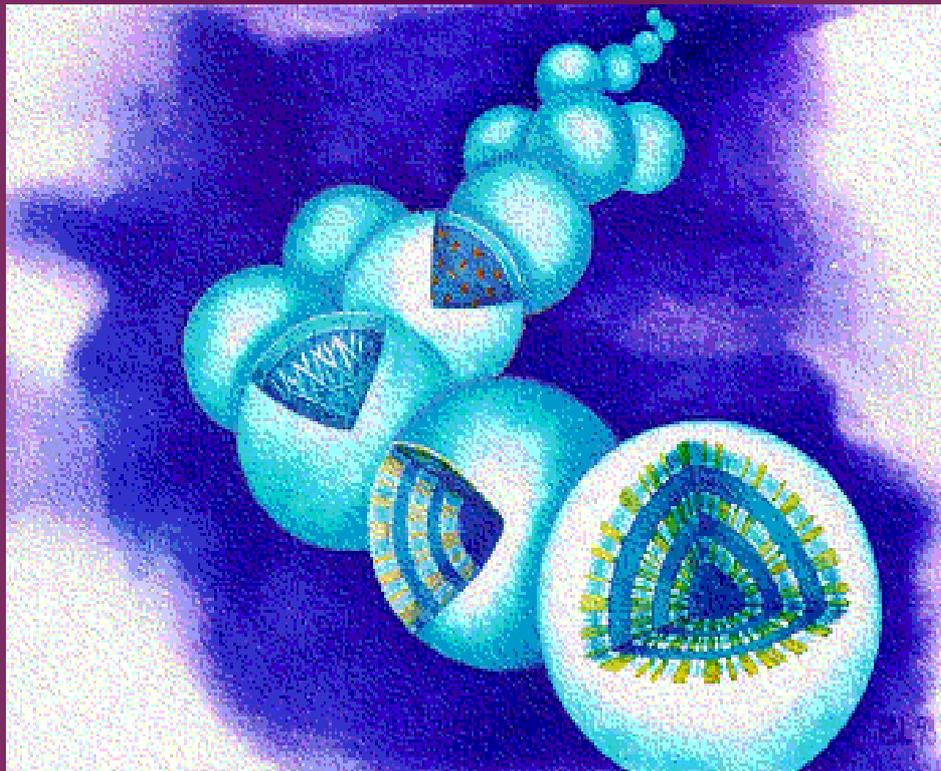


NANOESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES FORMADAS CON LIPOSOMAS: PROPIEDADES ESTÁTICAS Y DINÁMICAS



Catalina E. Haro Pérez

Tesis Doctoral

Grupo de Física de Fluidos y Biocoloides
Departamento de Física Aplicada
Universidad de Granada



**NANOESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES
FORMADAS CON LIPOSOMAS:
PROPIEDADES ESTÁTICAS Y DINÁMICAS**

D^a. Catalina E. Haro Pérez

TESIS DOCTORAL



Grupo de Física de Fluidos y Biocoloides
UNIVERSIDAD DE GRANADA
Granada, Abril de 2005

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Catalina E. Haro Pérez
D.L.: Gr. 793 - 2005
ISBN: 84-338-3387-1

**NANOESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES
FORMADAS CON LIPOSOMAS:
PROPIEDADES ESTÁTICAS Y DINÁMICAS**

**Trabajo presentado para aspirar al
GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS FÍSICAS por**

D^a. Catalina E. Haro Pérez
Licenciada en Ciencias Físicas

DIRECTORES

Dr. Roque Hidalgo Álvarez

Catedrático del Departamento de Física
Aplicada. Universidad de Granada

Dr. José Callejas Fernández

Prof. Titular del Departamento de Física
Aplicada. Universidad de Granada

Dr. Manuel Quesada Pérez

Prof. Asociado del Departamento de
Física. Escuela Politécnica de Linares.
Universidad de Jaén

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Granada, Abril de 2005

A mis padres.

A José Miguel y Diego, mis hermanos.

Cuevas del Almanzora, 2005

Índice

1.- Introducción 13

2.- Propiedades estáticas y dinámicas de sistemas coloidales

2.1.- Interacciones en dispersiones coloidales 24

2.1.1.- Interacciones brownianas o térmicas. 25

2.1.2.- Interacciones directas. 26

2.1.3.- Interacciones indirectas o hidrodinámicas. ... 27

2.2.- Propiedades configuracionales 28

2.2.1.- Líquido dispersado en otro líquido 29

2.2.2.- Mecánica Estadística en líquidos simples:

Obtención teórica de $S(q)$ 30

2.3.- Propiedades dinámicas 38

2.3.1.- Factor de estructura dinámico 38

2.3.2.- Evolución temporal del factor de estructura
dinámico 41

3.- Determinación experimental de los factores de estructura estático y dinámico: SLS y DLS

3.1.- Dispersión de luz por suspensiones coloidales. 46

3.2.-	Dispersión estática de luz (SLS)	51
3.2.1.-	Sistemas monodispersos	51
3.2.2.-	Sistemas multicomponentes y/o polidispersos	53
3.2.3.-	Determinación experimental de $S(q)$	55
3.3.-	Dispersión dinámica de luz (DLS)	57
3.3.1.-	Determinación experimental de $S(q,t)$	61
3.3.2.-	Dinámica a tiempos cortos	64
3.3.2.1.-	Función hidrodinámica	65
3.3.2.2.-	Casos particulares	69
3.3.3.-	Dinámica a tiempos largos	74
3.4.-	Dispositivos experimentales	75
3.4.1.-	MALVERN 4700C	75
3.4.2.-	ALV-5000E Fast correlator	77
3.4.3.-	3D-DLS.	78
3.4.4.-	Zetámetro BI-ZetaPALS	81

4.- Sistema Experimental

4.1.-	Dispersiones de liposomas	84
4.1.1.-	Preparación	86
4.1.2.-	Composición	87
4.2.-	Interés y Aplicaciones	91
4.3.-	Interacciones entre liposomas: Sistemas estabilizados por carga	92
4.4.-	Propiedades ópticas: La dispersión múltiple es despreciable	96

5.- Propiedades Estructurales de dispersiones coloidales estabilizadas por carga

5.1.- Dependencia del orden local con la carga de las partículas	108
5.1.1.- Modelos de renormalización.	109
5.1.2.- Resultados experimentales	113
5.1.2.1.- Dispersiones de liposomas	113
5.1.2.2.- Dispersiones de látex	122
5.1.3.- Discusión	131
5.2.- Propiedades estáticas de sistemas densos cargados.	132
5.2.1.- Factores de estructura estáticos	133
5.2.2.- Discusión de los resultados	141
5.2.2.1.- Distancia media de separación entre las partículas.	142
5.2.2.2.- Comportamiento de $S(q)$ a valores pequeños del vector de onda	144

6.- Propiedades Dinámicas de dispersiones de liposomas estabilizados por carga

6.1.- Factor de estructura dinámico	149
6.2.- Dinámica a tiempos cortos.	153
6.2.1.- Coeficiente de difusión efectivo	154
6.2.1.1.- Dependencia con la fracción volumen	155
6.2.1.2.- Dependencia con el potencial de interacción	157
6.2.1.3.- Resultados experimentales	161

Índice	12
---------------	-----------

6.2.2.- Interacciones hidrodinámicas	167
6.3.- Sistemas densos: Confinamiento dinámico	178
6.2.1- Protocolo experimental.	181
6.2.2- Resultados	183
6.2.2.1.- Propiedades estáticas.	183
6.2.2.2.- Propiedades dinámicas	187
6.2.3- Discusión	198

Apéndice I

I.1.- Teoría de Beenakker y Mazur	201
I.2.- Aproximación Aditiva a Pares (PA).	206

Resumen y Conclusiones	209
---	------------

Summary	213
--------------------------	------------

Referencias y Bibliografía	221
---	------------

Capítulo 1

Introducción

Las dispersiones coloidales, ejemplo típico de sistemas mesoscópicos, son el objeto de estudio de esta tesis. Las dimensiones que caracterizan este tipo de sistemas se encuentran entre lo microscópico y lo macroscópico, lo que los hace particularmente interesantes. Los coloides están constituidos por un fluido molecular en el que se encuentran inmersas partículas cuyos tamaños son mucho mayores que las moléculas que componen el medio dispersor. El tamaño de las partículas coloidales se encuentra entre 1 nm y 1 μm . El tamaño mínimo viene impuesto por la necesidad de que las partículas sean mucho mayores que las moléculas del disolvente, y el tamaño máximo debe asegurar que su movimiento browniano no esté influenciado por campos externos como el gravitatorio. Debido a su carácter mesoscópico, las escalas espaciales involucradas, y a su peculiar composición los coloides presentan características estructurales y dinámicas muy singulares [*Hunter1987*].

Existen similitudes muy llamativas entre el comportamiento configuracional de las dispersiones coloidales y los sistemas moleculares. De hecho, ambos sistemas presentan transiciones de fase

líquido-sólido y propiedades termodinámicas que pueden ser descritas esencialmente por las mismas leyes físicas. Esta analogía se mostrará en el transcurso de la tesis, al aplicar a sistemas coloidales diversas teorías de Mecánica Estadística que se desarrollaron en un principio para describir los estados condensados de la materia. De este modo, determinados conceptos como la función de distribución radial, $g(r)$, pensada para describir el orden en sistemas atómicos, han sido aplicados con éxito a los fluidos coloidales. Al igual que en un líquido monoatómico donde las interacciones que sufren las moléculas son modeladas por determinados potenciales, como el de Lenard-Jones, la interacción entre las partículas coloidales también se puede describir mediante un *potencial efectivo*. Uno de los logros más importantes para el desarrollo de una descripción cuantitativa de los sistemas coloidales fue precisamente la derivación de un potencial a pares entre partículas cargadas. Esta teoría conocida como DLVO (en honor a sus autores, Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek) considera que el potencial posee dos contribuciones. La primera de ellas es de origen electrostático, consecuencia de la carga superficial de las partículas y depende fuertemente de la fuerza iónica del medio. La segunda es una interacción atractiva de muy corto alcance de tipo London-van der Waals, debida a la diferencia de polarizabilidad de las moléculas de las fases sólida y líquida. A lo largo de todo esta tesis, como trabajaremos con sistemas muy cargados a muy bajas fuerzas iónicas, la contribución dominante al potencial es de tipo electrostático. Las partículas en este caso pueden interaccionar a muy largas distancias ya que el potencial y, por lo tanto, las fuerzas que de él se derivan son de largo alcance. Este tipo de fuerzas se conocen como interacciones directas. A pesar de que las fracciones de volumen a las que ocurre el fenómeno de ordenación espacial son extremadamente pequeñas, comparadas con las de los líquidos moleculares, a estas dispersiones se las conoce como fluidos coloidales. Además, también existe cierta

analogía en las técnicas experimentales utilizadas para caracterizarlos. En realidad, la magnitud accesible experimentalmente es el factor de estructura $S(q)$, que proporciona la misma información que $g(r)$ pero en el espacio de Fourier. El factor de estructura caracteriza el grado de las correlaciones estáticas en la densidad en número de partículas y da información sobre las interacciones directas entre las partículas coloidales. La determinación experimental de las propiedades estructurales de la materia se ha realizado mediante dispersión de radiación electromagnética. En el caso de sistemas atómicos, la radiación utilizada es los rayos X. Sin embargo, en los coloides, donde las escalas espaciales características son de carácter mesoscópico, es posible el uso de una longitud de onda mucho más larga, como la del espectro visible. No obstante, también se han utilizado muchas otras técnicas como la dispersión de neutrones [Wagner1991] o la videomicroscopía digital [Crocker1994].

En esta tesis nos proponemos como *objetivo* estudiar sistemáticamente la estructura de dispersiones acuosas de liposomas cargados a muy bajas fuerzas iónicas. Los factores de estructura se obtendrán mediante dispersión de luz estática. De esta forma, se analizará la dependencia del orden local de las suspensiones con la carga superficial de las partículas y la fracción de volumen.

Otro de los aspectos interesantes de los sistemas coloidales es la dinámica, en la que se muestran las peculiaridades que los diferencian de los sistemas atómicos o moleculares. Al contrario de lo que ocurre con los Líquidos Simples, en los que el movimiento molecular es balístico, la dinámica coloidal es disipativa, debido a la existencia del medio dispersor que provoca un movimiento browniano de las partículas e interacciones hidrodinámicas a muchos cuerpos. El movimiento browniano se debe a la transferencia continua de cantidad

de movimiento de las moléculas del fluido a las partículas coloidales. Adicionalmente, la presencia del medio continuo en el que están dispersas las partículas hace posible que el campo de velocidades creado en el fluido por una partícula en movimiento se transmita a través del medio y pueda afectar a otras partículas que se encuentran bastante alejadas de la primera. A estas interacciones se las denomina hidrodinámicas y son indirectas. En el caso de sistemas muy diluidos, el movimiento browniano que experimenta una partícula aislada está muy bien descrito en la literatura [*Dhont1996*]. Sin embargo, cuando los sistemas son más concentrados, las interacciones hidrodinámicas de largo alcance y las interacciones directas complican considerablemente el tratamiento teórico de la dinámica coloidal [*Pusey1991*]. En la actualidad no existe un modelo que describa con exactitud las interacciones hidrodinámicas, y es necesario realizar aproximaciones a la hora de determinarlas cuantitativamente. Una de las aproximaciones [*Beenakker1984*] se basa en el desarrollo en serie de las fluctuaciones de densidad y se ideó, en un principio, para explicar la dinámica de dispersiones de esferas duras. La otra aproximación supone la adición a pares de las interacciones hidrodinámicas [*Nägele1996*] y se utiliza para describir sistemas coloidales cargados.

En el ámbito experimental, existen varios trabajos que intentan explicar la dinámica de sistemas formados por esferas duras [*Segrè1995*], [*Segrè1995b*], [*van Megen1993*]. Sin embargo, la cantidad de experimentos con esferas cargadas es más reducida [*Philipse1988*], [*Riese2000*], [*Phalakornkul1996*] y aún quedan muchos estudios por efectuar. En particular, todos los estudios existentes, salvo los realizados por Härtl y colaboradores [*Härtl1999*], versan sobre dispersiones coloidales no acuosas, por lo que no existe un control de la carga superficial de estas partículas. El empleo de

disolventes no acuosos se realiza, bien para evitar la cristalización de las muestras al disminuir la constante dieléctrica del medio [Rojas2003], o para disminuir el contraste entre partícula y disolvente y eliminar así la dispersión múltiple que imposibilita la caracterización por técnicas de dispersión de luz. En nuestro caso, estos estudios se han podido realizar con dispersiones acuosas hasta fracciones de volumen moderadas porque las partículas empleadas, liposomas, poseen un índice de refracción muy parecido al del agua.

Otra de las *finalidades* de esta tesis es el estudio sistemático de la dinámica de sistemas coloidales acuosos en función de la fracción de volumen y la carga superficial de las partículas. La escasez de resultados experimentales en la bibliografía hace particularmente interesante el análisis. Además de poder trabajar a fracciones de volumen bastante altas, los liposomas presentan otra ventaja. La carga superficial de las vesículas se puede controlar fácilmente, variando durante la síntesis la cantidad de fosfolípidos neutros y cargados que las forman. La caracterización dinámica se realiza mediante dispersión de luz dinámica. A partir de medidas angulares del coeficiente de difusión efectivo y de los factores de estructura experimentales, se determinarán las funciones hidrodinámicas $H(q)$ con el fin de examinar la validez de las teorías hidrodinámicas existentes. Las funciones hidrodinámicas teóricas se obtuvieron mediante programas de cálculo numérico.

Estos análisis nos ayudarán a entender un poco más la conexión entre estructura e hidrodinámica, que aún sigue siendo fuente de debate. ¿Cómo afecta el potencial efectivo entre las partículas a la hidrodinámica del sistema? Se sabe que la viscoelasticidad y las propiedades difusivas de una dispersión coloidal dependen de la acción mutua entre las interacciones directas y las

hidrodinámicas. Esta relación está controlada por el cociente entre las escalas espaciales típicas del sistema [*Cichocki1991*], tales como el radio de la partícula, la distancia de separación media entre las partículas y el alcance de las interacciones. Las propiedades estructurales, mecánicas y dinámicas de una suspensión coloidal pueden cambiar drásticamente cuando se varía alguno de estos parámetros. El conocimiento de los efectos macroscópicos ocasionados por las fuerzas mesoscópicas que actúan en el mundo coloidal posee un enorme interés desde un punto de vista teórico y práctico por sus directas aplicaciones tecnológicas [*Chen1992*]. Desde un punto de vista científico, es muy interesante estudiar los sistemas coloidales y los mecanismos que gobiernan este comportamiento tan complejo. Además, debido a que las escalas espaciales y temporales características de los coloides son accesibles experimentalmente, los sistemas coloidales modelo sirven para poner a prueba los métodos teóricos originalmente desarrollados en la Física de la Materia Condensada para átomos y adaptados para describir la microestructura y difusión de sistemas brownianos.

Todos los estudios se llevarán a cabo con dispersiones acuosas de liposomas cargados. La elección de este sistema se realizó por las numerosas ventajas que desde un punto de vista experimental ofertaban: poder trabajar a concentraciones de partículas mucho más elevadas sin alterar el medio acuoso en el que están dispersas y controlar la carga superficial, variando la proporción de moléculas cargadas y neutras que los componen. Al mismo tiempo, existen numerosas motivaciones adicionales para el estudio de las vesículas lipídicas. Los liposomas poseen importantes aplicaciones en Biotecnología, Farmacia, Industria Alimentaria... Además, al ser estructuras cerradas formadas por una bicapa lipídica que separa un volumen acuoso del resto de la dispersión acuosa muestran un gran

parecido con las membranas de las células biológicas. Este gran parecido ha dado por pensar en el papel que las vesículas lipídicas pudieron jugar como precursores de las células durante la era prebiológica de la Tierra. Recientemente se ha comprobado que los liposomas se pueden formar espontáneamente. Esta propiedad, junto con la posibilidad de enlaces peptídicos controlados y de reacciones de polimerización posibilitan la formación de vesículas lipídicas de mayor complejidad molecular. Estos hechos han podido ser cruciales durante la evolución prebiológica [Luisi1999] y están de acuerdo con Oparin cuando establece el origen de la vida en una evolución molecular, es decir, que surgió de la materia inanimada a través de un incremento espontáneo de la complejidad y especificidad moleculares.

Lo anterior hace a las dispersiones de liposomas un candidato ideal para el estudio de sistemas biológicos bajo condiciones controladas. Hasta ahora los estudios se habían centrado, básicamente, en la caracterización microscópica de las vesículas y en las interacciones específicas con otras moléculas. Sin embargo, también es necesario estudiar las interacciones liposoma-liposoma que tienen lugar en una dispersión y sus propiedades difusivas si se quiere avanzar, por ejemplo, en el uso de los liposomas como vehículos de transporte de medicamentos.

Esquema del trabajo

Esta tesis se ha organizado en seis capítulos que se describen de forma resumida a continuación.

En el presente capítulo se ha realizado una breve introducción

a la ciencia de coloides donde se encuentra enmarcado nuestro trabajo. A continuación, se ha presentado la justificación de este estudio de investigación así como los objetivos que se persiguen.

En el segundo capítulo se hace una revisión de ciertos aspectos teóricos fundamentales para el desarrollo de esta memoria. En primer lugar se describen todas las fuerzas que están presentes en un sistema coloidal. Una descripción completa de las suspensiones coloidales, desde un punto de vista estructural y dinámico, debe tener en cuenta todas las interacciones puestas en juego. A continuación, se hace referencia tanto a conceptos de Mecánica Estadística que se utilizan para describir la ordenación espacial como a los métodos necesarios para tener en cuenta las fuertes correlaciones entre las partículas, ecuación de Ornstein-Zernike. Para describir la dinámica de los sistemas coloidales se introduce la función $S(q,t)$ o factor de estructura dinámico que describe la evolución de las fluctuaciones locales de la densidad en número de partículas, a partir de la cuál se puede obtener valiosa información sobre la dinámica.

En el capítulo 3 se conectan todos los conceptos teóricos presentados en el capítulo anterior con magnitudes experimentales obtenidas mediante dispersión de radiación electromagnética. En este capítulo se expone la teoría de dispersión de luz estática (SLS) y dinámica (DLS) por suspensiones coloidales. Estas técnicas experimentales nos permiten determinar las magnitudes descritas en el capítulo anterior que sirven para describir la estática (factor de estructura estático, $S(q)$) y la dinámica (factor de estructura dinámico, $S(q,t)$) de cualquier sistema coloidal.

En el capítulo 4, se presenta el sistema experimental utilizado, las dispersiones de liposomas. Se menciona el proceso de síntesis de

los liposomas, así como de su interés como sistema biológico. Además se justifica el uso de técnicas de dispersión de luz sin necesidad de modificar el contraste probando así la ausencia de dispersión múltiple en todas las concentraciones aquí analizadas.

Los capítulos siguientes, 5 y 6, son el núcleo de este trabajo. En el capítulo 5 se obtienen por SLS los factores de estructura de las distintas dispersiones. En la primera parte se analiza la dependencia entre el orden local de las dispersiones y la carga de las partículas a una fracción de volumen dada. La dependencia no monótona se explica en términos de un modelo de renormalización conocido como *jellium*. En la siguiente parte se completa el estudio estructural analizando también la dependencia de $S(q)$ con la fracción de volumen para dispersiones de liposomas con distintas cargas superficiales. Los resultados experimentales se comparan con factores de estructura teóricos calculados a partir de teorías de ecuaciones integrales suponiendo un potencial de interacción repulsivo de tipo Yukawa. Los desacuerdos entre teoría y experimento serán comentados finalmente. En el último capítulo, una vez conocidos los factores de estructura que describen la organización espacial de las partículas dispersadas y que son necesarios para caracterizar la hidrodinámica del sistema. Se determinan los coeficientes de difusión efectivos de todos los sistemas que junto a las medidas de $S(q)$ nos permite determinar las funciones hidrodinámicas $H(q)$. Posteriormente, las funciones hidrodinámicas son comparadas con las dos teorías hidrodinámicas más utilizadas. En un segundo apartado se estudia la dinámica a tiempos largos de las diferentes dispersiones. Este estudio nos permite establecer mediante criterios dinámicos las posibles transiciones líquido-sólido que puedan existir en la región del diagrama de fases explorada.

Capítulo 2

Propiedades Estáticas y Dinámicas de sistemas coloidales

En un sistema coloidal, las partículas están sujetas a choques aleatorios con las moléculas del fluido. Dichos choques son los responsables del movimiento browniano que experimentan las partículas en el seno del fluido y fue observado por primera vez de forma independiente por Robert Brown y Adolphe Brongniant en 1827. El estudio de este movimiento ha sido clave para explicar muchos de los logros conseguidos por la Física de la Materia Condensada: la utilidad de la Mecánica Estadística para describir numerosos sistemas, la confirmación de la naturaleza molecular de la materia, la demostración de la importancia de las fuerzas térmicas en muchos fenómenos cotidianos....

Al ir aumentando la fracción de volumen de partículas en la dispersión, el movimiento browniano se ve también afectado tanto por las fuerzas hidrodinámicas transmitidas a través del medio dispersor, como por las interacciones directas entre las partículas. La descripción de la dinámica de un sistema coloidal está enmarcada en la Teoría de la Mecánica Estadística de Líquidos y su determinación experimental se puede realizar mediante dispersión de luz estática (SLS) y dinámica

(DLS). En este capítulo se presentarán los distintos tipos de interacciones presentes entre las partículas coloidales: térmicas, directas e hidrodinámicas, la acción conjunta de todas ellas determina las propiedades dinámicas coloidales. Las interacciones directas en sistemas cargados se modelan a través de un potencial efectivo de tipo DLVO, que será el que establezca la configuración de las partículas en la dispersión. Este tipo de interacciones es el que ha permitido considerar a los coloides como sistemas modelo para estudiar procesos que suceden a escala atómica.

Por el contrario, las interacciones hidrodinámicas son características de los sistemas coloidales y poseen su origen en el fluido donde se encuentran inmersas las partículas. El disolvente es el causante del movimiento difusivo de las mismas, movimiento que diferencia a un sistema coloidal de un atómico o molecular.

Una vez presentadas las distintas fuerzas que actúan en el sistema, procederemos a su descripción estática y dinámica mediante dos magnitudes físicas: el factor de estructura estático y el factor de estructura dinámico. Estas magnitudes, como veremos en el siguiente capítulo, pueden medirse experimentalmente a través de dispersión de luz.

2.1.- Interacciones en dispersiones coloidales

Básicamente, tres tipos de interacciones determinan la dinámica de un sistema coloidal.

2.1.1.- Interacciones brownianas o térmicas

Las moléculas que componen el fluido donde se encuentran dispersadas las partículas coloidales están sometidas a un movimiento constante y aleatorio provocado por la agitación térmica. Como se representa en la figura 2.1, la agitación térmica ocasiona choques entre las partículas y las moléculas del disolvente. Como resultado, aunque no exista ninguna fuerza externa neta, las partículas aisladas experimentan un movimiento browniano aleatorio que origina rápidas fluctuaciones en la velocidad de las partículas. El tiempo característico de estas fluctuaciones τ_B se puede expresar como $\tau_B=M/\zeta_0$, donde M es la masa de la partícula y ζ_0 el coeficiente de rozamiento de la partícula libre, $\zeta_0=6\pi\eta a$, con η la viscosidad del fluido y a el radio de la partícula. Estos tiempos son muchos más pequeños que los tiempos característicos a los que se puede acceder mediante un experimento de dispersión de luz.

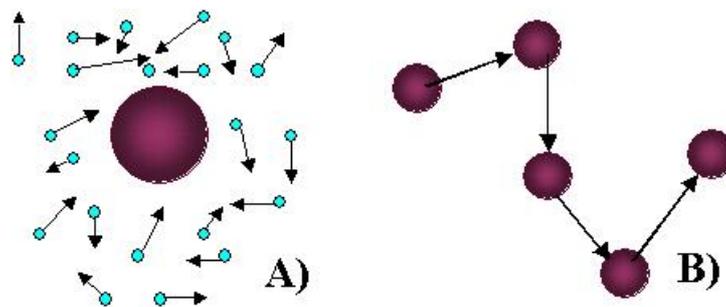


Figura 2.1.- Partícula browniana en el seno de un fluido. A) El movimiento térmico de las moléculas del fluido origina colisiones con la partícula coloidal. B) Trayectoria browniana de la partícula coloidal representada en intervalos regulares de tiempo.

2.1.2.- Interacciones directas

Este tipo de fuerzas son las responsables de la organización espacial de las partículas en la disolución y determinan las propiedades estáticas. Las interacciones directas pueden ser de distinta naturaleza: electrostáticas entre partículas cargadas, de tipo esfera dura, de dispersión,... Contrariamente a lo que se pueda pensar, las fuerzas directas producen fluctuaciones sobre la velocidad de las partículas que son varios órdenes de magnitud menor que las causadas por las fuerzas brownianas. Sin embargo, el tiempo característico de las fluctuaciones de la velocidad causadas por estas interacciones τ_a es mayor que τ_B , por lo que en muchas ocasiones el efecto de las rápidas fluctuaciones de las intensas fuerzas térmicas y el de las lentas fluctuaciones de las más débiles fuerzas directas pueden ser del mismo orden. En sistemas con partículas que interaccionan débilmente, el tiempo de relajación o estructural, τ_a , se establece como el tiempo medio que transcurre entre choque y choque de partículas. Otros autores designan como tiempo de relajación estructural el tiempo que tarda una partícula libre en recorrer una distancia igual a su radio, $\tau_a = a^2/D_0$. Aquí, D_0 es el coeficiente de difusión libre de una partícula o, también conocido como coeficiente de difusión de Stokes-Einstein

$$D_0 = \frac{\kappa_B T}{6\pi\eta a} \quad (2.1)$$

donde κ_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura del medio. Dicho de otro modo, el tiempo de relajación estructural es una forma de medir el tiempo que ha de transcurrir para que el sistema coloidal sufra un cambio perceptible en su configuración de partículas debido a la difusión. De este modo, se pueden distinguir dos comportamientos

bien diferenciados en el coeficiente de difusión; A tiempos cortos, $t \ll \tau_a$, las partículas no han interactuado con las partículas vecinas y la relación entre el desplazamiento cuadrático medio y el tiempo es lineal, siendo posible definir un coeficiente de difusión a tiempos cortos, D_s . Sin embargo, a tiempos mayores las partículas empiezan a interactuar con las de los alrededores generando una distribución anisótropa de partículas y fuerzas termodinámicas que ralentizan el movimiento. A tiempos suficientemente grandes, $t \gg \tau_a$, aunque las partículas siguen interactuando, se recupera la dependencia lineal entre el desplazamiento cuadrático medio y el tiempo. A este coeficiente de difusión se le conoce como difusión a tiempos largos, D_L , que es bastante menor que D_s .

2.1.3.- Interacciones indirectas o hidrodinámicas

La interacción hidrodinámica es el acoplamiento existente entre los movimientos de las partículas que se transmite indirectamente por los flujos inducidos por las propias partículas en el fluido. La escala temporal asociada a este tipo de interacciones es $\tau_H \approx \rho L^2 / \eta$ y representa el tiempo que necesita una onda viscosa para propagarse a lo largo de una distancia típica entre partículas L , en un líquido de densidad ρ . Este tiempo es menor que los tiempos característicos de los experimentos de correlación fotónica, por lo que se considera que las interacciones hidrodinámicas están totalmente establecidas y son independientes del tiempo. Una partícula que difunde en el seno de un fluido lo perturba generando un campo de velocidades debido al acoplamiento entre la velocidad del fluido y la velocidad de la partícula en la superficie. En otras palabras, el campo de velocidades en el fluido tiene que satisfacer las ecuaciones hidrodinámicas que están sujetas a unas condiciones de frontera

determinadas en la superficie de las partículas. La naturaleza no local de las interacciones hidrodinámicas es el factor clave que hace tan interesante su estudio a la vez que complejo. El acoplamiento hidrodinámico entre las partículas coloidales juega un papel muy importante en procesos como sedimentación [Ladd1996], agregación y formación de geles [Tanaka2000]. Tanaka y colaboradores simularon por primera vez procesos de agregación teniendo en cuenta las interacciones hidrodinámicas. La consideración de las fuerzas indirectas les permitió explicar la estructura menos compacta de los agregados, resultados que no se podían reproducir con simulaciones de la dinámica browniana. Para resolver el problema hidrodinámico se ha optado en algunas ocasiones por truncar estas interacciones a partir de una distancia crítica, sin embargo, debido al carácter de largo alcance de las mismas, la aproximación induce a errores, que en muchos casos no son nada despreciables. Últimamente han aparecido aproximaciones más elaboradas [Cichocki1999] que han hecho posible un gran avance en este campo. No obstante, las interacciones hidrodinámicas entre partículas siguen siendo un gran obstáculo a la hora de comprender la dinámica de los sistemas coloidales.

2.2.- Propiedades Configuracionales

Las propiedades configuracionales dan cuenta de la organización espacial de las partículas, es decir de la estructura coloidal promediada en el tiempo. La magnitud que describe este promedio se denomina factor de estructura estático, y es la que determina las propiedades termodinámicas del sistema. Como veremos, la disposición espacial de un coloide está íntimamente

relacionada con las interacciones entre las partículas. Por lo tanto, conocida la interacción se conoce la estructura, o a través del proceso inverso, conocido el factor de estructura, se pueden hacer hipótesis sobre el potencial de interacción.

2.2.1.- “Líquido dispersado en otro líquido”

La descripción de las propiedades estructurales de dispersiones coloidales está basada, principalmente, en los métodos que se desarrollaron para describir la estructura de líquidos simples [Hansen1992]. La descripción completa de una suspensión coloidal debe abarcar tanto al disolvente como a las partículas, así como a los pequeños iones producto de la desionización de los grupos superficiales y cantidades de sal que se pueden añadir al sistema para variar la fuerza iónica. Cuando el nivel de descripción de un sistema coloidal se realiza a escalas comparables con las dimensiones de las partículas coloidales o mayores, la estructura de las pequeñas moléculas del disolvente se puede despreciar. En este contexto, el disolvente se modela como un medio continuo de constante dieléctrica ϵ , magnitud importante en dispersiones acuosas de partículas cargadas. Mientras que la organización espacial de las moléculas del fluido no es relevante a la hora de determinar la estructura de un coloide, la estructura de los pequeños iones desempeña un papel crucial. Como ilustración, en una dispersión de partículas cargadas, debido a las interacciones coulombianas de largo alcance, la distribución de los iones alrededor de las partículas puede tener dimensiones del diámetro del macroión o de la distancia de separación media entre las partículas. Por tanto, no son los tamaños de las distintas especies que componen el sistema, sino el alcance de las correlaciones comparado con la escala espacial en la que se quiere

conocer la estructura, quién determina qué especies se deben considerar en el cálculo. El modelo que supone al disolvente como continuo y considera tanto a los pequeños iones como a los macroiones como esferas duras cargadas se conoce “modelo primitivo” (PM). Si el efecto de la cantidad de iones presentes en la disolución se considera dentro un potencial efectivo, el coloide puede ser tratado como un sistema monocomponente. En esta nueva aproximación, OCM (del inglés One Component Macrofluid), aunque los pequeños iones no aparecen explícitamente, sí son tenidos en cuenta a través del potencial de interacción introduciendo el concepto de apantallamiento de las interacciones electrostáticas entre las partículas (potencial efectivo de Coulomb apantallado). La descripción estadística de las propiedades estructurales y termodinámicas del fluido coloidal, considerando el modelo OCM, se realiza en términos de las teorías clásicas de fluidos simples, donde los macroiones son tratados como átomos [Hansen1992].

2.2.2.- Mecánica Estadística en líquidos simples: Obtención teórica de $S(q)$

El factor de estructura es una función de correlación que da información sobre la ordenación espacial de las partículas en la muestra coloidal. En términos mecanoestadísticos esta función se define como

$$S(q) = \left\langle \frac{1}{N} \sum_{i,j=1}^N e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \right\rangle = \frac{1}{N} \sum_{i,j=1}^N \langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \rangle \quad (2.2)$$

donde \vec{r}_i y \vec{r}_j representan el vector de posición de las partículas i y j , respectivamente, y q es el vector de onda. Esta magnitud es de enorme

importancia ya que se puede determinar experimentalmente mediante dispersión de luz estática, como veremos en el capítulo siguiente. La doble sumatoria se puede dividir en dos partes; una donde aparecen los términos con igual índice ($i=j$) y otra con los términos cruzados ($i \neq j$).

Tras realizar el promedio sobre todas las configuraciones se tiene

$$S(q) = 1 + \rho \int d^3 r e^{i\vec{q}\cdot\vec{r}} (g(r) - 1) = 1 + 4\pi\rho \int_0^\infty dr r^2 (g(r) - 1) \frac{\text{sen}(qr)}{qr} \quad (2.3)$$

$g(r)$ se conoce como función de distribución radial a pares y posee la misma información física que el factor de estructura pero en el espacio real. La función $g(r)$ describe la estructura microscópica de una suspensión coloidal y su descripción estadística se expone brevemente a continuación. Para un fluido homogéneo e isótropo, la probabilidad de encontrar una partícula en una determinada posición, supuesto el origen en una partícula dada, es uniforme y coincide con la densidad de partículas del sistema

$$\rho^{(1)}(\vec{r}) = \rho = \frac{N}{V} \quad (2.4)$$

Así pues, la probabilidad de encontrar una partícula en una posición \vec{r} , cuando otra se encuentra en \vec{r}' , relativa a la misma probabilidad en el caso de que no interaccionasen, depende sólo del módulo de la diferencia entre sus vectores de posición

$$\rho^{(2)}(\vec{r}, \vec{r}') = \rho^{(2)}(|\vec{r} - \vec{r}'|) \quad (2.5)$$

En la teoría clásica de fluidos, una magnitud de enorme importancia es la función de distribución radial, que se define como

$$\rho^{(2)}(\vec{r}, \vec{r}') = \rho^2 g(|\vec{r} - \vec{r}'|) \quad (2.6)$$

donde $\rho g(r)$ es la densidad de partículas a una distancia r de otra partícula con una posición dada. La definición mecanoestadística de $g(r)$ en el caso de un sistema homogéneo sería igual a

$$g(r) = \frac{1}{\rho^2} \left\langle \sum_{i,j=1}^N \frac{1}{V} \delta(\vec{r} - \vec{r}_i - \vec{r}_j) \right\rangle \quad (2.7)$$



Figura 2.2.- Función de distribución radial típica de un fluido.

Si retomamos la ecuación (2.3), vemos que $S(q)$ no es más que la transformada de Fourier tridimensional de la función de correlación total $h(r)=g(r)-1$.

$$S(q) = 1 + \rho \int d\vec{r} e^{i\vec{q}\cdot\vec{r}} h(r) = 1 + 4\pi\rho \int_0^\infty dr r^2 (g(r) - 1) \frac{\text{sen}(qr)}{qr} \quad (2.8)$$

El factor de estructura sólo depende del módulo del vector de onda ya que $h(r)$ es una función con simetría radial. Por lo tanto, si se quiere obtener teóricamente el factor de estructura es necesario conocer primero la función de distribución radial para un potencial de interacción dado.

La ecuación de Ornstein-Zernike (OZ), junto con las denominadas relaciones de cierre, es uno de los formalismos posibles para establecer una relación entre el factor de estructura, el potencial de interacción y la función de correlación total. Ornstein y Zernike introdujeron una nueva y útil función, $c(r)$, conocida como función de correlación directa, motivados por la necesidad de encontrar una función que tuviera el mismo alcance que el potencial de interacción y, por consiguiente, no divergiera en el punto crítico:

$$h(r_{12}) = c(r_{12}) + \rho \int d\vec{r}_3 c(r_{13}) h(r_{23}) \quad (2.9)$$

Si desarrollamos de forma recursiva para $h(r_{12})$, se tiene que

$$h(r_{12}) = c(r_{12}) + \rho \int d\vec{r}_3 c(r_{13}) c(r_{23}) + \rho^2 \int d\vec{r}_3 d\vec{r}_4 c(r_{13}) c(r_{24}) c(r_{34}) + O(c^4) \quad (2.10)$$

Físicamente esta ecuación indica que la correlación entre dos partículas cualesquiera $h(r_{12})$, se debe en parte a las correlaciones directas, $c(r_{12})$, y también a correlaciones indirectas que se propagan a través de correlaciones directas entre partículas intermedias. Con la relación de Ornstein-Zernike, el problema de la obtención de $g(r)$ a

partir de un potencial sigue sin resolverse, puesto que ahora tenemos una relación entre dos funciones que no conocemos y además no hace mención alguna al potencial de interacción $u(r)$. Para poder calcular dichas funciones es necesario establecer una relación adicional (de cierre) entre ambas. Las relaciones de cierre son expresiones aproximadas del desarrollo en serie de diagramas de $g(r)$ en términos de $c(r)$. La relación exacta entre ambas funciones es como sigue

$$g(r) = e^{-\beta u(r) + g(r) - 1 - c(r) + B(r)} \quad (2.11)$$

donde $B(r)$ se le conoce como función puente. Todas las relaciones de cierre existentes son distintas aproximaciones a $B(r)$.

Aproximación MSA (Mean Spherical Approximation)

Esta relación de cierre es de las más simples y ha sido utilizada para el caso de sistemas que interaccionan débilmente. La relación entre la función de correlación directa y el potencial de interacción viene dada por

$$B_{\text{MSA}} = \ln g(r) - g(r) + 1 \Rightarrow c(r) = -\beta u(r) \quad (2.12)$$

La aproximación MSA sólo es válida para $\beta u(r)$ mucho menores que la unidad. A esta condición se le añade un nuevo término que tenga en cuenta el volumen de las partículas.

$$\begin{aligned} c(r) &= -\beta u(r) & r > \sigma \\ g(r) &= 0 & r < \sigma \end{aligned} \quad (2.13)$$

donde σ es el diámetro de la partícula.

Una de las ventajas de la relación MSA es que posee solución analítica para el potencial que se utiliza normalmente en líquidos coloidales y funciona aceptablemente bien para coloides poco cargados.

Aproximación RMSA (Rescaled Mean Spherical Aproximation)

Es una mejora de la anterior, donde se introduce un diámetro efectivo a partir del cuál $g(r)$ no toma valores negativos [Hansen1982]

$$\begin{aligned} c(r) &= -\beta u(r) & r > \sigma_{\text{eff}} \\ g(r) &= 0 & r < \sigma_{\text{eff}} \end{aligned} \quad (2.14)$$

Posee solución analítica para el potencial que se utiliza normalmente en líquidos coloidales.

Llegados a este punto, una vez elegido el potencial de interacción, ya podemos utilizar a éste como parámetro de entrada en el cálculo numérico de $g(r)$ y del factor de estructura estático para unas determinadas condiciones termodinámicas de temperatura y densidad de partículas. El cálculo consiste en resolver la ecuación de Ornstein-Zernike junto con alguna de las relaciones de cierre presentadas. La importancia de estas teorías de ecuaciones integrales es que nos permite obtener teóricamente la función de distribución radial, a partir de la cuál se pueden conocer otras propiedades termodinámicas de interés como la presión, P , y la energía del sistema, U .

$$P = \kappa_B T \rho - \frac{2\pi\rho^2}{3} \int_0^\infty r^3 u'(r) g(r) dr \quad (2.15)$$

$$\frac{U}{N} = \frac{3\kappa_B T}{2} + 2\pi\rho \int_0^\infty r^2 u(r) g(r) dr$$

La energía libre F del sistema se podría determinar integrando P o la energía. Un tercer camino posible para calcular F sería a partir de la compresibilidad isoterma

$$\chi_T = \left(V \frac{\partial^2 F}{\partial V^2} \right)^{-1} \quad (2.16)$$

teniendo en cuenta que χ_T se puede obtener como

$$S(q=0) = \rho \kappa_B T \chi_T \quad (2.17)$$

Si la función $g(r)$ propuesta fuese la correcta, los tres métodos deberían proporcionar el mismo resultado. Sin embargo, no sucede así, puesto que la función de distribución radial se ha obtenido haciendo uso de aproximaciones. Esta discrepancia se conoce con el nombre de inconsistencia termodinámica.

Aproximación de Rogers-Young (RY)

Rogers y Young introdujeron en las relaciones de cierre parámetros adicionales con el fin de encontrar soluciones termodinámicamente consistentes. La relación de cierre propuesta por estos autores se muestra a continuación [Rogers1984]

$$g(r) = e^{-\beta u(r) \left(1 + \frac{e^{\gamma(r) f(r)} - 1}{f(r)} \right)} \quad (2.18)$$

donde $\gamma(r) = h(r) - c(r)$ y la función $f(r)$ se define de la forma $f(r) = 1 - e^{-\alpha r}$. El valor de α se elige de tal manera que las soluciones de las ecuaciones integrales sean termodinámicamente consistentes. En los casos límite $\alpha \rightarrow 0$ y $\alpha \rightarrow \infty$ esta relación de cierre reproduce las relaciones de Percus-Yevick y la HNC, respectivamente. Esta aproximación da resultados bastante aceptables y determina $S(q)$ con elevada precisión. En un trabajo de D'Aguanno y Klein se expone una generalización de la aproximación de Rogers-Young para sistemas polidispersos [D'Aguanno 1992].

Aproximación de la cadena hiper-reticulada, HNC

Es la relación de cierre más utilizada con potenciales de tipo Yukawa de largo alcance.

$$B_{\text{HNC}} = 0 \quad \Rightarrow \quad g(r) = e^{-\beta u(r) + h(r) - c(r)} \quad (2.19)$$

Aproximación de Percus-Yevick (PY)

La relación de Percus-Yevick proporciona buenos resultados para potenciales de tipo esfera dura de corto alcance

$$B_{\text{PY}} = -(g(r) - c(r)) + 1 + \ln(g(r) - c(r)) \Rightarrow c(r) = g(r)(1 - e^{\beta u(r)}) \quad (2.20)$$

Hasta aquí se ha expuesto el método de las ecuaciones integrales como herramienta práctica para determinar la función de distribución radial a partir de un potencial de interacción dado. Llegados a este punto, tan sólo nos queda aplicar la ecuación 2.7 para conseguir el factor de estructura, fin último de este apartado.

2.3.- Propiedades Dinámicas

2.3.1.- Factor de estructura dinámico

El estudio dinámico de un coloide consiste en el seguimiento de la trayectoria de cada una de las partículas que componen el sistema en función del tiempo. El factor de estructura dinámico, $S(q,t)$, de forma similar al caso estático, se define como la función de autocorrelación de las fluctuaciones microscópicas de la densidad

$$\delta c(\vec{q}, t) = c(\vec{q}, t) - \langle c(\vec{q}, t) \rangle \quad \text{donde } c(\vec{q}, t) = \sum_{i=1}^N e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}_i(t)}$$

$$S(q,t) = \frac{1}{N} \langle \delta c(-\vec{q}, 0) \delta c(\vec{q}, t) \rangle \quad (2.21)$$

La única diferencia es que ahora se estudia la evolución temporal de la configuración espacial de las partículas, por lo que las funciones de correlación también dependen del tiempo.

De hecho, en el instante inicial, el factor de estructura dinámico es igual al factor de estructura estático.

$$S(q, 0) = S(q) = \langle c(-\vec{q}, 0) c(\vec{q}, 0) \rangle \quad (2.22)$$

El factor de estructura dinámico, se puede descomponer en dos partes, una parte que da cuenta de las correlaciones entre las posiciones de una misma partícula (parte “auto”) y la otra compuesta por los términos cruzados ($i \neq j$) (parte colectiva). Así, la ecuación (2.22), toma la forma

$$\begin{aligned} S(q,t) &= \langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0))} \rangle + \frac{1}{N} \sum_{i \neq j}^N \langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_j(0))} \rangle - N\delta_{q0} = \\ &= S^{auto}(q,t) + S^{col}(q,t) \end{aligned} \quad (2.23)$$

De manera análoga a como se realizaba la descripción estructural en términos de $g(r)$, las funciones que describen estadísticamente al sistema en el espacio real son $G(r,t)$ y $G^{col}(r,t)$. La función $G(r,t)$, también conocida como función de autocorrelación de van Hove, proporciona la densidad de probabilidad de encontrar a una partícula a una distancia r en un instante t , si en el instante inicial se encontraba en el origen.

$$G(r,t) = \langle \delta(\vec{r} - \vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0)) \rangle \quad (2.24)$$

De su definición se tiene que la máxima correlación se corresponderá con el instante inicial, y para tiempos o distancias muy grandes esta correlación desaparece.

$$\begin{aligned} G(r,0) &= \delta(\vec{r}) \\ G(r \rightarrow \infty, t) &= G(r, t \rightarrow \infty) = \frac{1}{V} \approx 0 \end{aligned} \quad (2.25)$$

Aquí también se puede definir una magnitud equivalente en el espacio recíproco que se conoce como factor de estructura autodinámico,

puesto que sólo proporciona información sobre la dinámica de una partícula.

$$S^{auto}(q,t) = \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(0))} \right\rangle = \int d^3r e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} G(r,t) \quad (2.26)$$

Por el contrario, la función de correlación colectiva de van Hove, $G^{col}(r,t)$ aporta información sobre el movimiento relativo de partículas distintas.

$$G^{col}(r,t) = \frac{1}{\rho^2} \left\langle \sum_{i \neq j}^N \frac{1}{V} \delta(\vec{r} - \vec{r}_i(t) + \vec{r}_j(0)) \right\rangle \quad (2.27)$$

La función $G^{col}(r,t)$ representa, fijada una partícula en el origen en el instante $t=0$, la densidad de probabilidad condicional de encontrar a otra partícula a una distancia r del origen en un tiempo t . La función de correlación de esta densidad de probabilidad se denomina factor de estructura dinámico colectivo.

$$\begin{aligned} S^{col}(q,t) &= \frac{1}{N} \sum_{i \neq j}^N \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_j(0))} \right\rangle - N\delta_{q0} \\ &= \rho \int d^3r e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} (G^{col}(r,t) - 1) \end{aligned} \quad (2.28)$$

En el instante inicial, la función $G^{col}(r,t)$ representa la función de distribución radial $g(r)$. Para tiempos muy grandes encontramos $G^{col}(r,t \rightarrow \infty) = G^{col}(r \rightarrow \infty, t) = 1$.

2.3.2.- Evolución temporal de $S(q,t)$

Como ya sabemos, el factor de estructura dinámico definido como

$$S(q,t) = \frac{1}{N} \langle \delta c(-\vec{q}, 0) \delta c(\vec{q}, t) \rangle \quad (2.29)$$

representa la transformada de Fourier de la densidad microscópica de partículas en un instante t . En un sistema ergódico, $\langle \rangle$ simboliza un promedio temporal o sobre la colectividad. El factor de estructura dinámico depende tanto de las interacciones directas presentes entre las partículas como de las hidrodinámicas mediadas por el fluido. El origen de las interacciones hidrodinámicas se encuentra en las líneas de flujo existentes en el medio circundante que han sido generadas por el movimiento de las partículas. Como vimos, al contrario de lo que ocurre con $S(q,t)$, el factor de estructura estático $S(q,0)$ sólo se ve afectado por las interacciones directas. La ecuación de Liouville describe de forma exacta la dinámica del sistema y en cualquier escala de tiempos. Sin embargo, como experimentalmente sólo tenemos acceso a tiempos superiores a τ_B , sólo es posible seguir las variaciones de la intensidad ocasionadas por el movimiento de las partículas. Este hecho permite seguir la evolución temporal de las posiciones de las partículas sobre las bases de la ecuación de Smoluchowski generalizada (GSE) donde se supone que las escalas temporales entre la dinámica del fluido y el movimiento difusivo de las partículas son totalmente independientes. En este contexto las interacciones hidrodinámicas actúan instantáneamente. En la dinámica de Smoluchowski, $S(q,t)$ se puede expresar como [Baur1996], [Nägele1996]

$$S(q,t) = \frac{1}{N} \langle \delta c(-\vec{q}) e^{\hat{\Omega}t} \delta c(\vec{q}) \rangle \quad (2.30)$$

donde $\hat{\Omega}(\vec{r}^N) = \sum_{i,j=1}^N \nabla_i \cdot D_{ij}(\vec{r}^N) \cdot [\nabla_j - \beta \vec{F}_j]$ es el operador diferencial GSE. Aquí, $\vec{r}^N = \{\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N\}$, indica el conjunto de vectores de posición de las N partículas, los tensores de difusión $D_{ij}(\vec{r}^N)$ dan cuenta de las interacciones hidrodinámicas entre las partículas i y j para una configuración dada, $\beta=1/\kappa_B T$ y $\vec{F}_j = -\nabla_j U(\vec{r}^N)$ expresa la fuerza total que actúa sobre la partícula j ejercida por las $(N-1)$ partículas restantes. $\langle \dots \rangle$ representa el promedio sobre la colectividad canónica $\langle \dots \rangle = \int d\vec{r}^N \dots \psi_{\text{eq}}(\vec{r}^N)$, donde $\psi_{\text{eq}}(\vec{r}^N) = e^{-\beta U(\vec{r}^N)} / \int d\vec{r}^N e^{-\beta U(\vec{r}^N)}$ es la función de distribución en el equilibrio.

Diferenciando (2.30) y tras algunas operaciones se puede demostrar que

$$\frac{dS(q,t)}{dt} = -q^2 D_{\text{ef}} S(q,t) + \int_0^t du M(q,t-u) \frac{S(q,u)}{S(q)} \quad (2.31)$$

D_{ef} es el coeficiente de difusión efectivo a tiempos cortos, $M(q,t)$ es la función memoria, y $S(q)=S(q,0)$ es el factor de estructura estático. La función memoria describe los efectos de interacciones dinámicas que no actúan instantáneamente. La ecuación de (2.31) se puede resolver mediante una transformada de Laplace

$$\tilde{S}(q,z) = \frac{S(q)}{z + q^2 \tilde{D}(q,z)} \quad (2.32)$$

donde z es la variable de la transformada. El kernel de difusión colectivo viene dado por

$$\tilde{D}(q, z) = D(q) - \frac{\tilde{M}(q, z)}{q^2 S(q)} \quad (2.33)$$

Esta ecuación también es equivalente a la relación de Stokes-Einstein generalizada

$$\tilde{D}(q, z) = \frac{\kappa_B T}{S(q)} \frac{1}{\tilde{\xi}(q, z)} \quad (2.34)$$

La función $\tilde{\xi}(q, z)$ es el coeficiente de rozamiento y depende de la frecuencia y el vector de onda. El coeficiente de rozamiento caracteriza las propiedades viscoelásticas de la dispersión. En el régimen diluido, donde no existen interacciones entre las partículas, $\tilde{\xi}(q, z)$ se reduce al conocido coeficiente de fricción de Stokes-Einstein ξ_0 . Los efectos de memoria se manifiestan para tiempos $t \geq \tau_a$, y dan lugar a una relajación más lenta de $S(q, t)$ comparada con su comportamiento a tiempos cortos. Como se puede observar, la evolución temporal de la configuración de partículas descrita por la ecuación de Smoluchowski generalizada se puede caracterizar en dos regímenes temporales diferentes, a tiempos cortos $\tau_B \ll t \ll \tau_a$, donde $\tau_a = a^2/D_0$ es el tiempo de relajación estructural y a tiempos largos $t \gg \tau_a$. A tiempos cortos, $S(q, t)$ decae exponencialmente (para ver un desarrollo completo consultar [Pusey, 1991])

$$S(q, t) = S(q) e^{-t/\tau_s(q)} \quad (2.35)$$

donde τ_s es el tiempo de caída

$$\tau_s(q) = \frac{S(q)}{q^2 D_0 H(q)} \quad (2.36)$$

aquí D_0 es el coeficiente de difusión libre de Stokes-Einstein y

$$H(q) = \left\langle \frac{1}{ND_0} \sum_{i,j=1}^N \hat{q} \cdot D_{ij}(\vec{r}^N) \cdot \hat{q} e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \right\rangle \quad (2.37)$$

con $\hat{q} = \vec{q}/q$. Esta función $H(q)$ contiene el efecto de las interacciones hidrodinámicas promediadas sobre la dinámica de la dispersión a tiempos cortos. Cuando las interacciones hidrodinámicas son despreciables, $H(q)$ permanece constante e igual a la unidad. En varios trabajos teóricos se han aportado distintos métodos para evaluar la función hidrodinámica [Beenakker1984], [Nägele1994] y han contribuido a una mejor comprensión de la dinámica a tiempos cortos (véase Apéndice I), incluso en sistemas polidispersos [Nägele1993], [Phalakornkul1996]. Asimismo, en estos estudios se encontraron diferencias cualitativas entre las HI presentes en sistemas cargados y las presentes en sistemas interaccionando como esferas duras [Nägele1994], [Nägele1996].

Capítulo 3

Determinación experimental de los factores de estructura estático y dinámico: SLS y DLS

La dispersión de luz visible, en la que se basan los dispositivos empleados en esta tesis, es una de las principales técnicas experimentales utilizadas para estudiar las propiedades configuracionales y dinámicas de los sistemas coloidales dado que el tamaño de las partículas coloidales, así como las distancias entre partículas vecinas, son del orden de las longitudes de onda correspondientes al espectro visible. En este capítulo se explicará como mediante dispersión de luz es posible acceder experimentalmente a los factores de estructura estáticos y dinámicos del sistema, fin último de nuestro trabajo. Estas magnitudes, descritas en el capítulo anterior, proporcionan información sobre las propiedades estadísticas de los coloides, como son los fenómenos difusivos o las propiedades termodinámicas. La dispersión de luz es una herramienta tan útil porque la intensidad dispersada por una suspensión es directamente proporcional a una determinada

componente de Fourier de la densidad microscópica. Es decir, existe una relación directa entre la luz dispersada por un sistema coloidal y las fluctuaciones de densidad que en él tienen lugar. Por último se presentan los dispositivos con los que hemos medido los factores de estructura estáticos, $S(q)$, y dinámicos, $S(q,t)$: MALVERN 4700C, ALV/500E *fast-correlator*, y 3D-DLS. Además, se ha incluido la descripción de otro dispositivo con el que se midieron movilidades electroforéticas, Zeta-PALS. Aunque la naturaleza de los experimentos es muy diferente, el motivo de incluir el último dispositivo se debe a que la movilidad se obtiene también analizando la intensidad que dispersa una suspensión coloidal bajo la influencia de un campo eléctrico externo.

3.1.- Dispersión de luz por suspensiones coloidales

Cuando una radiación electromagnética incide sobre una muestra que presenta inhomogeneidades espaciales de su índice de refracción, como puede ser un conjunto de partículas coloidales suspendidas aleatoriamente en un fluido, ésta es dispersada. La amplitud del campo eléctrico dispersado por diferentes zonas de la muestra interfieren creando un patrón de interferencias con zonas claro-oscuro en el campo lejano. Este patrón de interferencias refleja la configuración espacial instantánea de los centros dispersores (partículas coloidales). Si, además, las partículas se encuentran en movimiento, el patrón de interferencias cambiará en el tiempo, de manera que las zonas que inicialmente brillaban pasarán a ser oscuras y viceversa. Por lo tanto, si se colocara un detector en el campo lejano de dimensiones similares a las de estos puntos creados por las interferencias, la intensidad medida en esa zona fluctuará en el tiempo

en función del movimiento de las partículas dispersoras. La geometría característica de un experimento de dispersión se muestra en la figura 3.1.

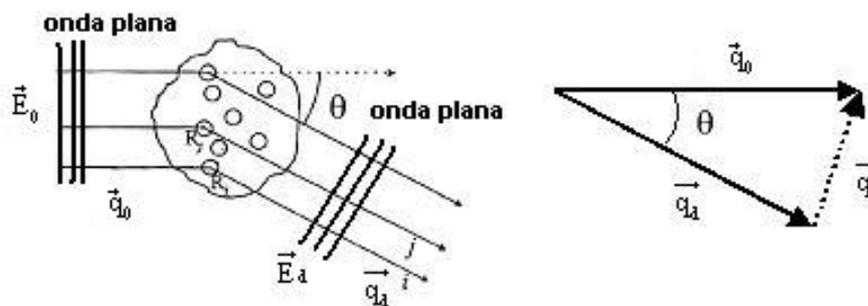


Figura 3.1.- Esquema de un proceso de dispersión de luz donde se supone que las ondas incidentes y las registradas en el campo lejano son planas, ya que la distancia fuente-muestra y muestra-detector, respectivamente, son mucho mayores que el tamaño del volumen de dispersión.

Cuando un haz láser colimado de vector de onda \vec{q}_0 incide sobre la muestra, induce un movimiento oscilatorio sobre los electrones presentes en las partículas. Las cargas en movimiento actúan como fuentes de radiación y dispersan luz en todas direcciones. De esta manera, el campo eléctrico dispersado en una determinada dirección, \vec{q}_d , será la suma de los campos eléctricos dispersados por cada partícula en esa misma dirección. La diferencia de fase de la luz dispersada por dos partículas depende de la posición relativa de las mismas y de la dirección en la que se mida el campo eléctrico. El proceso de dispersión se describe en términos del vector de dispersión, $\vec{q} = \vec{q}_0 - \vec{q}_d$, cuyo módulo viene dado por la siguiente igualdad

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (3.1)$$

λ_0 representa la longitud de onda del haz láser en el vacío, n el índice de refracción del medio, y θ el ángulo en el que se encuentra situado el detector respecto a la dirección de la radiación incidente. Para deducir esta expresión se ha supuesto que el proceso de dispersión es elástico. En resumen, el problema de dispersión de luz consiste en determinar la relación entre el campo eléctrico incidente y el dispersado. Dado que el campo dispersado es producto de la interacción de radiación electromagnética con las cargas eléctricas del medio dispersor, la solución viene dada por las ecuaciones de Maxwell. Una descripción completa de la teoría de dispersión de luz por partículas dieléctricas se puede encontrar en [Dhont1996], [Berne1990].

Si sobre una partícula incide un haz monocromático colimado, el campo eléctrico incidente viene descrito por una onda plana

$$\vec{E}_0(\vec{r}, t) = \vec{E}_0 e^{i(\vec{q}_0 \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (3.2)$$

Aquí, \vec{E}_0 es la amplitud de la onda incidente, ω es la frecuencia de la radiación y \vec{q}_0 es el vector de onda con dirección la de propagación de la onda y módulo $2\pi n/\lambda_0$. Resolviendo las ecuaciones de Maxwell y suponiendo despreciables los eventos de dispersión múltiple, se obtiene que las propiedades de las partículas y las posiciones relativas entre ellas son las que determinan el proceso de dispersión. La resolución de este problema tan complejo se ve enormemente simplificado si se considera que tanto las partículas como el medio

son materiales dieléctricos lineales con permeabilidad magnética igual a la del vacío y que la interacción luz-materia es elástica. Además, el medio se supone con permitividad constante, es decir, homogéneo, por lo que la intensidad dispersada se debe exclusivamente a la presencia de partículas. Otra de las aproximaciones aplicables en caso de partículas pequeñas (diámetro menor que la inversa del vector de onda) o con un índice de refracción muy parecido al del medio es la de Rayleigh-Gans-Debye (RGD). En la teoría de estos autores el campo total dispersado por una partícula es la suma coherente de los campos dispersados por elementos unitarios de volumen en los que se divide la partícula. O, equivalentemente, que el cambio de fase que sufre la onda incidente dentro de una partícula es despreciable. Estos requisitos se cumplen cuando se satisface la siguiente condición.

$$\frac{2\pi a}{\lambda} |m-1| \ll 1 \quad (3.3)$$

m representa el cociente entre el índice de refracción de la partícula y el del medio y a es el radio de la partícula.

Bajo estos supuestos el campo dispersado por un conjunto de N partículas es igual a

$$\vec{E}_d(\vec{r}) = \frac{q_0^2}{4\pi r} e^{iq_0 r} \left[\hat{I} - \frac{\vec{q}_d \vec{q}_d}{q_0^2} \right] \cdot \sum_{j=1}^N \hat{B}_j(\vec{q}_0 - \vec{q}_d) \cdot \vec{E}_0 e^{-i(\vec{q}_0 - \vec{q}_d) \cdot \vec{r}_j} \quad (3.4)$$

El tensor $\hat{B}_j(\vec{q}_0 - \vec{q}_d)$ es conocido como amplitud de dispersión de la partícula j y se define como

$$\hat{B}(\vec{q}_0 - \vec{q}_d) = \int_V d^3 r' \frac{\hat{\epsilon} - \epsilon_F \hat{I}}{\epsilon_F} e^{-i(\vec{q}_0 - \vec{q}_d) \cdot \vec{r}'} \quad (3.5)$$

donde ε y ε_F son las permitividades dieléctricas del centro dispersor y del medio circundante, respectivamente, e \hat{I} es la matriz identidad. Básicamente, la matriz amplitud de dispersión es la transformada de Fourier del perfil del índice de refracción $n(r)$ de las partículas, ya que $n(r) = \sqrt{\varepsilon(r)}$. Si las partículas son esféricas e isotropas, su permitividad es constante y el tensor amplitud del campo queda como $\hat{B}(\vec{q}) = B(\vec{q})\hat{I}$, que está relacionado con el factor de forma de la partícula a través de la siguiente expresión

$$P(q) = \frac{|B(q)|^2}{|B(0)|^2} = \frac{1}{V^2} \left| \int e^{-i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} dV \right|^2 \quad (3.6)$$

Luego, el campo eléctrico total en una posición \vec{r} , donde se sitúa el punto de observación, será la superposición del campo eléctrico dispersado y el incidente:

$$\vec{E}(\vec{r}) = \vec{E}_0 e^{i\vec{q}_0 \cdot \vec{r}} + \vec{E}_d(\vec{r}) \quad (3.7)$$

Sin embargo, la magnitud que se detecta experimentalmente es la intensidad que se puede calcular a partir del campo eléctrico

$$I(q) = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\varepsilon_F}{\mu_0}} |\vec{E} \cdot \vec{n}_d|^2 = I_0 \frac{q_0^4}{(4\pi r)^2} (\vec{n}_0 \cdot \vec{n}_d)^2 \sum_{i,j=1}^N B_i(\vec{q}) B_j^*(\vec{q}) e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \quad (3.8)$$

donde \vec{n}_d y \vec{n}_0 son los vectores unitarios en la dirección de polarización de la luz detectada e incidente, respectivamente, e $I_0 = \sqrt{\varepsilon_F / \mu_0} E_0^2 / 2$

Según esta expresión se podría deducir que la intensidad es independiente del tiempo. En realidad no ocurre así, sino que el campo dispersado es una magnitud variable con el tiempo, puesto que las partículas coloidales se encuentran sometidas a un movimiento browniano. Lo que ha sucedido es que, a la hora de resolver las ecuaciones de la teoría electromagnética, se partió de una configuración fija de partículas.

3.2.- Dispersión estática de luz (SLS): Determinación experimental de $S(q)$

Experimentalmente, el factor de estructura se puede determinar mediante dispersión de luz. Esta magnitud describe las propiedades estructurales, o dicho de otra forma, la distribución promedio de partículas del sistema en el equilibrio. Por lo tanto, no nos interesa conocer la evolución temporal de la intensidad sino su valor promedio $I(\vec{q}) = \langle I(\vec{q}, t) \rangle$. En el caso de sistemas ergódicos, el promedio temporal es análogo al promedio espacial sobre la colectividad en un instante determinado.

3.2.1.- Sistemas monodispersos

En el caso de partículas idénticas, $\vec{B}_i(\vec{q}) = \vec{B}_j(\vec{q})$, la intensidad dispersada quedaría como

$$I(q) = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\epsilon_F}{\mu_0}} |\vec{E} \cdot \vec{n}_d|^2 = I_0 \frac{q_0^4}{(4\pi r)^2} (\vec{n}_0 \cdot \vec{n}_d)^2 |B(q)|^2 \sum_{i,j=1}^N \langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \rangle \quad (3.9)$$

La sumatoria que aparece en la segunda igualdad coincide, salvo una constante, con la definición de factor de estructura introducida en el capítulo anterior.

$$S(q) = \frac{1}{N} \sum_{i,j=1}^N \langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \rangle \quad (3.10)$$

De esta forma, la intensidad dispersada por unidad de volumen es igual a

$$I(q) = I_0 \frac{q_0^4}{(4\pi r)^2} (\vec{n}_0 \cdot \vec{n}_d)^2 V_p^2 (m^2 - 1)^2 \rho P(q) S(q) \quad (3.11)$$

donde V_p es el volumen de la partícula. La intensidad dispersada posee una dependencia angular a través de $P(q)$ y de $S(q)$. Esto es, una debido a efectos de interferencias entre los campos dispersados por distintos elementos de volumen de una misma partícula, y la otra debida a la posición relativa de las partículas en la disolución.

Para el caso de una esfera maciza, el factor de forma viene dado por

$$P(q) = 9 \left[\frac{\text{sen}(qa) - qa \cos(qa)}{(qa)^3} \right]^2 \quad (3.12)$$

En el caso de una vesícula (ver dibujo), que se modela como una esfera hueca delimitada por una corteza de espesor $(1-t)a$, el factor de forma se calcula a través de la igualdad

$$P(q) = \left\{ \frac{3}{(1-t^3)(qa)^3} [\text{sen}(qa) - qa \cos(qa) + tqa \cos(qa) - \text{sen}(tqa)] \right\}^2 \quad (3.23)$$

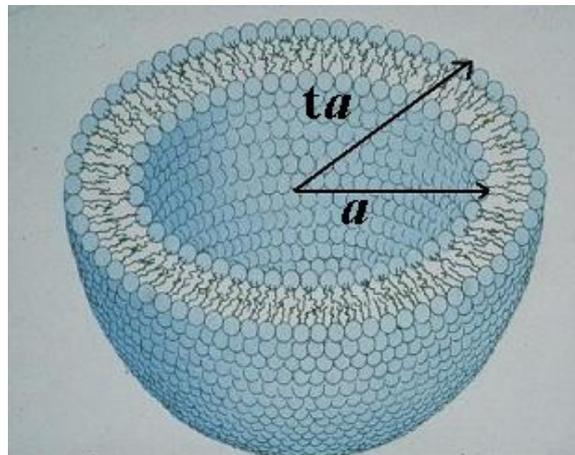


Figura 3.2.- Corte transversal de una vesícula.

3.2.2.- Sistemas multicomponentes y/o polidispersos

En todo el desarrollo anterior se ha considerado un sistema coloidal formado por partículas idénticas, sin embargo, experimentalmente, es extremadamente difícil sintetizar coloides formado por partículas de igual tamaño y composición. Y, en otras ocasiones, interesa estudiar mezclas de distintas especies. De manera análoga a como se hizo para partículas idénticas, aunque los cálculos son un poco más tediosos, se obtienen las siguientes expresiones para un sistema formado por p especies

$$I(q) \propto \sum_{k=1}^p \sum_{l=1}^p \sum_{i=1}^{N_k} \sum_{j=1}^{N_l} B_k(q) B_l^*(q) \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i^k - \vec{r}_j^l)} \right\rangle \quad (3.14)$$

donde N_k y N_l son el número de partículas de las especies k y l .
Para cada pareja de especies se define un factor de estructura parcial

$$S_{kl}(q) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N_k} \sum_{j=1}^{N_l} \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i^k - \vec{r}_j^l)} \right\rangle \quad (3.15)$$

Tal y como se hizo para partículas idénticas, se puede demostrar

$$S_{kl}(q) = x_k \delta_{kl} + x_k x_l \frac{4\pi\rho}{q} \int_0^\infty dr \sin(qr) r (g_{kl}(r) - 1) \quad (3.16)$$

Del mismo modo, se definen las siguientes magnitudes promediadas sobre las clases de partículas

$$\begin{aligned} \overline{|B(0)|^2} &= \sum_{k=1}^p x_k |B_k(0)|^2 \\ \overline{P(q)} &= \frac{\sum_{k=1}^p x_k |B_k(q)|^2}{\overline{|B(0)|^2}} \\ \overline{S(q)} &= \frac{\sum_{k=1}^p \sum_{l=1}^p B_k(q) B_l^*(q) S_{kl}(q)}{\overline{|B(0)|^2} \overline{P(q)}} \end{aligned} \quad (3.17)$$

La expresión final de la intensidad, que es una generalización de la ecuación (3.11), tendría la forma

$$I(q) = K \rho \overline{P(q)S(q)} \quad (3.18)$$

Así, la intensidad dispersada por un sistema coloidal correlacionado proporciona información tanto de las partículas, a través de $P(q)$, como de las interacciones presentes entre ellas a través del factor de estructura estático, $S(q)$. Experimentalmente la ecuación (3.18) nos va a ser muy útil en la determinación de $S(q)$.

3.2.3.-Determinación experimental de $S(q)$

Si consideramos una muestra diluida con una densidad en número de partículas ρ_0 , el factor de estructura sería constante e igual a uno, puesto que las partículas están lo suficientemente alejadas para que no interaccionen. La intensidad dispersada por la muestra sólo dependerá, salvo constantes, del factor de forma

$$I_0(q) = K \rho_0 P(q) \quad (3.19)$$

Como ejemplo, en la siguiente figura se muestra la intensidad dispersada por una suspensión de látex muy diluida, Fig. 3.3 A). En la gráfica, además de los datos experimentales aparece en línea continua el correspondiente ajuste teórico dado por el factor de forma de una esfera de diámetro 80 nm.

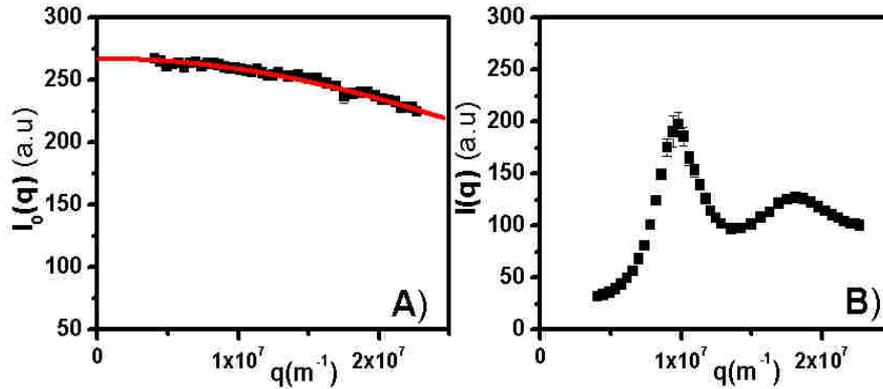


Figura 3.3.- A) Intensidad dispersada por una muestra muy diluida, B) Intensidad dispersada por una muestra correlacionada.

A la hora de medir el factor de estructura de un sistema coloidal, tan sólo deberíamos hacer el cociente entre la intensidad que dispersa la muestra correlacionada, $I(q)$ (3.3.-B) y la dispersada por una muestra diluida de las mismas características, $I_0(q)$

$$\left. \begin{aligned} I(q) &= K \rho P(q) S(q) \\ I_0(q) &= K \rho_0 P(q) \end{aligned} \right\} S(q) = \frac{\rho_0 I(q)}{\rho I_0(q)} \quad (3.20)$$

En la figura 3.3 B) se muestra el barrido angular de la intensidad dispersada por una muestra de látex desionizada a una fracción de volumen mayor. Claramente, la dependencia angular de la intensidad pone de manifiesto la correlación entre las partículas donde la posición del máximo principal da una idea de la distancia media de separación entre partículas. Finalmente, el factor de estructura se consigue dividiendo las intensidades dispersadas por ambas muestras. El factor de estructura de la dispersión de látex analizada se muestra

en la gráfica 3.4.

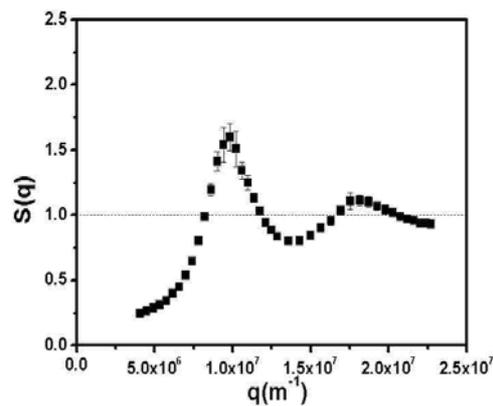


Figura 3.4.- Factor de estructura estático experimental de una suspensión de látex sulfonato a una fracción de volumen 0.07%.

3.3.- Dispersión dinámica de luz (DLS)

La dispersión dinámica de luz, también se conoce como dispersión de luz cuasi-estática (QELS), ya que sólo cambia la dirección del vector de dispersión pero no el módulo. En una dispersión coloidal, la intensidad dispersada a un determinado ángulo fluctúa en el tiempo debido al movimiento Browniano de las partículas puesto que la intensidad dispersada en un tiempo t depende de la configuración espacial de las partículas en ese mismo instante. El movimiento de las partículas coloidales en el seno del fluido ocasiona fluctuaciones de la intensidad. La función que describe las fluctuaciones de la intensidad dispersada $I(q,t)$ es su función de autocorrelación, que se define como

$$G_I(\vec{q}, t) = \left\langle I(\vec{q}, \tau) I(\vec{q}, \tau + t) \right\rangle \equiv \frac{1}{T} \int_0^T d\tau I(\vec{q}, \tau) I(\vec{q}, \tau + t) \quad (3.21)$$

En el instante $t=0$, la función de autocorrelación de la intensidad alcanza su valor máximo $\langle I(q)^2 \rangle$, mientras que para tiempos bastante más grandes la intensidad $I(t=0)$ e $I(t)$ son independientes y $G_I(\vec{q}, t) = \langle I(q) \rangle^2$.

Equivalentemente, 3.21 se puede formular en función del campo eléctrico

$$G_I(\vec{q}, t) = \frac{\epsilon_r}{4\mu_0} \left\langle (\vec{E}_d(\tau) \cdot \hat{n}_d) (\vec{E}_d^*(\tau) \cdot \hat{n}_d) (\vec{E}_d(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) (\vec{E}_d^*(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle \quad (3.22)$$

Debido al movimiento browniano de las partículas en la disolución, el campo eléctrico posee un carácter aleatorio. El teorema del límite central establece que el campo eléctrico total dispersado por la muestra (suma de los campos dispersados por cada una de las partículas) es también una variable aleatoria que responde a una distribución gaussiana. Teniendo en cuenta que la media de un producto de variables aleatorias se puede expresar como media de productos de dos variables se tiene

$$G_1(\vec{q}, t) = \frac{\epsilon_f}{4\mu_0} \left[\underbrace{\left\langle (\vec{E}_d(\tau) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d^*(\tau) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle \left\langle (\vec{E}_d(\tau+t) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d^*(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle}_{1^{\text{er}} \text{ sumando}} \right. \\ \left. + \underbrace{\left\langle (\vec{E}_d(\tau) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle \left\langle (\vec{E}_d^*(\tau) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d^*(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle}_{2^{\text{o}} \text{ sumando}} \right. \\ \left. + \underbrace{\left\langle (\vec{E}_d(\tau) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d^*(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle \left\langle (\vec{E}_d^*(\tau) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle}_{3^{\text{er}} \text{ sumando}} \right] \quad (3.23)$$

En el caso del campo eléctrico, la función de autocorrelación satisface

$$G_E(\vec{q}, t) = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{\epsilon_f}{\mu_0}} \left\langle (\vec{E}_d(\tau) \cdot \hat{n}_d)(\vec{E}_d^*(\tau+t) \cdot \hat{n}_d) \right\rangle \quad (3.24)$$

Retomando la ecuación (3.23), observamos que el primer término es igual a la intensidad media al cuadrado $I^2(\vec{q}) = \langle I(\vec{q}, \tau) \rangle^2$. El segundo sumando se anula para vectores de onda no nulos, ya que si desarrollamos los productos y calculamos las integrales, se observa que la integral es la unidad para $q=0$ y cero para el resto. El resultado se obtiene suponiendo un volumen de dispersión infinito, que experimentalmente equivale a que sea muy grande comparado con $2\pi/q$, en otras palabras, las dimensiones del volumen de dispersión han de ser mayores que el alcance de las correlaciones. El tercer y último término es el cuadrado de la función de autocorrelación del campo. Con todas estas consideraciones, la dependencia entre la función de autocorrelación de la intensidad y la del campo viene dada por la siguiente expresión, conocida como relación de Siegert.

$$G_I(\vec{q}, t) = I^2 + |G_E(\vec{q}, t)|^2 \quad (3.25)$$

Normalizando esta ecuación por la intensidad media al cuadrado se tiene

$$g_I(\vec{q}, t) = 1 + |g_E(\vec{q}, t)|^2 \quad (3.26)$$

donde

$$g_I(\vec{q}, t) = \frac{G_I(\vec{q}, t)}{I^2} \quad \text{y} \quad g_E(\vec{q}, t) = \frac{G_E(\vec{q}, t)}{I}$$

Desde un punto de vista experimental, esta relación debe ser corregida ya que el detector posee un diafragma con una abertura finita (no es puntual) y tampoco se registra la luz dispersada por un volumen infinitamente pequeño, lo que conlleva que la luz dispersada detectada no posea un único vector de dispersión. Las interferencias entre los campos correspondientes a distintos vectores de onda introducen un grado de incoherencia que viene representado por la constante de Siegert, β . Normalmente, si el experimento ha sido correctamente diseñado, el factor será próximo a uno. La relación de Siegert corregida toma la forma

$$g_I(\vec{q}, t) = 1 + \beta |g_E(\vec{q}, t)|^2 \quad (3.27)$$

Como se muestra en la figura 3.5, en los instantes iniciales, donde t es mucho más pequeño que el tiempo característico de las fluctuaciones, $I(\tau)$ e $I(\tau+t)$ son muy parecidas y están muy correlacionadas, sin embargo, al ir aumentando el tiempo de correlación t , la correlación entre las señales va disminuyendo.

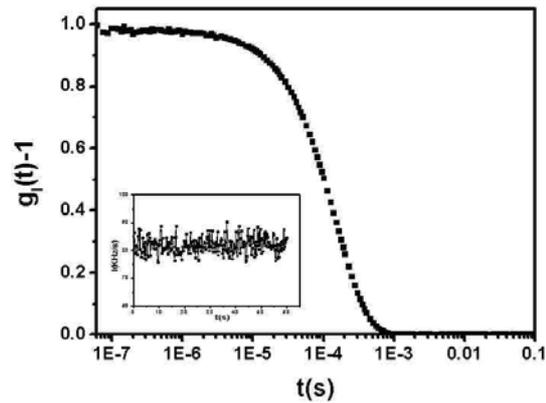


Figura 3.5.- Función de autocorrelación de la intensidad, g_I-1 , obtenida a partir de la señal detectada $I(t)$ que aparece insertada en la gráfica

3.3.1.- Determinación experimental de $S(q,t)$

El factor de estructura dinámico se obtiene de manera inmediata a partir de medidas de dispersión de luz dinámica, como veremos en este apartado. Si analizamos el término de la función de autocorrelación del campo normalizada, que es donde se encuentra la dependencia temporal, se obtiene

$$g_E(q,t) = \frac{\langle E_d(\vec{q},0)E_d^*(\vec{q},t) \rangle}{\langle |E_d|^2 \rangle} = \frac{\langle E_d(\vec{q},0)E_d^*(\vec{q},t) \rangle}{\langle I(\vec{q}) \rangle} =$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle \exp \left[i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(0) - \vec{r}_j(t)) \right] \right\rangle \\
 &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle \exp \left[i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j) \right] \right\rangle \\
 &= \frac{1}{S(q)} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle \exp \left[i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(0) - \vec{r}_j(t)) \right] \right\rangle = \frac{S(q,t)}{S(q)} = f(q,t)
 \end{aligned} \tag{3.28}$$

donde $S(q,t)$ se ha definido como el factor de estructura dinámico, puesto que proporciona información sobre la dinámica del sistema.

$$S(q,t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle \exp \left[i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(0) - \vec{r}_j(t)) \right] \right\rangle \propto g_E(q,t) \tag{3.29}$$

Como vemos la función de autocorrelación del campo, $g_E(q,t)$, derivada a partir de las teorías de dispersión de luz es, salvo una constante, $S(q,t)$, magnitud que había sido definida para describir la dinámica de un coloide a partir de teorías mecano-estadísticas. En la práctica, se trabaja con la función $f(q,t)$ que es el factor de estructura dinámico normalizado por su valor en el instante inicial a ese vector de onda. La razón se debe a que esta magnitud coincide exactamente con la función de correlación del campo y por eso muchas veces se la conoce como función de dispersión intermedia normalizada. Este resultado es de enorme importancia, ya que demuestra como a partir de técnicas de dispersión dinámica de luz, podemos determinar el factor de estructura dinámico. La función refleja, pues, la relajación de las fluctuaciones de densidad sinusoidales de vector de onda $2\pi/q$.

En el caso de un sistema polidisperso, el factor de estructura estático (ver apartado anterior) y dinámico, respectivamente, vendrían dados por

$$\overline{S(q)} = \frac{1}{NB^2(q)} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \langle B_i(q)B_j(q) \exp[i(\vec{r}_i - \vec{r}_j)] \rangle \quad (3.30)$$

$$\overline{S(q,t)} = \frac{1}{NB^2(q)} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \langle B_i(q)B_j(q) \exp[i(\vec{r}_i(0) - \vec{r}_j(t))] \rangle$$

Con el fin de mostrar el significado físico de esta función, el desarrollo que se presenta a continuación se realizó con la versión monodispersa de $S(q,t)$. El motivo no es otro que la simplicidad. Aunque parte de la información que a continuación se presenta puede resultar redundante, hemos creído conveniente repetir ciertos conceptos para relacionarlos con magnitudes obtenidas con técnicas DLS.

Como vimos en la definición del factor de estructura dinámico en el capítulo anterior, $S(q,t)$ se puede dividir en dos partes: una con N términos donde $i=j$ correspondiente a la parte “auto”, y otra con sumandos $i \neq j$ correspondiente a la parte “colectiva”

$$S(q,t) = S^{\text{auto}}(q,t) + S^{\text{col}}(q,t) \quad (3.31)$$

S^{auto} contiene información sobre la dinámica de una partícula. Aunque sólo se describa la evolución del vector de posición de una partícula individual, esta función depende de las interacciones a través de la función densidad de probabilidad, respecto a la cuál se calcula el valor promedio. Algunas de las magnitudes relacionadas con este tipo de

movimiento son, por ejemplo, el coeficiente de autodifusión, D^{auto} , el desplazamiento cuadrático medio

$$\langle \Delta r^2(t) \rangle = \langle [\bar{r}_i(t) - \bar{r}_i(0)]^2 \rangle = -\frac{1}{3} \lim_{q \rightarrow 0} \left[\frac{\partial^2 S^{\text{auto}}(q, t)}{\partial q^2} \right] \quad (3.32)$$

la función de autocorrelación de la velocidad de las partículas,....

El segundo sumando, $S^{\text{col}}(q, t)$, que depende de los términos cruzados, es la función de correlación colectiva que describe las correlaciones entre partículas diferentes.

3.3.2.- Dinámica a tiempos cortos

En el caso de que las partículas interaccionen entre sí, la relajación de la función de dispersión $g_E(q, t)$ no es exponencial. La dependencia temporal a tiempos cortos se analiza mediante un desarrollo por el método de los cumulantes de la función de autocorrelación del campo [Koppel1972].

$$g_E(q, t) = e^{-\Gamma_1(q)t + \Gamma_2(q)t^2 - \Gamma_3(q)t^3 + \dots} \quad (3.33)$$

donde $\Gamma_1(q) = \Gamma(q)$ es el primer cumulante. La relajación inicial de $f(q, t)$ describe el coeficiente de difusión efectivo a tiempos cortos $D_{\text{ef}}^{\text{corto}}(q)$ [Pusey1991], [Snook1983]

$$\Gamma(q) = \lim_{t \rightarrow 0} -\frac{\partial \ln g_E(q, t)}{\partial t} = D_{\text{ef}}^{\text{corto}}(q)q^2 \quad (3.34)$$

Por lo tanto, el comportamiento de la función de dispersión intermedia $f(q,t)$ se describe como

$$g_E(q,t) = f(q,t) = e^{-\Gamma(q)t} = e^{-D_{\text{ef}}^{\text{corto}} q^2 t} \quad (3.35)$$

3.3.2.1- Función hidrodinámica, $H(q)$

Partiendo de la ecuación (3.35), se puede demostrar [Pusey1991] que el coeficiente de difusión viene dado por

$$D_{\text{ef}}^{\text{corto}}(q) = \frac{D_0 H(q)}{S(q)} \quad (3.36)$$

donde D_0 es el coeficiente de difusión libre, $S(q)$ es el factor de estructura estático y $H(q)$ es la función hidrodinámica que describe el efecto de las interacciones indirectas mediadas por el fluido entre las partículas.

$$H(q) = \frac{1}{D_0} \left\langle \frac{1}{N} \sum_{i,j=1}^N \hat{q} \cdot D_{ij}(\vec{r}_N) \cdot \hat{q} e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \right\rangle \quad (3.37)$$

La relación es muy compleja, ya que las componentes del tensor de difusión dependen del vector de difusión de todas las partículas del sistema. La función hidrodinámica también se puede expresar en función de los tensores de movilidad a muchos cuerpos $\mu_{ij}(\vec{r}_N)$, que dependen de la configuración espacial \vec{r}_N de una colectividad de N partículas mediante

$$H(q) = \frac{\kappa_B T}{ND_0} \sum_{i,j=1}^N \left\langle \hat{q} \cdot \mu_{ij}(\vec{r}_N) \cdot \hat{q} e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \right\rangle \quad (3.38)$$

Desde un punto de vista físico, los tensores de movilidad relacionan la velocidad de una partícula con las fuerzas ejercidas por el fluido sobre las restantes partículas, \vec{F}_j

$$\vec{v}_i = - \sum_{j=1}^N \mu_{ij}(\vec{r}_N) \vec{F}_j \quad (3.39)$$

Obsérvese que, en el caso de un partícula libre, esta relación se reduce a la expresión de Stokes-Einstein $\vec{F}_i = -6\pi\eta a \vec{v}_i$. No obstante, en general, la resolución exacta de la función hidrodinámica no es posible, ya que el tensor de movilidad depende de la configuración de las N partículas y sería necesario calcular correlaciones a varios cuerpos.

Beenaker y Mazur [*Beenakker1983*] resolvieron el problema para esferas duras. La estimación numérica de $H(q)$, basada en un desarrollo en serie de las fluctuaciones de densidad normalizada, reproduce bastante bien los resultados experimentales hasta fracciones de volumen del 40% para coloides no cargados.

Más tarde, Genz y Klein intentaron aplicar este formalismo a esferas poco cargadas y encontraron que la teoría funcionaba si la parte autodifusiva se dejaba como parámetro libre. El fallo se debe a que el coeficiente de autodifusión en el contexto de Beenaker y Mazur sólo depende de la concentración del coloide y no se ve afectado por el potencial de interacción [*Genz1991*].

Recientemente, Nägele y colaboradores propusieron una nueva función hidrodinámica [Nägele1997]. En su aproximación, se desprecian las interacciones a varios cuerpos por lo que las fuerzas hidrodinámicas se consideran aditivas a pares. Esta suposición sólo se puede realizar en el caso de partículas cargadas, puesto que las repulsiones electrostáticas no permiten que las partículas se acerquen más allá de una distancia dada, y de sistemas diluidos (hasta $\approx 5\%$ en fracción de volumen). En el Apéndice I, se explican con más detalle las distintas teorías.

Retomando la ecuación 3.36, una vez determinados el factor de estructura estático de un sistema a partir de medidas de SLS, y la dependencia angular del coeficiente de difusión efectivo a tiempos cortos mediante DLS, es posible acceder a la función $H(q)$. En la siguiente figura se muestran las dos funciones que fueron medidas para el mismo sistema presentado en el apartado anterior.

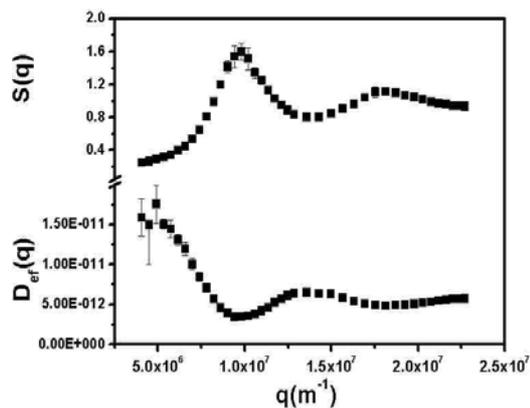


Figura 3.6.- Factor de estructura $S(q)$ y coeficiente de difusión efectivo $D_{\text{eff}}(q)$ de una dispersión de látex al 0.07% en fracción de volumen.

Realizando el cociente entre ambos y multiplicando por el coeficiente de difusión libre D_0 de las partículas se obtiene $H(q)$ sin realizar ningún tipo de aproximación, (ver figura 3.7)

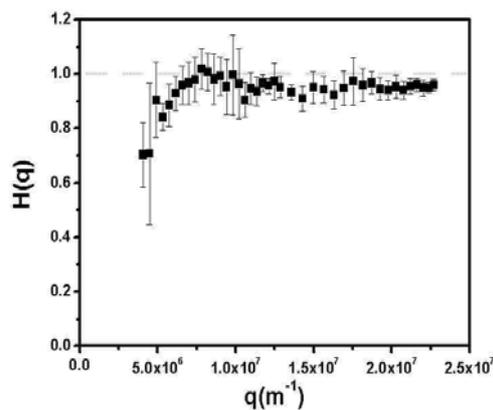


Figura 3.7.- Función hidrodinámica de dispersión de látex $\hat{u}=0.07\%$

El sistema estudiado en este ejemplo posee una función hidrodinámica que es prácticamente constante e igual a uno, salvo a vectores de onda muy pequeños. Las interacciones hidrodinámicas en este caso podrían ser despreciadas, ya que estamos tratando con un sistema muy diluido, $\phi \approx 0.07\%$ en fracción de volumen. No obstante, en el régimen colectivo se aprecian valores ligeramente inferiores a uno.

En aquellos sistemas donde las interacciones hidrodinámicas son despreciables, la ecuación (3.36) se simplifica

$$D_{\text{ef}}^{\text{corto}}(q) = \frac{D_0}{S(q)} \quad (3.37)$$

Esta expresión es conocida como “contracción De Gennes” según la cuál el coeficiente de difusión reducido $D_0/D_{ef}(q)$ coincide con el factor de estructura estático. Este hecho ha sido previamente observado por otros autores en sistemas diluidos altamente interaccionantes [Brown1975].

A continuación, analizaremos algunos casos particulares donde el desarrollo se simplifica considerablemente, como sistemas muy diluidos donde las correlaciones entre las partículas son despreciables. También estudiaremos la dinámica para vectores de onda tendiendo a infinito (movimiento de partículas individuales, régimen “auto”), para vectores de onda tendiendo a cero (régimen colectivo) y para vectores de onda correspondientes al máximo principal del factor de estructura estático, $q \approx q_{max}$.

3.3.2.2- Casos particulares

a) Sistemas diluidos

Cuando el sistema está lo suficientemente diluido, las partículas no interaccionan entre sí y tanto las interacciones directas como las hidrodinámicas se pueden despreciar. Es decir, el factor de estructura estático y la función hidrodinámica son iguales a la unidad para cualquier vector de onda. En este caso, como las correlaciones entre las partículas son inexistentes, los términos cruzados ($i \neq j$) no contribuyen al factor de estructura dinámico normalizado, y la ecuación (3.28) queda de la siguiente forma

$$g_E(q, t) = \frac{1}{S(q)} \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(0) - \vec{r}_j(t))} \right\rangle = \left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(0) - \vec{r}_i(t))} \right\rangle \quad (3.38)$$

Los términos cruzados son nulos, porque las partículas son estadísticamente independientes

$$\left\langle e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i(0) - \vec{r}_j(t))} \right\rangle = \left\langle e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}_i(0)} \right\rangle \left\langle e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}_j(t)} \right\rangle \quad (3.39)$$

Dado que en la situación de equilibrio aquí considerada, la función de densidad de probabilidad de la coordenada posición de una partícula browniana es igual a $1/V$, donde V denota el volumen del sistema, cada uno de los promedios de los exponentes que aparecen en (3.38) es una delta de Dirac en el límite termodinámico.

$$\left\langle e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}_i(0)} \right\rangle = \left\langle e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}_j(t)} \right\rangle = \lim_{V \rightarrow \infty} \frac{1}{V} \int_V d\vec{r} e^{i\vec{q} \cdot \vec{r}} \quad (3.40)$$

Para vectores de onda no nulos estos promedios son igual a cero y sólo los términos $i=j$ permanecen en el caso de partículas brownianas que no interaccionan. Por lo tanto, el factor de estructura estático es igual a la unidad, quedando justificada la igualdad (3.38). Así, el factor de estructura dinámico normalizado es el correspondiente a la parte auto

$$g_E(q, t) = f^{\text{auto}}(q, t) = \left\langle e^{i\vec{q} \cdot \Delta\vec{r}(t)} \right\rangle \quad (3.41)$$

donde $\Delta\vec{r}(t) = \vec{r}(t) - \vec{r}(0)$ representa el vector desplazamiento del centro dispersor tras un tiempo t . Esta ecuación nos indica que para que exista un cambio notable en la función de autocorrelación del

campo o, equivalentemente, en el factor de estructura dinámico, la fase de la función exponencial $\vec{q} \cdot \Delta\vec{r}(t)$ debe variar alrededor de π . La escala espacial, sobre la que la dinámica del sistema es analizada es por lo tanto más grande o comparable a la longitud de onda de la luz incidente ($\Delta r \approx 1/q$). Para tiempos cortos, $t \gg \tau_B$, $\Delta\vec{r}(t)$ es una variable gaussiana y el promedio en 3.41 es inmediato

$$g_E(q, t) = e^{-\frac{q^2}{6} \langle \Delta\vec{r}^2(t) \rangle} \quad (3.42)$$

El desplazamiento cuadrático medio viene dado por $\langle \Delta\vec{r}^2(t) \rangle = 2t \int_0^\infty \langle \vec{v}(0) \cdot \vec{v}(0) \rangle dt$ y si la partícula difunde libremente $\langle \Delta\vec{r}^2(t) \rangle = 6D_0t$.

b) Régimen autodifusivo, $q \rightarrow \infty$

Para vectores de onda muy grandes, la dinámica observada se corresponde con escalas espaciales mucho más pequeñas que la distancia de separación entre las partículas y las correlaciones entre ellas son inexistentes, $S(q) \approx 1$. Por lo tanto, uno podría esperar que la partícula coloidal sólo interaccionase con las moléculas del disolvente, en cuyo caso, $D_{\text{ef}}(q) = D_0$. Sin embargo, esto sólo se cumpliría cuando las interacciones hidrodinámicas indirectas mediadas por el disolvente fuesen despreciables. Si las interacciones hidrodinámicas tienen un papel, se encuentra que el coeficiente en el límite $q \rightarrow \infty$ conocido como coeficiente de autodifusión a tiempos cortos, $D_{\text{auto}}^{\text{corto}}$, difiere de D_0

$$D_{auto}^{corto} = D_{ef}^{corto}(q \rightarrow \infty) = D_0 H(q \rightarrow \infty) \quad (3.38)$$

c) Relajación estructural, $q \approx q_m$

Conforme disminuye el vector de onda, las longitudes espaciales donde se analiza la dinámica aumentan. Cuando la escala espacial analizada es del orden de la distancia media entre partículas, normalmente se observa una ralentización de la dinámica, mientras que el factor de estructura muestra un máximo. Este comportamiento se conoce como relajación estructural y se relaciona con la viscosidad de la dispersión. Es decir, la dinámica que se observa al medir a un vector de onda correspondiente al máximo de $S(q)$, es el movimiento relativo partícula-partícula. Este comportamiento se conoce como “efecto caja”. Aquí no se puede suponer que las partículas difunden libremente en la suspensión, sino que están encerradas por las partículas vecinas, configuración que explica el retardo predicho a este determinado vector de onda.

d) Régimen colectivo, $q \rightarrow 0$

A pequeños vectores de onda ($q \rightarrow 0$), $D_{ef}(q)$ es normalmente mayor que D_0 y se le conoce como coeficiente de difusión colectivo. En este intervalo de vectores de onda, se detectan procesos de relajación sobre escalas espaciales que son varias veces el tamaño de partícula. El coeficiente de difusión que aquí se describe es el que caracteriza las fluctuaciones de densidad de vectores de onda mucho mayores que $2\pi/q_m$. Es decir, la curvatura de las fluctuaciones sinusoidales de la densidad observadas es despreciable frente al alcance de las interacciones entre las partículas coloidales y, por lo

tanto, el gradiente del perfil de la densidad es prácticamente constante a lo largo de las regiones que contienen muchas partículas. De aquí que el coeficiente de difusión medido coincida con el suministrado por la ley macroscópica de Fick,

$$\frac{\partial \rho(\vec{r}, t)}{\partial t} = D_v \nabla^2 \rho(\vec{r}, t) \quad (3.39)$$

En este intervalo las fluctuaciones de la densidad de partículas se deben a efectos colectivos, lo que explica una dinámica más rápida que los procesos difusivos de partículas individuales.

Para esferas duras, la relación entre el coeficiente de difusión colectivo ($q \rightarrow 0$) y la fracción de volumen viene dada por

$$D_{\text{col}}^{\text{corto}}(q) = D_0(1 + 1.56\phi + 0.9\phi^2) \quad (3.40)$$

Para partículas cargadas la dependencia creciente con la concentración es más acusada. En esta ocasión, la dinámica colectiva se ve favorecida si existe una fuerza repulsiva adicional, y obstaculizada si la fuerza es de naturaleza atractiva.

En cualquier caso, cualquier desviación del coeficiente de difusión normalizado $D_0/D_{\text{ef}}(q)$ de $S(q)$, tiene que ser tomado como indicación de la presencia de interacciones hidrodinámicas, que se recogen en $H(q)$. Las interacciones pueden afectar a la dinámica a cualquier longitud espacial y tanto al régimen autodifusivo como colectivo. Intuitivamente se espera que las interacciones hidrodinámicas se comporten como una fuerza de fricción adicional sobre las partículas, que causa una reducción generalizada de la

difusión. Los efectos serán tanto más acusados cuanto mayor sea la fracción de volumen.

3.3.3.- Dinámica a tiempos largos

Cuando el factor de estructura dinámico se analiza durante todo el intervalo temporal, en determinadas ocasiones, el comportamiento de la función de dispersión $f(q,t)$ se desvía a tiempos largos de una relajación exponencial. Esta desviación indica la presencia de un proceso de difusión con tiempos de relajación mayores. En el capítulo anterior, la doble relajación se explicó en términos de la función memoria. Desde hace tiempo es bien sabido que en el caso de sistemas interaccionantes la función de dispersión intermedia no se puede describir en todo el intervalo temporal por una única relajación exponencial [Pusey1991]. El comportamiento a tiempos cortos y largos se caracteriza por dos procesos de relajación diferentes que describen el coeficiente de difusión a tiempos cortos y largos, respectivamente

$$\begin{aligned} f(q,t) &= e^{-D_s(q)q^2t+\dots} && , t \text{ cortos} \\ f(q,t) &\propto e^{-D_L(q)q^2t} && , t \text{ largos} \end{aligned} \tag{3.41}$$

En la figura 3.8 se muestra una función de correlación y los correspondientes ajustes a tiempos cortos y largos. De cada una de las pendientes se extrae, según la ecuación 3.41, los dos coeficientes de difusión.

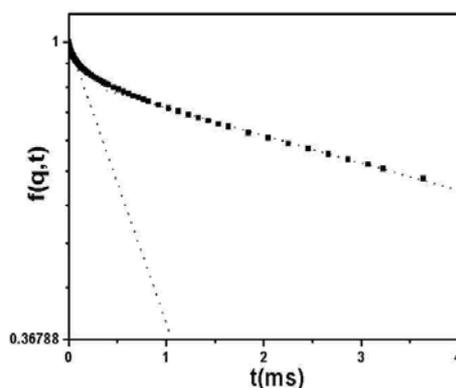


Figura 3.8.- Función de autocorrelación del campo normalizada de una muestra de liposomas al 1.45% en fracción de volumen para un vector de onda $q=0.0119 \text{ nm}^{-1}$. Con líneas punteadas se representan los ajustes a tiempos cortos y largos, respectivamente.

3.4.- Dispositivos experimentales

3.4.1.-MALVERN 4700C

Este dispositivo es un dispositivo convencional suministrado por Malvern Instruments. El sistema experimental consta de los siguientes elementos

- Láser de Argón (75 mW de potencia máxima) utilizado como fuente de luz y que emite un haz polarizado verticalmente de 488 nm de longitud de onda.
- Goniómetro accionado por un motor que gira solidariamente con el detector, configuración que permite realizar medidas desde 15° a 150° .
- Cubeta que contiene un baño de azida para evitar la proliferación de

microorganismos. En el centro de esta cubeta es donde se coloca la célula de medida. El baño también evita que la radiación incidente no sufra cambios bruscos de índices de refracción al entrar y salir de la muestra.

-*Célula de cuarzo* cilíndrica que contiene la muestra que se va a analizar. Debe extremarse su limpieza para evitar reflejos no deseados.

-*Bomba peristáltica* que hace circular el agua de la cubeta por unos filtros para eliminar cualquier tipo de impureza.

-*Termostato* que controla la temperatura. Las medidas se realizaron a 25°C.

-*Detector* que dispone de un diafragma en la entrada que controla la cantidad de luz que incide sobre el fotomultiplicador. El fotomultiplicador convierte los fotones incidentes en pulsos eléctricos. Los pulsos que no han sido generados por la llegada de fotones dispersados por la muestra se eliminan a través de un amplificador-discriminador.

-*Correlador* de 256 canales que realiza el cálculo de la función de autocorrelación de la intensidad. Toda la información es almacenada y tratada en un ordenador mediante el cuál también se puede controlar todo el proceso de medida.



Figura 3.9.- Dispositivo MALVERN-4700C.

3.4.2.- ALV 5000E-“Fast correlator”

Este dispositivo es análogo al anterior. Los rasgos distintivos son:

- *El láser* que es de Argon-Ion (Coherent, modelo Innova 308) de longitud de onda $\lambda_0=514.5$ nm.
- *Sistema de detección* que está basado en fibras ópticas que permiten una detección más precisa consiguiéndose valores de la constante de Siegert más altos.
- *El baño* es de cis-decalin en vez de agua. De esta manera, se consigue disminuir las diferencias entre los índices de refracción del cuarzo de la célula y el baño.



Figura 3.10.- Dispositivo ALV-5000E.

3.4.3.- 3D-DLS: *Cómo eliminar la dispersión múltiple*

Los experimentos convencionales de dispersión de luz sólo se pueden utilizar cuando la luz es dispersada una única vez antes de alcanzar el detector. Si la luz es dos o más veces dispersada, el vector de dispersión q no está bien definido y la interpretación de los datos es muy complicada. Para resolver los problemas de dispersión múltiple, es frecuente diluir aquellas muestras que son demasiado turbias o disminuir el contraste disolvente-partícula aumentando el índice de refracción del medio. El inconveniente de estos métodos es que requieren una modificación de la composición de la muestra. Un dispositivo diseñado por primera vez hace un poco más de una década [Schätzel1991] logró eliminar el problema de la dispersión múltiple. Se conoce como 3D-DLS o dispositivo de dispersión dinámica de luz con correlación cruzada en tres dimensiones. La idea general de este aparato es aislar la dispersión simple y eliminar las contribuciones

indeseadas ocasionadas por la dispersión múltiple. Un esquema detallado del dispositivo se puede encontrar en [Urban1999]. La supresión de la dispersión múltiple se consigue realizando simultáneamente dos experimentos sobre el mismo volumen de dispersión que poseen el mismo vector de dispersión. La geometría de ambos experimentos se presenta en la siguiente figura 3.11.

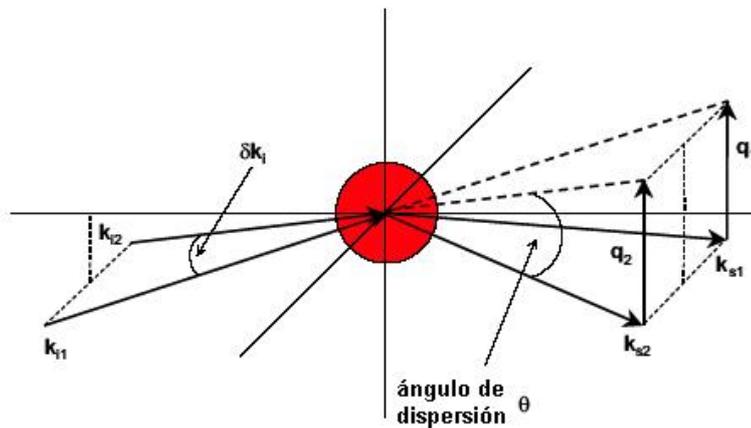


Figura 3.11.- Esquema en tres dimensiones de la geometría de los dos experimentos que tienen lugar en el 3D-DLS al mismo tiempo.

Con esta geometría en lugar de calcular la función de autocorrelación de la intensidad se procesa una función de correlación cruzada $G_{12}(t)$, que correlaciona las intensidades dispersadas por cada uno de los experimentos individuales

$$G_{12}(t) = \langle I_1(\tau)I_2(\tau+t) \rangle \quad (3.31)$$

Los subíndices 1 y 2 notan cada uno de los experimentos. Dado que los dos volúmenes de dispersión así como los vectores de onda

correspondientes a los dos experimentos son los mismos, sólo aquellos fotones que hayan sido dispersados una única vez contribuirán a la función de correlación cruzada. Por el contrario, la dispersión múltiple dará lugar a fluctuaciones no correlacionadas que sólo contribuirán a la radiación de fondo. La ventaja de esta técnica es que proporciona toda la información de un dispositivo de dispersión de luz y además se puede utilizar para caracterizar muestras muy turbias con valores de transmisión de dispersión simple tan bajos como 0.01.



Figura 3.12.- *Dispositivo de dispersión de luz 3D-DLS.*

El dispositivo 3D-DLS utilizado (LS instruments GmbH, CH-1700 Fribourg, Switzerland) consta de un diodo láser que emite a una longitud de onda de 680.4 nm . La intensidad dispersada es recogida con fibras monomodales y conducida a dos fotodiodos de avalancha de silicio (EG&G) cuya señal es correlacionada de forma cruzada en un correlador *multi-tau* (ALV).

3.4.4.- Zetámetro BI-ZetaPALS

La movilidad electroforética, constante de proporcionalidad entre el campo eléctrico aplicado y la velocidad que adquiere la partícula, se puede obtener a partir de funciones de correlación midiendo el desplazamiento en frecuencia Doppler de la luz dispersada por una partícula en movimiento respecto a la frecuencia de la intensidad incidente. Sin embargo, este dispositivo, fabricado por Brookhaven Instrument Corp. NY., obtiene la velocidad de las partículas a partir de una análisis de la fase de la luz dispersada, las siglas PALS (del inglés, phase analysis light scattering) hacen referencia a este método. En la figura 3.13 se muestra un esquema del dispositivo. Una descripción más detallada del dispositivo y su funcionamiento se puede encontrar en [Martín-Molina2003]. En la ilustración se puede ver que la radiación procedente de un láser se divide en dos haces, uno que incide sobre la muestra y que será dispersado, y el otro que será tomado como haz de referencia. En las medidas de movilidad, el dispositivo trabaja en modo heterodino, es decir, superpone el haz incidente con el dispersado y su detección la realiza un *fotomultiplicador*. La razón de intensidades entre los dos haces se puede controlar mediante un *atenuador* situado a la entrada de la célula donde se coloca la *cubeta* con la muestra. La célula está provista con un *termostatizador Peltier* que permite controlar la temperatura. Las medidas se llevan a cabo a través de un ordenador que posee un módulo electrónico adicional para el análisis fásico de la señal heterodina. El análisis fásico sirve para estimar la fase en intervalos de tiempo múltiplos del tiempo de muestreo y en pequeñas fracciones de periodo del campo eléctrico aplicado.

Si, por el contrario, el dispositivo trabaja en el modo homodino,

donde se analiza la interferencia de la señal dispersada consigo misma, se podrán determinar tamaños a partir del análisis de la función de autocorrelación de la intensidad, espectroscopía de correlación fotónica o PCS.

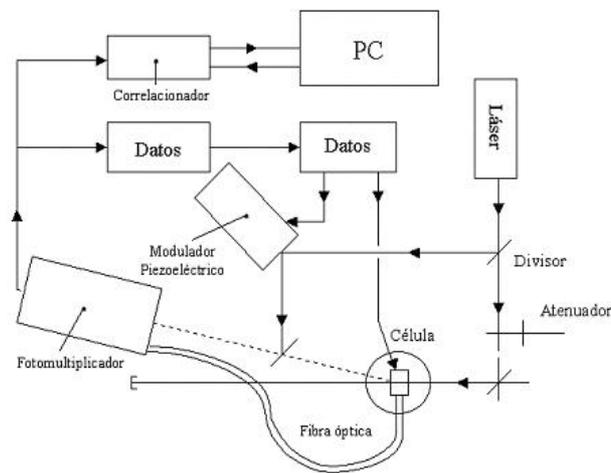


Figura 3.13.- Esquema del dispositivo ZetaPALS de Brookhaven Instruments.

Capítulo 4

Sistema Experimental

Tal y como se indicó en el capítulo de introducción, el sistema experimental empleado para llevar a cabo los estudios planteados consiste en una dispersión acuosa de liposomas. Este sistema resulta enormemente atractivo para realizar este tipo de investigaciones. Las ventajas experimentales se deben a su índice de refracción, que es muy similar al del agua. Los liposomas son partículas constituidas por una o varias bicapas de espesores bimoleculares, en torno a 4.5 nm, que encierran uno o varios volúmenes acuosos. Las vesículas pueden estar formadas por distintos tipos de fosfolípidos, que son moléculas anfífilas. En particular, los fosfolípidos que se han utilizado en este trabajo fueron la fosfatidilserina (PS) y la fosfatidilcolina (PC). Aparte de los atributos ópticos de estas partículas, la síntesis permite controlar su carga jugando con las proporciones de moléculas cargadas y neutras que conforman los liposomas. Además, las vesículas lipídicas constituyen auténticos sistemas coloidales, lo que justifica la aplicación de todos los conocimientos existentes en el ámbito coloidal.

En este capítulo se describirán con más detalle los sistemas analizados, así como los procedimientos empleados en su síntesis. A continuación, se hablará del interés y de las numerosas aplicaciones de estas suspensiones. Posteriormente, procederemos a la descripción de las dispersiones desde un punto de vista coloidal, donde se abarcará su estabilidad, que se verá justificada por el potencial de interacción existente entre las partículas. Para concluir el capítulo, se presentan diversos resultados que se han realizado para caracterizar ópticamente los sistemas empleados. Entre ellos está la determinación del índice de refracción efectivo de los liposomas, así como la justificación de las técnicas experimentales utilizadas.

4.1.- Dispersiones de Liposomas

Se denomina liposoma o vesícula fosfolipídica al empaquetamiento microscópico de moléculas fosfolipídicas que forma una o varias bicapas cerradas. El hecho de que las moléculas fosfolipídicas se conformen en bicapas en presencia de un medio acuoso depende de la proporción lípido-agua, así como de las características morfogeométricas de los anfífilos, en concreto del parámetro de empaquetamiento. Lógicamente, la bicapa lipídica tenderá a cerrarse sobre sí misma evitando que la parte hidrófoba entre en contacto con el disolvente polar. Los fosfolípidos son los lípidos más abundantes de las membranas celulares [Cullis1985] y están constituidos por una cabeza polar y dos cadenas hidrocarbonadas hidrófobas. Las cadenas normalmente son ácidos grasos de distinta longitud, entre 12 y 24 átomos de carbono. Una de las cadenas posee uno o más enlaces dobles de tipo *cis* (es la cadena saturada) y la otra está constituida por enlaces simples (cadena insaturada). Su naturaleza anfipática provoca que las moléculas lipídicas se agrupen

espontáneamente en medio acuoso para formar bicapas cerradas. Las moléculas hidrófilas se disuelven rápidamente en agua porque contienen grupos cargados, o en su defecto, grupos polares no cargados que interaccionan favorablemente de forma electrostática o por puentes de hidrógeno con las moléculas de agua. Las moléculas hidrófobas, por el contrario, son insolubles en medio acuoso porque todos o casi todos sus átomos son apolares y carecen de carga, por lo que no establecen interacciones energéticamente favorables con el disolvente polar.

Cuando los fosfolípidos se dispersan en medio acuoso ocasionan una reorganización de las moléculas de agua, que conlleva un aumento de la energía libre. Para minimizar este coste energético, las partes hidrófobas de los fosfolípidos se agrupan de tal manera que el número de moléculas de agua afectadas sea mínimo. Por esta razón, los fosfolípidos se alinean con la misma orientación, exponiendo sus cabezas polares al disolvente y las cadenas hidrocarbonadas hacia el interior. La estructura resultante se conoce como bicapa fosfolipídica.

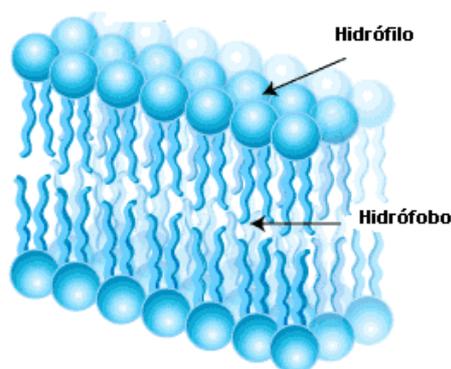


Figura 4.1.- Bicapa fosfolipídica.

Sin embargo, esta estructura sigue siendo energéticamente desfavorable, puesto que aún presenta los bordes expuestos al disolvente. La única organización que carece de bordes es la de tipo vesicular o micelar. En nuestro caso, como trabajamos con fosfolípidos que poseen forma cilíndrica, las bicapas se cierran dando lugar a los liposomas.

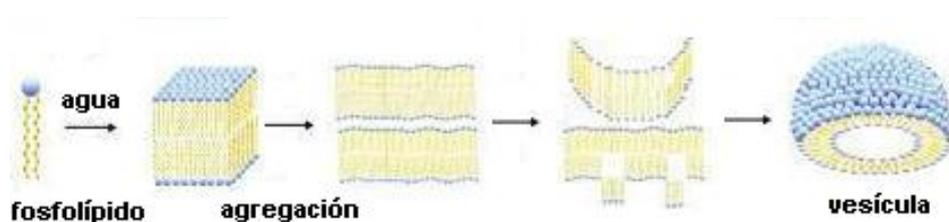


Figura 4.2.- Formación de un liposoma.

4.1.1.- Preparación de liposomas

Existen numerosos procedimientos para preparar vesículas lipídicas: por dispersión con posterior extrusión (aquí empleado), diálisis, adsorción sobre materiales poliméricos, cambios de temperatura, evaporación en fase inversa o adición de tensioactivo [Ollivon2000]. Sin embargo, en un principio la preparación de liposomas se vió marcada por la ausencia de estudios físico-químicos rigurosos que explicaran la formación de los diferentes tipos de liposomas. La historia de los liposomas comenzó en la década de los 60 cuando Bangham descubrió la formación de vesículas lipídicas en el plasma sanguíneo tras añadir fosfolípidos. Este investigador también fue el creador de un método de preparación de liposomas, que hoy lleva su nombre, y que consiste en dispersar los fosfolípidos en agua con el uso de un rotavapor.

En nuestro caso se crearon vesículas multilamelares por la técnica de Bangham et al. [Jones et al.1995] también conocida como dispersión simple. Para ello es necesario disolver previamente los fosfolípidos en un disolvente orgánico (cloroformo) e introducirlos en el matraz giratorio del rotavapor. Con la rotación y temperaturas adecuadas (la temperatura siempre debe ser superior a la temperatura de transición) obtenemos una delgada película de lípido sobre toda la superficie del matraz que permite una mejor dispersión del lípido en el medio acuoso. Posteriormente, se adiciona medio acuoso hasta una concentración de $30 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$. En el caso de tratarse de una mezcla lipídica se debe seleccionar la temperatura correspondiente a la del lípido con mayor temperatura de transición. Poco a poco el agua va cizallando la película de lípido e hidratándolo. Una ventaja adicional del empleo del rotavapor consiste en que durante la hidratación se puede mantener una atmósfera de nitrógeno que fue de una presión de $55 \cdot 10^5 \text{ Pa}$ para impedir la peroxidación del lípido debida al oxígeno atmosférico. A continuación, la disolución fue agitada en un vortex y sonicada durante 4 minutos, hasta la formación de liposomas multilamelares de diversos tamaños. Posteriormente, se extruyeron secuencialmente a través de membranas de policarbonato de tamaño de poro de 800, 400, 200 y 100 nm (Poretics, Livermore, CA) en un extrusionador (Liposo Fast, Avestin, Ottawa, Canadá) hasta conseguir los tamaños deseados. El proceso de extrusión modifica estructuralmente las vesículas multilamelares homogeneizando la distribución de tamaños [Armengol1995] y aumentando su volumen de encapsulación, ya que el producto final es una dispersión de vesículas unilamelares.

4.1.2.- Composición

Los fosfolípidos elegidos en este estudio son de dos tipos

Fosfatidilcolina

Vulgarmente conocida como lecitina, es el fosfolípido más abundante en las membranas celulares. Se extrae principalmente de la yema de huevo o de la soja y, al ser un componente biodegradable, es el más empleado por la industria farmacéutica en la síntesis de liposomas. Se trata de un fosfolípido zwitteriónico, que posee un grupo fosfato con carga negativa y un grupo carboxilo de carga positiva, que en función del pH conferirán a la molécula una carga total positiva, negativa o neutra. En las condiciones en las que se ha trabajado, así como en las fisiológicas, la carga de la fosfatidilcolina es neutra. Este hecho supone una ventaja a la hora de utilizar los liposomas como vehículos de transporte de medicamentos, porque el sistema inmunológico no los elimina con tanta facilidad como ocurre con los liposomas cargados.

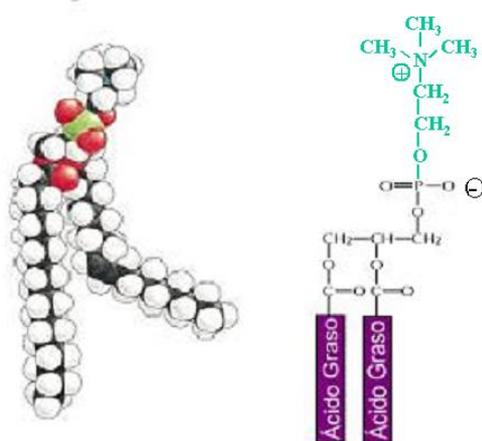


Figura 4.3.- Fosfatidilcolina.

El inconveniente que presentan es que, al no estar estabilizados por carga, agregan rápidamente impidiendo su uso terapéutico. Para estabilizarlos han aparecido distintas formulaciones basadas en la estabilización estérica. Con este fin, se unen a la superficie de estas vesículas distintos polímeros, en función del uso que se quiera hacer de ellos.

Fosfatidilserina

También conocida como 1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina. Aunque se puede encontrar en muchos animales, plantas y microorganismos, está en una proporción inferior al 10% y, donde más abunda es en la mielina del tejido cerebral. Sin embargo, en el plasma sanguíneo alcanza porcentajes en torno al 10-20% de la cantidad total de fosfolípido presente en la membrana plasmática y el retículo endoplasmático de las células.

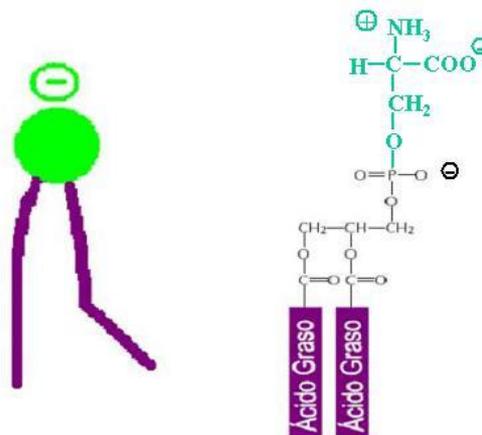


Figura 4.3.- Fosfatidilserina.

Es un fosfolípido de carácter ácido (aniónico) con tres grupos ionizables: un grupo fosfato, un grupo amino y un grupo carboxilo. Los liposomas usados en este trabajo están compuestos por distintas proporciones de fosfatidilserina (PS) y fosfatidilcolina (PC). De esta manera, es posible variar su carga superficial y estudiar cómo este parámetro interviene en la estabilidad y dinámica de las dispersiones coloidales. La otra variable analizada ha sido la fracción de volumen. El porcentaje de PS varía entre 1%, necesario para estabilizar las muestras, hasta el 100%. Las distintas proporciones se recogen en la siguiente tabla. También se muestran los tamaños de los distintos sistemas así como el índice de polidispersidad. Los datos se obtuvieron ajustando los factores de forma experimentales con la versión polidispersa del factor de forma teórico para una vesícula, donde los parámetros de ajuste fueron el tamaño y la polidispersidad. La distribución de tamaños se modeló con una distribución de Schulz cuya anchura esta determinada por el índice de polidispersidad. Para realizar los cálculos, la función de distribución fue discretizada [D'Aguanno1991].

<i>Proporción PS:PC</i>	<i>Diámetro σ (nm)</i>	<i>Polidispersidad IP</i>
1:99	115 ± 5	0.1
25:75	95 ± 4	0.1
50:50	120 ± 4	0.1
75:25	115 ± 5	0.1
100:0	123 ± 6	0.1

Tabla 4.1.- Composición, tamaño y polidispersidad de los liposomas.

4.2.- Interés y aplicaciones

Desde su descubrimiento en la década de los 60, los liposomas han tenido una gran importancia en numerosas áreas de investigación, desde la ciencia básica hasta la Biotecnología [Szoka1980], [Baemner2004]. Se han utilizado como estructuras biocompatibles para encapsular diversas moléculas como proteínas, ácidos nucleicos o medicamentos con aplicaciones farmacéuticas, químicas, cosméticas... Además, como sistema modelo de la membrana celular, han sido cruciales en el estudio de los procesos de transporte, fusión y reconocimiento de diversas sustancias que tienen lugar en las células. Además, gracias a que el índice de refracción de estas partículas es tan parecido al del agua (es un volumen acuoso rodeado por una corteza de dimensiones bimoleculares), se eliminan los problemas de dispersión múltiple que aparecen cuando se intentan estudiar sistemas relativamente concentrados con técnicas de dispersión de luz. Esta peculiaridad nos ha permitido caracterizar propiedades estáticas y dinámicas coloidales sin necesidad de alterar las condiciones del medio. Hasta ahora el problema de la dispersión múltiple era solventado variando la composición del dispersante para incrementar su índice de refracción hasta igualar el de las partículas. El inconveniente de este procedimiento es que se alteran tanto las propiedades físicas del sistema, constante dieléctrica, viscosidad, como las químicas, pudiendo modificar la desionización de los grupos superficiales de las partículas y las interacciones entre ellas.

Desde un punto de vista fisicoquímico, las dispersiones de liposomas presentan características propias de dispersiones coloidales y su estabilidad viene determinada por las teorías clásicas de la Física Coloidal. Asimismo, independientemente de la vía de administración,

la vida media de los liposomas en cualquier organismo depende del tamaño de las partículas, la carga superficial y la permeabilidad de la bicapa. Por lo tanto, la naturaleza y densidad de carga superficial de los liposomas afectan a su estabilidad, difusión, distribución a lo largo del organismo e interacciones con las células blanco a las que deben suministrar la sustancia que transportan. Por ejemplo, aunque los liposomas neutros poseen una menor tendencia a ser eliminados por las células del retículo endoplasmático, son más inestables coloidalmente y tienden a agregar. La estabilidad coloidal aumenta en el caso de liposomas cargados negativamente, sin embargo, son eliminados por el sistema inmunológico a una velocidad mayor. Últimamente los liposomas están siendo estabilizados estéricamente con polímeros hidrófilos que al interactuar originan unas fuerzas repulsivas de depleción que evitan la agregación. Estos polímeros también tienen la propiedad de “disfrazar” a los liposomas para que no sean reconocidos por el sistema reticular endoplasmático.

Su versatilidad y fácil manipulación ofrecen un gran abanico de posibilidades a la hora de diseñarlos en función de su posterior aplicación. El diseño y síntesis de las vesículas lipídicas debe ir seguido de una minuciosa caracterización.

4.3.- Interacciones entre los liposomas: Sistemas estabilizados por carga

La estabilidad coloidal de las suspensiones se debe a la presencia de carga en la superficie de las vesículas. Muchas sustancias adquieren carga eléctrica en presencia de un medio polar como es el agua. Los fenómenos que dan lugar a la aparición de carga en la

superficie de una sustancia en contacto con un medio polar son, fundamentalmente, la ionización y la adsorción iónica [Hunter1987]. Si las partículas contienen grupos ionogénicos, su disociación es el mecanismo que origina la carga. Los liposomas, que están compuestos por fosfatilcolina y fosfatidilserina, poseen todos sus grupos disociados en las condiciones en las que trabajamos, lo que resulta en fosfolípidos con una carga neta negativa en el caso de la PS, y de moléculas con carga neta nula en el caso de la PC. Los contraiones, producto de la disociación de los grupos, se distribuyen en la fase continua pero permaneciendo bajo la influencia del campo de fuerzas de los macroiones. El resultado es una doble capa eléctrica que rodea a las partículas que está formada por los contraiones y los iones de otros posibles electrolitos presentes en la disolución que apantallan parcialmente la interacción electrostática. Pero incluso en presencia de los contraiones, la interacción coulombiana sigue estando presente, aunque contrarrestada por una interacción atractiva debida a los contraiones. Entonces, cuando dos macroiones se aproximan, las dobles capas se solapan generando una fuerza efectiva repulsiva capaz de estabilizar el sistema frente a la agregación. La teoría más extendida para modelar la interacción electrostática efectiva entre dos partículas coloidales cargadas se debe a Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek (DLVO) donde la parte repulsiva es igual a [Nägele1996]

$$u_{ef}(r) = \begin{cases} \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon\kappa_B T} \left(\frac{Z}{1+\kappa a} \right)^2 \frac{e^{-\kappa(r-2a)}}{r} & , r \geq 2a \\ \infty & , r < 2a \end{cases} \quad (4.1)$$

con e la carga elemental, ϵ_0 la permitividad dieléctrica del vacío, ϵ la constantes dieléctrica relativa del solvente, Z es la carga de la partícula coloidal, a es el radio de la partícula, κ_B es la constante de Boltzmann

y T la temperatura. En esta teoría el potencial consta de una interacción Coulombiana apantallada y de un potencial repulsivo tipo esfera dura de corto alcance. La forma del potencial se dedujo para coloides con potenciales superficiales pequeños. No obstante, este potencial puede seguir siendo válido para sistemas muy cargados siempre y cuando la carga real de la partícula y la constante de apantallamiento electrostático, κ , sean sustituidas por valores renormalizados [Quesada-Pérez2002]. Si suponemos que los iones son monovalentes, la constante de apantallamiento electrostático se define como

$$\kappa^2 = \frac{e^2}{\epsilon_0 \epsilon \kappa_B T} (n|Z| + 2n_s) \quad (4.2)$$

donde n es la densidad en número de partículas y n_s es la densidad en número de iones provenientes de la sal. Por lo tanto, si la concentración de electrolito aumenta, el alcance de las interacciones directas disminuye. Este fenómeno se puede ver en el dibujo que aparece en la figura 4.4. El potencial de interacción es de largo alcance cuando $\kappa a \rightarrow 0$ y el sistema interactúa fuertemente, incluso en el caso de dispersiones muy diluidas. Por el contrario, conforme se añaden iones al medio, las interacciones de largo alcance son progresivamente apantalladas hasta el límite $\kappa a \rightarrow \infty$ donde las partículas se comportan como esferas duras.

A la misma fracción de volumen, los sistemas con interacciones de largo alcance muestran una estructura coloidal más acusada que los de tipo esfera dura. El diagrama de fases de estos sistemas es similar al de tipo esfera dura, con la salvedad de que ahora además de la fracción de volumen, existen otros parámetros relevantes a la hora de describir su diagrama de fase. Las suspensiones

desionizadas ($\kappa a \rightarrow 0$) poseen una transición líquido-sólido a fracciones de volumen mucho menores que los sistemas que interactúan con potencial de tipo esfera dura.

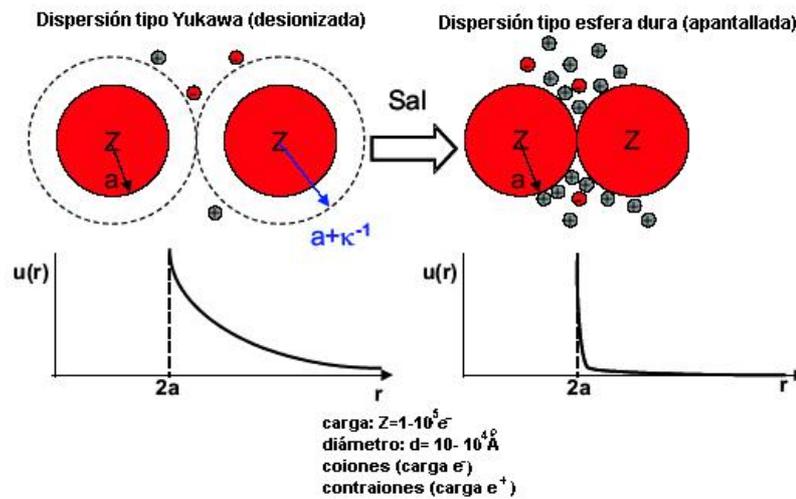


Figura 4.4.- Término repulsivo del potencial DLVO para sistemas cargados y efecto de la sal.

Otro tipo de fuerzas presentes en cualquier dispersión coloidal son las fuerzas de dispersión, debidas a fluctuaciones de los momentos dipolares inducidos en medios no polares. La fuerza de dispersión neta entre dos partículas coloidales depende de la diferencia de polarizabilidades por unidad de volumen entre el disolvente y el coloide. La polarizabilidad, α , está íntimamente relacionada con el índice de refracción relativo, n , mediante la expresión de Clausius-Mosotti

$$\frac{n^2 - 1}{n + 2} = \frac{4\pi\rho\alpha}{3} \tag{4.3}$$

De hecho si el índice de refracción del disolvente es igual al del medio dispersado, las fuerzas de dispersión desaparecen. De aquí que las condiciones experimentales que minimizan las fuerzas de dispersión sean las óptimas para realizar experimentos de dispersión de luz. El potencial que describe la interacción de dispersión o de van der Waals viene dado por

$$V_{\text{vdW}}(r) = \frac{-A}{6} \left(\frac{2a^2}{r^2 - 4a^2} + \frac{2a^2}{r^2} + \ln \frac{r^2 - 4a^2}{r^2} \right) \quad (4.4)$$

con A la constante de Hamaker. La naturaleza de estas fuerzas es atractiva y es responsable de la agregación en los sistemas coloidales cuando se apantalla completamente la interacción electrostática tras añadir iones al medio. Sin embargo, aunque el potencial total de interacción $V(r)$ entre partículas cargadas es la suma de la repulsión Coulombiana $V_c(r)$ y de la atracción de van der Waals $V_{\text{vdW}}(r)$, ésta última es despreciable cuando el coloide está altamente cargado y el medio desionizado. En este caso la interacción viene descrita por la parte repulsiva del potencial que es de tipo Yukawa.

4.4.- Propiedades ópticas: La dispersión múltiple es despreciable

Antes de presentar los resultados experimentales obtenidos mediante técnicas de dispersión de luz, se realizó un estudio exhaustivo de las propiedades ópticas de los sistemas para confirmar la validez de nuestros experimentos. Las técnicas basadas en

dispersión de luz, tanto estática como dinámica, poseen restricciones en lo que concierne a su aplicabilidad. Estos métodos son sólo válidos cuando la intensidad dispersada por las suspensiones se debe exclusivamente a fotones que han sido dispersados una única vez. En la actualidad son muchos los avances realizados para eliminar de la señal detectada las contribuciones de la dispersión múltiple, como el 3D-DLS [Urban1998] o la técnica de dos colores (TCDS) [Schätzel1990]. Otra posibilidad como Diffusing Wave Spectroscopy (DWS) [Gang1995] aprovecha la dispersión múltiple para obtener la información deseada. En nuestro caso, se utilizó un dispositivo convencional, ALV-5000E “*fast correlator*”, pero asegurándonos previamente de que los sistemas utilizados cumplieran las condiciones de dispersión simple, incluso para los sistemas más concentrados. La importancia de la dispersión múltiple fue cuantificada por Riese comparando las funciones de correlación de la intensidad obtenidas mediante dispersión dinámica de luz y de rayos X, donde sólo es posible la dispersión simple. Al comparar ambas medidas comprobó que la dispersión múltiple es despreciable hasta un 10% en fracción de volumen siempre y cuando la relación entre los índices de refracción de la partícula y del medio fuese menor que 1.036 [Riese2002]. En esta dirección se diseñaron diversos experimentos para asegurar que la dispersión múltiple es efectivamente despreciable en este tipo de sistemas. Primeramente, se midió el índice de refracción efectivo de los liposomas. A continuación, se compararon medidas de DLS y SLS obtenidas con un dispositivo que elimina la dispersión múltiple y con el dispositivo convencional utilizado.

a) Medida del índice de refracción efectivo de las vesículas

Estas medidas se realizaron con un refractómetro Abbe 60/ED (Bellingham+Stanley Ltd) a distintas longitudes de onda a temperatura

ambiente. El índice de refracción de las partículas depende de la longitud de onda, por lo que tuvimos que medir a distintas frecuencias para poder interpolar y estimar el índice de refracción a la misma longitud de onda que trabaja el dispositivo de dispersión de luz (514.5 nm). Las medidas del índice de refracción en función de la concentración de partículas se presentan en la gráfica 4.5.

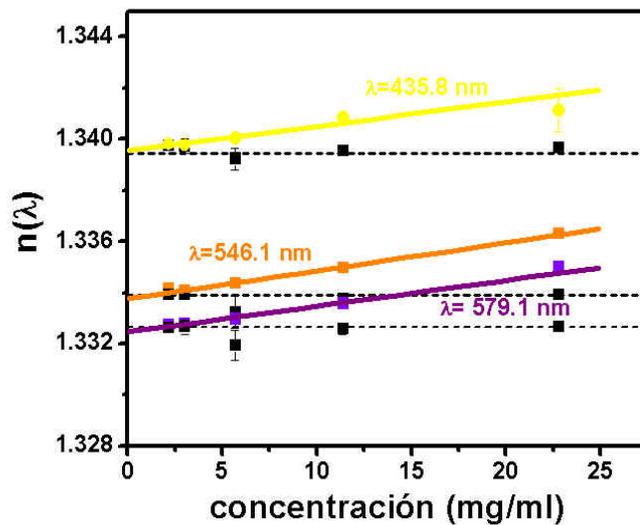


Figura 4.5.- Variación del índice de refracción con la concentración de liposomas a distintas longitudes de onda. Las líneas punteadas es el índice de refracción del medio acuoso.

Para estimar el coeficiente de refracción efectivo de las partículas se midió en primer lugar la variación del índice de refracción con la fracción de volumen, y de ahí se calculó la pendiente. Haciendo uso de la siguiente relación estimamos el índice de refracción efectivo [Alexander2002].

$$n_{\text{eff}}^2 = n_{\text{liposoma}}^2 \phi_{\text{liposoma}} + n_{\text{disolvente}}^2 \phi_{\text{disolv}} \quad (4.5)$$

donde $\phi_{\text{disolv}} = 1 - \phi_{\text{liposoma}}$

$$n_{\text{eff}}^2 = (n_{\text{liposoma}}^2 - n_{\text{disolvente}}^2) \phi_{\text{liposoma}} + n_{\text{disolvente}}^2 \quad (4.6)$$

Como la pendiente, m , es conocida, la determinación del índice de refracción de los liposomas es inmediata

$$n_{\text{liposoma}}^2 = m + n_{\text{disolvente}}^2 \quad (4.7)$$

A continuación se representa esta magnitud a la longitud de onda más parecida a la del láser del dispositivo empleado, 546.1 nm.

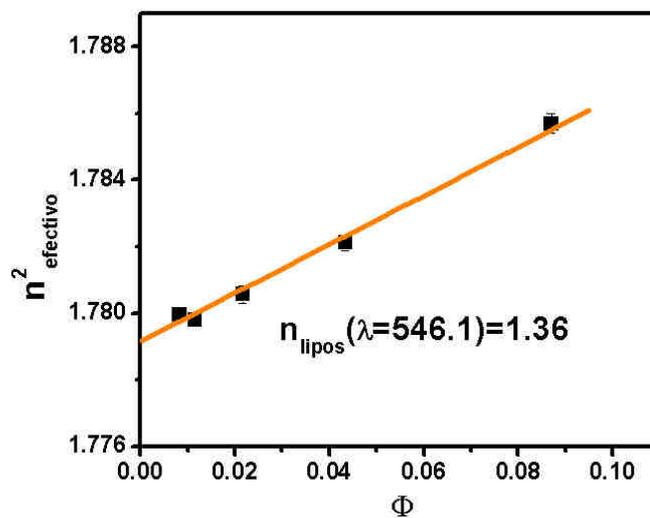


Figura 4.6.- Índice de refracción efectivo de las partículas en función de la fracción de volumen.

El valor del índice de refracción obtenido, 1.36, es muy parecido al del agua, lo que justifica que a altas fracciones de volumen las muestras sigan siendo aptas para medidas de dispersión de luz. El cociente $n_{\text{liposoma}}/n_{\text{agua}}$ es igual a 1.02, muy próximo a la unidad. Sin necesidad de realizar estas mediciones era fácil prever los resultados obtenidos, puesto que las muestras son prácticamente transparentes (ver siguiente figura).

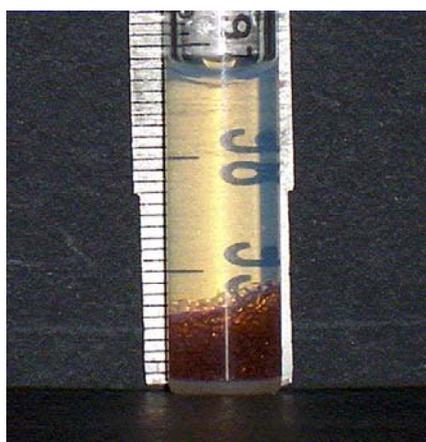


Figura 4.7.- Muestra al 10% en fracción de volumen en contacto con resinas..

b) Comparación de factores de estructura estáticos medidos con ALV y 3D-DLS.

Otra verificación se llevó a cabo comparando los factores de estructura estáticos medidos con el dispositivo ALV y el 3D-DLS. Se prepararon varias muestras a distintas concentraciones y se midieron

con ambas técnicas. Como se puede observar en la figura 4.8, las curvas experimentales son prácticamente idénticas, lo que elimina cualquier duda sobre la idoneidad de este sistema para estudiar muestras muy concentradas con técnicas convencionales de dispersión de luz sin necesidad de modificar el medio dispersor para disminuir el contraste entre partículas y disolvente.

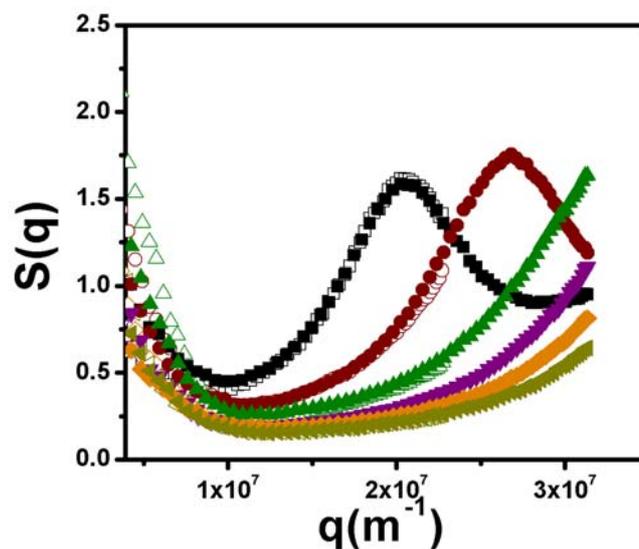


Figura 4.8.- Factores de estructura estáticos medidos con ALV (símbolos rellenos) y con 3D-DLS (símbolos huecos) a distintas fracciones de volumen.

c) Comparación de factores de estructura dinámicos medidos con ALV y 3D-DLS a un mismo vector de onda.

Otra forma de detectar la existencia de dispersión múltiple en un sistema es estudiando las funciones de correlación de la intensidad. Es bien conocido que la dispersión múltiple posee un marcado efecto en

el tiempo de relajación de la función de correlación [Riese2002]. En este caso, la dispersión múltiple provoca que la decorrelación sea más rápida, es decir, que los tiempos de relajación disminuyan. Como se puede apreciar en la gráfica, las diferencias entre las funciones de correlación medidas a un mismo vector de onda con los dos dispositivos son menores que la dispersión de las medidas. Nuevamente encontramos que la dispersión múltiple es despreciable en nuestros sistemas.

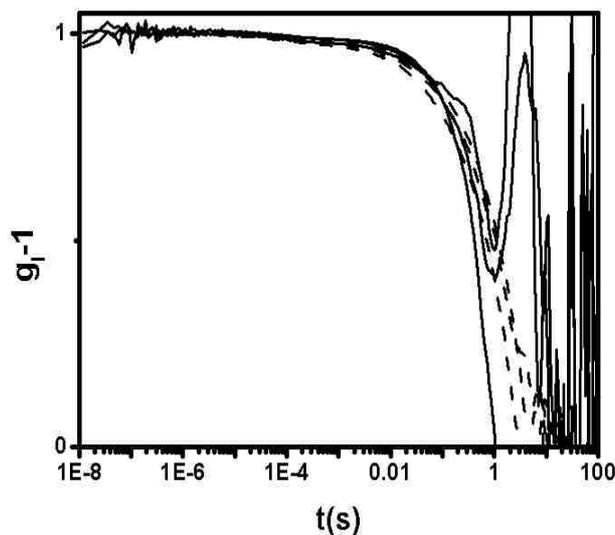


Figura 4.9.- Factores de estructura dinámicos medidos con ALV (líneas continuas) y con 3D-DLS (líneas discontinuas) a un 10% en fracción de volumen.

4.5.- Sistemas desionizados: Formación de estructuras

Las muestras fueron preparadas diluyendo la disolución madre hasta la concentración deseada. Como la correlación existente en una

suspensión coloidal es altamente dependiente del grado de limpieza iónica del medio, las muestras se pusieron en contacto con resinas intercambiadoras de iones para eliminar los iones residuales presentes en la disolución. A pesar de que los liposomas son sintetizados en agua destilada, la desionización del medio dispersante es crucial si se quieren obtener sistemas estructurados. De hecho, las diferencias entre el factor de estructura estático antes y después de añadir las resinas son notables. Al ir disminuyendo la concentración de iones en el medio, el alcance de las interacciones aumenta y las partículas están más correlacionadas. El incremento del grado de correlación se puede ver en la gráfica 4.10, donde la altura del pico aumenta al disminuir la fuerza iónica.

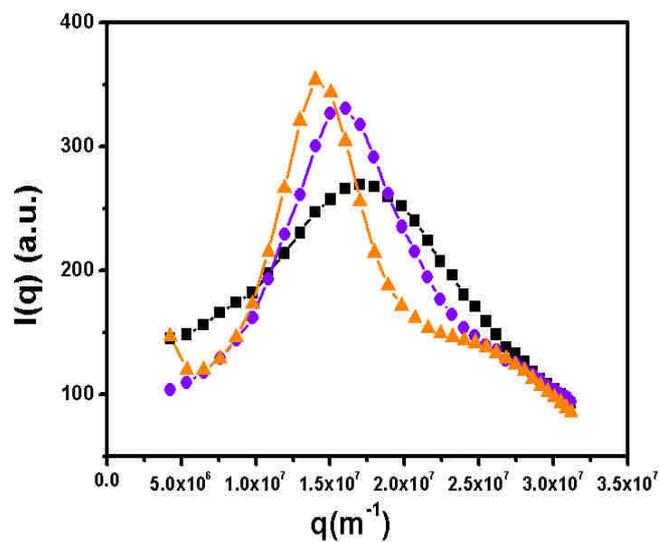


Figura 4.10.- Dependencia del grado de correlación de una dispersión de liposomas con la concentración de iones. En orden decreciente de fuerza iónica: cuadrados, círculos y triángulos.

Simultáneamente, el pico se desplaza a valores de q menores ya que la posición del pico no sólo depende de la concentración sino que también del grado de apantallamiento de la repulsión.

Finalmente, las células se sellaron para evitar cualquier contacto con el aire. Últimamente, algunos autores cuestionan la idoneidad del uso de resinas con este fin porque creen que pueden liberar polielectrolitos al medio. Las resinas utilizadas (Amberlite NRM-150) fueron enjuagadas numerosas veces con agua destilada, no siendo necesario ningún otro protocolo de limpieza. No obstante, se comprobó la ausencia de polielectrolitos midiendo la absorción en el ultravioleta de cierta cantidad de agua destilada que había estado en contacto con las resinas. Este método fue utilizado por Van den Hul et al., para comprobar la eficacia del protocolo de limpieza de resinas que propusieron en la década de los 60 [Van den Hul1968].

La concentración de las dispersiones se calculó considerando a los liposomas esféricos y unilamelares con un espesor de bicapa de 4.5 nm y 1.015 g/cm³ de densidad [Lasic1991]. Es importante señalar que el cálculo de las fracciones de volumen en estos tipos de sistemas es uno de los puntos más delicados. Si bien la fracción en peso es conocida, su conversión a fracción de volumen no es trivial. Las principales dificultades aparecen a la hora de establecer el espesor de la bicapa del liposoma y su densidad relativa respecto a la del disolvente, ρ' , parámetros que son las principales fuentes de error. Una vez establecidos estos valores, la fracción de volumen, ϕ , se puede obtener con la siguiente expresión conocida la fracción en peso, x

$$\phi = \frac{x}{\frac{4\pi(a^3 - R_1^3)}{3} \rho'} \frac{4\pi a^3}{3} \quad (4.8)$$

donde a es el radio externo del liposoma y R_1 el radio interno [Haro-Pérez2003b]. Ya que las suposiciones realizadas para deducir la fracción de volumen de las disoluciones no son evidentes, este valor fue contrastado con el obtenido mediante otro método. De la teoría de dispersión de luz sabemos que la posición del pico principal del factor de estructura está relacionado con el número de partículas por unidad de volumen de la muestra mediante la Ley de Bragg [Wiese1991]

$$q_m = (6\pi^2\phi)^{1/3} a^{-1} \quad (4.9)$$

con q_m el vector de dispersión correspondiente al máximo de $S(q)$, ϕ la fracción de volumen, y a el radio de la partícula.

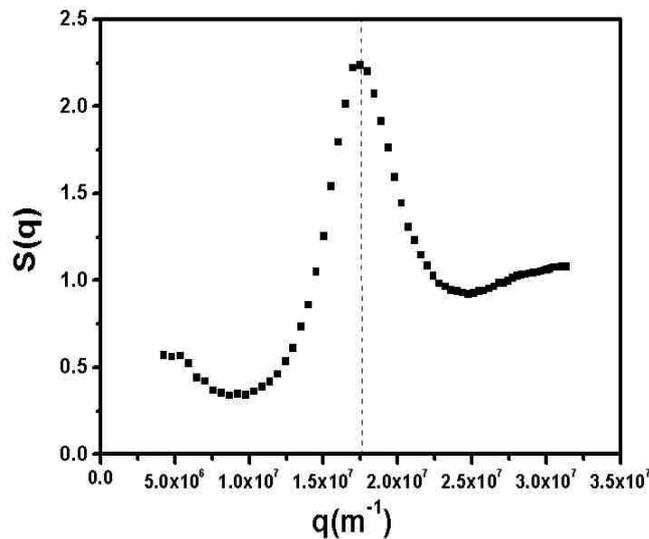


Figura 4.11.- Factor de estructura estático $S(q)$ de una dispersión de liposomas a una fracción en peso de 0.304 %.

En la figura 4.11 se muestra el factor de estructura de una muestra de liposomas con una fracción en peso igual a 0.304% que equivale, según el modelo, a una fracción de volumen del 1.33%. Las medidas de dispersión de luz se realizaron a 25°C de 2° en 2° desde 20° a 150°. La intensidad para cada ángulo es la media de tres medidas. Antes de realizar el experimento, la muestra fue homogeneizada para evitar gradientes de concentración. Entre barrido y barrido se giró la célula con el fin de eliminar posibles medidas equívocas ocasionadas por desperfectos de las paredes. Tal y como se observa en la figura, el máximo del pico principal se encuentra en 1.751 nm^{-1} y si aplicamos la Ley de Bragg éste tendría que estar situado a 1.606 nm^{-1} . La diferencia entre ambos valores es del 8% que, aunque notable, es aceptable puesto que al aplicar la Ley de Bragg estamos aproximando el fluido coloidal a una estructura cristalina. Por ejemplo, si suponemos un potencial repulsivo de tipo Yukawa entre las partículas y resolvemos la ecuación de Ornstein-Zernike con la aproximación HNC, el pico principal se sitúa en 1.747 nm^{-1} , valor mucho más cercano al experimental. El hecho de que ambos resultados sean tan parecidos es una señal de la validez de la ecuación 4.8 y, por tanto, de la hipótesis de unilamellaridad, así como de los valores de densidad de fosfolípido y espesor de bicapa usados.

Capítulo 5

Propiedades Estructurales de Dispersiones Coloidales Estabilizadas por Carga

Las propiedades estructurales de los sistemas coloidales poseen un considerable interés en el campo de la materia condensada. Entender las interacciones causantes de la estructura coloidal puede ayudar a encontrar una relación entre las características microscópicas y las propiedades macroscópicas de los coloides [Russel1995]. La teoría de líquidos y los experimentos de dispersión de luz han sido herramientas teóricas y experimentales bastante utilizadas para estudiar sistemas dispersos formados por partículas cargadas. Al mismo tiempo, las propiedades estructurales de las dispersiones coloidales son determinantes a la hora de caracterizar la dinámica de las suspensiones. En este capítulo se expone un estudio detallado de las propiedades estáticas de distintas dispersiones de liposomas. Los factores de estructura se determinan mediante dispersión estática de luz (SLS). Concretamente, nos centraremos en la influencia que la carga de las partículas y la fracción de volumen poseen sobre la estructuración espacial. El capítulo consta de dos partes diferenciadas. En la primera sección, se estudiará la influencia de la carga sobre las

propiedades configuracionales de las dispersiones. Con este fin, se determinarán los factores de estructura de dispersiones formadas con liposomas con distintas cargas superficiales a una fracción de volumen dada. A continuación, en la siguiente parte, analizaremos la dependencia de los factores de estructura con la concentración de partículas. Aparte del interés mencionado, la determinación de los factores de estructura es esencial si se quiere caracterizar la dinámica coloidal y estudiar las interacciones hidrodinámicas. Las propiedades dinámicas se tratarán en el siguiente capítulo.

5.1.- Dependencia del orden local con la carga de las partículas

El orden local de una dispersión coloidal está determinado por las interacciones directas existentes entre las partículas. Por este motivo, se ha dedicado un especial empeño para describir las fuerzas electrostáticas presentes en dispersiones estabilizadas. En este tipo de sistemas donde las fuerzas de dispersión son despreciables frente a las electrostáticas, la teoría ampliamente conocida y establecida por Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) proporciona una expresión analítica del potencial de interacción, $u(r)$, para partículas esféricas. Aplicando la aproximación de Debye-Hückel, estrictamente válida en el caso de cargas superficiales pequeñas, la parte electrostática del potencial posee una dependencia funcional similar a la de un potencial de tipo Yukawa puramente repulsivo:

$$u(r) = \frac{(Ze)^2}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r} \frac{\exp(2\kappa a)}{(1 + \kappa a)^2} \frac{\exp(-\kappa r)}{r} \quad (5.1)$$

donde Z es el número de cargas por partícula, e es la carga elemental, κ es el parámetro de apantallamiento de Debye-Hückel y $\varepsilon_0\varepsilon_r$ es la permitividad dieléctrica del disolvente. A pesar de las aproximaciones realizadas para deducir el potencial de interacción, numerosos trabajos teóricos apuestan por su validez, siempre y cuando la carga Z sea considerada como una carga renormalizada, Z_{ef} , en lugar de la carga neta de la partícula [Belloni2000], [Hansen2000], [Quesada-Pérez2002]. En esta dirección, han aparecido varios tratamientos teóricos de renormalización para predecir Z_{ef} así como la longitud de Debye κ .

5.1.1.- Modelos de renormalización

-Modelo de Alexander y col.

A mediados de los 80, Alexander y colaboradores propusieron el modelo de celda, que ha sido el más utilizado desde entonces [Alexander1984]. En este modelo, a cada partícula se le asocia una celda que por sencillez matemática se supone esférica. Su tamaño se estima en función de la concentración de partículas mediante la expresión $D = a\phi^{-1/3}$, donde ϕ es la fracción de volumen y a su radio. Las dimensiones de la celda son del orden de la distancia entre las partículas. En esta celda, el modelo calcula el potencial electrostático suponiendo que la partícula ocupa una posición fija en el centro de la celda, donde la carga total es cero para que se satisfaga el principio de electroneutralidad.

-Modelo de jellium

Simultáneamente, Beresford-Smith y colaboradores [Beresford-Smith1985] elaboraron un nuevo esquema de renormalización basado en la aproximación de *jellium*. En el cálculo del potencial electrostático, $\psi(r)$, en torno a una partícula coloidal, esta teoría no tiene en cuenta las correlaciones entre las partículas, es decir, la función de distribución radial es constante e igual a la unidad. Como en el modelo de celda, las partículas coloidales se tienen en cuenta a la hora de calcular $\psi(r)$, pero la dispersión se supone desordenada. En el modelo de *jellium*, la forma funcional del potencial de interacción a pares es similar a un potencial de tipo Yukawa (ecuación 5.1), pero la carga (Z) se sustituye por un valor renormalizado (\tilde{Z}), que se puede calcular a partir del potencial electrostático como sigue. Primero, el potencial electrostático normalizado, $\Psi \equiv e\psi / k_B T$, se evalúa resolviendo la ecuación de Poisson-Boltzmann (PB) en la que el resto de partículas coloidales son tratadas como los pequeños iones, con la diferencia de que la función de distribución radial se aproxima a uno. Bajo estas hipótesis y en el caso de partículas esféricas, la ecuación PB queda

$$\Psi''(r) + \frac{2}{r}\Psi'(r) = -4\pi l_B [(Zn_p + n_s)\exp(-\Psi) - n_s \exp(\Psi) - Zn_p], \quad r > a \quad (5.2)$$

donde $l_B = e^2 / (4\pi\epsilon_0\epsilon_0 k_B T)$ es la longitud de Bjerrum, n_p y n_s son las concentraciones de partículas coloidales y de sal monovalente, respectivamente, y a es el radio de la partícula. La ecuación (5.2) se resuelve junto con las condiciones de frontera $\Psi'(a) = Zl_B / a^2$,

que es la Ley de Gauss aplicada a la superficie de la partícula, y $\Psi(\infty) = 0$. La solución en el campo lejano se iguala a

$$\Psi(r) = l_B \frac{\tilde{Z} \exp(\kappa a)}{1 + \kappa a} \frac{\exp(-\kappa r)}{r} \quad (5.3)$$

que es la solución linealizada de la ecuación (5.2). Este hecho se ilustra en la figura 1, donde la solución para $Z=500$ e/partícula y una concentración de sal monovalente de 0.005 mM a una fracción de volumen del 1% (línea continua) se compara con la solución asintótica derivada de la ecuación (5.3) con $\tilde{Z} \cong 323$ e/partícula (línea punteada).

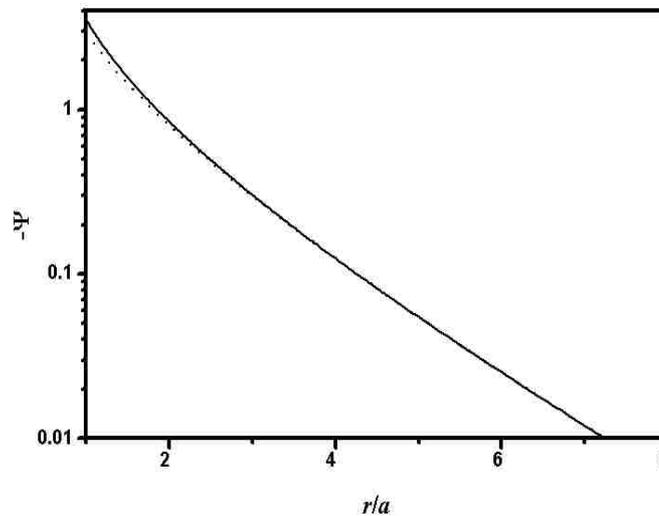


Figura 5.1.- Potencial electrostático normalizado en función de la distancia al centro de una partícula para $Z= 500$ e/partícula, concentración de sal 0.005 mM y $\varphi=0.01$ (línea continua). También se ha representado con línea punteada la solución asintótica obtenida a partir de la ecuación (5.3) para $\tilde{Z} \cong 323$ e/partícula.

Como se puede observar, el acuerdo entre ambas curvas a partir de una cierta distancia es casi perfecto. En cualquier caso, el valor de κ viene dado en este modelo por

$$\kappa = \sqrt{4\pi l_B (2n_s + Zn_p)} \quad (5.4)$$

Aquí, κ no está renormalizado al contrario de lo que ocurre en el modelo de celda, y depende de carga neta de las partículas, Z . Este punto es clave para entender posteriormente los resultados experimentales.

Aunque este modelo, empleado por Beresford-Smith no ha sido tan utilizado como el de Alexander, ha despertado interés recientemente como se puede apreciar en la bibliografía. De hecho, Trizac y Levin plantearon un modelo *jellium* renormalizado y justificaron porqué la carga efectiva obtenida a partir de éste era más adecuada para estudiar las interacciones coloidales [Trizac2004], [Levin2003]. Por otro lado, recientemente se ha encontrado que la altura del pico principal del factor de estructura no aumenta monótonamente con la fracción de volumen, sino que muestra un mínimo [Rojas2002]. Este comportamiento había sido predicho por Beresford-Smith [Beresford-Smith1985] pero aún no se había encontrado experimentalmente. Otra de las predicciones teóricas más llamativas del modelo está relacionada con la dependencia entre el factor de estructura y la carga de las partículas. Conforme aumenta la carga, el pico principal del factor de estructura alcanza un máximo y posteriormente decae. Sin embargo, no tenemos constancia de que esta predicción haya sido ratificada experimentalmente. En este sentido, se diseñaron una serie de experimentos. Para ello, se varió la carga de las partículas modificando el número de grupos superficiales

cargados por partícula y se estudiaron sus propiedades estructurales a una fracción de volumen determinada. El estudio sistemático de la estructura con la carga se realizó con dos sistemas muy diferentes: dispersiones de liposomas y látex.

5.1.2.- Resultados experimentales

5.1.2.1.- Dispersiones de liposomas

Los liposomas que se emplearon se describen en la Tabla 4.1. El rasgo distintivo entre ellos es la proporción de fosfolípido cargado que poseen. La composición se modificó con el fin de variar la carga superficial de las partículas.

En primer lugar, se midieron los factores de forma de los distintos sistemas. El factor de forma se obtiene analizando la luz dispersada por sistemas coloidales no correlacionados, es decir, no estructuradas, para que la intensidad dispersada sólo se deba a las características de las partículas pero no a las interacciones entre ellas. Para ello, las muestras se prepararon a una fracción de volumen de $\phi=0.002$ y 2 mM de KNO_3 . Los factores de forma obtenidos para cada uno de los sistemas se muestran en la figura 5.2, donde también aparecen los ajustes teóricos según la teoría de Rayleigh-Gans-Debye aplicada a sistemas polidispersos expuesta en el capítulo anterior. De los ajustes se determinaron los tamaños e índices de polidispersidad mostrados en la Tabla 4.1.

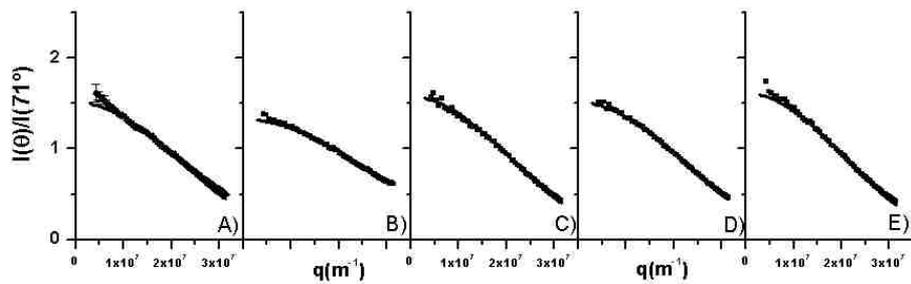


Figura 5.2.- Factores de forma experimentales (símbolos) con sus correspondientes ajustes (líneas continuas): A), B), C), D), E) son los sistemas L1, L25, L50, L75, L100 respectivamente. Los ajustes teóricos se realizaron según la teoría RGD aplicada a partículas tipo vesícula.

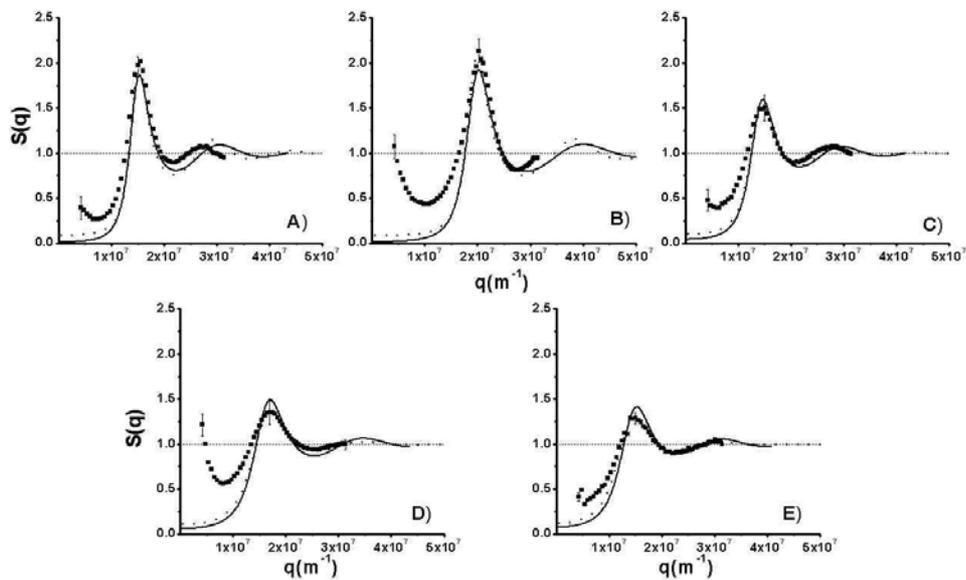


Figura 5.3.- Factores de estructura experimentales con sus correspondientes ajustes: A), B), C), D), E) son los sistemas L1, L25, L50, L75, L100 respectivamente a una fracción de volumen en torno al 0.9%. Cuadrados: Puntos experimentales; línea punteada: factor de estructura HNC; línea continua: modelo jellium junto con la relación de cierre RMSA.

A continuación se prepararon dispersiones a una fracción de volumen alrededor del 0.9 % que fueron desionizadas. Las medidas del factor de estructura estático se llevaron a cabo con el dispositivo ALV-5000E *fast correlator* mediante dispersión de luz estática. El valor medio de la intensidad a cada ángulo se realizó promediando sobre tres medidas independientes. Los factores de estructura obtenidos para cada uno de los sistemas se muestran en la figura 5.3.

En todas las muestras se encuentra un pico muy marcado correspondiente a la correlación entre partículas vecinas. La altura máxima de este pico S_{max} , depende de la composición, es decir, del número de grupos cargados por liposoma, como se observa en la figura 5.4

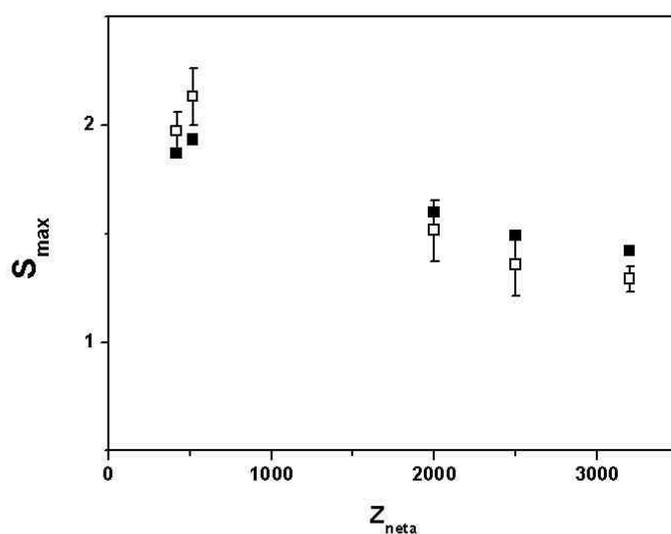


Figura 5.4.- Altura del pico principal del factor de estructura S_{max} en función de la carga neta de los liposomas. Símbolos huecos (datos experimentales), símbolos rellenos (valores teóricos).

S_{max} aumenta inicialmente con la carga hasta alcanzar un valor

máximo y luego decrece. Este resultado es a primera vista contradictorio, ya que cabría esperar que el orden local aumentara conforme crece el número de grupos cargados por partícula. En el análisis de los datos se siguieron diferentes métodos:

i) En primer lugar, ajustamos las curvas experimentales aceptando como válido un potencial de interacción repulsivo de tipo Yukawa y las ecuaciones de Ornstein-Zernike se resolvieron con la relación de cierre HNC y la RMSA. Ambas relaciones de cierre proporcionaron resultados muy similares, por lo que en las gráficas sólo aparece la aproximación HNC (líneas punteadas). En los dos casos, HNC y RMSA, la longitud inversa de Debye se calcula a partir de la relación $\kappa = \sqrt{4\pi l_B (2n_s + Z_{ef} n_p)}$, donde Z_{ef} es la carga efectiva de las partículas.

ii) En el segundo método, los datos se ajustaron utilizando la aproximación *jellium*, donde κ se calcula con la ecuación (5.4). En la gráfica 5.4 se muestran junto con los datos experimentales (símbolos huecos) los mejores ajustes, los cuáles se obtuvieron variando la carga neta Z_{neta} , que es el parámetro de entrada en este modelo, mientras que $Z_{jellium}$ es la carga renormalizada que se obtiene del ajuste a partir de la carga neta. Es importante resaltar que la carga efectiva *jellium* aumenta con el número de grupos cargados del liposoma.

A la vista de los resultados, podemos decir que ambas teorías ajustan bien los datos experimentales a altos valores de q . Sin embargo, la teoría falla a la hora de describir el comportamiento para pequeños valores de vectores de onda, lo cuál puede ser una señal de heterogeneidades espaciales a gran escala. El comportamiento de $S(q)$ a ángulos pequeños lo discutiremos más adelante en mayor detalle. La

relación de cierre HNC, donde no se ha tenido en cuenta ningún tipo de renormalización, es la que mejor ajusta la posición y altura del máximo principal de los factores de estructura experimentales. No obstante, los valores de las cargas efectivas obtenidas, mostradas en la Tabla 5.2, decrecen con el número de grupos cargados, resultado paradójico ya que se espera todo lo contrario. La aparente contradicción se pone de manifiesto para valores grandes de la carga del liposoma. En estas condiciones, es necesario aplicar teorías de renormalización.

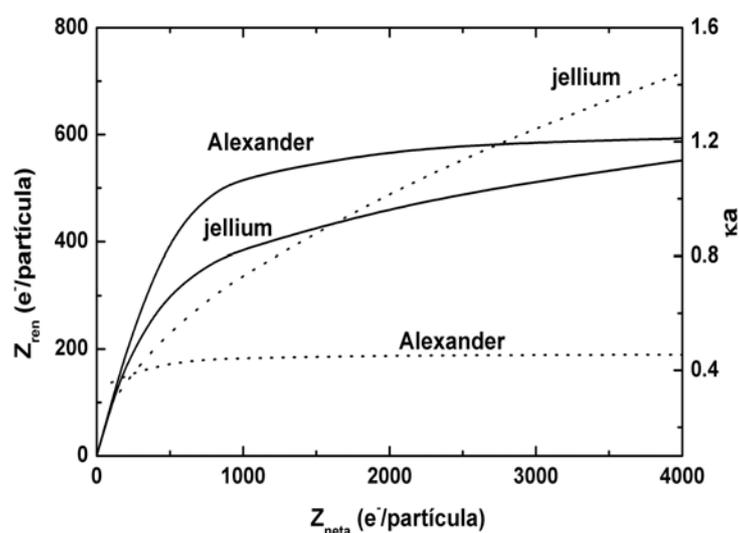


Figura 5.5.- Cargas renormalizadas (eje izquierdo, línea continua) y valores de κ (eje derecho, línea punteada) en función de la carga neta según los modelos de Alexander y jellium (Radio de partícula: 50 nm, Fracción de volumen: 0.0122, Concentración iónica residual: 10^{-6} M).

En la figura 5.5 se puede ver como en el modelo de renormalización de Alexander, tanto Z_{ef} como κ se saturan a un cierto valor. Según esta teoría, la correlación entre las partículas debe aumentar monótonamente hasta un determinado valor de la carga, donde la altura del pico principal alcanza su valor máximo y se mantiene constante. Claramente, los resultados experimentales encontrados no concuerdan con esta descripción.

La dependencia de S_{max} con la carga neta de las partículas muestra que existe una carga óptima para la cuál la estructuración de la dispersión es máxima y alejándonos hacia valores de carga mayores o menores el sistema se desordena. El resultado se puede explicar de forma intuitiva con el modelo de *jellium* (ver la predicción teórica de Beresford-Smith, fig. 3 del artículo). Como ya se ha indicado, en la aproximación *jellium* las partículas se tratan como macroiones. Por lo tanto, para calcular κ hay que tener en cuenta la carga neta de las partículas (ver ecuación 5.4). En este contexto, la longitud inversa de Debye aumenta monótonamente con Z_{neta} sin llegar a saturarse (figura 5.5). Este resultado es totalmente opuesto al que predice el modelo de celda de Alexander. Al aumentar la carga neta de las partículas, la carga efectiva se satura en ambos modelos, pero el continuo aumento de κ en el modelo de *jellium* provoca el debilitamiento del orden espacial. En resumen, el hecho de que en la teoría de *jellium* se considere la contribución de las partículas coloidales a la constante de apantallamiento, permite predecir el comportamiento no monótono de la altura del máximo de $S(q)$ al aumentar la carga superficial de las partículas. Los ajustes realizados con la aproximación *jellium* discrepan de los factores de estructura experimentales alrededor del pico (véase figura 5.3). Las diferencias también se pueden notar en la figura 5.4 donde aparecen los valores experimentales de S_{max} junto con los obtenidos a partir de la teoría *jellium*. Estas diferencias son más

apreciables para las muestras más estructuradas (figuras 2.A y 2.B). Los ajustes no se pueden mejorar puesto que el modelo es incapaz de generar factores de estructura con valores más grandes de S_{max} . Las aproximaciones más dudosas, responsables de la limitación del modelo, son: por un lado se sobreestima la contribución de las partículas a la longitud inversa de Debye y, por otro lado, se infravalora la correlación entre las partículas.

<i>Muestra (PS:PC)</i>	ϕ (%)	<i>Z (grupos PS/partícula)</i>	Z_{ef-HNC}	$Z_{jellium}$	Z_{neta}
L1 (1:99)	0.85	540	420	313	420
L2 (25:75)	1.10	12000	330	306	520
L3 (50:50)	0.82	29000	260	535	2000
L4 (75:25)	1.00	40000	165	547	2500
L5 (100:0)	0.83	60000	170	604	3200

Tabla 5.2.- Fracción de volumen, número de grupos ionizables por partícula (Z), carga efectiva obtenida del ajuste de $S(q)$ con la aproximación HNC considerando un potencial de interacción tipo Yukawa a $5 \cdot 10^{-6}M$ (Z_{ef}), carga efectiva según el modelo jellium suponiendo el mismo potencial de interacción a $5 \cdot 10^{-6}M$ con la aproximación RMSA ($Z_{jellium}$) y la carga neta (Z_{neta}), utilizada como parámetro de entrada en el modelo jellium.

De hecho, no es sorprendente y se espera que las discrepancias sean tanto más notables cuanto más estructurado esté el sistema coloidal. Aunque experimentalmente se han observado alturas de pico superiores a 2.3 [Rojas2002], los picos que se obtienen con el modelo jellium apenas superan 1.9. Respecto a los valores de Z_{neta} utilizados como parámetro de ajuste (Tabla 2, Columna 6), debemos tener en cuenta que:

- i) no se corresponden con el número estimado de grupos ionizables por liposoma (Tabla 2, Columna 3).
- ii) las diferencias son tanto más acusadas cuanto más cargado está el sistema.

Por ejemplo, en el sistema L1 Z_{neto} es igual a 420 electrones, mientras que el número de moléculas de PS por vesícula es de 540, por lo que se cree que la gran mayoría de los grupos superficiales están disociados. En cambio, para la muestra L100, el número de grupos ionizables por liposomas es de 60000, pero del ajuste se obtiene una carga de 3200 electrones. Entonces, ¿las cargas netas utilizadas como parámetro de ajuste son físicamente aceptables? A vista de los resultados, suponiendo que todas las moléculas de PS estuvieran cargadas negativamente, las cargas netas obtenidas con el modelo *jellium* son mucho menores y no podríamos responder afirmativamente.

Algunos autores han sugerido la posibilidad de que los iones se puedan condensar en la superficie del liposoma. Como el potencial electrostático de las partículas es muy elevado, es probable que la concentración de H^+ en las proximidades de las vesículas sea mucho más alta que en el seno de la disolución, pudiendo el pH local de las partículas alcanzar valores comparables con el pKa de los grupos superficiales. Este hecho implicaría una reducción en el grado de disociación de los grupos y, por consiguiente, una reducción del número de cargas por partícula. En este caso es necesario aplicar un modelo de regulación química de la carga para poder estimar la proporción de grupos superficiales ionizados [Palberg1995]. Para ello se tiene en cuenta una ley de acción de masas similar a la que rige en el seno de una disolución. Sea un grupo químico A susceptible de ser ionizado, el equilibrio químico de esta disociación se expresa como

$$K_A = [H^+]_0 \frac{\alpha}{(1-\alpha)} \quad (5.5)$$

donde $[H^+]_0$ es la concentración local de iones H^+ en las proximidades de las partículas y $\alpha=Z_0/Z_A$ es el grado de disociación de la especie química A (Z_A y Z_0 son el número de grupos A ionizables e ionizados, respectivamente). En el cálculo se ha considerado que las moléculas de fosfatidilcolina no intervienen en el equilibrio químico, puesto que el pKa del fosfolípido es igual a 13 (valor muy alejado de nuestras condiciones experimentales). En el caso de la fosfatidilserina, tenemos 3 grupos ionizables: fosfato, carboxilo y amino, cuyos pKa son: 2.6, 3.5 y 9.7, respectivamente [AvantiPolar], [Marsh1990].

El número de grupos ionizados para cada uno de los sistemas encontrados teniendo en cuenta la regulación química de la carga se muestran en la Tabla 5.3, Columna 4ª. Como vemos, ahora el acuerdo entre la carga neta utilizada como parámetro de ajuste Z_{neta} y la carga disociada por partícula Z_{dis} se ve mejorado y son, al menos, del mismo orden.

Muestra (PS:PC)	Z (grupos PS/partícula)	Z_{neta}	Z_{dis}
L1 (1:99)	540	420	404
L2 (25:75)	12000	520	950
L3 (50:50)	29000	2000	1900
L4 (75:25)	40000	2500	2000
L5 (100:0)	60000	3200	2510

Tabla 5.3.- Número de grupos de PS por partícula (Z), carga utilizada como parámetro de ajuste en el modelo jellium (Z_{neta}) y número de grupos disociados por liposoma considerando regulación química (Z_{dis}).

5.1.2.2.- Dispersiones de látex

Los látex empleados poseen grupos sulfonato en la superficie y fueron sintetizados por *IKERLAT Polymers*. Todas las dispersiones se sometieron a un proceso de limpieza iónica y de monómero sobrante mediante el intercambio de la fase líquida del látex por agua bidestilada de baja conductividad, utilizando para ello una membrana semipermeable. En total se han utilizado cuatro látex de las mismas características y tamaños similares, pero con distinta densidad superficial de grupos sulfonato. La descripción de los sistemas se recoge en la siguiente Tabla.

<i>Muestra</i>	<i>Diámetro (nm)</i>	σ ($\mu\text{C}/\text{cm}^2$)	<i>Carga (e/partícula)</i>
Lx1	82	0.63	425
Lx2	80	1.51	2100
Lx3	80	2.97	4210
Lx4	80	7.86	11140

Tabla 5.3.- Diámetro, densidad de carga superficial, y número de grupos cargados por partícula.

Las dispersiones de látex, a diferencia de los liposomas, son bastante turbias, incluso a concentraciones muy diluidas. El elevado contraste se debe a la gran diferencia entre los índices de refracción de las partículas y el medio acuoso. Por esta razón las medidas de dispersión de luz se realizaron con el dispositivo 3D-DLS, que elimina la dispersión múltiple de la señal detectada. La intensidad total registrada es igual a la suma de la intensidad ocasionada por eventos de dispersión múltiple y simple. La intensidad debida a un único

evento de dispersión $I(q)$ se puede aislar de la intensidad total a partir de la reducción de la amplitud de la función de correlación cruzada de las cuentas netas registradas. Las muestras se prepararon a una fracción de volumen en torno al 0.15%. La concentración elegida es menor que en el caso de los liposomas porque debido a la elevada monodispersidad de las partículas de látex, las dispersiones cristalizaban rápidamente en el proceso de desionización. La presencia de cristales conlleva una pérdida de ergodicidad y la intensidad dispersada presenta picos muy acusados que pueden dañar los detectores. La baja polidispersidad de las partículas se puede observar en los factores de forma (Figura 5.5).

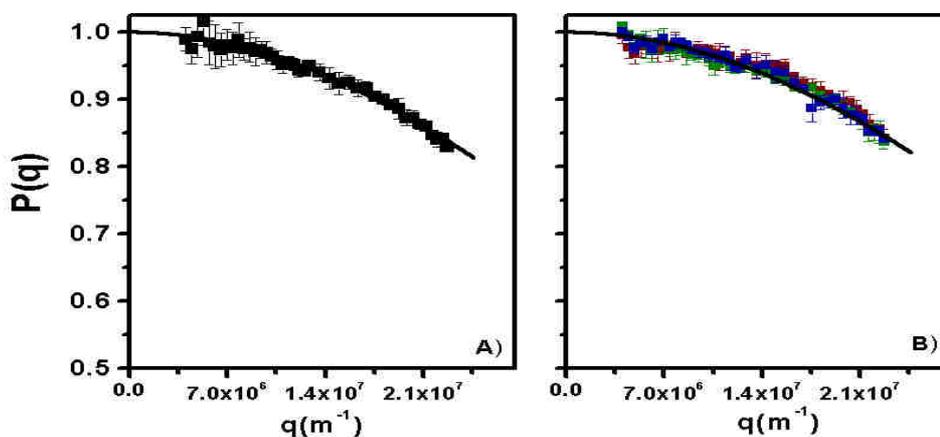


Figura 5.6.- Factores de forma obtenidos a partir de medidas de intensidad: A) látex Lx1 (símbolos negros); B) látex Lx2, Lx3, Lx4 (símbolos rojos, verdes y azules, respectivamente). Con línea continua se muestran los factores de forma teóricos utilizando la teoría RGD (para sistemas monodispersos) para un diámetro de 80 nm (5.5.A) y 82 nm (5.5.B).

Los ajustes se realizaron sin necesidad de incluir polidispersidad. Los tamaños de las distintas muestras fueron muy parecidos (80 nm de diámetro para Lx1 y 82 nm el resto). Los diámetros obtenidos por DLS también corroboraron la homogeneidad en tamaños de las partículas.

Las muestras al 0.15% en fracción de volumen fueron desionizadas con intercambiadores iónicos hasta conseguir la formación de las estructuras. En el caso del látex Lx2, la muestra cristalizó a pesar de encontrarnos a una concentración muy baja de partículas. En la siguiente figura aparecen los distintos sistemas, donde se puede apreciar la presencia de cristales en el látex mencionado.

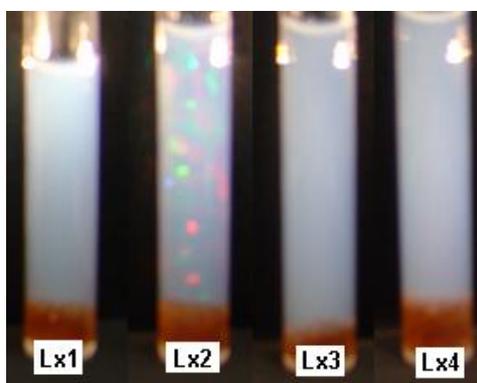


Figura 5.7.- *Dispersiones de partículas de látex con distintas cargas superficiales ($\phi \approx 0.15\%$).*

En la muestra Lx2, para cada vector de dispersión antes de cada medida, la célula se agitaba con el fin de destruir los cristales y poder medir el sistema en el estado fluido. Transcurrido un pequeño

intervalo de tiempo los cristales se formaban nuevamente. En este intervalo temporal se llevaron a cabo las medidas. En la siguiente fotografía se puede ver la muestra donde coexisten las fases fluido-cristal A) y tras ser agitada B).

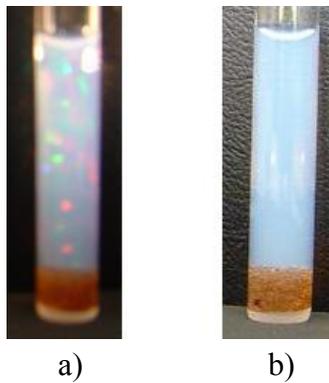


Figura 5.8.- a) *Lx2 a 0.14% en fracción de volumen parcialmente cristalizada.*
b) *Muestra anterior tras ser agitada.*

A simple vista, sin necesidad de realizar ningún experimento, encontramos un fenómeno muy llamativo: la aparición de una fase reentrante fluido-cristal-fluido al aumentar la carga de las partículas. Aunque no intuitivos, los resultados son coherentes con el comportamiento no monótono de la altura del pico de $S(q)$ encontrado al variar la carga de los liposomas. La fase reentrante es una señal más de la existencia de un valor de carga para el cuál la estructuración del sistema es máxima. La fase reentrante fluido-cristal-fluido en sistemas desionizados cargados al variar la carga del coloide fue estudiada por [Yamanaka1998]. El trabajo consistió en delimitar las fronteras fluido-cristal al ir variando la fracción de volumen, ϕ , y la densidad de carga de las partículas, σ_0 , a una fuerza iónica determinada. Las

razones que argumentaron para justificar este comportamiento fueron cualitativas. Por ejemplo, mencionan que el aumento de la carga de las partículas posee dos efectos, por un lado, aumenta la intensidad de la interacción electrostática, pero también el apantallamiento debido a los contraiones provenientes de la desionización de los grupos superficiales. La competición entre estos dos fenómenos es la que explica la fase reentrante. En nuestro estudio analizaremos los factores de estructura con el modelo *jellium* para intentar explicar la dependencia no monótona del orden coloidal con la carga de las partículas. A continuación se presentan los factores de estructura experimentales encontrados para cada uno de los sistemas.

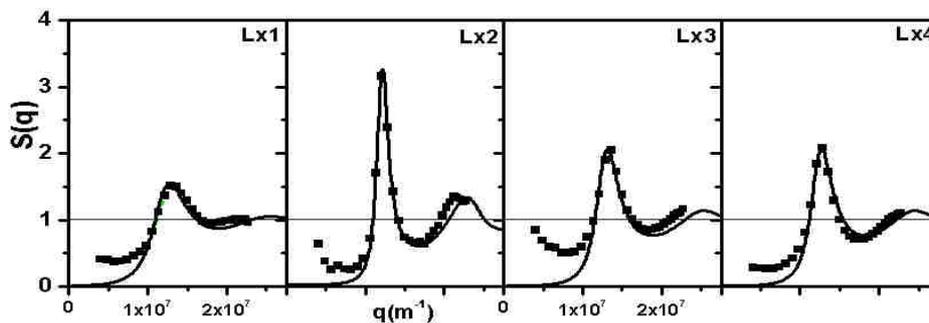


Figura 5.9.- Factores de estructura experimentales (cuadrados) con sus correspondientes ajustes con la aproximación HNC (línea continua) a una fracción de volumen en torno al 0.15%. Las muestras están identificadas en el margen superior izquierdo de cada gráfica.

Al igual que con los liposomas, observamos que la altura del máximo principal de $S(q)$ es fuertemente dependiente de la carga de la partícula, encontrando nuevamente un máximo en la relación $S_{max}-Z$. Aplicando el modelo de *jellium*, tal y como se explicó en el apartado anterior, la teoría predice un máximo de la altura del pico principal de

$S(q)$ con la carga de las partículas, pero aquí las diferencias entre los resultados teóricos y los valores experimentales son muy notables, ver figura 5.10. Estas discrepancias no sorprenden, puesto que las muestras analizadas en esta ocasión estaban mucho más estructuradas y, por lo tanto, más alejadas de las hipótesis de partida del modelo.

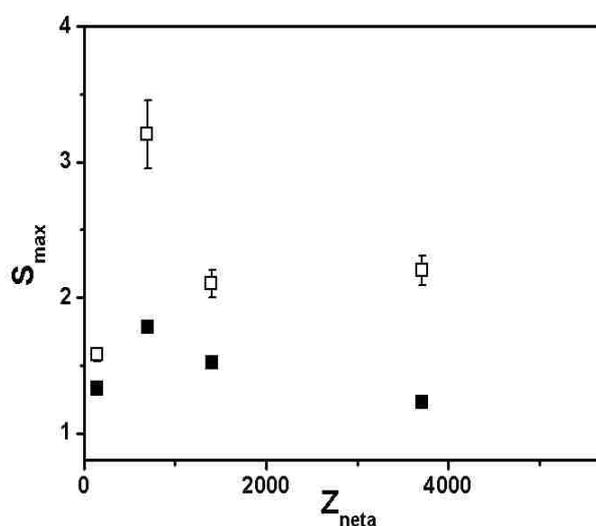


Figura 5.10.- Altura del pico principal del factor de estructura en función de la carga neta de las partículas. Símbolos huecos (datos experimentales), símbolos rellenos (valores teóricos).

Los valores de carga utilizados para realizar el ajuste, Z_{neta} , se muestran en la Tabla 5.4. Aquí también se recogen el número de grupos sulfato por partícula, Z , y la carga disociada Z_{dis} obtenida teniendo en cuenta la regulación química de los grupos sulfatos. El valor de pKa utilizado para el sulfato fue de 2, dato que se obtuvo de diversos trabajos encontrados en la bibliografía [Palberg1995],

[Zwetsloot1994], [Jacobasch1984]. En este caso, al igual que ocurría con los liposomas, la carga neta utilizada como parámetro de ajuste discrepa enormemente de la carga valorada. Sin embargo, tras considerar el equilibrio químico de los grupos superficiales, se observa que la carga disociada es mucho menor que la carga valorada. Estos resultados ponen de manifiesto que, incluso para ácidos fuertes, no todos los grupos superficiales están desionizados debido a la gran proporción de iones H^+ en las cercanías de la partícula. Así el valor de carga más fiable y que se debe considerar a la hora de comparar con resultados teóricos sería la carga disociada, Z_{dis} , que como vemos es mucho más parecida a Z_{neta} .

<i>Muestra</i>	<i>Z</i> <i>Grupos Sulfato</i> <i>por partícula</i>	<i>Z_{ef-HNC}</i>	<i>Z_{dis}</i>	<i>Z_{neta}</i>
Lx1	425	210	408	142
Lx2	2100	900	1146	696
Lx3	4210	350	1654	1403
Lx4	11140	345	2749	3712

Tabla 5.4.- Número de grupos sulfato Z , carga efectiva con aproximación HNC Z_{ef} , carga disociada Z_{dis} , y carga neta por partícula, Z_{neta} .

Caracterización electrocinética

Ante las disyuntivas encontradas entre los valores de carga obtenidos con los distintos modelos, decidimos realizar una caracterización electrocinética de las dispersiones. No es nuevo que de la medida de movilidades y de su posterior estimación del potencial

zeta, ζ , se puede conseguir información sobre la estructura más interna de la doble capa eléctrica de las partículas. La movilidad electroforética permite deducir cargas efectivas que pueden ayudar a entender la formación de estructuras a bajas fuerzas iónicas [Quesada-Pérez1999]. Por este motivo, se midieron las movilidades electroforéticas de las distintas dispersiones en función de la fuerza iónica con el dispositivo Zeta-PALS. Las medidas obtenidas se presentan en la figura 5.11.

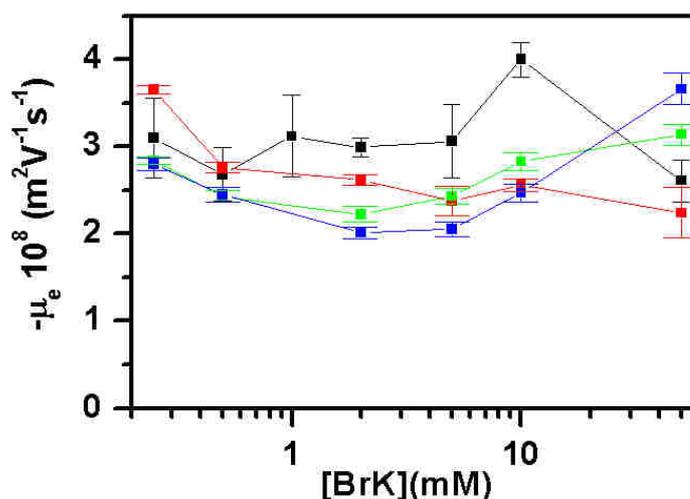


Figura 5.11.- Movilidades de los látex Lx1 (símbolos negros), Lx2 (símbolos rojos), Lx3 (símbolos verdes) y Lx4 (símbolos azules) en función de la concentración de sal.

El cálculo del potencial zeta a partir de los valores experimentales de movilidad se realizó aplicando la Teoría de O'Brien y White [O'Brien1978]. Esta teoría no contempla la posibilidad de

conducción iónica entre la superficie de la partícula y el plano de cizalladura y su intervalo de aplicabilidad no posee restricciones sobre los valores de κa o ζ . El modelo tiene en cuenta:

- i) *El efecto de relajación*: la deformación de la doble capa eléctrica por efecto del campo eléctrico externo.
- ii) *El retardo electroforético*: al aplicar un campo eléctrico externo los macroiones tienden a moverse en sentido opuesto al de los contraiones que da lugar a la aparición de una fuerza eléctrica opuesta al campo externo.

Una vez calculados los valores del potencial ζ , la carga electrocinéticamente transportada se estimó con la siguiente relación (para electrolitos 1:1)

$$Z_{\zeta} = \frac{4\pi\epsilon_0\epsilon_r k_B T \kappa a^2}{e^2} \left[2 \sinh\left(\frac{e\zeta}{2k_B T}\right) + \frac{4}{\kappa a} \tanh\left(\frac{e\zeta}{4k_B T}\right) \right] \quad (5.5)$$

con la que se comete un error menor del 5% siempre que $\kappa a > 0.5$ [Russel, 1995]. En la gráfica 5.11 se muestran las cargas electrocinéticamente transportadas por partícula en función de la fuerza iónica. Para comparar estas cargas con las obtenidas a partir de los ajustes de los factores de estructura, sería deseable tener medidas electroforéticas a fuerzas iónicas de la misma magnitud. Desafortunadamente, las medidas a fuerzas iónicas extremadamente bajas no son fiables: falta reproducibilidad y el control experimental de la concentración de sal es dudoso. Aquí se optó por medir a fuerzas iónicas mayores y, gracias a la dependencia lineal entre carga y fuerza iónica, el valor de la carga a concentraciones de sal muy bajas se

obtuvo extrapolando. Los resultados obtenidos (margen inferior derecho de cada una de las gráficas que aparecen en la figura 5.12) confirman que el sistema más estructurado, al que se le atribuye una carga efectiva mayor, Lx2, es el que presenta una mayor carga electrocinética. Esto tiene sentido si pensamos que cuando dos partículas interactúan electrostáticamente a largas distancias lo hacen como si portasen una carga igual a la que encierra el plano exterior de Helmholtz.

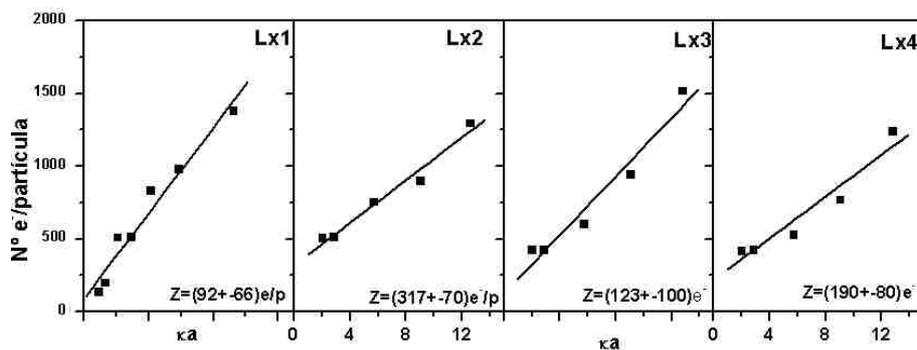


Figura 5.12.- Carga electrocinéticamente transportada en función del radio electrocinético de los látex Lx1, Lx2, Lx3 y Lx4.

5.1.3.- Discusión

Para finalizar esta sección sería conveniente resumir las principales conclusiones que se derivan de este estudio. Lo más destacable de estos resultados es la aparición de un máximo en la altura del pico principal del factor de estructura en función de la carga de las partículas. Estos resultados se pueden ajustar si se recurre a

cargas efectivas decrecientes, utilizando la aproximación HNC, véanse Tablas 5.2 y 5.4. Estas cargas efectivas decrecientes difícilmente podrían explicarse con el modelo de renormalización de Alexander aplicado a un conjunto de sistemas de cargas crecientes. Por esta razón nos planteamos recuperar otro modelo de renormalización que predice la aparición de un máximo en la altura del pico al aumentar la carga, el modelo de *jellium*. Con esta otra teoría es posible justificar la aparición del máximo en $S(q_{max})-Z$ ya que el parámetro κ no se renormaliza y crece monótonamente con Z , cosa que no sucede en el modelo de Alexander. Sin embargo, nuestros resultados parecen sugerir que esta teoría sobrestima el apantallamiento de las fuerzas electrostáticas asociado a este parámetro puesto que sólo ajusta razonablemente bien los factores de estructura de aquellas dispersiones muy poco estructuradas, véase Figura 5.10. Por este motivo, en el siguiente apartado donde se trabajan con dispersiones más concentradas no se hará uso del modelo *jellium*.

5.2.- Propiedades estáticas de sistemas densos cargados densos

Al contrario de lo que ocurre en líquidos simples, el potencial efectivo de interacción entre partículas determinado por la carga efectiva Z_{ef} y el alcance κ^{-1} no sólo depende de la carga neta de las partículas sino también de las concentraciones de coiones y contraiones y de la fracción de volumen. En este apartado, se estudiará la dependencia de las propiedades estáticas con la fracción de volumen en sistemas con distinta carga superficial. Así, a partir de

la disolución madre se prepararon distintas muestras a fracciones de volumen que oscilaron entre el 1 y 10%. Los sistemas analizados fueron descritos en la sección experimental del Capítulo 4: L1, L2, L3, L4 y L5.

5.2.1.- Factores de estructura estáticos

Aquí se presenta una comparación sistemática de las propiedades estáticas de dispersiones acuosas de liposomas, caracterizadas por la dependencia angular de la intensidad dispersada, con las predicciones teóricas para dispersiones de partículas cargadas obtenidas a partir de ecuaciones integrales con la aproximación HNC.

Sistema L1

En la figura 5.13 se muestran de izquierda a derecha los factores de estructura $S(q)$ del sistema L1 para valores crecientes de la fracción de volumen. La posición del pico está relacionada con la distancia media de separación entre partículas d_{inter} mediante $d_{inter} \approx 2\pi/q_{max}$ [Pusey1991]. En la gráfica se observa como la posición del máximo principal q_{max} se desplaza a valores mayores de q con la concentración de partículas. El desplazamiento del pico principal hacia valores crecientes de q es una señal de la reducción de la distancia promedio entre las partículas al incrementar su concentración. Cuando las partículas sufren fuertes interacciones y sus posiciones están correlacionadas, aumenta el grado de interferencia constructiva de la luz dispersada por ellas, lo que provoca la aparición de un pico muy bien definido en $S(q)$. Junto con los datos experimentales se representan en línea continua los correspondientes ajustes realizados con la aproximación HNC teniendo en cuenta la polidispersidad de la

suspensión coloidal. Las curvas teóricas capturan aceptablemente bien la altura y posición del pico principal. A bajos ángulos, los ajustes discrepan notablemente de los datos experimentales. En la Tabla 5.5 se muestran las fracciones de volumen ϕ_{ajuste} , así como la carga efectiva Z_{ef} utilizados como parámetros de ajuste. La fracción de volumen calculada a partir de la fracción en peso de fosfolípido se nota como ϕ_{dil} . El acuerdo entre ambos valores es claro. En la Tabla sólo se muestran los datos de aquellas muestras donde el pico principal de $S(q)$ se sitúa en la ventana experimental de vectores de onda. Las dos dispersiones más concentradas ($\phi_{dil} = 0.075$ y $\phi_{dil} = 0.010$) presentan el máximo a valores mayores de q , por lo que es imposible conocer su altura y posición.

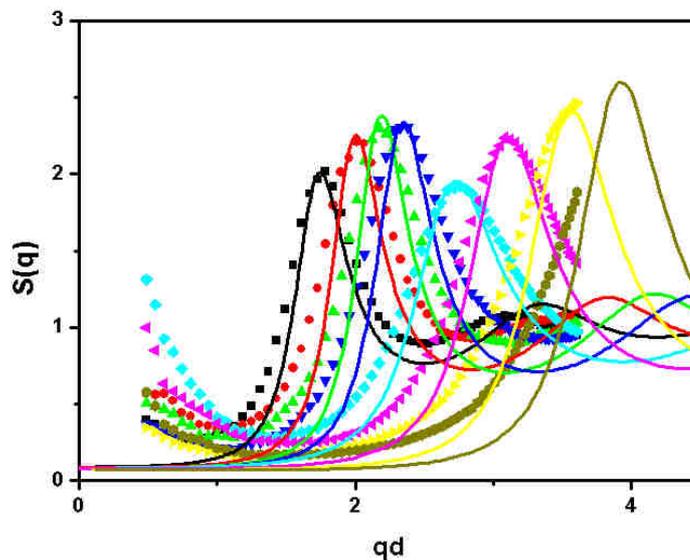


Figura 5.13.- Factores de estructura a distintas fracciones de volumen para el sistema L1 (fracciones de volumen crecientes de izquierda a derecha). Símbolos: datos experimentales, Líneas: ajustes teóricos con la aproximación HNC.

<i>Muestra L1</i>	ϕ_{dil}	ϕ_{ajuste}	Z_{ef}	S_{max}
A	0.0083	0.0085	450	1.97
B	0.013	0.013	450	2.20
C	0.017	0.017	450	2.29
D	0.022	0.021	400	2.33
E	0.033	0.033	250	1.93
F	0.050	0.049	250	2.23

Tabla 5.5.- Descripción de las dispersiones L1: Fracción de volumen estimada a partir de la fracción en peso de fosfolípido ϕ_{dil} , fracción de volumen utilizada como parámetro de ajuste de $S(q)$ ϕ_{ajuste} , carga efectiva Z_{ef} , y altura del máximo principal de $S(q)$ S_{max} .

Sistema L2

En esta sección se proporcionan los factores de estructura $S(q)$ y sus correspondientes ajustes para el sistema L2, donde los liposomas están compuestos por un 25% de fosfatidilserina y 75% de fosfatidilcolina. Los factores de estructuras experimentales se muestran en la gráfica 5.14 junto con los ajustes teóricos. La descripción de las dispersiones estudiadas, salvo las tres muestras más concentradas se muestran en la Tabla 5.6. Al contrario del sistema L1, los factores de estructura teóricos han sido calculados con la misma carga efectiva, 350 electrones por liposoma, para todas las concentraciones.

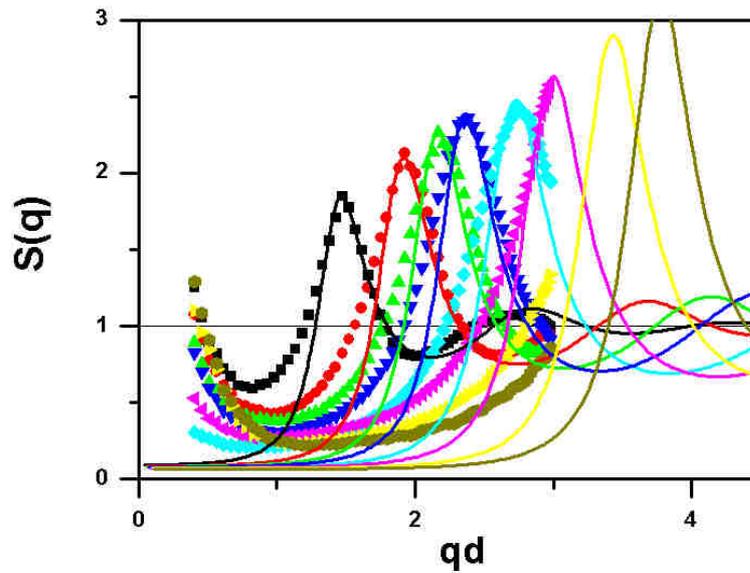


Figura 5.14.- Factores de estructura a distintas fracciones de volumen para el sistema L2 (fracciones de volumen crecientes de izquierda a derecha). Símbolos: datos experimentales, Líneas: ajustes teóricos con la aproximación HNC.

<i>Muestra L2</i>	$\phi_{\text{aíl}}$	ϕ_{ajuste}	Z_{ef}	S_{max}
A	0.0072	0.0050	350	1.85
B	0.0116	0.0101	350	2.13
C	0.0145	0.0165	350	2.27
D	0.0193	0.0215	350	2.37
E	0.029	0.033	320	2.61

Tabla 5.6.- Descripción de las dispersiones L2.

Sistema L3

A continuación, se presentan los factores de estructura estáticos de los sistemas constituidos por 50% de PS y 50% de PC. En la gráfica 5.15 aparecen los factores de estructura estáticos experimentales (símbolos) medidos con dispersión de luz estática para fracciones de volumen crecientes. Con líneas continuas se representan los ajustes teóricos de las curvas experimentales aplicando la aproximación HNC.

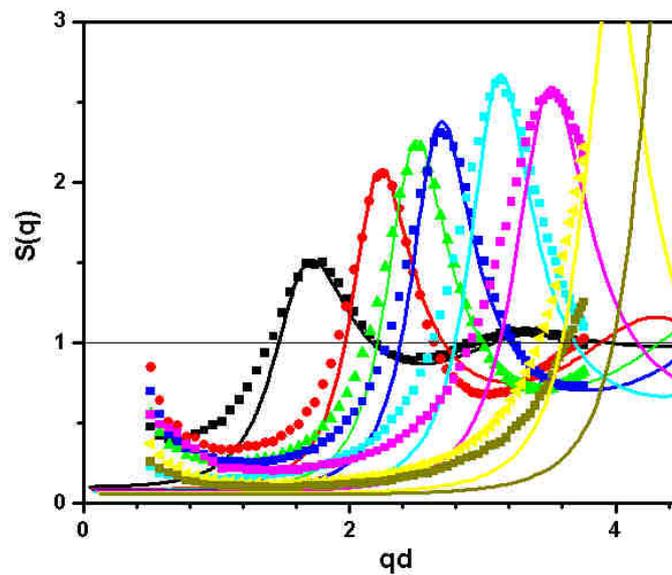


Figura 5.15.- Factores de estructura experimentales medidos con dispersión estática de luz (símbolos). Las líneas continuas se obtuvieron ajustando los $S(q)$ experimentales con la aproximación HNC. De izquierda a derecha, la figura muestra los resultados para fracciones de volumen crecientes del sistema L3.

En este caso observamos que el acuerdo entre las dos fracciones de volumen ϕ_{dil} y ϕ_{ajuste} no es tan bueno. Las fracciones de volumen resultantes de los ajustes ϕ_{ajuste} son, en general, mayores que las calculadas a partir de la cantidad de fosfolípido ϕ_{dil} . Las cargas efectivas utilizadas en los ajustes oscilaron entre 280 y 350 electrones por partícula.

<i>Muestra L3</i>	ϕ_{dil}	ϕ_{ajuste}	Z_{ef}	S_{max}
A	0.0089	0.0077	280	1.51
B	0.014	0.018	350	2.05
C	0.018	0.025	350	2.23
D	0.024	0.032	350	2.33
E	0.036	0.052	350	2.64
F	0.054	0.071	290	2.55

Tabla 5.7.- Descripción de las dispersiones L3.

Sistema L4

Los factores de estructura experimentales del sistema L4 se exponen en la figura 5.16 junto con los ajustes teóricos. Para estas dispersiones, formadas por el 75% de fosfolípido cargado y 25% de fosfolípido neutro, la estructuración no es tan acusada. Las cargas efectivas empleadas son de 165 electrones, cantidad claramente inferior a la del resto de sistemas estudiados. En esta ocasión, la muestra F posee un factor de estructura cuya altura máxima es visiblemente menor que la muestra E más diluida.

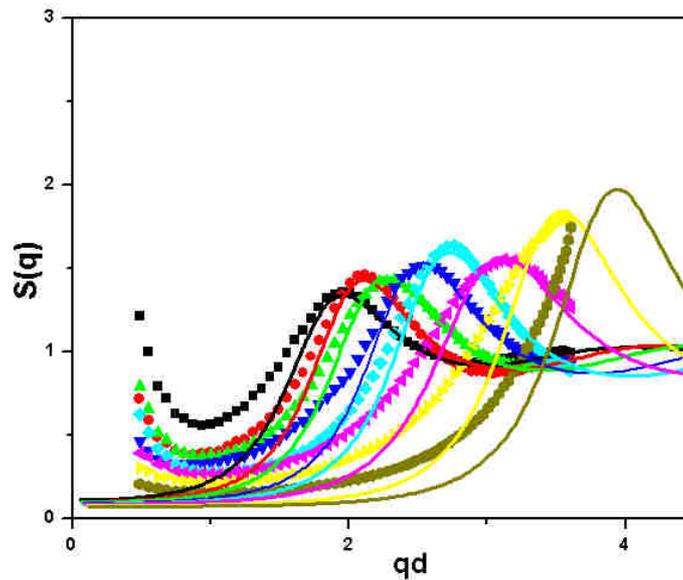


Figura 5.16.- Factores de estructura experimentales medidos con dispersión estática de luz (símbolos). Las líneas continuas se obtuvieron ajustando los $S(q)$ experimentales con la aproximación HNC. De izquierda a derecha, la figura muestra los resultados para fracciones de volumen crecientes del sistema L4.

<i>Muestra L4</i>	ϕ_{aii}	ϕ_{ajuste}	Z_{ef}	S_{max}
A	0.0083	0.011	165	1.36
B	0.011	0.014	175	1.46
C	0.013	0.018	165	1.44
D	0.017	0.025	165	1.51
E	0.022	0.032	165	1.63
F	0.033	0.047	140	1.55
G	0.050	0.072	165	1.81

Tabla 5.8.- Descripción de las dispersiones L4.

Sistema L5

El sistema más cargado, L5, como ya se vió en la sección experimental anterior es la muestra menos estructurada. La disminución de las correlaciones entre las partículas se observa en la disminución generalizada de la altura del pico principal de $S(q)$. Las cargas efectivas, en este caso, son menores que en los sistemas anteriores. Otro fenómeno llamativo es la desaparición del aumento de $S(q)$ a bajos ángulos.

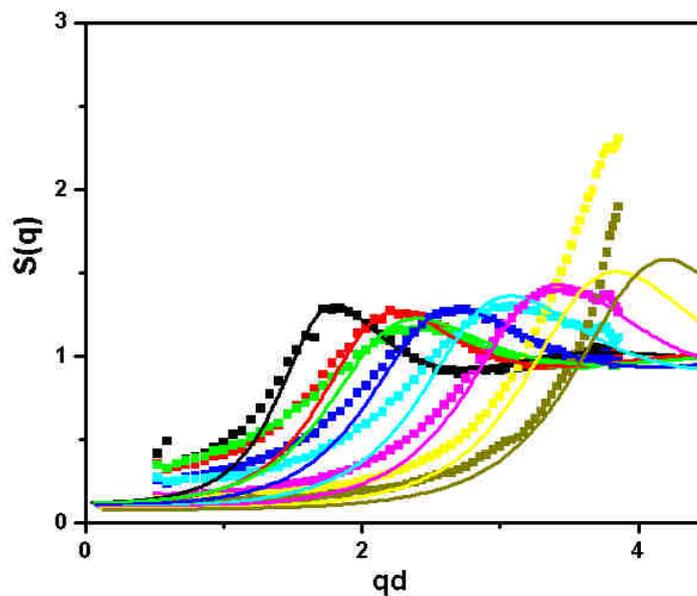


Figura 5.17.- Factores de estructura experimentales medidos con dispersión estática de luz (símbolos). Las líneas continuas se obtuvieron ajustando los $S(q)$ experimentales con la aproximación HNC. De izquierda a derecha, la figura muestra los resultados para fracciones de volumen crecientes del sistema L5.

En este tipo de dispersiones, compuestos únicamente por fosfatidilserina, el factor de estructura decae monótonamente conforme disminuye el vector de onda. El acuerdo entre teoría y experimento se ve mejorado, aunque aún las curvas experimentales a bajos ángulos siguen siendo mayores que los ajustes teóricos.

<i>Muestra L5</i>	ϕ_{ail}	ϕ_{ajuste}	Z_{ef}	S_{max}
A	0.009	0.008	190	1.29
B	0.015	0.016	130	1.27
C	0.019	0.019	110	1.21
D	0.025	0.028	110	1.28
E	0.038	0.044	110	1.30
F	0.057	0.062	110	1.41

Tabla 5.9.- Descripción de las dispersiones L5.

5.2.2.- Discusión de los resultados

El análisis de los factores de estructura pone de manifiesto la naturaleza repulsiva de las suspensiones analizadas, que claramente difieren del comportamiento de esfera dura. A la vista de los resultados, se observa como la ordenación espacial de los sistemas tratados disminuye conforme aumenta el número de fosfolípidos cargados que componen los liposomas. Los factores de estructura teóricos, calculados mediante ecuaciones integrales con la aproximación HNC, ajustan razonablemente la posición y altura del pico principal de $S(q)$ en todos los casos. Los ajustes no pueden reproducir el comportamiento de los factores de estructura

experimentales a bajos ángulos. La inusual subida de los factores de estructura a bajos ángulos está presente en todos los sistemas menos en las dispersiones L5, que poseen una composición homogénea, es decir, están formados por un único tipo de fosfolípidos.

5.2.2.1.- Distancia media de separación entre las partículas

La dependencia de q_{max} con ϕ está determinada por la repulsión electrostática entre las partículas. El valor máximo de la distancia media de separación entre las partículas d_{inter} viene dado por la distancia geométrica promedio $\propto n^{-1/3}$. Cuando el alcance de las interacciones directas es comparable a $n^{-1/3}$, d_{inter} será igual al límite geométrico y $q_{max} \propto 2\pi n^{-1/3}$. Así, por ejemplo, en sistemas relativamente concentrados constituidos por partículas que interaccionan como esferas duras la distancia de separación media entre las partículas es aproximadamente igual a su diámetro. En la figura 5.18 se han representado para todos los sistemas (L1, L2, L3, L4 y L5) la distancia promedio de separación entre las partículas en unidades de diámetro de partícula d_{inter}/d en función de la fracción de volumen ϕ . La distancia promedio experimental se calcula directamente a partir de la posición del pico principal de $S(q)$, q_{max} . Las líneas representan la distancia geométrica promedio entre las partículas multiplicada por una constante arbitraria. Las constantes de proporcionalidad que acompañan a $2\pi n^{-1/3}$ son: 0.9 (L1), 0.87 (L2), 0.83 (L3), 0.82 (L4) y 0.88 (L5). Los sistemas L1 y L5 (el menos y el más cargado, respectivamente) poseen los prefactores más cercanos a uno, que se traduce en una mayor separación entre las partículas, es decir, las interacciones aparentan ser de mayor alcance y las partículas permanecen más alejadas. Por el contrario, en los sistemas con cargas

intermedias, L2, L3 y L4, la distancia promedio de separación está más alejada del límite geométrico y son precisamente estas dispersiones las que muestran un mayor desacuerdo entre las fracciones de volumen ϕ_{ajuste} y ϕ_{dil} . Las fracciones de volumen obtenidas a partir de la posición del pico principal de los factores de estructura son ligeramente mayores que las calculadas a partir del criterio de dilución, por lo que estos sistemas muestran concentraciones efectivas mayores. En todos los casos, los valores utilizados son muy parecidos a los encontrados por otros autores en sistemas cargados: 0.85 [Brown1975], 0.89 [Robert2001]. La dependencia entre el vector de onda donde se localiza el máximo del factor de estructura q_{max} y la fracción de volumen sugieren que las muestras desionizadas forman estructuras expandidas donde las partículas se sitúan a una distancia máxima.

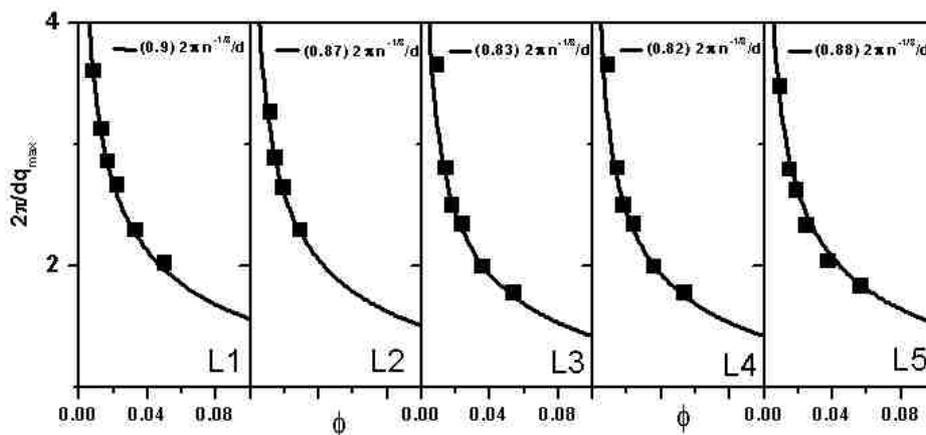


Figura 5.18.- Distancia de separación media entre partículas $2\pi/d q_{max}$ en unidades de diámetro de partícula en función de la fracción de volumen para los sistemas L1, L2, L3, L4 y L5 (cuadrados, datos experimentales). La línea continua es igual a la distancia geométrica promedio entre las partículas, $n^{-1/3}$ multiplicada por una constante arbitraria (ver texto).

5.2.2.2.- Comportamiento de $S(q)$ a valores pequeños del vector de onda

El aumento de los factores de estructura a pequeños valores de q es un síntoma de la presencia de heterogeneidades en la densidad en el seno de las disoluciones y ha sido encontrado en otros sistemas que presentan una contribución atractiva en el potencial. Sin embargo, en sistemas cargados este fenómeno es muy llamativo. Las heterogeneidades podrían ser causadas por agregados, que dispersan luz preferencialmente a bajos ángulos. Sin embargo, esta hipótesis no es muy probable puesto que el valor de $S(0)$ debería crecer monótonamente con la concentración de partículas [Nägele1996], fenómeno que no ocurre. La posibilidad de que la dispersión múltiple sea la causante de este aumento tampoco la encontramos factible y se ha descartado después de las comprobaciones descritas en el Capítulo 4. Además, si esto fuera cierto, la subida debería estar presente en el sistema L5, puesto que se midieron a las mismas concentraciones y los liposomas presentan propiedades ópticas similares. Una de las posibilidades que se podrían manejar es que la heterogeneidad en carga de la superficie sea la causante de la aparición de una atracción adicional. El sistema compuesto exclusivamente por fosfatidilserina no muestra este fenómeno y es precisamente un sistema donde los liposomas son químicamente homogéneos. También relacionado con la heterogeneidad en carga, se ha probado que en el caso de sistemas que presentan una polidispersidad en carga adicional a la relacionada con la polidispersidad en tamaños, el factor de estructura a pequeños valores de q sufre un aumento considerable [D'Aguzzo1991]. En la figura 5.19 aparecen dos factores de estructura. En un caso se ha supuesto que la polidispersidad es despreciable (línea continua) y en el otro se ha considerado una polidispersidad en carga del 60% (línea discontinua), donde se puede apreciar el aumento mencionado a

pequeños valores de q . Esta polidispersidad en carga se debería a la distribución no homogénea de fosfolípidos cargados entre los distintos liposomas [Haro-Pérez2003] ocasionado por un reparto no homogéneo entre los liposomas de los dos tipos de fosfolípidos durante el proceso de síntesis. No obstante, sólo podemos hablar de posibilidades, pero sin llegar a ninguna conclusión.

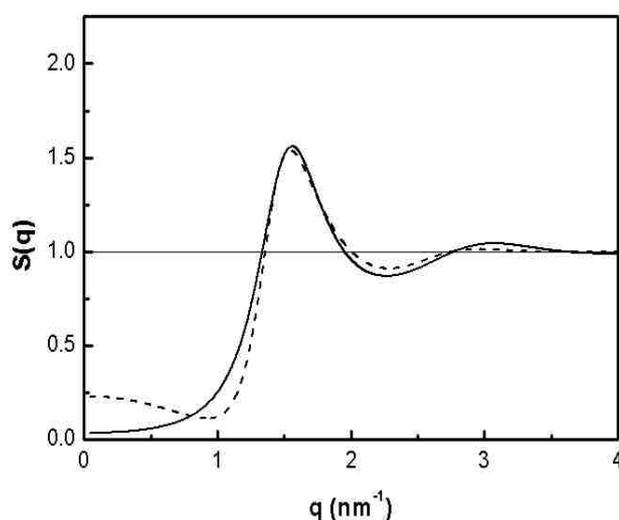


Figura 5.19.- Factores de estructura teóricos calculados con la aproximación HNC para una muestra monodispersa (línea continua) y suponiendo un 60% de polidispersidad en carga (línea discontinua) para una concentración de partículas en torno a $1.25 \cdot 10^{19}$ partículas/ m^3 .

Algunos trabajos, tanto teóricos como experimentales, plantean que en sistemas cargados a bajas fuerzas iónicas y suficientemente concentrados, las interacciones a varios cuerpos pueden ser importantes [Russ2002]. La contribución de las interacciones a tres cuerpos es modelada con un potencial de tipo Yukawa atractivo, y

plantean que el potencial total efectivo a pares se puede expresar como la suma de dos potenciales de tipo Yukawa, un repulsivo debido a las repulsiones a pares y el segundo de naturaleza atractiva que representa la contribución de las interacciones a 3 cuerpos. Carbajal-Tinoco [Carbajal-Tinoco2002], invirtiendo los factores de estructura obtenidos con la aproximación de Zerah-Hansen obtuvo un potencial efectivo de interacción entre partículas de igual carga que exhibe un mínimo. Los sistemas donde se mostraba la aparición de este mínimo poseían características similares a las de nuestras muestras.

Otro posible origen de la atracción entre liposomas se puede encontrar en el trabajo de Sheng y col. [Sheng2004]. Ellos sostienen que en el caso de emulsiones, las fluctuaciones de los iones pueden generar una interacción dipolar de carácter atractivo que, a cortas distancias, es más intensa que la barrera electrostática. En cualquier caso, esta explicación no podría aplicarse al caso de los látex donde también se observa una subida de $S(q)$ a bajos ángulos en algunas de las muestras. En resumen, hemos recogido varias hipótesis que podrían explicar el comportamiento a bajos ángulos de los factores de estructura experimentales, pero para extraer conclusiones sería necesario realizar más estudios.

Capítulo 6

Propiedades Dinámicas

La dinámica de los sistemas coloidales posee rasgos distintivos que contrastan con la de los sistemas atómicos o moleculares. Estas diferencias se deben al papel tan decisivo que el medio dispersor ejerce sobre la difusión de las partículas. Las propiedades difusivas y viscoelásticas de las dispersiones coloidales dependen de la relación entre las interacciones directas y las hidrodinámicas. La relación entre ambas interacciones no está hoy día totalmente establecida a pesar de la importancia que representan desde un punto de vista tanto teórico como tecnológico. La escasez de estudios se debe principalmente a dos razones: Por un lado, teóricamente, este problema es de enorme complejidad porque se trata de un problema a varios cuerpos, similar al movimiento de los átomos en un líquido pero con la dificultad añadida de las interacciones hidrodinámicas transmitidas por el medio dispersor. Además, estas interacciones son de largo alcance y su naturaleza es a varios cuerpos. Por otro lado, experimentalmente, las técnicas de dispersión de luz limitan el intervalo de concentraciones que se pueden usar con lo que la fracción de volumen de las muestras analizadas no se puede aumentar arbitrariamente. Así, a concentraciones de partículas relativamente pequeñas, los fenómenos

de dispersión múltiple empiezan a ser importantes, por lo que las medidas de dispersión de luz dejan de ser fiables. Una forma de superar estas limitaciones es aumentar el índice de refracción del medio dispersor, con lo que se disminuye el contraste disolvente-partícula [Philipse1988]. Este método posee el inconveniente de que la composición del disolvente ha de ser manipulada y, por consiguiente, la química superficial de las partículas es alterada. Así, existen trabajos sobre interacciones hidrodinámicas de dispersiones coloidales pero usando como medio de dispersión disolventes orgánicos [Phalakornkul1996], [Härtl2000], [Riese2000]. En nuestro caso, como el índice de refracción de los liposomas es tan parecido al del agua, no necesitamos disolventes orgánicos y ha sido posible medir dispersiones acuosas de liposomas hasta concentraciones en torno al 10% en fracción de volumen sin necesidad de modificar la composición del sistema.

En este capítulo se muestran resultados relacionados con la dinámica browniana de liposomas en dispersiones correlacionadas, cuyos factores de estructura fueron analizados en el Capítulo 5.

A partir de medidas angulares del coeficiente de difusión efectivo a tiempos cortos mediante dispersión de luz dinámica (DLS), junto con los factores de estructura medidos con dispersión de luz estática (SLS), se evalúan las funciones hidrodinámicas de las suspensiones.

La parte última de este capítulo se dedica al estudio del diagrama de fases de los distintos sistemas, pero en especial, el del sistema L3, a partir del análisis de la dinámica s a tiempos largos.

6.1.- Factor de estructura dinámico

Las figuras 6.1 y 6.2 muestran funciones de dispersión intermedias determinadas por DLS. En la figura 6.1 se comparan las funciones de correlación a un mismo vector de onda pero a distintas fracciones de volumen del sistema L3. Como se puede observar, la pendiente inicial disminuye conforme el sistema es más denso, es decir, las partículas difunden más lentamente al aumentar la fracción de llenado.

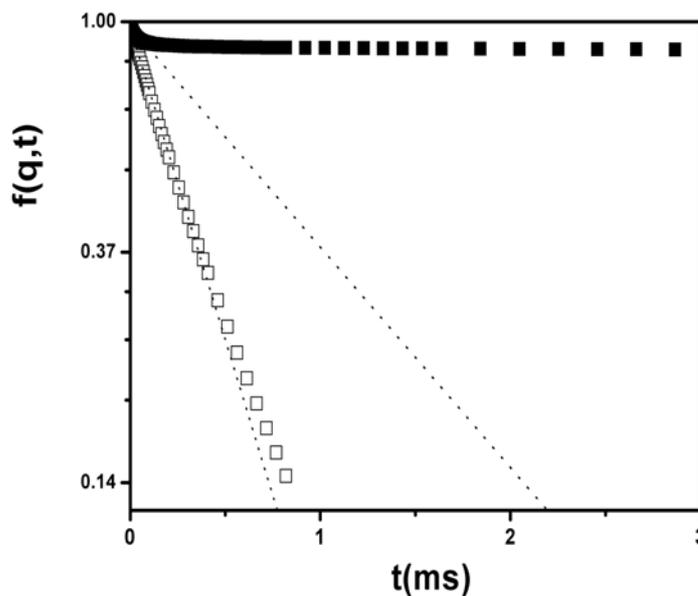


Figura 6.1.- Función de dispersión intermedia normalizada medida por DLS para una suspensión de liposomas a una fracción de volumen del 0.7% (cuadrados huecos) y al 8% (cuadrados rellenos) para $q=0.0207 \text{ nm}^{-1}$. Las líneas punteadas representan el decaimiento inicial de la función de dispersión intermedia.

En la figura 6.2 se distinguen las funciones de correlación de una muestra desionizada y una no desionizada a la misma concentración de partículas (muestra L1-A). La función de correlación de la muestra desionizada se aleja más de un decaimiento exponencial y su caída inicial es más lenta (a ese vector de onda) que en el caso de la muestra no desionizada. Este comportamiento indica que, aunque la fracción de volumen sea la misma, el sistema desionizado donde el alcance de las interacciones directas es mayor se comporta aparentemente como un sistema más denso [Nägele1996].

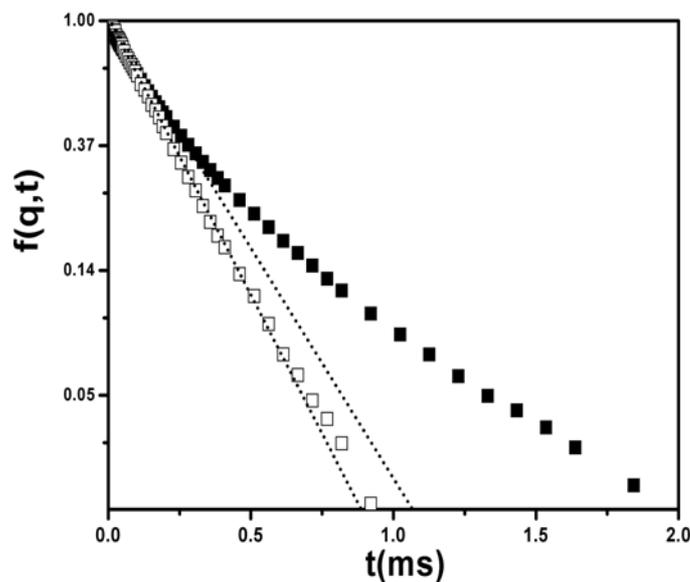


Figura 6.2.- Función de dispersión intermedia normalizada medida por DLS para una dispersión de liposomas al 1% sin desionizar (cuadrados rellenos) y desionizada (cuadrados huecos). El vector de onda es $q=0.0232 \text{ nm}^{-1}$. Las líneas punteadas representan el decaimiento inicial de la función de dispersión normalizada.

En ambos casos, al aumentar la correlación entre las partículas, bien disminuyendo la distancia de separación promedio al concentrar (Fig 6.1), bien ampliando el alcance del potencial al eliminar los iones que apantallan la interacción electrostática (Fig 6.2), se observa que la función de correlación se desvía de la relajación exponencial.

Las desviaciones de $f(q,t)$ de un decrecimiento exponencial se deben a efectos de memoria (ver ecuación 2.31) que son los dominantes para tiempos mayores al tiempo de relajación estructural, tal y como se discutió en la sección 2.3.2.

Por ahora nos centraremos en el comportamiento a tiempos cortos, caracterizados por $t \ll \tau_d$. El comportamiento a tiempos cortos viene cuantificado por el primer cumulante que se obtiene ajustando la función de correlación a una exponencial simple decreciente. De esta manera, se consigue una primera estimación. Como vimos en la teoría de dispersión de luz, incluso a tiempos cortos existen desviaciones del comportamiento exponencial y es más exacto seguir el método de los cumulantes hasta un polinomio de orden 2.

$$\ln[f(q,t)] = \Gamma_0 + \Gamma_1 t + \Gamma_2 t^2 \quad (6.1)$$

El análisis por cumulantes de las funciones de dispersión proporciona los resultados presentados en la gráfica 6.3.

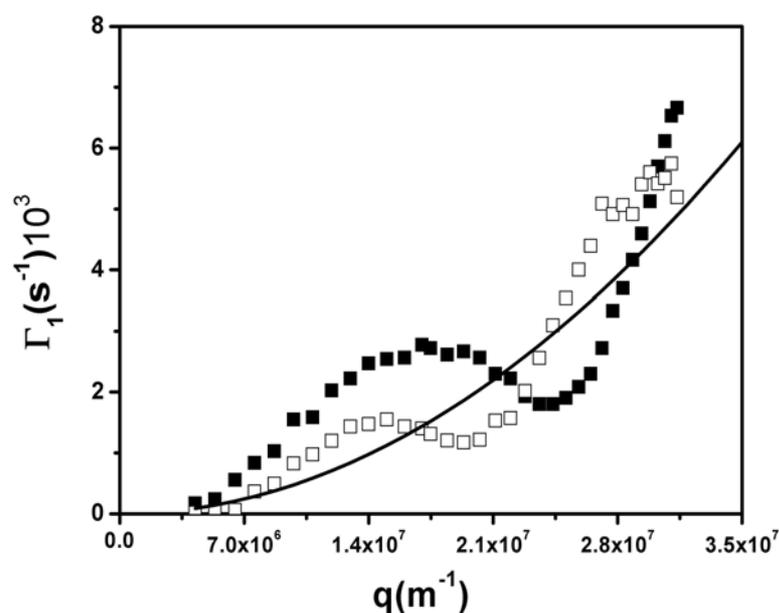


Figura 6.3.- Primer cumulante de las funciones de correlación de dos dispersiones de liposomas al 1.16%, L2-B (símbolos huecos) y 1.93%, L2-C (símbolos rellenos) en fracción de volumen. La línea continua representa la dependencia angular del primer cumulante en el caso de un sistema diluido: $\Gamma_1 = D_0 q^2$.

La dependencia de este coeficiente con el vector de onda es notoria. La línea continua representa el primer cumulante de una muestra diluida que, como vimos en el Capítulo 3, depende linealmente con el cuadrado del vector de dispersión ya que el coeficiente de difusión es independiente de q , $\Gamma_1 = D_0 q^2$ con D_0 la constante de difusión de Stokes-Einstein. La desviación de este comportamiento da cuenta de la presencia de correlaciones entre las partículas, como se pudo comprobar en los estudios de las propiedades estructurales de estos sistemas. En ambas muestras se observa un

mínimo en el coeficiente de relajación que se desplaza a la derecha conforme aumenta la concentración de partículas, tal y como ocurre con el máximo principal del factor de estructura estático. La dependencia angular se estudiará detalladamente en el siguiente apartado.

6.2.- Dinámica a tiempos cortos

Antes de iniciar la presentación de los resultados, es conveniente definir qué se entiende por tiempos cortos ($t \ll \tau_a$). En la práctica este régimen se puede diferenciar del análisis a tiempos largos realizando la siguiente representación, figura 6.4, donde se muestra en escala doblemente logarítmica el logaritmo neperiano de la función de dispersión intermedia frente al tiempo de correlación.

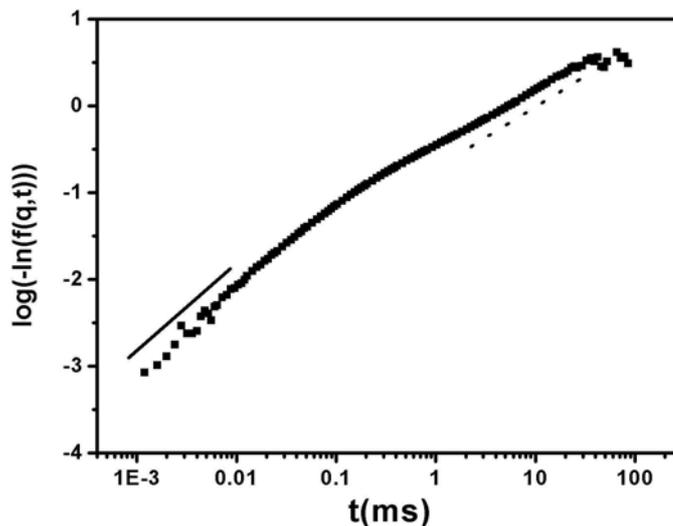


Figura 6.4.- $\text{Log}(-\ln(f(q,t)))$ en función de $\log(t)$ del sistema L3 a 1.4% en fracción de volumen medido a un ángulo de dispersión de 40° .

En la ilustración se observa claramente la transición entre el movimiento difusivo de las partículas antes de interactuar con las partículas vecinas, difusión en la celda formada por las partículas adyacentes (línea continua), y el nuevo régimen lineal (línea discontinua) definido por el coeficiente de difusión a tiempos largos donde la difusión de las partículas es producto del efecto promedio de consecutivas interacciones con las partículas circundantes.

6.2.1.- Coeficiente de difusión efectivo

La ecuación (3.36) nos informa de la posibilidad de determinar la función hidrodinámica a partir de las medidas de $S(q)$, D_0 y el coeficiente de difusión efectivo a tiempos cortos $D_{\text{ef}}(q)$. Este último se obtiene ajustando la caída inicial de las funciones de correlación del campo, o función de dispersión intermedia, tal y como se describió en 3.3.2 a partir de la expresión

$$f(q, t) = e^{-\Gamma(q)t} \quad \text{donde } \Gamma(q) = D_{\text{ef}}(q)q^2 \quad (6.2)$$

En la siguiente figura, 6.5, se muestran varias funciones de correlación medidas a distintos ángulos. Los tiempos de relajación obtenidos de los ajustes se muestran proyectados en la parte superior. Los símbolos representan los tiempos de relajación característicos, $\tau = \Gamma^{-1}$. En la figura se aprecia como la relajación de las funciones de correlación es más rápida conforme aumenta el vector de dispersión, y sigue aproximadamente una dependencia con q^2 . Sin embargo, a valores intermedios del vector de dispersión, se observan claras desviaciones respecto al caso diluido donde el sistema muestra tiempos de relajación mayores. Este fenómeno es una indicación de que la dinámica correspondiente a estas escalas espaciales es obstaculizada

por las interacciones entre las partículas y es tanto más pronunciado cuanto mayor es la fracción de volumen de la dispersión.

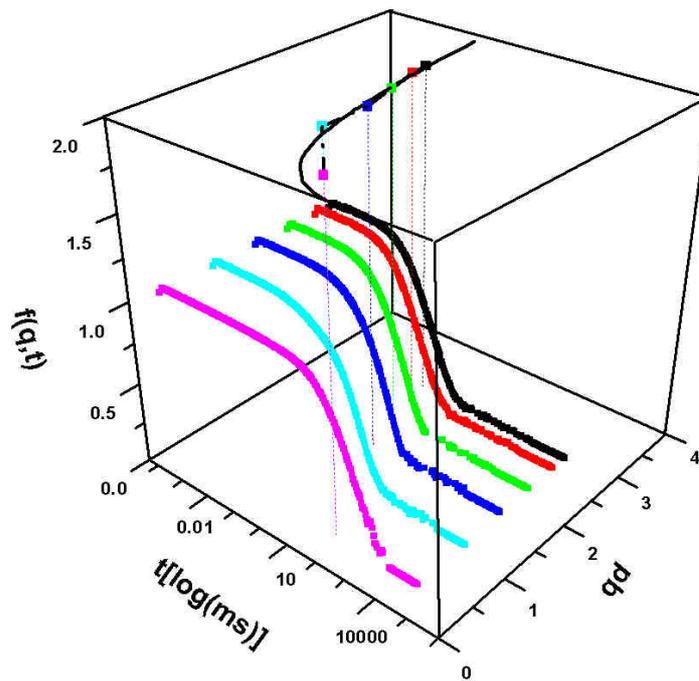


Figura 6.5.- Función de dispersión intermedia normalizada medida por DLS a distintos vectores de dispersión del sistema L2-B a una fracción de volumen del 1.16%. En la parte superior se han proyectado los tiempos de relajación característicos de cada función de autocorrelación (símbolos) junto con la dependencia angular de los tiempos de relajación de un sistema diluido (línea continua).

6.2.1.1.- Dependencia con la fracción de volumen

En la figura 6.6, aparecen las funciones de dispersión intermedias $f(q_{\max}d, t)$ medidas en el máximo del pico principal del

factor de estructura estático q_{\max} en función de tq^2 . Esta representación, la función de dispersión intermedia normalizada frente a tq^2 , permite realizar una comparación directa de la dinámica de distintas muestras ya que la pendiente coincide exactamente con el coeficiente de difusión efectivo $D_{\text{ef}}(q)$. Claramente se puede ver que al aumentar la concentración de partículas del sistema, la difusión en el máximo del factor de estructura disminuye con la concentración de partículas.

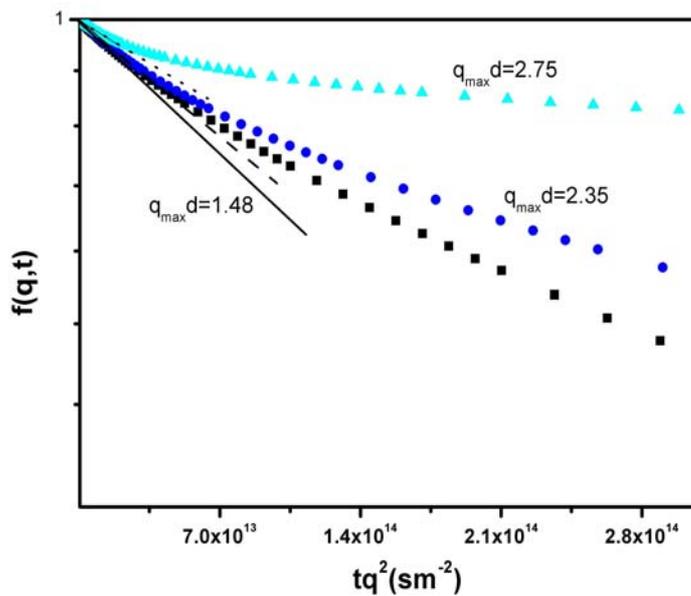


Figura 6.6.- Función de dispersión intermedia normalizada $f(q,t)$ medida por DLS en la posición del máximo del pico principal del factor de estructura estático $q_{\max}d$ para tres dispersiones del sistema L3: $\phi=0.9\%$ (cuadrados), $\phi=1.93\%$ (círculos) y $\phi=3.6\%$ (triángulos). Las líneas son los correspondientes ajustes a tiempos cortos: línea continua ($\phi=0.9\%$), línea discontinua ($\phi=1.93\%$) y línea punteada ($\phi=2.9\%$).

6.2.1.2.- Dependencia con el potencial de interacción

Incluso en sistemas muy diluidos, las dispersiones altamente cargadas a muy bajas fuerzas iónicas poseen una ordenación espacial considerable. El gran alcance del potencial de interacción entre partículas cargadas a muy bajas fuerzas iónicas permite que las partículas puedan interactuar a largas distancias. La correlación entre las partículas, responsable de la aparición de un máximo principal en $S(q)$, influye considerablemente en las propiedades difusivas del sistema (ver ecuación 3.36). La ventaja que presentan los sistemas coloides es la facilidad con la que se puede manipular el potencial de interacción entre las partículas variando, por ejemplo, la fuerza iónica. Esta peculiaridad permite estudiar, sobre un mismo sistema, la relación existente entre las propiedades estructurales y las dinámicas.

En la siguiente experiencia comprobaremos como las interacciones directas influyen de forma determinante en la dinámica de un sistema coloidal. Para ello, se realizan simultáneamente medidas del factor de estructura y del coeficiente de difusión del sistema L2 a una fracción de volumen del 0.2% y a distintas fuerzas iónicas. En primer lugar, se muestran las medidas de una muestra preparada a partir de la disolución madre por dilución. Aún sin añadir las resinas, la dispersión presenta un pico en el barrido angular de la intensidad dispersada (Fig 6.7, símbolos negros). La correlación entre las partículas se debe a que, aunque no se hayan eliminado los iones residuales con los intercambiadores iónicos, los liposomas durante su preparación fueron dispersados en agua desionizada, por lo que la fuerza iónica de las muestras sigue siendo muy pequeña. En la figura 6.8 aparecen los radios hidrodinámicos estimados a partir de medidas del coeficiente de difusión utilizando la relación de Stokes-Einstein

(ecuación 2.1), expresión ampliamente utilizada para calcular tamaños de partículas con técnicas de dispersión de luz dinámica. A la hora de determinar tamaños, veremos que esta técnica se tiene que utilizar tomando ciertas precauciones, sobre todo si se analizan sistemas vesiculares cargados o partículas cargadas con bajos índices de refracción.

A continuación, se añadió una pequeña cantidad de KNO_3 , 0.08 mM. A pesar de la baja concentración de sal, la ordenación espacial se ve claramente afectada (Fig 6.7, símbolos rojos).

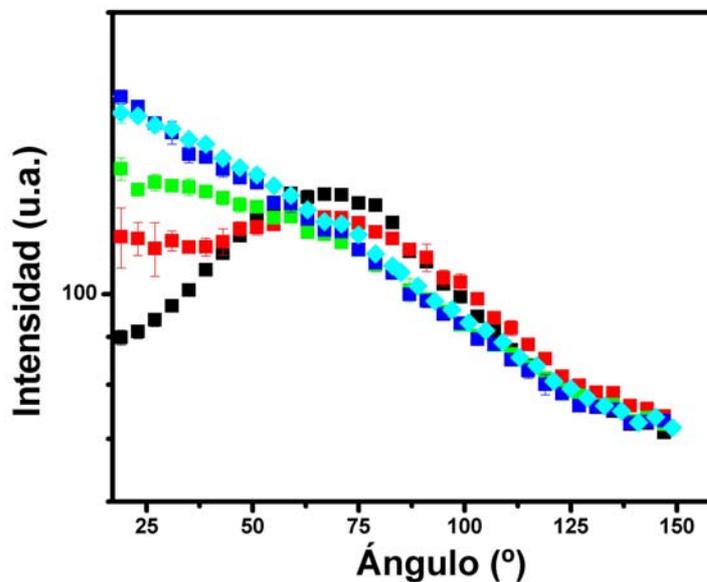


Figura 6.7.- Dependencia angular de la intensidad dispersada por una muestra al 0.2% en fracción de volumen a distintas fuerzas iónicas: 0 mM (símbolos negros), 0.08 mM (símbolos rojos), 0.24 mM (símbolos verdes), 2 mM (símbolos azules) y factor de forma (símbolos celestes).

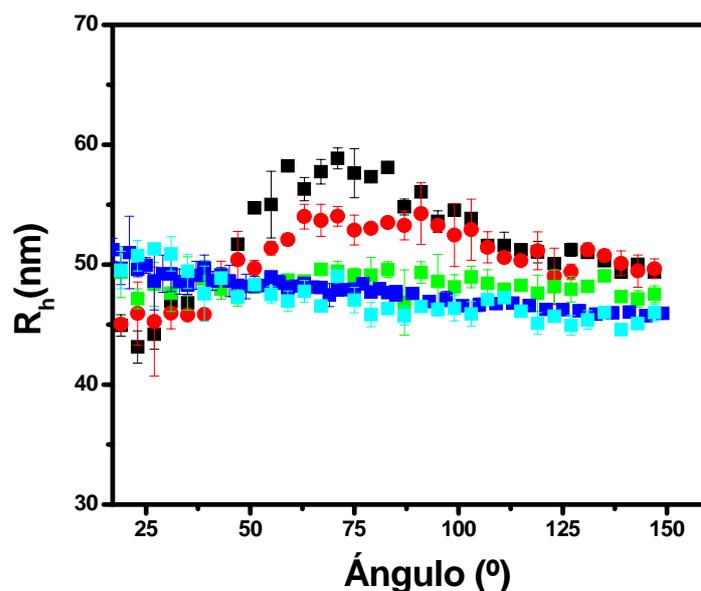


Figura 6.8.- Dependencia angular del radio hidrodinámico de una muestra al 0.2% en fracción de volumen a distintas fuerzas iónicas: 0 mM (símbolos negros), 0.08 mM (símbolos rojos), 0.24 mM (símbolos verdes), 2 mM (símbolos celestes) y factor de forma (símbolos azules).

La pérdida de correlación entre las partículas se debe a la disminución del alcance del potencial de interacción por la presencia de iones. El efecto de la configuración espacial sobre la dinámica también se detecta en el allanamiento de la dependencia angular del coeficiente de difusión (Fig 6.8 símbolos rojos). Al añadir una cantidad mayor de iones, hasta 0.24 mM, el sistema queda prácticamente desestructurado, aunque aún existen desviaciones respecto a una dispersión totalmente desordenada (Fig 6.7, símbolos verdes), desviaciones que también están presentes en las medidas

dinámicas (Fig 6.8, símbolos verdes). Finalmente, fue necesario preparar una dispersión a 2 mM (símbolos celestes) para poder recuperar el factor de forma (símbolos azules). Sólo en este caso, se observó tanto por SLS como por DLS la total desestructuración del sistema. Como vemos, la adición de tan sólo 2 mM de sal provoca variaciones en los radios hidrodinámicos en torno a 10 nm si se mide alrededor del máximo principal del factor de estructura. Este hecho ha dado lugar a equívocos en algunas ocasiones a la hora de estudiar la dependencia del tamaño de vesículas cargadas con la concentración de sal a bajas fuerzas iónicas [Claessens2003]. Si no se toman estas precauciones, el cambio observado en el coeficiente de difusión se puede atribuir erróneamente a una variación del tamaño de las vesículas, cuando en realidad lo que estamos observando es la dependencia del coeficiente de difusión efectivo con $S(q)$ y $H(q)$. En estos casos, la aplicación de la relación de Stokes-Einstein para obtener tamaños deja de ser válida. El coeficiente de difusión medido es un coeficiente de difusión efectivo y no el de difusión libre de las partículas. Por este motivo, si se quiere determinar el tamaño de una dispersión de liposomas cargados con DLS, es preciso asegurarse de que la ordenación espacial es prácticamente despreciable para así medir el coeficiente de difusión libre. Con el fin de eliminar la correlación entre las partículas se puede diluir la dispersión o apantallar el alcance de las interacciones electrostáticas añadiendo sal. La primera opción no siempre es posible porque los liposomas son muy malos dispersores y para conseguir suficiente estadística es necesario medir por encima de determinadas fracciones de volumen, en torno al 0.2%, para que el número de cuentas dispersadas detectadas sea suficiente. La opción más factible es añadir pequeñas cantidades de sal.

6.2.1.3.- Resultados Experimentales

Como hemos podido comprobar en las secciones anteriores, el factor de estructura dinámico depende tanto del potencial de interacción entre las partículas (fuerza iónica, carga superficial) como de la concentración de partículas. En este apartado se expone un estudio detallado de las propiedades difusivas en función de la fracción de volumen de algunos de los sistemas caracterizados estructuralmente en el Capítulo 5, concretamente los sistemas L1 y L2. El fin último de estas experiencias es determinar las funciones hidrodinámicas de las distintas dispersiones y comprobar los resultados experimentales obtenidos con las teorías hidrodinámicas más utilizadas en sistemas cargados para discutir su validez.

Sistema L1

Las muestras caracterizadas son las presentadas en 5.2.1. Las medidas se realizaron por DLS. En la gráfica 6.9 se muestra el comportamiento angular de los coeficientes de difusión efectivos a distintas fracciones de volumen. Las curvas experimentales exhiben una clara dependencia angular, justificada por el comportamiento de $S(q)$. De hecho, su mínimo principal se encuentra en la misma posición que el máximo del factor de estructura estático. Las medidas realizadas en el máximo de $S(q)$, prueban la dinámica del sistema a escalas espaciales comparables con la distancia de separación promedio entre partículas. A estas escalas espaciales, las partículas se encuentran rodeadas por partículas vecinas que obstaculizan su difusión, justificando así la aparición de un mínimo en el coeficiente de difusión a vectores de onda alrededor de q_{\max} .

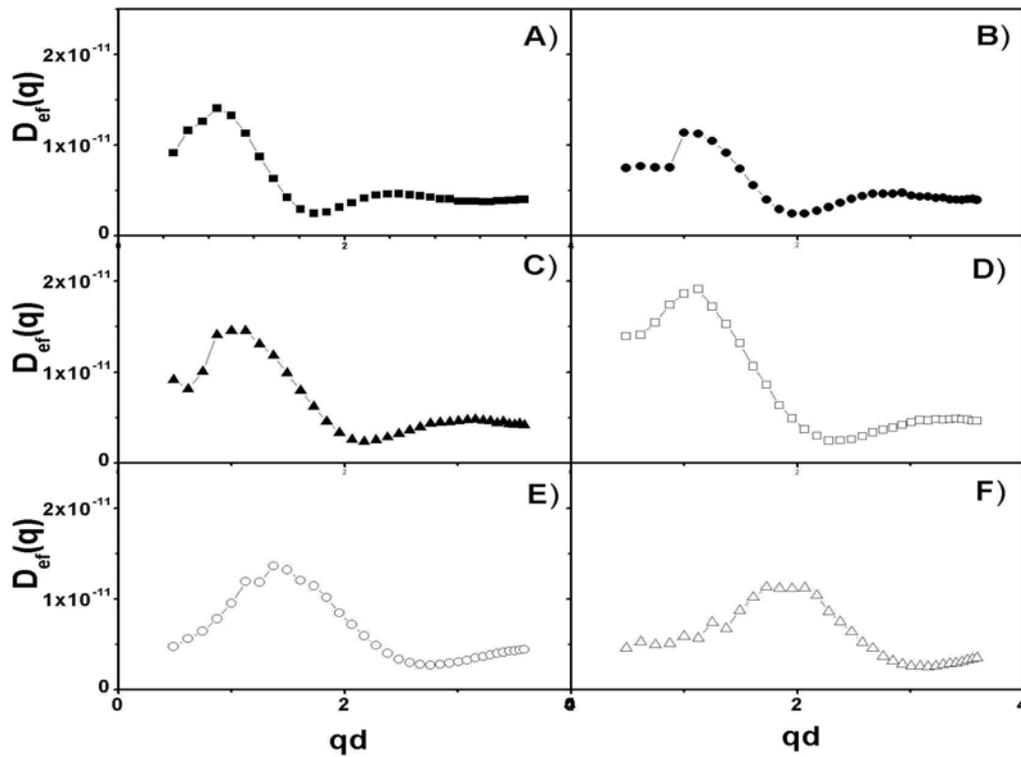


Figura 6.9.- Dependencia angular del coeficiente de difusión efectivo a distintas fracciones de volumen para el sistema L1: A) 0.83%, B) 1.3%, C) 1.7%, D) 2.2%, E) 3.3% y F) 5.0%

Para pequeños valores de q , se aprecia un aumento del coeficiente de difusión que indica una aceleración de la dinámica si se compara con la difusión libre de una partícula. A estas escalas espaciales, varias veces la separación promedio entre las partículas, el coeficiente de difusión se denomina coeficiente de difusión colectivo, D_c , puesto que se interpreta como una magnitud que da cuenta de las

propiedades dinámicas de movimientos colectivos en la misma dirección. En el régimen colectivo el movimiento de una partícula influye rápidamente en el movimiento de otras partículas situadas a grandes distancias.

Sin embargo, el fenómeno más llamativo de estos resultados es la aparición de un máximo en el coeficiente de difusión efectivo a pequeños valores de q . Este máximo siempre se presenta a un vector de onda que, en el espacio real, equivale a dos veces la distancia de separación entre partículas y que, por lo tanto, se escala con la concentración. El máximo indica la existencia de dominios de dimensiones dos veces la distancia de separación entre partículas con mayor movilidad, que darían lugar a heterogeneidades dinámicas [Kegel2000].

Para visualizar mejor las diferencias dinámicas de las muestras respecto del caso diluido se suele representar la inversa del coeficiente de difusión efectivo normalizado por el coeficiente de difusión libre $D_0/D_{\text{ef}}(q)$. En esta gráfica, figura 6.10, también se han incorporado los factores de estructura $S(q)$. Según se muestra en la ilustración, las diferencias entre $D_0/D_{\text{ef}}(q)$ y $S(q)$ son apreciables en todas las muestras. Como se apuntó en el apartado 3.3.2.1, las interacciones hidrodinámicas son las responsables de la aparición de estas diferencias. Alrededor del pico, $D_0/D_{\text{ef}}(q)$ es menor que $S(q)$ lo que implica que $H(q) > 1$ (ver ecuación 3.36), es decir, la difusión se ve favorecida por las interacciones hidrodinámicas. Sin embargo, y mayormente en el régimen colectivo, $D_0/D_{\text{ef}}(q)$ es mayor que $S(q)$ consecuencia de la ralentización provocada por las interacciones hidrodinámicas ya que para estos vectores de dispersión $H(q) < 1$. En definitiva, bien para favorecer o para dificultar la difusión, los resultados prueban la importancia de las interacciones hidrodinámicas

en todos los sistemas analizados.

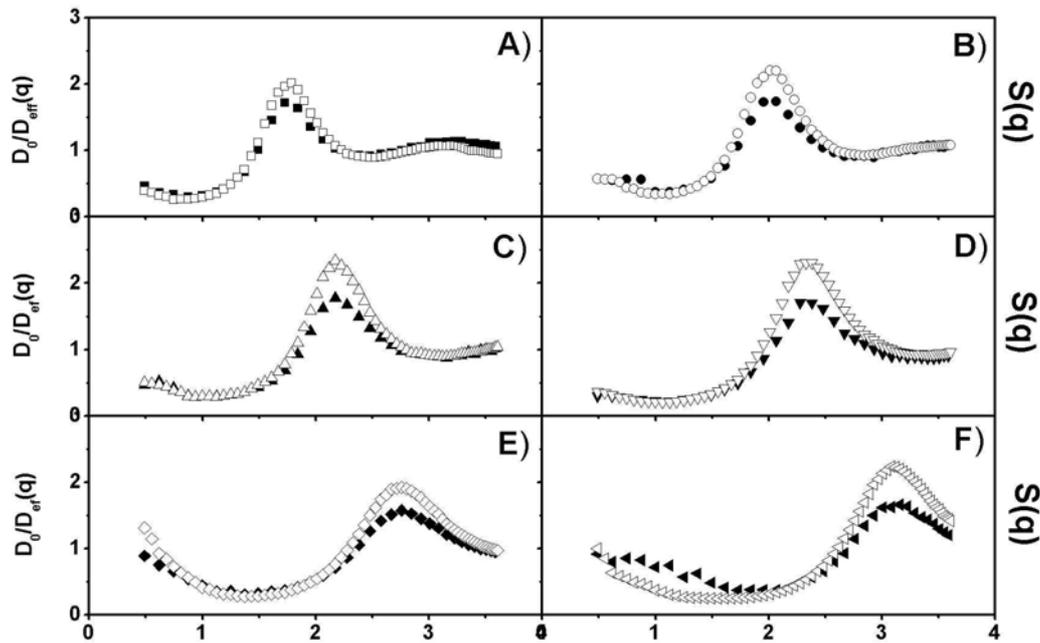


Figura 6.10.- Factor de estructura estático (símbolos huecos) y $D_0/D_{eff}(q)$ (símbolos llenos) del sistema L1 a distintas fracciones de volumen: A) 0.83%, B) 1.3%, C) 1.7%, D) 2.2%, E) 3.3% y F) 5.0%

Sistema L2

Seguidamente se presentan los resultados experimentales obtenidos para el sistema constituido por 25% de PS y 75% de PC. En la gráfica 6.11, se muestran las medidas angulares de los coeficientes de difusión efectivos obtenidos a distintas fracciones de volumen. Las

curvas experimentales encontradas son análogas a las del sistema L1. En todas ellas se puede distinguir un mínimo en el coeficiente de difusión situado alrededor del pico principal de $S(q)$, que se desplaza hacia la derecha al ir aumentando la fracción de volumen, y un máximo en el régimen colectivo.

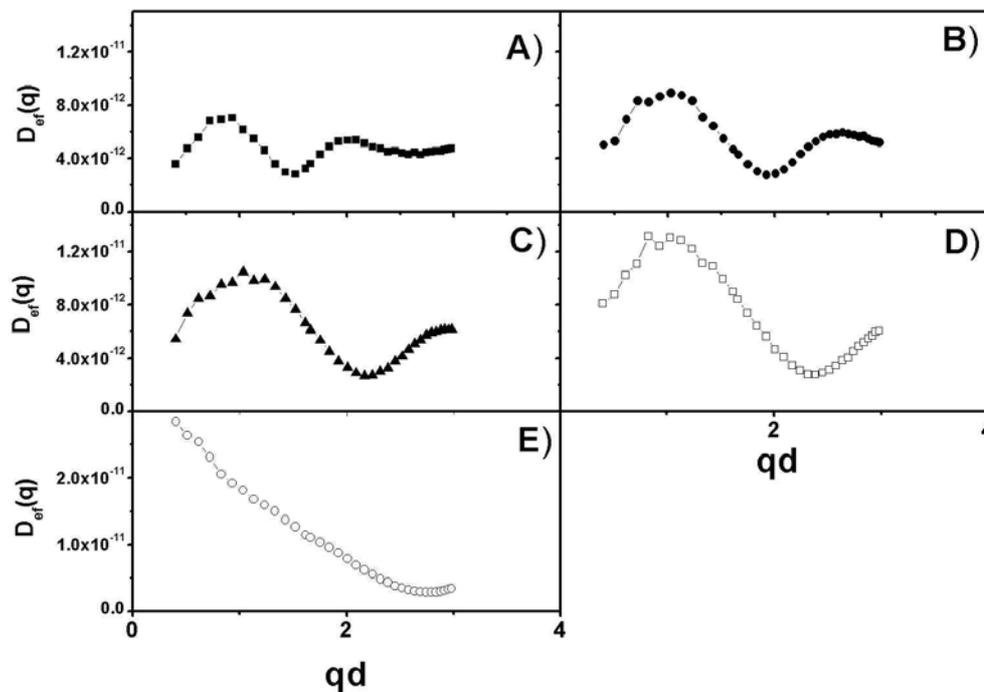


Figura 6.11.- Dependencia angular del coeficiente de difusión efectivo a distintas fracciones de volumen para el sistema L2: A) 0.72%, B) 1.16%, C)1.45%, D)1.93% y E) 2.9%.

También en esta ocasión, al representar la inversa del coeficiente de difusión efectivo normalizado por el coeficiente de difusión libre junto con el factor de estructura, mirar figura 6.12, ambas magnitudes no coinciden.

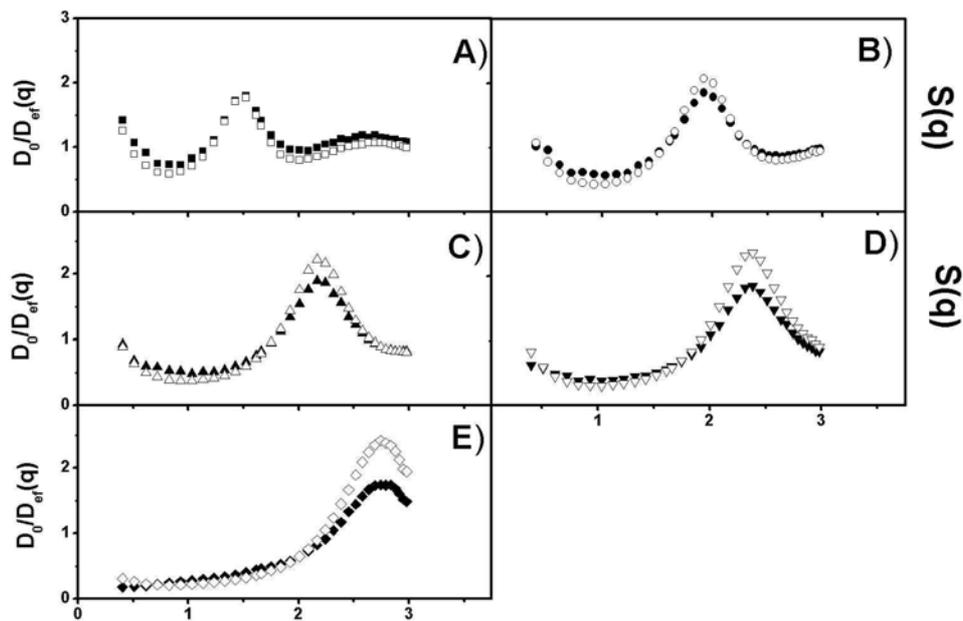


Figura 6.12.- Factor de estructura estático (símbolos huecos) y $D_0/D_{eff}(q)$ (símbolos rellenos) del sistema L2 a distintas fracciones de volumen: A) 0.72%, B) 1.16%, C) 1.45%, D) 1.93% y E) 2.9%.

En el siguiente apartado nos centraremos en estas diferencias, señal de la presencia de interacciones hidrodinámicas. Estas diferencias son tanto más acusadas cuanto mayor es la fracción de volumen del sistema y serán cuantificadas determinando las funciones hidrodinámicas.

6.2.2.- Interacciones hidrodinámicas

Una vez establecidos los factores de estructura estáticos y dinámicos de las dispersiones de liposomas, el comportamiento hidrodinámico que da cuenta de las interacciones indirectas mediadas por el fluido dispersor se puede describir cuantitativamente, sin necesidad de realizar ninguna aproximación adicional, a partir de la siguiente ecuación

$$H(q) = S(q) \frac{D_{\text{ef}}(q)}{D_0} \quad (6.3).$$

Intuitivamente se espera que las interacciones hidrodinámicas se comporten como una fuerza de fricción adicional ejercida sobre las partículas que conlleva un decrecimiento generalizado de la difusión del sistema. Además, los efectos son tanto más importantes cuanto mayor es la fracción de volumen. Estos efectos han sido observados experimentalmente en sistemas formados por partículas que interactúan como esferas duras [van Meegen1985], [Segrè1995]. Sin embargo, recientemente se ha podido comprobar que el comportamiento de dispersiones cargadas a bajas fuerzas iónicas puede ser muy diferente: en particular se ha demostrado que las interacciones hidrodinámicas pueden favorecer la difusión a ciertas escalas espaciales [Härtl1999], [Nägele1993], [Watzlawek1997], [Overbeck1999]. Claramente se observa una interconexión entre las interacciones hidrodinámicas (indirectas) y las interacciones directas. Una cuestión que aún queda por resolver es como esta relación entre las distintas interacciones afecta a la dinámica en el caso de sistemas altamente cargados y relativamente densos.

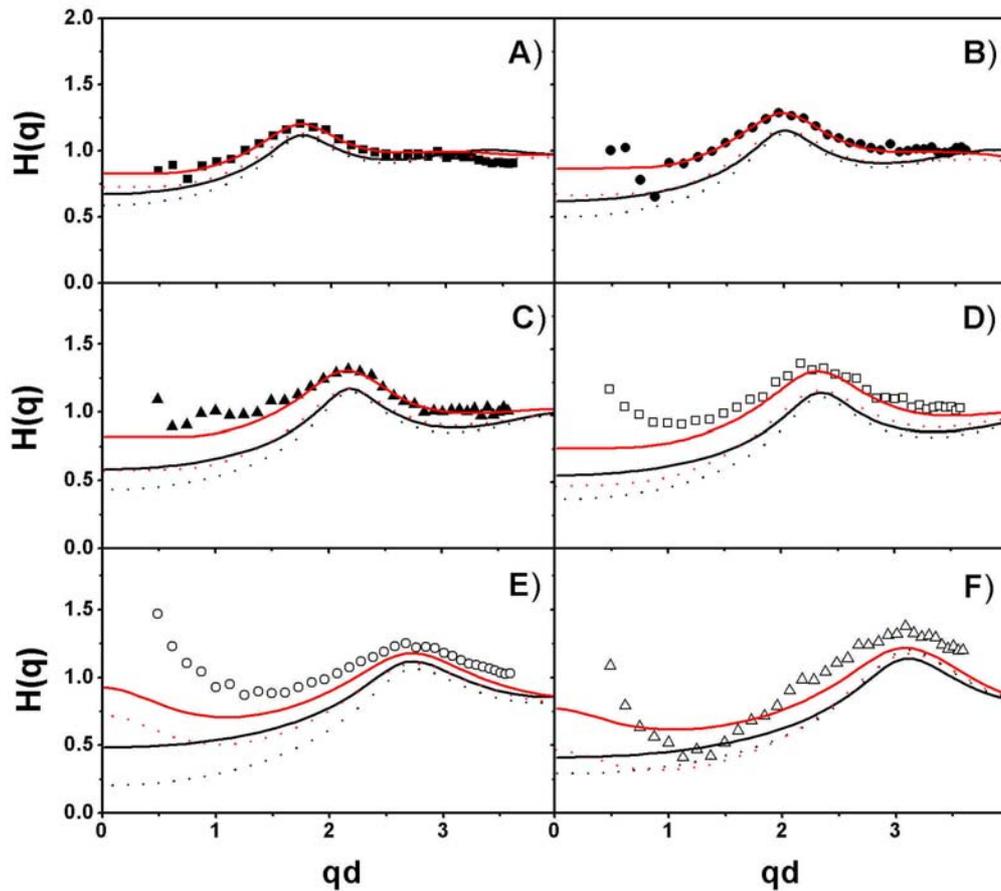


Figura 6.13.- Función hidrodinámica experimental $H(q)$ (símbolos) y distintas funciones hidrodinámicas teóricas del sistema L1 a distintas fracciones de volumen: A) 0.83%, B) 1.3%, C) 1.7%, D) 2.2%, E) 3.3) y F) 5.0%. Teoría BM con $S(q)$ teórico calculado con la aproximación HNC (línea continua negra), Teoría BM con $S(q)$ experimental (línea roja continua), Aproximación PA con $g(r)$ calculada con la aproximación HNC (línea negra discontinua), Aproximación PA con $g(r)$ estimada a partir del $S(q)$ experimental (línea roja discontinua).

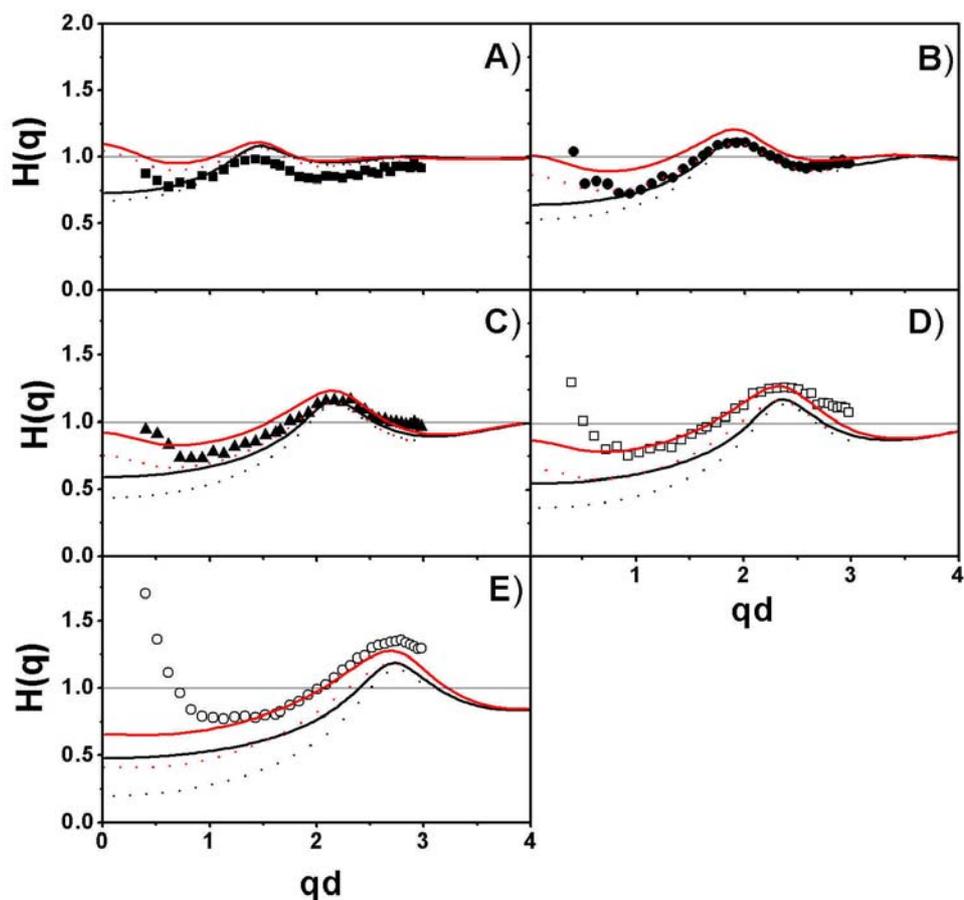


Figura 6.14.- Función hidrodinámica experimental $H(q)$ (símbolos) y distintas funciones hidrodinámicas teóricas del sistema L2 a distintas fracciones de volumen: A) 0.72%, B) 1.16%, C) 1.45%, D) 1.93% y E) 2.9%. Teoría BM con $S(q)$ teórico calculado con la aproximación HNC (línea negra continua), Teoría BM con $S(q)$ experimental (línea roja continua), Aproximación PA con $g(r)$ calculada con la aproximación HNC (línea negra discontinua), Aproximación PA con $g(r)$ estimada a partir del $S(q)$ experimental (línea roja discontinua).

Las funciones hidrodinámicas experimentales de los dos sistemas expuestos en el apartado anterior, L1 y L2, se muestran en las gráficas 6.13 y 6.14, respectivamente. Como se puede observar, la función hidrodinámica toma valores mayores y menores que uno, dependiendo del vector de dispersión. Cuando $H(q) < 1$, los efectos hidrodinámicos equivalen a una fricción adicional que dificulta la dinámica de las partículas al aumentar la fracción de volumen. Si $H(q) > 1$, como sucede alrededor del pico, la dinámica se ve favorecida por el campo de velocidades creado en el fluido.

Con el fin de realizar un análisis cuantitativo de las interacciones hidrodinámicas, los resultados experimentales se comparan con las dos teorías hidrodinámicas más utilizadas en sistemas cargados. Ambas aproximaciones, formalismo de Beenakker y Mazur (BM) y la teoría de aditividad a pares de las interacciones hidrodinámicas (PA) se explican detalladamente en el Apéndice I. La aproximación BM fue originalmente desarrollada para esferas duras [Beenakker1984] pero más tarde se adaptó con éxito a sistemas ligeramente cargados [Genz1991]. Los cálculos de las funciones hidrodinámicas teóricas se realizan como sigue. En el caso de la teoría BM, es necesario conocer $S(q)$ ya que se utiliza como parámetro de entrada para evaluar el segundo sumando del que depende $H(q)$ según aparece en Ec. I.4. En primer lugar, se calcula $H(q)$ utilizando como función de entrada el factor de estructura teórico que mejor ajusta las medidas experimentales de $S(q)$. Los $S(q)$ teóricos se calculan tal y como se explicó en el capítulo anterior resolviendo las ecuaciones de Ornstein-Zernike con la aproximación HNC y suponiendo un potencial de interacción entre las partículas repulsivo de tipo Yukawa. En las figuras 6.13 y 6.14 las funciones hidrodinámicas calculadas mediante este procedimiento se han representado en líneas negras continuas. Como se puede apreciar, las curvas teóricas así estimadas

difieren considerablemente de los datos experimentales (símbolos), sobretodo a vectores de onda pequeños. Además, cualitativamente no reproducen la forma de $H(q)$, concretamente el mínimo que aparece a bajos ángulos. Estas diferencias no sorprenden puesto que los $S(q)$ utilizados como parámetros de entrada tampoco reproducían las curvas experimentales. Luego, es previsible encontrar diferencias entre teoría y experimento si de entrada utilizamos una función que no ajusta bien los factores de estructura experimentales. Por este motivo, optamos por utilizar como función de entrada los $S(q)$ experimentales medidos por SLS. Este procedimiento evita tener que realizar hipótesis adicionales sobre el potencial de interacción entre las partículas. Las funciones hidrodinámicas así obtenidas se muestran con líneas rojas continuas. En este caso, las curvas teóricas ajustan la tendencia de los puntos experimentales y reproducen aceptablemente bien la posición y altura del máximo principal de $H(q)$. Las diferencias empiezan a ser importantes al aumentar la fracción de volumen, especialmente a bajos ángulos donde $H(q)$ aumenta sensiblemente. Análogamente, en el caso de la teoría PA, para evaluar $H(q)$ se necesita como parámetro de entrada la función de distribución radial del sistema, $g(r)$. Esta función se puede calcular a partir de $S(q)$ aplicando la ecuación I.11. Las curvas resultantes se representan con líneas discontinuas. Con líneas negras discontinuas aparecen representadas las funciones hidrodinámicas evaluadas utilizando como parámetro de entrada la función de distribución radial calculada a partir de los $S(q)$ generados teóricamente. Las diferencias entre teoría y experimento son notables e incluso mayores que en el caso de la teoría BM. En esta aproximación, también se calcula $H(q)$ utilizando como función de entrada la función de distribución radial que se obtiene invirtiendo los factores de estructura experimentales. Aquí debemos señalar que las $g(r)$ calculadas no son muy fiables puesto que a la hora de pasar del espacio de Fourier al real se presentan

ambigüedades si la función no está totalmente definida, como ocurre con los factores de estructura experimentales. Las limitaciones son de tipo experimental puesto que es imposible poseer información en todo el intervalo de vectores onda. De todas formas, aunque no se puede asegurar que las funciones de distribución así calculadas sean rigurosamente válidas, hemos optado por mostrar también en las gráficas las funciones hidrodinámicas resultantes. Llamativamente, a pesar del cuestionado procedimiento, se observa que las curvas teóricas mejoran el ajuste, las líneas rojas discontinuas reproducen bastante mejor los datos experimentales que las líneas negras discontinuas.

En resumen, a la vista de los resultados, la teoría de Beenakker y Mazur modificada para sistemas cargados es la que mejor ajusta los datos experimentales siempre y cuando se utilice como parámetro de entrada el factor de estructura experimental. No obstante, en algunos casos (especialmente en los sistemas más concentrados) aparece un ligero desplazamiento entre las curvas teóricas y las experimentales. El desplazamiento se puede deber a fallos en la teoría, puesto que se realizan varias aproximaciones para obtener expresiones relativamente sencillas, o a errores experimentales, ya que las funciones hidrodinámicas experimentales son magnitudes indirectas que se calculan a partir de medidas de $S(q)$ y de $D_{\text{ef}}(q)$. Para minimizar los errores experimentales y contrastar mejor teoría y experimento se ha repetido el estudio, pero ahora, ajustando las medidas de los coeficientes de difusión efectivos. En este caso las medidas son directas y no es necesario emplear $S(q)$ en su obtención.

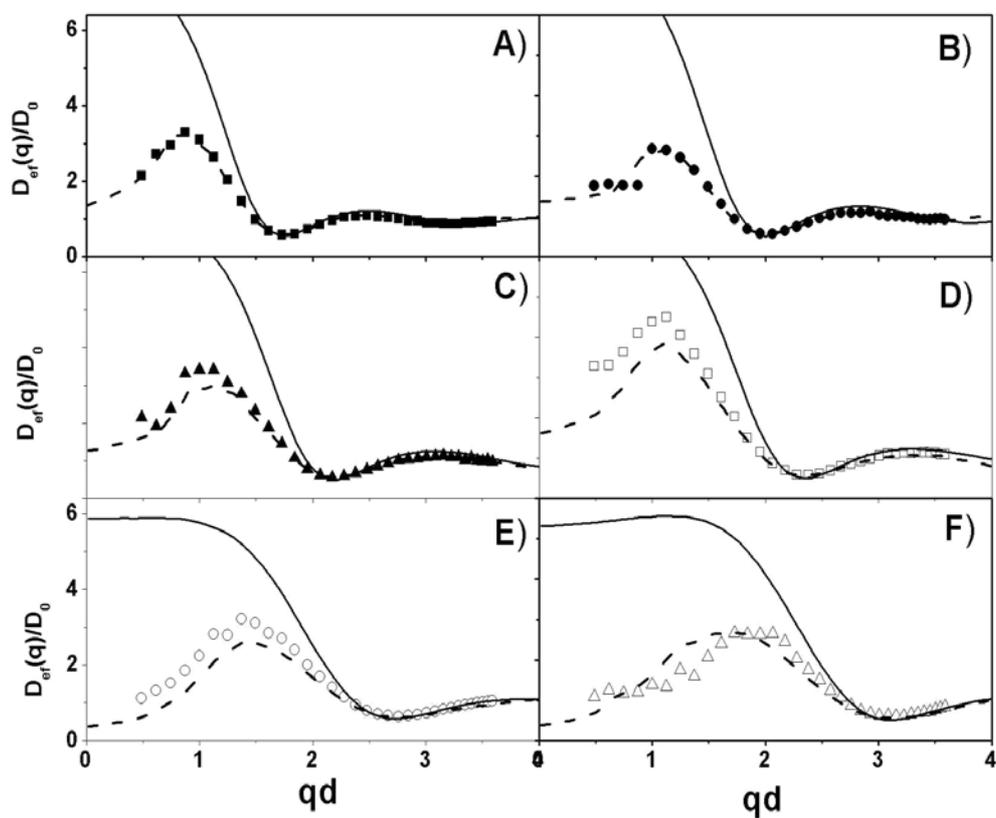


Figura 6.15.- Dependencia angular del coeficiente de difusión efectivo del sistema L1 a distintas fracciones de volumen: A) 0.83%, B) 1.3%, C) 1.7%, D) 2.2%, E) 3.3% y F) 5.0%. Curvas experimentales (símbolos), Teoría BM con $S(q)$ teórico calculado con la aproximación HNC (línea continua), Teoría BM con $S(q)$ experimental (línea discontinua).

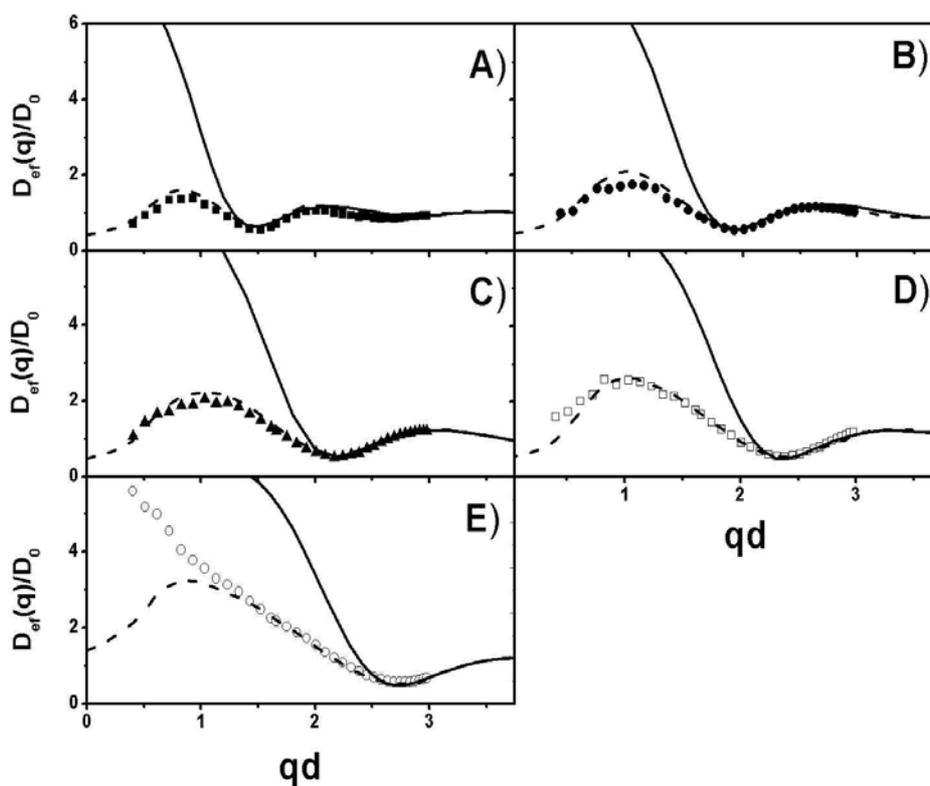


Figura 6.16.- Dependencia angular del coeficiente de difusión efectivo del sistema L2 a distintas fracciones de volumen: A) 0.72%, B) 1.16%, C) 1.45%, D) 1.93% y E) 2.9%. Curvas experimentales (símbolos), Teoría BM con $S(q)$ teórico calculado con la aproximación HNC (línea continua), Teoría BM con $S(q)$ experimental (línea discontinua).

En las figuras 6.15 y 6.16 se muestran las medidas experimentales (símbolos) y los cálculos teóricos (líneas). Por las razones comentadas anteriormente, sólo se contrastan los datos experimentales con los coeficientes de difusión obtenidos con la aproximación BM utilizando la ecuación 6.4

$$D_{\text{ef}}(q) = \frac{D_0 H(q)}{S(q)} \quad (6.4)$$

Las líneas continuas son los coeficientes de difusión teóricos calculados con el $S(q)$ derivado a partir de ecuaciones integrales, y las líneas discontinuas representan el comportamiento que predice la teoría si se utiliza como parámetro de entrada el $S(q)$ experimental. Mediante este nuevo análisis desaparece el desplazamiento vertical observado anteriormente entre los datos teóricos y experimentales y los ajustes mejoran considerablemente. Es probable que los valores experimentales de los coeficientes de difusión sean más precisos que los de $H(q)$ ya que estos últimos dependen de la medida de dos magnitudes.

Lo sorprendente de estos resultados es que las teorías hidrodinámicas, en un principio desarrolladas para sistemas homogéneos, son válidas y ajustan aceptablemente bien la hidrodinámica de nuestras dispersiones, que poseen factores de estructura que muestran la presencia de heterogeneidades espaciales. Tan sólo es necesario introducir en las expresiones teóricas el factor de estructura experimental, sin necesidad de realizar hipótesis acerca del potencial de interacción.

Función Hidrodinámica en q_{max}

Como ya se ha señalado, el rasgo más característico de la hidrodinámica de sistemas cargados se encuentra en los valores que toma esta función alrededor del máximo principal de $S(q)$. En sistemas cargados la difusión en el pico se ve favorecida por las interacciones hidrodinámicas. Según la teoría PA la dependencia entre $H(q_{max})$ y la fracción de volumen viene dada por [Banchio1997]

$$H(q_{max}) = 1 + p\phi^{0.4} \quad (6.5)$$

El exponente 0.4 es independiente de la carga de las partículas. Sin embargo el factor p decrece al disminuir Z . Por ejemplo, $p=1.5$ cuando $Z=500$ y decrece hasta 1.12 cuando $Z=300$.

Sin embargo, las dispersiones constituidas por esferas duras siempre presentan valores de $H(q_{max})$ inferiores a la unidad y tanto menores cuanto mayor es la concentración de partículas. En el caso de esferas duras y utilizando la teoría BM se obtiene [Beenakker1984]

$$H(q_{max}) = 1 - 2.03\phi + 1.94\phi^2 \quad (6.6)$$

Aunque teóricamente no hay dudas acerca de las distintas tendencias en los dos tipos de sistemas, en la práctica se han encontrado resultados muy contradictorios. Algunos autores han observado en sistemas cargados comportamientos de $H(q)$ típicos de esferas duras, como se puede apreciar en la gráfica 6.17 [Robert2001], [Riese2002]. Otros, al contrario, han descubierto una dependencia creciente con la concentración como predice la teoría [Härtl1999], [Philipse1998], [Phalakornkul1996], [Rojas2004].

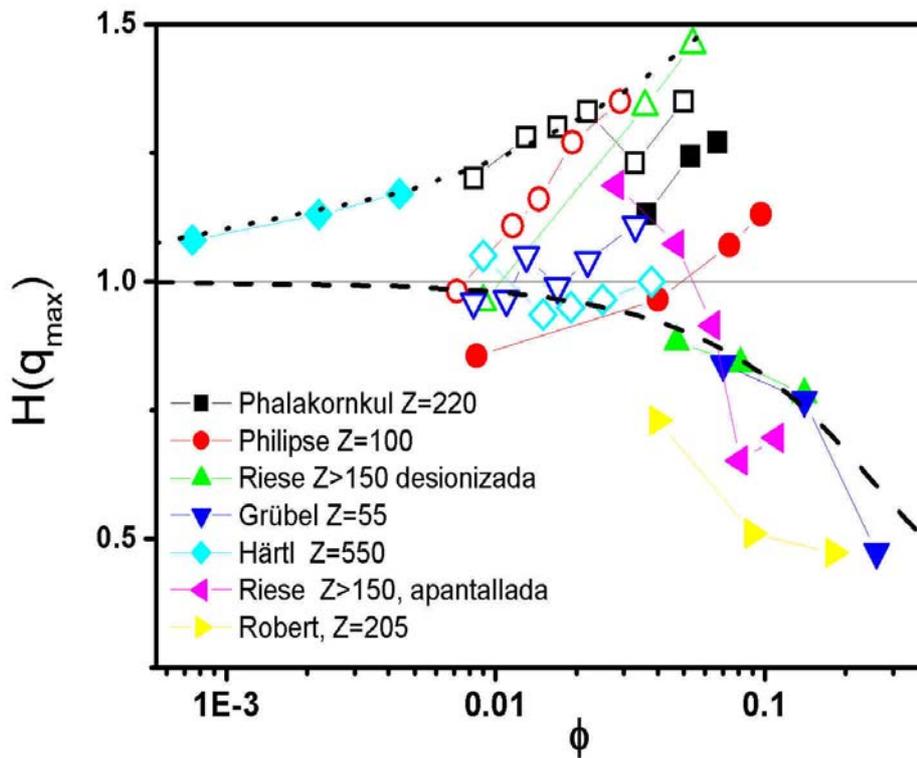


Figura 6.17.- Valores de la función hidrodinámica en q_{max} encontrados en la bibliografía: símbolos negros [Phalakornkul1996], símbolos rojos [Philipse1988], símbolos verdes [Riese2000], símbolos azules [Grübel2000], símbolos celestes [Härtl1999], símbolos rosas [Riese2002], símbolos amarillos [Robert2001]. También se muestran los datos experimentales obtenidos en este trabajo para los sistemas L1: (símbolos negros), L2 (símbolos rojos), L3 (símbolos verdes), L4 (símbolos azules) y L5 (símbolos celestes). Las líneas representan las predicciones teóricas para dispersiones formadas con esferas duras (---) y esferas cargadas (.....).

En todos estos trabajos, salvo las medidas realizadas por Härtl y col., los sistemas empleados estaban dispersados en disolventes no acuosos, por lo que no se tienen estimaciones fiables de las cargas superficiales de las partículas. Ante la polémica encontrada, en esta tesis se han realizado medidas de $H(q)$ en sistemas acuosos en función de la fracción de volumen y variando la carga superficial de los liposomas para estudiar la dependencia de $H(q_{max})$ con la concentración. Los sistemas analizados fueron presentados en el capítulo anterior y se notaron como: L1, L2, L3, L4 y L5 en orden creciente de número de grupos cargados en la superficie. Las medidas de $H(q_{max})$ aparecen en la gráfica como símbolos huecos: L1 (negros), L2 (rojos), L3 (verdes), L4 (azules) y L5 (celestes). En todos los casos la tendencia general es creciente. El aumento de $H(q_{max})$ con la concentración es tanto más acusado cuanto mayor es la estructuración local del sistema, tal y como sostiene la teoría para dispersiones cargadas.

6.3.- Sistemas densos: Confinamiento dinámico

En el apartado anterior se analizó la dinámica a tiempos cortos de sistemas diluidos y relativamente concentrados. Pudimos observar que en determinadas ocasiones el comportamiento de la función de correlación, $f(q,t)$ se desviaba a tiempos largos de una relajación exponencial indicando la presencia de un proceso de difusión adicional con tiempos de relajación mayores. Desde hace tiempo es bien sabido que en el caso de sistemas interaccionantes la función de dispersión intermedia no se puede describir en todo el intervalo

temporal por una única relajación exponencial [Pusey1991]. El comportamiento a tiempos cortos y largos se caracteriza por dos procesos de relajación diferentes que describen el coeficiente de difusión a tiempos cortos y largos, respectivamente

$$f(q, t) = e^{-D_{\text{corto}}(q)t + \dots} \quad , t \text{ cortos} \quad (6.5)$$

$$f(q, t) \propto e^{-D_{\text{largo}}(q)t} \quad , t \text{ largos}$$

En la siguiente figura se muestra una función de correlación y los correspondientes análisis a tiempos cortos y largos del sistema L2-C.

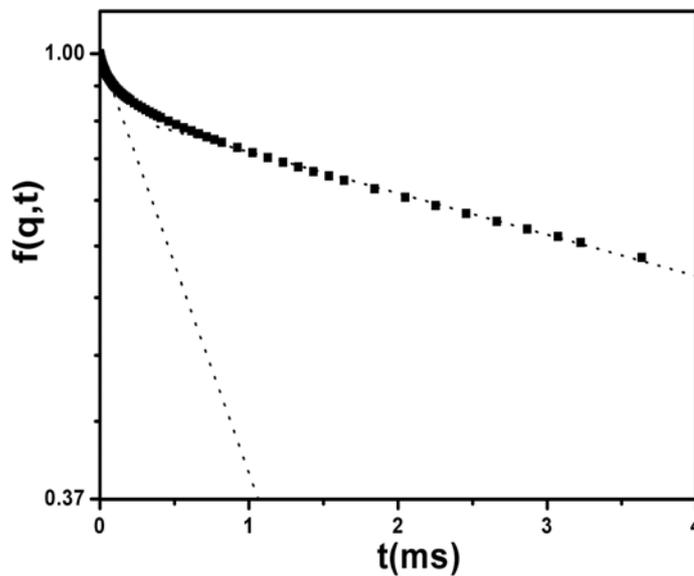


Figura 6.18.- Función de autocorrelación del campo normalizada de una muestra al 1.45% en fracción de volumen para un vector de onda $q = 0.0119 \text{ nm}^{-1}$. Con líneas punteadas se representan los ajustes a tiempos cortos y largos, respectivamente.

En esta sección nos centraremos en el análisis de la dinámica a tiempos largos, análisis que nos permitirá determinar transiciones de fase, que como muchos autores mantienen, es de tipo dinámico y no estructural [Götze1991], [Segrè2001]. La dinámica de dispersiones coloidales densas no está totalmente establecida y son varias las lagunas que aún quedan por comprender. Los coloides son sistemas muy atractivos para estudiar las transiciones de fase que sufre la materia, ya que en estos sistemas las escalas espaciales y temporales involucradas son accesibles experimentalmente. En los últimos años, se ha realizado un enorme esfuerzo para explicar la dinámica de coloides densos así como los mecanismos responsables de la transición líquido-sólido amorfo. De hecho, se han efectuado avances en sistemas repulsivos o atractivos [Beck1999], [Tanaka2004], [Trappe2001]. Sin embargo, aún no existe una teoría universal que pueda ser aplicada a un potencial de interacción arbitrario. Se cree, por ejemplo, que la transición sol-gel, típica de sistemas atractivos podría ser explicada de forma análoga a la transición fluido-sólido amorfo que experimentan los sistemas repulsivos [Segrè2001]. En la actualidad se investigan sistemas que interaccionan a través de potenciales más complejos, como un potencial mixto compuesto por un término repulsivo y uno atractivo [Stradner2004].

En esta dirección se planteó el estudio que se expone seguidamente. Concretamente, nos centraremos en la transición fluido-sólido que sufren las dispersiones de liposomas altamente cargados compuestos por 50% de PC y 50% de PS. También se realizó un estudio análogo con el resto de los sistemas, pero en éstos no se observó la transición de fase, tal y como veremos al final del Capítulo. La interacción entre los liposomas se debe a efectos hidrodinámicos (fuerzas indirectas) y otras fuerzas directas de naturaleza atractiva (fuerzas de dispersión) o repulsiva (resultado de

volúmenes de exclusión o electrostáticas si los sistemas están cargados). En nuestro caso, donde los liposomas están altamente cargados y el medio desionizado, se pueden despreciar en principio las atracciones por van der Waals. El objetivo de este trabajo es presentar un estudio sistemático de las propiedades estructurales y dinámicas de dispersiones de liposomas cargados conforme aumenta la fracción de volumen. En la bibliografía existen algunos trabajos sobre la dinámica y estática en función de la concentración de partículas de coloides que interactúan a través de potenciales repulsivos de tipo esfera dura o coulombianos, o atractivos ocasionados por fuerzas de depleción. Sin embargo, no existen tantos trabajos donde se traten sistemas más complejos como los mostrados en esta tesis doctoral. Los sistemas aquí presentados muestran un comportamiento típico de coloides cargados repulsivos (como el comportamiento del pico con la concentración), pero también poseen atributos típicos ocasionados por un término adicional atractivo en el potencial de interacción cuyo origen físico queda por averiguar.

6.2.1- Protocolo experimental

Las medidas de dispersión estática y dinámica se llevaron a cabo en el intervalo angular $0.0042 \leq q \leq 0.031 \text{ nm}^{-1}$. Las funciones de correlación de la intensidad, se midieron durante un tiempo suficiente para obtener una buena estadística. El tiempo elegido fue de 4 órdenes de magnitud superior al tiempo de relajación característico de las funciones de correlación, lo que se traduce en una duración de la medida que depende del ángulo y la concentración de partículas. Por ejemplo, la duración de los experimentos osciló entre 5 minutos y 3 horas. En los sistemas ergódicos, donde el promedio sobre la colectividad de la intensidad coincide con el promedio temporal, la

función de correlación del campo se puede deducir mediante la relación de Siegert [Berne1976]

$$g_I(q,t) = \frac{\langle I(q,0)I(q,t) \rangle_E}{\langle I(q,0) \rangle_E^2} = 1 + \beta |g_E(q,t)|^2 \quad (6.6)$$

donde $I(q,t)$ es la intensidad dispersada por la muestra en un instante t y para un vector de dispersión q . El teorema de ergodicidad nos permite sustituir el promedio espacial sobre la colectividad, $I^E = \langle \dots \rangle$, por el promedio temporal, I^t , que es la magnitud que proporciona el correlador de un dispositivo de dispersión de luz. En el caso de sistemas no ergódicos, la relación entre la función de correlación del campo promediada en el tiempo y la función de correlación de la intensidad promediada sobre la colectividad obedece a otra expresión [van Megen1991]

$$g_E^E(q,t) = 1 + \frac{I^t}{I^E} \left(\sqrt{g_I^t(q,t) - g_I^t(q,0) + 1} - 1 \right) \quad (6.7)$$

En sistemas sólidos, las partículas están confinadas y sus movimientos restringidos a una pequeña región. Esto quiere decir que las partículas no pueden difundir a lo largo de toda la muestra y, por lo tanto, aunque se promedie durante tiempos muy grandes, I^t no es equivalente a I^E . En estos casos, el promedio sobre la colectividad de la intensidad se obtiene experimentalmente girando la muestra mientras se realizan las medidas, de esta manera se asegura la detección de distintas regiones del sistema y, por consiguiente, un promedio espacial de la intensidad [Joosten1990].

6.2.2- Resultados experimentales

6.2.2.1- Propiedades estáticas

En primer lugar, y aunque algunos resultados sean redundantes, recordamos los factores de estructura estáticos para las distintas concentraciones, desde el 1% al 10% del sistema L3. En la figura 6.19 A) se observa que conforme aumenta la concentración, se desarrolla un pico muy marcado ocasionado por las correlaciones entre partículas vecinas, cuya posición se desplaza hacia valores de q mayores.

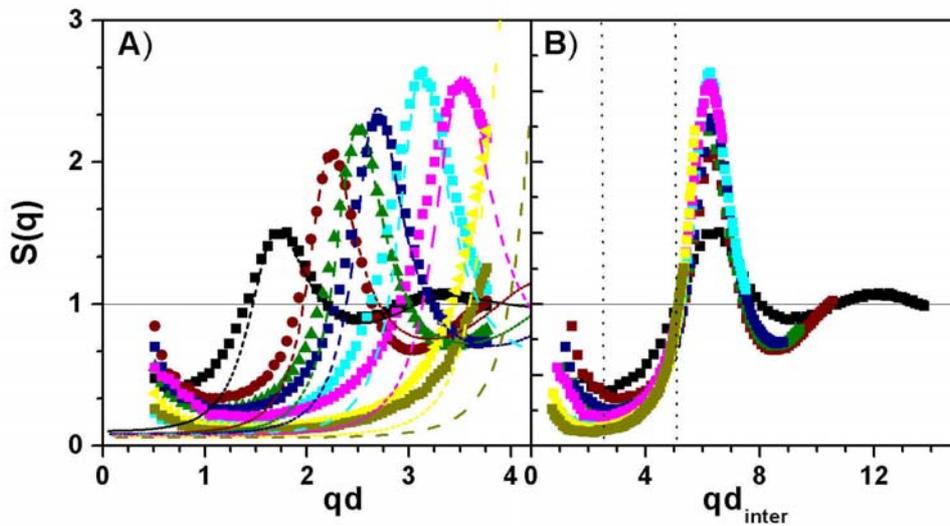


Figura 6.19.- A) Factores de estructura estáticos de dispersiones de liposomas a distintas fracciones de volumen: 0.009, 0.014, 0.018, 0.024, 0.036, 0.054, 0.081, 0.108 (de izquierda a derecha). B) Factores de estructura estáticos escalados con la distancia de separación entre partículas.

El factor de estructura estático posee un máximo principal donde las correlaciones son más intensas, que se corresponde en el espacio recíproco con la distancia de separación promedio entre partículas vecinas, d_{inter} . Así, de la posición del pico principal de $S(q)$, q_{max} , se puede deducir el distanciamiento entre partículas vecinas dividiendo 2π por q_{max} . En el caso de esferas duras a concentraciones moderadas, esta distancia es del orden del diámetro de la partícula. Por el contrario, para sistemas puramente repulsivos, la posición del máximo de $S(q)$ depende además de la concentración de partículas, de la fuerza iónica. El límite superior de la distancia promedio de separación entre partículas es la distancia geométrica promedio dada por $n^{-1/3}$, donde n es el número de partículas por unidad de volumen.

$$d_{inter} = \frac{2\pi}{q_{max}} \propto n^{-1/3} = \left(\frac{6\phi}{\pi d^3} \right)^{-1/3} \quad (6.8)$$

d es el diámetro de las partículas y ϕ la fracción de volumen en tanto por uno. En la siguiente figura se representa en escalas logarítmicas, la distancia recíproca calculada a partir de la posición del máximo de $S(q)$ en función de la fracción de volumen. La pendiente obtenida a partir del ajuste lineal (0.39 ± 0.03), bastante próxima al valor teórico de un tercio, confirma la naturaleza repulsiva de los sistemas y que el espacio es llenado homogéneamente por las partículas. Como comparación, también se representa la distancia geométrica límite calculada para cada concentración como $n^{-1/3}$ y multiplicada por 0.83. Esta constante es bastante parecida al valor encontrado por otros autores, 0.85 [Brown1975] y 0.87 [Riese2002].

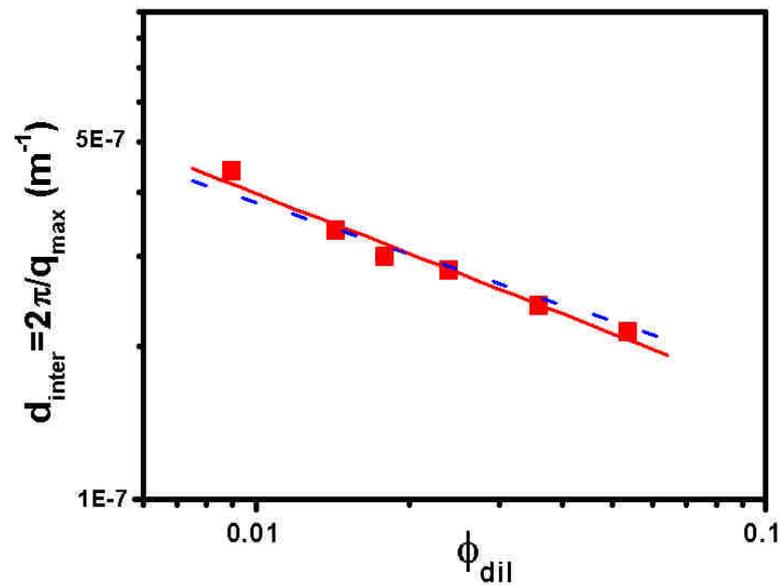


Figura 6.20.- Distancia media de separación entre partículas en función de la fracción de volumen: datos experimentales (cuadrados), ajuste lineal (línea continua), valores teóricos $0.83 \cdot n^{-1/3}$ (línea discontinua).

A pesar de que la posición del pico se escala con $\phi^{-1/3}$, el factor de estructura muestra un levantamiento a bajos ángulos (ver figura 6.19), el cuál se puede explicar admitiendo la existencia de heterogeneidades espaciales típicas de sistemas atractivos [Ye1996]. Es importante resaltar que en ninguna de estas muestras se observó la formación de cristales. Se cree que un valor de polidispersidad en carga superior al 6% es suficiente para evitar la cristalización en sistemas cargados como lo es la polidispersidad en tamaños en sistemas formados por partículas de tipo esfera dura. En segundo lugar, los factores de estructura estáticos también se ajustaron, como apareció en el capítulo anterior, a partir de la resolución de las

ecuaciones integrales de Ornstein-Zernike, con la relación de cierre HNC y suponiendo un potencial de tipo Yukawa repulsivo. Los parámetros de ajuste resultantes se muestran en la Tabla 6.1 para cada concentración. La concentración de la muestra, estimada a partir de la fracción en peso de fosfolípido, ϕ_{dil} , aparece en la primera columna. En la segunda columna nos encontramos con los valores de concentración obtenidos del ajuste de las curvas experimentales de $S(q)$, ϕ_{ajuste} y, finalmente, en la tercera columna se presentan las cargas efectivas por liposoma utilizadas como parámetro de entrada en los ajustes.

ϕ_{dil}	ϕ_{ajuste}	Z (e ⁻ por partícula)
0.009	0.008	280
0.014	0.018	350
0.018	0.025	350
0.024	0.031	350
0.036	0.051	350
0.054	0.071	295

Tabla 6.1.- Parámetros obtenidos del ajuste de $S(q)$ junto con la fracción de volumen calculada a partir de la fracción en peso de fosfolípido.

Los factores de estructura teóricos que mejor ajustan las curvas experimentales aparecen en la figura como líneas punteadas. Como se puede observar, las curvas teóricas de $S(q)$ ajustan razonablemente bien los datos experimentales salvo para vectores de onda muy pequeños debido al inusual aumento de la intensidad a bajos ángulos. Por otro lado, las fracciones de volumen necesarias para realizar los cálculos teóricos son ligeramente mayores que ϕ_{dil} , es decir, que las dispersiones se comportan de forma efectiva como un sistema más

denso. Las diferencias entre las dos magnitudes están en torno al 25%. Este resultado, aunque inesperado, es consistente con el elevado valor de $S(0)$. Ambos fenómenos son huellas típicas de sistemas atractivos.

6.2.2.2- Propiedades dinámicas

A pesar de no existir un cambio de tipo estructural al aumentar la fracción de volumen, el sistema experimenta un cambio drástico en su comportamiento dinámico. Esta transición tiene lugar a una concentración para la cuál el sistema se comporta como un sólido altamente elástico. La transición fluido-sólido en sistemas vesiculares se encontró hace unos años pero a una fracción de volumen muy superior, alrededor del 68-75%, que se corresponde con el empaquetamiento máximo para objetos esféricos que interaccionan como esferas duras [Gradzielski1997]. La fase sólida fue bautizada por estos autores como gel-sólido debido a sus llamativas propiedades elásticas y su elevada viscosidad. La novedad de nuestros resultados es haber encontrado un sólido con estas mismas características pero a una fracción de volumen mucho menor, que pone de manifiesto el papel decisivo que juega la carga de los liposomas en el diagrama de fases de estas dispersiones.

El estudio dinámico se llevó a cabo mediante DLS con el fin de determinar la función de correlación del campo $g_E(q,t)$, que describe las componentes espaciales de Fourier de las fluctuaciones espontáneas en la densidad en número de partículas. El análisis de la dinámica se realizó a dos valores del vector de dispersión. Para seleccionar estos valores, los factores de estructura se escalaron por la distancia de separación promedio entre partículas. Los factores de estructura escalados se pueden ver en la figura 6.19.B). De esta forma,

elegimos aquellos vectores de onda para cada fracción de volumen equivalentes a un múltiplo de distancias de separación promedio entre partículas. El primer valor seleccionado se encuentra en el régimen colectivo, por debajo del máximo del factor de estructura, concretamente donde se sitúa el mínimo de $S(q)$, $qd_{inter} \sim 2.5$. El segundo valor escogido se corresponde con aquellos vectores de onda donde la estructura se puede despreciar, ya que $S(q)$ es aproximadamente uno, condición que se satisface para $qd_{inter} \sim 5$. En ambos casos, descubrimos una dependencia similar de las funciones de correlación con la concentración (véase figura 6.21).

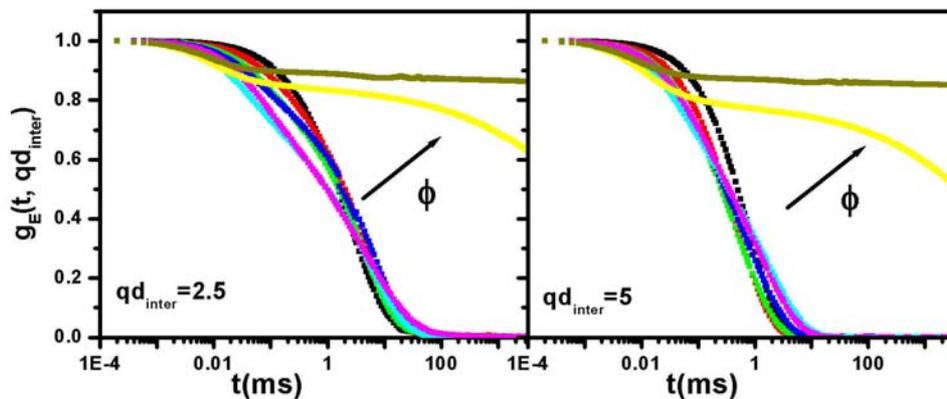


Figura 6.21.- Función de dispersión normalizada $g_E(qd_{inter}, t)$ en función del tiempo de correlación para $qd_{inter}=2.5$ y $qd_{inter}=5$, respectivamente, a diferentes fracciones de volumen: 0.9%, 1.4%, 1.8%, 2.4%, 3.6%, 5.4%, 8.1 %, 10.8%. Las flechas indican fracciones de volumen crecientes.

En todo el intervalo de fracciones de volumen los factores de estructura dinámicos presentan un denominador común: las funciones de correlación poseen dos caídas. Sin embargo, en este intervalo se diferencian dos regímenes dinámicos diferentes. En el primero, las

funciones de dispersión se decorrelacionan totalmente, puesto que decaen hasta cero. En esta región, la relajación a tiempos largos no evoluciona considerablemente y toma valores muy parecidos. En cambio, al aumentar la concentración el sistema experimenta una transición abrupta hacia un estado no ergódico caracterizado por la aparición de una componente que no decae en la función de dispersión y, consecuentemente, la divergencia del tiempo largo de relajación (líneas amarillas y ocres). Por el contrario, la caída inicial más rápida de la función de correlación $\Gamma_1 = D^{\text{corto}}(q)q^2$ apenas depende de la concentración, que es una señal de la libertad que los liposomas poseen para moverse localmente entre las partículas vecinas, incluso en la transición fluido-sólido. Macroscópicamente, esta transición se localiza fácilmente ya que la dispersión se convierte en un sólido altamente elástico, que no fluye bajo la influencia de la gravedad. A continuación, se presenta un estudio dinámico más detallado con el objetivo de profundizar en las diferencias entre las dos fases. Seguidamente se realizó un estudio angular de las funciones de correlación a cada fracción de volumen. Las funciones de dispersión se normalizan por su caída inicial, tal y como fue propuesto por Segrè & Pusey hace algunos años [Segrè1996], véanse figura 6.22 y 6.23. En el régimen diluido, las funciones de dispersión no se pueden escalar, véase figura 6.22, que es una señal típica de movimientos no acoplados y quizás una posible explicación de las dos caídas encontradas a bajas fracciones de volumen. Por otro lado, hemos podido encontrar en la bibliografía [Lumma200] que las partículas de poliestireno dispersadas en glicerol tampoco cumplían las leyes de escalado encontradas previamente por Segrè&Pusey en sistemas constituidos por esferas duras estabilizadas estéricamente. Contrariamente, en la zona no ergódica, figura 6.23, se observa como todas las funciones de dispersión se superponen en una curva maestra

cuando son normalizadas por el tiempo corto de relajación. Esto quiere decir que toda la dinámica del sistema se puede definir con un único tiempo característico.

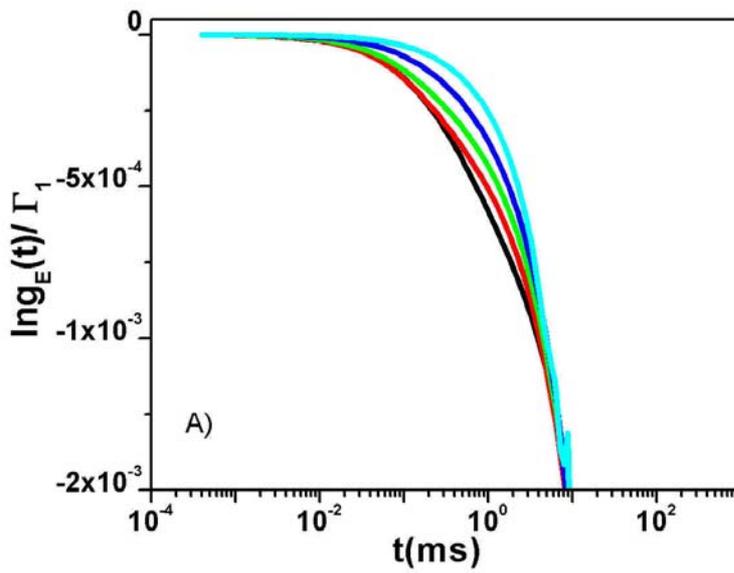


Figura 6.22- Función de dispersión normalizada $g_E(qd_{inter}, t)$ dividida por el tiempo corto de relajación medida a distintos qd_{inter} a $\phi=1.8\%$.

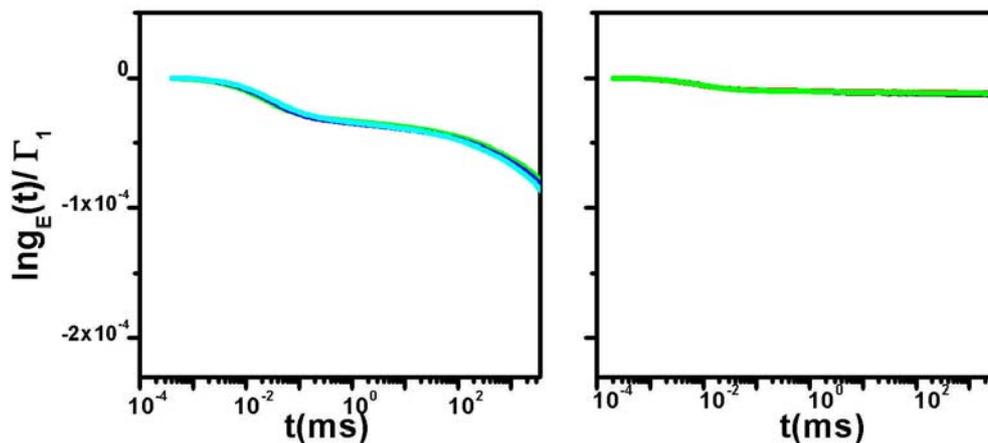


Figura 6.23- Función de dispersión normalizada $g_E(qd_{inter}, t)$ dividida por el tiempo corto de relajación medida a distintos qd_{inter} a $\phi=8.1$ y 10.8% , respectivamente.

A tiempos largos, la dependencia funcional de la función de correlación se describe por una exponencial del tipo $g_E(q, t) = \exp(-t / \tau_{largo})^\beta$, donde β es un coeficiente menor que la unidad. Esta relajación estructural a tiempos largos se denomina “relajación α ” y desaparece en el estado sólido ya que el tiempo largo de relajación diverge. En las muestras donde se cumple el escalado, en nuestro caso en las no ergódicas, el exponente β es independiente del vector de dispersión. En la siguiente figura, 6.24, aparecen las funciones de dispersión medidas a distintos ángulos de un sistema al 8.1% en fracción de volumen, valor muy próximo a la transición fluido-sólido. El ajuste de las curvas experimentales se ha realizado con un exponente igual a 0.3.

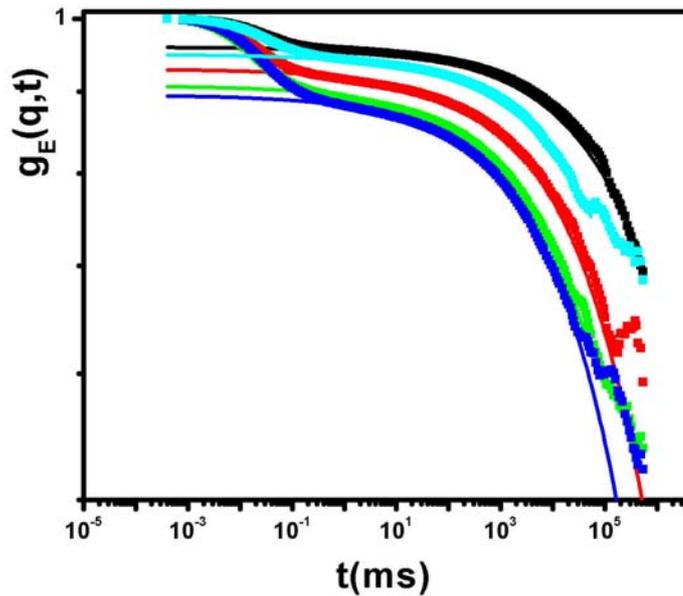


Figura 6.24.- Función de dispersion intermedia a una fracción de volumen 8.1% a distintos vectores de onda $qd_{inter} = 1.4$ (símbolos negros), 2.6 (símbolos rojos), 3.9 (símbolos verdes), 5.2 (símbolos azules), 5.7 (símbolos celestes) y sus correspondientes ajustes a una exponencial $g_E(q,t) = \exp(-t/\tau_{largo})^\beta$.

En la bibliografía se ha encontrado que en el caso de esferas duras a una fracción de volumen cercana a la transición sólido amorfo β es igual a 0.9 [van Meegen1991]. Para sistemas que interaccionan a través de potenciales de tipo Lennard-Jones se encontró un exponente igual a 0.88 [Bengtzelius1986]. Sidebottom y colaboradores encontraron un valor en torno a 0.39 para sistemas compuestos por polipropileno-glicol [Sidebottom1992]. Van Meegen atribuyó el pequeño valor encontrado en el último trabajo a la elevada complejidad de estos sistemas. Como se puede comprobar, aún no existe un acuerdo entre los autores a la hora de establecer un valor de

este parámetro cuando el sistema se acerca a la transición. Teóricamente, la teoría de acoplamiento de modos “*Mode Coupling Theory*”, también conocida como teoría MCT, sostiene que β es próximo a la unidad en sistemas diluidos y que disminuye hasta 0.5 conforme el sistema se aproxima a la transición de fase. El valor que hemos encontrado, teniendo en cuenta la falta de uniformidad en los resultados hallados por otros investigadores, es razonable.

En la región no ergódica, donde las funciones de correlación se pueden escalar, y suponiendo que el desplazamiento de una partícula individual es una variable gaussiana, las funciones de dispersión intermedias pueden ser expresadas en función de los desplazamientos cuadráticos medios, $\langle \Delta r^2(t) \rangle$, de la siguiente manera

$$g_E(q, t) = \exp\left(-\frac{D^{\text{corto}}(q)}{D_{\text{auto}}^{\text{corto}}}\frac{q^2}{6}\langle \Delta r^2(t) \rangle\right) \quad (6.9)$$

donde $D_{\text{auto}}^{\text{corto}} = \lim_{q \rightarrow \infty} D^{\text{corto}}(q)$ es el coeficiente de autodifusión a tiempos cortos y $\langle \Delta r^2(t) \rangle = 6D_{\text{auto}}^{\text{corto}}t - \dots$

En la ilustración 6.25 se muestra la dependencia temporal del desplazamiento cuadrático medio para los dos sistemas más concentrados. Las curvas se han obtenido siguiendo el procedimiento expuesto anteriormente.

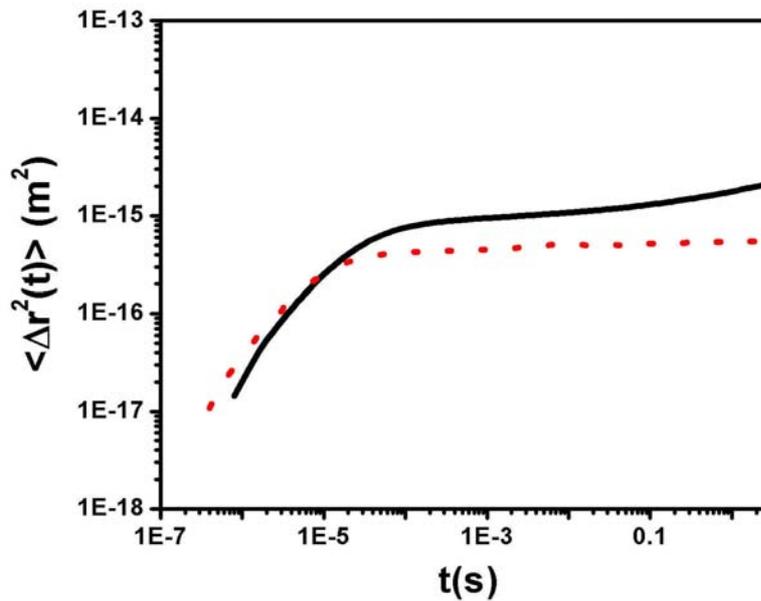


Figura 6.25.- Desplazamiento cuadrático medio en función del tiempo de correlación: $\phi=8.1\%$ (línea continua), $\phi= 10.8\%$ (línea punteada).

Los datos experimentales muestran la presencia de dos regímenes bien diferenciados. En el primero, a tiempos cortos, el desplazamiento cuadrático medio depende linealmente con el tiempo. Este tramo representa el movimiento de una partícula individual en el espacio libre dejado por las partículas vecinas. A estas distancias, el movimiento es difusivo y puede ser definido por una constante de difusión a tiempos cortos. Algunos autores explican este fenómeno a través del efecto caja. A tiempos mayores, el desplazamiento cuadrático medio alcanza una meseta a una distancia que representa el recorrido máximo a lo largo del cuál la partícula puede difundir respecto a su posición de equilibrio, situada en el centro de la caja. Este tipo de movimiento confinado en sistemas altamente interaccionantes es el responsable de la aparición de una componente

en la función de dispersión intermedia que se mantiene constante e impide que la función de correlación decaiga a cero. El movimiento de la partícula en la caja está tan localizado que la luz dispersada por la muestra no puede decorrelacionarse. La distancia máxima que puede recorrer la partícula dentro de la celda se denomina longitud de localización, parámetro que ha sido muy utilizado por criterios dinámicos para definir la transición líquido-sólido. Concretamente, el criterio de Lindemann establece la solidificación de un sistema cuando la longitud de localización es menor del 10% del diámetro de una partícula [Bengtzelius1984]. En nuestro caso, la longitud de localización es de 17 nm a una fracción de volumen de 8.1% y 12 nm para 10.8%, que pone de manifiesto que las partículas están tanto más confinadas cuanto mayor es la concentración de partículas. Por consiguiente, según este criterio, la transición fluido-sólido tendría lugar en este intervalo de fracciones de volumen. Adicionalmente, existen otros criterios basados en las propiedades estructurales. En particular, Hansen-Verlet establecieron que la transición ocurre cuando la altura del máximo principal del factor de estructura estático es superior a 2.85. Si nos fijamos en la tendencia de $S(q)$ de las muestras analizadas, ver figura 6.19, donde aparece la dependencia de $S(q)$ con la fracción de volumen, se observa que la altura del pico principal se acerca a este valor. Aunque la concentración de partículas donde localizamos la transición es un valor muy cercano al predicho en otros estudios basados en la teoría MCT, que prevén una transición fluido-sólido para sistemas cargados desionizados ($Z=500 e^-$) en torno al 10% en fracción de volumen [Banchio1999], hemos encontrado algunas inconsistencias analizando la dependencia del tiempo de relajación a tiempos largos con la fracción de volumen. Como se puede apreciar en la figura 6.25, esta magnitud no cambia apreciablemente hasta una determinada concentración, donde de repente el sistema experimenta la transición de fase.

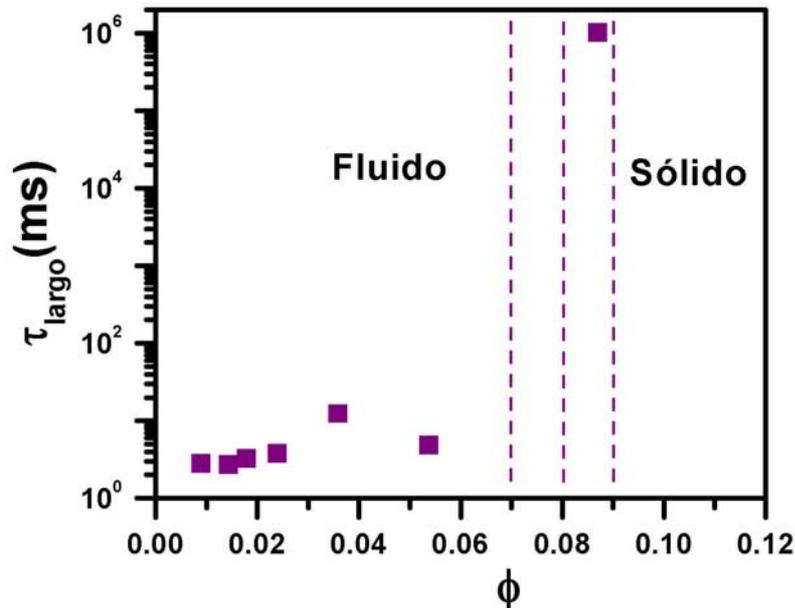


Figura 6.26.- Tiempo largo de relajación de la función de dispersión intermedia medida a $qd_{\text{inter}} \approx 2.5$ en función de la fracción de volumen.

Esta peculiar dependencia hace imposible cualquier ley de escalado a la hora de describir las relajaciones de tipo α y β [Tokuyama2002]. Este resultado junto con la presencia de dos caídas incluso a bajas fracciones de volumen nos recuerda una transición típica de sistemas cuyas partículas interactúan mediante un potencial con un término atractivo de corto alcance adicional a la repulsión electrostática. En estos casos, teoría y simulación [Sciortino2004], [Wu2004] predicen la formación de un fluido de cúmulos de partículas coexistiendo con un mar de partículas individuales. Este posible escenario podría explicar la presencia de los dos procesos de relajación en las funciones de correlación, así como el comportamiento del tiempo de relajación en la región no ergódica.

Adicionalmente, también podría justificar el rápido arresto dinámico a fracciones de volumen relativamente pequeñas y el aumento de la intensidad a bajos ángulos. La concentración de cúmulos aumentaría con el llenado de la dispersión hasta una determinada fracción de volumen donde el sistema gelifica al crearse una red interconectada que causaría la rápida inmovilización de la suspensión. La red resultante sería la responsable de la dinámica y puede justificar la existencia del movimiento acoplado de las partículas coloidales en el dominio no ergódico. Esta hipótesis, la presencia de un término atractivo efectivo en el potencial de interacción entre los liposomas, aún está por discutir. Bajo nuestro punto de vista, creemos que la atracción está presente, ya que de otra manera no podríamos explicar las pequeñas diferencias entre las fracciones de volumen obtenidas a partir del ajuste de $S(q)$ y las determinadas por el criterio de dilución, ni el aumento de $S(q)$ a pequeños vectores de onda.

La cuestión es ¿cuál es el origen físico de la atracción? Una posible respuesta a esta atracción efectiva podría ser la fuerza de depleción ocasionada por un desequilibrio de presión osmótica debido a una expulsión de los contraiones de las vecindades de las partículas, puesto que el sistema analizado está altamente cargado. Aunque como señalamos en el capítulo anterior, existen otras muchas posibilidades.

Independientemente de que exista esta atracción adicional, sí que creemos que la repulsión juega un papel decisivo a la hora de determinar la transición de fase ya que ésta no sólo aparece al aumentar la concentración de partículas sino también al disminuir la fuerza iónica del medio, es decir, al aumentar el alcance de la repulsión [Lai1997], mirar figura 6.27.

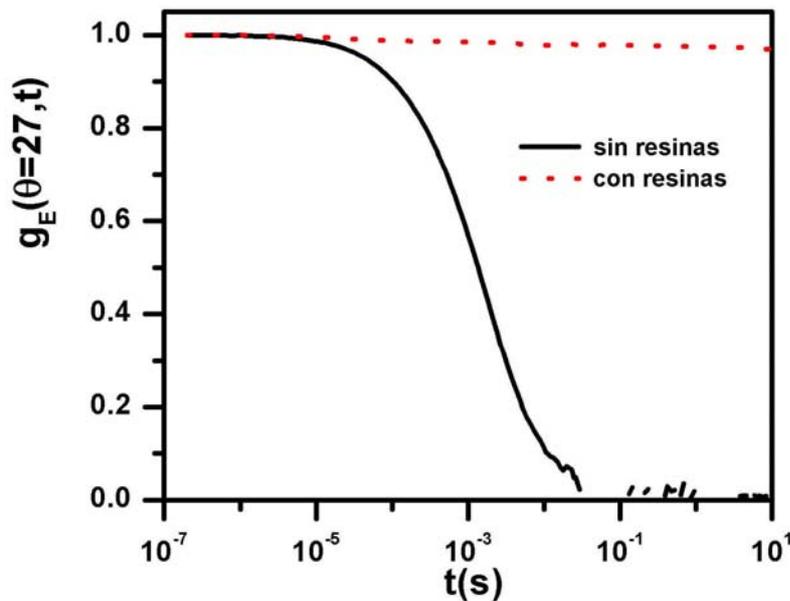


Figura 6.27.- Función de dispersión normalizada de una muestra a $\phi=10.8\%$ sin desionizar (línea continua) y desionizada (línea discontinua).

En sistemas cargados, un aumento de la longitud de Debye es equivalente a aumentar la fracción de volumen efectiva, así la transición líquido-sólido se desplaza a fracciones de volumen menores conforme disminuye la fuerza iónica del medio. Sin embargo, en el caso de sistemas atractivos, al disminuir la concentración de sal, la transición sol-gel se desplaza a fracciones de volumen mayores.

6.2.3- Discusión

En esta sección se presenta una transición dinámica en dispersiones de liposomas cargados, L3, al aumentar la fracción de

volumen y disminuir la fuerza iónica. Los experimentos de dispersión de luz dinámica muestran que los tiempos largos de relajación del factor de estructura dinámico no cambian considerablemente en un intervalo de concentraciones relativamente pequeñas. A partir de un determinado valor el sistema solidifica provocando la divergencia del tiempo largo de relajación de la función de dispersión intermedia. Por el contrario, el factor de estructura estático medido por dispersión de luz estática evoluciona de la forma esperada y no se detectan diferencias significativas entre las fases ergódica y no ergódica. Este resultado estaría de acuerdo con la hipótesis de que la transición fluido-sólido es una transición cinética y no estructural [Götze1991, Segrè2001]. El pronunciado pico de $S(q)$ confirma la naturaleza repulsiva de nuestros sistemas. Su posición y altura evoluciona siguiendo los comportamientos típicos de sistemas puramente repulsivos. No obstante, otras observaciones experimentales como

- i) Altos valores de $S(q)$ a pequeños vectores de onda
- ii) La presencia de dos caídas en las funciones de dispersión incluso a bajas fracciones de volumen
- iii) La brusca transición líquido-sólido

sugieren que el mecanismo que conduce a la dispersión a un confinamiento dinámico no se debe a un llenado homogéneo del sistema sino a la coexistencia de fases de baja y alta densidad, donde esta última iría extendiéndose a lo largo de la muestra hasta crear una red interconectada responsable de la súbita transición.

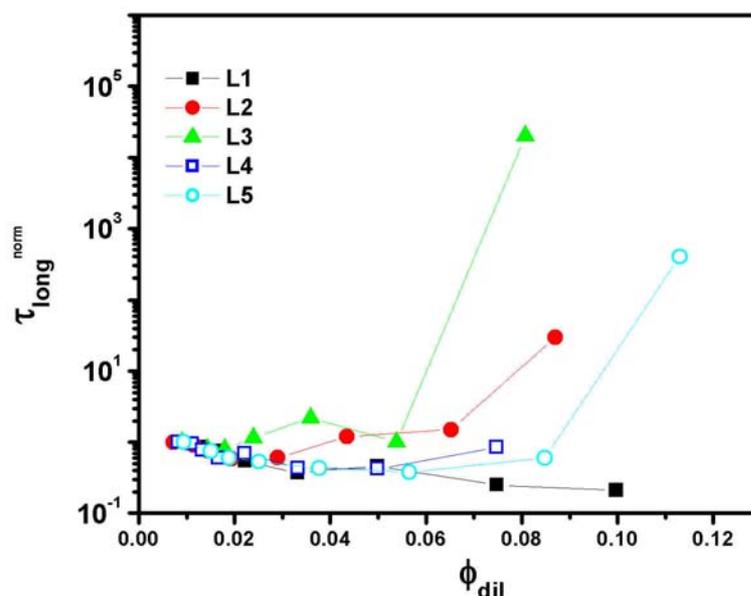


Figura 6.28.- *Tiempos largos de relajación de la función de dispersión intermedia medida a $qd_{Inter.}=2.5$ en función de la fracción de volumen de los sistemas L1(cuadrados), L2(círculos), L3(triángulos), L4 (cuadrados huecos) y L5 (círculos huecos).*

Extrañamente, el resto de los sistemas estudiados no presentaron esta transición. Si nos fijamos en la figura 6.28 donde se muestran los tiempos largos de relajación de todas las dispersiones de liposomas en función de la fracción de volumen, el único sistema que experimenta el cambio de fase es el sistema que posee una carga superficial intermedia, L3. Es decir, en la región del diagrama de fases explorada nos hemos encontrado con una fase reentrante fluido-sólido-fluido al variar la carga de las partículas.

Apéndice I

Teorías Hidrodinámicas

Las propiedades difusivas de las partículas coloidales en un líquido viscoso dependen de la fracción de volumen debido a las interacciones directas y al acoplamiento indirecto de su movimiento a través del fluido dispersante. Una partícula en movimiento crea un campo de velocidades en la dispersión que afecta a la dinámica de las partículas vecinas. Así, las interacciones hidrodinámicas son un efecto a varios cuerpos, puesto que cada partícula influye en la dinámica del resto. Las interacciones hidrodinámicas se describen a partir de la función hidrodinámica $H(q)$. En sistemas diluidos que interactúan débilmente, las interacciones hidrodinámicas se pueden despreciar o suponerse aditivas a pares por lo que es suficiente considerar interacciones hidrodinámicas a dos cuerpos. Al ir aumentando la concentración, esta aproximación deja de ser válida y es necesario tener en cuenta las correlaciones a muchos cuerpos entre las esferas. En la actualidad, son dos las teorías más extendidas para cuantificar la función hidrodinámica. La primera fue desarrollada por Beenakker y Mazur [Beenakker1983], [Beenakker1984], quienes utilizaron un método de renormalización para tener en cuenta las interacciones a muchos cuerpos. La función hidrodinámica resultante hasta orden

cero, denominada desarrollo de las fluctuaciones de densidad $\delta\gamma$, se puede calcular a partir de $S(q)$. Posteriormente, Nägele elaboró otro tratamiento teórico especialmente diseñado para sistemas diluidos altamente correlacionados [Nägele1993], [Nägele1997]. Esta teoría conocida como “Aproximación Aditiva a Pares”, aproximación PA, supone la adición a pares de las interacciones indirectas.

I.1.- Teoría de Beenakker y Mazur

Sean los movimientos de N partículas idénticas de radio R y vectores de posición $\{\vec{r}_i\}$ ($i=1,2,\dots,N$) en el seno de un fluido incompresible, en reposo, de volumen V y viscosidad η . La dinámica del fluido viene descrita por la ecuación lineal de Stokes cuasi-estática donde se adopta como condición de frontera que la capa de fluido en contacto con la superficie de las partículas está adherida. También se admite que el fluido no ejerce ningún momento sobre las esferas, que pueden rotar libremente. La velocidad \vec{v}_i de la esfera i se puede expresar como una combinación lineal de las fuerzas \vec{F}_j ejercidas por el fluido sobre cada una de las esferas j .

$$\vec{v}_i = -\sum_{j=1}^N \tilde{\mu}_{ij}(\{\vec{r}^N\}) \cdot \vec{F}_j \quad (I.1)$$

Los tensores de movilidad $\tilde{\mu}_{ij}(\{\vec{r}^N\})$ dependen de la configuración espacial de las N esferas, ya que $\{\vec{r}^N\}$ es el vector de posición de cada una de las N partículas. Así, cada uno de los términos del tensor de movilidad es un problema de interacciones hidrodinámicas a N -cuerpos. En el caso más simple de una partícula individual, la

ecuación (I.1) se reduce a la ecuación de la fuerza de fricción de Stokes, $\vec{F}_i = -6\pi\eta\vec{v}_i$.

La función hidrodinámica $H(q)$ está relacionada con los tensores de movilidad de muchos cuerpos $\tilde{\mu}_{ij}(\{\vec{r}^N\})$ por

$$H(q) = \frac{S(q)D_{ef}(q)}{D_0} = \frac{\kappa_B T}{ND_0} \sum_{i,j=1}^N \left\langle \hat{q} \cdot \tilde{\mu}_{ij}(\{\vec{r}^N\}) \cdot \hat{q} e^{i\vec{q} \cdot (\vec{r}_i - \vec{r}_j)} \right\rangle \quad (I.2)$$

donde \hat{q} es el vector unitario en la dirección del vector de onda, κ_B y T son la constante de Boltzmann y la temperatura respectivamente. $D_0 = \kappa_B T (6\pi\eta a)^{-1}$ es el coeficiente de difusión de Stokes-Einstein, $S(q)$ es el factor de estructura estático y $D_{ef}(q)$ es el coeficiente de difusión efectivo. Los símbolos $\langle \dots \rangle$ representan el promedio de la colectividad sobre todas las configuraciones de las esferas en el volumen V . El coeficiente de autodifusión a tiempos cortos D_s viene dado por

$$D_s = \frac{\kappa_B T}{N} \left\langle \sum_{i=1}^N \tilde{\mu}_{ii}(\{\vec{r}^N\}) \right\rangle \quad (I.3)$$

Para tener en cuenta interacciones a N cuerpos, Beenakker y Mazur usaron un formalismo de conectores y un método de renormalización. La renormalización tiene en cuenta que las fluctuaciones en la concentración de partículas interactúan hidrodinámicamente a través de una dispersión coloidal y no del fluido puro. El desarrollo de los conectores se realizó en términos de un determinado tipo de funciones de autocorrelación de las fluctuaciones de la densidad. Cuando el desarrollo se realiza hasta orden cero, conocido como desarrollo $\delta\gamma$, $H(q)$ se puede formular en términos del factor de

estructura estático mediante

$$H(q) = \frac{D_s(\phi)}{D_0} + \frac{3}{2\pi} \int_0^\infty d(aq') \left(\frac{\sin(aq')}{aq'} \right)^2 \left[1 + \phi S_{\gamma_0}(aq') \right]^{-1} \times \int_{-1}^1 dx (1-x^2) (S(|q-q'|) - 1) \quad (I.4)$$

donde $x = \cos(q', q)$. La función S_{γ_0} depende de la fracción de volumen ϕ a través de los escalares $\{\gamma_0^{(p)}\}$ según la expresión

$$S_{\gamma_0}(x) = C(x) + \sum_{p=2}^{\infty} \frac{9}{4} \pi \varepsilon_p \left(\frac{\gamma_0^{(p)}}{n/V} - 1 \right) (2p-1)^2 x^{-3} J_{p-1/2}^2(x) \quad (I.5)$$

J_n es la función de Bessel de orden n , y

$$\varepsilon_p = \begin{cases} 5/9 & , & p = 2 \\ 1 & , & p > 2 \end{cases} \quad (I.6)$$

La función $C(x)$ es igual a

$$C(x) = \frac{9}{2} \left(\frac{\text{Si}(2x)}{x} + \frac{1}{2} \frac{\cos(2x)}{x^2} + \frac{1}{4} \frac{\sin(2x)}{x^3} - \frac{\sin^2 x}{x^4} - \frac{4}{x^6} (\sin x - x \cos x)^2 \right)$$

donde

$$\text{Si}(y) = \int_0^y \frac{\sin t}{t} dt \quad (I.7)$$

Los escalares $\{\gamma_0^{(p)}\}$ se calculan resolviendo el siguiente sistema de ecuaciones

$$\gamma_0^{(m)} - \gamma_0^{(m)} \phi (2m-1) \int_0^\infty \frac{dq}{q} J_{m-1/2}^2(q) S_{\gamma_0}(q) [1 + \phi S_{\gamma_0}(q)]^{-1} = \frac{N}{V},$$

$$m=2, 3, \dots \tag{I.8}$$

Para conseguir un sistema finito de ecuaciones, Beenakker y Mazur despreciaron la diferencia $(\gamma_0^{(l)} - n/V)$ para $l > 5$.

El primer sumando de la ecuación (I.4), representa el cociente entre el coeficiente de autodifusión a tiempos cortos, D_s , y el coeficiente de difusión libre D_0 , que en la aproximación de orden cero viene dado por

$$\frac{D_s(\phi)}{D_0} = \frac{2}{\pi} \int_0^\infty dx \left(\frac{\sin x}{x} \right)^2 [1 + \phi S_{\gamma_0}(x)]^{-1} \tag{I.9}$$

D_s es independiente del vector de onda y es igual a $D_0 H(q \rightarrow \infty)$. Como vemos, el término autodifusivo no depende de las interacciones directas en esta aproximación. Sólo cuando se consideran términos de orden superior $(\delta\gamma)^2$ en el desarrollo aparece la dependencia con la función de distribución radial de partículas. No obstante, el término de segundo orden sólo supone una pequeña corrección al coeficiente de difusión que es, por ejemplo, del 1% para una fracción de volumen del 10%. En resumen, dado el factor de estructura como parámetro de entrada y conocida la fracción de volumen, la doble integral que aparece en la ecuación se calcula numéricamente y $H(q)$ se puede obtener a partir de las ecuaciones (I.4) e (I.9).

I.2.- Aproximación Aditiva a Pares (Pairwise Approximation)

Este formalismo se propuso para analizar dispersiones coloidales altamente estructuradas y relativamente diluidas, hasta fracciones de volumen del 10%. Estas condiciones se satisfacen para sistemas cargados a bajas fuerzas iónicas donde las partículas interactúan a través de un potencial coulombiano apantallado. El tratamiento fue elaborado por Nägele tras considerar que las interacciones hidrodinámicas son aditivas a pares. La justificación de esta aproximación se debe a que la fuerte repulsión entre las dobles capas eléctricas impide que dos esferas se aproximen. Así, la contribución dominante al tensor de difusión será la debida al tensor de dos partículas. La función hidrodinámica se calcula, en esta ocasión, considerando interacciones hidrodinámicas a pares y utilizando un desarrollo en el campo lejano de los tensores de movilidad hidrodinámicos para esferas idénticas [Nägele1993], [Nägele1997]. La función $H(q)$ se puede descomponer en dos partes

$$H(q) = H^s(g(r)) + H^d(q, g(r)) \quad (I.10)$$

El primer sumando, $H^s = D_s/D_o$, es independiente de q y está relacionado con el coeficiente de autodifusión D_s . La segunda contribución, $H^d(q)$ es fuertemente dependiente de q y da cuenta de las desviaciones de H^s con el vector de onda. Para valorar ambos sumandos es necesario conocer la función de distribución radial $g(r)$. En el caso de una dispersión coloidal formada por partículas esféricas idénticas de diámetro σ y a una fracción de volumen ϕ , la función hidrodinámica viene descrita por la siguiente relación

$$H^s = 1 + \phi \left(-\frac{15}{8} \int_1^\infty dx \frac{g(x)}{x^2} + \frac{17}{64} \int_1^\infty dx \frac{g(x)}{x^4} + \frac{253}{1024} \int_1^\infty dx \frac{g(x)}{x^6} - \frac{737}{1024} \int_1^\infty dx \frac{g(x)}{x^8} \right)$$

$$H^d = -\frac{15}{8} \phi \frac{j_1(y)}{y} + 18\phi \int_1^\infty dx x [g(x) - 1] \left(j_0(xy) - \frac{j_1(xy)}{xy} + \frac{j_2(xy)}{6x^2} \right) \quad (I.11)$$

donde j_n son las funciones esféricas de Bessel, expresadas en términos de funciones de Bessel de orden no entero $J_{n+1/2}$ como

$$j_n(x) = \sqrt{\frac{\pi}{2x}} J_{n+1/2}(x).$$

La función de distribución radial $g(x)$ está relacionada con el factor de estructura estático mediante

$$g(x) = 1 + \frac{1}{12\pi\phi x} \int_0^\infty d(q\sigma) [S(q\sigma) - 1] q\sigma \sin(q\sigma) \quad (I.11)$$

De esta manera, las interacciones hidrodinámicas se pueden calcular con la aproximación de Nägele a partir de la ecuación (I.10) utilizando como parámetro de entrada la función $g(r)$.

Resumen y Conclusiones

Tal y como se indicó en la introducción, este trabajo se enfoca en el estudio de las propiedades estructurales y dinámicas de dispersiones acuosas de liposomas cargados a bajas fuerzas iónicas. Para ello se han caracterizado 5 tipos de liposomas con distintas cargas superficiales y se han determinado mediante SLS los factores de estructura que caracterizan el orden espacial de las dispersiones desionizadas hasta fracciones de volumen alrededor del 10%. Simultáneamente, se midieron los coeficientes de difusión efectivos a tiempos cortos por DLS. A partir de ambas magnitudes, $D_{ef}(q)$ y $S(q)$ se han determinado las funciones hidrodinámicas de los sistemas a distintas concentraciones de partículas. Otro de los objetivos propuestos es la determinación del diagrama de fases de estos sistemas coloidales en función de dos parámetros: carga superficial de las partículas y fracción de volumen. Para ello se ha realizado un análisis del factor de estructura dinámico a tiempos largos en función de la concentración para cada uno de los sistemas.

Las principales conclusiones obtenidas en este estudio son:

- 1.- Dependencia no monótona del orden local con la carga en dos sistemas muy diferentes, uno de ellos considerado como sistema modelo (dispersiones de partículas de poliestireno), y el otro un sistema real con aplicaciones biotecnológicas (dispersiones de

vesículas fosfolípídicas). La dependencia no monótona de $S(q_{\max})$ hasta ahora no había sido descrita experimentalmente, aunque sí predicha teóricamente [Beresford-Smith1985]. Otro fenómeno que podría estar relacionado con esta dependencia no monótona del orden local con la carga de las partículas ha sido la localización de una fase reentrante fluido-cristal-fluido en el caso de las dispersiones de látex.

2.- El modelo de *jellium* consigue explicar el comportamiento no monótono de la altura del pico con la carga, pero presenta el inconveniente de que sobrevalora el efecto de apantallamiento de las partículas coloidales. Como se ha visto en esta tesis, no reproduce suficientemente bien aquellos factores de estructura de sistemas altamente correlacionados.

3.- El pico y posición de los factores de estructura de las dispersiones de liposomas son razonablemente ajustados mediante potenciales puramente repulsivos. Sin embargo, el aumento a bajos ángulos de $S(q)$ sugiere la existencia de una atracción adicional. Esta explicación no excluye otras posibles causas como la polidispersidad en carga de nuestros sistemas, ya que en el caso de los liposomas formados por un único tipo de fosfolípidos esta subida no es tan relevante.

4.- En este trabajo se han obtenido las funciones hidrodinámicas de dispersiones acuosas de liposomas. Éstas presentan las mismas peculiaridades que los factores de estructura, como la subida a bajos ángulos. Las teorías hidrodinámicas existentes predicen esta subida siempre que se introduzca como función de entrada en los cálculos los factores de estructura medidos experimentalmente. Sorprendentemente, la teoría inicialmente desarrollada para explicar la hidrodinámica de sistemas puramente repulsivos, sigue siendo válida

para sistemas que aparentemente muestran signos de contribuciones atractivas.

5.- Existe cierta falta de acuerdo entre los resultados encontrados en la bibliografía sobre la dependencia de $H(q_{max})$ con la concentración de partículas en sistemas cargados. Unos autores observan una tendencia decreciente, correspondiente a esferas duras, mientras que otros describen un aumento y valores superiores a uno para $H(q_{max})$. En la mayoría de estos trabajos los sistemas estudiados están dispersados en medios no acuosos impidiendo estimaciones fiables de las cargas superficiales. En nuestro trabajo, donde se han estudiado sistemáticamente sistemas acuosos con distintas cargas superficiales, se ha encontrado en todos los casos una tendencia creciente con la fracción de volumen. El aumento es tanto menos importante cuanto menor es la estructuración del sistema.

6.- El análisis de la dinámica a tiempos largos, nos ha permitido localizar una transición de fase fluido-sólido en el sistema que posee cargas intermedias. La función de correlación presenta dos caídas en todo el intervalo de concentraciones estudiado. El tiempo largo de relajación de la función de dispersión apenas evoluciona hasta una determinada fracción de volumen donde, de repente, la dinámica se congela y el tiempo de relajación a tiempos largos diverge. La dinámica de los sistemas ergódicos es típica de movimientos no acoplados, mientras que en la región no ergódica existe un único tiempo característico que define toda la dinámica del sistema indicando la presencia de movimientos acoplados. Trabajos de simulación, que han considerado un potencial de interacción entre partículas compuesto por una contribución repulsiva de largo alcance junto con una atracción de corto alcance, apuntan a la formación de cúmulos constituidos por varias partículas coexistiendo con un mar de

partículas individuales. Esta organización espacial podría explicar las propiedades difusivas y los factores de estructura encontrados en nuestros sistemas. Los $S(q)$ obtenidos por simulación muestran dos picos, uno correspondiente a las correlaciones partícula-partícula y el otro situado a bajos q que representa las correlaciones entre cúmulo-cúmulo. Aunque nosotros no detectamos un máximo, se podría deber a que éste queda fuera de la ventana de vectores de dispersión accesible experimentalmente.

En un futuro y para completar este estudio se podría intentar proponer un potencial realista producto de la suma de una atracción de corto alcance y una repulsión de largo alcance para calcular los factores de estructura resultantes, bien por simulación o mediante la resolución de ecuaciones integrales. De esta forma, ajustando los $S(q)$ experimentales es posible cuantificar la subida de $S(q)$ en cada uno de los sistemas y realizar un estudio comparativo más exhaustivo.

Otro aspecto interesante sería la realización de experimentos de dispersión a muy bajos ángulos, para conocer si existe un máximo o por el contrario $S(q)$ crece monótonamente hasta $q=0$.

This is a summary of the PhD Thesis titled “3D-Nanostructures formed by liposomes: Static and Dynamic Properties” . This Thesis is going to be presented by Catalina Esther Haro Pérez to achieve an European PhD at the same time as a Spanish PhD.

Summary

Since the publication of the first papers (in the 1960's), liposomes have become a major area of research, which nowadays goes on expanding. On the one hand, their biocompatibility makes them ideal candidates for the delivery of drugs and other agents of therapeutic value. On the other hand, they could be used as valuable models for the study of more complex biological systems such as cellular membranes.

Irrespective of their application, lipid vesicles can be considered colloids whose stability is theoretically described in terms of classical colloidal forces [Ohki1999]. In our opinion, there are few studies focused on the interaction between liposomes considered as colloidal particles (e.g. colloidal structures, interplay between diffusion coefficient and volume fraction). Particularly, if liposomes are charged (as a result of the dissociation of chemical groups), electrostatic forces will have a considerable effect on their behaviour. This work deals with the long-ranged electrostatic interaction appearing at low ionic strengths. Any progress in the knowledge of these forces can potentially contribute to the better understanding and control of the processes in which liposomes are involved. For

instance, long-range forces have a considerable influence on diffusion phenomena [Haro-Pérez2003]. Thus in the case of lipid vesicles, their usefulness as carriers could depend (to great extent) on these forces. Besides, essential biological processes (such as adsorption and transport mechanisms) of charged species across the cellular membrane are mainly established by these interactions as well [Liu2001].

Our general aim in this Thesis was to contribute to the knowledge of the structure and dynamics of aqueous dispersions of charged liposomes at low ionic strengths. Liposomes consist of a thin bilayer of phospholipids enclosing an aqueous volume. This makes them ideal candidates for light scattering with no need of index match [Haro-Pérez2005]. From the static and dynamic structure factors measured by Static and Dynamic Light Scattering, the hydrodynamic interactions can be evaluated. The lack of experimental results in aqueous solutions and the large interest of liposome dispersions in Biology are the main reason of this research. We perform a systematic study of the dynamic and static properties by varying the surface charge and the volume fraction of the aqueous suspensions.

In this work, liposomes are formed by egg phosphatidylcholine, PC, and phosphatidylserine, PS. They were obtained according to the lipid film method. Multilamellar liposomes were formed by constant stirring and sonication. Then they were downsized to form unilamellar liposomes by extrusion through polycarbonate membranes. This method produced unimodal distribution of vesicles [Hunter1998]. By varying the proportion PS:PC, 5 types of liposomes were prepared. Phosphatidylserine, at the pH of the experimental conditions, carries a net negative charge. On the contrary, phosphatidylcholine, which is a zwitterionic phospholipid, has a null net charge. This fact permitted us

to vary the number of charged groups per particle by changing the ratio PS:PC.

The main findings of this research are divided into two sections:

STATIC PROPERTIES

In order to determine the structure factor, the dependence of the scattered intensity on q (or, equivalently, on the scattering angle, θ) for a reference sample, i.e. without spatial ordering, (I_0) is required. These data are obtained from a dilute sample ($\Phi \sim 0.2\%$ volume fraction) where a certain amount of salt is added to screen the electrostatic interactions.

Then, the intensity scattered by the different ordered dispersions $I(q)$ are registered as a function of the wave vector. For the determination of the structure factor this intensity needs to be normalized by the reference scan as it is shown in the next equation

$$S(q) = \frac{\rho_0}{\rho} \frac{I(q)}{I_0(q)} \quad (1)$$

where ρ_0 is the particle number density of the system composed by non-interacting particles, and ρ is the particle number density of the structured dispersion.

The samples were diluted from the stock solution at the desired concentration, and deionized with an ion exchanger (Amberlite NRM-150) in sealed quartz cells. The theoretical analysis was performed solving the Ornstein-Zernike equation with the HNC approximation

and assuming a repulsive Yukawa pair interaction potential between particles [*Haro-Pérez2003b*].

-Local Order Dependence with Particle Charge

A non-monotonous dependence of the local structure in dispersions of charged liposomes has been observed by varying the surface charge of the vesicles for a given volume fraction. The appearance of a maximum in the height of the main peak of the structure factor as the surface charge is increased cannot be described in terms of the well-known Alexander's model. In contrast, a renormalization theory based on the *jellium* model explains, at least qualitatively, the experimental findings. However, this approach might fail significantly in the case of highly structured colloidal dispersions as a result of assuming a completely disordered suspension in the theoretical calculation of the electrostatic potential.

In order to confirm this result, similar experiments were performed with latex dispersions. We measured the static structure factor of different latex dispersions with different surface charges but similar size at a fixed volume fraction. We observed a reentrant phase (liquid-crystal-liquid) which means that a maximum in the local order is found at an intermediate particle surface charge.

-Local Order Dependence with Particle Concentration

The concentration dependence of the position and height of the interparticle peak confirms the repulsive nature of the interactions between vesicles. Nevertheless, further analysis of the statics shows hallmarks of an additional attraction as the structure factors displays an upturn at low wave vector.

DINAMYC PROPERTIES

The dynamic structure factor depends on the direct potential interaction between the colloidal particles and on the indirect hydrodynamic interactions mediated by the solvent. Hydrodynamic interactions arise from the flow patterns generated in the surrounding fluid by the moving particles. The effect of direct and hydrodynamic interactions on the particle diffusion is described by the widely known expression [Pusey1991]:

$$\frac{D_{eff}(q)}{D_0} = \frac{H(q)}{S(q)} \quad (2)$$

where $D_{eff}(q)$ and D_0 are the effective and the single particle diffusion coefficient, respectively. $H(q)$ contains the configuration-averaged effect of hydrodynamic interactions on the particle dynamics. To describe theoretically $H(q)$ in charged systems, the more extended approximations are the modified Beenakker-Mazur (BM) formalism [Genz1991] and the pairwise additivity (PA) approximation of Nägele et al [Nägele1997]. These theories have been used with different degrees of success in order to explain experimental findings [Nägele1996], [Hartl1999]. In our opinion, to test these theories using new experimental data is interesting since the interplay between direct and hydrodynamic interactions in relatively dense systems is still an open question. In order to check the validity of the existing hydrodynamic theories several structures were formed for increasing liposome concentrations from 0.07% to 2.9% volume fraction.

Concerning the dynamic properties, the inverse normalized short time effective diffusion coefficient D_0/D_{eff} curves versus qa

show surprising similarities with their corresponding static structure factors $S(q)$. Un atypical upturn at the collective regime, a maximum occurring at the same scattering vector q_{max} $S(q)$ has their first peak and the oscillatory behavior for $q > q_{max}$. The increase in the inverse normalized diffusion coefficient reflects that the dynamics in the collective regime slows down, which is typical of dispersions with an attractive term in the pair interaction potential. Moreover, the main peak shifts with concentration to larger q values in the same way $S(q)$ does. This link between structure and dynamics is well-known [Ackerson1976].

In all cases, we obtained $H(q)$ by combining the effective diffusion coefficient $D_{eff}(q)$ and the measured static structure factor according to Eq. 2, which enables to determine the $H(q)$ function without taking recourse to any theoretical model beforehand. All the curves show common features: An increase at low- q values followed by a minima resembling the one of $S(q)$ and the presence of a pronounced peak (concentration dependent) at the same position as the particle-particle correlation peak of the static structure factor. The height and the width of the main peak increase with ϕ whose value is bigger than unity close to the position of the static structure factor peak position q_{max} . This feature indicates hydrodynamic interactions speed up the system dynamics in the vicinity of the particle correlation peak, feature that has been previously observed in charged systems [Härtl1999], [Rojas2003]. For a more detailed analysis, we perform different theoretical approaches to explain our experimental results. As the particles we are dealing with are highly charged, we tried to fit the experimental $H(q)$ according to the Modified Beenakker and Mazur Formalism and the PA approximation. The novelty of our findings is that the Beenakker Mazur formalism, in principle devised to describe hydrodynamic interactions in hard spheres systems, and

later adapted to charged particles, has now been applied to systems that show hallmarks of attraction. Moreover this theory provides a good qualitative description of the experimental hydrodynamic functions.

LONG TIME DYNAMICS

The dynamic properties at short and long times are evaluated in order to construct a phase diagram of volume fraction versus the bare charge of the liposomes. In particular, the system constituted by 50% of charged and 50% of neutral phospholipids undergoes an abrupt ergodic to non-ergodic as the volume fraction increases without occurrence of crystallization. Dynamic scattering experiments show that the long time decay of the dynamic structure factor does not change considerably for a range of relatively low volume fraction, but after a certain value the liposome dispersion get almost frozen, provoking the divergence of the long time decay of intermediate correlation function. On the contrary, the static structure factors measured by light scattering develop as predicted and no significant differences are found between the ergodic and nonergodic phases. This result could agree with the hypothesis that the fluid-solid transition is dynamic rather than structural [Segrè1995]. The pronounced peak of $S(q)$, that confirms the highly interacting nature of our system, evolves both in height and position as pure repulsive systems.

Nevertheless, other main experimental findings:

- i) The high values of $S(q)$ at low wave vectors
- ii) The presence of two step decays in the correlation function even at low volume fractions

iii) The sharp liquid-solid transition

suggest that the mechanism driving the suspension to the arrested state is not due to a homogenously crowding of the system but a coexistence of low and high-density phases [*Sciortino2004*], where the latter spans as the transition is approached.

Referencias y bibliografía

- 1.- [Ackerson1976] B. J. Ackerson, *J. Chem. Phys.*, **64** (1976) 242.
- 2.- [Alexander1984] Alexander S., Grant P.M., Morales G.J., Pincus P. and Horne D., *J. Chem. Phys.*, **80** (1984) 5776.
- 3.- [Alexander2002] Alexander M., Rojas-Ochoa L.F., Leser M., and Schurtenberger P., *J. Colloid and Interface Sci.*, **253** (2002) 35.
- 4.-[Armengol1995] Armengol X. and Estelrich J., *J. Microencapsulation*, **12** (1995) 525.
- 5.- [AvantiPolar2004] www.avantipolar.com.
- 6.- [Baeumner2004] Baeumner A. and Durst R., *Bioanalyt. Techn. LabPlus Int.*, **18** (2004) 21.
- 7.- [Banchio1999] Banchio A. J., Bergenholtz J. and Nägele G., *Phys. Rev. Lett.*, **82** (1999) 1792.
- 8.- [Banchio1999] Banchio A. J., Nägele G. and Bergenholtz J., *J. Phys. Chem.*, **111** (1999) 8721.

-
- 9.- [Beck1999] Beck C., Härtl W. and Hempelmann R., *J. Phys. Chem.*, **111** (1999) 8209.
- 10.- [Beenaker1983] Beenaker C.W.J., and Mazur P., *Physica A*, **120** (1983) 388.
- 11.- [Beenakker1984] Beenakker C.W.J. and Mazur P., *Physica A*, **126** (1984) 349.
- 12.- [Belloni2000] Belloni L., *J. Phys. Condens. Matter*, **12** (2000) R549.
- 13.- [Bengtzelius1984] Bengtzelius J., Götze W. and Sjölander A., *J. Phys. C*, **17** (1984) 5915.
- 14.- [Bengtzelius1986] Bengtzelius U., *Phys. Rev. A*, **34** (1986) 5059.
- 15.- [Beresford-Smith1985] Beresford-Smith B., Chan D.Y.C. and Mitchel D.J., *J. Colloid Interface Sci.*, **105** (1985) 216.
- 16.- [Berne1990] Berne B. and Pecora R., “*Dynamic light scattering*”, Wiley (1990).
- 17.- [Brown1975] Brown J.C., Pusey P.N., Goodwin J.W. and Ottewill R.H., *J. Phys. A: Math. Gen.*, **8** (1975) 664.
- 18.- [Brown1975] Brown J.C., Pusey P.N., Goodwin J.W. and Otewill R.H., *J. Phys. A*, **8** (1975) 3096.
- 19.- [Carbajal-Tinoco2002] Carbajal-Tinoco M. D. and González-Mozuelos P., *J. Chem. Phys.*, **117** (2002) 2344.

-
- 20.- [Chen1992] *Structure and Dynamics of Strongly Interacting Colloids and Supramolecular Aggregates in Solution* ed. by Sow-Hsin Chen, John S. Huang and Piero Tartaglia, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1992).
- 21.- [Cichocki1991] Cichocki B. and Felderhof B.U., *J. Chem. Phys.*, **94** (1991) 563.
- 22.- [Cichocki1999] Cichocki B., Felderhof B.U., Hinsen K. Wajnryb E. and Blawdziewicz, *J. Chem. Phys.*, **100** (1999) 3780.
- 23.- [Claessens2003] Claessens M. M. A. E., *PhD Thesis*, Laboratory of Physical Chemistry and Colloid Science, Wageningen Universiteit, (2003).
- 24.- [Crocker1994] Crocker J. C. and Grier D. G., *Phys. Rev. Lett.*, **73** (1994) 352.
- 25.- [Cullis1985] Cullis P.R., Hope M.J., de Kruijff B., Verkleij A.J. and Tilcock C.P.S., in Kuo, J. F. (Ed.); *Phospholipids and Cellular Regulation, Vol. 1.*; CRC Press: Boca Raton, (1985).
- 26.- [D'Aguanno1991] D'Aguanno B. and Klein R., *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **87** (1991) 379.
- 27.- [D'Aguanno1992] D'Aguanno B., and Klein R., *Phys. Rev. A*, **46**, (1992) 7652.
- 28.- [Dhont1996] Dhont J.K.G., "An introduction to Dynamics of Colloids", Elsevier (1996).

-
- 29.- [Gang1995] Gang H., Krall A.H. and Weitz D.A., *Phys. Rev. E*, **52** (1995) 6289.
- 30.- [Genz1991] Genz U. and Klein R., *Physica A*, **171** (1991) 26.
- 31.- [Götze1991] Götze W., in *Liquids, Freezing and the Glass Transition*, Les Houches Session 51, 1989, edited by D. Levesque, J. P. Hansen and J. Zinn-Justin (North-Holland, Amsterdam,1991).
- 32.- [Gradzielski1997] Gradzielski M., Bergmeier M., Müller M. and Hoffmann H., *J. Phys. Chem. B*, **101** (1997) 1719.
- 33.- [Grübel2000] Grübel G., Abernathy D. L., Riese D. O., Vos W. L. and Wegdam G.H., *J. Appl. Cryst.*, **33** (2000) 424.
- 34.- [Hansen1982] Hansen J.P. and Hayter J.B., *Mol. Phys.*, **46** (1982) 651.
- 35.- [Hansen1992] Hansen J.P. and McDonald I.R., *Theory of Simple Liquids*, Academic Press, New York (1992).
- 36.- [Hansen2000] Hansen J.P. and Löwen H., *Ann. Rev. Phys. Chem.*, **51** (2000) 209.
- 37.- [Haro-Pérez2003] Haro-Pérez C., Quesada-Pérez M., Callejas-Fernández J., Casals E., Estelrich J. and Hidalgo-Álvarez R., *J. Chem. Phys.*, **118** (2003) 5173.
- 38.- [Haro-Pérez2003b] Haro-Pérez C., Quesada-Pérez M., Callejas-Fernández J., Casals E., Estelrich J. and Hidalgo-Álvarez R., *J. Chem. Phys.*, **119** (2003) 628.

-
- 39.- [Haro-Pérez2005] C. Haro-Pérez, M. Quesada-Pérez, J. Callejas-Fernández, R. Sabaté, J. Estelrich, R.Hidalgo-Álvarez, *Coll. Surf. A* (submitted).
- 40.- [Härtl1999] Härtl W., Beck Ch. and Hempelmann R., *J. Chem. Phys.*, **110** (1999) 7070.
- 41.- [Härtl2000] Härtl W., Beck Ch., Gierschner F. and Hempelmann R., *J. Phys. Condens. Matter*, **12** (2000) A287.
- 42.- [Hunter1987] Hunter R.J., *Foundations of Colloid Science (Vol. I)*, Oxford University Press, Oxford (1987).
- 43.- [Hunter1998] D.G. Hunter and B.J. Frisken, *Biophys. J.*, **74** (1998) 2996.
- 44.- [Jones1991] Jones R.B., Pusey P.N., *Annu. Rev. Phys. Chem.* **42**, (1991) 137.
- 45.- [Jones.1995] Jones M.N. and Chapman D., *Micelles, Monolayers and Biomembranes*. Ed. John Wiley & Sons, inc., New York (1995).
- 46.- [Joosten1990] Joosten J. G. H., Geladé E. T. F. and Pusey P. N., *Phys. Rev. A*, **42** (1990) 2161.
- 47.- [Kegel2000] Kegel W. K. and van Blaaderen, *Science*, **287** (2000) 290.
- 48.- [Koppel1972] Koppel D.E., *J. Chem. Phys.*, **57** (1972) 4814.

-
- 49.- [Ladd1996] Ladd A.J.C., *Phys. Rev. Lett.*, **76** (1996) 1392.
- 50.- [Lai1997] Lai S. K., Ma W.J., van Megen W. and Snook I.K., *Phys. Rev. E*, **56** (1997) 766.
- 51.- [Levin2003] Levin Y., Trizac E. and Bouquet L., *J. Phys. Condens. Mat.*, **15** (2003) S3523.
- 52.- [Liu2001] Y.Liu, E.C.Y. Yan, X. Zhao, and K.B. Eisenthal, *Langmuir* **17**, (2001) 2063.
- 53.- [Luisi1999] Luisi P.L., Walde P. and Oberholzer T., *Curr. Opin. Coll. Int. Sci.*, **4** (1999) 33.
- 54.- [Lumma2000] Lumma D., Lurio L. B., Borthwick M. A., Falus P. and Mochrie S. G. J., *Phys. Rev. E*, **62** (2000).
- 55.- [Marsh1990] Marsh D., *Handbook of Lipid Bilayers*, CRC Press, (1990).
- 56.- [Martín-Molina2003] Martín-Molina A., *Tesis Doctoral*, Universidad de Granada (2003).
- 57.- [Nägele1993] Nägele G., Kellerbauer O., Krause R. and Klein R., *Phys. Rev. E*, **47** (1993) 2562.
- 58.- [Nägele1994] Nägele G., Mandl-Steininger B., Genz U., Klein R., *Phys. Scripta T*, **55** (1994) 119.
- 59.- [Nägele1996] Nägele G., *Phys. Rep.*, **272** (1996) 215.

-
- 60.- [Nägele1997] Nägele G. and Baur P., *Physica A*, **245** (1997) 297.
- 61.- [O'Brien1978] O'Brien R.W. and White L.R., *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II*, **74** (1978) 1607.
- 62.- [Ohki1999] S. Ohki and H. Ohshima, *Colloids Surf. B*, **14** (1999) 27.
- 63.- [Ollivon2000] Ollivon M., Lesieur S., Grabielle-Madelmont C. and Paternostre M., *Biochim. Biophys. Acta*, **34** (2000) 1508.
- 64.- [Overbeck1999] Overbeck E., Sinn C. and Watzlawek M., *Phys. Rev. E*, **60** (1999) 1936.
- 65.- [Palberg1995] Palberg T., Mönch W., Bitzer F., Piazza R. and Belloni T., *Phys. Rev. Lett.*, **74** (1995) 4555.
- 66.- [Phalakornkul1996] Phalakornkul J.K., Gast A.P., Pecora R., Nägele G., Ferrante A., Mandl-Steininger B. and Klein R., *Phys. Rev. E*, **54** (1996) 661.
- 67.- [Philipse1988] Philipse A. P. and Vrij A., *J. Chem. Phys.*, **88** (1988) 6459.
- 68.- [Pusey1991] Pusey P.N., *Liquids, Freezing and Glass Transition*, volume session L1 of Les Houches, 763-942. Elsevier Science Publications, Les Houches, J.P. Hansen and D. Levesque and J. Zinn-Justin (1991).

-
- 69.- [*Quesada-Pérez1999*] Quesada-Pérez M., *Tesis Doctoral*, Universidad de Granada, (1999).
- 70.- [*Quesada-Pérez2002*] Quesada-Pérez M., Callejas-Fernández J. and Hidalgo-Álvarez R., *Adv. Colloid Interface Sci.*, **95** (2002) 295.
- 71.- [*Riese2000*] Riese D. O., Ewgdam G. H., Vos W. L., Sprik R., Fenistein D., Bongaerts J. H. H. and Grübel G., *Phys. Rev. Lett.*, **85** (2000) 5460.
- 72.- [*Riese2002*] Riese D.O., “*Fluid Dynamics in Charge Stabilized Colloidal Suspensions*”, Thesis, (2002).
- 73.- [*Robert2001*] Robert A., *PhD Thesis*, Universite Joseph Fourier, (2001).
- 74.- [*Rogers1984*] Rogers F.J. and Young D.A., *Phys. Rev. A*, **30** (1984) 999.
- 75.- [*Rojas2002*] Rojas L.F., Urban C., Shurtenberger P., Gisler T., and von Grünberg H. H., *Europhys. Lett.*, **60** (2002) 802.
- 76.- [*Rojas2003*] Rojas-Ochoa L. F., Vavrin R., Urban C., Kohlbrecher J., Stradner A., Scheffold F. and Schurtenberger P., *Faraday Discuss.*, **123** (2003) 385.
- 77.- [*Rojas2004*] Rojas Ochoa L. F., *PhD Thesis*, Institute de Physique, Université de Fribourg, (2004).
- 78.- [*Russ2002*] Russ C., von Grünberg H.H., Dijkstra M. and van Roij R., *Phys. Rev. E*, **66** (2002) 011402-1.

79.- [Russel1995] Russel W.B., Saville D.A., Colloidal Dispersions, Cambridge University Press, Cambridge (1995).

80.- [Schätzel1990] Schätzel K., Drewel M., and Ahrens J., *J. Phys.: Condens. Matter*, **2** (1990) SA393.

81.- [Schätzel1991] Schätzel K., *J. Mod. Opt.*, **38** (1991) 1849.

82.- [Sciortino2004] F. Sciortino, S. Mossa, E. Zaccarelli, and P. Tartaglia, *Phys. Rev. Lett.* **93** (2004) 055701.

83.- [Segrè1995] Segrè P. N., Behrend O. P. and Pusey P.N., *Phys. Rev. E*, **52** (1995) 5070.

84.- [Segrè1995b] Segrè P. N., Meeker S. P., Pusey P. N. and Poon W. C., *Phys. Rev. Lett.*, **75** (1995) 958.

84.- [Segrè1996] Segrè P. N. and Pusey P.N., *Phys. Rev. Lett.*, **77** (1996) 771.

85.- [Segrè2001] Segrè P. N., Prasad V., Schofield A.B. and Weitz D.A., *Phys. Rev. Lett.*, **86** (2001) 6042.

86.- [Sheng2004] Sheng Y. and Tsao H., *Phys. Rev E*, **69** (2004) 060401.

87.- [Sidebottom1992] Sidebottom D. L., Bergman R., Börjesson L. and Torell L. M., *Phys. Rev. Lett.*, **68** (1992) 3587.

-
- 88.- [Snook1983] Snook I., and Tough R.J.A., *J. Chem. Phys.*, **78** (1983) 5825.
- 89.- [Stradner2004] Stradner A., Sedwick H., Cardinaux F., Poon W. C. K., Egelhaaf S.U. and Schurtenberger P., *Nature*, **432** (2004) 492.
- 90.- [Szoka1980] Szoka F. and Papahadjopoulos D., *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, **9** (1980) 467.
- 91.- [Tanaka2000] Tanaka H. and Araki T., *Phys. Rev. Lett.*, **85** (2000) 1338.
- 92.- [Tanaka2004] Tanaka H., Meunier J. and Bonn D., *Phys. Rev. E*, **69** (2004) 031404.
- 93.- [Tokuyama2002] Tokuyama M., *Physica A*, **315** (2002) 321.
- 94.- [Trappe2001] Trappe V., Prasad V., Cipelletti L., Segrè P. N. and Weitz D. A., *Nature*, **411** (2001) 772.
- 95.- [Trizac2004] Trizac E. and Levin Y., *Phys. Rev. E*, **69** (2004) 031403.
- 96.- [Urban1998] Urban C. and Schurtenberger P., *J. Colloid Interface Sci.*, **207** (1998) 150.
- 97.- [Urban1999] Urban C., Herbert utz verlag, ETH-Zürich, (1999).
- 98.- [Van den Hul1968] van den Hul H.J. and Vanderhoff J.W., *J. Colloid Interface Sci.*, **28** (1968) 336.

99.- [van Megen1985] van Megen W., Ottewill R. H., Owen S. M. and Pusey P. N., *J. Chem. Phys.*, **82** (1985) 508.

100.- [van Megen1991] van Megen W., Underwood S. M. and Pusey P. N., *Phys. Rev. Lett.* **67** (1991) 1586.

101.- [van Megen1993] van Megen W. and Underwood S. M., *Phys. Rev. E*, **47** (1993) 248.

101.- [Wagner1991] Wagner N. J., Krause R., Rennie A. R., D'Aguanno and Goodwin J., *J. Chem. Phys.*, **95** (1991) 494.

102.- [Watzlawek1997] Watzlawek M. and Nägele G., *Phys. Rev E*, **56** (1997) 1258

103.- [Watzlawek1999] Watzlawek M. and Nägele G., *J. Colloid Interface Sci.*, **214** (1999) 170.

104.- [Wiese1991] Wiese H. and Horn D., *J. Chem. Phys.*, **94** (1991) 6429.

105.- [Yamanaka1998] Yamanaka J., Yoshida H., Koga T., Ise N. and Hashimoto T., *Phys. Rev. Lett.*, **80** (1998) 5806.

106.- [Ye1996] Ye X. , Narayanan T., Tong P. and Huang J. S., *Phys. Rev. Lett.*, **76** (1996) 4640.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a numerosas personas por lo que me gustaría que también aparecieran en este librito. Entre ellas están:

Mis directores: Roque Hidalgo Álvarez, José Callejas Fernández y Manuel Quesada Pérez. Gracias por confiar en mí y apoyarme en todo momento.

A Maria José Gálvez, que de una forma u otra fue la culpable de que entrara a formar parte del 13.

Al resto de profesores del grupo de Física de Fluidos y Biocoloides.

A Peter Schurtenberger y su todo su grupo por prestarme todos sus laboratorios y tratarme tan bien.

A Josetxo Ramos y Jacqueline Forcada de la Universidad del País Vasco por proveerme con los látex que he utilizado en este trabajo.

A Joan Estelrich, Raimon y Elisenda que me han suministrado todos los liposomas que he necesitado a lo largo de todos estos años.

Y...cómo no?? A todos los del 13. Saben que sin ellos esto no habría sido posible.

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por proporcionarme una beca y al Proyecto MAT2003-08356-CO4-01.

Y para terminar, a los que no tienen nada que ver con los coloides: mis padres, José Miguel, Diego y mis abuelillas. A mis amigos de siempre: Las Rojas, Sebas, M^a Carmen, Jose....