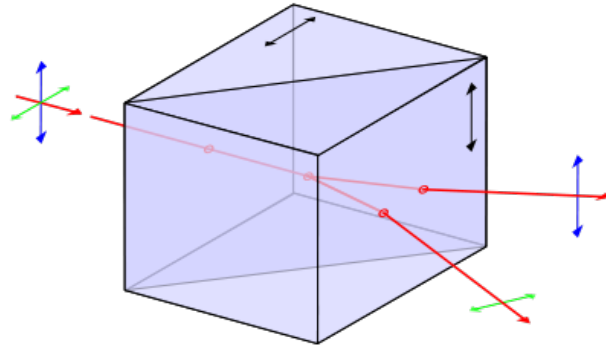


Gráfico 3.1: El prisma de Wollaston está construido de manera que el rayo de luz incidente se pueda separar en dos haces de luz perpendicularmente polarizados.

a continuación) con el fin de evitar que los rayos separados puedan intersectarse. La máscara ocupada para el experimento tiene siete aperturas y permite ocupar todo el área de la cámara CCD.

El Prisma de Wollaston es un prisma construido de calcita que separa un rayo incidente en dos rayos perpendicularmente polarizados (rayo Ordinario y Extraordinario) separados por un ángulo determinado. Este ángulo de separación depende de las características de construcción del prisma, y, en el caso de EFOSC2, hay dos tamaños posibles 10" y 20", sin embargo, sólo el Prisma de Wollaston de 20" está disponible para Espectropolarimetría (por razones de construcción del equipo).

Las grismas, definidas anteriormente, cumplen la función de dispersar la luz incidente y seleccionar un cierto rango de longitudes de onda. Se han elegido tres grismas diferentes para estudiar las muestras, sus características están en la Tabla 3.1. En dicha tabla se puede ver que la Gr#13 da un amplio rango de longitud de onda, por lo tanto en las mediciones se obtendrá todo el espectro visible, mientras que las Gr#3 y Gr#5 tienen un rango más pequeño, estando la primera centrada en el azul y la segunda en el rojo. En teoría, la unión de los espectros obtenidos por estas dos grismas debería ser equivalente

Grisma #	Rejilla		Rango de Longitud de Onda Å	Dispersión Å/píxel	Resolución FWHM(Å/1")
	gr /mm	λ_{Blaze}			
3	400	3900	3050-6100	1.50	12.6
5	300	6700	5200-9350	2.06	16.64
13	236	4400	3685-9315	2.77	23.01

Tabla 3.1: Características de las grismas ocupadas en el experimento. La resolución expresada corresponde a una apertura de 1.0" (si el tamaño de apertura es el doble, la línea FWHM también sería el doble).

al espectro obtenido con la Gr#13.

Para obtener las imágenes, las muestras se ubican en el tubo anterior a las lámparas blancas y de calibración. Estas lámparas tienen un montaje de espejos que permite que las muestras sean iluminadas directamente, de manera que la luz de las lámparas llegue a las muestras y sólo la luz que ellas reflejan pase hacia los siguientes instrumentos ópticos en EFOSC2. Luego del tubo, la luz pasa por la Máscara de Wollaston la cual separa esta luz incidente en siete haces distintos, éstos entran al colimador que toma estos siete haces y los concentra, logrando que los rayos que conforman cada haz de luz sean paralelos. Una vez que han salido del colimador, los siete rayos se encuentren con la lámina retardadora que puede disminuir o aumentar la intensidad de la luz dependiendo del ángulo en que esté posicionada. A continuación, los rayos pasan por el Prisma de Wollaston, el cual separa cada rayo en los rayos Ordinario y Extraordinario (perpendicularmente polarizados), obteniendo ahora catorce rayos de luz. Finalmente, estos catorce rayos pasan por la grisma, la cual dispersa los distintos rayos separandolos en todas las longitudes de onda

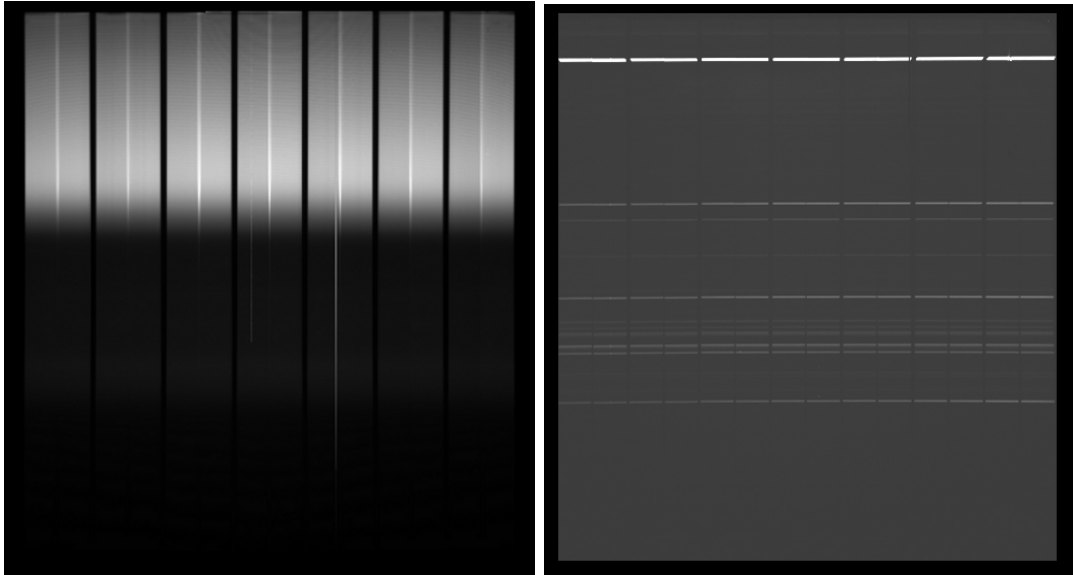


Gráfico 3.2: En ambas imágenes se ven las siete columnas de intensidad debido a la Máscara de Wollaston, además en ambas la longitud de onda aumenta en sentido vertical hacia arriba. La imagen de la izquierda corresponde a una imagen de ciencia con una muestra de hoja de Filodendro. La imagen de la derecha es de calibración usando las lámparas de Helio y Argón. Ambas imágenes han sido tomadas con la Grisma#3

que luego van a la CCD.

La imagen de ciencia obtenida (ver Gráfica 3.2), tendrá siete columnas de intensidad que corresponden a los siete haces de luz separados por la Máscara de Wollaston. Además, cada columna tendrá tres subcolumnas; la primera corresponde al rayo ordinario, la tercera al extraordinario y la del medio (más pequeña que las anteriores) es una intersección de ambos (*overlap*).

El punto más importante para estudiar polarización está en la lámina retardadora. Se deben tomar varias imágenes de la misma muestra con la lámina retardadora en distintos

angulos, así, en caso de haber alguna polarización (circular o lineal) se identificarán diferencias en las intensidades de las distintas imágenes. Para estudiar polarización circular se necesitan, por lo menos, dos imágenes tomadas con una diferencia de fase de 90° y para polarización lineal, al menos cuatro imágenes con una diferencia de fase de 22.5° . Como el objetivo es medir la polarización circular, se ocupa la lámina retardadora $\frac{\lambda}{4}$.

3.2. Calibración

3.2.1. Imágenes de calibración:Darks y Flat Fields

Se tomaron Darks y Flat Fields regulares usando el template de calibración de EFOSC2. Para tomar los Darks se tomaron cinco imágenes de cero segundos de exposición. La imagen de la izquierda de la Gráfica 3.2 corresponde a una imagen de las muestras usando la Grisma #3, en ella se puede ver que hay dos columnas de píxeles blancos, éstos píxeles están quemados y se deben a un error de la cámara, corrigiendo con Darks se puede eliminar este error.

Para tomar los Flat Fields se ocupó un fondo de color blanco pintado con pintura reflectante, este fondo se puso en el tubo superior de EFOSC2 donde se ubican las muestras y se siguió el mismo procedimiento usado en las imágenes de ciencia: se tomó una imagen para cada grisma y para cada ángulo de las láminas retardadoras con un tiempo de exposición corto para evitar saturar las imágenes.

3.2.2. Calibración de Longitud de Onda

Para la calibración de longitud de onda se ocupó la lámpara de He/Ar con el mismo fondo reflectante usado para tomar los Flat Fields. La calibración debe realizarse a cada grisma que se quiere ocupar y, como cada una de ellas es diferente, también deben aplicarse

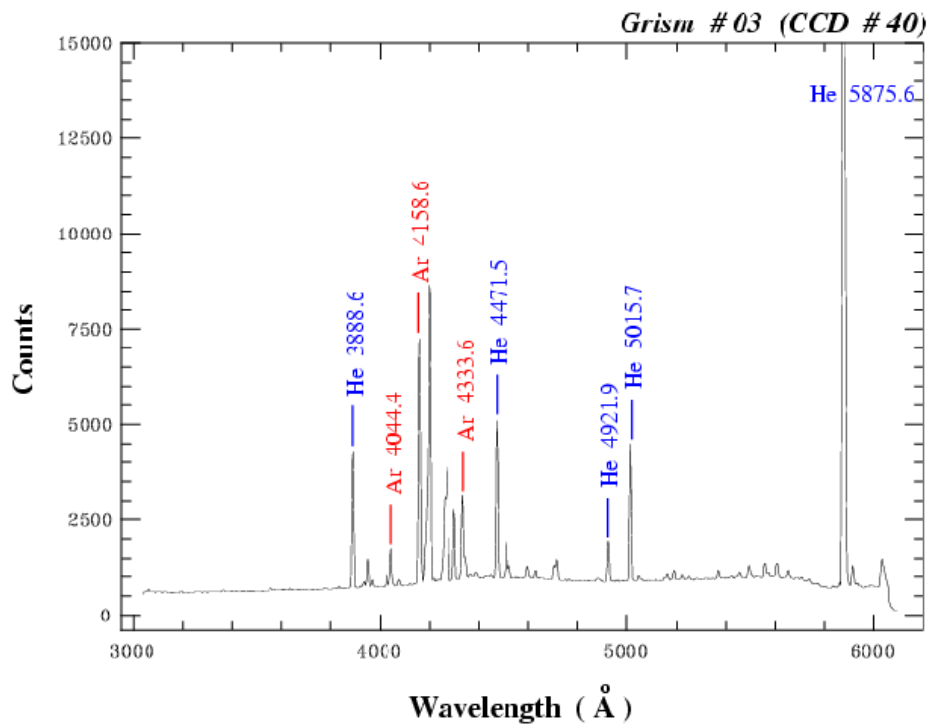


Gráfico 3.3: Gráfico de identificación de Líneas para la calibración por longitud de onda. Al graficar la Intensidad vs Pixel de la segunda imagen del Gráfico 3.2 y compararla con este gráfico se puede hacer una relación píxel/longitud de onda. Por ejemplo, la línea más intensa en este gráfico corresponde a la línea de He en $\lambda = 5875.6$, entonces, en la imagen de calibración del Gráfico 3.2 todos los píxeles que forman la línea más blanca deberían corresponder a esta longitud de onda.

Grisma #	He	Ar
3	2.0	10.0
5	0.8	0.2
13	2.5	0.6

Tabla 3.2: Tiempos de exposición para la calibración de las lámparas de Helio y de Argón usando las diferentes grismas. Estos valores se han tomado con un binning de 2x2 y una slit de 1.0

distintos tiempos de exposición. La Tabla 3.2.2 muestra los tiempos de exposición en segundos para cada grisma.

Las imágenes de calibración deben ser comparadas con los gráficos de identificación de líneas que se encuentran en el Manual de Usuario de EFOSC2 ([9]) para poder confirmar que la imagen es correcta y finalmente poder ajustar el número de píxel con las longitudes de onda que aparecen en cada imagen. Para la imagen de calibración en la Gráfica 3.2 (imagen a la derecha), el gráfico de identificación de líneas se encuentre en la Gráfica 3.3. En la imagen de calibración hay líneas de diferente intensidad ubicadas a ciertas alturas. La longitud de onda está orientada en forma vertical aumentando hacia arriba, por lo tanto, a cada línea de intensidad en esta imagen de calibración se le puede asociar una longitud de onda. Para esto es necesario generar un gráfico de Intensidad vs Píxel a partir de la imagen de calibración para luego compararla con el gráfico de líneas de Intensidad vs Longitud de Onda en el Gráfico 3.3. Usando un *pipeline* de reducción se puede encontrar la relación píxel/longitud de onda para finalmente conocer las intensidades recibidas por las muestras de acuerdo de longitud de onda.

3.2.3. Alineación del Prisma de Wollaston con la Lámina Retardadora

Si existe una onda de luz circularmente polarizada, entonces la diferencia de fase entre los rayos ordinario y extraordinario será de 90° , por lo tanto, uno de ellos se anulará cuando el otro alcance el máximo. Cuando la lámina $\frac{\lambda}{4}$ se encuentre en 0° se debería ver en la imagen de ciencia que uno de los rayos alcanza su máxima intensidad y el otro, la mínima. Esto ocurre sólo si la lámina retardadora y el Prisma de Wollaston se encuentran correctamente alineados. Si no están alineados, se debe buscar el ángulo en que deben comenzar las mediciones.

Para realizar esta alineación es necesario tomar varias imágenes con una muestra moviendo la lámina retardadora en pequeños ángulos y luego graficar los datos obtenidos, de esta manera se verá exactamente con qué ángulo en la lámina retardadora comenzar las mediciones. La Gráfica 3.4 muestra un gráfico de Intensidad vs Ángulo para alinear los instrumentos, en ella se pueden ver en distintos colores las curvas de intensidad de los rayos ordinario y extraordinario. La curva continua indica la intensidad suponiendo que los instrumentos están alineados, mientras que las curvas con puntos muestran los datos obtenidos en la medición. Observando los datos de la medición se concluye que el ángulo para comenzar las mediciones es de 32° , ya que es el primer ángulo en el cual uno de los rayos es un mínimo, mientras el otro es un máximo. En el experimento las mediciones estaban desfasadas en 10° , por lo tanto las imágenes se tomaron con los ángulos 10° , 100° , 190° y 280° .

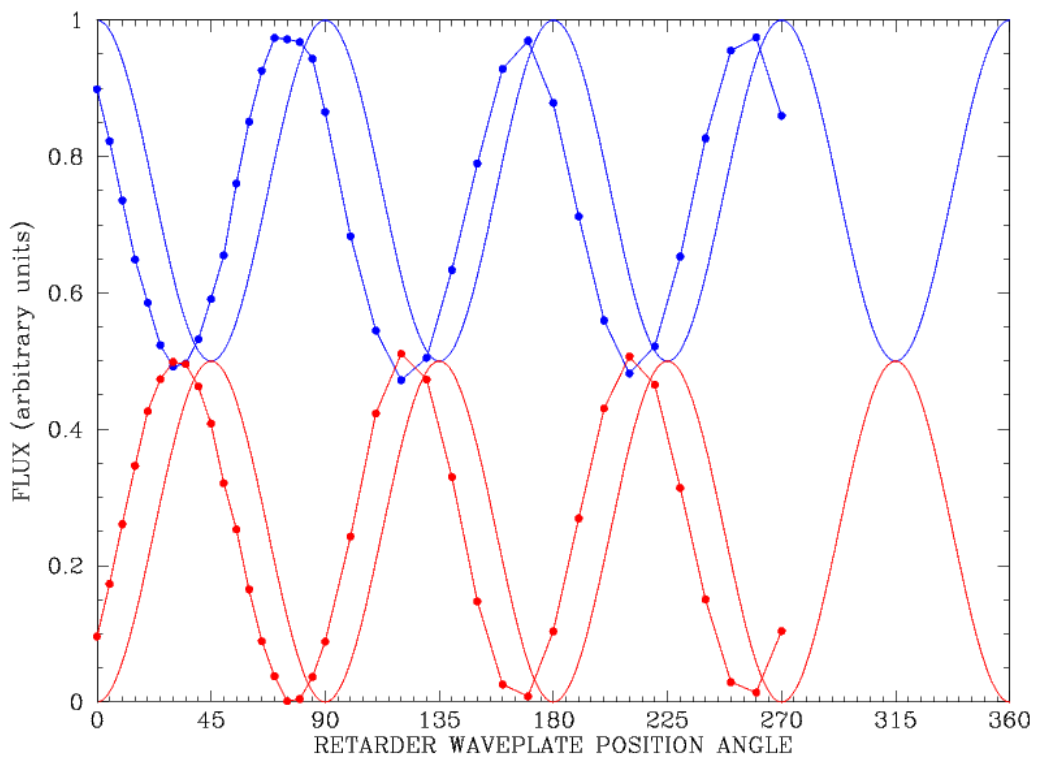


Gráfico 3.4: Gráfico para alinear el Prisma de Wollaston con las Láminas retardadoras. Las curvas continuas corresponden a las Intensidades de ambos rayos suponiendo que los instrumentos están alineados. Las curvas con puntos y líneas corresponden a las mediciones. En este caso, el primero máximo se encuentra en 32° .

3.3. Procesamiento

Una vez calibradas las imágenes se debe procesar su información para estudiar la presencia polarización circular. Para esto se ocupan los parámetros de Stokes, que se obtienen a partir de las intensidades recibidas en la imagen. El *pipeline* utilizado para procesar las imágenes fue diseñado por Stefano Bagnulo y Michael Sterzik y se encarga tanto de la reducción de las imágenes como de su procesamiento. Dentro del procesamiento se busca identificar la intensidad de para cada longitud de onda y para cada rayo (ordinario y extraordinario) y luego el cálculo de la señal $P_V = V/I$ definida anteriormente.

Para calcular la señal, se necesitan dos imágenes de la misma muestra con una diferencia de fase 90 en la lámina retardadora $\frac{\lambda}{4}$. El parámetro V/I se calcula usando la ecuación:

$$V_{\lambda,i}/I_{\lambda,i} = \frac{1}{2} \left(\frac{f_{\lambda,i}^o - f_{\lambda,i}^e}{f_{\lambda,i}^o + f_{\lambda,i}^e} - \frac{f_{\lambda,i}^o - f_{\lambda,i}^e}{f_{\lambda,i}^o + f_{\lambda,i}^e} \right) \quad (3.1)$$

donde $f_{\lambda,i}^o$ y $f_{\lambda,i}^e$, corresponden a las intensidades de los rayos ordinario y extraordinario de la longitud de onda λ en la columna i de la imagen tomada con la lámina retardadora en la posición β ([9]). Además, se puede notar en la ecuación que el parámetro V ya se encuentra normalizado por la intensidad total, ya que la intensidad total por longitud de onda y por columna se puede definir como $I_{\lambda,i} = f_{\lambda,i}^o + f_{\lambda,i}^e$.

Como se dijo anteriormente, lo ideal es que se tomen dos imágenes con una diferencia de fase de 90° en la lámina retardadora $\frac{\lambda}{4}$, sin embargo se pueden tomar más imágenes para tener más valores. En el experimento se tomaron dos imágenes con los ángulos 10°, 100°, 190° y 280° en la lámina retardadora, en total 8 imágenes. Entonces, se debió promediar el valor de la señal por el número de pares de imágenes tomadas, en este caso, cuatro pares de imágenes. Finalmente, la señal de todas las columnas se promedia para obtener la señal V/I de la muestra.

Además, se calculó un valor de referencia llamado *Null Vector* con la finalidad de ser un parámetro de comparación de la señal de V/I . Se puede interpretar como el ruido de la medición, es decir, para que la señal de polarización sea válida la amplitud de la señal V/I debe ser mayor a la amplitud de la señal de *Null Vector*. El cálculo de este vector es el siguiente:

$$N_{\lambda} = \frac{1}{N}[(V_{\lambda,i,1} - V_{\lambda,i,2}) + (V_{\lambda,i,3} - V_{\lambda,i,4}) + \dots(V_{\lambda,i,N-1} - V_{\lambda,i,N})] \quad (3.2)$$

donde N es el número de pares de imágenes con diferencia de fase de 90° en la lámina retardadora. Observando la ecuación se puede esperar que el valor de este vector sea cero, ya que se están restando valores de igual intensidad.

Capítulo 4

Resultados

En las imágenes siguientes se encuentran los resultados obtenidos con las muestras de vegetación y de cianobacterias para el experimento. Cada gráfico tiene en el eje horizontal la longitud de onda medida en Angstrom (\AA) y en el eje vertical a la izquierda se entrega el valor de la señal de polarización circular $P_V = V/I$ expresada en porcentaje. En la parte superior de todas las gráficas se encuentra una curva continua, ésta indica la intensidad de la luz reflejada por las muestras y su valor se encuentra en el eje derecho del gráfico (está normalizada).Hacia el rojo y en longitudes de onda mayores a $\lambda \approx 7000\text{\AA}$ la señal se vuelve muy pequeña y variable. Esta zona no es de interés para analizar ya que corresponde al *fringing* de la cámara CCD, el cual se produce por múltiples reflexiones al interior de la cámara ([9]). Finalmente, el *Null Vector* se ubica desfasado del origen para proporcionar un mejor análisis de la señal de polarización, se debe recordar que el objetivo de este valor es considerarlo como una señal de ruido donde la señal de polarización será válida cuando su amplitud sea mayor a la amplitud de la señal de ruido.

Las Gráficas 4.1 y 4.3 muestran la señal obtenida por las muestras de vegetación. La primera corresponde a la muestra de Filodendro, donde la señal V/I es mucho mayor que

el *Null Vector*, sobre todo en longitudes de onda pequeñas. Para esta muestra también se encuentran los resultados obtenidos usando las grismas #3 y #5 (ver Gráfica 4.2), en las cuales se ve un detalle de lo que ocurre con la señal en el rojo y el azul. En ambas gráficas el ruido es bastante pequeño, por lo que se puede diferenciar muy bien la señal de polarización. Además, en la primera gráfica la forma de la señal de V/I coincide con la curva de la intensidad total. Este fenómeno es conocido en química y recibe el nombre de Efecto Cotton, el cual está relacionado con la absorción de una de las componentes de la luz polarizada por parte de moléculas quirales. Finalmente, si se intenta unir estas dos últimas gráficas, las señales de intensidad y polarización coinciden con la gráfica 4.1, aunque en la Gráficas 4.2 las señales V/I se ven mucho más suaves.

Los resultados de las muestras de Ficus y Schefflera (Gráfica 4.3) presentan una señal similar a la mostrada en la muestra de Filodendro (Gráfica 4.1), incluso se ve que hacia el azul también ocurre el Efecto Cotton, haciendo que la señal de polarización sea muy similar a la curva de intensidad reflejada por las muestras. También se puede notar que en éstas dos gráficas y en la de la muestra de Filodendro, la señal de polarización tiene un pequeño máximo en $\lambda \approx 7000(\text{Å})$ para luego descender hacia valores negativos. El significado de este cambio en la señal se encuentra aún en estudio.

La Gráfica 4.4 muestra los resultados obtenidos usando la Grisma#13 para la muestra de Chroococidiopsis en el papel filtro. En la parte superior se encuentra la curva continua que entrega los valores de intensidad de la muestra. Desfasado en -0.025 se puede ver la amplitud del *Null Vector* que es bastante débil. La señal de esta muestra es bastante diferente a los resultados obtenidos con la vegetación. En primer lugar, la señal de las cianobacterias es muy pequeña con valores de un orden de magnitud menor que en las de vegetación. Esto se atribuye principalmente a la baja y dispersa distribución de material biológico en las muestras de cianobacterias. Por otro lado, la señal V/I en las

cianobacterias es variable en torno al 0, mientras que la señal de intensidad tiene dos máximos ($\lambda \approx 5500\text{\AA}$ y $\lambda \approx 6500\text{\AA}$) y dos mínimos ($\lambda \approx 4400\text{\AA}$ y $\lambda \approx 6800\text{\AA}$). Se puede notar que el segundo de estos mínimos coincide con el descenso en la intensidad de las muestras de vegetación, sin embargo en las muestras de cianobacterias el mínimo es bastante estrecho.

Finalmente, un análisis interesante es estudiar si existe una relación entre las señales de polarización y las bandas de absorción de los pigmentos presentes en las muestras. En el caso de la vegetación, se considerará sólo la muestra de Filodendro. En el gráfico superior de la Gráfica 4.5 se encuentran las bandas de absorción de las plantas donde cada pigmento está indicado con el color que le corresponde. El color que tiene la variada vegetación en nuestro planeta está relacionado con la predominancia de un pigmento sobre otro. En plantas de color verde como las de las muestras de vegetación utilizadas en este experimento predomina la presencia de clorofila a y clorofila b, sin embargo, también se han considerado las bandas de absorción del caroteno, pigmento de color anaranjado bastante común en todo tipo de vegetación. En este gráfico se puede ver que el mínimo de la señal de polarización coincide con la banda de absorción del β caroteno ($\lambda \approx 4800\text{\AA}$). Además, el descenso de la señal de intensidad coincide con la banda de absorción de la clorofila en $\lambda \approx 6800\text{\AA}$

Luego, en la figura superior de la Gráfica 4.6 se encuentran las bandas de absorción de los pigmentos presentes en cianobacterias, mientras que en el gráfico inferior está la señal de polarización de las cianobacterias con las bandas de absorción de los pigmentos. Se puede ver que un mínimo en la señal de polarización circular coincide con la banda de absorción de clorofila a ($\lambda \approx 6800\text{\AA}$), un pequeño máximo en la banda de absorción de

ficocianina ($\lambda \approx 6100\text{\AA}$) y más hacia el azul otro máximo en presencia de las bandas de clorofila b y de β caroteno ($\lambda \approx 4600\text{\AA}$). Es importante recordar que las señales de las cianobacterias son bastante débiles, por lo tanto las relaciones entre las señales V/I y las bandas de absorción también pueden ser sólo coincidencia.

Cabe destacar que en ambos casos, en el de vegetación y en el de las muestras de cianobacterias, se necesita un estudio más profundo para concluir una efectiva relación entre la presencia de las bandas de absorción y la señal V/I obtenida para la polarización circular.

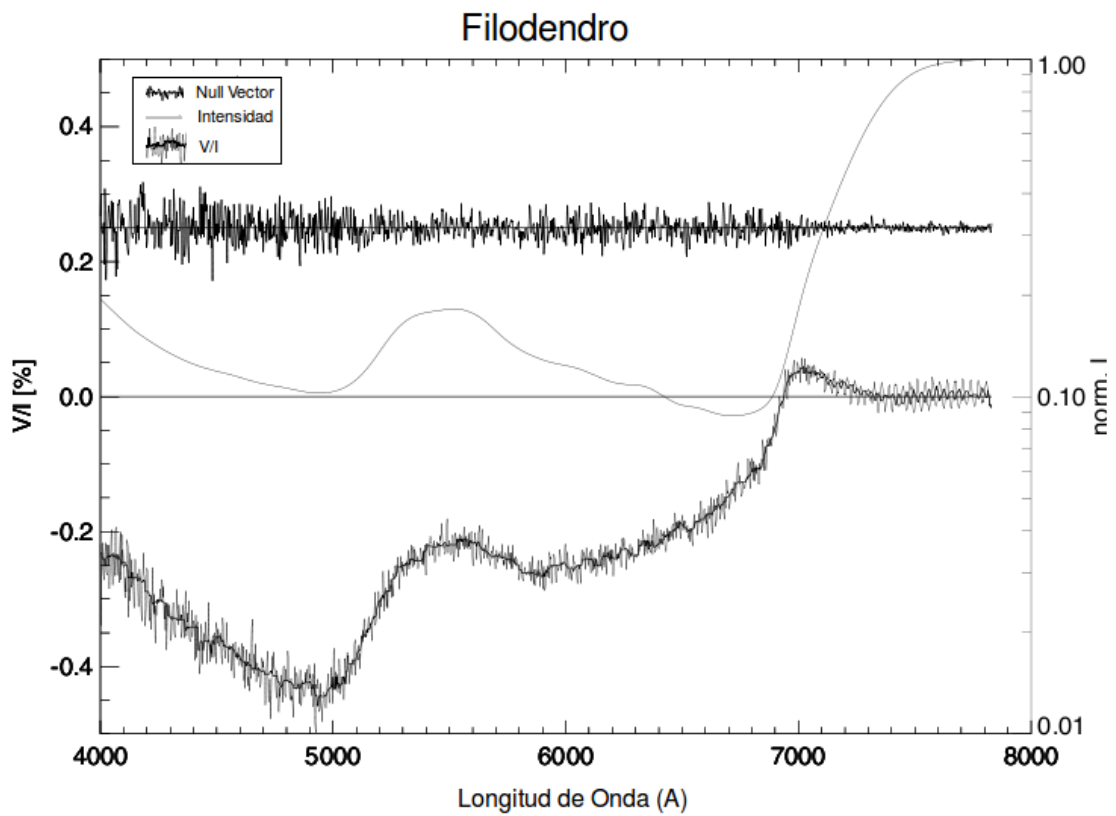


Gráfico 4.1: Resultados obtenidos para la muestra de Filodendro. Muestra tomada con la grisma Gr#13. En la parte superior se puede ver la curva continua debida a la intensidad, mientras que el *Null Vector* se encuentra en la posición 0.25

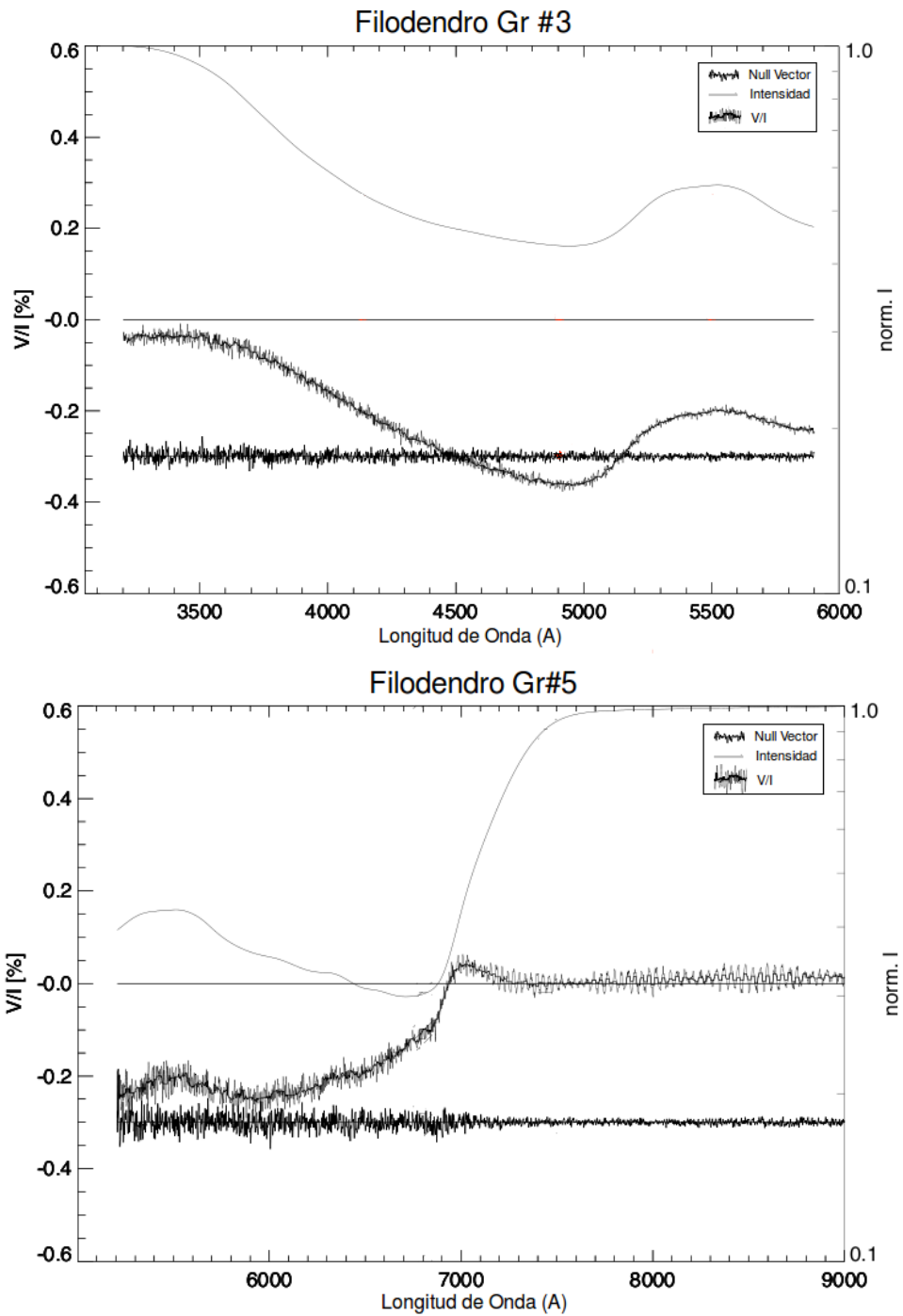


Gráfico 4.2: Resultados obtenidos para la muestra de Filodendro usando las grismas Gr#3 y Gr#5. Notar que la unión de estos gráficos es equivalente a la curva de la Gráfica 4.1 tanto en intensidad I como en la señal de polarización V/I

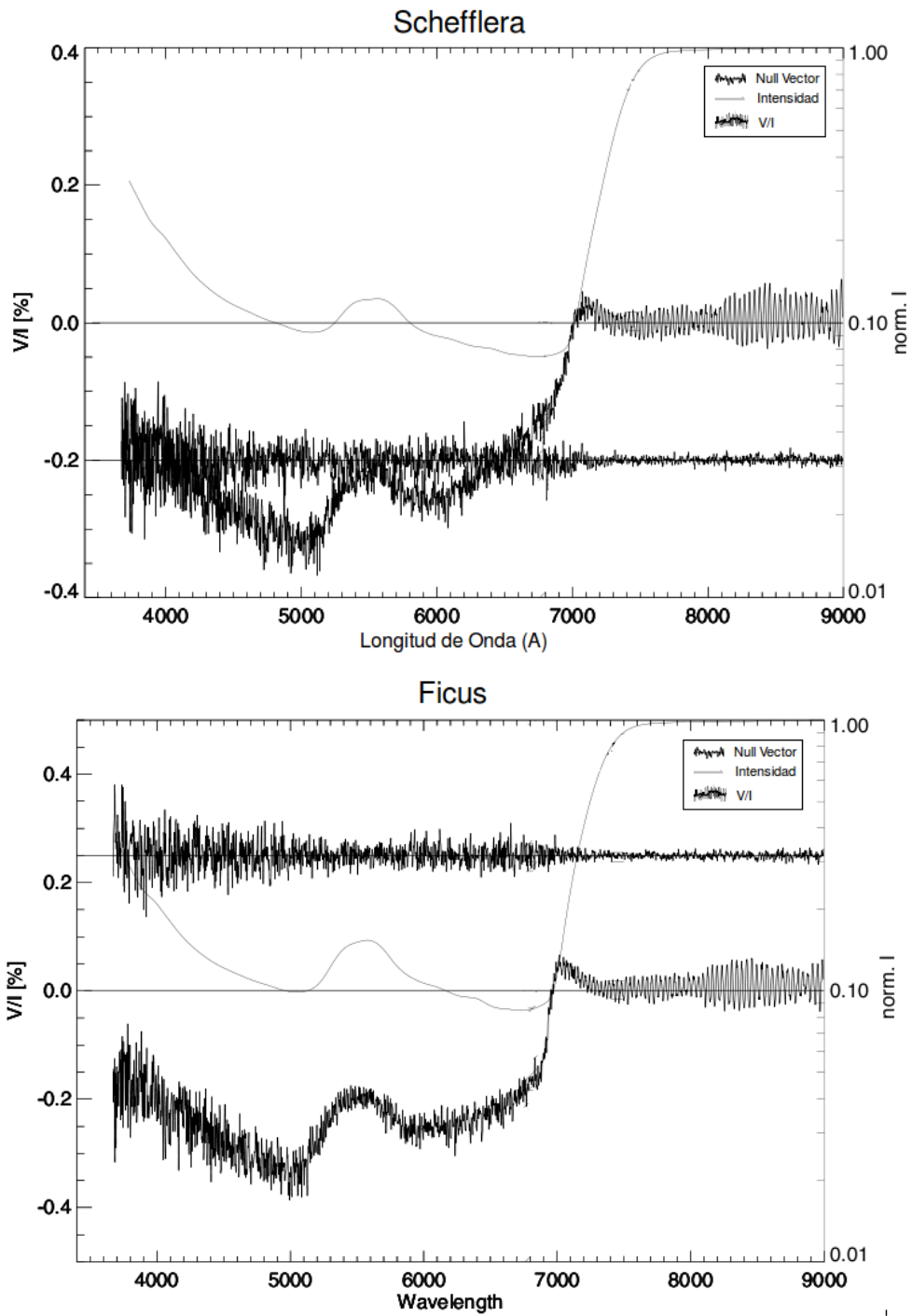


Gráfico 4.3: Resultados obtenidos para las muestras de Schefflera y Ficus, ambas tomadas con la grisma Gr#13.

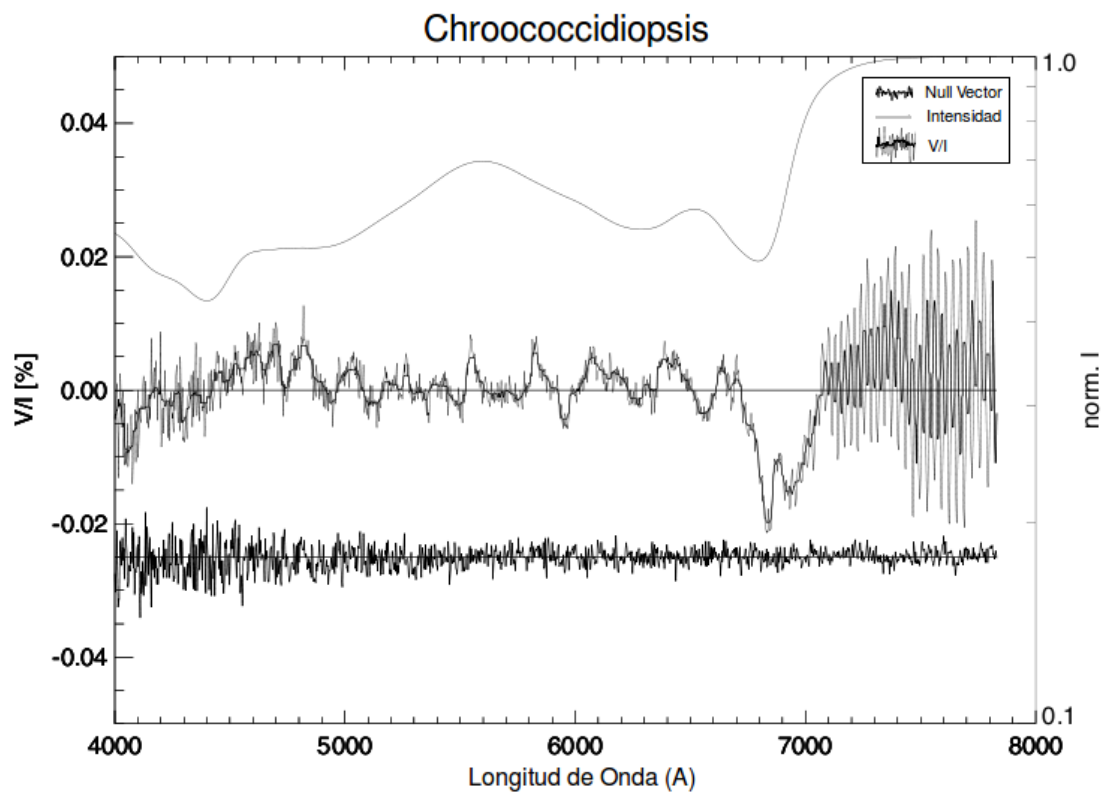


Gráfico 4.4: Resultados obtenidos para la muestra de Chroococidiopsis. Muestra tomada con la Grisma #13.

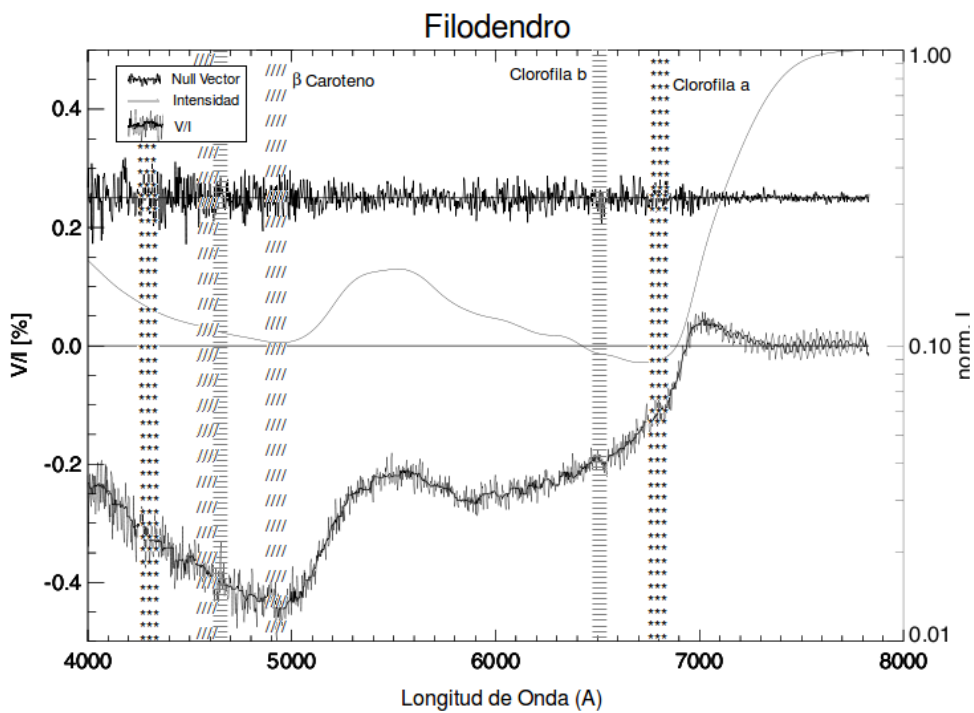
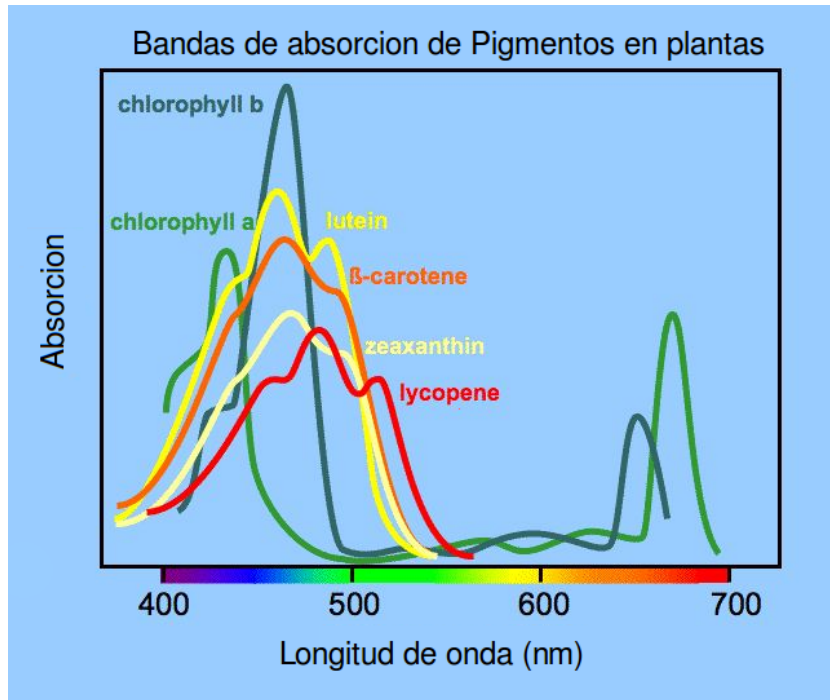


Gráfico 4.5: Bandas de absorción de pigmentos presentes en plantas.

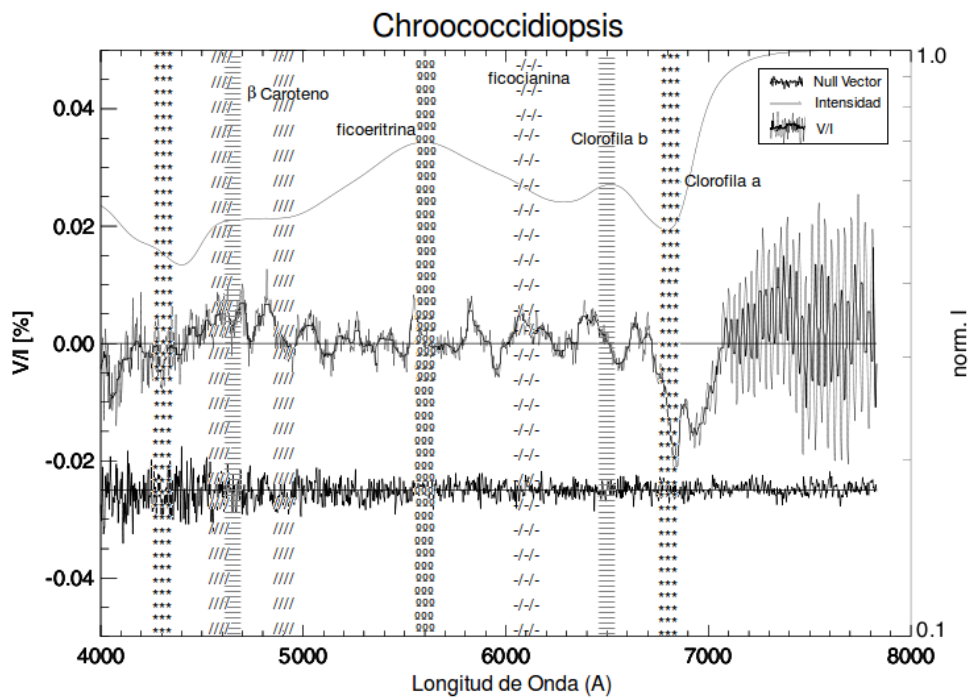
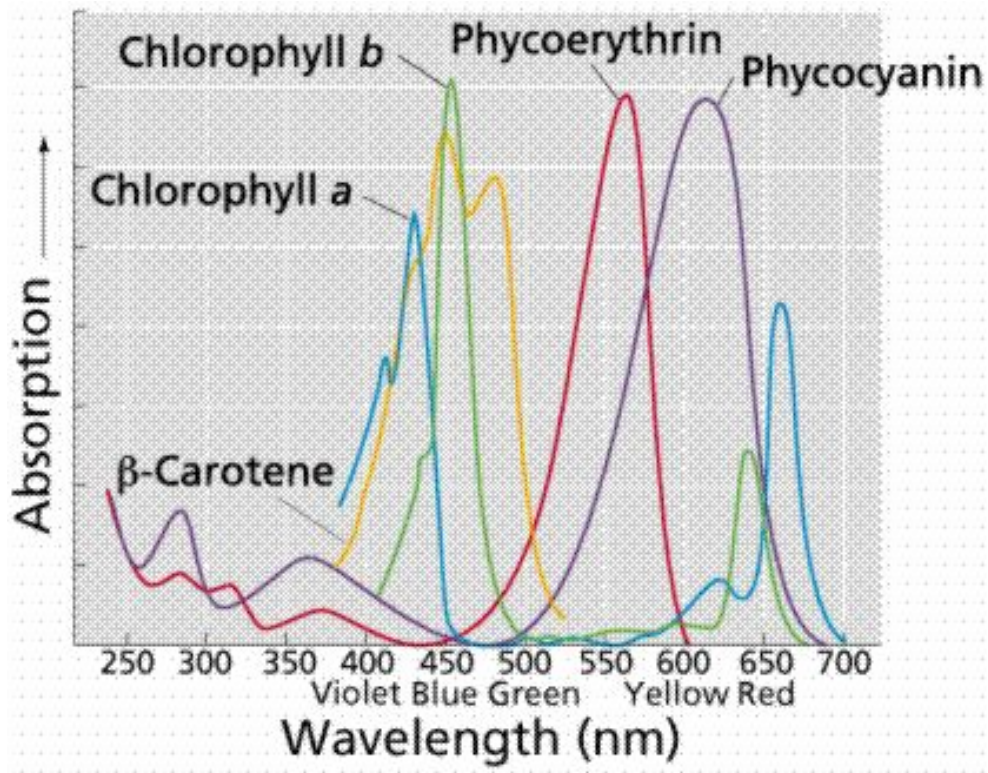


Gráfico 4.6: Bandas de Absorción de Pigmentos de Cianobacterias

Capítulo 5

Conclusiones

Se ha encontrado que existe una señal de polarización circular proveniente de las muestras de cianobacterias tanto cultivadas como en su hábitat natural. A pesar de que es una señal bastante débil, aún se deben estudiar los resultados encontrados y también se debe evaluar una repetición del experimento mejorando los factores que condicionaron los resultados.

Uno de los factores importantes en los resultados de las mediciones en cianobacterias ha sido la inhomogeneidad y baja población de las muestras tanto en el papel filtro como en el hábitat natural. En primer lugar, las muestras de cianobacterias en papel filtro eran bastante pequeñas comparadas con la placa circular donde se debían ubicar (cada papel filtro tenía un radio aproximado de 8cm). Para lograr recibir una señal mayor se ocuparon varias muestras de este tamaño de la misma especie con el fin de rellenar en la placa de observación el mayor área posible, sin embargo, no se pudo completar la superficie. Además, el material biológico en las muestras pequeñas no estaba distribuido de forma homogénea, tenía espacios en blanco en el papel filtro y algunos sectores con mayor densidad que otros. Por otro lado, la manipulación de las muestras hacía que el material biológico en ella se fuera gastando, dejando una capa más delgada que claramente

reducía las posibilidades de recibir señal de polarización.

En las muestras de vegetación se pudo ver que las señales de polarización circular eran muy similares, siendo tres los elementos más interesantes; un pequeño máximo en $\lambda \approx 7000\text{\AA}$, un decremento en los valores de la señal luego de este máximo y la presencia del Efecto Cotton hacia longitudes de onda azules.

Se encontró también que algunos máximos y mínimos de la señal de polarización coinciden con las bandas de absorción de los pigmentos presentes en ambos tipos de muestras, sin embargo es necesario realizar un estudio más profundo para concluir una correlación.

Finalmente, se puede rescatar que es posible medir señales en muestras de microorganismos usando un instrumento astronómico, partiendo desde este punto es posible considerar realizar más mediciones con muestras más variadas para generar un patrón de señales. Así como en las plantas la señales de V/I eran muy similares a pesar de tratarse de diferentes especies, podría ser posible que muestras de otras cianobacterias tengan una señal similar a la especie *Chroococidiopsis* utilizada en este experimento. De esta manera, sería posible definir la quiralidad como biomarcador, cumpliendo el objetivo de estudio. Un desafío a futuro es probar si se pueden recibir señales desde otros planetas, en particular desde Marte debido a la similitud de sus suelos con los del Desierto de Atacama, donde fueron halladas las muestras.

Bibliografía

- [1] Des Marais, David J. et al. The NASA Astrobiology Roadmap, *Astrobiology*, vol 8, n 4, p. 715-730, 2008.
- [2] Azúa, Armando. Duda sobre Quiralidad [en línea]. 5 de Julio de 2010 [Fecha de Consulta: 5 de Julio de 2010]. Comunicación personal.
- [3] Segura, A. et al. Biosignatures from Earth-Like Planets Around M Dwarfs, *Astrobiology*, vol 5, p. 706-725, 2005
- [4] Sparks WB et al. Circular Polarization in scattered light as a possible biomarker, *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*, Vol 110, p. 1771-1779, 2009
- [5] Sterzik, M. & Bagnulo, S., Polarization of leaves and life, *ASTRONOMICAL POLARIMETRY 2008-SCIENCE FROM SMALL TO LARGE TELESCOPES*, ASP Conference Series, Vol 4, 2009
- [6] Gregory et al., *BioChemical Journal*, vol 156, p. 469-472., 1976
- [7] Whitton BA, Potts M, Introduction to the Cyanobacteria. En Whitton BA, Potts M, editores *The ecology of cyanobacteria: the diversity in time and space*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 2000, p. 1-11.

- [8] Kuypers, M., van Breugel, Y., Schouten, S., Erba, E., Damste J. S. S.. N₂-fixing cyanobacteria supplied nutrient N for Cretaceous oceanic anoxic events. Geology vol 32, p. 853-856, 2004
- [9] Monaco, L. y Snodgrass, C., EFOSC2 User 's Manual, La Silla Observatory, ESO., 2008. Disponible en: <http://www.eso.org/sci/facilities/lasilla/instruments/efosc/doc/index.html>
- [10] Landi Deg'Innocenti, E., Bagnulo, S., y Fossati, L., Polarimetric Standarization, ASP Conference Series, vol 999, 2007.
- [11] Lunine, J., Astrobiology. A multidisciplinary approach. USA, Pearson Education, 2005, p. 369.
- [12] Navarro-González, R. et al. Mars-Like Soils in the Atacama Desert, Chile, and the Dry Limit of Microbial Life, Science, vol 302, n 5647, p. 1018 - 1021, Noviembre 2003
- [13] Billi, D. et al. Gene transfer to the Dessication-Tolerant Cyanobacterium Chroococciopsis. Journal of Bacteriology, vol 183, n 7, p. 2298-2305