



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ**

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

**«Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός και
Μορφοκλασματική (Fractal) Ανάλυση της
Μορφολογίας Λιποσωμιακών Συστημάτων»**

Αναστασία – Γεωργία Πίππα

Φαρμακοποιός

Αθήνα 2012

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου κ. Κώστα Δεμέτσο για την ανάθεση του θέματος και την πολύτιμη καθοδήγησή του στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα για τις πολύτιμες συμβουλές του και για την ανεκτίμητη βοήθειά του σε κάθε βήμα των σπουδών μου.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον κ. Στέργιο Πίσπα, κύριο ερευνητή του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, για την καθοριστική συμβολή του στην εργασία αυτή, για την προθυμία του να με βοηθήσει σε κάθε δυσκολία με ευχάριστη διάθεση, τη συνεχή στήριξη και τις πολλές γνώσεις που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων της παρούσας εργασίας.

Ακόμη, ευχαριστώ θερμά τον κ. Μάνο Δανέζη, επίκουρο καθηγητή του Τμήματος Φυσικής, για την άψογη συνεργασία, τις πολύτιμες συμβουλές και γνώσεις του και την υπομονή του στη διάρκεια των μαθημάτων της Σύγχρονης Φυσικής και των Μαθηματικών.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την αδερφή μου και το πατέρα μου για τη δυνατότητα που μου έδωσαν να συνεχίσω τις σπουδές μου.

Στην αδερφή μου, Ευαγγελία

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ABSTRACT	8
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	9
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
1. ΓΕΩΜΕΤΡΙΑ ΜΟΡΦΟΚΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΟΛΩΝ Η ΓΕΩΜΕΤΡΙΑ FRACTAL.	10
1.1 Τα Μορφοκλασματικά Σύνολα στα Κolloειδή Συστήματα	12
1.2 Φαινόμενα συσσωμάτωσης και Μορφοκλασματικά συσσωματώματα.....	16
1.2.1 Εισαγωγή.....	16
1.3 Τι είναι ένα μορφοκλασματικό συσσωμάτωμα (Fractal Aggregates);	19
1.3.1 Αυτό-ομοιότητα (Self-similarity).	19
1.3.2 Μορφοκλασματική Διάσταση (Fractal Dimension).....	21
1.3.3 Φυσικά έσχατα όρια (Natural cut-offs).	22
2. ΜΟΡΦΟΚΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΩΝ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΩΝ.	24
2.1 Βασικό Θεωρητικό Υπόβαθρο.	24
2.2 Δομή Συσσωματώματος από Υπολογιστικές Προσομοιώσεις.....	28
3. ΣΚΕΔΑΣΗ: ΜΙΑ ΤΕΧΝΙΚΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ MASS FRACTAL ΔΙΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΩΝ.....	32
3.1 Τεκμήριο για τη δομή από το πρότυπο της γωνιακής έντασης (Structure inference from angular intensity pattern).....	32
3.1.1 Πληροφορία σχετικά με την τιμή τ μπορεί να λαμβάνεται από τη Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering).	35
3.2 Τεκμήριο για τη δομή από την κινητική της συσσωμάτωσης.....	39
3.3 Τεκμήριο για τη δομή από αλλαγές στην κατάσταση της συσσωμάτωσης.....	41
3.4 Τεκμήριο για τη δομή από τη διακύμανση της θολερότητας.....	43
3.4.1 Αναδιάρθρωση.....	43
4. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΣΗΣ	45
4.1 Συσσωμάτωση Περιορισμένη από τη διάχυση.....	45
4.1.1 Συσσωμάτωση Σωματιδίου-Συμπλέγματος περιορισμένη από τη Διάχυση	45

4.2	Συσσωμάτωση Συμπλέγματος-Συμπλέγματος περιορισμένη από τη διάχυση	49
4.3	Άλλοι μηχανισμοί συσσωμάτωσης.....	52
4.3.1	Βαλλιστική συσσωμάτωση.....	52
4.3.2	Χημικώς περιορισμένη συσσωμάτωση	54
4.3.3	Συσσωμάτωση με αναδιάρθρωση	56
5.	ΘΕΩΡΙΑ DLVO ΘΕΩΡΙΑ	59
5.1	Φυσικά Φαινόμενα και Γεωμετρία Fractals στην Μελέτη της Συμπεριφοράς των Λιποσωμάτων	62
5.1.1	Η κινητική του Φαινομένου της Συσσωμάτωσης.	63
5.2	Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λιποσωμάτων	64
5.3	Επέκταση Κλασσικής Φυσικής Θεωρίας DLVO	66
6.	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΠΕΚΤΑΣΗ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ DLVO ΜΕΤΑΞΥ ΣΦΑΙΡΙΚΩΝ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΩΜΑΛΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ.	69
6.1	Εισαγωγή.....	69
6.2	Ανάπτυξη μοντέλου.....	71
6.2.1	Ενέργεια αλληλεπίδρασης από την επέκταση της θεωρίας DLVO	71
6.2.2	Η Μέθοδος του Derjaguin.....	72
6.2.3	Μέθοδος ολοκλήρωσης των στοιχείων της επιφανείας.....	74
6.3	Αναλυτικό μοντέλο μεμβρανικής τραχύτητας	76
7.	ΜΕΓΕΘΟΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ: ΈΝΑΣ ΠΙΘΑΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΝΥΔΑΤΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΟΣΜΩΤΙΚΩΝ ΔΥΝΑΜΕΩΝ.....	80
7.1	Αλληλεπίδραση και συσσωμάτωση λιπιδικών κυστιδίων (θεωρία DLVO <i>versus</i> την τροποποιημένη θεωρία DLVO)	85
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	93
	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	93
8.	ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ	93
8.1	Οργανολογία για την Παρασκευή και το Φυσικοχημικό Χαρακτηρισμό Λιποσωμάτων .93	
8.2	Μέθοδος Παρασκευής Λιποσωμάτων DPPC και DPPC:cholesterol (9:1).....	96
8.2.1	Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός Λιποσωμάτων DPPC και DPPC:cholesterol (9:1)	96
8.3	Λυοφιλοποίηση.....	97
8.4	Δυναμική και Στατική Σκέδαση Φωτός.....	99
8.4.1	Σκέδαση Φωτός (Light Scattering) για την Μορφοκλασματική διάσταση.....	101

8.5	Φθορισμομετρία.....	102
8.5.1	Φθορισμόμετρο.....	102
8.5.2	Οργανολογία φθορισμομετρίας.....	102
9.	ΤΑ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΛΙΠΟΣΩΜΑΤΩΝ ΠΡΙΝ ΤΗ ΛΥΟΦΙΛΟΠΟΙΗΣΗ.....	104
9.1	Μετρήσεις Σταθερότητας.....	104
9.1.1	Μετρήσεις Σταθερότητας για τα DPPC λιποσώματα.....	105
9.1.2	Μετρήσεις Σταθερότητας για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα.....	109
9.1.3	Μετρήσεις Στατικής και Δυναμικής Σκέδασης σε FBS.	116
9.2	Ο ρόλος της Συγκέντρωσης.....	117
9.3	Ο ρόλος της Θερμοκρασίας.....	121
9.3.1	Ανάκτηση με νερό HPLC καθαρότητας.....	121
9.3.2	Ανάκτηση με FBS.....	126
9.4	Φθορισμομετρία.....	128
9.5	Ο λόγος R_g/R_h.....	130
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	131
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	133
	ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	139

Περίληψη

Η παρούσα μελέτη ασχολείται με το φυσικοχημικό χαρακτηρισμό (μέγεθος, πολυδιασπορά, ζ-δυναμικό) λιποσωμάτων σύστασης DPPC (διπαλμιτοϋλοφωσφατιδυλοχολίνης) και DPPC:cholesterol (σε μοριακή αναλογία 9:1) και των προσδιορισμό των μορφοκλασματικών τους διαστάσεων (μορφοκλασματική διάσταση της μάζας (mass fractal d_f) μορφοκλασματική επιφάνεια (surface fractal d_s)) σε υδατικό (νερό HPLC καθαρότητας) και σε βιολογικό (ορός πλάσματος βοοειδούς - FBS) μέσο. Η Δυναμική (Dynamic), η Στατική (Static) και η Ηλεκτροφορητική (Electrophoretic) Σκέδαση Φωτός (Light Scattering) καθώς και η Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy) χρησιμοποιήθηκαν ως πειραματικές τεχνικές για τη διασαφήνιση της δομής και των φυσικοχημικών παραμέτρων στη μελέτη της θερμοδυναμικής γήρανσης των λιποσωματικών συστημάτων σε δύο διαφορετικά μέσα, καθώς και τη δομική τους ανταπόκριση στις μεταβολές της συγκέντρωσης και της θερμοκρασίας. Η επέκταση της θεωρίας DLVO είναι το εργαλείο θεωρητικής προσέγγισης για την επεξήγηση της φαινομενολογίας της κolloειδούς συμπεριφοράς αυτών των συστημάτων καθώς και της διαδικασίας συσσωμάτωσής τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μορφοκλασματική διάσταση των DPPC λιποσωμάτων μειώθηκε στο FBS, ενώ για τα λιποσώματα DPPC:cholesterol (9:1) παρέμεινε ανεπηρέαστη και στα δύο μέσα διασποράς. Η δομή των λιποσωματικών συστημάτων, η κινητική τους και η fractal διάστασή τους ήταν σε συμφωνία με τα μοντέλα της Περιορισμένης από τη Διάχυση Συσσωμάτωσης Συμπλεγμάτων (Diffusion-Limited Cluster Aggregation - DLCA) και της Περιορισμένης από την Αντίδραση Συσσωμάτωσης Συμπλεγμάτων (Reaction-Limited Cluster Aggregation - RLCA). Αντίθετα, η υδροδυναμική ακτίνα (Hydrodynamic radius – R_h) βρέθηκε να είναι σταθερή κατά τη διάρκεια των μεταβολών των κolloειδών συνθηκών του συστήματος (συγκέντρωση και θερμοκρασία), κυρίως στις αλλαγές της συγκέντρωσης. Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη θα μπορούσε να συμβάλλει στον ορθολογικό σχεδιασμό προχωρημένων Νάνο - Συστημάτων Μεταφοράς Φαρμακομορίων της Νανοτεχνολογίας (advanced Drug Delivery nano Systems - aDDnSs) με βελτιωμένη φαρμακοκινητική συμπεριφορά, το οποίο θεωρείται μείζονος σημασίας για την αποτελεσματικότητά τους.

Abstract

The present study deals with the physicochemical characterization (size, polydispersity, ζ -potential) of Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) liposomes and DPPC: cholesterol (chol) (9:1 molar ratio) liposomes, and the determination of their fractal dimension (mass fractal (d_f) and surface fractal (d_s)), in an aqueous (HPLC grade water) and in a biological (Fetal Bovine Serum-FBS) medium. Dynamic, static and electrophoretic light scattering and fluorescence spectroscopy are used as experimental techniques to elucidate the structure and physicochemical parameters of liposomes in an ageing study in two different media, as well as their structural response in changes in concentration and temperature. The extended DLVO theory would be the tool to explain the phenomenology of the colloidal behavior in these systems and of their aggregation process. The fractal dimensionality of DPPC liposomes decreased while for DPPC: cholesterol (9:1) it remained unaffected in the two dispersion media. The structure of the liposomal systems, the process kinetics, and the fractal dimension are consistent with the Diffusion-Limited Cluster Aggregation (DLCA) and Reaction-Limited Cluster Aggregation (RLCA) models. On the contrary, hydrodynamic radius (R_h) was found to be stable during the variations of colloidal system conditions, especially due to concentration changes. Finally, we suggest that this study can be a rational road map to design advanced Drug Delivery nano Systems (aDDnSs) with improved pharmacokinetic profile which could be considered as crucial for their effectiveness.

Συντομογραφίες

DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholine	διπαλμιτοϋλοφωσφατιδυλοχολίνης
DDS	Drug Delivery Systems	Συστήματα Μεταφοράς Φαρμακομορίων
aDDnS	advanced Drug Delivery nano Systems	Προχωρημένα Νάνο - Συστήματα Μεταφοράς Φαρμακομορίων
d_f	Fractal dimension	Κλασματική Διάσταση
d_s	Surface fractal	Κλασματική Επιφάνεια
FBS	Fetal bovine serum	Ορός Πλάσματος Βοοειδούς
DLCA	Diffusion-Limited Cluster Aggregation	Συσσωμάτωση Συμπλεγμάτων Περιορισμένη από τη Διάχυση
RLCA	Reaction-Limited Cluster Aggregation	Συσσωμάτωση Συμπλεγμάτων Περιορισμένη από την Αντίδραση
R_h	Hydrodynamic radius	Υδροδυναμική Ακτίνα
PD.I.	Polydispersity Index	Δείκτης Πολυδιασποράς
DLS	Dynamic Light Scattering	Δυναμική Σκέδαση Φωτός
SLS	Static Light Scattering	Στατική Σκέδαση Φωτός
RGD theory	Rayleigh – Gans – Debye theory	Θεωρία των Rayleigh – Gans – Debye

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

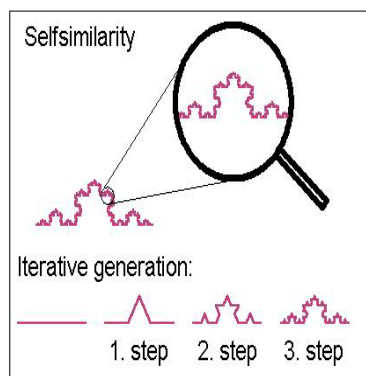
1. Γεωμετρία Μορφοκλασματικών Συνόλων ή Γεωμετρία Fractal.

Ο Benoît Mandelbrot εισήγαγε τον όρο *Fractal* το 1975, στο βιβλίο του με τίτλο «Τα fractal αντικείμενα», όπου παρουσίασε την ιδέα του για τη Γεωμετρία των Μορφοκλασματικών Συνόλων. Στα λατινικά *fractus* σημαίνει «σπασμένος» ή «κατακερματισμένος», ενώ *fragere* σημαίνει σπάω ή δημιουργώ ακανόνιστα σχήματα. Η ιδέα του Mandelbrot για τη νέα αυτή Γεωμετρία προκύπτει από τη σχέση: $Z_1 = Z_0^2 + C$. Με βάση τη σχέση αυτή ο υπολογισμός επαναλαμβάνεται κάθε φορά αρχίζοντας με μια συγκεκριμένη τιμή Z_0 και ύστερα αντικαθιστώντας την τιμή Z_0 με την τιμή Z_1 στον επόμενο υπολογισμό. Ο C αποδείχθηκε από τον Mandelbrot ότι όταν είναι πραγματικός αριθμός, δηλαδή 1,2,3 ή 4, τότε προκύπτουν κάποιες συμμετρίες, οι οποίες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον αν εμφανίζονται σε δεκαδικούς αριθμούς. Όταν η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται ένα εκατομμύριο φορές, ο αριθμός στον οποίο καταλήγει η παραπάνω σχέση βρίσκεται ανάμεσα στο -2 και στο 2 και από την ακολουθία των αριθμών προκύπτουν διάφορες συμμετρίες, οι οποίες γίνονται ορατές με τη βοήθεια ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή ο οποίος θα σχηματοποιήσει και θα απεικονίσει τις συμμετρίες αυτές. Η ομάδα των αριθμών αυτών που μπορούν να δημιουργήσουν ένα σχήμα ονομάζεται σύστημα Mandelbrot (Mandelbrot,1975; Moore, 2003). Ο Mandelbrot με την εξίσωση αυτή συνέδεσε τα Μαθηματικά, μέσω της Γεωμετρίας με τα φαινόμενα που συμβαίνουν στη Φύση. Το 1983, στο βιβλίο του με τίτλο «Η Fractal Γεωμετρία της Φύσης» (The Fractal Geometry of Nature), αναφέρει χαρακτηριστικά: «Τα σύννεφα δεν είναι σφαίρες, τα βουνά δεν είναι κώνοι, οι ακτογραμμές δεν είναι ημικύκλια, το γαύγισμα δεν είναι ομαλό, ούτε ο κεραυνός ακολουθεί ευθύγραμμη πορεία» (Mandelbrot,1982; Moore, 2003).

Με βάση όλα τα προηγούμενα προκύπτει το συμπέρασμα ότι κάθε μορφή μέσα στο φυσικό περιβάλλον απέχει πολύ από τη ευκλείδεια απλούστευση του σχήματος που δημιουργούν οι αισθήσεις μας ή οι ανάγκες των μετρήσεών μας. Η απόκλιση των πραγματικών φυσικών σχημάτων από το θεωρητικό σχηματισμό τους οδηγεί σε απόδραση από τη λογική της ευκλείδειας γεωμετρίας. Για παράδειγμα, η διάσταση της αντικειμενικής και φυσικής ευθείας δεν έχει την τιμή ένα, αλλά η τιμή της βρίσκεται μεταξύ του ένα και του δύο είναι δηλαδή κλασματική. Για τον ίδιο λόγο η τιμή της διάστασης του φυσικού και αντικειμενικού επιπέδου βρίσκεται μεταξύ των τιμών δύο

και τρία είναι δηλαδή πάλι κλασματική. Η ιδιότητα των κλασματικών διαστάσεων αποτελεί βασική ιδιότητα των μορφοκλασματικών μορφών (Mandelbrot,1975; Mandelbrot,1982; Moore, 2003). Αυτό που πρέπει να σημειωθεί είναι ότι μιλώντας για τη Γεωμετρία fractal, γίνεται αναφορά σε μια επέκταση της Ευκλείδειας Γεωμετρίας για κλασματικές διαστάσεις και όχι απόρριψή της. Αυτό σημαίνει πως αν η διάσταση σε ένα σχήμα fractal γίνει ακέραια, το σχήμα υπακούει αυτομάτως στην Ευκλείδεια Γεωμετρία.

Είναι φανερό ότι σχήματα fractal, κλασματικών διαστάσεων μικρότερων ή ίσων του τρία, γίνονται απευθείας αντιληπτά από τις ανθρώπινες αισθήσεις. Αντιθέτως, μορφοκλασματικές μορφές κλασματικών διαστάσεων μεγαλύτερων του τρία δεν γίνονται αντιληπτές από τις ανθρώπινες αισθήσεις, και έτσι αντί αυτών μελετάμε τις προβολές του u στα επίπεδα που σχηματίζονται από τους άξονες x , y και z , ή την προβολή τους μέσα σε ένα τρισδιάστατο χώρο, όταν αυτό είναι δυνατό. Η έννοια της κλασματικής διάστασης είναι ασφαλώς δυσνόητη πρακτικά, όσο και αν θεωρητικά μπορεί να γίνει κατανοητή η αναγκαιότητά της. Λέγοντας ότι η μορφοκλασματική διάσταση ενός σχήματος είναι 1,2618 (νιφάδα Κοχ) (Εικόνα 1), διαπιστώνεται ότι



είναι 26,18% μεγαλύτερη της διάστασης της γραμμής.

Ο αριθμός 0,2618 δίνει ένα μέτρο της απόκλισης της μορφοκλασματικής διάστασης από τη διάσταση 1 της ευθείας. Στην περίπτωση που εξετάζουμε έχουμε μια μέτρια απόκλιση. Αντιθέτως, αν είχαμε ένα σχήμα με μορφοκλασματική διάσταση 1,973 τότε η απόκλιση από την ευθεία είναι πολύ μεγάλη και μπορούμε να πούμε ότι το σχήμα είναι σχεδόν επίπεδο (Δανέζης Μ.

Εικόνα 1: Η νιφάδα του Κοχ. και Θεοδοσίου Σ., 2003).

1.1 Τα Μορφοκλασματικά Σύνολα στα Κολλοειδή Συστήματα

Η ανάπτυξη της ιδέας των μαθηματικών των Μορφοκλασματικών Συνόλων εμφύσησε νέα ζωή στις προσπάθειες για τον χαρακτηρισμό των κροκίδων (Flocs) με την υλοποίησή τους μέσα από πολλά κολλοειδή συστήματα, όπου δημιουργούνται οι μορφοκλασματικές δομές της μάζας (mass fractal structures). Το γεγονός αυτό επιτρέπει την αναπαράσταση των φαινομενικά ακανόνιστων και σύνθετων δομών των συσσωματωμάτων από απλές παραμέτρους όπως είναι οι μορφοκλασματικές διαστάσεις (fractal dimensions). Η τραχύτητα αυτή της δομής των κροκίδων μπορεί να χαρακτηριστεί από τις μορφοκλασματικές διαστάσεις της μάζας (mass fractal dimensions), όπως κατέδειξαν μια σειρά πειραμάτων και υπολογιστικών προσομοιώσεων. Τα πρώτα πειράματα, τα οποία ρητά ερεύνησαν τη μορφοκλασματική/fractal φύση των σωματιδίων των συσσωματωμάτων αναφέρθηκαν από τους Forrest και Witten το 1979. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές απέθεσαν μεταλλικά σωματίδια οξειδίου της αιθάλης (oxide smoke) σε υποστρώματα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (Transmission Electron Microscopy- TEM) και η mass fractal διάσταση προσδιορίστηκε με τεχνικές ανάλυσης της εικόνας (image analysis techniques). Σε μετέπειτα μελέτη, οι Schaefer και οι συνεργάτες του απέφυγαν τους εγγενείς περιορισμούς της προετοιμασίας του δείγματος από τους περιορισμούς που απαιτούνται από τις μεθόδους της Μικροσκοπίας, χρησιμοποιώντας τεχνικές σκέδασης φωτός και ακτίνες X (X-ray) για να μετρήσουν την mass fractal διάσταση των κολλοειδών συσσωματωμάτων του πυριτίου in situ. Από τότε μια ευρεία ποικιλία κολλοειδών συστημάτων έχει μελετηθεί χρησιμοποιώντας τεχνικές σκέδασης (scattering techniques). Αυτά τα συστήματα ποικίλουν, σωματίδια χρυσού, αιματίτη, μπετονίτη και άλλες μορφές αργίλου έχουν μελετηθεί με την συγκεκριμένη τεχνική. Πιο πρόσφατα, πειράματα καθίζησης (settling experiments) έχουν απασχολήσει τους ερευνητές για τον προσδιορισμό της συμπαγούς δομής μιας πληθώρας συσσωματωμάτων, συμπεριλαμβανομένου και συμπλεγμάτων από φυσική ζώσα ύλη όπως τα Άλγη (blue-green algae) (Bushell et al., 2002).

Η περισσότερη ερευνητική δραστηριότητα στη βιβλιογραφία έχει συντελεστεί στον προσδιορισμό της fractal διάστασης της συσσωμάτωσης κολλοειδών σωματιδίων με την παρουσία ηλεκτρολύτη. Οι Lin και οι συνεργάτες του (Lin et al., 1989; Lindsay et al., 1988; Lindsay et al., 1989) έχουν μελετήσει την «καθολικότητα» (“universality”) των fractal συσσωματωμάτων χρησιμοποιώντας τη σκέδαση του φωτός. Διερεύνησαν

τις δύο ακραίες περιπτώσεις (limiting regimes), που ονομάζονται, συσσωμάτωση συμπλεγμάτων περιορισμένη από τη διάχυση (Diffusion Limited Cluster Aggregation - DLCA) και συσσωμάτωση συμπλεγμάτων περιορισμένη από την αντίδραση (Reaction Limited Cluster Aggregation – RLCA), για τρία εντελώς διαφορετικά κολλοειδή σωματίδια: χρυσού, πυριτίου και πολυστυρενίου. Ανακάλυψαν ότι η συμπεριφορά των σωματιδίων κατά το φαινόμενο της συσσωμάτωσης είναι ανεξάρτητη από τη λεπτομερή χημική φύση των κολλοειδών συστημάτων. Οι fractal διαστάσεις των συσσωματωμάτων ήταν σε συμφωνία με εκείνα που λαμβάνονται από υπολογιστικές προσομοιώσεις και άλλες πρόσφατες εργασίες βασισμένες σε τεχνικές σκέδασης. Είναι τώρα γενικά αποδεκτό ότι στις περικινητικές διαδικασίες της σύμπτυξης (in perikinetetic coagulation processes), η mass fractal διάσταση των συσσωματωμάτων κυμαίνεται από 1,75 για DLCA (σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος) έως 2,1 για RLCA (σε χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος). Η χαμηλή fractal διάσταση για τα DLCA συσσωματώματα αντανακλά χαλαρές και ανοικτές στη φύση τους δομές στο σχηματισμό των συσσωματωμάτων. Υπάρχει μία ένδειξη ότι η τιμή d_f που λαμβάνεται μεταξύ 1,75 και 2,1 σχετίζεται με το λόγο της σταθερότητας Fuchs (Fuchs stability ratio), ένα μέτρο για την πιθανότητα προσκόλλησης (the sticking probability).

Οι δομικές πτυχές της κροκίδωσης μέσω πολυμερικής γεφύρωσης και τα κροκιδωμένα συσσωματώματα λόγω απεμπλουτισμού σε πολυμερές ανάμεσα στα πρωτογενή σωματίδια είναι λιγότερο γνωστά. Έχει πραγματοποιηθεί πειραματική έρευνα και υπολογιστικές προσομοιώσεις, οι οποίες υποδεικνύουν ότι η mass fractal διάσταση των κροκίδων λόγω της κροκιδωμένης πολυμερικής γεφύρωσης κυμαίνονται από 1,7 έως 2,5. Η δομή των κροκίδων, όπως έχει παρατηρηθεί, είναι ισχυρά εξαρτημένη από το μοριακό βάρος, την πυκνότητα του φορτίου (στην περίπτωση ενός πολύ-ηλεκτρολύτη (polyelectrolyte)) και τη διαμόρφωση του πολυμερούς που χρησιμοποιείται. Η δομή των επαγόμενων από την καταστροφή συσσωματωμάτων (depletion – induced aggregates) έχει πρόσφατα μόνο μελετηθεί. Η Μικρής – Γωνίας Στατική Σκέδαση Φωτός (Small – angle static light scattering) έχει χρησιμοποιηθεί για να παρουσιάσει ότι οι κροκίδες που σχηματίζονται με την προσθήκη ενός μη προσροφημένου πολυμερούς σε διασπορά σωματιδίων κολλοειδούς πολυστυρενίου ακολουθούν την ισχύ ενός νόμου συμπεριφοράς σκέδασης. Η παρατηρούμενη mass fractal διάσταση βρέθηκε ότι εξαρτάται από τη

συγκέντρωση του πολυμερούς, το μοριακό βάρος του πολυμερούς και την αρχική συγκέντρωση των σωματιδίων. Σε αντίθεση με τις πολύ χαμηλές τιμές που λαμβάνονται μέσω της επαγόμενης από την παρουσία άλατος συσσωμάτωσης (salt-induced aggregation), σημαντικά υψηλότερη τιμή για την mass fractal διάσταση παρατηρήθηκε στα κροκιδωμένα συσσωματώματα λόγω απεμπλουτισμού.

Ένας αριθμός τεχνικών για το χαρακτηρισμό τη δομής των συσσωματωμάτων έχει χρησιμοποιηθεί στη βιβλιογραφία. Υπολογιστικές προσομοιώσεις (computer simulations) έχουν διαδραματίσει ένα σημαντικό ρόλο στην κατανόηση της δομής των συσσωματωμάτων. Αυτό διότι είναι δύσκολο να επινοηθούν πραγματικά πειράματα, τα οποία να μπορούν να απομονώσουν έναν μηχανισμό συσσωμάτωσης, όπως ακριβώς αυτός πραγματοποιείται από τις υπολογιστικές προσομοιώσεις. Παρά όλα αυτά, η σημαντικότητα του άμεσου πειραματισμού δεν μπορεί να υπερεκτιμηθεί. Μεταξύ των πειραματικών τεχνικών οι οποίες συνήθως χρησιμοποιούνται μέχρι στιγμής στη βιβλιογραφία είναι αυτές της Σκέδασης (Φωτός, ακτίνων X ή Νετρονίων), Καθίζησης και Απεικόνισης (Scattering (light, X-ray, or neutron), Settling and Imaging). Ειδικότερα, είναι αυτές που μπορούν να παρέχουν μια γρήγορη και ακριβή μέτρηση για τη δομή των συσσωματωμάτων και είναι ευεργετικές για την πληρέστερη κατανόηση της σχέσης μεταξύ της δομής των συσσωματωμάτων και της συμπεριφοράς κατά το διαχωρισμό τους.

Η Μικρής – Γωνίας Στατική Σκέδαση Φωτός (Small – angle static light scattering) είναι μία τεχνική ιδιαίτερα χρήσιμη εξαιτίας της ταχύτητας για την εξαγωγή αποτελεσμάτων και επίσης λόγω του ανιχνευτή, ο οποίος μπορεί να πραγματοποιεί κατάλληλη μέτρηση κροκίδων που τυπικά εμπλέκονται στη διαδικασία διαχωρισμού στερεού – υγρού (solid-liquid separation process). Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας ως εργαλείο για τον χαρακτηρισμό των συσσωματωμάτων, με σκοπό τη βελτίωση της λειτουργικής αποδοτικότητας σε μια δεδομένη διαδικασία διαχωρισμού. Τεχνικές, όπως η καθίζηση και η ανάλυση εικόνας απαιτούν ένα ουσιαστικό χρονικό διάστημα για την απόκτηση δεδομένων και τα μόνα κατάλληλα για τον μη απευθείας-σύνδεσης χαρακτηρισμό τεχνικών, αν και αυτό μπορεί να υπερσχύσει σε κάποια έκταση με την ανάλυση της εικόνας. Η τεχνική της καθίζησης (settling technique) θέτει ένα ακόμη προβληματισμό για τον χαρακτηρισμό της δομής των κροκίδων δεδομένου ότι η υπόθεση των αδιαπέραστων σφαιρών που συχνά

χρησιμοποιείται δεν παρέχει ακρίβεια σχετικά με το μέγεθος των κροκίδων, το πορώδες και την ταχύτητα καθίζησης για μορφοκλασματικά συσσωματώματα υψηλού πορώδους. Εν τω μεταξύ, η συμβατική ανάλυση εικόνας είναι περιορισμένη για το χαρακτηρισμό της δομής των κροκίδων με mass fractal διάσταση όχι υψηλότερη από 2 . Από τη χωρίς σύνδεση τεχνικών απεικόνισης, όπως η ηλεκτρονική μικροσκοπία επίσης συνεπάγεται δειγματοληψία και υπάρχει κίνδυνος για την τροποποίηση τη δομής των κροκίδων κατά τη διάρκεια του χειρισμού του δείγματος και της πόλωσης στον προσανατολισμό της κροκίδας πάνω στη διαφάνεια, αφήνοντας για την εγκυρότητα της μεθόδου αναπάντητες ερωτήσεις.

Αν και αξιοσημείωτη προσοχή έχει δοθεί στη μορφοκλασματική κλιμάκωση (fractal scaling) κατά τον προσδιορισμό/μέτρηση της δομής μια κροκίδας ή ενός συσσωματώματος, δεν είναι επαρκής από μόνη της για τον πλήρη χαρακτηρισμό της δομής. Για παράδειγμα, η ισχύς της κροκίδας για αρκετά είδη είναι πιθανώς σχετιζόμενα με τον αριθμό και τον τύπο των δεσμών που υπάρχουν μεταξύ των πρωτογενών στοιχείων της δομής, κάτι σχετικά με το οποίο η mass fractal διάσταση μπορεί να πει πολύ λίγα. Υπάρχουν όμως άλλες μετρήσεις για τον προσδιορισμό της δομής των κροκίδων όπως ο αριθμός συντονισμού της κατανομής (the coordination number distribution), ο οποίος μπορεί να είναι περισσότερο σημαντικό από τη fractal διάσταση για ειδικές εφαρμογές.

1.2 Φαινόμενα συσσωμάτωσης και Μορφοκλασματικά συσσωματώματα

1.2.1 Εισαγωγή

Οι περισσότερες από τις διαθέσιμες φυσικές θεωρίες μπορούν να εξηγήσουν τη δομή της Ύλης και οι οποίες είναι θεωρίες που αφορούν καταστάσεις σε ισορροπία, στις οποίες τα πραγματικά αντικείμενα του υλικού κόσμου δομούνται υποθέτουμε από πολύ αργούς αντιστρεπτούς μηχανισμούς (reversible mechanisms). Ωστόσο, τα περισσότερα από τα φυσικά αντικείμενα που συναντώνται στον φυσικό πραγματικό κόσμο δομούνται με ένα ολοσχερώς μη αντιστρεπτό (irreversible) και χαώδη (ή «ακατάστατο») (disordered) τρόπο (Kolb,1986). Σε αντίθεση με την αντιστρεπτή ανάπτυξη, όπου κάποιες ενοποιημένες αντιλήψεις είναι διαθέσιμες, όπως η «καθολικότητα» (universality) στην αντίληψη της θεωρίας, σε μη αντιστρεπτές διαδικασίες στις λεπτομέρειες του μηχανισμού ανάπτυξης, φαίνεται να διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην αιτιοκρατία του αποτελέσματος στη σχηματοποίηση/μορφοποίηση των αντικειμένων. Εισήχθηκε περίπου το 1975, η θεωρία των Μορφοκλασματικών Συνόλων που επιτρέπει μια ποσοτική ανάλυση των περισσότερων ιδιομορφιών αυτών των πολυδαίδαλων φυσικών αντικειμένων. Ακόμη, δεν είναι αρκετά απλό να αναγνωρίσουμε τα αντικείμενα του φυσικού κόσμου ως μορφοκλασματικά, αλλά θα πρέπει να γίνει κατανοητό γιατί είναι μορφοκλασματικά (Jullien 1987; Wolf, 1988).

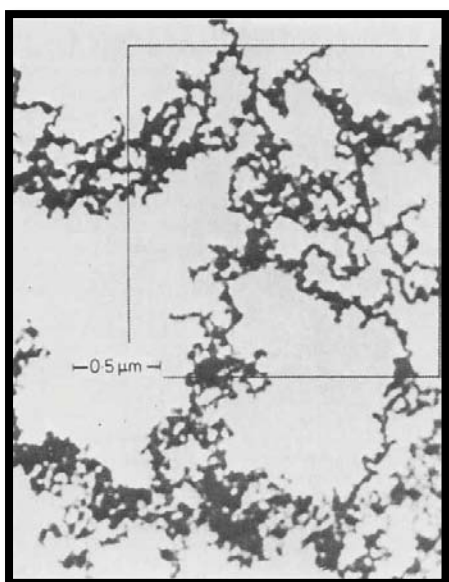
Πριν μερικά χρόνια εισήχθησαν ορισμένα απλά θεωρικά μοντέλα για να καταστήσουν εφικτό το πώς «χτίζονται» οι μορφοκλασματικές δομές, οι οποίες είναι σε ενθαρρυντική συμφωνία με τα πειράματα. Στην περίπτωση των φαινομένων συσσωμάτωσης, για τα οποία μεγάλη εξέλιξη έχει συντελεστεί πρόσφατα με αριθμητικούς υπολογισμούς, οι οποίοι βασίζονται σε θεωρητικά μοντέλα λειτουργούν πολύ βοηθητικά στη διασαφήνιση της γενεσιουργού φύσης των μη αναστρέψιμων διαδικασιών. Μετά την εξασφάλιση των τυπικών πειραματικών παραδειγμάτων, περιγράφεται η μορφοκλασματική συσσωμάτωση και εισάγεται η ειδική περίπτωση των μοντέλων συσσωμάτωσης περιορισμένης από τη διάχυση (diffusion – limited aggregation) (Meakin, 1983) και τις πιο πρόσφατες βελτιώσεις τους.

1.2.1.1 Πειραματικό παράδειγμα.

Υπάρχουν πολλά παραδείγματα μορφοκλασματικών συσσωματωμάτων στο φυσικό κόσμο, ηλεκτροεναποθέσεις (electrodeposits) και συσσωματώματα που λήφθηκαν από τη διαδικασία της διήθησης, σε αυτά που σχηματίστηκαν/μορφοποιήθηκαν από τη συσσωμάτωση των κolloειδών σωματιδίων (colloidal particles) ή των αερολυμάτων (aerosols) (σκόνη, αιθάλη, καπνός, κ.ά.). Ένα τυπικό πειραματικό παράδειγμα, έχει επιλεγεί για να τα περιγράψει. Το παράδειγμα λήφθηκε από τους Forest και Witten (1979), στο οποίο ο μορφοκλασματικός χαρακτήρας των συσσωματωμάτων σε ένα αερόλυμα παγιώθηκε για πρώτη φορά, σύμφωνα με τις γνώσεις μας (Jullien 1987; Witten and Sander 1981; Kolb 1986). Σε αυτό το πείραμα, μία λεπτή στρώση από ψευδάργυρο ή σίδηρο εναποτέθηκε σε ένα καλώδιο από βολφράμιο. Μία δυνατή ηλεκτρική τάση εφαρμόστηκε γρήγορα μέσα στο καλώδιο, το οποίο είχε συγκρατηθεί μέσα σε ένα θάλαμο, που περιείχε ένα ουδέτερο αέριο. Το υλικό που συγκρατήθηκε στο λεπτό μεταλλικό επίστρωμα είναι εκείνο που μετέπειτα ξαφνικά θερμάνθηκε και για αυτό έγινε διασπορά μέσα στο θάλαμο με σχηματισμό ενός αερολύματος αποτελούμενο από σφαιρικά σωματίδια διαμέτρου μερικών νανομέτρων. Αυτά τα σωματίδια, αιωρούνται σε μια αερώδη ατμόσφαιρα, μετά άρχισαν να υποβάλλονται σε διάχυση/βαθμιαία ανάμειξη λόγω της κίνησης Brown (diffusive Brownian motion) μέσα στο θάλαμο. Δοθέντος ότι η αμοιβαία αλληλεπίδραση των σωματιδίων είναι μικρής εμβέλειας εξαιτίας των δυνάμεων van der Waals, τα σωματίδια «αγνοούν» αποτελεσματικά την αλληλεπίδραση του ενός του άλλου, αφού ο σχετικός διαχωρισμός τους παραμένει αρκετά μεγάλος. Είναι μόνο όταν, εξαιτίας της τυχαίας κίνησης, δύο σωματίδια έρχονται σε στενή επαφή και υφίστανται συγκόλληση μη αντιστρεπτή, σχηματίζοντας ένα συσσωμάτωμα, το οποίο έχει την ικανότητα να διαχέεται ανάμεσα στα σωματίδια. Μετά ένα μικρό συσσωμάτωμα (που αποτελείται δηλαδή από μικρό αριθμό σωματιδίων) μπορεί να υποστεί συγκόλληση με άλλο συσσωμάτωμα ή άλλα σωματίδια, δομώντας όλο και μεγαλύτερα συσσωματώματα. Συσσωματώματα αποτελούμενα από περισσότερα από δέκα χιλιάδες σωματίδια και εκτείνονται σε μέγεθος του ενός πολλοστημορίου του χιλιοστομέτρου μπορεί τελικά να επιτευχθούν με τον τρόπο αυτό. Όμως, όταν τα συσσωματώματα εκτείνονται σε αυτά τα μεγέθη, ξεκινούν να καθιζάνουν/να κατακρημνίζονται. Αυτός ο μη αναστρέψιμος μηχανισμός ονομάζεται συσσωμάτωση περιορισμένη από τη διάχυση (diffusion – limited aggregation), καθώς η διάχυση των

συμπλεγμάτων (cluster) διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό της κινητικής της διαδικασίας, καθώς και στο αποτέλεσμα του σχηματισμού των συμπλεγμάτων (cluster) (Witten and Sander, 1981; Witten and Sander, 1983).

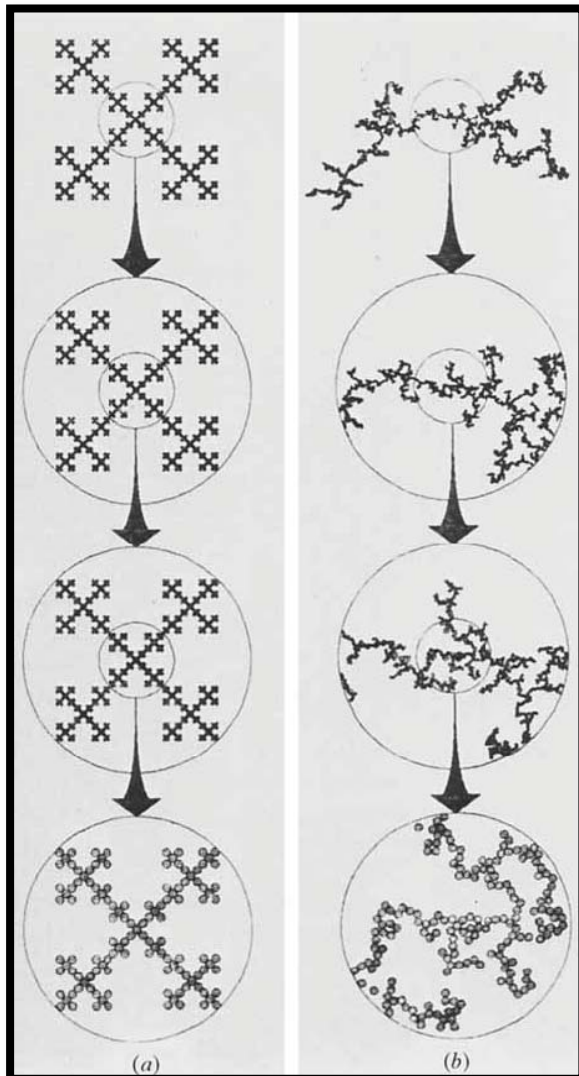
Η **εικόνα 2** παρουσιάζει μέρος του συσσωματώματος του σιδήρου που λήφθηκε από τους Forrest και Witten (1979), το οποίο εναποτέθηκε στο πλέγμα του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Από αυτή την οπτική γωνία στο πείραμα τίποτα πραγματικά δεν θα έχει επιτευχθεί, για τη μελέτη της συσσωμάτωσης των αερολυμάτων, καθώς επίσης και των κολλοειδών συσσωματωμάτων, η οποία είχε εκτεταμένα μελετηθεί στη δεκαετία του 1960. Η αληθινή συνεισφορά στην κατεύθυνση αυτή πραγματοποιήθηκε, όταν ψηφιοποίησαν και ποσοτικά ανέλυσαν τις φωτογραφίες, όπως είναι η διπλανή, και ο «μορφοκλασματικός» χαρακτήρας αυτών των λεπτών και άτακτων αυτών δομών ήρθε στο φως.



Εικόνα 2: Ψηφιακή Μικρογραφία ενός συσσωματωμένου αερολύματος (από τους Forrest και Witten 1979)

1.3 Τι είναι ένα μορφοκλασματικό συσσωμάτωμα (Fractal Aggregates);

1.3.1 Αυτό-ομοιότητα (Self-similarity).



Εικόνα 3: Η απεικόνιση της ιδιότητας της αυτό-ομοιότητας στην περίπτωση (α) αιτιοκρατικού και (β) ακανόνιστου μορφοκλασματικού συσσωματώματος. Το κορυφαίο πλαίσιο δείχνει το πραγματικό συσσωμάτωμα. Τα πλαίσια παρακάτω δείχνουν διαδοχικές μεγεθυσεις της κεντρικής περιοχής.

Η λέξη “fractal” (=μορφοκλασματικός) εισήχθηκε από το Benoit Mandelbrot (1975,1982) για να περιγράψει τα τραχεία (ρυτιδωμένα ή πτυχωτά) αντικείμενα, των οποίων το ακανόνιστο σχήμα (“regosities”) γίνεται εμφανές σε μεγάλο εύρος της κλίμακας μήκους. Τα απλούστερα είναι τα αυτό-όμοια μορφοκλασματικά σύνολα (self-similar fractal), των οποίων η δομή παραμένει σταθερή σε περίπτωση αλλαγής της κλίμακας. Ένα τυπικό και αρκετά διδακτικό παράδειγμα αυτό-όμοιων μορφοκλασματικών συσσωματωμάτων (self-similar fractal aggregate) που δομούνται με δισκόμορφα σχηματισμένα σωματίδια σε δύο διαστάσεις παρουσιάζεται στην κορυφή της δομής της **Εικόνας 3(α)**. Είναι μικρής αξίας, όπως αναφέρεται και στο βιβλίο του Mandelbrot’s (Mandelbrot 1975), ότι μια τέτοια φωτογραφία είχε ληφθεί από τον E.E. Fournier d’ Albe το 1907 για να περιγράψει την ιεραρχική δομή του

φυσικού κόσμου. Τώρα είναι γνωστά ως «μορφοκλασματικά σύνολα του Vicsek» (“Vicsek fractal”), όταν χρησιμοποιήθηκε από τον Tomas Vicsek για το περιβάλλον των φαινομένων της συσσωμάτωσης. Αυτό το είδος μορφοκλασματικών συνόλων

μπορούν να δομηθούν με την ακόλουθη ακριβή και αιτιοκρατική περιγραφή (Vicsek et al., 1987; Kantor and Shapir, 1985). Ξεκινώντας, ένα σωματίδιο πλαισιώνεται από τέσσερα άλλα σωματίδια σχηματίζοντας ένα σταυρό. Μετά η μορφή αυτή αντιμετωπίζεται ως ενιαία και μοναδική και για αυτό ονομάζεται «μονάδα-πυρήνας» (“unit cell”): αυτό πλαισιώνεται σε κάθε γωνία από την ίδια δομή της «μονάδας-πυρήνα» και έτσι συνεχίζεται ο σχηματισμός. Στην κορυφή του σχηματισμού της **Εικόνας 3(α)** η μέθοδος έχει σταματήσει στην έκτη επανάληψη όταν στο συσσωμάτωμα εμπεριέχονται $5^6=15625$ σωματίδια. Κάτω από αυτό το σχηματισμό φαίνεται το κεντρικό μέρος του συσσωματώματος σε επιτυχείς μεγεθύνσεις. Υπό την προϋπόθεση ότι ο ανθρώπινος οφθαλμός δεν μπορεί να αναλύσει όλα τα ξεχωριστά σωματίδια του σχήματος εμφανίζεται να είναι ιδανικό, για να μπορέσουμε να το χαρακτηρίσουμε ως αυτό-όμοιο (self-similar). Αν συνεχίσουμε να δομούμε/«χτίζουμε» το συσσωμάτωμα για αόριστο χρόνο χρησιμοποιώντας την ίδια επαναληπτική διαδικασία, δεν υπάρχει όριο στον αριθμό των επιτυχών μεγεθύνσεων και αυτό θα αποδοθεί στο υπόδειγμα των αυτό-όμοιων μορφοκλασματικών συνόλων (self-similar fractal). Ωστόσο, στο συγκεκριμένο υπόδειγμα μετά από έξι επαναληπτικά βήματα της διαδικασίας, μπορεί κάποιος να ξεκινήσει την αναγνώριση μεμονωμένων/ξεχωριστών σωματιδίων, όπως μπορεί να δει κάποιος να δει στην τελευταία μεγέθυνση στο κάτω μέρος του σχήματος.

Ένα άλλο παράδειγμα αυτό-όμοιων μορφοκλασματικών συσσωματωμάτων, τα οποία εμφανίζουν στενή ομοιότητα με τα συσσωματώματα που μελετώνται στα πειράματα, είναι «ακατάστατα» μορφοκλασματικά συσσωματώματα (disordered fractal aggregate) που παρουσιάζονται στην **Εικόνα 3(b)**. Σε αυτή τη σύνθεση κάποια τυχειότητα φαίνεται να έχει εισαχθεί. Ο μηχανισμός «σύμπλεγμα - σύμπλεγμα» (“cluster-cluster mechanism”) παρουσιάζεται στη σύνθεση των συσσωματωμάτων που περιγράφηκε παραπάνω. Οφειλόμενες στην τυχειότητα οι επιτυχείς μεγεθύνσεις δεν είναι ακριβώς ιδανικές όπως παρουσιάζονται στην **Εικόνα 3(b)**. Τα μεγεθυμένα μέρη όμως παρουσιάζουν στατιστική ισότητα με το πραγματικό συσσωμάτωμα στο ίδιο πείραμα. Η αυτό-ομοιότητα δεν είναι μόνο αληθινή στο μέσο όρο των μεγεθών.

1.3.2 Μορφοκλασματική Διάσταση (Fractal Dimension)

Μια άλλη αξιοπρόσεκτη ιδιότητα των αυτό-όμοιων φυσικών αντικειμένων όπως αυτά που παρουσιάζονται στην **Εικόνα 3** προκύπτει αν κάποιος υπολογίσει τον αριθμό των σωματιδίων N στο εσωτερικό κύκλου ακτίνας R γύρω από το σωματίδιο στο ή κοντά στο κέντρο του συσσωματώματος. Οπότε μπορεί να προκύψει η μαθηματική σχέση:

$$N \sim R^{d_f} \quad (1)$$

Ο εκθέτης d_f ονομάζεται μορφοκλασματικός εκθέτης της μορφοκλασματικής διάστασης (fractal exponent on fractal dimension) (Wolf, 1988; Jullien, 1987).

Η μορφοκλασματική διάσταση μπορεί να θεωρηθεί ως το μέτρο του βαθμού κατάληψης του ενσωματωμένου χώρου από τα σωματίδια του συσσωματώματος. Αν τα σωματίδια ήταν απλά ευθυγραμμισμένα κατά μήκος μίας ευθείας γραμμής, κάποιος επουσιωδώς θα διαπίστωνε ότι $d_f=1$, αν τα σωματίδια είχαν τοποθετηθεί σε μια δι-διάστατη διάταξη θα ίσχυε $d_f=2$. Ουσιαστικά για τις περισσότερες συμπαγείς διατάξεις, ή για κάθε ομοιογενή διαρρύθμιση, μέσα στο χώρο το υ αριθμο ύ των διαστάσεων, η μορφοκλασματική διάσταση είναι ίση με τη διάσταση του χώρου ($d_f=d$). Οπότε για ένα μορφοκλασματικό συσσωμάτωμα, η μορφοκλασματική διάσταση d_f είναι μικρότερη από τη διάσταση του χώρου d και μπορεί να μην είναι ακέραιος αριθμός. Στην περίπτωση του συσσωματώματος της **Εικόνας 3(α)**, κάποιος μπορεί εύκολα να αντιληφθεί ότι όταν η ακτίνα του κύκλου πολλαπλασιάζεται με τον παράγοντα 3, ο αριθμός των σωματιδίων που εμπεριέχονται σε αυτόν πολλαπλασιάζεται με τον παράγοντα 5. Η μορφοκλασματική διάσταση είναι τότε $\ln 5 / \ln 3 = 1.4649$. Στην περίπτωση των ακανόνιστων μορφοκλασματικών συσσωματωμάτων (disordered fractal) όπως αυτά παρουσιάζονται στην **Εικόνα 3(β)** κάποιος μπορεί να πραγματοποιήσει κατά μέσο όρο αρκετά στατιστικώς ισοδύναμα συσσωματώματα για να ανακτήσει ένα φυσικό νόμο με αρκούντως σωστή ακρίβεια (η μορφοκλασματική διάσταση των συσσωματωμάτων που παρουσιάζονται στην **Εικόνα 3(β)** είναι περίπου 1.5). Η κλασματική φύση του d_f φαίνεται να είναι ενδεικτική της ενδιάμεσης κατάστασης μεταξύ των σωματιδίων τα οποία ευθυγραμμίζονται και αυτών που διατάσσονται με έναν ολοκληρωτικά ομοιογενή τρόπο.

Επιπροσθέτως, αν υπολογιστεί η πυκνότητα της ύλης μέσα σε μία σφαίρα ακτίνας R , μπορεί να προσδιοριστεί ένα μορφοκλασματικό αντικείμενο, αυτό διαφέρει ως:

$$\frac{R^{d_f}}{R^d} \equiv R^{-(d-d_f)} \quad (2)$$

Αυτό είναι ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό των μορφοκλασματικών συνόλων, το μεγαλύτερο τμήμα το οποίο μελετάται, διαθέτει τη μικρότερη πυκνότητα. Αυτό υποδηλώνει ότι όλες οι κοιλότητες σε όλη την κλίμακα είναι παρούσες μέσα στη δομή.

Μια άλλη στενά σχετιζόμενη ιδιότητα που εμπλέκεται στη συνάρτηση της συσχέτισης σωματιδίου-σωματιδίου $p(r)$, η οποία μετρά την πιθανότητα να ευρεθεί ένα σωματίδιο σε απόσταση r από ένα δεδομένο σωματίδιο. Αυτή η συσχέτιση εκφράζεται μαθηματικά σύμφωνα με το νόμο:

$$p(r) \propto r^{-(d-d_f)} \quad (3)$$

ο οποίος εμφανίζει μια στενή ομοιότητα με το νόμο που επηρεάζει τη συμπεριφορά της «κρίσιμης» ύλης (“critical” matter) κοντά σε μία δευτεροταξική μετάβαση φάσης.

Σε αυτό το σημείο, περιοριζόμαστε στην απλούστερη περίπτωση των αυτό-όμοιων μορφοκλασματικών συνόλων για τα οποία δεν υπάρχει αμφισημία για τον ορισμό της μορφοκλασματικής διάστασης. Ωστόσο για περισσότερο σύνθετα μορφοκλασματικά σύνολα που έχουν μελετηθεί, όπως τα «αυτό-συναφή» (ή «αυτό-σχετικά» ή «αυτό-συγγενή» ή «αυτό-κηδεστής»), (“self-affine” fractal), για τα οποία υπάρχουν διαφορετικές μορφοκλασματικές διαστάσεις κατά μήκος διαφορετικών κατευθύνσεων του χώρου. Ξεχωριστή προσοχή θα πρέπει να δοθεί στα «πολλαπλά-μορφοκλασματικά σύνολα» (“multi-fractal”) για τα οποία χρειάζονται άπειρες ανεξάρτητες μορφοκλασματικές διαστάσεις για τον πλήρη καθορισμό όλων των ιδιοτήτων τους.

1.3.3 Φυσικά έσχατα όρια (Natural cut-offs).

Είναι σημαντικό να τονίσουμε τη διάκριση μεταξύ των μορφοκλασματικών συσσωματωμάτων τα οποία είναι μαθηματικά («άυλα») αντικείμενα συμπεριλαμβανομένου και του άπειρου αριθμού των απειροστά μικρών σωματιδίων

για τα οποία οι παραπάνω ιδιότητες είναι ακριβείς, και τα μορφοκλασματικά συσσωματώματα τα οποία συναντώνται στον πραγματικό κόσμο, για τα οποία η αυτό-ομοιότητα (Self-similarity) και οι δυναμικές ιδιότητες παρατηρούνται μόνο σε ένα οριακό εύρος του μήκους τους. Τα φυσικά έσχατα όρια (Natural cut-offs) είναι το τυπικό φυσικό μέγεθος a των ξεχωριστών σωματιδίων και το φυσικό μέγεθος L του συσσωματώματος αυτού καθεαυτού. Το συσσωμάτωμα τότε εξετάζεται ως μορφοκλασματικό αν η χαρακτηριστική δυναμική συμπεριφορά του παρατηρείται σε ένα μεγάλο εύρος της ακτίνας R λαμβάνοντας τιμές μεταξύ a και L , και αν τα δύο έσχατα όρια αρκούντως καλά διαχωρισμένα.

2. Μορφοκλασματική περιγραφή της δομής των Συσσωματωμάτων.

2.1 Βασικό Θεωρητικό Υπόβαθρο.

Η Μορφοκλασματική Γεωμετρία (Fractal Geometry) έχει λάβει σημασία λέξης-συμβόλου από την απαρχή της από τον Mandelbrot το 1977. Αυτή η «δημοφιλία» της στηρίζεται στην υπόθεση μια βαθύτερης κατανόησης των σύνθετων, χαοτικών και μη διατεταγμένων συστημάτων, τα οποία έχουν αντικατασταθεί από συμβατικές γεωμετρικές προσπάθειες να τα μοντελοποιήσουν.

Όπως ισχύει στο χαρακτηρισμό λεπτών σωματιδίων, το κατά ουσίαν χρήσιμο χαρακτηριστικό της fractal γεωμετρίας είναι η αναγνώριση της ακανόνιστης συμμετρίας (dilatational symmetry) (ή του αναλλοίωτου της κλίμακας/ scale invariance) ως ένα μέτρο του χαρακτηρισμού των δομών. Η μαθηματική έκφραση που ενσαρκώνει την όλη ιδέα της fractal δομής των συσσωματωμάτων είναι πολύ απλή:

$$M \sim R^{-d_f} \quad (4)$$

Όπου M είναι η μάζα των σωματιδίων, R είναι η ευθύγραμμη μέτρηση του μεγέθους, και d_f είναι η mass fractal διάσταση, η οποία είναι ένα μέτρο της κλίμακας μεγέθους και ένα βαθμός του πόσο ακανόνιστη είναι η δομή. Αυτή η μαθηματική έκφραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να συνδέσει μια σειρά διαφορετικών εννοιών: M μπορεί να αναπαριστά τη μάζα και R την ακτίνα ενός συγκεκριμένου συσσωματώματος, όπως και αυτή τη συλλογή των συσσωματωμάτων διαφορετικών μεγεθών με συνολική εμφάνιση μορφοκλασματικής κλιμάκωσης: ή μια κλίμακας μεγέθους μικρότερης από αυτή των μεμονωμένων σωματιδίων, το R αναπαριστά ένα νοητό σφαιρικό όριο με επίκεντρο ένα βασικό σωματίδιο και το M τότε νοείται το ποσό της μάζας που περιέχεται μέσα σε αυτή στη σφαίρα. Η σταθερά της αναλογικότητας μπορεί να είναι διαφορετική αλλά η μορφοκλασματική κλιμάκωση (fractal scaling) είναι η ίδια και στις δύο περιπτώσεις (Mandelbrot, 1982) .

Αν και το μεγαλύτερο μέρος της βιβλιογραφίας σε αυτό το θέμα εκφράζει την ανησυχία του σχετικά με δομές συσσωματωμάτων που έχουν σχηματιστεί από σφαιρικά σωματίδια που βρίσκονται σε μονοδιασπορά, η διάκριση μεταξύ της μάζας και του αριθμού σπάνια πραγματοποιείται. Είναι αρκετά συχνό για τους συγγραφείς

να γράφουν την μαθηματική εξίσωση (4) από τη σκοπιά του αριθμού των σωματιδίων N και αναφέρονται στην ποσότητα d_f ως mass fractal διάσταση, αν και είναι λεπτό σημείο της σημασιολογίας γιατί η mass fractal και η number fractal διάσταση είναι ακριβώς το ίδιο πράγμα, όταν τα σωματίδια είναι σε μονοδιασπορά. Πράγματι, ακόμη και όταν τα σωματίδια βρίσκονται σε πολυδιασπορά, η mass fractal διάσταση και ο αριθμός των fractal διαστάσεων έχει αποδειχθεί ότι είναι οι ίδιες – αν ληφθεί υπόψη η κλιμάκωση της μάζας (mass scaling) ή η κλιμάκωση του αριθμού της διάστασης (number scaling) για την έκφραση που διαφέρει μόνο με μία σταθερά αναλογίας (Zhou and Chu, 1991).

Αυτό γίνεται ειδικότερα, σχετικά με την έννοια της μαθηματικής έκφρασης (4) όσον αφορά τη συνολική κλιμάκωση του συσσωματώματος, και συχνά γράφεται ως:

$$N = k_g \left(\frac{R_g}{r_0} \right)^{d_f} \quad (5)$$

Όπου R_g είναι η γεωμετρική ακτίνα του συσσωματώματος, r_0 είναι η ακτίνα του πρωταρχικού σωματιδίου (από το οποίο ξεκίνησε η συσσωμάτωση) και k_g αναφέρεται ως παράγοντας δομής (structure prefactor). Ο δείκτης g προστίθεται στον παράγοντα δομής εδώ για να τον συνδέσει σαφώς με το γραμμικό μέγεθος του συσσωματώματος, που ορίζεται όσον αφορά τη γεωμετρική ακτίνα, η οποία είναι η μέση τετραγωνική ρίζα της απόστασης των στοιχείων της μάζας από το κέντρο βάρους του συσσωματώματος. Η σημασία της γεωμετρικής ακτίνας είναι ότι αντανακλά ένα μέγεθος που μετράται από πειράματα Σκέδασης στο Rayleigh – Gans – Debye (RGD) όριο. Μπορεί εύκολά να οριστεί το γραμμικό μέγεθος με την έννοια μιας «εξωτερικής ακτίνας» (“external radius”) R_c , και συνδέεται μέσω της ισχύος ενός νόμου με τον παράγοντα k_c ή μάλιστα κάθε άλλο γραμμικό μέτρο του μεγέθους.

Όταν γίνεται αναφορά στην fractal κλιμάκωση της έκφρασης (4) όσον αφορά τη δομή εντός ενός συσσωματώματος, που συχνά συνιστά τη συνάρτηση πιθανότητας αυτοσυσχέτισης (the density autocorrelation function). Αυτό είναι ένα μέτρο της πιθανότητας να βρεθεί το σωματίδιο σε απόσταση r από κάθε άλλο σωματίδιο στο συσσωμάτωμα, σύμφωνα με την εξίσωση:

$$g(r) = g(|r_j - r_i|) = \frac{1}{4\pi} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \varphi(r_i) \frac{\varphi(r_j)}{|r_j - r_i|} \quad (6)$$

Η κύρια αβεβαιότητα (main uncertainty) για το $g(r)$ είναι ο τρόπος με τον οποίο θα πρέπει να ελαττωθεί η συνάρτηση στο μηδέν. Προφανώς, για αποστάσεις r μεγαλύτερες από το μέγεθος του συσσωματώματος, η πυκνότητα των σωματιδίων θα είναι μηδενική, διότι η περιοχή του προς εξέταση χώρου είναι εκτός του συσσωματώματος. Σε κλίμακες πολύ μικρότερες από το συσσωμάτωμα, αλλά μεγαλύτερη από τα πρωταρχικά σωματίδια, αναμένεται να διαθέτουν fractal κλιμάκωση σύμφωνα με τη σχέση:

$$g(r) \sim r^{df-3} \quad (7)$$

Η συμπεριφορά σε μεγάλη κλίμακα είναι συχνά αυτή που συνεισφέρει στον πολλαπλασιασμό της fractal κλιμάκωσης όρος που ορίζεται από το έσχατο όριο της συνάρτησης $h(r, \xi)$ (cut – off function), όπου αναγκάζει τη συνάρτηση πυκνότητας αυτοσυσχέτισης να μειωθεί στο μηδέν:

$$\rho[g(r) - 1] \sim r^{df-3} h(r, \xi) \quad (8)$$

Η μορφή αυτή από το έσχατο όριο της συνάρτησης λαμβάνεται, όπως έχει συζητηθεί από πολλούς συγγραφείς, χωρίς γενικές ομοφωνίες διαφορετικές από την εκθετική μορφή $h(x, \xi) = e^{-x/\xi}$ είναι μια φτωχή περιγραφή και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί. Παρά το γεγονός αυτό, δημοσιεύσεις χρησιμοποιώντας την εκθετική αυτή μορφή ακόμη εμφανίζονται. Η επικάλυψη των σφαιριδίων που σχηματίζουν το έσχατο όριο της συνάρτησης πρώτα περιγράφηκε από τους Hosemann και Bagchi (1962) και αργότερα υιοθετήθηκε από τους Hurd και Flower (1988) και τροποποιήθηκε από τους Zeng και Meriani (1994) εμφανίζεται να είναι μια καλή προσέγγιση.

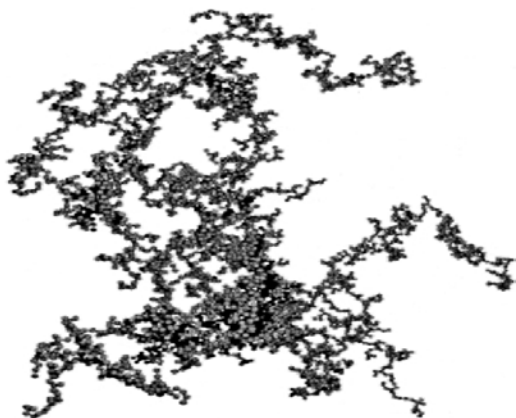
Μορφοκλασματική δομή συσσωματώματος (Fractal aggregate structure) σημαίνει ότι αρκετές ιδιότητες συσσωματώματος παρουσιάζουν μία ισχύ νόμου κλιμάκωσης. Μία ενδιαφέρουσα συνέπεια της fractal mass κλιμάκωσης είναι η πυκνότητα των fractal αντικειμένων που δεν είναι σταθερή όπως συνήθως θεωρείται στην περίπτωση των στερεών δομών. Αυτό ακολουθεί ευθέως τη μαθηματική έκφραση (5) κατά την οποία το πορώδες ε ενός συσσωματώματος σχετίζεται άμεσα με το μέγεθός του σύμφωνα με τη σχέση:

$$(1 - \varepsilon) = k_x \left(\frac{R_x}{r_0} \right)^{df-3} \quad (9)$$

Όπου ο δείκτης x αναφέρεται σε έναν ειδικό τρόπο ορισμού της ακτίνας R του συσσωματώματος και η ισχύς του νόμου για τον παράγοντα k_x πρέπει να είναι συνεπής με τον ορισμό.

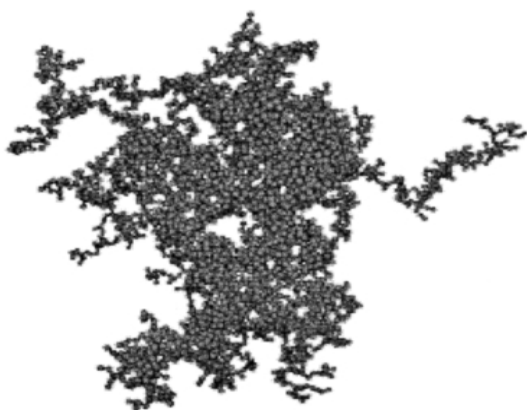
Η fractal διάσταση δεν μπορεί να πάρει μια οποιαδήποτε τιμή. Αν και μια ομάδα μη συνδεδεμένων σημείων, όπως τα σωματίδια σκόνης Cantor (Cantor dust) μπορεί να διαθέτει fractal διάσταση μικρότερη του ενός, για ένα αντικείμενο να παραμείνει μια μοναδική οντότητα συνδεδεμένη στη fractal διάστασή της πρέπει να είναι το λιγότερο μονάδα γιατί η γραμμή είναι ο πιθανός τρόπος για τη σύνδεση μίας ομάδας σημείων. Επίσης, η fractal διάσταση πρέπει να είναι μικρότερη ή ίση με τη διάσταση του χώρου μέσα στον οποίο το fractal αντικείμενο υπάρχει. Σε περίπτωση που δεν ισχύει η παραπάνω προϋπόθεση, ο χώρος δεν μπορεί να «περιέχει» τα fractal αντικείμενα. Κάθε αντικείμενο το οποίο μπορεί να βρεθεί σε μια πραγματική φυσική διαδικασία πρέπει ως εκ τούτου να έχει mass fractal διάσταση $1 \leq d_f \leq 3$.

2.2 Δομή Συσσωματώματος από Υπολογιστικές Προσομοιώσεις.



Εικόνα 4: Προσομοιωμένα συσσωματώματα σε όριο λαμβανόμενο από συσσωμάτωση συμπλεγμάτων περιορισμένη από τη διάχυση.

και στα συμπλέγματα να διαχέονται σύμφωνα με μια ειδική τροχιά (ή την κίνηση Brown ή γραμμική) και προσκολλούν μη αντιστρεπτά (σύμφωνα με μία καθορισμένη πιθανότητα) χωρίς καμία αναδιάρθρωση σε ένα είδος επαφής. Αυτός ο τύπος προσομοίωσης επιβάλλει φυσικά όρια με αποτέλεσμα η fractal διάσταση να κυμαίνεται $\sim 1,8 \leq d_f \leq 2,1$.



Εικόνα 5: Προσομοιωμένα συσσωματώματα σε όριο λαμβανόμενο από συσσωμάτωση συμπλεγμάτων περιορισμένη από την αντίδραση.

μεταξύ των συμπλεγμάτων είναι ίσες με την πιθανότητα να σχηματίσουν ένα δεσμό και έτσι ένα νέο συσσωμάτωμα. Αυτή είναι γνωστή ως συσσωμάτωση συμπλεγμάτων

Πραγματικές διεργασίες οι οποίες σχηματίζουν φυσικά fractals πιθανώς να επιβάλλουν ακόμα πιο αυστηρούς περιορισμούς όσον αφορά το εύρος πιθανών fractal διαστάσεων. Μια απλή υπολογιστική προσομοίωση της κολλοειδούς συσσωμάτωσης, η οποία έχει ευρέως μελετηθεί είναι το μοντέλο της

συμπλέγματος-συμπλέγματος συσσωμάτωσης (the cluster-cluster aggregation model). Αυτός ο τύπος προσομοίωσης επιτρέπει στα σωματίδια

Η χαμηλότερη τιμή προέρχεται όταν η σύγκρουση μεταξύ των συμπλεγμάτων πάντοτε έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός δεσμού. Αυτή είναι γνωστή ως συσσωμάτωση συμπλεγμάτων περιορισμένη από τη διάχυση ή DLCA όριο και παράγει αρκετά αδύναμες ανοιχτές δομές, όπως αυτές που παρουσιάζονται στην **Εικόνα 4**. Η υψηλότερη τιμή είναι αποτέλεσμα μιας σύγκρουσης που σχεδόν ποτέ δε σχηματίζει δεσμούς, και για αυτό όλες οι φυσικές πιθανές διαμορφώσεις

περιορισμένη από την αντίδραση ή RCLA όριο και παράγει δομές που είναι αρκετά δυνατές και απότομες αλλά και αισθητά περισσότερο συμπαγείς και φαίνονται ισχυρότερες από τα DLCA συσσωματώματα. Ένα προσομοιωμένο συσσωμάτωμα που παράγεται στο RCLA όριο παρουσιάζεται στην **Εικόνα 5**. Παρά τον απλό αλγόριθμο, υπάρχει μια καλή απόδειξη ότι αυτός ο τύπος του μοντέλου περιγράφει ακριβώς το εύρος των κολλοειδών συσσωματωμάτων τα οποία μπορούν να παρατηρηθούν στο εργαστήριο. Οι Thouy και Jullien ανέφεραν ότι το μοντέλο συσσωμάτωσης συμπλέγματος –συμπλέγματος (cluster – cluster aggregation model) με fractal διάσταση ως μία ρυθμιζόμενη παράμετρος δεν θα μπορούσε να παράγει δομές με μία fractal διάσταση υψηλότερη κατά προσέγγιση από 2,55 σε τρισδιάστατο χώρο, διότι η γεωμετρία των συμπλεγμάτων τα εμποδίζουν να λαμβάνουν χώρο αρκετά κοντά για να δημιουργήσουν υψηλότερες fractal διαστάσεις (Thouy and Jullien, 1996). Αν και αυτό το όριο έχει νόημα για πραγματικά συστήματα παραμένει προς μελλοντική διερεύνηση.

Αν και η διεργασία της συσσωμάτωσης καθορίζει τη fractal διάσταση, η fractal διάσταση δεν είναι επαρκής για να χαρακτηρίσει τη διαδικασία που λαμβάνει χώρα για να πραγματοποιηθεί η συσσωμάτωση. Το γεγονός αυτό το ψάξι από τους Meakin και Jullien οι οποίοι δείχνουν ότι η DLCA με μια απλή αναδιάρθρωση του αλγόριθμου παράγει δομές με την ίδια fractal διάσταση με αυτή της RLCA. Τέτοια φαινόμενα αναδιάρθρωσης παράγουν επιπρόσθετους δεσμούς και ως εκ τούτου σχηματίζουν δομές μεγαλύτερης ισχύος (Meakin and Jullien, 1988). Αν και η fractal διάσταση μπορεί να συσχετισθεί με το αριθμό συντονισμού (the coordination number), σε αρκετά συστήματα είναι το αποτέλεσμα της αναδιάρθρωσης (restructuring) ενώ δεν υπάρχει θεωρητική σχέση μεταξύ αυτής και του αριθμού των δεσμών στη δομή. Είναι πολύ πιθανό να ποικίλει η fractal διάσταση και ο αριθμός συντονισμού της συσσωματωμένης δομής ανεξαρτήτως, για αυτό η δύναμη του συσσωματώματος είναι προτιμότερο να χαρακτηρίζεται από μια τιμή, όπως η μέση τιμή του αριθμού συντονισμού σε σύγκριση με τη fractal διάσταση.

Συσσωματώματα αποτελούμενα από λεπτά σωματίδια δεν είναι πραγματικά fractals με την αυστηρή έννοια του όρου, επειδή η κλιμάκωση τους μπορεί να παρατηρηθεί μόνο σε ένα ορισμένο εύρος της κλίμακας μεγέθους. Αυτά μπορούν να ονομαστούν φυσικά μορφοκλασματικά σύνολα (natural fractals). Σε μικρές κλίμακες

παρατηρούμε μη μορφοκλασματικές υπό - ομάδες από τις οποίες το συσσωμάτωμα αποτελείται. Στο σημείο αυτό, αντιμετωπίζονται πολυπλοκότητες που συνδέονται με της μικρής εμβέλειας μη μορφοκλασματικού τύπου τάξης των παρακείμενων σωματιδίων. Ακόμα και αν τα πρωταρχικά σωματίδια είναι τόσο απλά σαν σφαίρες σε μονοδιασπορά, είναι απαραίτητη πρώτα μία εξειδίκευση, και δεύτερον πιθανώς και τρίτον, των αριθμών του κελύφους συντονισμού για να ποσοτικοποιηθεί επαρκώς η δομή του συσσωματώματος.

Τα απλά μοντέλα συσσωμάτωσης DLCA και RLCA παράγουν fractal συσσωματώματα τα οποία διαθέτουν αριθμούς συντονισμού ακριβώς ίσους με δύο, επειδή η πιθανότητα σχηματισμού δύο αυθόρμητα ενωμένων σημείων που εξαφανίζονται είναι μικρή και δεν υπάρχει αναδιάρθρωση. Κάθε γεγονός συσσωμάτωσης έτσι αποτελεί το σχηματισμού ενός και μοναδικού δεσμού. Αυτό εικονογραφήθηκε από τους Adachi και Ooi οι οποίοι διέταξαν τη δομή μια προσομοιωμένης κροκίδας, δείχνοντας ξεκάθαρα μια αρκετά διακλαδισμένη δομή χωρίς βρόχους (Adachi and Ooi, 1990). Στη περίπτωση της συσσωμάτωσης πραγματικών σωματιδίων αναμένεται ο αριθμός συντονισμού να είναι κάπως μεγαλύτερος, επειδή πάντοτε υπάρχει κάποιος βαθμός αναδιάρθρωσης. Ακόμα και αν δεν υφίστανται σημαντικές υδροδυναμικές δυνάμεις για την κάμψη της διακλάδωσης και αίτια για εντός του συσσωματώματος συγκρούσεις και έτσι και περισσότεροι δεσμοί, η ύπαρξη των δυνάμεων van der Waals θα διασφαλίσει ότι τα σωματίδια θα αναδιαρθρωθούν για σχηματίσουν ένα δεσμό αν αυτό συμβαίνει όταν τα σωματίδια διευθετούνται αρκετά κοντά το ένα στο άλλο. Σε αντίθεση με το προηγούμενο φαινόμενο, δεν υπάρχουν δια- σωματιδιακές δυνάμεις στους τύπους των μοντέλων DLCA και RLCA και για αυτό αυτού του τύπου η αναδιάρθρωση των πολύ κοντινών (και όχι αυτών που βρίσκονται σε επαφή) σωματιδίων δεν μπορεί να λάβει χώρα. Η επιρροή της αναδιάρθρωσης στον αριθμό συντονισμού έχει δειχθεί από τους Hamsy και τους συνεργάτες του, οι οποίοι υιοθέτησαν τον αλγόριθμο της αναδιάρθρωσης των Jullien και Meakin (Hamsy et al., 1993). Η αναδιάρθρωση πραγματοποιήθηκε από επιπλέον μικρού βεληνεκο ζύ κορυφές στη συνάρτηση πυκνότητας αυτοσυσχέτισης, γεγονός που επηρεάζει τη συμπεριφορά κατά τη σκέδαση στις μεγάλες γωνίες. Στην ιδανική περίπτωση των DLCA και RLCA με πολυδιασπορά στα πρωταρχικά σωματίδια, φυσικά η μέση τιμή του αριθμού συντονισμού παραμένει ακριβώς ίση με δύο. Όμως, η κατανομή των δεσμών μεταξύ των σωματιδίων σε

διαφορετικά μεγέθη δεν είναι ομοιόμορφη, και πράγματι περιγράφεται πολύ καλά από το μοντέλο των Suzuki και Oshima (Suzuki and Oshima, 1983).

3. Σκέδαση: Μία τεχνική για τον καθορισμό της mass fractal διάστασης των συσσωματωμάτων.

Η αρχή της Σκέδασης της ακτινοβολίας ως εργαλείο για το χαρακτηρισμό των σωματιδίων είναι ότι η ύλη, όταν ακτινοβολείται, εκπέμπει δευτερογενώς ακτινοβολία. Μετρώντας αυτή στη σκεδαζόμενη ακτινοβολία ως συνάρτηση της γωνίας σκέδασης δίνει πληροφορία σχετικά με τη δομή της ύλης, ως συνάρτηση της κλίμακας μεγέθους. Με τον τρόπο αυτό, αλλάζοντας τη γωνία σκέδασης είναι σαν να διαφοροποιείται η μεγέθυνση του διαθροωτικού αισθητήρα/ανιχνευτή (structural probe).

Ακτίνες X, φως και νετρόνια έχουν όλα χρησιμοποιηθεί για τον χαρακτηρισμό των κολλοειδών σωματιδίων και ειδικότερα των fractal συσσωματωμάτων. Με αυτές τις τεχνικές, η σκέδαση φωτός είναι γρήγορη, απλή και χαμηλή σε κόστος. Το μήκος κύματος του φωτός είναι πολύ μεγαλύτερο από αυτό είτε των ακτίνων X είτε των νετρονίων, καθιστώντας περισσότερο κατάλληλες για τις σχολαστικό καθορισμό των δομών της τάξεως μεγέθους των μικρών. Ακτίνες X και νετρόνια χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των δομών πολύ μικρότερων από αυτές του ενός μικρόμετρου. Το μειονέκτημα της χρήσης της σκέδασης του φωτός είναι ότι η ερμηνεία του μοτίβου της σκεδαζόμενης έντασης είναι πεπλεγμένη λόγω των ισχυρών αλληλεπιδράσεων του φωτός και της ύλης (Chu and Lin, 2000). Διαφορετικές, μερικές πιο πολύπλοκες θεωρίες της σκέδασης απαιτούνται για ακρίβεια στην πρόβλεψη της σκέδασης του φωτός από σωματίδια διαφορετικού μεγέθους και οπτικών ιδιοτήτων. Σε αντίθεση, ακτίνες X και νετρόνια αλληλεπιδρούν συγκριτικά ασθενώς με την ύλη και για αυτό σε πρακτικό επίπεδο μια απλή θεωρία, όπως αυτή των Rayleigh – Gans – Debye (RGD) μπορεί πάντοτε να χρησιμοποιηθεί.

3.1 Τεκμήριο για τη δομή από το πρότυπο της γωνιακής έντασης (Structure inference from angular intensity pattern)

Η βασική προσέγγιση της RGD θεωρίας είναι ένα μο ∇ έλο του σώματος της σκέδασης ως συνάρτηση των Rayleigh σκεδαστών, ότι δεν αλληλεπιδρούν ο ένας με τον άλλον. Το συνολικό κύμα της σκέδασης είναι ένα διάνυσμα του αθροίσματος των σκεδαζόμενων κυμάτων από κάθε συνιστώσα των σκεδαστών. Σε κάθε πείραμα, η σημαντική ποσότητα θεωρείται ότι είναι το q , το μέγεθος του διανύσματος σκέδασης είναι:

$$q = |q| = \frac{4\pi n_0}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (10)$$

Όπου n_0 είναι ο δείκτης διάθλασης του μέσου διασποράς, λ_0 είναι το μήκος κύματος της ακτινοβολίας στο κενό, και θ είναι η γωνία στην οποία η ακτινοβολία σκεδάζεται.

Δεδομένου ότι $q*r_{ab}$ είναι η διαφορά στο μήκος της διαδρομής μεταξύ του σκεδαζόμενου φωτός σε q από τα σημεία του διαχωρισμού r_{ab} , $q*r_{ab} < 1$ σκέδαση ουσιαστικά σε φάση, με αποτέλεσμα την εποικοδομητική συμβολή (constructive interference). Στην περίπτωση αυτή το πλάτος του σκεδαζόμενου κύματος προστίθεται, προσδίδοντας ένταση ανάλογη με το τετράγωνο του αθροίσματος των μαζών που σκεδάζονται $(m_a + m_b)^2$. Αν $q*r_{ab} > 1$ η σκέδαση δεν παρουσιάζει συνάρτηση. Τα κύματα δεν προστίθενται συνεκτικά και η ένταση είναι ακριβώς ανάλογη με το άθροισμα των τετραγώνων των σκεδαζόντων μαζών $(m_a^2 + m_b^2)$. Έτσι, τα σημεία χωρίζονται με μία απόσταση $r_{ab} < 1/q$ και θα σκεδάζουν κατά ουσίαν στη φάση, ενώ αυτά που διαχωρίζονται με μία απόσταση $r_{ab} > 1/q$ δεν σκεδάζουν. Τώρα ως θεωρηθεί η παρατήρηση της σκέδασης από ένα fractal συσσωμάτωμα σε μια γωνία σκέδασης που αντιστοιχεί σε q . Σκέδαση στις περιοχές που είναι μικρότερες από $1/q$ βρίσκονται σε φάση, με την άποψη ότι η μεταβλητή q λειτουργεί ως ανιχνευτής για δομές της τάξης μεγέθους $1/q$ (Link et al., 2011).

Η σκέδαση είναι κατά κανόνα αντιληπτή ως το γινόμενο δύο διαφορετικών συναρτήσεων, γνωστές ως συνάρτηση του παράγοντα μορφής $P(q)$, ο οποίος περιγράφει τη συνάρτηση της σκεδαζόμενης έντασης από ένα μοναδικό πρωταρχικό σωματίδιο και τη συνάρτηση του παράγοντα δομής $S(q)$, ο οποίος περιγράφει την προστιθέμενη σκεδαζόμενη ένταση εξαιτίας της χωρικής συσχέτισης μεταξύ των σωματιδίων μέσα στο συσσωμάτωμα.

$$I(q) \sim S(q)P(q) \quad (11)$$

$P(q)$ είναι ουσιαστικά σταθερή σε μικρές γωνίες, όσο $S(q)$ είναι ουσιαστικά σταθερή σε μεγάλες τιμές q (δηλαδή σε μεγάλες γωνίες), ώστε η συνολική διακύμανση στην ένταση σε μικρές τιμές q είναι πλήρως εξαιτίας των αποτελεσμάτων της δομής του συσσωματώματος και η συνολική διακύμανση σε μεγάλες τιμές q είναι αυτή των πρωταρχικών σωματιδίων.

Από τη θεμελιώδη σχέση (2) για τα fractal συσσωματώματα, ο αριθμός των σωματιδίων εντός της κάθε περιοχής είναι:

$$n_p = k_1 \left(\frac{1}{qr_0}\right)^{d_f} \quad (12)$$

Ο αριθμός για κάθε περιοχή μέσα στη δομή για τα συσσωματώματα είναι:

$$n_r = k_c (R_c q)^{d_f} \quad (13)$$

Αφού η ένταση από τα σωματίδια λόγω της σκέδασης είναι σε φάση ισχύει ως το τετράγωνο του αριθμού (μάζας) των σωματιδίων, ο παράγοντας της δομής του συσσωματώματος τότε λαμβάνει την μορφή:

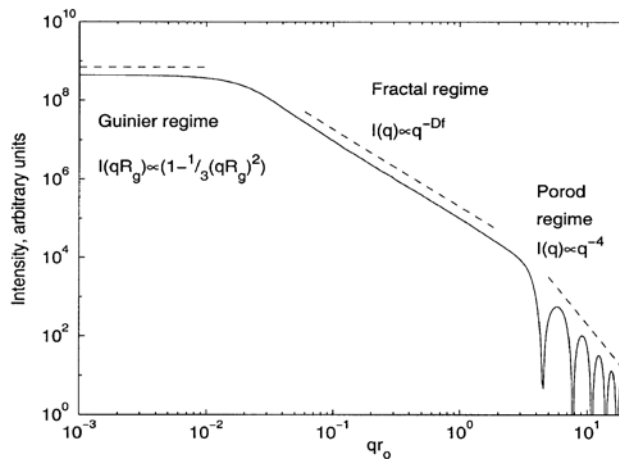
$$\begin{aligned} S(q) &\sim n_r (n_p)^2 \\ &\sim k_c (R_c q)^{d_f} k_i^2 q^{-2d_f} r_0^{-2d_f} \\ &\sim q^{-d_f} \quad (14) \end{aligned}$$

Το οποίο είναι κλασσικά αναμενόμενο αποτέλεσμα που χρησιμοποιείται για να καθορίσει τη mass fractal διάσταση από την αρνητική κλίση της γραμμικής περιοχής σε μία log-log απεικόνιση $\ln S(q)$ όπως παρουσιάζεται στη **Εικόνα 6**. Αυτό το αποτέλεσμα αυστηρά ισχύει με την προϋπόθεση ότι οι δομές που εξετάζονται είναι πολύ μικρότερες από το συνολικό μέγεθος του συσσωματώματος, και πολύ μεγαλύτερες από της μικρής εμβέλειας μη μορφοκλασματικές δομές που προκαλούνται από το «πακετάρισμα», δηλαδή:

$$\frac{1}{R_g} \ll q \ll \frac{1}{r_0} \quad (15)$$

Σε κλίμακα μεγέθους που προσεγγίζει το συνολικό μέγεθος του συσσωματώματος, το q^{-d_f} παρουσιάζει εξάρτηση από το παράγοντα δομής και τροποποιείται από την άκρη του συσσωματώματος. Για να αποφευχθεί αυτό που προκαλεί σφάλματα στον προσδιορισμό του d_f , ο Sorensen συνιστά έναν εμπειρικό κανόνα, ότι το d_f μπορεί να προσδιοριστεί μόνο από την περιοχή όπου $qR_g > 5$. Τα αποτελέσματα από την άκρη του συσσωματώματος είναι προφανή στην Εικόνα 6 όπως η καμπύλη Guinier στη

μεταβολή της περιοχής fractal. Οι ακριβείς λεπτομέρειες αυτής της μετάβασης είναι



Εικόνα 6: Διάγραμμα σκέδασης για συσσωματώματα σφαιρικών σωματιδίων σε μονοδιαπορά, όπου παρουσιάζονται τα συστήματα Guinier fractal και Porod για τη σκέδαση (Bushell et al., 2002).

εξαρτημένες από την κατανομή του μεγέθους του συσσωματώματος. Μία στενή κατανομή μεγέθους θα οδηγήσει σε μια γρήγορη σχετικά μετάβαση, ενώ μία ευρεία κατανομή μεγέθους, όπως η ισχύς του νόμου της κατανομής παρατηρείται από την περιορισμένη από την αντίδραση συσσωμάτωση, που θα οδηγήσει σε μια αργή μετάβαση της fractal περιοχής της σκέδασης.

Υπό το νόμο ότι ο εκθέτης που περιγράφει την ισχύ του νόμου της κατανομής μεγέθους (τ) είναι μικρότερος από δύο, η fractal κλιμάκωση θα πρέπει να ανακτηθεί σε μεγάλες τιμές q . Για τ μεγαλύτερο από δύο:

$$I(q) \sim q^{-d_f(3-\tau)} \quad (16)$$

3.1.1 Πληροφορία σχετικά με την τιμή τ μπορεί να λαμβάνεται από τη Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering).

Το σύστημα του Porod για υψηλές τιμές q στην **Εικόνα 6** χαρακτηρίζεται από q^{-4} εξάρτηση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας και είναι το αποτέλεσμα της σκέδασης από λεία επιφάνεια (όπως σε αυτή την περίπτωση των αρχικών σωματιδίων).

Η υπόθεση ότι οι στοιχειώδεις μονάδες σκεδάζουν ανεξάρτητα είναι κεντρική στην RGD προσέγγιση. Στην πράξη οι στοιχειώδεις μονάδες της σκέδασης δεν είναι ανεξάρτητες. Υπάρχουν πάντοτε μεγαλύτερης τάξης κύματα τα οποία έχουν προέλθει από σκέδαση περισσότερων από μία φορά, αλλά η δεύτερη και υψηλότερης τάξης σκέδασης είναι αμελητέα αν οι συνθήκες:

$$|m - 1| \ll 1 \quad (17)$$

και

$$\frac{2\pi n_0}{\lambda_0} L |m - 1| \ll 1 \quad (18)$$

ικανοποιούνται, όπου L είναι το μήκος του σκεδαζόμενου σώματος και m είναι ο σχετικός δείκτης διάθλασης των σκεδαστών. Ο Farias και οι συνεργάτες του έχουν πραγματοποιήσει αριθμητικά (υπολογιστικά) πειράματα για να εξετάσουν την αξία της προσέγγισης RGD για τα fractal συσσωματώματα και έχουν καταλήξει σε κάπως λιγότερα συντηρητικά/στενά όρια. Αναφέρουν ότι η ένταση της σκέδασης που προβλέπεται από την προσέγγιση RGD είναι ακριβής στο 10% για:

$$|m - 1| \leq 1 \quad (19) \quad \text{και} \quad \frac{2\pi n_0}{\lambda_0} L |m - 1| \leq 0,6 \quad (20)$$

Αυτό το αποτέλεσμα εξήχθη για συσσωματώματα που προήλθαν από περισσότερα από εκατό πρωταρχικά σωματίδια.

Δεδομένου ότι η mass fractal διάσταση καθορίζεται από την κλίση της καμπύλης σκέδασης αντί της απόλυτης τιμής, και αυτό έχει πραγματοποιηθεί σε λογαριθμική κλίμακα λαμβάνεται αυτό ως όριο για τον καθορισμό της d_f χρησιμοποιώντας την RGD μέθοδο και είναι πιθανώς ακόμη πιο αυστηρή/συντηρητική.

Το μοντέλο της RGD σκέδασης από συσσωματώματα σε έναν πιο εξελιγμένο τρόπο από την εξίσωση (11), είναι απαραίτητη για να γίνει χρήση της συνάρτησης πυκνότητας αυτό-συσχέτισης. Η RGD ένταση της σκέδασης βρέθηκε από έναν απλό μετασχηματισμό της $g(r)$:

$$S(q) = 1 + 4\pi\rho \int_0^\infty r^2 [g(r) - 1] \frac{\sin(qr)}{qr} dr \quad (21)$$

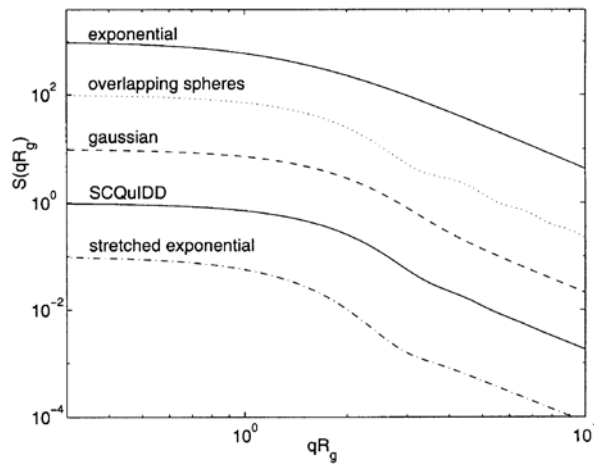
Είναι συνήθως αντιληπτό ότι ο σχηματισμός της αλληλοεπικάλυψης των σφαιρών δεν οδηγεί σε μια αναλυτική έκφραση για τη συνάρτηση του παράγοντα δομής, αλλά μια έκφραση μπορεί να βρεθεί που αφορά από την άποψη της ατελούς gamma συνάρτησης:

$$\begin{aligned}
\frac{qS(q)}{k_i d_f r_0^{-d_f}} = & \frac{i}{2} (iq)^{1-d_f} \gamma(d_f - 1, 2iqR_e) - \frac{i}{2} (-iq)^{1-d_f} \gamma(d_f - 1, 2iqR_e) \\
& - \frac{3i}{8R_e} (iq)^{-d_f} \gamma(d_f, 2iqR_e) + \frac{3i}{8R_e} (iq)^{-d_f} \gamma(d_f, -2iqR_e) \\
& + \frac{i}{32R_e^3} (iq)^{-d_f-2} \gamma(d_f + 2, 2iqR_e) \\
& - \frac{i}{32R_e^3} (iq)^{-d_f-2} \gamma(d_f + 2, -2iqR_e) \quad (22)
\end{aligned}$$

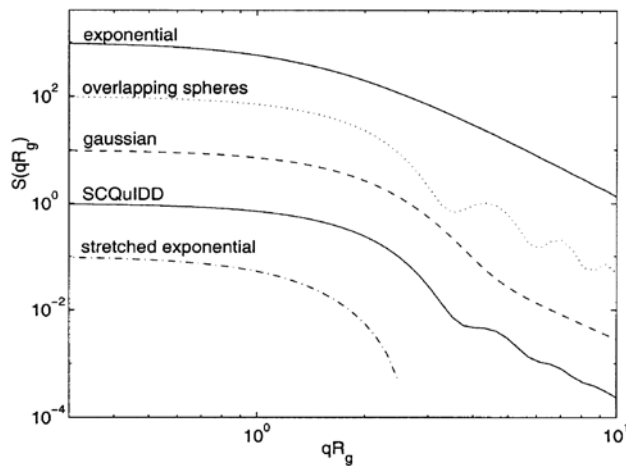
όπου k_i είναι ο παράγοντας δομής στην εξίσωση (5) όταν περιγράφεται ο αριθμός των σωματιδίων που περιέχονται με την ιδανική σφαίρα στο κέντρο ενός σωματιδίου εντός ενός συσσωματώματος.

Η πρακτική συνάφεια με το έσχατο όριο της συνάρτησης είναι διπλή. Πρώτα, χρειάζεται ο καθορισμός της κατανομής μεγέθους του συσσωματώματος ακριβώς από τα πειράματα σκέδασης μικρής γωνίας. Δεύτερον, και ίσως και πιο σημαντικά, το σχηματισμό των έσχατων ορίων επιλέγονται για να επηρεάσουν την τιμή που λαμβάνεται για τη fractal διάσταση, ειδικότερα όταν η fractal διάσταση είναι μεγαλύτερη του δύο. Η εξίσωση (4) είναι σωστή μόνο όταν τα fractals είναι άπειρης έκτασης. Όταν το συσσωμάτωμα είναι περικομμένο από ένα είδος ακμής/γραμμής, η fractal κλιμάκωση έχει ανακτηθεί σε υψηλότερη τιμή q . Καθώς η fractal διάσταση αυξάνεται, ο ρόλος της ακμής γίνεται περισσότερο σημαντικός και μια μετάβαση από τη σκέδαση της μάζας στη σκέδαση της επιφάνειας παρατηρείται (a transition from mass scattering to surface scattering). Οι **Εικόνες 7** και **8** παρακάτω δείχνουν ότι καθώς η fractal διάσταση αυξάνεται από 2,55 σε 2,90, τη κλίση της καμπύλης σε ενδιάμεση τιμή q αυξάνεται με έναν καθορισμένο τρόπο, ο οποίος είναι εξαρτημένος με ένα ειδικό λειτουργικό σχηματισμό που χρησιμοποιείται ως έσχατο όριο της συνάρτησης. Στην περίπτωση της τεμνόμενης εκθετικής μορφής, η υπολογισμένη ένταση της σκέδασης γίνεται ακόμη πιο αρνητική όταν $d_f=2,90$, υποδεικνύοντας ότι ένα τέτοιο έσχατο όριο συνάρτησης δεν είναι φυσικώς πιθανό. Ο Ju Lien έχει αναφερθεί σε παρόμοια αποκλίνουσα συμπεριφορά για διαφορετικά έσχατα όρια της συνάρτησης σε σύγκριση με μια απλή εκθετική και Gaussian σχηματισμούς για έσχατα όρια συνάρτησης. Τα αποτελέσματα είναι περισσότερα ορατά στην δουλειά

του και σε αυτή του Thouy για μια ρυθμιζόμενη fractal διάσταση. Οι Oh και Sorensen έχουν αναπτύξει ένα γενικό RGD φορμαλισμό, που περιλαμβάνει ότι και η κλιμάκωση της fractal διάστασης της μάζας και της επιφάνειας παρουσιάζουν ότι ένταση θα πρέπει να είναι της κλίμακας ($q^{-2d_f+d_s}$), όπου d_s είναι η fractal διάσταση της επιφάνειας. Για δομές με χαμηλή διάσταση είναι εμφανές ότι η διάσταση της επιφάνειας είναι η ίδια με τη διάσταση της μάζας, έτσι η κλιμάκωση της εξίσωσης (16) ανευρίσκεται. Εμφανίζεται ότι καθώς η διάσταση της μάζας αυξάνεται παραπάνω από 2, αυτό δεν μπορεί να συμβεί πλέον.



Εικόνα 7: Παράγοντες δομής που έχουν παραχθεί χρησιμοποιώντας διαφορετικά έσχατα όρια συνάρτησης με fractal διάσταση που καθορίζεται σε 2,55 (Bushell et al., 2002)



Εικόνα 8: Παράγοντες δομής που έχουν παραχθεί χρησιμοποιώντας διαφορετικά έσχατα όρια συνάρτησης με fractal διάσταση που καθορίζεται σε 2,90 (Bushell et al., 2002)

Η προσοχή εστιάζεται στο γεγονός ότι καθώς η mass fractal διάσταση αυξάνεται σημαντικά πάνω από 2, δεν είναι επαρκής η απλοποίηση της μέτρησης της κλίσης που τεκμαίρεται για τη fractal περιοχή της σκέδασης από κάποια πειραματικά δεδομένα σκέδασης. Η τιμή της κλίσης που λαμβάνεται θα είναι υψηλότερη από την πραγματική fractal διάσταση, και υψηλότερη από τη διάσταση και λαμβάνει το χειρότερο σφάλμα. Παίρνοντας το όριο $d_f=3$, η κλίση της γραμμικής περιοχής του διαγράμματος σκέδασης δε γίνεται -3 αλλά -4 (σκέδαση επιφανείας – surface scattering). Ο προσδιορισμός της δομής για συσσωματώματα υψηλής διάσταση είναι απαραίτητος για να αναπτυχθεί ενός είδους μοντέλου ελαχίστων τετραγώνων που θα ταιριάζει, ενσωματώνοντας έναν ακριβή σχηματισμό για το όριο της συνάρτησης εκτός από ένα μεγάλο εύρος q που είναι διαθέσιμο, όπως αυτό του q^{df} και θα προσδιορίζεται από το άνω άκρο του πειραματικού εύρους.

3.2 Τεκμήριο για τη δομή από την κινητική της συσσωμάτωσης.

Ένα άλλο ενδιαφέρον χαρακτηριστικό των fractal συσσωματωμάτων είναι η δυναμική της διαδικασίας από την οποία σχηματίζονται. Όχι μόνο αυτά καθαυτά τα ίδια τα συσσωματώματα είναι fractal όσον αφορά τη φυσική τους δομή, αλλά και η κινητική της συσσωμάτωσης επίσης παρουσιάζει της κλίμακας (με το χρόνο) και σχετίζεται με τα fractals (Hidalgo-Álvarez et al., 1996). Η εξίσωση Smoluchowski περιγράφει την κινητική μιας μη αναστρέψιμης συσσωμάτωσης, όσον αφορά την πιθανότητα σύγκρουσης μεταξύ των συμπλεγμάτων ως συνάρτηση των μαζών i και j . Η χρονική εξέλιξη της συγκέντρωσης N_h των συσσωματωμάτων για μια ειδική μάζα h δίνεται τότε από τη σχέση:

$$\frac{dN_h}{dt} = \frac{1}{2} \sum_{i,j} k_{ij} N_i N_j - N_h \sum_j k_{hj} N_j \quad (23)$$

Η «καρδιά» της εξίσωσης είναι η αντίδραση μεγέθους ποσοστού λειτουργικότητας ενσωματώνεται στους παράγοντες k_{ij} , γνωστοί ως πυρήνας συσσωμάτωσης (aggregation kernel). Οι λειτουργίες της συμπεριφοράς διαφορετικών ομογενών πυρήνων (kernels) μπορεί να χαρακτηριστεί από δύο εκθέτες λ και ν , έτσι ώστε:

$$k_{jj} \sim j^\lambda \quad (24) \quad \text{και} \quad k_{1j} \sim j^\nu \quad (25)$$

Εξαιτίας της διαφορετικής φύσης των αλληλεπιδράσεων των συμπλεγμάτων στα όρια DLCA και RLCA, διαφορετικοί πυρήνες (kernels) αντίδρασης θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν. Ο αρχικός πυρήνας Smoluchowski αναπτύχθηκε για να περιγράψει την περιορισμένη από τη διάχυση συσσωμάτωση, με το ποσοστό της αντίδρασης να εξαρτάται από τη διατομή της σύγκρουσης εξαιτίας της ακτίνας των συγκρουόμενων σφαιρών. Στην περίπτωση της κατάλληλης συσσωμάτωσης ο πυρήνας (kernel) δίνεται από:

$$k_{ij} = \left(i^{-\frac{1}{d_f}} + j^{-\frac{1}{d_f}} \right) \left(i^{\frac{1}{d_f}} + j^{\frac{1}{d_f}} \right) \quad (26)$$

Η οποία είναι μία τροποποίηση το αρχικού πυρήνα δοσμένο από τον Smoluchowski, με fractal διάσταση d_f αντικαθιστώντας τη συνήθη τιμή 3. Αυτός ο πυρήνας είναι ένας ομογενής πυρήνας με $\lambda=0$ και $\nu=1/d_f$. Ένας τέτοιος πυρήνας ($\lambda < \nu < 1$) διαθέτει μικρές – μεγάλες κυρίαρχες αλληλεπιδράσεις συσσωματώματος, με αποτέλεσμα σε αρκετά στενή κατανομή μεγέθους και την ισχύ ενός νόμου για την ανάπτυξη της μέσης μάζας του συμπλέγματος:

$$M(t) \sim t^z \quad (27)$$

Όπου t είναι ο χρόνος και z είναι ένας εκθέτης με μια αναμενόμενη τιμή 1,0 για τον πυρήνα. Όσον αφορά τη μέση τιμή της ακτίνας του συμπλέγματος, η κινητική της κλιμάκωσης είναι:

$$R(t) \sim t^{\frac{z}{d_f}} \quad (28)$$

Αυτό σημαίνει ότι κάθε πείραμα που εξετάζει το μέγεθος του συσσωματώματος ως συνάρτηση του χρόνου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξαγωγή της fractal διάστασης. Αυτό έχει αποδειχθεί από τον Weitz και τους συνεργάτες του χρησιμοποιώντας Δυναμική Σκέδαση Φωτός. Η ίδια πληροφορία μπορεί επίσης να ληφθεί από πειράματα Στατικής Σκέδασης Φωτός με προσαρμογή της εξίσωσης Guiner στην ένταση της σκέδασης σε μικρές γωνίες q . Αυτό, όμως, εξαρτάται από την πολύ περιοριστική κατάσταση ότι η κινητική της συσσωμάτωσης είναι πλήρως καθορισμένη από περικινητικές διεργασίες (perikinetetic processes). Με άλλα λόγια, δεν είναι κατάλληλο για κάθε σύστημα να περιλαμβάνει διάτμηση (shearing) ή καθίζηση (sedimentation) (Bushell et al., 2002).

Η κατανομή μεγέθους του συμπλέγματος για μια περικινητική συσσωμάτωση είναι επίσης αναλλοίωτη με την κλίμακα (scale – invariant) ή αυτό-διατηρούμενη (self-preserving). Οι Vicsek και Family (Vicsek and Family, 1984) έδειξαν ότι η εξάρτηση από το χρόνο για την κατανομή μεγέθους του συμπλέγματος μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση:

$$N_s(t) \sim M^{-2} f[m/M(t)] \quad (29)$$

Όπου $f(x)$ είναι η συνάρτηση της κλιμάκωσης (scaling function). Φαίνεται ότι όταν μια fractal συμπεριφορά παρατηρείται, αυτό διαποτίζει κάθε πτυχή του συστήματος. Αυτό σημαίνει ότι η fractal διάσταση μπορεί επίσης να μετρηθεί από κάθε πείραμα το οποίο μετρά την κινητική της συσσωμάτωσης, όσο το σύστημα είναι περικινητικό.

3.3 Τεκμήριο για τη δομή από αλλαγές στην κατάσταση της συσσωμάτωσης.

Η Μικρής Γωνίας Στατική Σκέδαση Φωτός (Small angle static light scattering) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να εξαχθεί η fractal διάσταση των συσσωματωμένων συστημάτων, τα οποία είναι πολύ πιο μεγάλα για να σκεδάζουν στην RGD περιοχή. Σε ένα καθιερωμένο μηχανήμα σκέδασης laser, η θεωρία Mie ή η περίθλαση Fraunhofer έχουν χρησιμοποιηθεί για να υπολογιστούν η κατανομή μεγέθους των σωματιδίων σε ένα δείγμα βασισμένη στο παρατηρούμενο πρότυπο σκέδασης, που βρίσκεται σε συμφωνία με αυτό που υπολογίζεται από τα όργανα. Τέτοια όργανα συνήθως επίσης εκθέτουν μια συγκέντρωση στερεού όγκου, η οποία βασίζεται στο εκπεμπόμενο φως και την υπόθεση ότι οι σκεδαστές είναι στερεοί. Το φαινόμενο κλάσμα του όγκου (apparent volume fraction) δίνεται από:

$$\varphi_a = \frac{d_{sm} l h (1 - E)}{3L} \quad (30)$$

Όπου φ_a , είναι το φαινόμενο κλάσμα του όγκου, d_{sm} είναι η Sauter μέση διάμετρος της κροκίδας, E είναι η εξάλειψη και L είναι το μήκος διαδρομής διαμέσου του δείγματος. Αυτό τότε προσδίδει ένα πολύ εύκολο τρόπο για να εκτιμηθεί η μέση τιμή της πυκνότητας του συσσωματώματος: αν κάποιος ξέρει εκ των προτέρων ποια είναι η συγκέντρωση του όγκου του δείγματος (αυτό μπορεί να μετρηθεί από το όργανο με τον ίδιο τρόπο πριν την κροκίδωση (flocculation)), το μέσο κλάσμα των στερεών του συσσωματώματος είναι ακριβώς το πραγματικό κλάσμα του όγκου διαιρούμενο με το προαναφερθέν κλάσμα του όγκου (Hidalgo-Álvarez et al., 1996). Η fractal διάσταση

τότε μπορεί να καθοριστεί από το σύστημα σε διαφορετικές καταστάσεις συσσωμάτωσης και αυτό σχετίζει τη μέση τιμή με τη μέση πυκνότητα μέσω της εξίσωσης (6). Όταν τα σωματίδια είναι αρκετά μικρά για να συμπεριφέρονται ως RGD σκεδαστές και τα συσσωματώματα είναι τόσο μικρά που ένα επαρκώς μεγάλο εύρος της fractal σκέδασης δεν είναι προσβάσιμο στο όργανο, η ακόλουθη προσέγγιση μπορεί να ληφθεί. Η μέθοδος είναι όμοια με αυτή που δημοσιεύθηκε από τον Sorensen και τους συνεργάτες του, εκτός της μέτρησης του στερεού περιεχομένου του συσσωματώματος που καθορίζεται από την τιμή της έντασης σε πολύ μικρά q όριο, αντί της απόσβεσης της μέτρησης (the extinction measurement) (Gregory, 2009).

Εφαρμόζοντας την εξίσωση Guinier για δεδομένα της σκεδαζόμενης έντασης σε μικρές τιμές q απαιτείται η προσαρμογή δύο παραμέτρων, της γεωμετρικής ακτίνας R_g και την επέκταση της έντασης σε $q=0$, $I(0)$. Τώρα στο εκτεταμένο όριο, όλα τα σωματίδια μέσα στο συσσωμάτωμα σε αυθαίρετο μέγεθος θα σκεδάσουν στην ίδια φάση. Η ένταση τότε θα είναι ανάλογη του αθροίσματος όλων των συσσωματωμάτων και του τετραγώνου της μάζας για κάθε συσσωμάτωμα:

$$I(0) \sim \sum_i n_i m_i^2 \quad (31)$$

Όμως, εξαιτίας της πολυδιασποράς της μάζας, το άθροισμα του γινομένου $\sum n_i m_i$ πρέπει να είναι σταθερό. Υπάρχει η δυνατότητα διαίρεσης της μαθηματικής έκφρασης (31) με το άθροισμα των γινομένων χωρίς να αλλάξει η ισχύς της έκφρασης:

$$I(0) \sim \frac{\sum_i n_i m_i^2}{\sum_i n_i m_i} \quad (32)$$

Αυτή είναι σαφώς η σταθμισμένη μάζα της μέσης μάζας. Η γεωμετρική ακτίνα λαμβάνεται από την εφαρμογή της εξίσωσης Guinier για τη σκεδαζόμενη ακτινοβολία από ένα σύνολο συσσωματωμάτων. Όταν η κατανομή μεγέθους είναι μονοδιασπορά αυτό είναι προφανές ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί η μαθηματική έκφραση (4). Στη γενική περίπτωση όπου το μέγεθος του συμπλέγματος έχει μία κατανομή, η μαθηματική αυτή έκφραση είναι ακόμη αξιοποιήσιμη, με τον όρο ότι η κατανομή μεγέθους του συμπλέγματος είναι κλιμακούμενη. Η ακριβής τιμή για τη

σταθερά αναλογίας στην περίπτωση αυτή θα εξαρτάται από το σχήμα της κατανομής μεγέθους του συμπλέγματος (και επιπλέον, η πυκνότητα των σωματιδίων που το αποτελούν). Πρακτικά, εξαιτίας των μέσων μαζών και των ακτίνων αλλάζει κατά τάξεις μεγέθους κατά τη διάρκεια ενός πειράματος συσσωμάτωσης και ο σχηματισμός της κατανομής μεγέθους γενικά δεν διαφοροποιείται σημαντικά, αυτή η συνθήκη χρειάζεται να έχει ικανοποιηθεί στο περίπου (Bushell et al., 2002).

3.4 Τεκμήριο για τη δομή από τη διακύμανση της θολερότητας.

Οι Gregory και Nelson (Gregory and Nelson, 1986) ανέπτυξαν μια μέθοδο διακύμανσης της θολερότητας για την παρακολούθηση της διαδικασίας κροκίδωσης των σωματιδίων. Αυτή περιλαμβάνει τη μέτρηση της μέσης τετραγωνικής ρίζας και της μέσης τιμής της εκπεμπόμενης δέσμης φωτός διαμέσου της ροής των σωματιδίων στο εναιώρημα. Ο λόγος αυτών των δύο τιμών έχειδειχθεί ότι είναι στενά συνδεδεμένος με την κατάσταση συσσωμάτωσης του εναιωρήματος. Αν και κατά κύριο λόγο είναι μια ποιοτική τεχνική, ποσοτική πληροφορία μπορεί να ληφθεί αν κάποιες απλές υποθέσεις πραγματοποιηθούν σχετικά με τις ιδιότητες σκέδασης του συσσωματώματος. Επιπρόσθετα, όταν συνδυάζεται με μέτρηση θολερότητας, τότε θεωρητικά είναι σε θέση να ληφθεί η mass fractal διάσταση.

3.4.1 Αναδιάρθρωση.

Υπάρχουν και κάποιες άλλες λεπτές αποχρώσεις για την επίγνωση του πότε καθορίζεται η fractal διάσταση από τη σκέδαση του φωτός. Στην περίπτωση όπου ένα εναιώρημα υφίσταται διατμητικές δυνάμεις, αναδιάρθρωση μπορεί να συμβεί. Πράγματι, υπάρχει εμπειρία από τους συγγραφείς ότι με την επαγόμενη από άλας περικινητική συσσωμάτωση (salt – induced perikineti aggregation), τα συσσωματώματα που προέκυψαν είναι τόσο αδύναμα, ώστε να αναδιαρθρώνονται σε μία μικρή διάτμηση, που προκαλείται από την προσπάθεια να μεταφερθεί το συσσωμάτωμα από το ένα σκεύος σε κάποιο άλλο. Δομές παραγόμενες με τη βοήθεια πολυμερικών κροκιδωτικών μέσων έχουν αποδειχθεί ότι είναι κάπως πιο ανθεκτικές (Harche et al., 2011).

Αν και το απλό σχήμα της αναδιάρθρωσης των Meakin και Jullien είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία fractal συσσωματωμάτων με αυξημένη διαστατικότητα (dimensionality), η συμπεριφορά του πραγματικού συστήματος είναι περισσότερο

περίπλοκη. Μορφοκλασματικές συσσωματωμένες δομές αποτελούνται από αυτό-όμοιας συσσωμάτωσης λόγω κίνησης από τη διεργασία Brown. Η αυτό-όμοια fractal δομή με αποτέλεσμα τη διαδικασία της συσσωμάτωσης μεταξύ μεγάλων συσσωματωμάτων είναι ποιοτικά η ίδια με αυτή μεταξύ των μικρών συσσωματωμάτων, και ποσοτικά η ίδια αν πραγματοποιηθεί μια απλή διόρθωση στην κλιμάκωση. Ο αλγόριθμος της αναδιάρθρωσης των Meakin και Jullien είναι επίσης αυτό-όμοια διαδικασία και για αυτό τα αναδιαρθρωμένα συσσωματώματα διαθέτουν μορφοκλασματική κλιμάκωση (Meakin and Jullien, 1989).

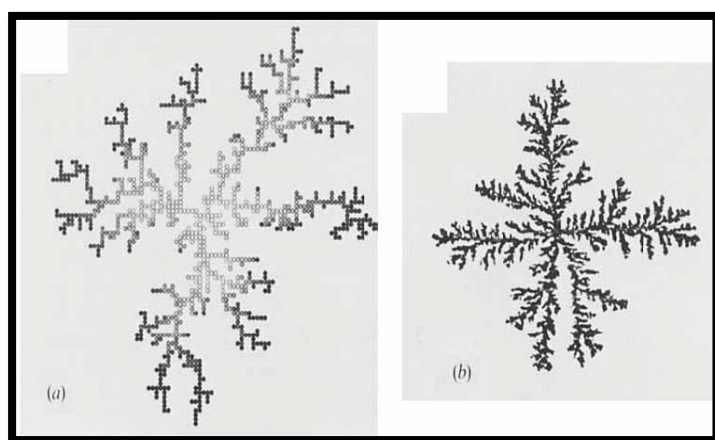
Η υδροδυναμικά επαγόμενη αναδιάρθρωση όμως, δεν είναι γενικά μια αυτό-όμοια διεργασία. Ακόμη και στην απλή περίπτωση της στρωτής διάτμησης, σε αρκετά μικρές κλίμακες δεν αναμένεται αναδιάρθρωση εξαιτίας της διαφορετικής ταχύτητας του υγρού. Καθώς αυξάνεται η κλίμακα μεγέθους η διαφορική ταχύτητα του υγρού (και ως εκ τούτου η υδροδυναμική δύναμη) θα συνεχίζει να αυξάνεται και η δύναμη του συσσωματώματος πρέπει να μειώνεται. Ως εκ τούτου, πρέπει να υπάρχει μια κλίμακα μήκους πάνω από τη οποία η δομή θα διαμελίζεται εξαιτίας των υδροδυναμικών δυνάμεων, για δεδομένο ρυθμό διάτμησης. Η προσδοκία τότε για αναδιάρθρωση εξαιτίας υδροδυναμικών δυνάμεων τείνει να εμφανίζεται σε μεγάλη κλίμακα μεγέθους νωρίτερα από τις μικρότερες. Αυτό επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα πολλών εργασιών, οι οποίες παρουσιάζουν διαγράμματα σκέδασης με κυρτό fractal σύστημα, η fractal διάσταση είναι προφανώς μεγαλύτερη από την μεγαλύτερη κλίμακα μεγέθους. Σε αυτή την περίπτωση, η δομή δεν είναι μεγαλύτερη πραγματικά από τη μορφοκλασματική, αλλά φαίνεται μία μεταβολή στην κλιμάκωση της μάζας με την κλιμάκωση του μήκους. Τότε προσδιορίζεται η πραγματική δομή που διατηρείται σε υψηλές τιμές q .

4. Μηχανισμοί Συσσωμάτωσης

4.1 Συσσωμάτωση Περιορισμένη από τη Διάχυση

4.1.1 Συσσωμάτωση Σωματιδίου-Συμπλέγματος περιορισμένη από τη Διάχυση

Το πρώτο απλό μοντέλο της προσομοίωσης της συσσωμάτωσης περιορισμένης από τη διάχυση (Diffusion-limited aggregation) που περιγράφει τα κατάλληλα φαινόμενα για το σχηματισμό μορφοκλασματικών δομών ήταν εξαιτίας των Witten και Sander (1981). Αυτό ήταν το εναρκτήριο σημείο για πολλές θεωρητικές και πειραματικές μελέτες (Witten and Sander, 1981). Σε αυτή την αρχική δισδιάστατη εκδοχή, τα



Εικόνα 9: Witten-Sander συσσωματώματα που δομούνται σε ένα τετράγωνο πλέγμα με (a) $N=1024$ (b) $N=4 \times 10^6$ σωματίδια (η προσομοίωση φαίνεται στο (b) και διεξάχθηκε από τον Meakin. Στο (a) η γκρι απόχρωση υποδεικνύει το χρόνο άφιξης των σωματιδίων.

σωματίδια ήταν σε φαινομενικά επίπεδη κυκλική επιφάνεια τοποθετημένα σε ένα τετράγωνο πλέγμα. Ένα σωματίδιο-πυρήνας δημιουργίας κρυστάλλων σε υγρό (a seed particle) (το πρώτο σωματίδιο του

συσσωματώματος) είναι το πρώτο που τοποθετείται από την αρχή. Μετά ένας δακτύλιος, μεγαλύτερος

παραλληλιζόμενος με το μέγεθος που θα κατορθώσει να αποτελέσει το συσσωμάτωμα, κεντρικά στην αρχή διαμορφώνεται, και ένα σημείο εκλέγεται τυχαία πάνω στο δακτύλιο. Ένα δεύτερο σωματίδιο αποδεσμεύεται στην πλευρά πιο κοντά σε αυτό το σημείο, όπου μετά ξεκινά να υποβάλλεται σε τυχαία κίνηση πάνω στο πλέγμα. Αν αυτό το κινούμενο σωματίδιο απομακρυνθεί πολύ μακριά από το αρχικό σημείο (με άλλα λόγια, η απόσταση είναι τρεις φορές μεγαλύτερη από την ακτίνα του δακτυλίου), αυτό εγκαταλείπεται και ένα νέο σωματίδιο αποδεσμεύεται ξανά τυχαία πάνω στο δακτύλιο. Όταν το κινούμενο σωματίδιο εκτείνεται σε μια πλευρά δίπλα στο σωματίδιο-πυρήνα, αυτό σταματά την τυχαία διαδρομή του και σταματά περιοριζόμενο μόνιμα στο σωματίδιο-πυρήνα. Το συσσωμάτωμα τότε περιλαμβάνει δύο σωματίδια. Μετά άλλο σωματίδιο εκλέγεται στην τύχη στο δακτύλιο και ένα νέο

σωματίδιο αποδεσμεύεται. Όταν αυτό εκτείνεται κοντά στο συσσωμάτωμα, αυτό μένει εκεί και η διαδικασία συνεχίζεται. Το συσσωμάτωμα της **Εικόνας 9(a)** είναι ένα παράδειγμα με 1024 σωματίδια, και ακόμα με μια μέτρια προσομοίωση, μπορεί να γίνει ήδη αντιληπτός ο μορφοκλασματικός χαρακτήρας του συσσωματώματος των Witten και Sander (Witten and Sander, 1983). Τα κινούμενα σωματίδια είναι περισσότερο πιθανό να ενώνονται στο συσσωμάτωμα στις απολήξεις και συνεπώς βαθεία “fjords” αναπτύσσουν τη δομή, τα οποία γρήγορα συντηρούνται από την ανάπτυξη νέων διακλαδώσεων. Κατά αυτόν τον τρόπο δημιουργούνται κοιλότητες/τρύπες σε όλη την έκταση. Αυτό το αποτέλεσμα του screening/ανάλυσης μπορεί εύκολα να φανεί στην **Εικόνα 9(a)** όπου η γκρι απόχρωση υποδηλώνει το χρόνο της άφιξης για το κάθε σωματίδιο. Ο μορφοκλασματικός χαρακτήρας μπορεί ποσοτικά να αναλυθεί από τον υπολογισμό μια τυπικής ποσότητας, της ακτίνας περιστροφής του συσσωματώματος, R , η οποία είναι η τυπική απόκλιση των σωματιδίων από το κέντρο της μάζας, και από τη μελέτη της εξάρτησής της από τον ολικό αριθμό των σωματιδίων N . Πραγματοποιώντας αυτό, ο χαρακτηριστικός νόμος ανακτάται:

$$N \propto R^{d_f} \quad (33)$$

Με $d_f=1,70$ στις δύο διαστάσεις. Από πρόσφατους απλούς υπολογισμούς, ήταν συνήθως αποδεκτό ότι αυτός ο αριθμός δεν εξαρτάται από τον τύπο του πλέγματος που χρησιμοποιείται, και το ίδιο αποτέλεσμα λήφθηκε με εκτός του πλέγματος υπολογισμούς. Εν συνεχεία, για τη γενική καθολική διαφωνία των κρίσιμων φαινομένων της μορφοκλασματικής διάστασης του μοντέλου των Witten και Sander πιστεύεται ότι εξαρτάται από τη διάσταση d του χώρου. Το μοντέλο μπορεί ευθέως να επεκταθεί σε μεγαλύτερες διαστάσεις και σε προγενέστερα αποτελέσματα για τη μορφοκλασματική διάσταση d_f ως συνάρτηση του χώρου διάστασης d που δίνεται στον παρακάτω πίνακα (Witten and Sander, 1981). Υπάρχουν αναλυτικοί υπολογισμοί για να δείξουν ότι το d_f τείνει στο άπειρο γραμμικά με το d , χωρίς κανένα τυχαίο γεγονός (ασυνέχεια στην παράγωγο $d_f(d)$) στην ανώτερη κρίσιμη διάσταση (critical dimension).

Μορφοκλασματική διάσταση d_f του συσσωματώματος που λήφθηκε από τη συσσωμάτωση περιορισμένη από τη διάχυση ως συνάρτηση της διάστασης του χώρου d .

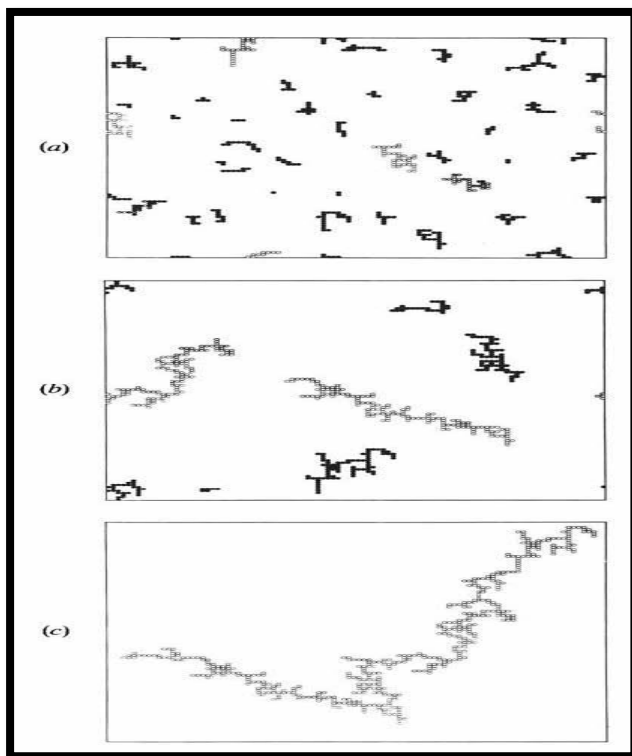
Συγκρούσεις μεταξύ:	D				
	2	3	4	5	6
Σωματίδιο-Σύμπλεγμα	1,70	2,50	3,33	4,20	5,3
Σύμπλεγμα-Σύμπλεγμα	1,44	1,78	2,05	2,27	2,6

Πρόσφατες αριθμητικές και αναλυτικές έρευνες δείχνουν ότι η αλλαγή κλίμακας στις ιδιότητες του συσσωματώματος των Witten και Sander είναι περισσότερο σύνθετες από ότι πιστευόταν αρχικά. Πρώτα, βρέθηκαν δύο διαφορετικές μορφοκλασματικές διαστάσεις: μία αντιστοιχεί σε ακτινικές συσχετίσεις, η άλλη, η οποία είναι σε περιορισμένο βαθμό μικρότερη, αντιστοιχεί στις εφαπτόμενες συσχετίσεις. Ως συνέπεια, το συσσωμάτωμα των Witten και Sander δεν είναι απακριβώς αυτό-όμοιο (έμοιαζε περισσότερο να είναι «αυτό-συναφές» (ή «αυτό-σχετικό» ή «αυτό-συγγενές» ή «αυτό-κηδεστής»), (“self-affine” fractal)): όσο μεγαλύτερο είναι σε μέγεθος, τόσο λεπτότερες διακλαδώσεις διαθέτει. Δεύτερον, γίνεται σαφές ότι υπάρχουν κάποια αποτελέσματα τα οποία επιφέρουν ανισοτροπία που προκύπτει από τα υποκείμενα σωματίδια στο πλέγμα, όπως μπορεί να δει κάποιος στη μεγαλύτερη προσομοίωση (4×10^6 σωματίδια) διεξήχθη από τον Paul Meakin (**Εικόνα 9 (b)**), μέσω του οποίου το συσσωμάτωμα εκτίθεται ως μια αστρόμορφη-δομή (star-like structure) με διακλαδώσεις που αναπτύσσονται κατά προτίμηση σε τέσσερις αρχικές κατευθύνσεις στο πλέγμα. Τρίτον, όπως αρχικά προβλέφθηκε από τις αναλυτικές έρευνες και εξακριβώθηκε από αριθμητικές προσομοιώσεις, η μορφοκλασματική διάσταση εξαρτάται από το πλέγμα (Meakin, 1986). Όλα αυτά τα πολύ ενθαρρυντικά πρόσφατα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι καθολικές διαφωνίες αποδείχθηκαν και για τα σε ισορροπία κρίσιμα φαινόμενα και δεν αναφέρθηκαν σε μη αναστρέψιμες διαδικασίες (Meakin (a), (b) and (c), 1983; Meakin, 1986).

Προηγουμένως, τρισδιάστατες προσομοιώσεις πραγματοποιήθηκαν με τα μοντέλα των Witten και Sander, γρήγορα αναγνωρίστηκε ότι δε θα μπορούσαν ποσοτικά να περιγράψουν τα αερολύματα και τα κολλοειδή πειράματα: η τρισδιάστατη τιμή από την οποία βρίσκεται η μορφοκλασματική διάσταση ($d_f = 2.5$) είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις πειραματικές εκτιμήσεις. Στην πραγματικότητα ένας μεγάλος αριθμός από διαφορετικές πειραματικές πραγματώσεις που βρέθηκαν, και κατέστη σαφές ότι

το μοντέλο των Witten και Sander περιγράφει μια ειδική περίπτωση, αυτή που ονομάζεται «συσσωμάτωση υπό την επίδραση πεδίου» (“aggregation under field”), τυπικό για ηλεκτρολυτική επιμετάλλωση (ή ανοδίσωση ή ηλεκτροεναπόθεση) (electrodeposition). Στην ηλεκτρολυτική επιμετάλλωση (ή ανοδίσωση ή ηλεκτροεναπόθεση) (electrodeposition), ηλεκτρική τάση διαπερνά μέσου μεταλλικού-αλατώδους διαλύματος, και μεταλλικά σωματίδια εμφανίζονται στην κάθοδο. Αν το πείραμα εκτελείται κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες, νέα μεταλλικά σωματίδια είναι αρκετά πιθανό να κατατίθενται, όπου το ηλεκτρικό πεδίο είναι ισχυρό, για παράδειγμα κοντά στην κορυφή του αναπτυσσόμενου συσσωματώματος. Ένα τέτοιο πείραμα πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά σε τρεις διαστάσεις, αλλά από τότε το υπόδειγμα είναι περισσότερο θεαματικό στις δύο διαστάσεις. Και στις δύο περιπτώσεις, όμως, ποιοτικές αλλά και ποσοτικές διαφωνίες με το μοτέλο των Witten και Sander είναι αξιοπρόσεκτες. Ο σύνδεσμος με το μοντέλο των Witten και Sander θα γίνει κατανοητό από την ισοδυναμία μικροσκοπικής (τυχαίας κίνησης) διάχυσης και της μακροσκοπικής εξίσωσης του Laplace, η οποία κυριαρχεί στην κατανομή του ηλεκτρικού πεδίου σε κάθε πείραμα. Αυτή η μαθηματική ισοδυναμία εξηγεί γιατί το μοντέλο των Witten και Sander εφαρμόζεται σε αρκετές περιπτώσεις που δεν περιλαμβάνουν συσσωμάτωση, για παράδειγμα στη διηλεκτρική κατάρρευση (dielectric breakdown), στην υγρό – υγρό μετάθεση (ημίρρευστη ψηλάφηση) (fluid-fluid displacement, viscous fingering) και στη διάχυση των πορωδών υλικών (dissolution of porous materials).

4.2 Συσσωμάτωση Συμπλέγματος-Συμπλέγματος περιορισμένη από τη διάχυση



Εικόνα 10: Τυπική προσομοίωση συσσωμάτωσης συμπλέγματος-συμπλέγματος περιορισμένης από τη διάχυση σε δύο διαστάσεις (a) μικρότερα συμπλέγματα υποβάλλονται σε τυχαία κίνηση πριν τη μη αντιστρεπτή συγκόλληση για να σχηματιστούν μεγαλύτερα συσσωματώματα (b) τέλος ένα μεγάλο ξεχωριστό συσσωμάτωμα παραμένει (c).

Το μοντέλο των Witten και Sander αμέλησε να περιγράψει σωστά τη συσσωμάτωση των αερολυμάτων, επειδή εξετάζει τη μοναδική ακίνητη ανάπτυξη ενός συμπλέγματος γύρω από το οποίο μόνο ξεχωριστά και μοναδικά σωματίδια κινούνται, για όσο χρόνο διαρκεί το πείραμα που περιγράφηκε παραπάνω και με άλλα λόγια υπάρχει ένα περισσότερο «δημοκρατικό» σύστημα μέσα στο οποίο όλα τα συμπλέγματα κινούνται. Για να περιγραφεί η κατάσταση αυτή περισσότερο αντικειμενικά, μία επέκταση του μοντέλου των Witten και Sander, ονομαζόμενη μοντέλο συμπλέγματος – συμπλέγματος (Cluster-cluster model) έχει εισαχθεί, στο οποίο ο μηχανισμός ανάπτυξης εξουσιάζεται

τώρα από τη σύγκρουση ανάμεσα από τα διαχεόμενα συμπλέγματα που έχουν κατά μέσο όρο το ίδιο μέγεθος (Viscek et al.,1986).

Στην αρχική δισδιάστατη απόδοση, το μοντέλο αρχίζει με τη συλλογή των ισομεγεθών και δισκόμορφα σχηματισμένων σωματιδίων τοποθετούμενα τυχαία σε δισδιάστατο τετράγωνο πλέγμα σε ένα τετράγωνο δοχείο. Αυτά τα σωματίδια είναι τότε ελεύθερα να υποβάλλονται σε τυχαία κίνηση διάχυσης εξομοιωμένη με την τυχαία κίνηση στο πλέγμα (λαμβάνοντας υπόψιν τις περιοδικές οριακές συνθήκες στην ακμή του κύβου). Όταν δύο σωματίδια φτάνουν στην παρακείμενη πλευρά του πλέγματος, αυτά προσκολλώνται μαζί μη αντιστρεπτά για να σχηματίσουν ένα

άκαμπτο διμερές, το οποίο τώρα είναι ικανό με διάχυση να εισέλθει στον κύβο. Αυτό το διμερές σε περιστροφή μπορεί να υποστεί τη συγκόληση με άλλα διμερή ή και με ξεχωριστά σωματίδια και η διαδικασία συνεχίζεται κατά αυτόν τον τρόπο. Μετά από κάθε πρόσφυση τα δύο συγκρουόμενα συμπλέγματα σχηματίζουν ένα νέο άκαμπτο μεγαλύτερο σύμπλεγμα. Ο μηχανισμός μπορεί να συνεχιστεί μέχρι ένα μοναδικά μεγάλο σωματίδιο να παραμείνει στο δοχείο. Η **Εικόνα 10** παρουσιάζει μια τυπική περίπτωση όπου κάποιος μπορεί να αντιληφθεί σε τρία διαφορετικά στάδια τη διαδικασία της συσσωμάτωσης.

Σε προσομοίωση, μια κινητική παράμετρος a έχει εισαχθεί, η οποία προσδιορίζει πως η ταχύτητα ενός συμπλέγματος u_j διαφέρει ως συνάρτηση του αριθμού των σωματιδίων από τα οποία απαρτίζεται j :

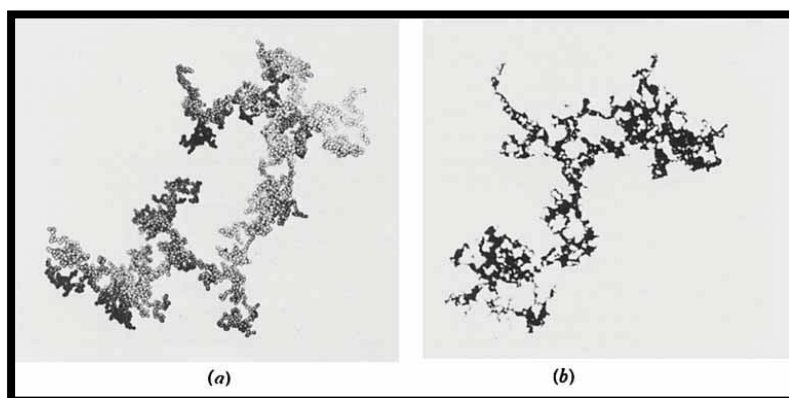
$$u_j \sim j^a \quad (34)$$

Για πραγματικές περιπτώσεις αρκούντως υψηλών αρνητικών τιμών a , για παράδειγμα όταν μικρού μεγέθους συμπλέγματα κινούνται γρηγορότερα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα σωματίδια, και στην οριακή κατάσταση των αρχικά πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων σωματιδίων, το οποίο μπορεί να αποδειχθεί αριθμητικά/υπολογιστικά, όταν τα συσσωματώματα διαθέτουν μορφοκλασματική δομή και η μορφοκλασματική διάσταση είναι ανεξάρτητη της παραμέτρου a σε μεγάλο εύρος τιμών της παραμέτρου a .

Μέχρι τώρα, αυτό δείχνει ότι τέτοια δυσδιάκριτα αποτελέσματα που επιφέρουν ανισοτροπία, όπως και αυτά που περιλαμβάνονται στο μοντέλο των Witten και Sander και δεν συντελούνται/παρατηρούνται, και τα συσσωματώματα συμπλέγματος – συμπλέγματος (cluster-cluster aggregation) και μπορούν να θεωρηθούν ως «ήπια» αυτό-όμοια μορφοκλασματικά σύνολα (“gentle” self-similar fractal), των οποίων η μορφοκλασματική διάσταση εξαρτάται μόνο από τη διάσταση του χώρου. Μια ακόμη διαφορά από το μοντέλο των Witten και Sander για τα συσσωματώματα αυτά είναι ότι τα συσσωματώματα συμπλέγματος – συμπλέγματος (cluster-cluster aggregates) διαθέτουν ένα συνολικό ελλειπτικό σχήμα που χαρακτηρίζεται από αρκετά μεγάλο λόγο ανισοτροπίας. Οι προϋπολογισμένες τιμές για τη μορφοκλασματική διάσταση είναι δοσμένες στον παραπάνω πίνακα και μπορεί να διαπιστωθεί ότι είναι μικρότερες από τις αντίστοιχες τιμές που βρέθηκαν στο μοντέλο των Witten και

Sander. Αυτό μπορεί να γίνει κατανοητό από μια απλή ποιοτική διαφωνία όταν δύο ισομεγέθη συμπλέγματα που διαχέονται έρχονται σε επαφή, αυτά αλληλοδιεισδύουν λιγότερο σε σχέση με ένα σύμπλεγμα και ένα ξεχωριστό σωματίδιο, και συνεπώς, η προκύπτουσα δομή είναι περισσότερο ανοιχτή, με άλλα λόγια διαθέτει μικρότερη μορφοκλασματική διάσταση. Η τρισδιάστατη τιμή, $d_f=1,78$, εμφανίζεται να είναι σε αρκετά καλή συμφωνία με τις πειραματικές τιμές που ευρίσκονται για τα αερολύματα και τα κολλοειδή συστήματα, το λιγότερο στην περίπτωση της γρήγορης συσσώματωσης, όπου η ηλεκτροστατική απόθεση μεταξύ των κολλοειδών έχει ολοσχερώς καλυφθεί (Witten and Sander, 1981).

Σε αντίθεση με τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά, η κινητική της ανάπτυξης του συσσωματώματος εξαρτάται ισχυρά από την παράμετρο a . Η εξάρτηση του χρόνου από το μέσο μέγεθος του συμπλέγματος ζ καθώς και ολόκληρη η μορφή της κατανομής του μεγέθους των συμπλεγμάτων μπορεί ικανοποιητικά να περιγραφεί από μια καλά εγκατεστημένη στη βιβλιογραφία εξίσωση, η οποία προσδιορίστηκε από τον von Smoluchowski, για χώρο διαστάσεων μεγαλύτερο από $d=2$, όπου οι διακυμάνσεις της συγκεντρώσεως μπορούν να παραληφθούν (Viscek and Family, 1984). Επέκταση της προσομοίωσης σε μεγαλύτερες τιμές μάς δείχνει ότι εκτός από την κρίσιμη τιμή



Εικόνα 11: (a) Τυπικό συσσωμάτωμα συμπλέγματος-συμπλέγματος που δομείται εκτός του πλέγματος σε ιεραρχικό πρότυπο συγκρινόμενο με (b) κολλοειδές συσσωμάτωμα χρυσού λαμβανόμενο πειραματικά από τον Weitz και τους συνεργατές του (1985) στην περίπτωση της γρήγορης συσσώματωσης. Η ποιοτική ομοιότητα είναι προφανής.

a_c (η οποία εξαρτάται από τη διάσταση του χώρου), ο μηχανισμός της συσσώματωσης γίνεται επικρατών από τη σωματιδίου – συμπλέγματος

πρόσκρουση για αυτό ένα μεγάλο σύμπλεγμα τελικά επικρατεί από την προσρόφηση όλων

των άλλων μικρών συμπλεγμάτων. Αυτή η απότομη αλλαγή με αυξανόμενη την τιμή του a από τη συσσώματωση συμπλέγματος – συμπλέγματος σε σωματιδίου – συμπλέγματος συσσώματωση έχει συσχετισθεί με αλλαγή στις αναλυτικές ιδιότητες

του διαλύματος, σύμφωνα με την ισότητα του von Smoluchowski που θα αναφερθεί παρακάτω (Viscek and Family, 1984).

Μια ιδανική απόδοση του μοντέλου της συσσωμάτωσης συμπλέγματος – συμπλέγματος, είναι το «ιεραρχικό μοντέλο» (“hierararchical model”), που χρησιμοποιείται μόνο για συμπλέγματα που είναι ακριβώς για τον ίδιο αριθμό σωματιδίων που μπορούν να συμφύονται. Αυτή η απόδοση, η οποία δίνει τα ίδια ποσοτικά αποτελέσματα, αλλά λιγότερο απαιτητικά για τον υπολογισμό του χρόνου, προσφέρει συστηματικές επεκτάσεις για ξεκάθαρες προσομοιώσεις, στην ειδική περίπτωση των προσομοιώσεων εκτός του πλέγματος, για να καταλάβει μεγαλύτερη διάσταση του χώρου, για να περιλάβει την περιστροφική διάχυση, και να λάβει υπόψη και τα αποτελέσματα της πόλωσης. Η **Εικόνα 11(a)** παρουσιάζει ένα συσσωμάτωμα 4096 σωματιδίων που δομείται με μια ιεραρχική διαδικασία εκτός του πλέγματος σε τρεις διαστάσεις. Σε αντιπαραβολή, η **Εικόνα 11(b)** δείχνει ένα κολλοειδές συσσωμάτωμα χρυσού το οποίο αναπτύχθηκε από τον David Weitz και τους συνεργάτες του.

Η ιεραρχική απόδοση έχει επίσης προσφέρει τις συνθήκες για μερικές αναλυτικές έρευνες. Έχει κατοχυρωθεί ότι, σε αντίθεση με το μοντέλο των Witten και Sander, υπάρχει στο μοντέλο συμπλέγματος-συμπλέγματος, μία χαρακτηριστική άνω κρίσιμη διάσταση (critical dimension) ($d_f=8,8$), πάνω από την οποία τα συμπλέγματα γίνονται ολοφάνερα το ένα στο άλλο, συνεπώς η μορφοκλασματική τους διάσταση γίνεται ανεξάρτητη της διάστασης του χώρου.

4.3 Άλλοι μηχανισμοί συσσωμάτωσης

4.3.1 Βαλλιστική συσσωμάτωση

Και στις δύο περιπτώσεις των διατυπωμένων μοντέλων σωματιδίου-συμπλέγματος αλλά και συσσωμάτωσης συμπλέγματος-συμπλέγματος περιορισμένη από τη διάχυση (Particle-cluster Diffusion-limited aggregation / Cluster-cluster Diffusion-limited aggregation), η μέση ελεύθερη διαδρομή της διάχυσης Brown των σωματιδίων (ή των συμπλεγμάτων) έχει επιλεγεί για την απλότητα του γεγονότος ότι είναι ακριβώς ίση με διάμετρο των σωματιδίων, η οποία είναι η απόσταση μεταξύ τους στο πλέγμα όταν το μοντέλο αναπτύσσεται σε πλέγμα. Αυτό το γεγονός τονίστηκε για πρώτη φορά από τον Bensimot και τους συνεργάτες του στην περίπτωση της συσσωμάτωσης

σωματιδίου - συμπλέγματος. Στην πραγματικότητα, μπορεί κάποιος να εύκολα να εφησυχασθεί με αυτόν τον περιορισμό και να επιλέξει μία μεγαλύτερη μέση διαδρομή. Αν αυτό γίνει, κάποιος εύκολα θα παρατηρήσει και στις δύο περιπτώσεις, μετά από ένα ενδιαμέσο σύστημα όπου τα συμπλέγματα είναι περισσότερο συμπαγή, τα ίδια αποτελέσματα όπως πριν, με την ίδια μορφοκλασματική διάσταση η οποία ανακτήθηκε όταν το μέγεθος του συμπλέγματος γίνεται μεγαλύτερο από τη μέση ελεύθερη διαδρομή. Ένα ενδιαφέρον όριο είναι η περίπτωση όπου η ελεύθερη μέση διαδρομή έχει επιλεχθεί να είναι εν μέρει άπειρη, δηλαδή όταν πάντοτε παραμένει μεγαλύτερη από το μέγεθος του συμπλέγματος. Σε αυτό το όριο, κάποιος ορίζει ένα άλλο μοντέλο, το οποίο ονομάζεται βαλλιστικό μοντέλο (ballistic model), στο οποίο τα σωματίδια (ή τα συμπλέγματα) ακολουθούν τροχιές ευθείας γραμμής τοποθετημένες τυχαία στο χώρο. Πράγματι, αυτό το μοντέλο έχει εισαχθεί από τον Vold στην περίπτωση της συσσωμάτωσης σωματιδίου συμπλέγματος και από τους Sutherland και Goodard-Nia στην περίπτωση της ιεραρχικής συσσωμάτωσης συμπλέγματος – συμπλέγματος (hierarchical cluster- cluster aggregation). Από πειραματική σκοπιά, αυτή η κατάσταση αντιμετωπίζεται στην περίπτωση των αερολυμάτων, όταν η πίεση του αερίου γίνεται πολύ χαμηλή ή όταν τα σωματίδια (ή τα συμπλέγματα) είναι πολύ μεγάλα, δηλαδή μοριακού μεγέθους (Jullien 1987; Vicsek et al. 1990).

Πιο πρόσφατες αριθμητικές έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε σωματιδίου-συμπλέγματος και συμπλέγματος- συμπλέγματος βαλλιστικά μοντέλα (particle-cluster and cluster-cluster ballistic model) με ποσοτικώς διαφορετικά αποτελέσματα. Στο μοντέλο σωματιδίου- συμπλέγματος το πέρασμα από την τροχιά Brown στη γραμμική τροχιά έχει δραματικό αποτέλεσμα (το σύμπλεγμα γίνεται «συμπαγές» στην ορολογία των Μορφοκλασματικών Συνόλων, δηλαδή $d_f=d$), ενώ στο μοντέλο του συμπλέγματος-συμπλέγματος η μορφοκλασματική διάσταση είναι μόνο λεπτομερώς αυξημένη (από 1,44 σε 1,51 για τις δύο διαστάσεις και από 1,78 σε 1,90 στις τρεις διαστάσεις).

Αλλή παραλλαγή του βαλλιστικού μοντέλου υπολογίζει την τυχαία ευθεία τροχιά με μηδενική επίδραση παραμέτρου. Στην περίπτωση της αναλογικής τροχιάς πραγματοποιείται στο κέντρο της μάζας των δύο αντικειμένων που υφίστανται συγκόλληση. Στην περίπτωση της συσσωμάτωσης σωματιδίου – συμπλέγματος το

τελικό σύμπλεγμα είναι πάλι συμπαγές ($d_f=d$), ενώ στην περίπτωση της συσσωμάτωσης συμπλέγματος-συμπλέγματος η μορφοκλασματική διάσταση είναι πάλι σε περιορισμένο βαθμό αυξημένη συγκρινόμενη με την περίπτωση της μη μηδενικής παραμέτρου της πρόσκρουσης (από 1,51 σε 1,56 στις δύο διαστάσεις και από 1,96 σε 2,05 στις τρεις).

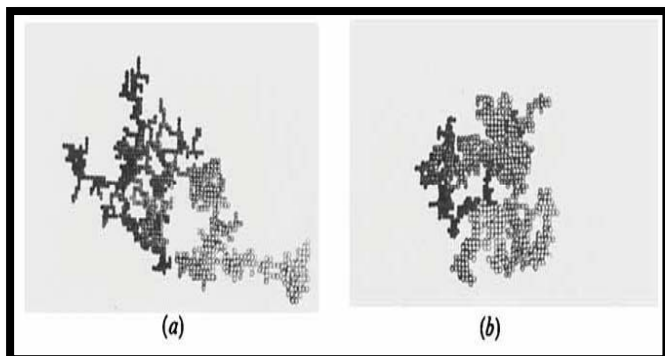
Τελικά, μία άλλη περισσότερο απλή απόδοση του βαλλιστικού μοντέλου σωματιδίου – συμπλέγματος είναι του μοντέλου του καταιγισμού (rain model), στο οποίο τα σωματίδια ακολουθούν τυχαίες παράλληλες τροχιές. Αυτό το μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μελετηθεί η τυχαία απόθεση (σωματιδίων) κάτω από τα αποτελέσματα της επιδράσεως της βαρύτητας.

4.3.2 Χημικώς περιορισμένη συσσωμάτωση

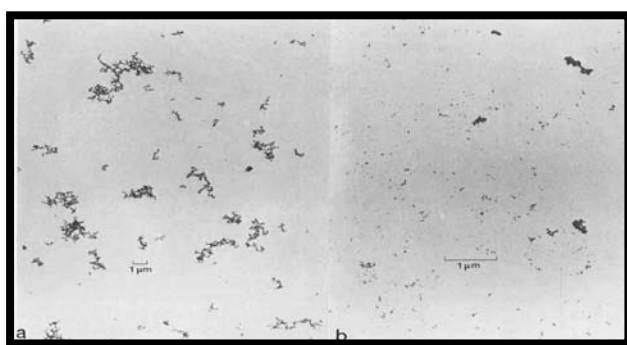
Ένας άλλος σημαντικός περιορισμός της συσσωμάτωσης περιορισμένης από τη διάχυση είναι ότι η ακινητοποίηση συντελείται πάντοτε στην πρώτη επαφή/σύγκρουση των σωματιδίων. Αυτός ο περιορισμός μπορεί να συσχετισθεί από την εισαγωγή μια πιθανότητας p όταν τα δύο συγκρουόμενα αντικείμενα έρχονται σε επαφή, αυτά ακινητοποιούνται μαζί και μόνιμα. Αυτό από την σκοπιά της φυσικής δικαιολογείται στην περίπτωση των κολλοειδών, όπου οφειλόμενος στα επιφανειακά τους φορτία, υπάρχει ένας μεγάλου εύρους απωθητικός φραγμός, τον οποίο τα σωματίδια θα πρέπει να υπερνικήσουν πριν υποστούν την επίδραση των μικρού εύρους van der Waals ελκτικών αλληλεπιδράσεων. Με άλλα λόγια, εξαιτίας του φραγμού, τα αντικείμενα υφίστανται αναπηδήσεις αρκετές φορές το ένα εξαιτίας του άλλου πριν τελικά ακινητοποιηθούν. Έπειτα, αυτή η μετατροπή αυτών των αρχικών μοντέλων μόλις εισήχθηκε σε ένα μέσο καθεστώ, στο οποίο τα συμπλέγματα είναι φαινομενικά περισσότερο συμπαγή, μετά από αυτό, η μορφοκλασματική διάσταση, η οποία θα ευρεθεί για πιθανότητα συγκόλλησης $p=1$ είναι τελικά επικρατούσα όταν κάποιος επιτύχει μέγεθος συμπλεγμάτων αρκούντως μεγάλο. Το χαρακτηριστικό μέσο μέγεθος των συμπλεγμάτων τείνει στο άπειρο, όταν το p τείνει στο μηδέν. Κατά αυτό τον τρόπο κάποιος μπορεί να ορίσει κάποιο άλλο μοντέλο, στο όριο του $p \rightarrow 0$, όταν τα σωματίδια που συγκρούονται περιέχουν όλο τον απεριόριστο χρόνο να ερευνηθούν όλες οι πιθανότητες ακινητοποίησης. Ολοφάνερα, οι σχετικές τους τροχιές μπορούν, αλλά όχι για πολύ, να διαδραματίσουν έναν ρόλο στο μηχανισμό της συσσωμάτωσης, το οποίο είναι τότε εξαρτημένο από τη χημική φύση των

συγκρουόμενων σωματιδίων. Αυτό επομένως ονομάζεται μοντέλο χημικώς οριακής συσσωμάτωσης (Chemically limited aggregation).

Στην περίπτωση του σωματιδίου – συμπλέγματος κάποιος ανακτά ένα πολύ γνωστό μοντέλο, το μοντέλο του Eden, το οποίο έχει με πρωτοτυπία εισαχθεί για τη μελέτη βιολογικής ανάπτυξης (Kin1993). Σε αυτό το μοντέλο, σωματίδια προστέθηκαν το ένα μετά το άλλο τυχαία στην επιφάνεια του συμπλέγματος. Όταν συμπαγή



Εικόνα 13: Σύγκριση μεταξύ συσσωματώματων συμπλέγματος - συμπλέγματος του ίδιου αριθμού σωματιδίων που λήφθηκε από (a) περιορισμένη από τη διάχυση και (b) χημικώς περιορισμένη συσσωμάτωση. Η χημικώς περιορισμένη συσσωμάτωση οδηγεί σε περισσότερη συμπαγείς μορφοκλασματικές δομές.



Εικόνα 12: Κολλοειδή συσσωματώματα χρυσού που λήφθηκαν στην περίπτωση (a) γρήγορης διάχυσης (περιορισμένη από τη διάχυση, ολοκληρωτική ανάλυση) και (b) αργή συσσωμάτωση (χημικώς περιορισμένη, μερική ανάλυση). Στη (b) η αργή διάχυση οδηγεί σε περισσότερη συμπαγείς μορφοκλασματικές δομές.

συσσωματώματα παράχθηκαν με αυτό τον τρόπο, η επιφάνειά τους εκφράζει ενδιαφέρουσες προσεγγίσεις, οι οποίες είναι αντικείμενο αρκετών πρόσφατων υπολογιστικών ερευνών.

Στην περίπτωση του συμπλέγματος- συμπλέγματος, αυτή η διαδικασία δεν οδηγεί σε συμπαγή συσσωματώματα, μολονότι η μορφοκλασματική τους διάσταση είναι μεγαλύτερη από την περίπτωση του βαλλιστικού μοντέλου. Οι μορφοκλασματικές διαστάσεις φαίνονται να είναι 1,55 και 2,04 στις δύο και στις τρεις διαστάσεις αντιστοίχως, το οποίο μπορεί να συσχετισθεί με 1,44 και 1,78 στη περίπτωση της διάχυσης. Η

Εικόνα 11 παρουσιάζει δύο τυπικά συσσωματώματα με τον ίδιο αριθμό σωματιδίων (2048) αναπτυσσόμενα σε ένα κυβικό πλέγμα με το ιεραρχικό συμπλέγματος-

συμπλέγματος μοντέλο στην περίπτωση της συσσωμάτωσης περιορισμένης από τη διάχυση συσσωμάτωσης (**Εικόνα 12(a)**) και στην περίπτωση της χημικώς περιορισμένης συσσωμάτωσης (**Εικόνα 12(b)**). Η διαφορά στη μορφοκλασματική διάσταση μεταξύ των δύο περιπτώσεων μπορεί εύκολα να γίνει κατανοητή, με απλή συμπαγή δισδιάστατη προοπτική απεικόνιση στην περίπτωση (b), χαρακτηριστική για τη μορφοκλασματική διάσταση κοντά στο 2. Σύντομα μετά την ανάπτυξη του μοντέλου της χημικώς περιορισμένης συσσωμάτωσης, αυτή η διαφορά στη μορφοκλασματική διάσταση έχει εξακριβωθεί πειραματικά από τους Weitz και τους συνεργάτες του, στην περίπτωση των κολλοειδών σωματιδίων χρυσού, μπορούν να μεταβούν γρήγορα από την ταχεία συσσωμάτωση (**Εικόνα 13(a)**) στην αργή συσσωμάτωση (**Εικόνα 13(b)**) με την αύξηση του απωστικού φραγμού μεταξύ των σωματιδίων (Jullien, 1987).

4.3.3 Συσσωμάτωση με αναδιάρθρωση

Ο τελευταίος φραγμός στα προγενέστερα μοντέλα συσσωμάτωσης θα σημειώνεται ο άκαμptos χαρακτήρας των συμπλεγμάτων διαμέσου της διαδικασίας της συσσωμάτωσης. Σε πρακτικό επίπεδο, σε όλα τα πραγματικά πειράματα, τα φαινόμενα αναδιάρθρωσης (δηλαδή οι αποσχηματισμοί των συμπλεγμάτων) είναι πάντοτε παρόντες σε κάποιο βαθμό. Υπό την προϋπόθεση ότι λαμβάνονται υπόψη όλες οι λεπτομερείς ιδιομορφίες των δυνάμεων αλληλεπίδρασης μεταξύ των σωματιδίων, κάποιοι μηχανισμοί μπορούν να προσομοιωθούν με έναν ξεκάθαρο τρόπο. Παρόλα αυτά έχει γίνει προσπάθεια να ληφθεί υπόψη ένας ολοκληρωτικός κατηγορηματικός σχηματισμός για το δυναμικό αλληλεπίδρασης στην περίπτωση της κολλοειδούς συσσωμάτωσης, εκτελώντας μοριακές δυναμικές προσομοιώσεις βασισμένοι στην εξίσωση του Langevin, όμως μόνο μετρίου μεγέθους συμπλέγματα θα μπορούσαν να τον επιτύχουν και όχι ακριβές τελικό συμπέρασμα έχει εξαχθεί για τη μορφοκλασματική τους διάσταση. Οι μοναδικές απλές μεγάλες προσομοιώσεις κατά την παρούσα περίοδο πρόσφατες είναι αυτές που λαμβάνουν υπόψη για συγκεκριμένο λόγο τους αναδιαρθρωτικούς ή τους αναπροσαρμοστικούς μηχανισμούς, οι οποίοι αιτιολογούν τα πειραματικά δεδομένα.

Αφορούσες τη σωματιδίου-συμπλέγματος συσσωμάτωση, έχουν υπάρξει ενδιαφέρουσες επεκτάσεις του μοντέλου των Witten-Sander, στο οποίο το εισερχόμενο σωματίδιο επιτρέπεται να διαχυθεί στην επιφάνεια του συμπλέγματος

με τέτοιο τρόπο ώστε να βρει έναν πιο ευνοϊκό τρόπο όπου θα προσφύεται πιο δυνατά με στόχο να συσσωματωθεί (Langer and Muller-Krumbhaar, I,II,III, 1978) . Σε γενικό πλαίσιο τα αποτελέσματα της επιφανειακής τάσης και τα αποτελέσματα της ανισοτροπίας έχουν ληφθεί υπόψη στη λογική του μοντέλου της δενδριτικής ανάπτυξης (model dendritic growth), όπως αυτά που παρατηρήθηκαν στο σχηματισμό των νιφάδων. Όμοια φαινόμενα χαλάρωσης έχουν ήδη ληφθεί υπόψη στο μοντέλο του καταιγισμού (rain model) για τη βαλλιστική συσσωμάτωση για να δώσει μια ρεαλιστική περιγραφή των πειραματικών τυχαίων διατάξεων.

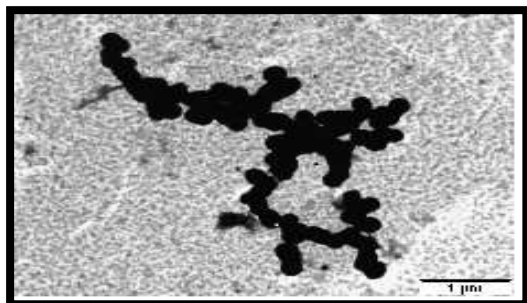
Στην περίπτωση της συμπλέγματος- συμπλέγματος συσσωμάτωσης, ένας απλός μηχανισμός αναπροσαρμογής έχει θεωρηθεί για δύο διαστάσεις: μετά την πρώτη επαφή, τα δύο συγκρουόμενα συμπλέγματα επιτρέπεται να περιστραφούν μέχρι να επιτευχθεί η δεύτερη επαφή τους. Για μικρά συμπλέγματα ($N \sim 512$), μια καθορισμένη συμπαγοποίηση έχει βρεθεί να παρατηρείται, για παράδειγμα, στα πειράματα συσσωμάτωσης σφαιριδίων κηρού στο νερό. Οπότε επιτυγχάνοντας μεγαλύτερα συμπλέγματα (μέχρι $N=16384$), τα αναπροσαρμοστικά αποτελέσματα είναι λιγότερο προφανή και η μορφοκλασματική διάσταση, η οποία μετρά μεγάλου εύρους συσχετίσεις, είναι μόνο σε περιορισμένο βαθμό αυξημένη. Θεαματική ποσοτική πειραματική οριστικοποίηση αυτού του γεγονότος έχει παραχθεί από τον Skjeltorp σε ένα πείραμα το οποίο χρησιμοποιεί ενιαίου μεγέθους μικροσφαιρίδια πολυστυρενίου περιορισμένα σε λεπτές στοιβάδες.

Μια άλλου είδους αναδιάρθρωση προσφέρει τις συνθήκες στα σωματίδια ή στα συμπλέγματα να δραπετεύσουν μετά την πρόσφυση. Αυτό το αποτέλεσμα είναι διαφορετικό από την πιθανότητα πρόσφυσης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση κάποιου βαθμού αναστρεψιμότητα είναι επιτρεπτή, η οποία μπορεί να αιτιολογηθεί φυσικά αν το ελκτικό ελάχιστο δυναμικό van der Waals είναι αρκούντως ασθενές. Αυτή η ολοκληρωτικά αναστρέψιμη κατάσταση, στην οποία μια αμετάβλητη κατάσταση (ή μια κατάσταση δυναμικής ισορροπίας) έχει επιτευχθεί με δεσμούς να αναπτύσσονται και να διασπώνται συνεχώς, έχει θεωρηθεί στην περίπτωση σωματιδίου συμπλέγματος, αλλά και στην συμπλέγματος - συμπλέγματος. Και στις δύο περιπτώσεις η μορφοκλασματική διάσταση σε μια κατάσταση ισορροπίας διακλαδισμένων πολυμερών (ή “animal lattice” / ζωικών πλεγμάτων) έχει ανακτηθεί.

Θεαματική εξέλιξη έχει σύντομα επιτευχθεί στην κατανόηση των φαινομένων της συσσωμάτωσης, οφειλόμενη στην εισαγωγή της ιδέας των μορφοκλασματικών συνόλων. Είναι τώρα πιθανό να περιγράψουμε ποσοτικά συνολικά το σχήμα των συσσωματωμάτων από τη μορφοκλασματική τους διάσταση. Μέχρι την εισαγωγή του μοντέλου των Witten – Sander, διαφορετικά θεωρητικά μοντέλα έχουν δημιουργηθεί για να περιγράψουν τα φαινόμενα της συσσωμάτωσης και να ανακτήσουν τις μορφοκλασματικές δομές. Μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τη φύση των μηχανισμών της συσσωμάτωσης, σωματιδίου – συμπλέγματος ή συμπλέγματος – συμπλέγματος, οι οποίες αντιστοιχούν σε διαφορετικές πειραματικές καταστάσεις. Συμφωνία μεταξύ θεωρίας και πειραμάτων είναι ήδη πολύ ενθαρρυντική, αλλά πολύ περισσότερες μελέτες ήδη έχουν πραγματοποιηθεί. Ειδικά, πρέπει να μελετηθούν φυσικές ιδιότητες των συσσωματωμάτων, όπως η ελαστικότητα και η ρεολογία, η οποία χαρακτηρίζεται από εκθέτες εκτός της μορφοκλασματικής διάστασης. Κάποιος μπορεί επίσης να υποθέσει ότι αυτές οι πρόσφατες μελέτες, οι οποίες είναι κυρίως φτιαγμένες με τη βοήθεια αριθμητικών μεθόδων σε υπολογιστή, μπορεί να αποδόσει κάποιες ιδέες πώς να αναπτυχθούν αναλυτικές θεωρίες και πώς να δημιουργηθούν θεμελιώδεις και στοιχειώδεις διαδικασίες για να γίνουν κατανοητά τα μη αντιστρεπτά φαινόμενα.

5. Θεωρία DLVO θεωρία

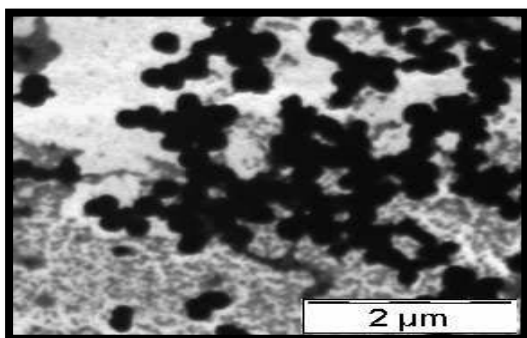
Σύμφωνα με την κλασσική θεωρία DLVO (Derjaguin and Landau, 1941; Verwey and Overbeek 1948), τα λιποσωμακά εναιωρήματα γίνονται θερμοδυναμικά ασταθή,



Εικόνα 14: TEM (Transmission Electron Microscopy) μικρογραφία των συμπλεγμάτων DPPC λιποσωμάτων παρουσία Ca^{2+} συγκέντρωσης 0,2M. Ένα διακλαδισμένο και ανοιχτό συσσωμάτωμα χαρακτηριστικό για την DLCA συσσωμάτωση.

όταν δεν υπάρχουν απωστικές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Οι van der Waals ελκτικές δυνάμεις είναι οι κατάλληλες για τη συσσωμάτωση, όταν δύο ή περισσότερα λιποσώματα είναι αρκετά κοντά το ένα στο άλλο. Η διακύμανση της μέτρησης του ζ-δυναμικού (το οποίο ορίζεται και ως ένας υψηλός ηλεκτροστατικός φραγμός (high electrostatic barrier) δίνει μία εκτίμηση στη μελέτη των ηλεκτροστατικών απωθήσεων.

Για να επαληθευτεί μια κατανοητή συσχέτιση μεταξύ των τιμών του ζ-δυναμικού και της συσσωμάτωσης των λιποσωμάτων, η αντίδραση αποφεύγεται. DPPC (dipalmitoylphosphocholine) και EYPC (egg yolk phosphatidylcholine) λιποσώματα απουσία κάποιου άλατος έχουν αρχικά αρνητικό ζ-δυναμικό γύρω στα -15mV, η



Εικόνα 15: TEM (Transmission Electron Microscopy) μικρογραφία των συμπλεγμάτων DPPC λιποσωμάτων παρουσία Ca^{2+} συγκέντρωσης 0,7M. Ένα συμπαγές και πυκνό συσσωμάτωμα χαρακτηριστικό για την RLCA συσσωμάτωση.

προσρόφηση μικρών συγκεντρώσεων Ca^{2+} παράγει μια άμεση αντιστροφή με την ένδειξη του ζ-δυναμικού σε θετικές τιμές. Για υψηλότερες συγκεντρώσεις, οι αλλαγές ανιχνεύονται εξαιτίας της υψηλής ιονικής δύναμης του μέσου και το ζ-δυναμικό προσεγγίζει το μηδέν. DMPC (dimyristoylphosphocholine) λιποσώματα διαθέτουν ένα αρχικό αρνητικό ζ-δυναμικό γύρω στα -40mV καμία αλλαγή στην ένδειξη του ζ-δυναμικού δε λαμβάνεται σε αυτό το εύρος των συγκεντρώσεων, αλλά η προσρόφηση του Ca^{2+} μειώνει την απόλυτη

τιμή του ζ-δυναμικού των λιποσωμάτων αυξανόμενη της συγκέντρωσης (Sabín et al., 2007; Uhrikova et al., 2008).

Μια πιθανή εξήγηση σχετίζεται με τον προσανατολισμό των χημικών ομάδων των συνιστωσών της διεπιφάνειας και της αλληλεπίδρασης με τα μόρια του ύδατος, των ιόντων και των πολικών μορίων. Μελέτες (Sabín et al., 2007; Sinn et al., 2006) του διπόλου δυναμικού των DMPC (dimyristoylphosphocholine) λιποσωμάτων δείχνουν ότι οι ομάδες COO^- προσανατολίζονται προς τις θετικές τελικές αλυσίδες της μεμβράνης και οι αρνητικές προς το νερό.

Μπορεί να επιβεβαιωθεί ότι η μορφοκλασματική διάσταση διατηρεί την αναμενόμενη τιμή από τις προσομοιώσεις. Σε μερικές περιπτώσεις, μια σαφής ελάττωση της μορφοκλασματικής διάστασης από 2.1 σε 1.8 μπορεί να παρατηρηθεί, όταν η συγκέντρωση του Ca^{2+} αυξάνεται. Αυτό προτείνει ότι τα συσσωματώματα είναι περισσότερο συμπαγή και πυκνά, αν το φορτίο των λιποσωμάτων δεν είναι ολοκληρωτικά καλυμμένο και αν $P < 1$ ¹. Αυτά είναι τα τυπικά συμπλέγματα του RLCA (reaction - limited cluster aggregation) καθεστώτος συσσωμάτωσης. Αυξάνοντας τη συγκέντρωση του Ca^{2+} , η ηλεκτροστατική απώθηση εξαφανίζεται και όλες οι συγκρούσεις είναι πλήρως αποτελεσματικές ($P=1$). Σε αυτή την περίπτωση, υποθέτουμε ότι διακλαδισμένα συμπλέγματα είναι περισσότερο σε τυπική διάταξη με το καθεστώς DLCA (diffusion-limited cluster aggregation) (Εικόνες 14 και 15).

Επίσης, σύμφωνα με τον Sabín και τους συνεργάτες του, η διαδικασία της συσσωμάτωσης βρίσκεται σε ένα δεύτερο ελάχιστο για το δυναμικό DLVO και εντόπισαν τις δυνάμεις ενυδάτωσης ως πιθανώς κατάλληλες για την έγκριση της ύπαρξης ενός δεύτερου ελαχίστου. Οι δυνάμεις ενυδάτωσης είναι περισσότερο καθορισμένες στα λιποσώματα EYPC (egg yolk phosphatidylcholine), επειδή τα λιποσώματα EYPC είναι ένα μείγμα από λιπίδια διαφορετικού μήκους. Επιπλέον, οι λιποσωμιακές επιφάνειες έχουν πολύ περισσότερες ανωμαλίες διαμέσου των οποίων μόρια νερού μπορούν να εγκλωβιστούν (Sabín et al., 2006; Sabín et al., 2007a,b).

Η θεωρία DLVO λαμβάνει υπόψη το δυναμικό αλληλεπίδρασης μεταξύ των λιποσωμάτων ως το άθροισμα των ελκτικών London-van der Waals

¹ P: πιθανότητα αποτελεσματικών συγκρούσεων μεταξύ των λιποσωμάτων.

αλληλεπιδράσεων (V_{Waals}) και των απωθητικών αλληλεπιδράσεων (V_{elec}) εξαιτίας του ηλεκτρικού φορτίου των σωματιδίων:

$$V_T(x) = V_{Waals}(x) + V_{elec}(x) \quad (35)$$

Όπου x είναι η απόσταση μεταξύ των επιφανειών των δύο λιποσωμάτων.

Για την περίπτωση των δύο σφαιρικών κελυφών με ίση ακτίνα a , και το πάχος d , η έκφραση V_{Waals} , εξάγεται από τον Hamaker δίνεται από:

$$V_{Waals}(x) = -\frac{Aa}{12 \left[\left(\frac{1}{x} + 2d \right) - \left(\frac{2}{x} + d \right) + \left(\frac{1}{d} \right) \right]} - \frac{A}{6 \left[\frac{\ln x(x+2d)}{(x+d)^2} \right]} \quad (36)$$

Όπου A είναι η ελκτική σταθερά Hamaker $A=1.3 \cdot 10^{-21}$ J.

Η έκφραση για το απωστικό δυναμικό V_{elec} έχει τη μορφή:

$$V_{elec}(x) = 2\pi\epsilon_0\epsilon_r(\alpha + \Delta)\psi_d^2 \exp[-k(x - 2\Delta)] \quad (37)$$

Όπου k είναι το αντίστροφο του μήκους Debye, Δ είναι το μήκος της στοιβάδας Stern ($\Delta=0.49\text{nm}$) όπου α είναι η ενυδατωμένη ακτίνα του Ca^{2+} , και ψ_d είναι το δυναμικό επιφανείας στο εξωτερικό του επιπέδου Helmholtz, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ίσο με το ζ-δυναμικό για μικρές τιμές.

Το ειδικό δυναμικό ενυδάτωσης (specific hydration potential) ισούται με:

$$V_{hydra}(x) = \pi a \lambda^2 H_0 \exp\left[-\frac{x}{\lambda}\right] \quad (38)$$

Όπου H_0 είναι η σταθερά ενυδάτωσης και λ η σταθερά decay.

Γενικά, μια μείωση της μορφοκλασματικής διάστασης από $d_f \approx 2.1$ (RLCA) σε $d_f \approx 1.8$ (DLCA) θα μπορούσε να παρατηρηθεί ως η αυξανόμενη ιονική ισχύς και το φορτίο των λιποσωμάτων τα οποία καλύφθηκαν από τη μελέτη του Sabín και των συνεργατών της (2006).

5.1 Φυσικά Φαινόμενα και Γεωμετρία Fractals στην Μελέτη της Συμπεριφοράς των Λιποσωμάτων

Η συσσωμάτωση είναι ένα μεσοσκοπικό βιολογικό φαινόμενο το οποίο εμφανίζεται σε μικκύλια, κυστίδια και μεγάλα μακρομόρια. Με τη βοήθεια της Φυσικής θα μπορούσε να διαλευκανθεί η σχέση μεταξύ της δομής και της κινητικής των συσσωματωμάτων αναφορικά με τη σχετική δύναμη των διαφόρων αλληλεπιδράσεων (ηλεκτροστατική, μαγνητική, στερική, κ.α.). Στη βιολογία, η γνώση του μηχανισμού αλληλεπίδρασης σε μικρές αποστάσεις μεταξύ αυτών των υλικών που εμπλέκονται σε ένα διάλυμα ηλεκτρολύτη είναι το κλειδί για τη διασαφήνιση των βασικών και στοιχειωδών βιολογικών διαδικασιών που πραγματοποιούνται σε κυτταρικά φαινόμενα, όπως είναι η σύντηξη της μεμβράνης. Επιστημονικές εργασίες έχουν εστιάσει στη μορφολογική και κινητική των συσσωματωμάτων που σχηματίζονται από λιποσώματα, τα οποία έχουν παρασκευαστεί από φωσφατιδυλοσερίνη (phosphatidilserine-PS), η οποία είναι το κυριότερο ανιονικό φωσφολιπίδιο σε πολλά είδη κυτταρικών μεμβρανών.

Η Γεωμετρία των Μορφοκλασματικών Συνόλων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει τη μορφολογία των συμπλεγμάτων διαμέσου της μέτρησης των μορφοκλασματικών διαστάσεών τους. Πολλές από τις μορφολογίες οι οποίες σχηματίζονται από συσσωματωμένα κολλοειδή συστήματα έχουν ήδη αναφερθεί ως μορφοκλασματικές μάζες. Η μάζα των συσσωματωμάτων M αυτών ορίζεται με βάση την ακτίνα R σύμφωνα με τη μαθηματική σχέση

$$M \sim R^{d_m} \quad (39)$$

όπου d_m είναι η μορφοκλασματική διάσταση της μάζας (mass fractal dimension).

Με τον τρόπο αυτό, περισσότερο ή λιγότερο διακλαδισμένα συμπλέγματα/ συσσωματώματα ($1.75 \leq d_m \leq 2.1$) έχουν αναφερθεί σε μη αναστρέψιμες συσσωματώσεις των υλικών αυτών δεδομένου ότι πυκνές συσσωματωμένες δομές έχει τεκμηριωθεί ότι διαθέτουν μορφοκλασματική διάσταση ίση με $d_m > 2.5$, όταν η εσωτερική αναδιάρθρωση είναι επιτρεπτή (Roldán-Vargas et al., 2009).

Εκτός από τη μορφοκλασματική διάσταση της μάζας, μία άλλη ταξινόμηση για τη διερεύνηση της συμμετρίας έχει περιγραφεί ήδη για ενιαίες δομές ($d_m=3$), οι οποίες

περιορίζονται δομικά από μορφοκλασματικές ακανόνιστες επιφάνειες S οι οποίες είναι ανάλογες της ακτίνας R και ορίζονται σύμφωνα με τη μαθηματική σχέση ως

$$S \sim R^{d_s} \quad (40)$$

όπου ($2 \leq d_s < 3$) και το d_s η μορφοκλασματική διάσταση της επιφάνειας. Στη βιβλιογραφία και από την πειραματική οπτική γωνία, είναι αρκετά δύσκολο να εντοπίσει κανείς το φαινόμενο της συσσωμάτωσης (ή άλλα φαινόμενα που σχετίζονται με τη συσσωμάτωση), που να περιγράφονται χρησιμοποιώντας την αντίληψη της μορφοκλασματικής επιφάνειας. Μία αξιοπρόσεκτη εξαίρεση είναι η ερευνητική εργασία των Keefer και Shaefer στην ανάπτυξη σιλικονούχων/πυριτικών σωματιδίων σε διάλυμα.

Σε μια πρωτοπόρα εργασία, οι Pfeifer και Avnir πρότειναν την εφαρμογή της θεωρίας των Μορφοκλασματικών Συνόλων για να χαρακτηρίσουν ετερογενείς χημικές επιφάνειες, όπως αυτές που σχηματίζονται κατά το βιολογικό/φυσικό φαινόμενο της συσσωμάτωσης. Σε αυτή την έρευνα, επιφάνειες με διαφορετική αταξία (που χαρακτηρίζει την τραχύτητα) που χαρακτηρίζονται από ένα πραγματικό αριθμό d , όπου $2 < d < 3$, αν έχουν ικανοποιηθεί προηγουμένως ορισμένες συνθήκες.

5.1.1 Η κινητική του Φαινομένου της Συσσωμάτωσης.

Αναλύοντας την επίδραση της ολικής ενέργειας αλληλεπίδρασης μεταξύ των λιποσωμάτων για το σχηματισμό μορφολογιών συμπλεγμάτων/συσσωματωμάτων, κάποιοι ερευνητές διαφωνούν με την κλασσική θεωρία DLVO (η οποία «λαμβάνει υπόψη της» μόνο τις δυνάμεις Coulomb και τις αλληλεπιδράσεις van der Waals) και δεν μπορούν να εξηγήσουν πλήρως το φαινόμενο της συσσωμάτωσης. Όσον αφορά αυτό, είναι ευρέως γνωστό από τη βιοφυσική προσέγγιση τέτοιων φαινομένων, ότι οι φωσφολιπιδικές πολικές ομάδες αποτελούν μέρος της επιφάνειας των λιπιδικών κυστιδίων και είναι περισσότερο ή λιγότερο ενυδατωμένες. Για αυτό το λόγο θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η ενέργεια ενυδάτωσης. Πραγματικά, μερικοί συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η ενέργεια από τις αλληλεπιδράσεις/δυνάμεις που εμφανίζονται κατά την ενυδάτωση των πολικών κεφαλών των φωσφολιπιδίων μπορεί να λάβουν ένα ρόλο κλειδί στη λιποσωματική συσσωμάτωση (Roldán-Vargas et al., 2009).

5.1.1.1 Η Κινητική της Συσσωμάτωσης.

Αναφορικά με την κινητική του φαινομένου της συσσωμάτωσης, είναι δυνατό να εκλαμβάνεται η κίνηση του συσσωματώματος ως η κίνηση ενός στερεού σώματος με διακεκριμένη και καθυστερημένη και μια ισότροπη μεταθετή διάχυση. Για μια σειρά σωματιδίων q και ο μέσος όρος του μεγέθους των συμπλεγμάτων/συσσωματωμάτων μελετήθηκαν στην εργασία των Roldán-Vargas και των συνεργατών του (2009) (μέση υδροδυναμική διάμετρος μεγαλύτερη του $1\mu\text{m}$), ο χρόνος υστέρησης/εφησυχασμού (relaxation time) με την επιβραδυνόμενη διάχυση και είναι το λιγότερο δύο επίπεδα μεγέθους μεγαλύτερη από το χρόνο υστέρησης/εφησυχασμού (relaxation time) που σχετίζεται με τη μεταθετή διάχυση. Κατά συνέπεια, τεκμηριώνεται ότι οι δύο αυτές διαχύσεις είναι χρονικά διαχωρισμένες.

Από την άλλη πλευρά, η αναδιάρθρωση της κίνησης οφειλόμενη στη συμύκνωση/σύμπτυξη των συμπλεγμάτων / συσσωματωμάτων θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, τουλάχιστον a priori, εάν το όριο μεταξύ των δύο σωματιδίων του συσσωματώματος δεν είναι αρκετά διευκρινισμένο. Αν και αυτό το αποτέλεσμα έχει μεγάλη επίπτωση στην αξία της χρήσης της μορφοκλασματικής διάστασης, τεκμηριώνεται ότι η αναδιάρθρωση πραγματοποιείται κατά το φαινόμενο της συσσωμάτωσης, σε συνθήκες που προσομοιάζουν το μέγεθος του συμπλέγματος. Επιπλέον, η μεταθετή διάχυση των n -σωματιδίων του συμπλέγματος θα διαχωριστεί χρονικά από τη δυναμική του υπολοίπου συστήματος. Κατά συνέπεια, η χρονική κλίμακα που αντιστοιχεί στην κινητική της συσσωμάτωσης σχετίζεται με τη χρονική εξέλιξη της μετάθεσης. Ο συντελεστής διάχυσης της στοιβάδας με τυπική κλίμακα μήκους σχετίστηκε με τη μέση υδροδυναμική διάμετρο.

5.2 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λιποσωμάτων

Από φυσικής άποψης, τα φορτισμένα λιποσώματα μπορούν να θεωρηθούν ως κολλοειδή σωματίδια των οποίων οι αλληλεπιδράσεις θα μπορούσαν να αντιμετωπίζονται με τη βοήθεια του πολύ γνωστού πεδίου, σύμφωνα με την προσέγγιση της θεωρίας DLVO. Αναλόγως, τα λιπιδικά κυστίδια θα μπορούσαν να αλληλεπιδρούν με απωθητικές δυνάμεις Coulomb (χαρακτηρίζονται από την ενέργεια αλληλεπίδρασης E_{elec}) και τις μικρού βεληνεκούς ελκτικές δυνάμεις van der Waals (των οποίων η ενέργεια αλληλεπίδρασης συμβολίζεται E_{vw}). Συνήθως, E_{elec} έχει

προταθεί από κάποιους ερευνητές μία συνάρτηση, η οποία εμπεριέχει ως εισερχόμενες παραμέτρους το μήκος Debye και το δυναμικό επιφανείας (ή το φορτίο). Για E_{vw} , συμπεριλαμβάνει μία συνάρτηση με εισερχόμενες παραμέτρους τη σταθερά του νερού, των υδρογονανθρακικών αλυσίδων και της πολικής φάσης, μαζί με το πάχος της επιφάνειας των φωσφολιπιδικής στοιβάδας.

Εκτός από την κλασική θεωρία DLVO, όταν τα κολλοειδή σωματίδια έχω μία επιφάνεια με ορισμένους βαθμούς υδροφοβικότητας, διαφορετικές πειραματικές τεχνικές και θεωρητικές προσεγγίσεις έχουν εστιάσει στην ύπαρξη ενέργειας ενυδάτωσης E_{hyd} , η οποία είναι γενικά απωστική.

Στη δεκαετία του 1970, η προέλευση της ενυδάτωσης και δομικών δυνάμεων είχαν κυρίως αποδοθεί στο στενό όριο και στα προσανατολισμένα μόρια των μορίων του νερού πάνω στις επιφάνειες. Οπότε, υπάρχουν και άλλες πιθανές εξηγήσεις όπως η τοπική αυξομείωση των διηλεκτρικών συνθηκών στην ηλεκτρική διπλή στοιβάδα ή στις εντροπικές απωθήσεις, που απορρέουν από τον εγκλεισμό των θερμικά κινούμενων επιφανειακών ομάδων.

Συνεπώς, μια τελική κατανόηση της E_{hyd} χρειάζεται και για να βρεθεί μια αναλυτική έκφραση της ενέργειας ενυδάτωσης, αν και δεν είναι μία σαφώς ορισμένη εργασία. Για αυτό το λόγο, πειράματα και υπολογιστικές προσομοιώσεις, οι οποίες θα βασίζονται σε στατιστικούς μηχανισμούς ενσωμάτωσης ακόμα και κβαντικών φαινομένων θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν τα ερχόμενα χρόνια, στην κατεύθυνση αυτή. Στην απουσία όλων αυτών, κάποιοι ερευνητές χρησιμοποίησαν εμπειρικούς εκθέτες έκφρασης για την E_{hyd} , και αυτό συνιστά κατάλληλη προσαρμογή στις παραμέτρους για να εξηγήσουν τα πειραματικά αποτελέσματα. Ειδικότερα, ο Okhi και ο Arnold όρισαν τον υδροφοβικό παράγοντα (hydrophobic index), ο οποίος αναπαριστά το βαθμό της υδροφοβικότητας της επιφάνειας της μεμβράνης, που θα αναλυθεί στη συνέχεια. Πρότειναν επίσης και το μοντέλο υπολογισμού της ενέργειας ενυδάτωσης από τη θεωρητική απωστική αλληλεπίδραση (η επιφάνεια είναι υδροφιλική και τείνει να είναι πλήρως ενυδατωμένη) σε μια ελκτική αλληλεπίδραση (η επιφάνεια είναι υδροφοβική και μετά είναι ευρέως αφυδατωμένη). Σε αυτό το μοντέλο, η επιφανειακή τάση των παρόντων διεπιφανειών επίσης εμφανίζεται ως μία εισερχόμενη παράμετρος, μαζί με τον υδροφοβικό παράγοντα.

Η κλασσική θεωρία DLVO δεν μπορεί να εξηγήσει τις διαφορετικές μορφολογίες που διαπιστώνονται από την παρουσία ιόντων ασβεστίου και μαγνησίου στη ιδανική συγκέντρωση. Εξαιτίας του μεγάλου αριθμού των παραμέτρων που περιλαμβάνονται στην ολική ενέργεια αλληλεπίδρασης:

$$E = E_{\text{elec}} + E_{\text{vW}} + E_{\text{hyd}} \quad (41)$$

μια ποιοτική και λιγότερο ποσοτική ανάλυση θα πρέπει να προετοιμαστεί για να περιγράψει πειραματικά αποτελέσματα (Roldán-Vargas et al., 2009).

5.3 Επέκταση Κλασσικής Φυσικής Θεωρίας DLVO

Η προτεινόμενη θεωρία αναφέρει ότι δομική τροποποίηση/παραμόρφωση της επιφάνειας της μεμβράνης μειώνει τις απωθητικές δυνάμεις που αναπτύσσονται κατά την αλληλεπίδραση της ενυδάτωσης που εξασκείται στις δύο μεμβράνες που αλληλεπιδρούν και τελικά προκαλείται ισχυρή προσκόλλησή τους.

Παρά τις εκτεταμένες μελέτες που αφορούν τη σύντηξη μεμβρανών, εντούτοις, ο βασικός μοριακός μηχανισμός δεν έχει ακόμη κατανοηθεί πλήρως κυρίως όσον αφορά τα βιολογικά συστήματα, πιθανώς λόγω της πολυπλοκότητας της φύσης των βιολογικών μεμβρανών και της ποικιλίας των πιθανών μοριακών μονοπατιών για το φαινόμενο της σύντηξης. Εντούτοις, παρά τις διαφορετικές επαγωγικές διαδικασίες για την μεμβρανική σύντηξη, το τελικό στάδιο της μεμβρανικής σύντηξης φαίνεται να προϋποθέτει μία συνήθη ιδιομορφία: την παραμόρφωση και την αποσταθεροποίηση των λιπιδικών μεμβρανών και την επιτυχή ενδογενή μείξη (intermixing) των μεμβρανικών λιπιδίων, και το τελευταίο είναι αυτό που οδηγεί στη σύντηξη των δύο μεμβρανών που βρίσκονται σε αλληλεπίδραση.

Μία αύξηση στην τάση της μεμβρανικής επιφάνειας ή στην αφυδάτωση, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη δυνατή προσκόλλησή των δύο μεμβρανών που βρίσκονται σε αλληλεπίδραση είναι η αιτία της παραμόρφωσης της δομής των μεμβρανών. Κάθε περιοχή της μεμβράνης που έχει παραμορφωθεί δρα όπως το μέρος του κυστιδίου που έχει συντηχθεί. Υπάρχουν αρκετοί τρόποι για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της σύντηξης. Ο τρόπος που αφορά τη διαδικασία της σύντηξης μπορεί να γίνει σαφής για κατιόντα που προκαλούν όξινη λιπιδική σύντηξη κυστιδίων, κυρίως για μικρά

λιπιδικά κυστίδια με διάμετρο μικρότερη των 500 Å και αυτά προκαλούνται από πολυαιθυλενογλυκόλη.

Μία θεωρία, η οποία μπορεί να προταθεί για να εξηγήσει πως η σύντηξη σχετίζεται με τις ιδιότητες των μεμβρανών θα περιλαμβάνει και τις δυνάμεις που ασκούνται μεταξύ των μεμβρανών που αλληλεπιδρούν. Μία δύναμη ενυδάτωσης περιλαμβάνεται στις δυνάμεις αλληλεπίδρασης που εξασκούνται μεταξύ των παρεμποδισμένων σωματιδίων σε διάλυμα ηλεκτρολύτη, εκτός του ότι αυτό εκφράζεται από τη θεωρία DLVO. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας του προσανατολισμού του νερού κοντά στην επιφάνεια των παρεμποδισμένων σωματιδίων. Αυτό θα μπορούσε να συζητηθεί για πολικές και μη – πολικές επιφάνειες των σωματιδίων στην περίπτωση της ανάλυσης του ενεργειακού σταδίου μεταξύ των δύο μεμβρανών ως ένας διαφορετικός παράγοντας επιφανειακής υδροφοβικότητας.

Η αύξηση της επιφανειακής τάσης ή η μείωση της επιφανειακής διηλεκτρικής σταθεράς σχετίζεται με αύξηση της επιφανειακής υδροφοβικότητας της μεμβράνης. Ο θόρυβος της τελευταίας δύναμης εξαρτάται από τη φύση της μεμβρανικής επιφάνειας. Για τις περισσότερες λιπιδικές μεμβράνες, η δύναμη της αλληλεπίδρασης ενυδάτωσης χρησιμεύει ως η κύρια απωθητική δύναμη που ασκείται πάνω στις μεμβράνες που αλληλεπιδρούν, και κατά συνέπεια αποτρέπει τη στενή προσέγγιση των κυστιδίων.

Οπότε, είχε προταθεί ότι αυτή η απωθητική δύναμη αλληλεπίδρασης μπορεί να παραμορφώνεται από την αλλαγή της φύσης της επιφάνειας της μεμβράνης. Για παράδειγμα, αυτό φαίνεται να συντελείται όταν δισθενή ιόντα συνδέονται σε μια όξινη λιπιδική μεμβρανική επιφάνεια, και ως αποτέλεσμα, η μεμβρανική επιφάνεια αποκτά περισσότερο υδροφοβική φύση. Η μετατροπή της φύσης της επιφάνειας θα μπορούσε να μειώσει την απωθητική δύναμη αλληλεπίδρασης κατά την ενυδάτωση και θα μπορούσε να αλλάξει την απωθητική δύναμη σε ελκτική σύμφωνα με τη θεωρία που προτείνεται.

Επιπλέον, για ορισμένη υδροφοβικότητα της μεμβρανικής επιφάνειας, η ολική δύναμη αλληλεπίδρασης γίνεται ελκτική και θα μπορούσε να φέρει τις δύο μεμβράνες σε αλληλεπίδραση και στενή συγγένεια με τρόπο που θα μπορούσε να παραμορφώσει το σχήμα και των δύο μεμβρανών. Ως αποτέλεσμα, η παραμορφωμένη περιοχή της επιφάνειας αυξάνεται σε υψηλότερη θερμοδυναμική ενεργειακή κατάσταση και

γίνεται ασταθής, όταν η υδροφοβικότητα αυξάνεται σε αυτήν την περιοχή. Για αυτό αν σε κάποια περιοχή της μεμβράνης, η εξωτερική στη στενά προσφυόμενη μεμβράνη επιτυγχάνεται επαρκώς υψηλή ενεργειακή κατάσταση, θα μπορούσε να επιτρέψει τη μοριακή μείξη μεταξύ των δύο μεμβρανών που αλληλεπιδρούν και γίνεται δυνατή η έναρξη της μεμβρανικής σύντηξης (Roldán-Vargas et al., 2009).

6. Αλληλεπιδράσεις από την επέκταση της θεωρίας DLVO μεταξύ σφαιρικών σωματιδίων και ανώμαλων επιφανειών

Μία προσέγγιση της «επέκτασης της θεωρίας DLVO» η οποία περιλαμβάνει τις Lifshitz-van der Waals, Lewis οξέος-βάσεως, και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει τις ενέργειες αλληλεπίδρασης μεταξύ σφαιρικών σωματιδίων και ανώμαλων επιφανειών. Ευνοϊκές, δυσμενείς και ενδιάμεσες συνθήκες εναπόθεσης (deposition conditions) έχουν προσομοιωθεί χρησιμοποιώντας ιδιότητες της επιφάνειας που αντιπροσωπεύουν κοινές υδατικές και πολυμερικές μεμβράνες. Η τεχνική ολοκλήρωσης επιφανειακού στοιχείου (the surface element integration (SEI)) και η μέθοδος ολοκλήρωσης Derjaguin έχουν χρησιμοποιηθεί για να υπολογίσουν την ενέργεια αλληλεπίδρασης. Αριθμητικές προσομοιώσεις που χρησιμοποιούν SEI αποδεικνύουν ότι κατατομές τραχύτητας της επιφάνειας σε νανοκλίμακα μπορούν να παράγουν μια κατανομή χαρακτηριστικών ενέργειας αλληλεπίδρασης: Ενέργειες τοπικής αλληλεπίδρασης έχουν στατιστικά αναλυθεί για να καθορίσουν τα αντιπροσωπευτικά χαρακτηριστικά ενέργειας αλληλεπίδρασης – ελάχιστη, μέση και μέγιστη- για αρκετούς συνδυασμούς προσομοιωμένων σωματιδίων και επιφανειών. Σε όλες τις περιπτώσεις, το μέγεθος των κατατομών της μέσης ενέργειας αλληλεπίδρασης μειώνεται, αλλά η μείωση της ενέργειας εξαρτάται από το μέγεθος του σωματιδίου, το μέγεθος της τραχύτητας/οξύτητας (asperity size), και την πυκνότητα της τραχύτητας (density of asperities). Σε κάποιες περιπτώσεις, η επιφάνεια η οποία είναι όσον αφορά τη μέση τιμή της δυσμενής για εναπόθεση (απωστική) μπορεί να κατέχουν ευνοϊκές (ελκτικές) θέσεις αποκλειστικά εξαιτίας της τραχύτητας της επιφάνειας σε νανοκλίμακα. Μια σταθμισμένη μέση τιμή των αναλυτικών εκφράσεων αλληλεπίδρασης σφαιριδίου-σφαιριδίου και σφαιριδίου-πλακιδίου της μεθόδου Derjaguin λογικά προσεγγίζει τη μέση τιμή των κατατομών ενέργειας αλληλεπίδρασης που προβλέπεται από τη μέθοδο SEI, όπου ο σταθμισμένος παράγοντας βασίζεται στο κλάσμα της αλληλεπίδρασης συμπεριλαμβανομένων και των τραχυτήτων της επιφάνειας.

6.1 Εισαγωγή

Όσο η θεωρία DLVO παρέχει μια εύρωστη εξήγηση της σταθερότητας λυοφοβικών κolloειδών, υπάρχουν αναρίθμητες αναφερθείσες αποκλίσεις μεταξύ θεωρητικών προβλέψεων και πειραματικών παρατηρήσεων για τη σταθερότητα των σωματιδίων, την εναπόθεση και την προσκόλληση σε τεχνητά και φυσικά συστήματα. Στο πλαίσιο

των προσπαθειών για να υπερνικηθούν αυτές οι αποκλίσεις, κάποιοι ερευνητές έχουν επιπρόσθετα θεωρήσει αλληλεπιδράσεις εκτός από αυτές που προβλέπει η θεωρία DLVO που προκύπτουν από οξέος-βάσης, στερικές και υδροδυναμικές διεπιφανειακές δυνάμεις. Επιπλέον για τις αλληλεπιδράσεις αυτές (κάθε τύπου) εκτός της θεωρίας DLVO μαζί με τις van der Waals και τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μπορεί η θεωρία να αναφέρεται ως «επέκταση της θεωρίας DLVO» ή «XDLVO». Επιπλέον, στις αλληλεπιδράσεις που δεν προβλέπονται από την DLVO θεωρία, φυσικές και χημικές ετερογένειες έχουν «ενοχοποιηθεί» ως οι αιτίες για σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των θεωρητικών προβλέψεων της θεωρίας DLVO (ή της XDLVO) και των πειραματικών παρατηρήσεων.

Ένα πρακτικό παράδειγμα, πολυάριθμοι ερευνητές έχουν μελετήσει τους κανόνες που διέπουν τις αλληλεπιδράσεις από την θεωρία DLVO και την επέκτασή της σε κολλοειδή απορρόπηση (colloidal fouling) με μεμβρανικής βάσης επεξεργασία ύδατος. Προηγούμενη έρευνα δείχνει πως μία σχέση μεταξύ τραχύτητας μεμβρανικής επιφάνειας και αρχικού ρυθμού κολλοειδούς απορρόπησης σε πολυμερικές μεμβράνες αντίστροφης όσμωσης (polymeric reverse osmosis membranes) και αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η απορρόπηση είναι λιγότερο έντονη σε λείες μεμβράνες οξικής κυτταρίνης σε σύγκριση με τραχείες μεμβράνες πολυαμιδίου. Είναι τώρα ξεκάθαρο ότι αλληλεπιδράσεις οξέος-βάσεως διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στις διαφορετικές τιμές της κολλοειδούς απορρόπησης πάνω σε μεμβράνες κυτταρίνης και πολυαμιδίου. Επίσης, προηγούμενη έρευνα έχει αποδείξει ότι το μέγεθος των DLVO αλληλεπιδράσεων τείνει να μειώνεται από την επιφανειακή μεμβρανική τραχύτητα.

Η τεχνική της ολοκλήρωσης επιφανειακών στοιχείων (SEI) έχει τροποποιηθεί για να υπολογίσει την ενέργεια αλληλεπίδρασης από την XDLVO μεταξύ των σφαιρικών σωματιδίων και των τραχέων επιφανειών όπου η ελάχιστη απόσταση διαχωρισμού ορίζεται από την ελάχιστη απόσταση διαχωρισμού, και όχι από το μέσο επίπεδο της τραχείας επιφάνειας. Αρκετές εκατοντάδες κατατομές για την ενέργεια αλληλεπίδρασης λαμβάνονται σε αντιπροσωπευτικές περιοχές κάθε υποστρώματος (για δεδομένο σωματίδιο). Οι κατατομές είναι αναλυμένες στατιστικά για να ορίσουν την ελάχιστη, τη μέση και τη μέγιστη ενέργεια αλληλεπίδρασης. Προβλέψεις από αριθμητικό SEI μοντέλο συγκρίνονται με αναλυτικές προβλέψεις μοντέλου για

σφαιριδίου-σφαιριδίου και σφαιριδίου-πλακιδίου αλληλεπιδράσεις που προέρχονται από τη χρήση της μεθόδου ολοκλήρωσης Derjaguin.

6.2 Ανάπτυξη μοντέλου.

6.2.1 Ενέργεια αλληλεπίδρασης από την επέκταση της θεωρίας DLVO

Στη μελέτη των Hoek και Agarwal (2006), υπολογίζεται η ολική XDVO ενέργεια αλληλεπίδρασης ανά μονάδα επιφάνειας μεταξύ δύο απειροστών επίπεδων επιφανειών (που απέχουν μία απόσταση h), με την προσθήκη των επιβραδύνσεων Lifshitz-van der Waals (LW), τις Lewis οξέος-βάσεως (AB), και του συνεχούς ηλεκτροστατικού δυναμικού της διπλοστοιβάδας (EL) εκφράσεις. Η ολική XDLVO ενέργεια αλληλεπίδρασης ανά μονάδα επιφάνειας μεταξύ απειροστών επίπεδων πλακιδίων δίνεται από:

$$E_{pp}^{XDLVO}(h) = E_{pp}^{LW}(h) + E_{pp}^{AB}(h) + E_{pp}^{EL}(h) \quad (42)$$

Οι ενέργειες αλληλεπίδρασης για κάθε μεμονωμένο στοιχείο- LW, AB και EL, δίνονται από:

$$E_{pp}^{LW}(h) = -\frac{A_H}{12\pi h^2} \quad (43a)$$

$$E_{pp}^{AB}(h) = \Delta G_{h_0}^{AB} \exp\left(\frac{h_0 - h}{\lambda}\right) \quad (43b)$$

$$E_{pp}^{EL}(h) = \varepsilon \varepsilon_0 \kappa \psi_p \psi_m \left[\frac{\psi_p^2 + \psi_m^2}{2\psi_p \psi_m} (1 - \coth kh) + \frac{1}{\sinh kh} \right] \quad (43c)$$

Όπου $A_h (= -12\pi h_0^2 \Delta G_{h_0}^{LW})$ η σταθερά Hamaker σωματιδίου-υποστρώματος στο νερό

$$\Delta G_{h_0}^{LW} \left[= 2 \left(\sqrt{\gamma_w^{LW}} - \sqrt{\gamma_m^{LW}} \right) \left(\sqrt{\gamma_p^{LW}} - \sqrt{\gamma_w^{LW}} \right) \right] \quad (44)$$

Είναι η ελεύθερη ενέργεια Lifshitz-van der Waals ανά μονάδα επιφάνειας μεταξύ επιφανειών μεμβράνης (m) και σωματιδίου (p) που αλληλεπιδρούν μέσα στο νερό (w), $h_0 (= 0.158 \text{ nm})$ είναι η ελάχιστη απόσταση διαχωρισμού εξαιτίας της άπωσης Born (Born repulsion).

$$\Delta G_{h_0}^{LW} \left[= 2\sqrt{\gamma_w^+}(\sqrt{\gamma_w^-} + \sqrt{\gamma_p^-} - \sqrt{\gamma_w^-}) + 2\sqrt{\gamma_w^-}(\sqrt{\gamma_m^+} + \sqrt{\gamma_p^+} - \sqrt{\gamma_w^+}) - 2(\sqrt{\gamma_m^+ \gamma_p^-} - \sqrt{\gamma_m^- \gamma_p^+}) \right] \quad (45)$$

Είναι η ελεύθερη ενέργεια οξέος-βάσεως ανά μονάδα επιφάνειας μεταξύ νανοσωματιδίου και μεμβρανικών επιφανειών σε επαφή, $\lambda(=0.6\text{nm})$ είναι η μείωση του μήκους για αλληλεπιδράσεις οξέος βάσεως στο νερό

$\epsilon_0(= 8.85 * 10^{-12} \text{CV}^{-1}\text{m}^{-1})$ είναι η διηλεκτρική διαπερατότητα στο κενό

k είναι το αντίστροφο του μήκους ελέγχου Debye και ψ_p και ψ_m είναι τα επιφανειακά δυναμικά των σωματιδίου και μεμβράνης.

6.2.2 Η Μέθοδος του Derjaguin

Ο Derjaguin παρέιχε μια αναλυτική προσεγγιστική λύση για την ολική ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο σφαιριδίων ή ενός σφαιριδίου και πλακιδίου από την προσομοίωση της μεταβλητής της διεπιφανειακής απόστασης διαχωρισμού, όπως μια σειρά ομόκεντρων κύκλων, οι οποίες αντιμετωπίστηκαν ως επίπεδες πλάκες διαφορετικού πλάτους. Η ολική ενέργεια αλληλεπίδρασης λαμβάνεται από την ολοκλήρωση των ενεργειών αλληλεπίδρασης πλακιδίου-πλακιδίου (δακτυλίου-δακτυλίου) πάνω από την περιοχή το ψ ων) ο $\delta\gamma$ ώντος(ων) μετώπου(ων) της(ων) κυρτομένης(ων) επιφάνειας(ών) που βρίσκεται(ονται) σε γειτνίαση με την εγγύτερη προσέγγιση. Η γενική έκφραση της ολοκλήρωσης της μεθόδου του Derjaguin είναι:

$$U_{PI}(D) = f(a) \int_0^\infty E_{PP}(h) dh \quad (46)$$

Όπου D είναι ο ελάχιστος διαχωρισμός επιφάνειας από επιφάνεια, a η ακτίνα του σφαιρικού σωματιδίου, $f(a)$ ισούται με $2\pi\alpha_1\alpha_2/(\alpha_1 + \alpha_2)$ για δύο σφαιρίδια ή 2π για ένα σφαιρίδιο και ένα επίπεδο πλακίδιο και h είναι η τοπική απόσταση διαχωρισμού μεταξύ των αντιτιθέμενων, παράλληλων επιπέδων δακτυλίων.

Σύμφωνα με τους ερευνητές, η προσέγγιση του Derjaguin για να αξιοποιηθεί όλη η ενέργεια αλληλεπίδρασης θα πρέπει να έχει προέλθει από μία μικρή περιοχή γύρω από το σημείο της εγγύτερης προσέγγισης. Επιπρόσθετα, η ενέργεια $E(h)$ πρέπει να

φθίνει επαρκώς γρήγορα με την απόσταση h , ώστε οι κατανομές του $U(D)$ είναι ασήμαντες από τα στοιχεία της περιοχής πολύ μακριά από το σημείο της εγγύτερης προσέγγισης, όπου τα αποτελέσματα της κυρτότητας είναι μεγάλα. Επιπλέον, η εξίσωση (3) είναι μια αξιοποιήσιμη προσέγγιση για κάθε τύπου ενέργειας αλληλεπίδρασης και δεν χρειάζεται να περιοριστεί στις van der Waals και τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο επιφανειών. Όμως, για να εφαρμοστεί η μέθοδος DI για κάθε αλληλεπίδραση με εμπιστοσύνη απαιτείται ότι $L_0/R_0 \ll 1$ και $D/R_0 \ll 1$, όπου L_0 είναι η κλίμακα μήκους πάνω στην οποία φθίνει η αλληλεπίδραση προς το μηδέν (π.χ. k^{-1} για τις EL αλληλεπιδράσεις) και R_0 είναι η μικρότερη ακτίνα της καμπυλότητας για το σύστημα (π.χ. η μικρότερη ακτίνα, a , για δύο διαφορετικού μεγέθους σφαιρίδια). Για παράδειγμα, η προσέγγιση του Derjaguin είναι συνήθως σε θεωρητική βάση έγκυρη για ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις όταν $ka > 1$.

Αντικαθιστώντας την εξίσωση της ενέργειας αλληλεπίδρασης πλακιδίου-πλακιδίου της (2) στην (3) και ολοκληρώνοντας για σφαίρα (S) και επίπεδο πλακίδιο (P)

$$U_{SP}^{LW}(D) = -\frac{A_H a}{6D} \quad (47a)$$

$$U_{SP}^{AB}(D) = 2\pi\alpha\lambda\Delta G_{h_0}^{AB} \exp\left(\frac{h_0 - D}{\lambda}\right) \quad (47b)$$

$$U_{SP}^{EL} = \pi\epsilon_0\alpha \left[2\psi_p\psi_m \ln\left(\frac{1 + \exp(-kD)}{1 - \exp(-kD)}\right) + (\psi_p^2 + \psi_m^2) \ln[1 - \exp(-2kD)] \right] \quad (47c)$$

Η συνολική ενέργεια από την XDLVO αλληλεπίδραση είναι το άθροισμα του καθενός από τα τρία στοιχεία σε δεδομένη (ελάχιστη διεπιφανειακή) απόσταση διαχωρισμού D . Οι εξισώσεις (47) δίνουν τις κατάλληλες εκφράσεις για την προβλεψιμότητα της ενέργειας αλληλεπίδρασης μεταξύ ενός σφαιρικού σωματιδίου και μιας λείας μεμβράνης. Αν αντικατασταθεί το a με $a_1a_2/(a_1+a_2)$, αυτές οι εξισώσεις δίνουν τις κατάλληλες εκφράσεις για την πρόβλεψη της ενέργειας αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο σφαιρικών σωματιδίων.

6.2.3 Μέθοδος ολοκλήρωσης των στοιχείων της επιφανείας

Η μέθοδος ολοκλήρωσης των στοιχείων της επιφανείας είναι, αρχικά, μια πιο γενικευμένη μορφή της μεθόδου ολοκλήρωσης Derjaguin που εφαρμόζεται σε μία ακριβή γεωμετρία για τις επιφάνειες που αλληλεπιδρούν. Η μέθοδος SEI υπολογίζει την ολική ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο σωματιδίων από αριθμητική ολοκλήρωση της ενέργειας αλληλεπίδρασης ανά μονάδα επιφάνειας μεταξύ αντιτιθέμενων διαφορετικών επίπεδων στοιχείων πάνω σε ολόκληρη την επιφάνεια. Χρησιμοποιώντας ένα κυλινδρικό σύστημα συντεταγμένων, με μία τοποθεσία προέλευσης στο κέντρο του σφαιρικού σωματιδίου, η έκφραση της συνολικής ενέργειας αλληλεπίδρασης είναι:

$$U_{SEI}(D) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\alpha} E_{pp}(h) r dr d\theta \quad (48)$$

Όπου h είναι η κατακόρυφη απόσταση μεταξύ του κυκλικού τόξου (διαφορικό της επιφανειακής περιοχής $r dr d\theta$, πάνω στην επιφάνεια του σωματιδίου, και στο σημείο της τραχείας επιφάνειας κατευθείαν κάτω από αυτή. Η αξιολόγηση της αναπόσπαστης επιφάνειας της εξίσωσης (48) απαιτεί αναπαράσταση της απόστασης h σαν συνάρτηση του r και του θ . Η απόσταση $h(r, \theta)$ θα εξαρτάται από την κατανομή των κέντρων τραχύτητας σχετικά με το κέντρο του σφαιριδίου. Η αναπόσπαστη επιφάνεια της εξίσωσης (5) έχει αξιολογηθεί ως η περιοχή κατευθείαν κάτω από το σφαιρίδιο. Ως εκ τούτου, μόνο οι περιοχές των τραχυτήτων οι οποίες υπερκαλύπτουν τις προβλεπόμενες περιοχές της κινούμενου σφαιριδίου συμπεριλαμβάνονται στον υπολογισμό της ενέργειας.

Ο καθορισμός της απόστασης του τοπικού διαχωρισμού κάτω από την προβλεπόμενη περιοχή του κινούμενου σφαιριδίου συνοψίζεται εδώ. Θεωρώντας το κέντρο του κινούμενου σφαιριδίου ως προέλευση, την κατακόρυφη απόσταση μεταξύ της επιφάνειας του στοιχείου πάνω στο σωματίδιο και της μεμβρανικής επιφάνειας ευθέως κάτω από αυτό:

$$h = D + a - \sqrt{a^2 - r^2} - \sqrt{a_i^2 - r_i^2} \quad \text{για μία προεξοχή}$$

$$h = D + a - \sqrt{a^2 - r^2} + \sqrt{a_i^2 - r_i^2} \quad \text{για μία κατάπτωση και}$$

$h = D + a - \sqrt{a^2 - r^2}$ όταν δεν υπάρχει ευθέως τραχύτητα κάτω από το στοιχείο της επιφάνειας του κινούμενου σφαιριδίου.

Εδώ, a , είναι η ακτίνα του σωματιδίου, r , είναι η ακτινωτή περιοχή γύρω από το κέντρο του σωματιδίου, a_i , είναι η τραχύτητα της σφαίρας, και r_i , είναι η ακτινική περιοχή από το κέντρο της τραχύτητας.

Η διεπιφανειακή απόσταση διαχωρισμού έχει οριστεί από το οδηγούν μέτωπο από το κέντρο του σωματιδίου στο μέσο επίπεδο της τραχείας επιφάνειας. Η ελάχιστη απόσταση ορίζεται από το σημείο της πρώτης επαφής σύμφωνα με την συνθήκη:

$$\sqrt{(x - x_i)^2 + (\psi - \psi_i)^2} \geq (a_i + h_0) \quad (49)$$

Όπου (χ, ψ) είναι οι συντεταγμένες του σφαιρικού σωματιδίου, (χ_i, ψ_i) είναι οι συντεταγμένες του κέντρου τραχύτητας, και a_i είναι η ακτίνα της τραχύτητας η οποία αλληλεπιδρά για πρώτη φορά με το κατά προσέγγιση σωματίδιο. Η εξίσωση (49) απλοποιεί καταστάσεις στις οποίες η απόσταση μεταξύ της επιφάνειας του σφαιρικού σωματιδίου και του κέντρου της προεξέχουσας ημισφαιρικής τραχύτητας πρέπει να είναι μεγαλύτερες από την ακτίνα της τραχύτητας, συν την ελάχιστη διεπιφανειακή απόσταση διαχωρισμού $h_0 (= 0.158 \text{ nm})$.

Μία σάρωση της ανώμαλης επιφάνειας από έναν «κολλοειδή ιχνηθέτη» (“colloidal probe”) είναι τοιουτοτρόπως προσομοιωμένη με ανάθεση των οριζόντιων περιοχών από το κέντρο του σφαιριδίου (χ, ψ) κατά μήκος ενός προκαθορισμένου πλέγματος, και την εκτέλεση υπολογισμού της ενέργειας αλληλεπίδρασης ως συνάρτηση της απόστασης διαχωρισμού σε κάθε περιοχή. Η απόσταση διαχωρισμού σε κάθε περιοχή. Η απόσταση διαχωρισμού είναι ποικίλη από το σημείο της πρώτης επαφής (σύμφωνα με την εξίσωση (49)) σε μια απόσταση των 20nm, όπου το $E(h)$ δείχνει μικρή ή χωρίς αλλαγή με την αυξανόμενη απόσταση. Η ενέργεια αλληλεπίδρασης ανά μονάδα επιφάνειας αντιστοιχεί στο h για κάθε διατεταγμένο ζεύγος (r, θ) είναι τότε αξιολογημένο για κάθε λειτουργική εξάρτηση της επιφάνειας με τη σφαίρα αποδόσεις για την ολική SEI ενέργεια αλληλεπίδρασης $U_{SEI}(D)$, μεταξύ του κινούμενου σφαιρικού σωματιδίου και της ακανόνιστης μεμβρανικής επιφάνειας (Hoek and Agarwal, 2006).

6.3 Αναλυτικό μοντέλο μεμβρανικής τραχύτητας

Οι Elimelech και O'melia ποσοτικοποίησαν το αποτέλεσμα της επιφανειακής τραχύτητας στην απόθεση του σωματιδίου υ από την εξέταση του σφαιρικού σωματιδίου πλησιάζοντας μια επίπεδη επιφάνεια που διαθέτει μια μοναδική θετική ημισφαιρική τραχύτητα τέτοιου μεγέθους πολύ μικρότερου από αυτού του σωματιδίου. Το αποτέλεσμα τέτοιας τραχύτητας καθορίζεται από την άθροιση (σφαιριδίου- σφαιριδίου) ενεργειών αλληλεπίδρασης από την DLVO. Η μικρότερη απόσταση διαχωρισμού σε έναν ενεργειακό φραγμό αλληλεπίδρασης σφαιριδίου-πλακιδίου περιορίζεται από την ακτίνα της τραχύτητας. Ο αρχικός ενεργειακός φραγμός έχει μειωθεί δραματικά από την τραχύτητα εξαιτίας του μεγέθους της αλληλεπίδρασης σφαιριδίου – σφαιριδίου που ελέγχεται από την ακτίνα της τραχύτητας.

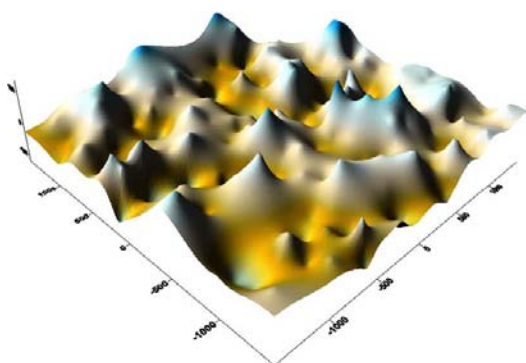
Οι Suresh και Walz άντλησαν κατά προσέγγιση αναλυτικές εξισώσεις για να εκτιμήσουν τις van der Waals και τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενός σφαιρικού σωματιδίου και ενός επίπεδου πλακιδίου, όπου το σωματίδιο καλύφθηκε από ομοιόμορφου μεγέθους, θετικές ημισφαιρικές τραχύτητες. Αν και περισσότερο αυστηρά, η προσέγγισή τους είναι όμοια με αυτή που προτάθηκε από τους Elimelech και O'melia και τα συμπεράσματα είναι επίσης συνεπή. Ημισφαιρικά χαρακτηριστικά τραχύτητας σε σφαιρικά σωματίδια λειτουργούν δευτερογενώς ως ελάχιστα ενέργειας πιο επιφανειακά και περισσότερο απομακρυσμένα από λείο επίπεδο σε μια επίπεδη επιφάνεια, όσο ο αρχικός ενεργειακός φραγμός έχει μειωθεί. Όλα τα αποτελέσματα εξαιτίας της αποτελεσματικής μεγαλύτερης απόστασης διαχωρισμού δημιουργούνται από χαρακτηριστικά τραχύτητας καθώς επίσης η μειωμένη ενέργεια υπαγορεύεται από την ακτίνα της μικρότερης τραχύτητας.

Ολική ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ ενός σωματιδίου και επίπεδης επιφάνειας διέπεται από ενέργεια διαχωρισμένη από μια μικρή περιοχή της επιφάνειας στο σημείο της εγγύτερης επαφής. Σωματιδίου-τραχύτητας αλληλεπιδράσεις αντιμετωπίζονται ως αλληλεπιδράσεις σφαιριδίου-σφαιριδίου. Όμως, όχι όλες οι αλληλεπιδράσεις σωματιδίου – τραχείας επιφάνειας απαραίτητα περιλαμβάνουν μια τραχύτητα ευθέως αλληλεπιδρώσα με το οδηγούν μέτωπο του σφαιρικού σωματιδίου που πλησιάζει. Ως εκ τούτου, το μέσο μέγεθος των αλληλεπιδράσεων της τραχείας επιφάνειας του σωματιδίου είναι καθορισμένη από το σταθμισμένο άθροισμα των

αλληλεπιδράσεων του σφαιρικού σωματιδίου και του επίπεδου υποστρώματος, όπου ο σταθμισμένος παράγοντας βασίζεται στο κλάσμα του σωματιδίου- υποστρώματος που συναντάται με τη συμμετοχή μίας τραχύτητας. Ενέργεια αλληλεπίδρασης σφαιριδίου – τραχύτητας υπολογίζεται από την αντικατάσταση του a στην εξίσωση (4) με γεωμετρικό παράγοντα για δύο σφαιρίδια που αλληλεπιδρούν, $aR/(a+R)$, όπου a είναι η ακτίνα του σφαιρικού σωματιδίου και R η μέση ακτίνα της ημισφαιρικής τραχύτητας. Ως εκ τούτου, η ενέργεια αλληλεπίδρασης μεταξύ ενός σφαιρικού σωματιδίου και μιας τραχείας επιφάνειας (U_{SR}) δίνεται από:

$$U_{SR}(D) = nU_{SA}(D) + (1 - n)U_{SP}(D) \quad (50)$$

Όπου το n αναφέρεται στο κλάσμα της αλληλεπίδρασης σωματιδίου και τραχείας επιφάνειας συμπεριλαμβανομένης και της τραχύτητας, U_{SP} , είναι η ενέργεια αλληλεπίδρασης σφαιριδίου, και U_{SA} , είναι η ενέργεια αλληλεπίδρασης σφαιριδίου-τραχύτητας (σφαιριδίου- σφαιριδίου). Το κλάσμα των αλληλεπιδράσεων, n , από τις οποίες μία τραχύτητα συνίσταται, καθορίζεται από προσομοιώσεις δεδομένων SEI. Δεδομένου ότι ένα μέρος των αλληλεπιδράσεων από αυτές των σφαιριδίων μεταξύ τους είναι αποτελεσματικές, η σταθμισμένη μέση τιμή θα είναι κοντά πάντα σε μικρότερο μέγεθος από ότι η τιμή του σφαιριδίου – πλακιδίου. Μια πιθανή εξαίρεση



Εικόνα 16: Αναπαράσταση εικόνας προσομοιωμένων ακανόνιστων μεμβρανικών επιφανειών. Η κατακόρυφη κλίμακα είναι $\pm 200\text{nm}$ και η επίπεδη επιφανειακή αναπαράσταση είναι $3 \times 3 \mu\text{m}$. (Adapted from Hoek and Agarwal, 2006).

σε αυτό είναι οι επιφανειακές μορφολογίες οι οποίες αναπαριστώνται από όλες τις αρνητικές τραχύτητες (κοιλάδες) μιας ελαφρώς μικρότερης ακτίνας από αυτής του σωματιδίου, όπου κατά την ενέργεια αλληλεπίδρασης σωματιδίου κοιλάδας θα είναι μεγαλύτερο το μέγεθος από την προβλεπόμενη τιμή σφαιριδίου-πλακιδίου.

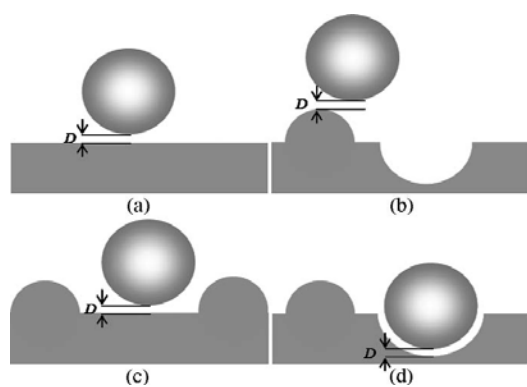
Τα αναλυτικά μας μοντέλα είναι εμπειρικά στην πρακτική τους επειδή το n δεν μπορεί να προσδιοριστεί εκ των προτέρων εξαιτίας της σύνθετης φύσης της προσομοιωμένης επιφανειακής μορφολογίας.

Μία «μέγιστη» DI ενέργεια αλληλεπίδρασης προσεγγίζεται από τη χωρίς τροποποιημένη ενέργεια

αλληλεπίδρασης μεταξύ του σφαιρικού σωματιδίου και ενός επιπέδου πλακιδίου π.χ. το n λαμβάνεται ως μηδέν. Μία «ελάχιστη» ενέργεια αλληλεπίδρασης εκτιμάται από την παραδοχή n ίσο με τη μονάδα και η ελάχιστη ημισφαιρική ακτίνα τραχύτητας ορίζεται από τη μέση απόσταση της εγγύτερης επαφής, D_0 . Η τιμή του D_0 καθορίζεται από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της προσομοίωσης SEI και ορίζεται ως η πραγματική απόσταση μεταξύ του μπροστινού άκρου του σφαιρικού σωματιδίου και του μέσου πλακιδίου. Αν το σωματίδιο είναι μικρότερο και αλληλεπιδρά κατά κύριο λόγο με τις κοιλότητες της τραχείας επιφάνειας αυτός ο διαχωρισμός της απόστασης μπορεί να είναι αρνητικός, όμως κάθε σενάριο θεωρείται ότι έχει σαν αποτέλεσμα μια μέση D_0 τιμή και είναι μεγαλύτερη ή ίση με μηδέν επειδή το μέγεθος του σωματιδίου είναι τυπικά μεγαλύτερο από το μέσο μέγεθος της τραχύτητας.

Γενικά, ηλεκτροστατικές και οξέος-βάσης αλληλεπιδράσεις εξασθενούν περισσότερο γρήγορα σε σύγκριση με τις van der Waals αλληλεπιδράσεις και για αυτό το λόγο η μείωση των EL και AB ενεργειών είναι σχετικά μεγαλύτερη από τη μείωση της LW ενέργειας. Η πρακτική επίπτωση στις διαδικασίες της μεμβράνης είναι ότι η τραχύτητα της μεμβρανικής επιφάνειας θα έχει την τάση να προωθήσει αναδίπλωση, ή, τουλάχιστον μειώνεται η αντίσταση στην αναδίπλωση ανεξάρτητα από τις χημικές ιδιότητες του μεμβρανικού υλικού.

Ένα άλλο ενδιαφέρον αποτέλεσμα στην ελάχιστη πρόβλεψη του προτύπου της ενέργειας αλληλεπίδρασης για το φαινομενολογικά απωστικό σενάριο. Το πρότυπο ενέργειας παραμένει αρνητικό για ένα μεγάλο εύρος ως το σημείο επαφής. Αυτό προτείνει μετωπική τραχύτητα (π.χ. φυσική ετερογένεια) και μπορεί τοπικά να δημιουργήσει ευνοϊκές συνθήκες για εναπόθεση πάνω στα ισχυρώς υδροφιλικά υποστρώματα. Όμως, ένα μικρό μέρος των αλληλεπιδράσεων κατά μήκος της επιφάνειας της μεμβράνης διαφοροποιεί με τον τρόπο αυτό την παραγωγή δικτύου έλξης αντί του δικτύου της άπωσης. Αυτή είναι μία ενδιαφέρουσα παρατήρηση με επιπτώσεις στη μεμβρανική αναδίπλωση και άλλων περιβαντολλογικών, χημικών και βιολογικών συστημάτων. Αυτό μπορεί να εξηγήσει ως ένα μικρό ποσοστό την εναπόθεση του υδροφιλικού μικροβιακού κυττάρου και των πρωτεϊνών πάνω σε υδροφιλικά υποστρώματα (Hoek and Agarwal, 2006)..



Εικόνα 17: Ορισμός της ελάχιστης απόστασης διαχωρισμού μεταξύ ενός σφαιρικού νανοσωματιδίου και μιας ακανόνιστης μεμβρανικής επιφάνειας.

7. Μέγεθος και σταθερότητα λιποσωμάτων: Ένας πιθανός ρόλος της ενυδάτωσης και των οσμωτικών δυνάμεων

Μετρήσεις Δυναμικής σκέδασης φωτός και ηλεκτροφορητικής κινητικότητας έχουν χρησιμοποιηθεί για να χαρακτηρίσουν το μέγεθος, την κατανομή μεγέθους και το ζ-δυναμικό λιποσωμάτων φωσφατιδυλοχολίνης αυγού παρουσία μονοσθενών ιόντων (Na^+ και K^+). Για τη μελέτη της σταθερότητας των λιποσωμάτων η DLVO θεωρία έχει επεκταθεί εισάγοντας την υδροδυναμική ακτίνα των προσροφημένων ιόντων πάνω στις επιφάνειες των λιποσωμάτων. Η μείωση του μεγέθους των λιποσωμάτων εξηγείται με βάση την μεμβρανική αδιαπερατότητα κάποιων ιόντων τα οποία παράγουν οσμωτικές δυνάμεις, οι οποίες οδηγούν στην εκκένωση του ύδατος από το εσωτερικό των λιποσωμάτων.

Λιποσωματικά εναιωρήματα δεν είναι θερμοδυναμικώς σταθερά. Η ολική ελεύθερη ενέργεια ενός συστήματος διασποράς μπορεί πάντα να μειωθεί από την ελάττωση της διεπιφάνειας. Αυτή η τάση για συσσωμάτωση είναι ανάλογη με τις ελκτικές δυνάμεις van der Waals. Η ύπαρξη και άλλων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των σωματιδίων καθορίζει τη σταθερότητα. Η εφαρμογή των λιποσωμάτων σαν νάνο -μεταφορείς φαρμακομορίων, εμβολίων, ενζύμων ή γενετικού υλικού απαιτεί έλεγχο και πρόβλεψη της σταθερότητας της λιποσωματικής διασποράς.

Η ύπαρξη μιας απωστικής δύναμης εξαιτίας της δομής του υδατικού διαλύτη μεταξύ των επιφανειών. Αυτή η δύναμη ονομάστηκε «δύναμη ενυδάτωσης» (“hydration force”). Η προέλευση και η φύση για αρκετό διάστημα ήταν αμφιλεγόμενη. Η πρώτη συμβολή για τη σημασία της δύναμης ενυδάτωσης είναι εξαιτίας των Marceljo και Radic, οι οποίοι θεωρούν μια δύναμη που σχετίζεται με τη μοριακή φύση του διαλύτη (ύδατος). Η βασική ιδέα είναι ότι η επιφάνεια της διπλοστοιβάδας προσανατολίζει τα μόρια του ύδατος σε ευθεία αντίθετη με την επιφάνεια. Αυτός ο προσανατολισμός είναι τότε που πολλαπλασιάζεται με αποσβεστικό τρόπο, εκτός της επιφάνειας διαμέσου διαδοχικών αλληλεπιδράσεων της στοιβάδας.

Οι Jönsson και Wennerström σε μια συνδυαστική στατιστική-μηχανική ηλεκτροστατική διατύπωση αναπτύσσουν ένα μοντέλο εικόνας-φορτίου για τις δυνάμεις ενυδάτωσης και για τα δύο μέρη της διπλοστοιβάδας και της υδατικής περιοχής. Όταν μία δεύτερη διπλοστοιβάδα πλησιάζει, φορτία της επιφάνειας εισάγονται και μια απωστική δύναμη παράγεται. Η άπωση μεταξύ των ομάδων των

πολικών κεφαλών των λιπιδίων και οι διηλεκτρικές τους εικόνες είναι εξαιτίας της επιφανειακής πόλωσης που προκαλείται από τα διηλεκτρικά όριο.

Το μοντέλο των αλληλεπιδράσεων ενυδάτωσης των Paupov, Kaler, Sandler και Pestev εξηγεί τα αποτελέσματα της ιονικής ισχύος του διαλύματος και του pH μια διαπρωτεϊνική αλληλεπίδραση των σφαιρικών πρωτεϊνών αποφερριτίνης (apoferritin). Σε χαμηλή ιονική ισχύ η συμπεριφορά συμφωνεί με τις προβλέψεις της DLVO θεωρίας. Όμως, οι δυνάμεις ενυδάτωσης που δεν ανήκουν σε αυτές της DLVO θεωρίας εξαιτίας της επικάλυψης των στρωμάτων Stern των μορίων της πρωτεΐνης εμφανίζονται σε υψηλότερα ιονικά δυναμικά. Το μη – DLVO αποτέλεσμα προκύπτει από την ιονική ανταλλαγή μεταξύ ιόντων υδρογόνου και νατρίου στην επιφάνεια της πρωτεΐνης.

Ο ρόλος των δυνάμεων ενυδάτωσης στη σταθερότητα των κολλοειδών έχει ευρέως μελετηθεί από τον Ruckenstein και τους συνεργάτες του. Η πρώτη εργασία δείχνει ότι η άπωση μεταξύ των κολλοειδών σωματιδίων εξαρτάται και από την πυκνότητα του φορτίου (density charge) και από το δίπολο της επιφανειακής πυκνότητας (surface dipole density), η τελευταία είναι το αποτέλεσμα της παρουσίας ζεύγους ιόντων στην επιφάνεια. Στη συνέχεια, η συγκέντρωση του ηλεκτρολύτη έχει μία σημαντική επίδραση. Σε μια χαμηλή σχετικά συγκέντρωση άλατος, η άπωση εξαιτίας της διπλοστοιβάδας είναι κυρίαρχη και μειώνεται καθώς η συγκέντρωση του ηλεκτρολύτη αυξάνεται. Σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις ηλεκτρολύτη, η δύναμη ενυδάτωσης εξαιτίας του ζεύγους ιόντων παρουσιάζεται πάνω στην επιφάνεια να γίνεται κυρίαρχη. Κατά συνέπεια, καθώς η συγκέντρωση του άλατος αυξάνεται, η ολική άπωση μειώνεται και περνά μέσα από ένα ελάχιστο, και μετά από αυτό αυξάνεται. Η δεύτερη εργασία μελετά την κατανομή της πόλωσης της δύναμης ενυδάτωσης. Η υπόθεση δείχνει πόλωση η οποία ταλαντώνεται με την απόσταση από την επιφάνεια, λαμβάνοντας μία μονότονα φθίνουσα μέση πόλωση όταν η πολωμένη επιφάνεια θεωρείται τραχεία/ακανόνιστη ή παρουσιάζει διακυμάνσεις. Σε μία άλλη εργασία, ένα μοντέλο το οποίο υπολογίζει με έναν ενιαίο τρόπο και την διπλοστοιβάδα και την απώσεις λόγω ενυδάτωσης παρουσιάζονται. Τελικά, η διπλοστοιβάδα και οι αλληλεπιδράσεις ενυδάτωσης είναι συζευγμένες σε μια μοναδική συλλογή εξισώσεων, λαμβάνοντας υπόψη ότι και τα δύο εξαρτώνται από την πόλωση των μορίων του ύδατος.

Οι Attard και Batchelor αξίωσαν ένα μοντέλο για την ανάλυση του μηχανισμού της αποδιοργάνωσης της διαδικασίας δημιουργίας υδρογονικών δεσμών (the mechanism of hydrogen-bonding disruption). Νερό μετατοπίζεται μεταξύ δύο επιφανειών σε ένα δισδιάστατο τετράγωνο πλέγμα με κάθε πλευρά να καταλαμβάνει από αυτό που ονομάζεται κορυφή. Μία κορυφή αναπαριστά ένα μόριο ύδατος το οποίο έχει έναν από έξι προσανατολισμούς οι οποίοι είναι πιθανοί για το μοντέλο. Κάθε μόριο ύδατος έχει δύο πρωτόνια δότες και δύο δέκτες, αποδίδοντας μία θετική ενέργεια σε μία επαφή δότη-δότη ή δέκτη-δέκτη. Σε αυτό το μοντέλο, καμία μεταβολή της πυκνότητας δεν επιτρέπεται και για αυτό το λόγο ο αριθμός συντονισμού ύδατος καθορίζεται να είναι τέσσερα.

Σε ένα πιο λεπτομερές μοντέλο, σε ένα τρισδιάστατο σώμα με επίκεντρο κυβικό πλέγμα είναι αυτό που έχει σχεδιαστεί από τον Basseling. Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο για το νερό, δύο τύποι της διευθέτησης είναι αυτοί που μπορούν να συμβούν στη στοιβάδα ενυδάτωσης κοντά στις επιφάνειες και ταυτοποιούνται με μοριακούς όρους. Ένας μηχανισμός διευθέτησης σχετίζεται με ένα φορτίο της τοπικής πυκνότητας σε σύγκριση με αυτό των χύδην υγρών. Για το νερό, η κατανομή του προσανατολισμού μπορεί επίσης να διαφέρει από αυτή των χύδην υγρών. Σε αυτή την περίπτωση ο σχηματισμός των υδρογονικών δεσμών είναι άκυρος επειδή σε κάθε επίπεδο παράλληλο με την επιφάνεια ο αριθμός των προς τα έξω κατευθυνόμενων δοτών πρωτονίων και δεκτών δεν συνδυάζονται με αυτά που κατευθύνονται προς τα μέσα. Με τον τελευταίο τύπο της διευθέτησης, σχετίζεται μια απωστική δύναμη μεταξύ των δύο επιφανειών.

Οι δυνάμεις ενυδάτωσης έχουν διευκρινίσει τη σταθερότητα συστημάτων όπου η θεωρία DLVO αποτυγχάνει, όπως η εναπόθεση latex πολυστυρενίου σε επιφάνειες γυαλιού, η διόγκωση της αργίλου στο ισοηλεκτρικό της σημείο ή η επικάλυψη με πρωτεΐνες σωματιδίων. Οι δυνάμεις εκτός της DLVO θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για τη μελέτη της κολλοειδούς σταθερότητας, ειδικά σε πολύ υδροφιλικά συστήματα, όπως είναι οι επιφάνειες των λιποσωμάτων. Από την άλλη πλευρά, η θεωρία DLVO έχει αναπτυχθεί για άκαμπτα κολλοειδή (rigid colloids). Τα λιποσώματα είναι φωσφολιπιδικά κελύφη των οποίων η μεμβράνη μπορεί να αποσχηματίζεται εξαιτίας της ρευστότητας της διπλοστοιβάδας. Αυτή η ιδιαιτερότητα των λιποσωμάτων θα πρέπει να κατέχει έναν σημαντικό ρόλο στον υπολογισμό του

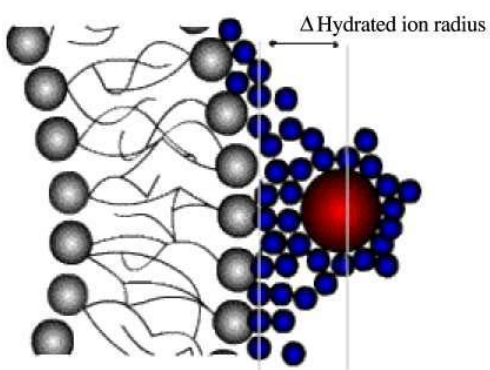
van der Waals δυναμικού καθώς επίσης και του πιθανού αποτελέσματος των οσμωτικών δυνάμεων διαμέσου της μεμβράνης.

Το ζ-δυναμικό καθορίζεται στην επιφάνεια σε διάτμηση, η οποία τοποθετείται σε μικρή απόσταση εκτός της πραγματικής επιφανειακής διπλοστοιβάδας. Το μέγεθος του δυναμικού μπορεί να μειωθεί ουσιαστικά σε μικρή απόσταση που εξαρτάται από το μήκος Debye. Η απόσταση από το επίπεδο της διάτμησης στο επίπεδο του φορτίου, όπως περιγράφεται με τη θεωρία Gouy- Chapman-Stern, εξαρτάται ισχυρά από την ιονική ισχύ, μειούμενη με την αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος.

Αν τα λιποσώματα είναι σταθερά, ακόμη και χωρίς ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση, αυτό σημαίνει ότι μια άλλη δύναμη θα πρέπει να είναι υπεύθυνη για να διατηρεί τα λιποσώματα μακριά από την επίδραση της έλξης των van der Waals αλληλεπιδράσεων. Αυτή η δύναμη είναι πιθανώς η δύναμη ενυδάτωσης.

Μία απλή διόρθωση στην κλασσική θεωρία DLVO προκειμένου να συμπεριλάβει το αποτέλεσμα της δύναμης ενυδάτωσης στην σταθερότητα των λιποσωμάτων. Αυτό είναι μια στοιβάδα ύδατος γύρω από τις επιφάνειες των λιποσωμάτων των οποίων το πάχος είναι η ακτίνα ενυδάτωσης του προσροφηθέντος ιόντος. Το διορθωμένο ηλεκτροστατικό δυναμικό δίνεται από τον τύπο:

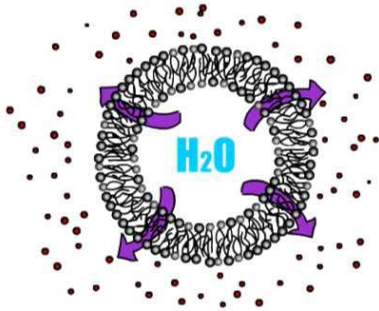
$$V_R'(x) = 2\pi(\alpha + \Delta)\epsilon_0\epsilon_r \left(\frac{4k_B T}{ze}\gamma\right)^2 \exp[-k(x - 2\Delta)] \quad (51)$$



Εικόνα 18: Μια σχηματική αναπαράσταση του αποτελέσματος των δυνάμεων ενυδάτωσης (Adapted from Sabín et al., 2006)

Τα προσροφημένα ιόντα στη διπλοστοιβάδα προέρχονται από μια αλλαγή του φορτίου των κεφαλικών ομάδων και ως συνέπεια, η διπλοστοιβάδα αλλάζει την κυρτότητά της εξαιτίας των ηλεκτρικών αλληλεπιδράσεων, αλλάζοντας το μέγεθός της. Η κλίση της συγκέντρωσης και στις δύο πλευρές της μεμβράνης δημιουργεί μια

οσμωτική δύναμη. Τα λιποσώματα είναι σταθερά ακόμα και στο ισοηλεκτρικό σημείο εξαιτίας των οσμωτικών δυνάμεων (**Εικόνα 19**).



Εικόνα 19: Σχηματική αναπαράσταση των οσμωτικών δυνάμεων (Adapted from Sabin et al., 2006)

7.1 Αλληλεπίδραση και συσσωμάτωση λιπιδικών κυστιδίων (θεωρία DLVO versus την τροποποιημένη θεωρία DLVO)

Αλληλεπίδραση και συσσωμάτωση των όξινων φωσφολιπιδικών κυστιδίων (φωσφατίδυλοσερίνη) έχουν μελετηθεί με μία ποικιλία ειδών κατιόντων και οι συγκεντρώσεις τους στο εναιώρημα των κυστιδίων και το μέγεθος των κυστιδίων. Η συσσωμάτωση καθορίζεται από τη μέτρηση της θολερότητας (turbidity) του εναιωρήματος των κυστιδίων. Τα πειραματικά αποτελέσματα της συσσωμάτωσης των κυστιδίων εισάγονται από μονοσθενή κατιόντα (Na^+ , K^+ , Cs^+ και TMA^+) εξηγούνται καλά από την άποψη της ενέργειας αλληλεπίδρασης δύο σωματιδίων που αλληλεπιδρούν χρησιμοποιώντας τη συνήθη Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) θεωρία και για μεγάλα και για μικρά λιπιδικά κυστίδια. Όμως, τα πειραματικά αποτελέσματα της συσσωμάτωσης των κυστιδίων που προέρχεται από δισθενή κατιόντα (divalent cations) (Ca^{+2} , Mg^{+2} και Ba^{+2}) δεν εξηγούνται από τη συνηθισμένη θεωρία DLVO. Προκειμένου να εξηγηθούν πειραματικά δεδομένα των φαινομένων της συσσωμάτωσης αυτών των κυστιδίων, είναι απαραίτητο να τροποποιηθεί η θεωρία από την εισαγωγή των ενεργειών της αλληλεπίδρασης της ενυδάτωσης (hydration interaction energies) τα οποία είναι εξαιτίας των ενυδατωμένων μορίων του ύδατος (hydrated water) στη μεμβρανική επιφάνεια, και το μέγεθός το η και το σημείο εξαρτάται από τη φύση (υδροφοβικότητα) της μεμβρανικής επιφάνειας.

Η σύντηξη λιπιδικών κυστιδίων διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο όχι μόνο στις βιολογικές κυτταρικές διαδικασίες, αλλά επίσης εξυπηρετεί ένα πρακτικό ρόλο στα πρόσφατα αναπτυσσόμενα πεδία της βιοτεχνολογίας: στη μεταφορά φαρμάκων, στη διαμόλυνση (transfection) γονιδίων στα κύτταρα, κλπ.

Μη φορτισμένα λιπιδικά κυστίδια δεν συσσωματώνονται εκτός και αν μία εξαιρετική κατάσταση έχει εφαρμοστεί (π.χ. μία πολύ υψηλή συγκέντρωση πολυσθενών ιόντων) επειδή μία απωστική δύναμη ενυδάτωσης ασκείται μεταξύ δύο πολικών μεμβρανών.

Σε ευθυγράμμιση με τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κολλοειδών σωματιδίων, οι δυνάμεις αλληλεπίδρασης που ασκούνται μεταξύ των φορτισμένων φωσφολιπιδικών κυστιδίων μπορούν να εκφραστούν από την άποψη της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης, F^{ele} , μια ελκτική δύναμη εξαιτίας της van der Waals αλληλεπίδρασης, F^{vW} , και άλλες δυνάμεις. Το άθροισμα αυτών των δυνάμεων

καθορίζει την ελεύθερη ενέργεια και για αυτό είναι απαραίτητο να συζητηθεί η ικανότητα των κυστιδίων να συσσωματωθούν από την άποψη της ενεργειακής σκοπιάς:

$$F^{tot} = F^{ele} + F^{vW} + F^{other} \quad (52)$$

Όπου F^{other} μπορεί να παρέχουν τις δυνάμεις ενυδάτωσης, τις ηλεκτρονικές απωστικές δυνάμεις (electronic repulsive forces), κλπ. Αυτές οι δυνάμεις είναι μάλλον μικρού εύρου η στη φύση τους σε σύγκριση με τις προηγούμενες δύο δυνάμεις, F^{ele} και F^{vW} .

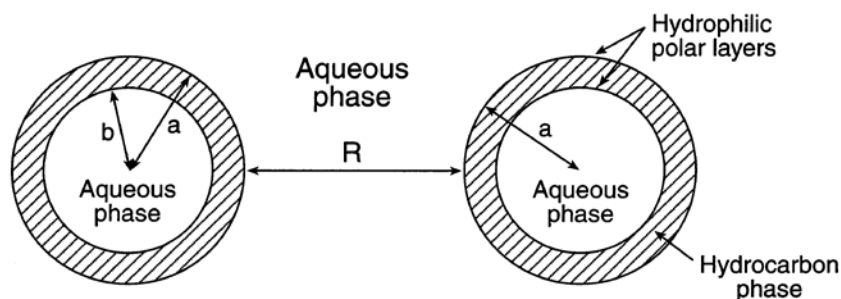
Για τις αλληλεπιδρώσες επιφάνειες σε σχετικά μεγάλη απόσταση, υπάρχει μία ισορροπία μεταξύ ελκτικών και απωστικών δυνάμεων προκαλώντας τις αντιτιθέμενες επιφάνειες να διατηρούν πεπερασμένες αποστάσεις. Το ελάχιστο ενεργειακό σημείο που θα επιτευχθεί μία ισορροπία ηλεκτροστατικών και van der Waals δυνάμεων αλληλεπίδρασης ονομάζεται δεύτερο ελάχιστο (secondary minimum) με τις διαμεμβρανικές αποστάσεις να κυμαίνονται από 20 μέχρι 1000. Συσσωμάτωση σε αυτό το ελάχιστο δεν είναι ιδιαίτερα σταθερή καθώς αντανακλάται από μία αβαθή εμφάνιση της ενέργειας, επίσης. Το βάθος εξαρτάται από την παρουσία αλάτων τα οποία μειώνουν το φραγμό του Coulomb (coulombic barrier) καθώς η συγκέντρωση του άλατος αυξάνεται, και επίσης από τα σωματίδια, τα οποία αναγνωρίζουν κυρίως την αύξηση της ενέργειας αλληλεπίδρασης van der Waals με την αύξηση του μεγέθους των κυστιδίων. Αυτός ο τύπος της αλληλεπίδρασης θα συζητηθεί με την επίδειξη των πειραματικών αποτελεσμάτων που παρατηρήθηκαν για όξινα φωσφολιπιδικά κυστίδια που προκαλούνται από μονοσθενή κατιόντα.

Από την άλλη πλευρά, ισχυρά συσσωματώματα σχηματίζονται σε επιφάνεια διαχωρισμού των 10Å ή και λιγότερο όταν τα κυστίδια συσσωματώνονται σε αυτό που ονομάζεται πρωταρχικό ελάχιστο (primary minimum), το οποίο είναι μία συνθήκη απαραίτητη αλλά όχι ικανή για να συμβεί σύντηξη μεμβρανών. Σε αυτές τις μικρές αποστάσεις μεμβρανικές επιφάνειες που προσεγγίζουν εμφανίζουν απροσδόκητα μεγάλες απώσεις, οι οποίες μπορούν να αναγνωριστούν εξαιτίας της ενυδάτωσης των μεμβρανικών επιφανειών. Αυτού του είδους οι δυνάμεις δεν συμπεριλαμβάνονται στην αρχική θεωρία DLVO. Οι δυνάμεις εξαιτίας της ενυδάτωσης αρχίζουν να εφαρμόζονται σε ένα διαμεμβρανικό διαχωρισμό των 20-

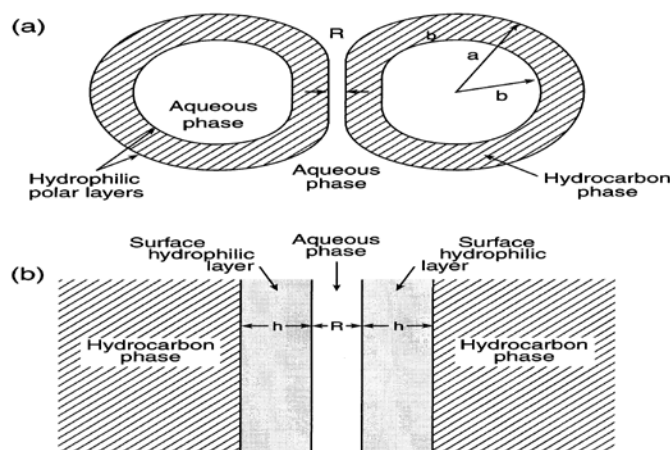
30Å, ο οποίος είναι της τάξεως της μοριακής διαμέτρου του ύδατος. Αυτές οι απωστικές δυνάμεις, οι οποίες έχουν ονομαστεί «δυνάμεις ενυδάτωσης» (“hydration forces”) εξαιτίας του μεγέθους τους είναι στενά συνδεδεμένες με την ενέργεια που απαιτείται για να μετακινηθεί το νερό από την υδροφιλική επιφάνεια, που κυριαρχούν πάνω από όλες τις δυνάμεις σε αποστάσεις μικρότερες των 25Å. Αυτό βρέθηκε για πρώτη φορά στη μελέτη των πολυστοιβαδικών λιπιδικών μεμβρανικών συστημάτων. Το εύρος των δυνάμεων ενυδάτωσης είναι αρκετά μεγαλύτερο από τα κελύφη ενυδάτωσης (hydration shells) που περιβάλλουν την λιπιδική πολική ομάδα. Οι απωστικές δυνάμεις ενυδάτωσης εξαρτώνται από την περιοχή της πολικής ομάδας και την πολική φύση των λιπιδίων, δηλαδή όσο μεγαλύτερη είναι η πολική ομάδα τόσο μεγαλύτερη είναι η άπωση της ενυδάτωσης. Επίσης, αργότερα ένα άλλος τύπος δυνάμεων ενυδάτωσης έχει εισαχθεί, η δύναμη είναι ελκτικής φύσης και εξαιτίας των ενυδατωμένου ύδατος (hydrated water) πάνω σε υδροφοβικές επιφάνειες, οι οποίες αλληλεπιδρούν η μία με την άλλη. Ως εκ τούτου, εμφανίζεται ότι υπάρχουν δύο είδη δυνάμεων ενυδάτωσης που εξαρτώνται από τη φύση των δύο μεμβρανικών επιφανειών που αλληλεπιδρούν. Προκειμένου να συζητηθούν τα πειραματικά αποτελέσματα που περιλαμβάνονται στην κάθε περίπτωση (π.χ. πολυσθενή κατιόντα – επαγόμενη όξινων φωσφολιπιδικών κυστιδίων συσσωμάτωση και σύντηξη), η συνήθης θεωρία DLVO θα πρέπει να τροποποιηθεί για να εξηγήσει τα πειραματικά αποτελέσματα.

Όμως, η θεωρία DLVO δεν είναι απαραίτητα εφαρμόσιμη για όλα τα φαινόμενα συσσωμάτωσης των λιπιδικών κυστιδίων. Ένα τέτοιο παράδειγμα μπορεί να συναντήσει κανείς με ένα σύστημα κυστιδίων φωσφατιδυλοχολίνης (phosphatidylcholine – PC). Επειδή το PC λιπίδιο είναι ηλεκτρικά ουδέτερο (zwitter ionic), σύμφωνα με την θεωρία DLVO, θα πρέπει να παρατηρείται το φαινόμενο της σταθερής συσσωμάτωσης κυστιδίων, που πραγματοποιείται εξαιτίας των ελκτικών van der Waals δυνάμεων. Όμως, τα πειράματα έδειξαν ότι δεν υφίσταται συσσωμάτωση μεταξύ των PC (sun) κυστιδίων ακόμη και σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις κάθε ιονικού άλατος. Ο λόγος μπορεί να είναι εξαιτίας του γεγονότος ότι τα PC λιπίδια έχουν μία μεγάλη και ισχυρά πολική ομάδα, η μεγάλη απωστική δύναμη της αλληλεπίδρασης ενυδάτωσης μπορεί να ασκείται στα αλληλεπιδρώντα κυστίδια σε μία σχετικά μεγάλη απόσταση (~ 25Å) και ως εκ τούτου μία ελκτική van der Waals δύναμη δεν δημιουργεί αρκετά βαθύ δεύτερο ελάχιστο σε σύγκριση με το

kT . Ως εκ τούτου, δεν υπάρχει συσσωμάτωση των κυστιδίων σε αυτές τις περιπτώσεις. Όμως, θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην περίπτωση των δύο αλληλεπιδρώντων παράλληλων PC μεμβρανών θεωρείται ότι υπάρχει ένας σταθερός πιθανός δια-μεμβρανικός διαχωρισμός, εξαιτίας της ισορροπίας που αποδίδεται από τη μεγάλη αλληλεπιδρώσα επιφάνεια και την απωστική αλληλεπίδραση ενυδάτωσης σε σχετικά μακρινή απόσταση. Ένα άλλο παράδειγμα είναι η περίπτωση όπου αντίθετα ιόντα ισχυρά συνδέονται σε αρνητικά φορτισμένες πλευρές της μεμβράνης, όπως φαίνεται με δισθενή και πολυσθενή ιόντα, η ανάλυση της θεωρίας DLVO δεν είναι επαρκής για να εξηγήσει τα πειραματικά αποτελέσματα συμπεριλαμβανομένων τέτοιων ιόντων.



Εικόνα 20: Σχηματικό διάγραμμα για δύο λιπιδικά κυστίδια με ακτίνα a (b =η εσωτερική ακτίνα) διασπαρμένα σε ένα υδατικό διάλυμα σε μια σχετικά μεγάλη απόσταση διαχωρισμού, R . (Adapted from Ohki and Ohshima, 1999)



Εικόνα 21: (a) Σχηματικό διάγραμμα για δύο λιπιδικά κυστίδια ακτίνας a που αλληλεπιδρούν το ένα με το άλλο σε ένα υδατικό διάλυμα σε απόσταση διαχωρισμού, R (b) Σχηματικό διάγραμμα για δύο στενά διατηρούμενες μεμβράνες που διαχωρίζονται από μία υδατική φάση σε απόσταση R (Adapted from Ohki and Ohshima, 1999)

Όταν η μεμβρανική επιφάνεια είναι επαρκώς πολική και υδροφιλική, π.χ. η διεπιφανειακή τάση της διεπιφάνειας μεμβράνης – ύδατος ($\gamma_{m/w}$) είναι κοντά στο μηδέν, μία μεγάλη δύναμη ενυδάτωσης θα ασκείται σε δύο αλληλεπιδρώσες μεμβράνες σε μια μικρή απόσταση διαχωρισμού η οποία αποτρέπει τη στενή προσέγγιση δύο μεμβρανών. Η ενέργεια της απωστικής δύναμης αλληλεπίδρασης απότομα αυξάνεται γύρω στα $10\text{\AA}$ καθώς η απόσταση μειώνεται. Επιπρόσθετα με την απωστική δύναμη ενυδάτωσης, όταν δύο μεμβράνες αλληλεπιδρούν έχουν επιφανειακά φορτία του ίδιου τύπου, η απωστική ηλεκτροστατική δύναμη αλληλεπίδρασης εξασκείται σε δύο μεμβράνες η οποία είναι μεγάλου εύρους αλληλεπίδρασης. Με αυτή και μια άλλη μεγάλου εύρους ελκτική δύναμη αλληλεπίδρασης, van der Waals δυνάμεις, κυστίδια ή σωματίδια μπορούν να βρεθούν σε ένα ελάχιστο ενεργειακό σημείο, το σημείο του δεύτερου ελαχίστου, σε μια σχετικά μεγάλη απόσταση διαχωρισμού (π.χ. σε εύρος $20\text{-}100\text{\AA}$) υπό οποιαδήποτε συνθήκη. Επιπλέον, αν τα κυστίδια ή τα σωματίδια συσσωματώνονται σε ένα δεύτερο ελάχιστο σε μια απόσταση διαχωρισμού μεγαλύτερη από $20\text{\AA}$, δε χρειάζεται να συμπεριληφθεί η αλληλεπίδραση ενυδάτωσης ως όρος στη συζήτηση για τη σταθερότητα αυτών των κυστιδίων όπου η θεωρία DLVO είναι επαρκής. Η κατάσταση εμφανίζεται για δύο όξινες λιπιδικές μεμβράνες σε διάλυμα μονοσθενούς άλατος (π.χ. κυστίδια φωσφατιδυλοσερίνης απαιωρημένα σε οποιοδήποτε διάλυμα μονοσθενούς άλατος). Όπως δείχθηκε παραπάνω, τα κυστίδια φωσφατιδυλοσερίνης δε συσσωματώνονται σε διάλυμα μονοσθενούς άλατος 0.1 M . Όμως, αν το ιόν έχει την ικανότητα να συνδέεται (ή να προσροφάται) στις φορτισμένες πλευρές της μεμβράνης, θα μειώσει το δραστικό επιφανειακό φορτίο των αρνητικά φορτισμένων μεμβρανών. Αν το δραστικό επιφανειακό φορτίο έχει μειωθεί, η ηλεκτροστατική απωστική δύναμη αλληλεπίδρασης έχει μειωθεί, το οποίο εξαρτάται από την ισχύ της σύνδεσης (ή της προσρόφησης) του ιόντος και ειδικότερα σε υψηλή ιονική συγκέντρωση, και καθιστά το δεύτερο ελάχιστο βαθύ, και το βάθος είναι συγκρίσιμο ή και βαθύτερο από το μέγεθος kT , αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα τη συσσωμάτωση των κυστιδίων. Γενικά, ιόντα τα οποία παρουσιάζουν ισχυρότερη τάση σύνδεσης (ή προσρόφησης) σε σύγκριση με τις φορτισμένες πλευρές της επιφάνειας των κολλοειδών σωματιδίων, και επίσης υψηλότερη συγκέντρωση των ιόντων, μπορεί να ελαττώσει τη συσσωμάτωση των σωματιδίων ευκολότερα, το οποίο είναι γνωστό ως κανόνας των Schulze-Hardy στην επιστήμη των κολλοειδών. Αυτό έχει

διασαφηνιστεί στην ενότητα των μονοσθενών κατιόντων που επάγουν τη συσσωμάτωση των κυστιδίων φωσφατιδυλοσερίνης.

Μονοσθενή κατιόντα μπορούν να επάγουν συσσωμάτωση φορτισμένων λιπιδικών κυστιδίων σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις και με το ίδιο κατιόν, κυστίδια τα οποία διαθέτουν μεγαλύτερη διάμετρο μπορούν να συσσωματωθούν περισσότερο εύκολα, γρήγορα και δυνατά σε σύγκριση με σωματίδια μικρότερης διαμέτρου, επειδή η μεγαλύτερη κατανομή των van der Waals ελκτικών δυνάμεων αποδίδεται στα μεγαλύτερου μεγέθους κυστίδια.

Επειδή, ακόμη και στην περίπτωση όπου και λιπιδικά κυστίδια συσσωματώνονται σε υψηλή συγκέντρωση ενός διαλύματος μονοσθενούς άλατος, οι μεμβρανικές επιφάνειες των κυστιδίων είναι ακόμη περισσότερο υδροφιλικές (καμία αύξηση στη διεπιφανειακή τάση από αυτή σε 0.1M διαλύματος NaCl) σύμφωνα με μελέτες μέτρησης της επιφανειακής τάσης των λιπιδικών μονοστοιβάδων.

Ως εκ τούτου, μεγάλες απωστικές δυνάμεις αλληλεπίδρασης ενυδάτωσης πρέπει να εξασκούνται πάνω στις δύο αλληλεπιδρώσες μεμβράνες, το μέγεθος των οποίων είναι αρκετά μεγαλύτερο από τις ελκτικές δυνάμεις που ασκούν οι μεγάλοι εύρους van der Waals δυνάμεις αλληλεπίδρασης. Μονοσθενή κατιόντα δεν διαφοροποιούν τη φύση της αρνητικά φορτισμένης μεμβρανικής επιφάνειας (σε περισσότερο υδροφοβική επιφάνεια) σε μεγάλο βαθμό, εκτός από τα H^+ , αλλά αυτά περιλαμβάνουν μόνο τη συσσωμάτωση των κυστιδίων σε μια σχετικά μεγάλη απόσταση και η ενέργεια στο δεύτερο ελάχιστο είναι μικρή. Όμως, εκτός του ότι τα δισθενή κατιόντα και τα πολυσθενή κατιόντα π.χ. τα τρισθενή κατιόντα μπορούν να συνδεθούν ή να προσροφηθούν πάνω στις μεμβρανικές επιφάνειες και αυτό δεν συντελεί μόνο σε μια μεγάλη μείωση του προκαθορισμένου μεμβρανικού φορτίου, αλλά επίσης και σε μια ισχυρή διαφοροποίηση της φύσης της επιφάνειας της μεμβράνης σε μια περισσότερο υδροφοβική. Σε μια ορισμένη συγκέντρωση του πολυσθενούς κατιόντος, τα ιόντα επάγουν μια στενή προσκόλληση (close adhesion) των δύο μεμβρανών.

Όταν ένα μικρό ποσό πολυσθενών κατιόντων είναι παρόν σε αρνητικά φορτισμένα κυστίδια ενός εναιωρήματος με μορφή διαλύματος, πολυσθενή κατιόντα συνδέονται ισχυρά με τις αρνητικά φορτισμένες περιοχές της μεμβράνης, και επίσης αυτή η

σύνδεση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της υδροφοβικότητας της επιφάνειας ή την αύξηση της διεπιφανειακής τάσης της μεμβράνης.

Το φαινόμενο της συσσωμάτωσης των όξινων φωσφολιπιδικών κυστιδίων προκαλείται από μονοσθενή ιόντα εκτός από αυτό του υδρογόνου (H^+) εξηγείται καλά από την θεωρία DLVO και όταν προκαλείται από δισθενή κατιόντα δεν εξηγείται παρά από την τροποποιημένη θεωρία DLVO (modified DLVO theory) η οποία περιλαμβάνει τις δυνάμεις αλληλεπίδρασης ενυδάτωσης. Στο μέτρο της μείωσης της εμβέλειας των υδροφιλικών απωστικών δυνάμεων θεωρείται ότι οι μικρότερες μοιάζουν να ταιριάζουν καλύτερα για την ανάλυση της μεμβρανικής σύντηξης (Ohki and Ohshima, 1999).

Σκοπός Εργασίας

Η Φαρμακευτική Νανοτεχνολογία θεωρείται ένα εξαιρετικά δημοφιλές πεδίο για τη μεταφορά φαρμακομορίων και τη στοχευμένη θεραπεία, η οποία περιλαμβάνει κολλοειδείς νάνο-μεταφορείς φαρμακομορίων (Hughes, 2005; Mishra et al., 2010; Souza et al., 2010). Η κατηγοριοποίηση aDDnSs, τα οποία είναι κυρίως κολλοειδή νανοσωματίδια, έχει ήδη επιτευχθεί με βάση τη λειτουργικότητα της επιφάνειά τους, τη μορφολογία τους και τη σύστασή τους (Demetzos 2010, a,b). Επιπρόσθετα, τα χιμαιρικά (chimeric) aDDnSs, η πιο δημοφιλής κατηγορία των aDDnSs, τα οποία συνδυάζουν τη δενδριτική και λιποσωμιακή τεχνολογία έχουν πρόσφατα εμφανιστεί στη βιβλιογραφία, δημιουργώντας νέους προσανατολισμούς για τη μεταφορά φαρμακομορίων (Gardikis et. al.,2010; Gardikis et. al.,2011; Kontogiannopoulos et. al., 2011). Οι λιποσωμιακοί φορείς της παρούσας εργασίας σύστασης DPPC και DPPC:cholesterol (9:1) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή χιμαιρικών aDDnSs με στόχο την ενσωμάτωση ενός φαρμακομορίου. Πιο συγκριμένα, η παρούσα εργασία έχει ως στόχο:

- τη διερεύνηση της σταθερότητας ή της συσσωμάτωσης των λιποσωμιακών φορέων DPPC χωρίς και με χοληστερόλη
- τον καθορισμό της fractal γεωμετρίας τους (d_f) και της μορφοκλασματικής τους επιφάνειας (d_s)
- τη μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών στα δύο διαφορετικά μέσα ανασύστασης/ διασποράς (νερό HPLC καθαρότητας και FBS)
- την ανίχνευση της εξάρτησης της fractal διάστασης των λιποσωμιακών φορέων από τις μεταβολές της συγκέντρωσης και της θερμοκρασίας, παραμέτρων κρίσιμων για τη σταθερότητα των κολλοειδών συστημάτων.

Δυναμική, Στατική και Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός καθώς και Φασματοσκοπία Φθορισμού χρησιμοποιήθηκαν για να διασαφηνίσουν τη δομή και τις φυσικοχημικές παραμέτρους των λιποσωμιακών νανομεταφορέων σε μια μελέτη σταθερότητας και αυθόρμητης θερμοδυναμικής γήρανσης των συστημάτων σε δύο διαφορετικά μέσα διασποράς, καθώς και τη μορφολογική τους ανταπόκριση στις μεταβολές της συγκέντρωσης και της θερμοκρασίας.

Τα αποτελέσματα θα συζητηθούν στα πλαίσια των διαθέσιμων θεωριών και φυσικοχημικών μοντέλων.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

8. Παρασκευή Λιποσωμάτων

8.1 Οργανολογία για την Παρασκευή και το Φυσικοχημικό Χαρακτηρισμό Λιποσωμάτων

Υλικά

Για την παρασκευή των λιποσωμάτων χρησιμοποιήθηκαν Διπαλμιτοϋλοφοσφατίδυλοχολίνη (DPPC) (Avanti Polar Lipids Inc., Albaster, AL, USA) και Cholesterol ((3β)-cholest-5-en-3-ol) (Avanti Polar Lipids Inc., Albaster, AL, USA). Χλωροφόρμιο (Sigma – Aldrich Chemical Co.) ήταν ο οργανικός διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε. Η ενυδάτωση των λιποσωμάτων πραγματοποιήθηκε με νερό καθαρότητας HPLC (PROTMPS Labconco System) και η ανάκτηση των λιποσωματικών πλακουντίων με ορό πλάσματος βοοειδούς Fetal Bovine Serum (FBS) (Gibco® invitrogenTM).

Όργανα

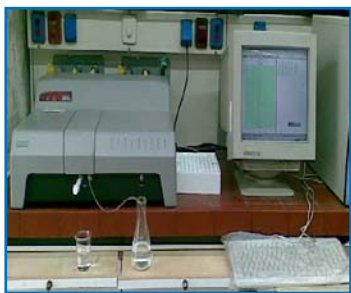
Τα όργανα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν η περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό κενό (Laborota 40 A00, Heidolph Instruments) (**Εικόνα 22**) και η συσκευή υπερήχησης με αισθητήρα (UP200s Ultraschallprozessor dr. Hielscher GmbH, Berlin, Germany) για την παρασκευή των λιποσωμάτων. Ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των λιποσωματικών εναιωρημάτων πραγματοποιήθηκε με φασματοφωτόμετρο συσχέτισης φωτονίων (Zetasizer 3000 HAS, Malvern UK).



Εικόνα 22: Περιστρεφόμενη Συσκευή Εξάτμισης υπό Κενό

1. Όργανο Φασματοσκοπίας Συσχετισμού Φωτονίων

Πρόκειται για ένα όργανο (**Εικόνα 23**) μέτρησης του μεγέθους, της κατανομής μεγέθους και του ζ-δυναμικού των σωματιδίων.



Εικόνα 23: Όργανο Φασματοσκοπίας Συσχέτισης Φωτονίων.

Μοντέλο: Zetasizer Particle Size and Zeta Potential Analyser 3000

Εταιρεία: Malvern Instruments Ltd.

Αρχή λειτουργίας: Σωματίδια μεγέθους από 1-5000nm μπορούν να μετρηθούν με τη μέθοδο φασματοσκοπίας συσχετισμού φωτονίων (photon correlation spectroscopy – PCS). Ένα από τα χαρακτηριστικά των σωματιδίων είναι ότι βρίσκονται σε συνεχή τυχαία θερμική κίνηση (κίνηση Brown). Αυτή η κίνηση έχει ως αποτέλεσμα η ένταση του σκεδαζόμενου από τα σωματίδια φωτός να σχηματίζει ένα μοντέλο κινούμενου στίγματος. Αυτή η κινητικότητα ανιχνεύεται ως αλλαγή της έντασης σε σχέση με το χρόνο, από έναν ανιχνευτή και έναν φωτοπολλαπλασιαστή. Τα μεγάλα σωματίδια κινούνται πιο αργά από τα μικρά και συνεπώς ο ρυθμός της διακύμανσης του σκεδαζόμενου φωτός είναι πιο βραδύς. Η φασματοσκοπία συσχετισμού φωτονίων χρησιμοποιεί το ρυθμό μεταβολής των διακυμάνσεων του φωτός για να προσδιορίσει την κατανομή μεγέθους των σωματιδίων που προκαλούν το σκεδασμό του φωτός.

Στο όργανο αυτό η παραγωγή της δέσμης του εκπεμπόμενου φωτός γίνεται από λέιζερ He-Ne και το μήκος κύματος του φωτός είναι 633nm. Η ακτινοβολία προσπίπτει στα σωματίδια (π.χ. λιποσώματα), σκεδάζεται και στη συνέχεια, τα σκεδαζόμενα φωτόνια ανιχνεύονται από έναν φωτοπολλαπλασιαστή.

Στο λογισμικό του οργάνου υπάρχει πρόγραμμα αλγορίθμων που επεξεργάζεται τις μεταβολές της έντασης του σκεδαζόμενου φωτός και καταλήγει στην κατανομή του μεγέθους των σωματιδίων που περιέχονται στο δείγμα. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας

συγκεκριμένη μαθηματική ανάλυση, η οποία συνίσταται από την ISO 13321 διεθνή μέθοδο, προκύπτει και ο μέσος όρος των μεγεθών. Κατά τις μετρήσεις αυτές το μέγεθος ορίζεται η υδροδυναμική διάμετρος των σωματιδίων – λιποσωμάτων, ενώ ως δείκτης διασποράς το εύρος κατανομής.

Το ζ-δυναμικό των σωματιδίων που μετρά το όργανο είναι το ζ-δυναμικό της επιφάνειας κάλυψης του σωματιδίου που δημιουργείται μεταξύ του φορτίου του σωματιδίου και του μέσου, και όχι το φορτίο επιφάνειας του σωματιδίου.

Μέτρηση του δείγματος

Το δείγμα αραιώνεται με H₂O HPLC καθαρότητας διηθημένο (από φίλτρο Millipore με διάμετρο πόρων 200nm) και

- a) μεταφέρεται σε κυψελίδα μιας χρήσης από πολυστυρένιο. Αυτή τοποθετείται σε ειδική υποδοχή του οργάνου, η οποία κλείνει με καπάκι ώστε να μην διαχέεται το σκεδαζόμενο φως και μετράται το μέγεθος
- b) ενίεται με σταθερό ρυθμό στην ειδική υποδοχή του οργάνου, προς αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων που θα εμπόδιζαν τη σωστή μέτρηση του ζ-δυναμικού, που οδηγεί το λιποσωματικό εναιώρημα στην εσωτερική κυψελίδα του οργάνου και μετράται τα ζ-δυναμικό

Το ζ-δυναμικό υπολογίζεται από την ηλεκτροφορητική κινητικότητα, με, χρησιμοποιώντας τη διόρθωση του Henry στην εξίσωση Smoluchowski:

$$\zeta = \frac{3\mu_E n}{2\varepsilon_0 \varepsilon_r} \frac{1}{f(\kappa a)} \quad (53)$$

Όπου ε_0 η διαπερατότητα του κενού, ε_r η σχετική διαπερατότητα, a η ακτίνα του σωματιδίου, κ το μήκος Debye, και η το ιξώδες του ύδατος. Η συνάρτηση $f(\kappa a)$ εξαρτάται από το σχήμα των σωματιδίων. Εφόσον $\kappa a > 1$:

$$f(\kappa a) = 1,5 + \frac{9}{2(\kappa a)} + \frac{75}{2(\kappa a)^2} \quad (54)$$

Η παραπάνω εξίσωση αναφέρεται στα λιποσωματικά εναιωρήματα της παρούσας μελέτης.

8.2 Μέθοδος Παρασκευής Λιποσωμάτων DPPC και DPPC:cholesterol (9:1)

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ενυδάτωσης του λεπτού λιπιδικού υμενίου. Τα λιπίδια ζυγίζονται, μεταφέρονται σε κωνική φιάλη και διαλύονται σε χλωροφόρμιο. Ο διαλύτης εξατμίζεται αργά σε περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό κενό μέχρι το σχηματισμό ομοιογενούς υμενίου. Το σχηματιζόμενο υμένιο αφήνεται σε ξηραντήρα κενού τουλάχιστον για 24 ώρες για την απομάκρυνση πιθανών ιχνών διαλυτών. Το λιπιδικό υμένιο ενυδατώνεται με διάλυμα σουκρόζης 150mM. Η ενυδάτωση πραγματοποιείται σε υδατόλουτρο πάνω από τη θερμοκρασία μετάβασης των λιπιδίων με αργή περιστροφή της φιάλης για μία ώρα. Στη συνέχεια τα σχηματιζόμενα πολυστοιβαδικά λιποσώματα (MLVs) αφήνονται σε ηρεμία για 30 λεπτά πριν υποβληθούν σε δύο κύκλους υπερήχησης των 5 λεπτών με διακοπή 5 λεπτών στο ενδιάμεσο χρησιμοποιώντας αισθητήρα υπερήχησης (πλάτος ταλάντωσης 100%, διάρκεια παλμού 0.7 sec). Τα μικρά μονοστοιβαδικά λιποσώματα (SUVs) που σχηματίζονται με υπερήχηση αφήνονται σε ηρεμία για 30 λεπτά. Ακολουθεί φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των λιποσωμάτων

8.2.1 Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός Λιποσωμάτων DPPC και DPPC:cholesterol (9:1)

Το μέγεθος (μέση υδροδυναμική διάμετρος Z_{Ave}), ο δείκτης πολυδιασποράς (PI) και το ζ-δυναμικό (Zeta) των λιποσωμάτων μετράται άμεσα μετά την παρασκευή των λιποσωμάτων ως ακολούθως:

Το λιποσωματικό εναιώρημα αραιώνεται από 10 μέχρι και 60 φορές σε κυψελίδα όγκου 3ml σε H₂O HPLC καθαρότητας (pH 5.6-5.7) και η μέση υδροδυναμική διάμετρος (Z_{Ave}), ο δείκτης πολυδιασποράς (PI) και το ζ-δυναμικό (Zeta) των λιποσωμάτων μετρώνται με φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων. Η εισερχόμενη ορατή ακτινοβολία (633nm) σκεδάζεται και μετριέται υπό γωνία 90° και οι μετρήσεις πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία 25°C. Τα αποτελέσματα αναλύονται με τη μέθοδο CONTIN του πακέτου λογισμικού MALVERN.

Η παρασκευή λιποσωμάτων και ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός τους πραγματοποιήθηκε τρεις φορές.

8.3 Λυοφιλοποίηση

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα στην ανάπτυξη των φαρμακευτικών προϊόντων είναι η σταθερότητα κατά την αποθήκευσή τους. Η λυοφιλοποίηση είναι η μέθοδος εκείνη που εξασφαλίζει τη σταθερότητα ενός ασταθούς διαλύματος μετατρέποντάς το σε στερεό. Η αφαίρεση του ύδατος πρέπει να τονιστεί ότι γίνεται με εξάχνωση και όχι με απλή εξάτμιση.

1.1. Διαδικασία λυοφιλοποίησης.



Εικόνα 24: Ο Λυοφιλοποιητής.

Κατά τη λυοφιλοποίηση, τα φιαλίδια γεμίζονται με το διάλυμα και στη συνέχεια τοποθετούνται μέσα στο λυοφιλοποιητή (**Εικόνα 24**), όπου οι συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης μπορούν να μεταβάλλονται κατά βούληση σε μεγάλα όρια, στη συνέχεια ψύχονται, κατόπιν δημιουργείται υψηλό κενό και όταν πια οι συνθήκες έχουν περάσει «κάτω από το τριπλό σημείο του ύδατος» προσφέρεται θερμότητα στο προϊόν. Τότε το νερό αρχίζει να φεύγει υπό τη μορφή ατμών και να συγκεντρώνεται σε ένα ιδιαίτερα κρύο σημείο του μηχανήματος το συμπυκνωτή (condenser) ακολουθώντας την αρχή της «ψυχράς παρειάς» του Watt. Αυτή η διεργασία διαρκεί συνήθως από 20 έως 96 ώρες και είναι αυτό που αποκαλείται «κύκλος της λυοφιλοποίησης» (freeze drying cycle) (Wang et al., 2009). Στο τέλος του κύκλου στα φιαλίδια παραμένει το λυόφιλο προϊόν ή υαλώδεις πλακούντιο (cake). Η χαρακτηριστική ιδιότητα του λυόφιλου προϊόντος είναι ότι το στερεό συστατικό που είναι μέσα στο φιαλίδιο δεν είναι σε μορφή σκόνης, αλλά ένα «αφράτο» σπογγώδες στερεό που στην πράξη έχει τον όγκο που είχε το διάλυμα από το οποίο προήλθε. Όταν λοιπόν σε αυτό το στερεό προστεθεί όγκος του ύδατος ακριβώς ίσος με αυτόν πριν τη λυοφιλοποίηση, η διάλυση και ανασύσταση του προϊόντος είναι αν όχι ακαριαία, σίγουρα πάρα πολύ ταχύτερη από τη διάλυση που θα είχε το ίδιο στερεό υπό τη μορφή μιας κοινής σκόνης, για το λόγο ότι η σπογγώδης υφή του αυξάνει πάρα πολύ την επιφάνεια και επιταχύνει δραματικά τη διάλυση. Σε αυτό το σημείο επαναλαμβάνεται ότι το νερό μέσα στο λυοφιλοποιητή δεν εξατμίζεται (που σημαίνει ότι από υγρό γίνεται υδρατμός) αλλά εξάχνωνεται που

σημαίνει ότι από στερεό (πάγος) γίνεται υδρατμός. Τα επιθυμητά χαρακτηριστικά λυοφιλοποιημένων σκευασμάτων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Τα επιθυμητά χαρακτηριστικά λυοφιλοποιημένων προϊόντων.

Επιθυμητά χαρακτηριστικά λυοφιλοποιημένων προϊόντων

- μακροχρόνια σταθερότητα
 - γρήγορη ανασύσταση
 - διατήρηση των χαρακτηριστικών του αρχικού σκευάσματος μετά την ανασύσταση
 - (για τα λιποσώματα η κατανομή μεγεθών και ο εγκλωβισμός του φαρμάκου)
 - ισοτονικότητα μετά την ανασύσταση
-

Χαρακτηριστικό παράδειγμα λυοφιλοποίησης κολλοειδούς συστήματος μεταφοράς φαρμάκων είναι τα λιποσωμιακά εναιωρήματα. Το κύριο πρόβλημα της λυοφιλοποίησης των λιποσωμάτων είναι η διατήρηση της δομής τους καθώς και η διατήρηση του εγκλωβισμένου στο υδατικό εσωτερικό (για υδρόφιλα μόρια) ή του ενσωματωμένου στη λιπιδική διπλοστοιβάδα (για υδρόφοβα μόρια) φαρμακομορίου κατά την ανασύσταση των λιποσωμάτων. Η λυοφιλοποίηση και η ανασύσταση των λιποσωμάτων χωρίς προστατευτικά μέσα (κρυοπροστατευτικά και λυοπροστατευτικά) έχει ως αποτέλεσμα τη σύντηξη και τη συσσωμάτωση των λιποσωμάτων και την εκτεταμένη διαφυγή του εγκλωβισμένου στο εσωτερικό υδρόφιλου φαρμάκου. Καθοριστικοί παράγοντες για την ανασύσταση του λιποσωμιακού σκευάσματος, έτσι ώστε να διατηρεί τις αρχικές του ιδιότητες (μέγεθος, % εγκλωβισμένου φαρμάκου) είναι τόσο η σύσταση του λιποσώματος, όσο και η διαδικασία της λυοφιλοποίησης. Κατά τη διαδικασία της λυοφιλοποίησης και της ανασύστασης τα λιποσώματα μπορούν να υποστούν βλάβες τόσο κατά τη διάρκεια της ψύξης όσο και κατά τη διάρκεια της ανασύστασης. Για την αποφυγή αυτών των βλαβών χρησιμοποιούνται κρυοπροστατευτικά (προστασία κατά την ψύξη) και λυοπροστατευτικά (προστασία κατά την ανασύσταση). Κατά τη διάρκεια

της λυοφιλοποίησης των λιποσωμάτων σε υδατικό μέσο σχηματίζονται κρύσταλλοι πάγου και αυξάνεται η συγκέντρωση του διαλυμένου συστατικού στο εναπομένον διάλυμα. Ο σχηματισμός κρυστάλλων και η αύξηση της συγκέντρωσης μπορούν να καταστρέψουν τη λιπιδική διπλοστοιβάδα. Ως κρυοπροστατευτικά και λυοπροστατευτικά χρησιμοποιούνται σάκχαρα, όπως είναι η σουκρόζη. Για να είναι αποτελεσματικό το λυοπροστατευτικό πρέπει να βρίσκεται τόσο στο εξωτερικό όσο και στο εσωτερικό του λιποσώματος. Συγκεκριμένα, όσον αφορά τη χρήση της σουκρόζης, ως κρυοπροστατευτικού, τοποθετείται στην επιφάνεια της διπλοστοιβάδας των λιποσωμάτων, εκτοπίζοντας τα μόρια του ύδατος (Kiselev et al. 2003). Εκτός αυτού η συγκέντρωση του λυοπροστατευτικού και του εγκλωβισμένου φαρμακομορίου πρέπει να είναι τέτοια ώστε η οσμωτικότητα στο εσωτερικό και στο εξωτερικό του λιποσώματος να είναι ίδια. Σημαντική επίδραση στην προστασία των λιποσωμάτων έχει η κατά βάρος αναλογία σακχάρου/φωσφολιπιδίου.

Μέθοδος

500μl από κάθε δείγμα, των καθαρών λιποσωμάτων τοποθετούνται σε φιαλίδια. Τα φιαλίδια τοποθετούνται στη κατάψυξη για μία ώρα. Έπειτα τοποθετούνται στο λυοφιλοποιητή για 24 ώρες.

Η ανασύσταση των λυοφιλοποιημένων λιποσωμάτων πραγματοποιείται με νερό HPLC καθαρότητας και FBS με όγκο ίσο με αυτόν πριν τη λυοφιλοποίηση. Ακολουθούν μετρήσεις σταθερότητας των λιποσωματικών εναιωρημάτων στα δύο μέσα ανασύστασης με DLS για τον προσδιορισμό των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών τους (R_h , PD.I.), προσδιορισμός της fractal διάστασής τους με SLS, και του ζ-δυναμικού με μετρήσεις ηλεκτροφορητικής κινητικότητας.

8.4 Δυναμική και Στατική Σκέδαση Φωτός

Όργανο Σκέδασης Φωτός (Light scattering system)

Εταιρεία: ALV GmbH, Germany

Γωνιόμετρο: AVL/CGS-3 Compact Goniometer System (ALV GmbH, Germany). Το όργανο διαθέτει ένα JDS Uniphase 22mW He-Ne laser που λειτουργεί στα 632,8 nm Έχει προτεινόμενη ακτίνα σκέδασης 17 έως 152°. Περιλαμβάνεται μειωτήρας με

δυνατότητα ελάττωσης της ακτινοβολίας κατά 0,1%, 0,31%, 1%, 3,1%, 10%, 31% και 100% . Για τη βαθμονόμηση του οργάνου χρησιμοποιήθηκε το λουόλιο.

Ψηφιακός συσχετιστής: ALV-5000/EPP multi-tau με 288 κανάλια, που στο καθένα απ' αυτά αποθηκεύονται οι παλμοί (φωτόνια που φτάνουν στον ανιχνευτή) που αντιστοιχούν σε ορισμένη χρονική περίοδο (αυτό αφορά μόνο τη δυναμική σκέδαση).



Εικόνα 25: Όργανο Δυναμικής και Στατικής Σκέδασης Φωτός.

Λογισμικό εξισώσεων συσχέτισης: CONTIN και με τη μέθοδο cumulant που παρέχει την υδροδυναμική ακτίνα με τη βοήθεια της σχέσης Stokes-Einstein:

$$D = \frac{kT}{3\pi\eta_0 R_h} \quad (55)$$

Όπου R_h , η υδροδυναμική ακτίνα, k η σταθερά Boltzmann, T η απόλυτη θερμοκρασία, η_0 το ιξώδες και D ο συντελεστής διάχυσης.

Το μέγεθος εξάγεται από τις εξισώσεις συσχέτισης με τη χρήση διαφόρων αλγόριθμων. Με τη μέθοδο των Cumulants υπολογίζεται το μέσο μέγεθος και ο δείκτης πολυδιασποράς. Με τη μέθοδο CONTIN προσδιορίζεται η κατανομή μεγεθών.

Για μη σφαιρικά σωματίδια, η υδροδυναμική τους διάμετρος είναι η διάμετρος μιας ιδανικής σφαίρας που έχει την ίδια ταχύτητα μεταφορικής διάχυσης με το προς μελέτη σωματίδιο.

Γωνίες μετρήσεων για δυναμική σκέδαση: 45°, 90°, 135°

Γωνίες μετρήσεων για στατική σκέδαση: 30°-150°

8.4.1 Σκέδαση Φωτός (Light Scattering) για την Μορφοκλασματική διάσταση.

Η στατική σκέδαση του φωτός (Static Light Scattering) έχει ευρέως χρησιμοποιηθεί σε πειραματικές μελέτες συσσωμάτωσης για να υπολογιστεί η μορφοκλασματική διάσταση των συμπλεγμάτων. Στην στατική σκέδαση του φωτός (Static Light Scattering), μία δέσμη φωτός κατευθύνεται στο δείγμα και η ένταση της σκεδαζόμενης ακτίνας (scattered intensity) μετريέται ως συνάρτηση της ποσότητας του διανύσματος της σκέδασης (the magnitude of scattered vector) q :

$$q = \frac{4\pi n_0 \sin \frac{\theta}{2}}{\lambda_0} \quad (56)$$

όπου n_0 ο δείκτης διάθλασης του μέσου διασποράς, θ είναι η γωνία σκέδασης, και λ_0 το μήκος κύματος του συνεπαγόμενου φωτός.

Αν τα ξεχωριστά σωματίδια σε ένα μορφοκλασματικό συσσωμάτωμα είναι σε μονοδιασπορά, η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (the scattered intensity) $I(q)$ που προκύπτει από το συσσωμάτωμα γράφεται :

$$I(q) \sim P(q)S(q) \quad (57)$$

Όπου το $P(q)$ σχετίζεται με το σχήμα του κάθε σωματιδίου και $S(q)$ είναι ο παράγοντας διασωματιδιακής δομής (the interparticle structure factor), ο οποίος αναπαριστά τις συσχετίσεις μεταξύ άμεσων σωματιδίων εσωτερικά ενός συσσωματώματος, υποθέτοντας ότι δεν υπάρχουν συσχετίσεις μεταξύ των συσσωματωμάτων μεταξύ τους. Άρα, αυτό περιγράφει τη χωρική ταξινόμηση των σωματιδίων σε ένα συσσωμάτωμα,

Σε μεγάλες τιμές q , $nS(q)$ είναι κατά προσέγγιση ίση με τη μονάδα. Η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (scattered intensity) τότε υπερσχύει από τον παράγοντα κάθε χωριστού σχηματισμού σωματιδίου και μόνο το σκεδαζόμενο εξαιτίας των ξεχωριστών σωματιδίων έχει παρατηρηθεί. Στις τιμές q , σε μικρές παρομοιάζεται/προσεγγίζει με το $1/r_0$, αλλά στις μεγάλες παρομοιάζεται/προσεγγίζει με το $1/R_g$, r_0 είναι η ακτίνα του μονομερούς και R_g η ακτίνα του συσσωματώματος (δηλαδή $1/R_g \ll q \ll 1/r_0$) $P(q) \approx 1$ και $S(q)$ μειώνεται σύμφωνα με:

$$S(q) \sim q^{-d_f} \quad (58)$$

Υπό τον όρο ότι R_g είναι αρκετά μεγαλύτερη από την r_0 , η εξίσωση:

$$I(q) \sim P(q)S(q) \quad (59)$$

Γράφεται σύμφωνα με το γνωστό νόμο της εξίσωσης της σκέδασης:

$$I(q) \sim S(q) \sim q^{-df} \quad (60)$$

Το εύρος της γωνίας σκέδασης ήταν $30^\circ < \theta < 150^\circ$ και το εύρος του διανύσματος του κύματος του φωτός χρησιμοποιείται για να υπολογίσει την μορφοκλασματική διάσταση ήταν $3 \cdot 10^{-6} < q < 10^{-7} \text{ m}^{-1}$ (σε θερμοκρασία $298.15 \pm 0.01 \text{ K}$).

Η μορφοκλασματική διάσταση της επιφάνειας (d_s) υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$d_s = 6 - d_f \quad (61)$$

ο οποίος συναντάται στη βιβλιογραφία (Roldán-Vargas et al., 2008; Roldán-Vargas et al., 2009).

8.5 Φθορισμομετρία

8.5.1 Φθορισμόμετρο

Χρησιμοποιήθηκε το όργανο Fluorolog-3, model FL3-21, Jobin Yvon-Spex σε θερμοκρασία δωματίου (25°C). Το μήκος κύματος για τη διέγερση ήταν $\lambda = 335 \text{ nm}$ και τα φάσματα εκπομπής λήφθηκαν στη περιοχή 350-600 nm με 1 nm σφάλμα με χρόνο ολοκλήρωσης 0.5 s. Η σχισμή που περνά η ακτίνα έχει πλάτος 1 nm και στη διέγερση και στην εκπομπή. Υπολογίστηκαν οι λόγοι I_1/I_3 και I_E/I_M (όπου I_1 και I_3 είναι οι εντάσεις της πρώτης και της τρίτης κορυφής του φάσματος φθορισμού του πυρενίου στα 372 nm και 383 nm αντίστοιχα και I_E στα 480nm και I_M στα 372nm).

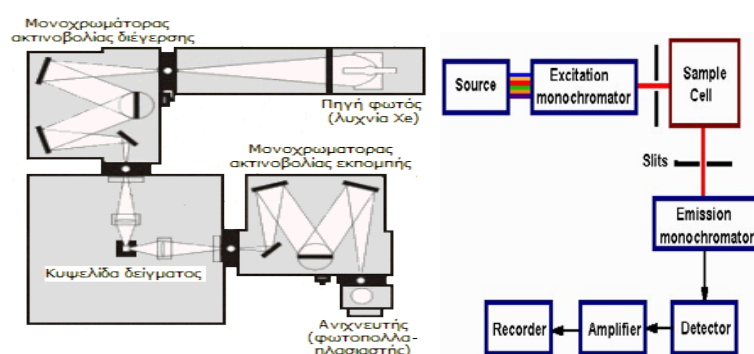
8.5.2 Οργανολογία φθορισμομετρίας.

Τα όργανα που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της έντασης του φθορισμού ενός διαλύματος φθορίζουσας ουσίας τυπικά διαθέτουν:

- 1) Μια πηγή ακτινοβολίας διέγερσης (συνήθως μια πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας υψηλής έντασης, όπως λυχνία ξένου).
- 2) Έναν επιλογέα του μήκους κύματος της διεγείρουσας ακτινοβολίας (μονοχρωμάτορας ή απλά έγχρωμα φίλτρα).

- 3) Μια μονάδα τοποθέτησης της κυψελίδας με το μετρούμενο διάλυμα.
- 4) Έναν επιλογέα του μήκους κύματος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας (μονοχρωμάτορας ή απλά έγχρωμα φίλτρα).
- 5) Έναν ανιχνευτή οπτικής ακτινοβολίας (π.χ. φωτοπολλαπλασιαστής).
- 6) Ηλεκτρονικό ενισχυτή του σήματος του ανιχνευτή και όργανο παρουσίασης της μετρούμενης έντασης.

Χαρακτηριστικό κατασκευαστικό γνώρισμα όλων των φθορισμομέτρων είναι ότι η παρακολούθηση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας (δηλ. του φθορισμού) πραγματοποιείται υπό γωνία 90° σε σχέση με την ακτινοβολία διέγερσης, έτσι ώστε να μην παρενοχλεί η ακτινοβολία αυτή τη μέτρηση.



Εικόνα 26: Διάταξη Φθορισμομέτρου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ και ΣΥΖΗΤΗΣΗ

9. Τα Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά των Λιποσωμάτων πριν τη Λυοφιλοποίηση.

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων πριν τη λυοφιλοποίηση παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 2**). Η σουκρόζη, η οποία χρησιμοποιείται ως λυοπροστατευτικό, επηρεάζει τη σταθερότητα των λιποσωματικών συστημάτων, επειδή τα μόρια της σουκρόζης τοποθετούνται στη μεμβρανική επιφάνεια και επηρεάζουν την ενυδάτωση αντικαθιστώντας κάποια μόρια ύδατος (Kiselev et al., 2003).

Πίνακας 2: Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων πριν τη λυοφιλοποίηση.

Λιποσωματικό Εναιώρημα Σύστασης:	Μέση Υδροδυναμική Διάμετρος (nm)	Δείκτης Πολυδιασποράς PD.I.	ζ- δυναμικό (mV)
DPPC	112,72 ± 12,02	0,519 ± 0,006	0,93 ± 2,74
DPPC: Cholesterol (9:1)	154,67 ± 16,8	0,487 ± 0.056	-9,93 ± 4,08

Το ζ-δυναμικό των λιποσωμάτων είναι περίπου μηδενικό, γεγονός που είναι αναμενόμενο επειδή τα DPPC λιπίδια δεν έχουν καθαρό φορτίο. Τα λιποσωματικά εναιωρήματα λυοφιλοποιήθηκαν, ώστε να ακολουθήσουν μετρήσεις σταθερότητας και προσδιορισμού της fractal διάστασής τους.

9.1 Μετρήσεις Σταθερότητας

Η ανασύσταση πραγματοποιήθηκε με την προσθήκη ίσου όγκου νερού HPLC καθαρότητας και FBS με τον αρχικό πριν τη λυοφιλοποίηση. Μετρήθηκαν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων μέση υδροδυναμική ακτίνα (R_h), δείκτης πολυδιασποράς (PD.I.) και ζ-δυναμικό με Δυναμική Σκέδαση Φωτός και Ηλεκτροφορητική Σκέδαση αντίστοιχα, καθώς και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως εκφράζονται από τις μορφοκλασματικές διαστάσεις των λιποσωμάτων (fractal

διάσταση (d_f) και fractal επιφάνεια (d_s)) με Στατική Σκέδαση Φωτός. Η σταθερότητα ενός κολλοειδούς συστήματος όπως των λιποσωματικών εναιωρημάτων διαδραματίζει πρωτεύοντα ρόλο για τη χρήση τους ως συστημάτων μεταφοράς φαρμακομορίων. Επίσης, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να προσδιορίζονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες των λιποσωμάτων σε κάποιο βιολογικό υγρό, όπως είναι το FBS, επειδή οι πρωτεΐνες του μέσου δύναται να διαφοροποιήσουν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων, τη σταθερότητα και τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους, όπως είναι η κάθαρση, των λιποσωμάτων.

9.1.1 Μετρήσεις Σταθερότητας για τα DPPC λιποσώματα

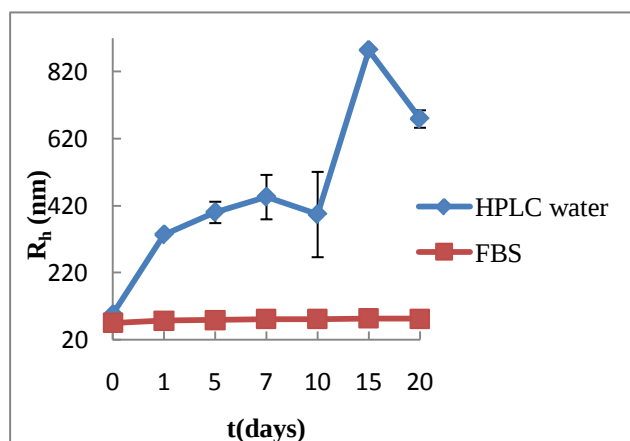
Στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 3 και Πίνακας 4) παρουσιάζονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και οι μορφοκλασματικές διαστάσεις των λιποσωμάτων σύστασης DPPC στα δύο μέσα ανάκτησης.

Πίνακας 3: Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των DPPC λιποσωμάτων σε νερό HPLC καθαρότητας σε βάθος χρόνου 20 ημερών.

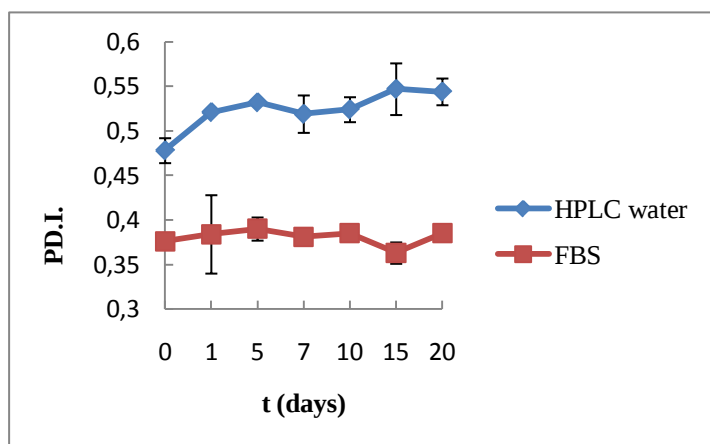
T(days)	R_h (nm)	SD	PD.I.	SD	ζ – pot (mV)	SD	d_f	SD	d_s	SD
0	95,3	3,74	0,478	0,014	-2	0,5	2,55	0,05	3,45	0,05
1	333,8	0	0,521	0	1,3	0,1	2,82	0	3,18	0
5	400,46	31,93	0,532	0,002	4,7	0,5	2,75	0,13	3,25	0,13
7	446,21	66,33	0,519	0,021	-7,3	2	2,62	0,09	3,38	0,09
10	394,16	127,39	0,524	0,014	-3,5	1,4	2,56	0,07	3,44	0,07
15	884,58	5,69	0,547	0,029	9,9	4,4	2,55	0,11	3,45	0,11
20	679,39	26,05	0,544	0,015	-9,9	1,7	2,53	0,03	3,47	0,03

Πίνακας 4: Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των DPPC λιποσωμάτων σε FBS σε βάθος χρόνου 20 ημερών.

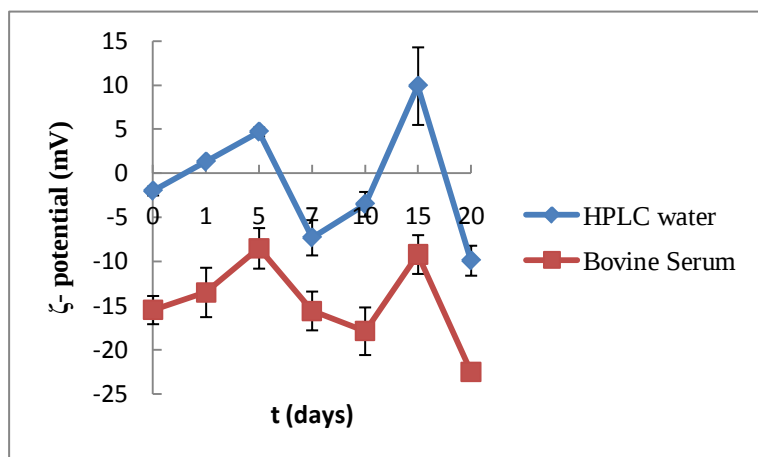
T(days)	R _h (nm)	SD	PD.I.	SD	ζ - pot (mV)	SD	d _f	SD	d _s	SD
0	70,24	7,13	0,376	0,008	-15,5	1,6	1,86	0,11	4,14	0,11
1	76,59	2,54	0,384	0,044	-13,5	2,8	1,9	0,05	4,1	0,05
5	78,09	10,51	0,39	0,013	-8,5	2,3	1,82	0,12	4,18	0,12
7	81,54	7,57	0,381	0,009	-15,6	2,2	1,87	0,05	4,13	0,05
10	81,3	7,55	0,385	0,009	-17,9	2,7	1,92	0,09	4,08	0,09
15	83,63	3,45	0,363	0,012	-9,2	2,2	2	0,08	4	0,08
20	82,39	6,79	0,385	0,005	-22,5	0,7	2,01	0,16	3,99	0,16



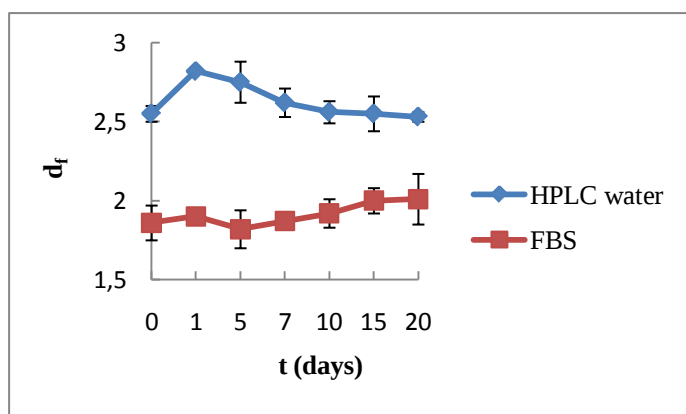
Διάγραμμα 1: Η μεταβολή της υδροδυναμικής διαμέτρου (R_h) σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



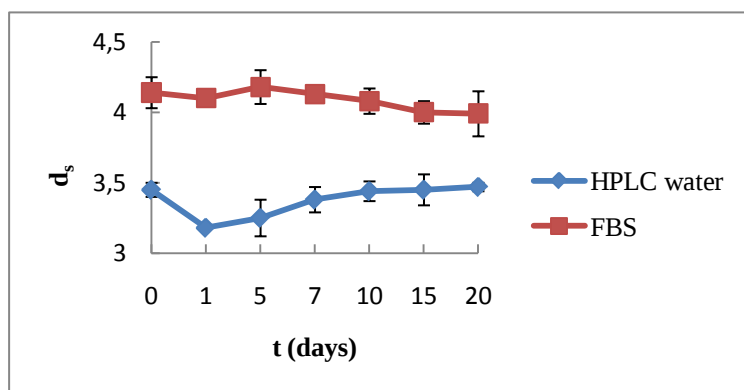
Διάγραμμα 2: Η μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς (PD.I.) σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 3: Η μεταβολή του ζ-δυναμικού σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 4: Η μεταβολή του d_f σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 5: Η μεταβολή του d_s σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.

Παρατηρήθηκε συσσωμάτωση των DPPC λιποσωμάτων τα οποία ανασυστάθηκαν με νερό HPLC καθαρότητας, διότι η R_h αυξήθηκε από τα 95nm την ημέρα της ανασύστασης του λιποσωματικού πλακουντίου στα 680nm μετά από 20ημέρες (**Διάγραμμα 1**). Γενικά, τα λιποσωματικά εναιωρήματα δεν είναι θερμοδυναμικά σταθερά, εφόσον η συσσωμάτωση στην περίπτωση αυτή δεν προκαλείται από κάποιο ιόν αλλά είναι αποτέλεσμα της «γήρανσης» (ageing) του συστήματος. Η κινητική της συσσωμάτωσης των DPPC λιποσωμάτων στο υδατικό μέσο δίνεται από την εξίσωση:

$$R_h(t) = 101.7t + 55.196 \quad (r^2 = 0.7514) \quad (4),$$

η οποία είναι πρωτοταξική. Από την άλλη πλευρά, η R_h των λιποσωμάτων που ανασυστάθηκαν σε FBS αυξήθηκε μόνο 10nm σε χρονικό διάστημα 20ημερών (**Διάγραμμα 1**), γεγο ως που σημαίνει ότι το λιποσωματικό εναιώρημα ήταν θερμοδυναμικά σταθερό. Η κινητική που περιγράφει την εξέλιξη του φυσικού φαινομένου δίνεται από την μαθηματική έκφραση:

$$R_h(t) = 1.9193t + 71.434 \quad (r^2 = 0.8061) \quad (5),$$

η οποία είναι επίσης πρωτοταξική. Για το λόγο αυτό, οι μελέτες της διαδικασίας της συσσωμάτωσης και της σύντηξης μεμβρανών είναι ιδιαίτερα σημαντική, εάν τα λιποσώματα πρόκειται να χρησιμοποιηθούν ως συστήματα μεταφοράς φαρμακομορίων (drug delivery systems). Το μέγεθος των DPPC λιποσωμάτων στο FBS μειώθηκε κατά 25nm, πιθανώς εξαιτίας της μεμβρανικής διαπερατότητας σε κάποια ιόντα, τα οποία παράγουν οσμωτικές δυνάμεις, οδηγώντας την εκκένωση του ύδατος από το εσωτερικό των λιποσωμάτων (Sabín et al., 2006). Το ζ-δυναμικό των

DPPC λιποσωμάτων στο νερό HPLC καθαρότητας βρέθηκε να είναι μηδενικό (**Διάγραμμα 3**), εξαιτίας της απουσίας φορτίων στην επιφάνεια των λιποσωμάτων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απουσία ηλεκτροστατικής άπωσης και την παρατηρούμενη συσσωμάτωση για τα DPPC λιποσώματα στο υδατικό μέσο ανασύστασης. Στο FBS το ζ-δυναμικό ήταν περίπου -15mV και παρέμεινε σταθερό για 20ημέρες (**Διάγραμμα 3**). Η πολυδιασπορά την ημέρα της ανασύστασης μετρήθηκε 0,45 και παρέμεινε στην τιμή αυτή, παρά τη συσσωμάτωση σε όλη τη διάρκεια των μετρήσεων για τα DPPC λιποσώματα στο νερό HPLC καθαρότητας (**Διάγραμμα 2**).

Η fractal διάσταση των λιποσωμάτων βρέθηκε ίση με 2,5 για τα λιποσώματα σύστασης DPPC στο νερό HPLC καθαρότητας. Η μείωση της fractal διάστασης από 2,1 (σύμφωνα με τις προβλέψεις RLCA) σε 1,8 (σύμφωνα με τις προβλέψεις DLCA) παρατηρήθηκε για τα λιποσώματα σύστασης DPPC στο FBS (**Διάγραμμα 4**). Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί μία μείωση της fractal διάστασης από 2,1 σε 1,8 καθώς η ιονική ισχύς αυξάνεται (Sabín et al., 2007b). Η τιμή της fractal διάστασης δεν διαφοροποιήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης σταθερότητας για ένα χρονικό διάστημα 20ημερών παρά την παρατηρούμενη συσσωμάτωση. Η Πλευρική Συσσωμάτωση Συμπλέγματος – Συμπλέγματος (Lateral Cluster-Cluster Aggregation), η οποία είναι μία τρισδιάστατη ανάπτυξη, θα μπορούσε να είναι μία πιθανή εξήγηση για αυτήν την παρατήρηση που αφορά τη μορφολογία του DPPC λιποσωματικού εναιωρήματος στο υδατικό μέσο (Grogan et al. 2011). Μεγάλα λιποσωματικά συσσωματώματα διαθέτουν μορφοκλασματικά χαρακτηριστικά συνεπή με την ανάπτυξη των διαστάσεων του (dimensional growth). Η fractal διάσταση είναι συνάρτηση του μεγέθους του συσσωματώματος και επηρεάζει τη δομική πολυπλοκότητα του συστήματος.

9.1.2 Μετρήσεις Σταθερότητας για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα.

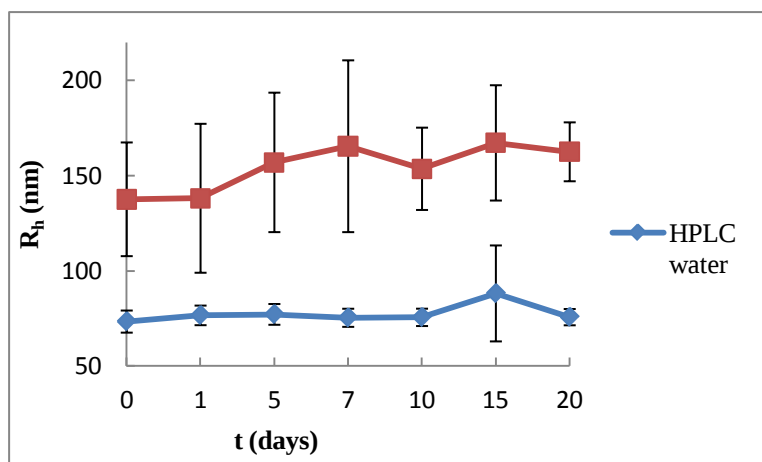
Στους παρακάτω πίνακες (**Πίνακας 5** και **Πίνακας 6**) παρουσιάζονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και οι μορφοκλασματικές διαστάσεις των λιποσωμάτων σύστασης DPPC στα δύο μέσα ανάκτησης.

Πίνακας 5: Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των DPPC: cholesterol (9:1) λιποσωμάτων σε νερό HPLC καθαρότητας σε βάθος χρόνου 20 ημερών.

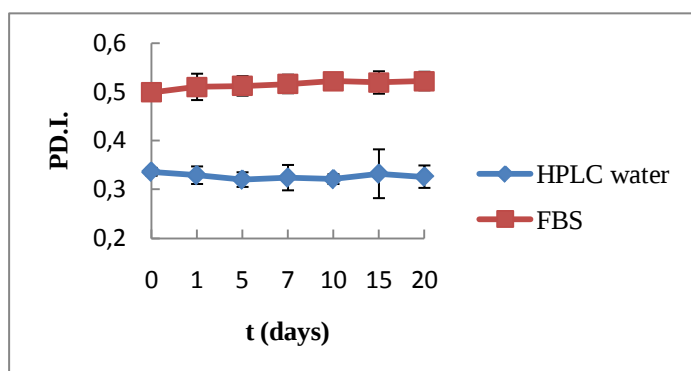
T(days)	R _h (nm)	SD	PD.I.	SD	ζ - pot (mV)	SD	d _f	SD	d _s	SD
0	73,3	5,81	0,336	0,008	-9,7	3,7	2,27	0,01	3,73	0,01
1	76,56	5,15	0,329	0,018	-5,8	1,2	2,37	0,08	3,63	0,08
5	77,08	5,46	0,32	0,015	-3,3	1,7	2,39	0,11	3,61	0,11
7	75,29	4,76	0,324	0,026	-4,3	1,1	2,41	0,14	3,59	0,14
10	75,52	4,56	0,321	0,01	-5,3	1,6	2,2	0,08	3,8	0,08
15	88,1	25,22	0,332	0,05	-2,2	0	2,36	0,09	3,64	0,09
20	75,63	4,28	0,326	0,023	-8,8	0,7	2,24	0,16	3,76	0,16

Πίνακας 6: Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των DPPC: cholesterol (9:1) λιποσωμάτων FBS σε βάθος χρόνου 20 ημερών.

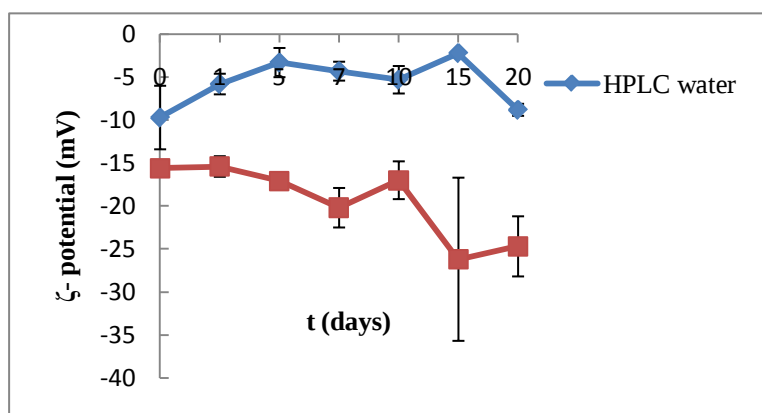
T(days)	R _h (nm)	SD	PD.I.	SD	ζ - pot (mV)	SD	d _f	SD	d _s	SD
0	137,57	29,88	0,499	0,015	-15,6	0,7	2,45	0,15	3,55	0,15
1	138,11	39,14	0,51	0,027	-15,4	1,2	2,48	0,15	3,52	0,15
5	156,97	36,65	0,512	0,02	-17,1	0,6	2,68	0,1	3,32	0,1
7	165,46	45,15	0,516	0,019	-20,2	2,3	2,49	0,01	3,51	0,22
10	153,6	21,63	0,522	0,013	-17	2,2	2,65	0,04	3,35	0,04
15	167,22	30,3	0,519	0,023	-26,2	9,5	2,54	0,11	3,46	0,11
20	162,53	15,48	0,522	0,019	-24,7	3,5	2,41	0,05	3,59	0,05



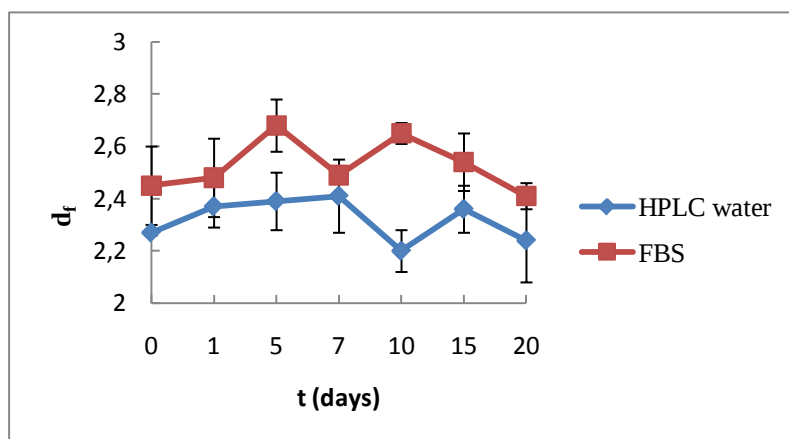
Διάγραμμα 6: Η μεταβολή της υδροδυναμικής διαμέτρου (R_h) σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



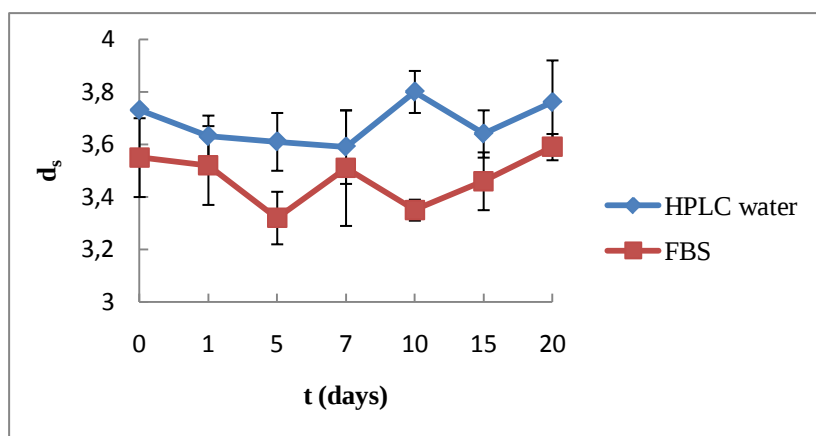
Διάγραμμα 7: Η μεταβολή του δείκτη πολυδιασποράς (PD.I.) σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 8: Η μεταβολή του ζ-δυναμικού σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 9: Η μεταβολή του d_f σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 10: Η μεταβολή του d_s σε συνάρτηση με το χρόνο για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα στα δύο μέσα ανάκτησης.

Η χρήση των λιποσωμάτων ως μεταφορείς φαρμακομορίων μπο ρεί να αυξήσει το θεραπευτικό δείκτη κάποιων τοξικών φαρμακομορίων με χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα (low bioavailability) και μεγάλα ποσοστά κάθαρσης (high clearance rates). Στη στοχευμένη μεταφορά φαρμακομορίων, η χοληστερόλη χρησιμοποιείται για να βελτιώσει τις φυσικοχημικές και τις βιολογικές ιδιότητες των DDS. Για παράδειγμα, οι λιποσωματικές φαρμακοτεχνικές μορφές για τη θεραπεία της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας περιλαμβάνουν χοληστερόλη για τη βελτίωση του φαρμακοκινητικού προφίλ των αντιρρευματικών βιοδραστικών μορίων (van de Hoven et al., 2011). Η χοληστερόλη, είναι το κυριότερο συστατικό των βιολογικών μεμβρανών, όπως της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των ευκαρυωτικών κυττάρων, ενώ ευνοείται η ενσωμάτωσή της σε DPPC διπλοστοιβάδες εξαιτίας της εύκολης τοποθέτησής της

λόγω της δομής της παρέχοντας σταθεροποίηση στη μεμβράνη. Για το λόγο αυτό, μελετήθηκαν λιποσωμιακοί μεταφορείς φαρμακομορίων που περιείχαν χοληστερόλη, η οποία είναι ένα σημαντικό συστατικό για την βελτίωση του ADME (Absorption (=απορρόφηση), bioDistribution (=βιοκατανομή), Metabolism (=μεταβολισμός) και Excretion(=απέκκριση)) προφίλ ενός υποψηφίου φαρμακομορίου. Παρατηρήθηκε φυσικοχημική σταθερότητα για τα λιποσώματα σύστασης DPPC:cholesterol (9:1). Τα αποτελέσματα σταθεροποίησης της χοληστερόλης στις διπλοστοιβάδες των λιπιδίων προκύπτουν από την αύξηση της συνοχής των λιπιδίων και την προαγωγή της φάσης υγρής διευθέτησης (liquid-ordered phase) (Tieney et al., 2005).

Η κινητική της συσσωμάτωσης των λιποσωμάτων σύστασης DPPC:cholesterol (9:1) στο βιολογικό μέσο ανάκτησης περιγράφεται από την εξίσωση:

$$R_h(t) = 4.362t + 135.96 \quad (r^2 = 0.6617) \quad (6).$$

Μία πρωτοταξική κινητική παρατηρείται για τα λιποσώματα που περιέχουν χοληστερόλη στο FBS, ενόσω στο νερό HPLC καθαρότητας διατήρησαν τη φυσική τους σταθερότητα (**Διάγραμμα 6**). Η λιποσωμιακή σταθερότητα υποδεικνύει ότι μία άλλη δύναμη είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση της φυσικής σταθερότητας των λιποσωμάτων και την αποφυγή της συσσωμάτωσης εξαιτίας των ελκτικών van der Waals αλληλεπιδράσεων, οι οποίες περιλαμβάνονται στην κλασσική DLVO θεωρία. Αυτή η δύναμη είναι πιθανώς η δύναμη ενυδάτωσης, η οποία περιλαμβάνεται στην τροποποιημένη ή στην επέκταση της DLVO θεωρίας (modified or extended DLVO theory) (Ohki and Oshima, 1999; Ohki and Arnold, 2000; Sabín et al., 2005; Sabín et al., 2006). Η ενσωμάτωση της χοληστερόλης είχε ως αποτέλεσμα μία μετατόπιση του ζ-δυναμικού σε περισσότερο αρνητικές τιμές (**Διάγραμμα 8**). Μία αύξηση της υδροδυναμικής διαμέτρου (R_h) για τα λιποσώματα σύστασης DPPC:cholesterol (9:1) στο FBS κατά 60nm (**Διάγραμμα 6**) παρατηρήθηκε όπως και μια μεταβολή του ζ-δυναμικού (**Διάγραμμα 8**), εξαιτίας της πρωτεϊνικής σύνδεσης (protein binding), η οποία μπορεί να αυξήσει το αποτελεσματικό μέγεθος των νανοσωματιδίων (nanoparticle's effective size) και το φορτίο της επιφανείας τους. Τέτοιου είδους αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες μπορούν να επηρεάσουν την πρόσληψη των λιποσωμάτων και των νανοσωματιδίων γενικότερα από τα μακροφάγα (Arnida et al., 2011). Μετά την προσρόφηση των πρωτεϊνών, η επικαλυμμένη από τις πρωτεΐνες λιποσωμιακή επιφάνεια ίσως παρουσιάζει τοπικά θετικό ή αρνητικό φορτίο, το οποίο

εξαρτάται από τον προσανατολισμό των πρωτεϊνικών μορίων. Η προσρόφηση των πρωτεϊνών του πλάσματος στη επιφάνεια των λιποσωμάτων ονομάζεται οψωνινοποίηση (opsonization), η οποία είναι ένα βιολογικό φαινόμενο ιδιαίτερης σημασίας για την αναγνώριση και τη κάθαρση των λιποσωμάτων από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Semple et al., 1998; Dimitrova et al., 2000; Chen et al., 2010). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι φυσικές ιδιότητες της λιπιδικής διπλοστοιβάδας μπορούν να μεταδοθούν με τις προσροφημένες στη μεμβράνη πρωτεΐνες και πιθανώς να επηρεάσουν τη βιολογική συμπεριφορά τους και κατά επέκταση και τη φαρμακολογική τους δράση. Και άλλα συστατικά του συμπληρώματος όπως οι ανοσοσφαιρίνες μπορούν να τροποποιήσουν τις φυσικοχημικές και τις βιολογικές ιδιότητες των λιποσωμάτων από την προαγωγή αλληλεπιδράσεων με τα κύτταρα του Δικτύου-ενδοθηλιακού συστήματος (reticuloendothelial cells) και των μακροφάγων αλλά και με την ενεργοποίηση του συστήματος του Συμπληρώματος (Weissmann et al., 1974; Bonté and Juliano, 1986; Tsunoda et al., 2001; Sabín et al., 2009). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τις αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών του πλάσματος και λιποσωμάτων είναι η επικάλυψη της επιφάνειας (surface coatings), το φορτίο της επιφάνειας και η λιπιδική δόση (Semple et al., 1998) και συγχρόνως οι παράγοντες αυτοί αποτελούν τους προσανατολισμούς στρατηγικής για την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των λιποσωματικών φαρμάκων.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να σημειωθεί πως στο FBS τα δύο λιποσωματικά συστήματα δεν παρουσίασαν αξιόλογες διαφορές όσον αφορά το ζ-δυναμικό τους (**Διάγραμμα 3** και **Διάγραμμα 8**). Αυτό το αποτέλεσμα είναι ενδεικτικό ότι η προσρόφηση της αλβουμίνης, της κυριότερης πρωτεΐνης του FBS, δεν μπορεί να εξηγηθεί με κύρια βάση τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Το μοντέλο των τριών τομέων της αλβουμίνης (three-domain model of albumin), η υδροφοβική «οπή» (hydrophobic hole) σε κάθε τομέα και η διαμορφωτική προσαρμοστικότητα (configurational adaptability) της αλβουμίνης είναι τα χαρακτηριστικά-κλειδιά που μπορούν να εξηγήσουν το αμετάβλητο το υζ-δυναμικού στις δύο λιποσωματικές παρασκευές στο FBS. Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της αλβουμίνης και της μεμβράνης των λιποσωμάτων διαδραματίζει κυρίαρχο ρόλο στη διασαφήνιση της φυσικής συμπεριφοράς των λιποσωμάτων στο FBS.

Οι τιμές d_f δεν παρουσίασαν αξιόλογες διαφοροποιήσεις στα δύο μέσα διασποράς για τα λιποσώματα σύστασης DPPC:cholesterol (9:1) (**Διάγραμμα 9**). Η ενσωμάτωση της χοληστερόλης σε DPPC λιποσώματα πιθανώς οδήγησε σε σημαντική μείωση της σύνδεσης των πρωτεϊνών και για το λόγο αυτό τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του συστήματος στο FBS δεν είναι εντελώς διαφορετικά από εκείνα στο νερό HPLC καθαρότητας (ενώ σε γενικές γραμμές, τα προσροφημένα μόρια πρωτεϊνών μεταβάλλουν τα χαρακτηριστικά επιφανείας των σωματιδίων). Η επέκταση της (ή η τροποποιημένη) DLVO θεωρία θα μπορούσε να είναι ο φυσικός φορμαλισμός για την περιγραφή της κολλοειδούς συμπεριφοράς λιποσωμάτων που έχουν ανασυσταθεί σε FBS εξαιτίας της ύπαρξης υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Ειδικότερα, οι Ohki και Arnold ορίζουν έναν υδροφοβικό δείκτη (hydrophobic index), ο οποίος αναπαριστά το βαθμό της υδροφοβικότητας της μεμβρανικής επιφάνειας (Ohki and Alnord, 2000). Θα πρέπει να επισημανθεί ότι η προσρόφηση της αλβουμίνης σε λιποσώματα και η συσσωμάτωση κολλοειδών σωματιδίων που έχουν επικαλυφθεί με διαφορετικά ποσοστά αλβουμίνης έχει ήδη μελετηθεί (Law et al., 1986; Schmitt et. al., 2000). Ο προσδιορισμός της fractal διάστασης των λιποσωματικών συστημάτων μεταφοράς φαρμακομορίων μέσα σε FBS είναι πιθανότατα από τις πρώτες αναφορές στη βιβλιογραφία, σύμφωνα με τις γνώσεις των συγγραφέων.

9.1.3 Μετρήσεις Στατικής και Δυναμικής Σκέδασης σε FBS.

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) παρουσιάζονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες καθώς και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, των λιποσωμάτων που είχαν ανασυσταθεί με FBS όταν οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε νερό HPLC καθαρότητας και σε FBS.

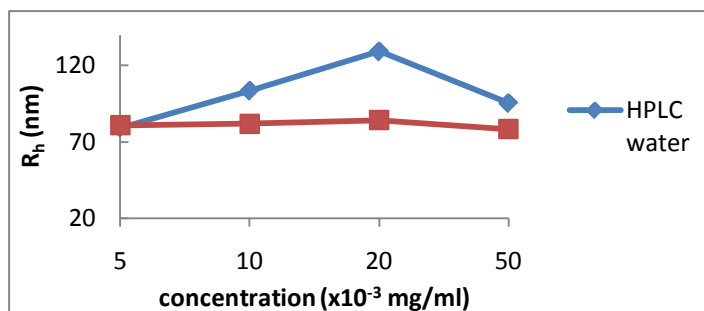
Πίνακας 7: Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων DPPC χωρίς και με χοληστερόλη που ανασυστάθηκαν με FBS και μετρήθηκαν σε FBS και σε νερό HPLC καθαρότητας.

	Rh (nm)		PD.I.		d_f		d_s	
Διάλυση σε	FBS	HPLC νερό	FBS	HPLC νερό	FBS	HPLC νερό	FBS	HPLC νερό
DPPC	87,49	70,24	0,376	0,382	2,62	1,86	3,4	4,14
DPPC: cholesterol (9:1)	43,99	137,57	0,480	0,490	2,44	2,55	3,57	3,45

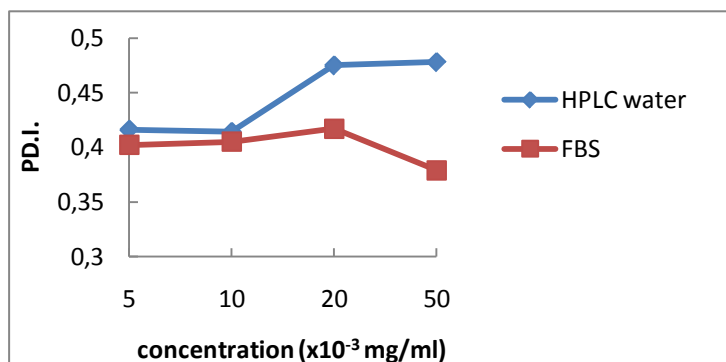
Όπως προκύπτει από τον παραπάνω πίνακα το μέσο με το οποίο πραγματοποιούνται οι μετρήσεις επηρεάζει σημαντικά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιποσωμάτων και τις μορφοκλασματικές διαστάσεις των λιποσωματικών εναιωρημάτων. Τα ποιοτικά και τα ποσοτικά χαρακτηριστικά του μέσου διασποράς συμβάλλουν στη διαμόρφωση της κολλοειδο ή συμπεριφοράς των υπό μελέτη λιποσωμακών φορέων.

9.2 Ο ρόλος της Συγκέντρωσης.

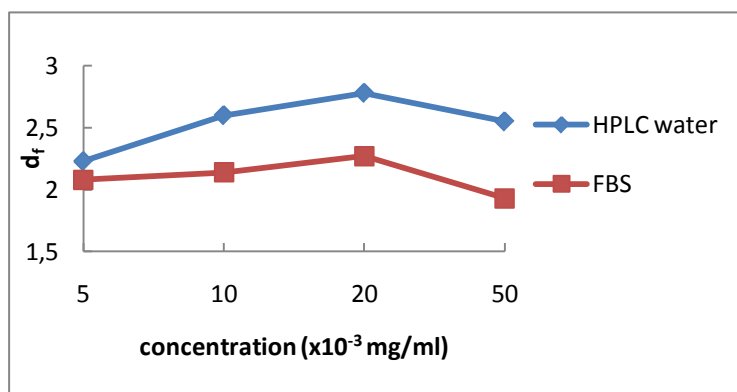
Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται οι μεταβολές των φυσικοχημικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών των λιποσωμάτων σε συνάρτηση με τη μεταβολή της συγκέντρωσης για τα δύο λιποσωμιακά συστήματα στα δύο μέσα διασποράς.



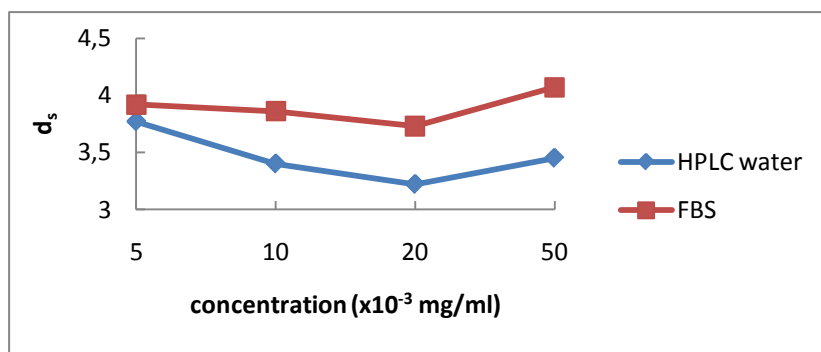
Διάγραμμα 11: Η μεταβολή του R_h σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.



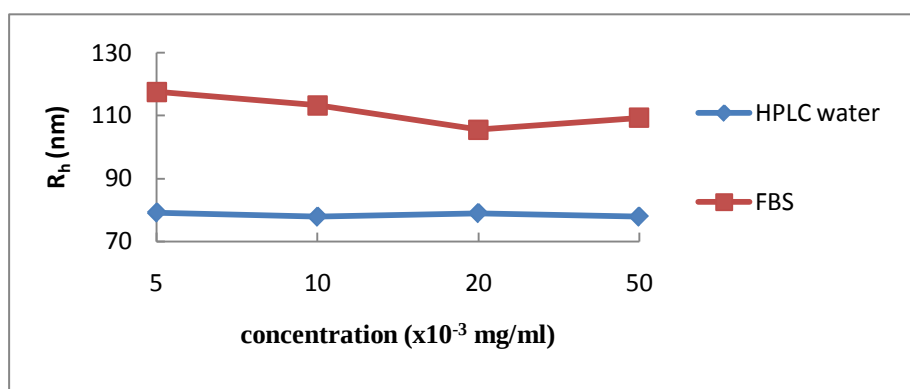
Διάγραμμα 12: Η μεταβολή του PD.I. σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.



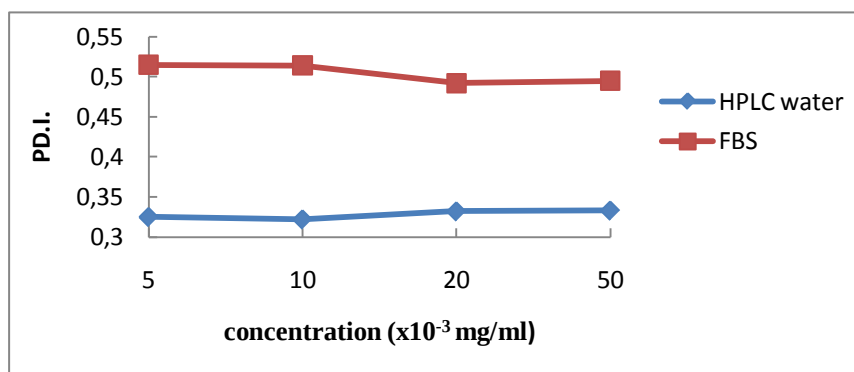
Διάγραμμα 13: Η μεταβολή του d_f σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.



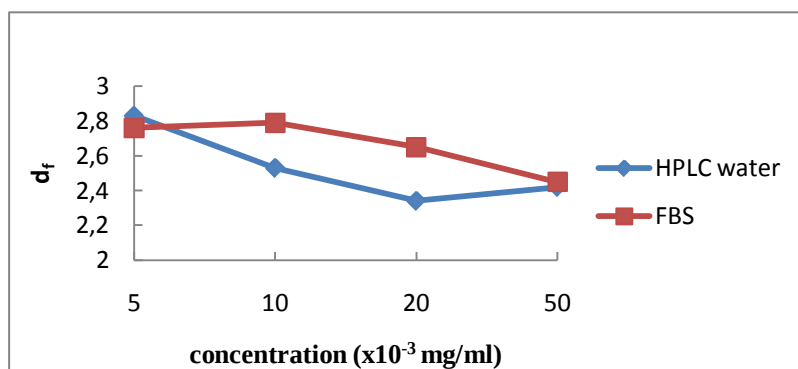
Διάγραμμα 14: Η μεταβολή του d_s σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.



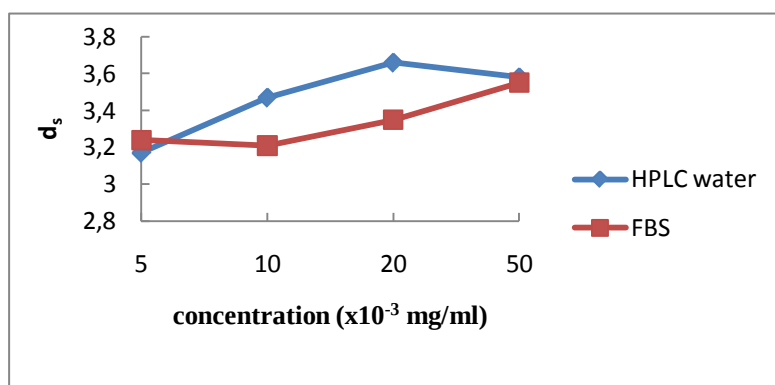
Διάγραμμα 15: Η μεταβολή του R_h σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 16: Η μεταβολή του PD.I. σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC: cholesterol (9:1) λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.



Διάγραμμα 17: Η μεταβολή του d_f σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.

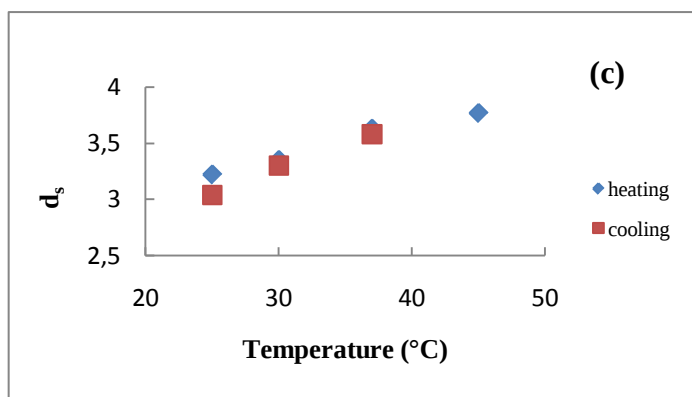
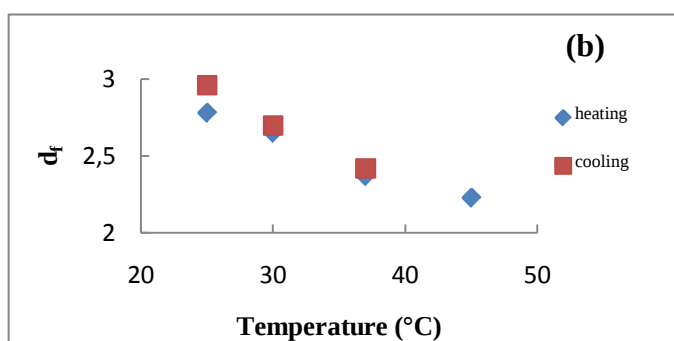
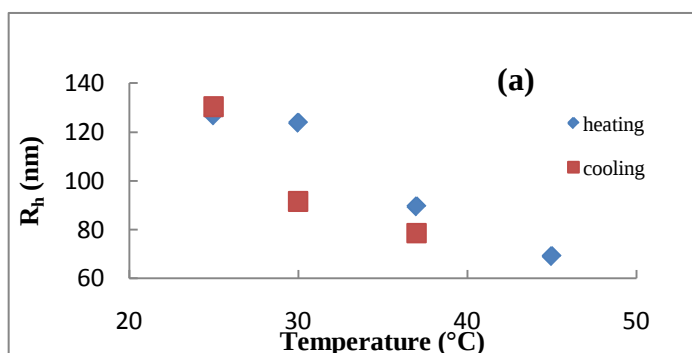


Διάγραμμα 18: Η μεταβολή του d_s σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση για τα DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα σε δύο μέσα ανάκτησης.

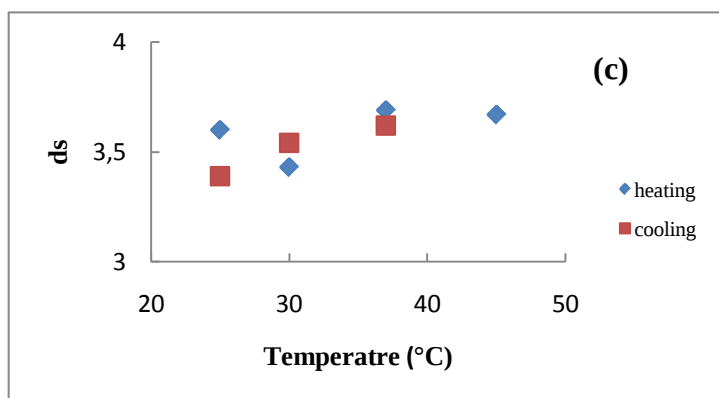
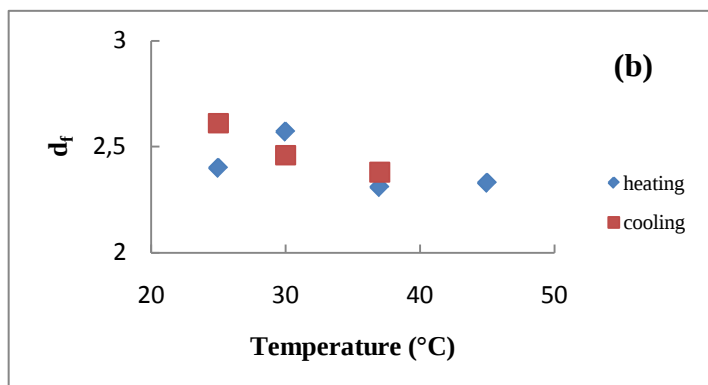
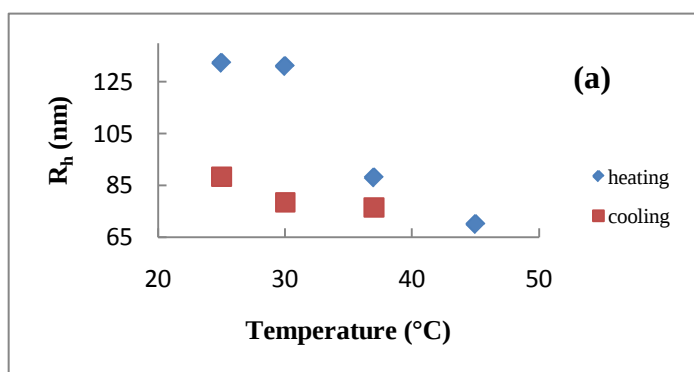
Η R_h είναι σχεδόν ανεξάρτητη από τις μεταβολές της συγκέντρωσης για τα λιποσωμιακά συστήματα χωρίς και με χοληστερόλη στα δύο μέσα ανάκτησης (**Διάγραμμα 11** και **Διάγραμμα 15**). Στην υψηλότερη συγκέντρωση ο πληθυσμός των DPPC λιποσωμάτων στο νερό HPLC καθαρότητας έγινε περισσότερο ανομοιογενής, όπως παρουσιάζεται από την αύξηση του δείκτη πολυδιασποράς (**Διάγραμμα 12**). Από την άλλη πλευρά η fractal διάσταση συμβάλει αποφασιστικά στη διασαφήνιση των μορφολογικών χαρακτηριστικών, αφού η R_h δε διαφοροποιήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης. Για τα λιποσώματα DPPC η fractal διάσταση αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης (**Διάγραμμα 13**), ενώ για τα λιποσώματα DPPC:cholesterol (9:1) παρατηρήθηκε το αντίθετο (**Διάγραμμα 17**). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το μέσο διασποράς επηρεάζει τις μεταβολές στη fractal διάσταση με το ίδιο τρόπο για τα DPPC λιποσώματα (**Διάγραμμα 13** και **14**) και με τον αντίθετο τρόπο για τα λιποσώματα που περιέχουν χοληστερόλη (**Διάγραμμα 17** και **18**). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λιποσωμάτων είναι η επικρατέστερη εξήγηση για τις μορφολογικές μεταβολές και διαφοροποιήσεις.

9.3 Ο ρόλος της Θερμοκρασίας.

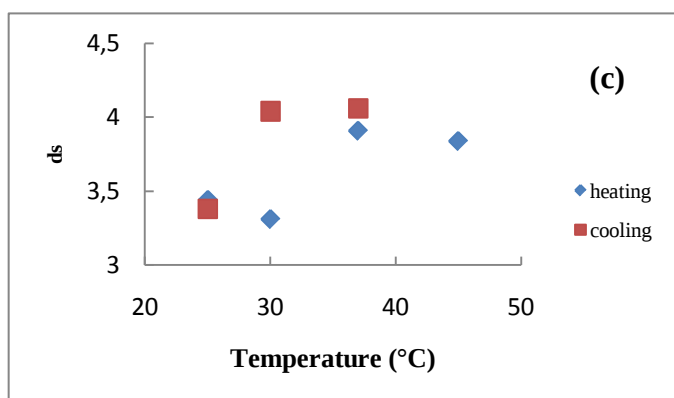
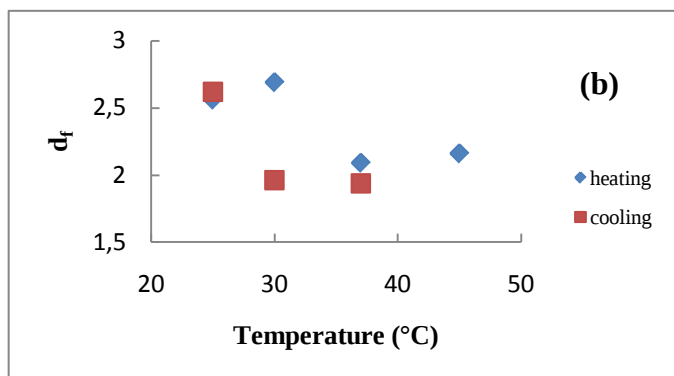
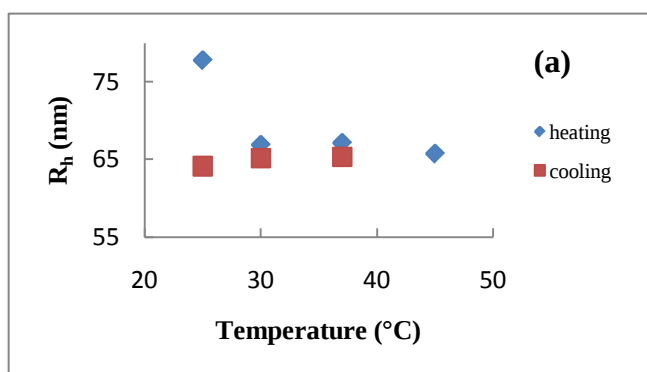
9.3.1 Ανάκτηση με νερό HPLC καθαρότητας



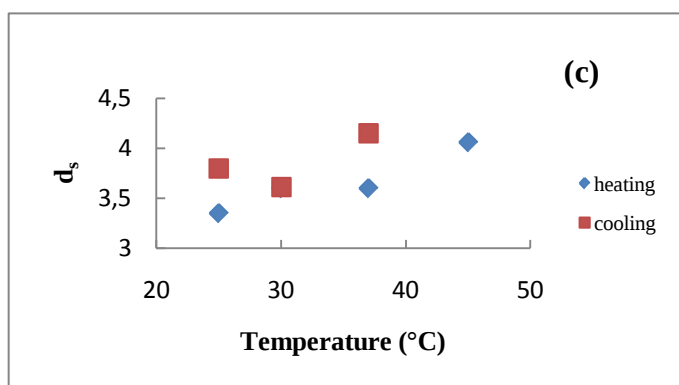
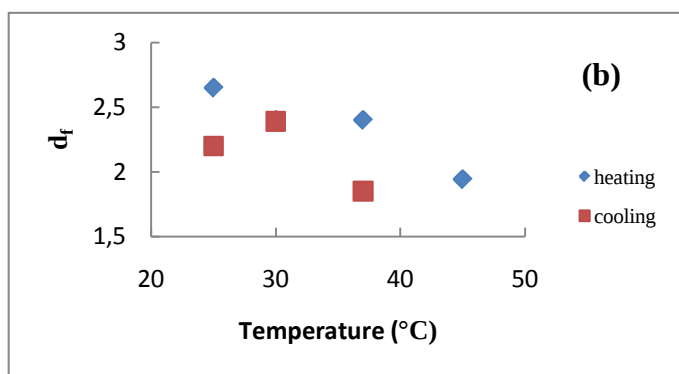
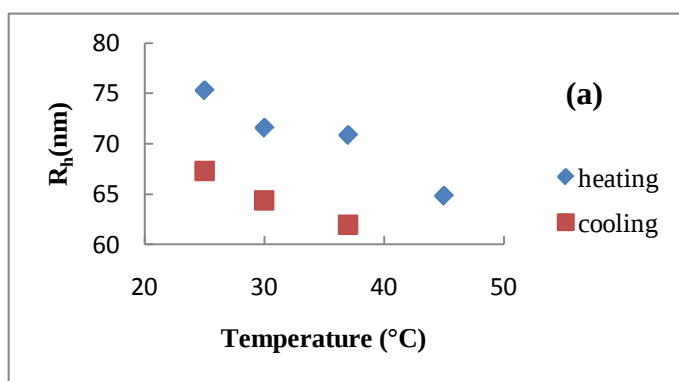
Διάγραμμα 19: (a) R_h (b) d_f και (c) d_s σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία για τα DPPC λιποσώματα που έχουν ανασυσταθεί σε νερό HPLC καθαρότητας. (η συγκέντρωση είναι σταθερή: 10×10^{-3} mg/ml).



Διάγραμμα 20: (a) R_h (b) d_f και (c) d_s σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία για τα DPPC λιποσώματα που έχουν ανασυσταθεί σε νερό HPLC καθαρότητας. (η συγκέντρωση είναι σταθερή: 5×10^{-3} mg/ml).



Διάγραμμα 21: (a) R_h (b) d_f και (c) d_s σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία για τα DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα που έχουν ανασυσταθεί σε νερό HPLC καθαρότητας. (η συγκέντρωση είναι σταθερή: 10×10^{-3} mg/ml).



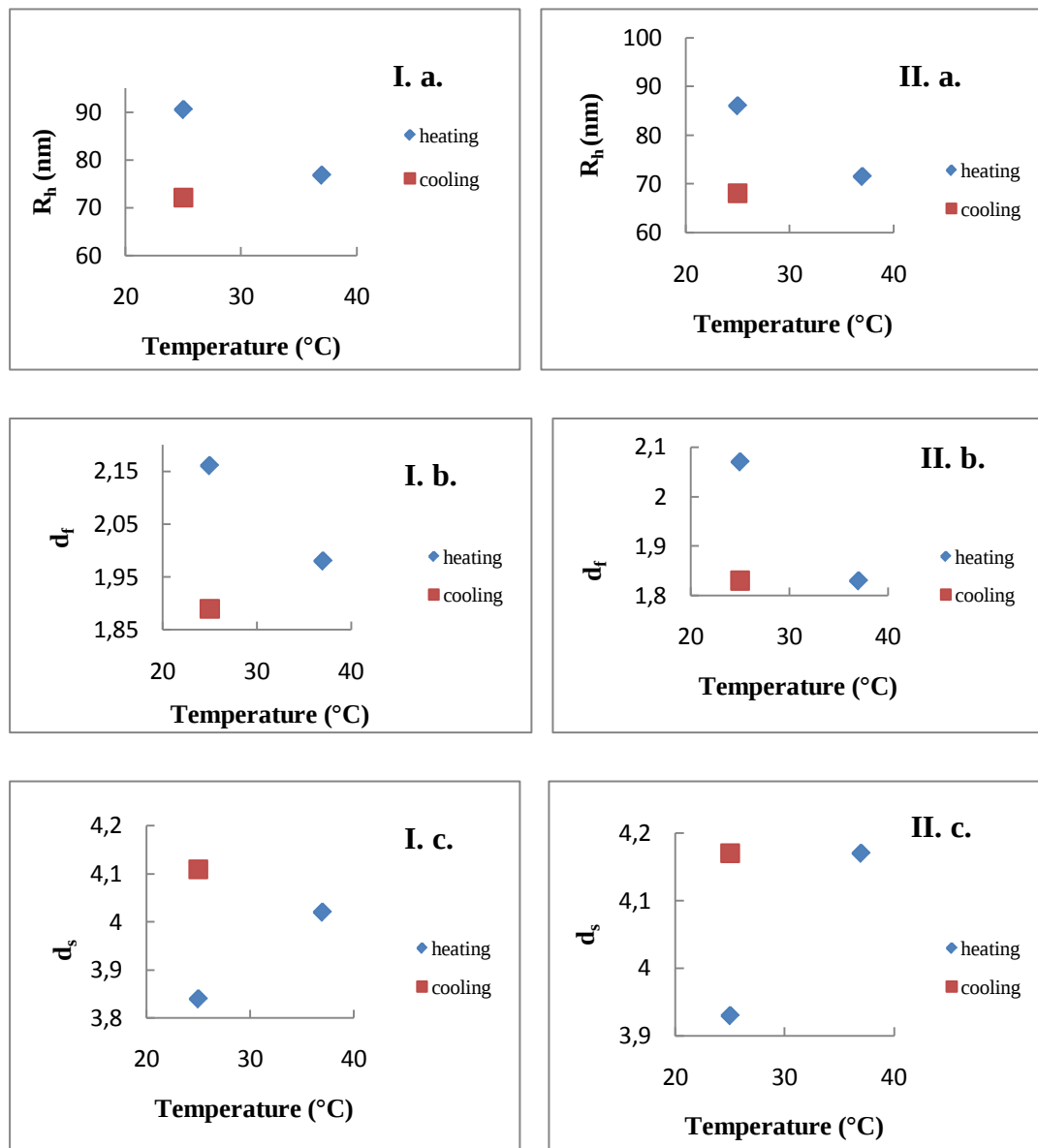
Διάγραμμα 22: (a) R_h (b) d_f και (c) d_s σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία για τα DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα που έχουν ανασυσταθεί σε νερό HPLC καθαρότητας. (Η συγκέντρωση είναι σταθερή: 5×10^{-3} mg/ml).

Το ποσοστό των πρωτεϊνών που προκαλεί τη συσσωμάτωση των λιποσωμάτων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος (Dimitrova et al., 2000). Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η εξάρτηση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των λιποσωμάτων από τη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της ψύξης και της θέρμανσης. Η R_h των DPPC λιποσωμάτων που είχαν ανασυσταθεί με νερό HPLC καθαρότητας μειώθηκε κατά τη διάρκεια της θέρμανσης στους 45°C, θερμοκρασία μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία μετάβασης των λιπιδίων. Στη

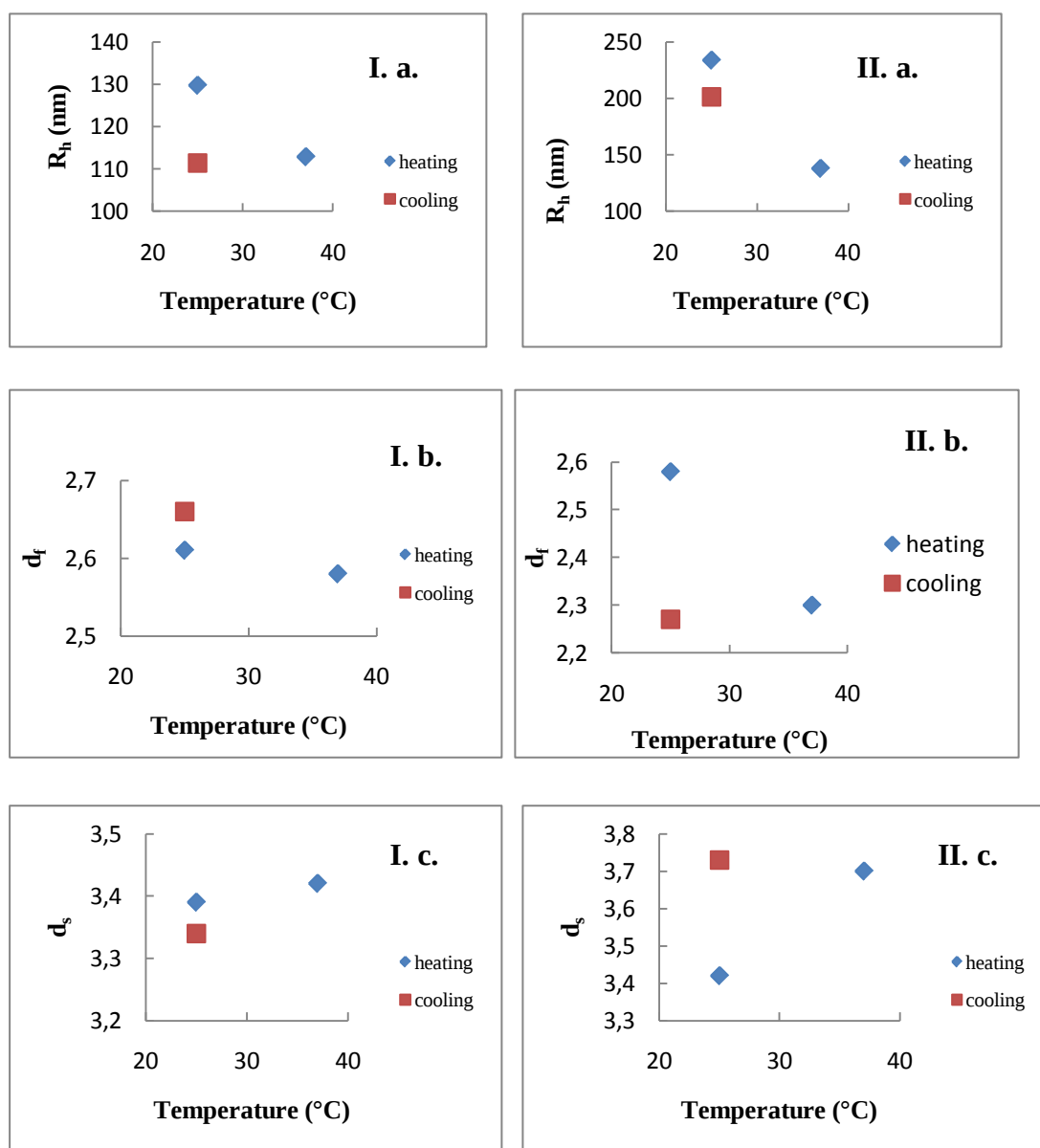
μικρότερη συγκέντρωση, η R_h παραμένει στη χαμηλότερη τιμή της κατά τη διάρκεια της ψύξης στους 25°C (**Διάγραμμα 19(a)** και **20(a)**). Τα συστήματα δεν είναι εντελώς θερμοδυναμικά αναστρέψιμα. Η μη αναστρεψιμότητα είναι περισσότερο εμφανής στις φυσικοχημικές μεταβολές του συστήματος στη χαμηλότερη συγκέντρωση (**Διάγραμμα 20(a)**). Οι τιμές d_f επίσης μειώνονται κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, ιδιαίτερα στην υψηλότερη συγκέντρωση που μελετήθηκε (**Διαγράμματα 19(b)** και **20(b)**). Αυτές οι χαμηλότερες τιμές είναι σε συμφωνία με την έννοια της τραχείας επιφάνειας που αναμένεται από την παρουσία τοπικών τομέων (domains) στα λιποσώματα σε συνθήκες διαφορετικές από αυτές που ευνοούν τη συσσωμάτωση (Vogtt et al., 2010). Ως εκ τούτου αυτή είναι μία ένδειξη για την ύπαρξη μικρών δομικών περιοχών στο λιποσωματικό σύστημα (Vogtt et al., 2010). Η επιφάνεια της μεμβράνης έγινε περισσότερο υδρόφοβη σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία μετάβασης των λιπιδίων (T_m) (Shimanouchi et al., 2011). Επίσης, η κυρτότητα (curvature) της λιποσωματικής μεμβράνης αναμένεται να είναι μεγαλύτερη. Οι τιμές της d_s αποδεικνύουν την αύξηση της κυρτότητας στις μεγαλύτερες θερμοκρασίες.

Τα λιποσώματα σύστασης DPPC:cholesterol (9:1) παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά κατά τη διάρκεια των κύκλων θέρμανσης – ψύξης με τα DPPC λιποσώματα (**Διαγράμματα 21** και **22**). Η χοληστερόλη έχει χαρακτηριστεί ως «βοηθητικό» λιπίδιο (“helper” lipid) και επισημαίνεται ότι ευνοεί την κυρτότητα του λιποσώματος (“curvature” loving) (Hirsch-Lerner et al., 2005), το οποίο αποδεικνύεται από τις τιμές d_s που παρατηρήθηκαν (**Διαγράμματα 21(c)** και **22(c)**). Ακόμη, η μη αναστρεψιμότητα θα μπορούσε να περιγράψει τη βιοφυσική συμπεριφορά των DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα.

9.3.2 Ανάκτηση με FBS



Διάγραμμα 23: a. R_h **b.** d_f and **c.** d_s σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία για τα DPPC λιποσώματα που έχουν ανασυσταθεί σε FBS. Η συγκέντρωση είναι σταθερή: **I.** 10×10^{-3} και **II.** 5×10^{-3} mg/ml.



Διάγραμμα 24: **a.** R_h **b.** d_f and **c.** d_s σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία για τα DPPC:cholesterol (9:1) λιποσώματα που έχουν ανασυσταθεί σε FBS. Η συγκέντρωση είναι σταθερή: **I.** 10×10^{-3} και **II.** 5×10^{-3} mg/ml.

Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά που περιγράφηκαν παραπάνω για τους λιποσωμιακούς φορείς που είχαν ανασυσταθεί με νερό HPLC καθαρότητας στις δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις παρατηρήθηκαν και για τα λιποσώματα χωρίς και με χοληστερόλη που είχαν ανασυσταθεί με FBS (**Διαγράμματα 23** και **24**). Η μη αναστρεψιμότητα πιθανότατα σε αυτή την περίπτωση οφείλεται και στην ύπαρξη πρωτεϊνών.

9.4 Φθορισμομετρία

Οι λόγοι I_1/I_3 και I_E/I_M (όπου I_1 και I_3 είναι οι εντάσεις της πρώτης και της τρίτης κορυφής του φάσματος φθορισμού του πυρενίου στα 372 nm και 383 nm αντίστοιχα και I_E στα 480nm και I_M στα 372nm, επίσης) είναι ενδεικτικοί της μικρο-πολικότητας (micropolarity) και του μικροϊξώδους / μικρορευστότητας (microviscosity/microfluidity) της λιπιδικής μεμβράνης, αντίστοιχα. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του λόγου I_1/I_3 τόσο μεγαλύτερη είναι η μικροπολικότητα του περιβάλλοντος της λιπιδικής μεμβράνης. Ο λόγος I_E/I_M είναι ανάλογος με τη συχνότητα των συγκρούσεων των μορίων του πυρενίου, δηλαδή με την ικανότητά του να σχηματίζει συσσωματώματα (excimer). Μεγαλύτερη τιμή του λόγου I_E/I_M είναι ενδεικτική μεγαλύτερης μικρορευστότητας (μικρότερου μικροϊξώδους) της λιποσωματικής μεμβράνης. Η μικρορευστότητα (microfluidity) της υδρογονανθρακικής περιοχής των DPPC και DPPC:cholesterol (9:1) μεμβρανικών διπλοστοιβάδων μειώθηκε με την προσρόφηση πρωτεϊνών, όπως παρουσιάζεται στον **Πίνακα 8**. Στη βιβλιογραφία, έχει αναφερθεί ότι η αλβουμίνη είναι πιθανό να αλληλεπιδρά με τις λιπιδικές διπλοστοιβάδες της μεμβράνης με υψηλότερο βαθμό υδροφοβικότητας και να καθιστά το μικροπεριβάλλον των λιποσωμάτων πολικό. Στην περίπτωση αυτή, η διαπερατότητα θα μπορούσε να αυξηθεί από το σχηματισμό ενός «προσωρινού κενού» (“temporary gap”) και την ύπαρξη διαχωρισμού φάσεων στις λιπιδικές μεμβράνες (phase separation) (Yokouchi et al., 2001; Tsunoda et al., 2001, Hioki et al., 2010). Αυτό σημαίνει ότι τα προσροφημένα πρωτεϊνικά μόρια επιτρέπουν την αλλαγή των χαρακτηριστικών της επιφάνειας των σωματιδίων σε αρκετά μεγάλο βαθμό, και ως εκ τούτου η ερώτηση που προκύπτει είναι κατά πόσο τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας των σωματιδίων διαφοροποιούν τη συμπεριφορά κατά τη συσσωμάτωση των κολλοειδών λιποσωματικών εναιωρημάτων. Προτείνεται ότι η προσρόφηση των πρωτεϊνών, ειδικότερα της αλβουμίνης, στα λιποσώματα που προορίζονται για τη μεταφορά φαρμακομορίων επιφέρει την αλλαγή των χαρακτηριστικών της μεμβράνης και πιθανώς και την αποδέσμευση του ενσωματωμένου φαρμακομορίου κατά τη διάρκεια της κυκλοφορίας των λιποσωμάτων στον οργανισμό (Hioki et al., 2010). Το μικρο-ιξώδες (microviscosity) αυξήθηκε στο FBS και για τα δύο λιποσωματικά συστήματα (οι τιμές I_E/I_M στον **Πίνακα 8**), ως αποτέλεσμα του περιορισμού της μετάβασης από τη φάση γέλης στην υγρή κρυσταλλική κατάσταση (Tsunoda et al., 2001). Η συνεργασιμότητα

(cooperativity) επίσης χάνεται (Hashizaki et al., 2006). Η μικροπολικότητα (micropolarity) των λιποσωμακών μεμβρανών είναι μικρότερη στο FBS και μειώνεται περαιτέρω μετά από μετρήσεις 7 ημέρες αργότερα, όπως αποδεικνύουν οι τιμές I_E/I_M (Πίνακας 8).

Πίνακας 8: Αποτελέσματα από τις μετρήσεις Φθορισμομετρίας για την μικροπολικότητα (I_1/I_3) και τη μικρο ρευστότητα (I_E/I_M) της μεμβράνης.

Ανασύσταση με	HPLC νερό		FBS		FBS		HPLC νερό (*)		FBS (*)	
Διάλυση	HPLC νερό		HPLC νερό		FBS		HPLC νερό		HPLC νερό	
Λιποσωμακή Σύσταση	I_1/I_3	I_E/I_M	I_1/I_3	I_E/I_M	I_1/I_3	I_E/I_M	I_1/I_3	I_E/I_M	I_1/I_3	I_E/I_M
DPPC	1.36	0.76	1.37	0.27	1.23	No excimer	1.34	0.54	1.31	0.26
DPPC:chol. (9:1)	1.29	0.59	1.29	0.29	1.22	No excimer	1.27	0.28	1.29	0.18

(*) Μετρήσεις μετά από 7 ημέρες

9.5 Ο λόγος R_g/R_h

Οι υπολογισμένες τιμές R_g/R_h παρουσιάζονται στον **Πίνακα 9**. Ο λόγος αυτός είναι ευαίσθητος στο σχήμα των σωματιδίων σε διάλυμα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μία κατά προσέγγιση εκτίμηση της εσωτερικής μορφολογίας του σωματιδίου. Αυτό βασίζεται στην ιδέα ότι η γεωμετρική ακτίνα R_g είναι ένα μέτρο της κατανομής πυκνότητας της μάζας γύρω από το κέντρο της δομής του σωματιδίου, ενώ η υδροδυναμική ακτίνα R_h καθορίζει τις εξωτερικές διαστάσεις του σωματιδίου. Έχει αναφερθεί ότι ο λόγος R_g / R_h παίρνει τις τιμές: 0,775 για μία σκληρή ομοιόμορφη συμπαγή σφαίρα και 1,0 για κυστίδια με λεπτά τοιχώματα, ενώ οι τιμές των 1,3 έως 1,5 δείχνουν μία τυχαία ανοικτή (χαλαρή) στη διάπλυσή της δομή όπως στην περίπτωση των αλυσίδων μακρομορίων (Burchard , 1983). Στην παρούσα περίπτωση, ο λόγος R_g / R_h μεταβάλλεται από 1,37 στο νερό HPLC καθαρότητας σε 0,98 στο FBS και από 1,43 στο νερό HPLC καθαρότητας σε 1 στο FBS για τα λιποσώματα σύστασης DPPC και DPPC:cholesterol (9:1), αντίστοιχα. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδεικνύουν μια αλλαγή στη δομή των λιποσωμάτων από κλειστή σε ανοικτή/χαλαρή προς μια σαφέστερα καθορισμένη κοίλη σφαίρα (όπως ένα κυστίδιο) δομή μέσα στο FBS. Η προσρόφηση των πρωτεϊνών, ειδικότερα της αλβουμίνης, θα μπορούσε να είναι μία πιθανή εξήγηση για την αλλαγή της μορφολογίας, δεδομένης της μεγαλύτερης αλληλεπίδρασης μεταξύ των σωματιδίων στο βιολογικό μέσο. Η πρωτεϊνική σύνδεση αυξάνει την πυκνότητα της μάζας στην περιφέρεια των σωματιδίων, με πιθανή αύξηση του πάχους της μεμβράνης και, ενδεχομένως, μια παράλληλη αλλαγή του μεγέθους (μείωση των ιδιαίτερα απομακρυσμένων διαστάσεων) του σωματιδίου.

Πίνακας 9: Ο λόγος R_g/R_h

	R_g/R_h	
	HPLC water	FBS
Ανασύσταση με:		
DPPC	1,37	0,98
DPPC: cholesterol (9:1)	1,43	1

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συσσωμάτωση των DPPC λιποσωμάτων στο υδατικό μέσο παρατηρήθηκε, ενώ η μορφοκλασματική διάσταση παρέμεινε σταθερή. Η ύπαρξη Πλευρικής Συσσωμάτωσης Συμπλέγματος – Συμπλέγματος (Lateral Cluster-Cluster Aggregation) θα μπορούσε να είναι μία πιθανή εξήγηση της παρατηρούμενης συμπεριφοράς. Φυσικοχημική σταθερότητα παρατηρήθηκε για τα λιποσώματα DPPC:cholesterol (9:1) στα δύο μέσα διασποράς. Οι δομικές ιδιότητες των DPPC λιποσωμάτων στο υδατικό μέσο είναι αρκετά διαφορετικές από αυτές στο FBS, όπως αποδεικνύεται από τη fractal ανάλυση, ειδικότερα για τους λιποσωματικούς φορείς χωρίς χοληστερόλη. Η χοληστερόλη διαδραματίζει μείζονα ρόλο στη ρευστότητα της μεμβράνης ρυθμίζοντας κατάλληλα τις λειτουργίες της, όπως αποκρυπτογραφείται από τις μικρές αλλαγές της στη μορφοκλασματική διάσταση της μάζας και της επιφάνειας για τα δύο μέσα διασποράς. Για να ενισχυθεί η θεωρητική βάση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η επέκταση της θεωρίας DLVO για να περιγράψει την κολλοειδή σταθερότητα των λιποσωμάτων χωρίς και με χοληστερόλη στο FBS. Οι υδροφοβικές και οι στερικές αλληλεπιδράσεις κατέχουν κυρίαρχη θέση στη διατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών των λιποσωματικών φορέων σε βάθος χρόνου. Οι φυσικές θεωρίες, οι οποίες αναπτύχθηκαν για τα φαινόμενα συσσωμάτωσης, περιλαμβάνουν το μορφοκλασματικό φορμαλισμό για την πληρέστερη κατανόηση του σχήματος των λιποσωματικών συσσωματωμάτων και δομών που προκύπτουν. Επιπρόσθετα, η μικρορευστότητα των υδρογονανθρακικών περιοχών των DPPC και DPPC:cholesterol (9:1) λιποσωματικών μεμβρανικών διπλοστοιβάδων μειώθηκε με την προσρόψη των πρωτεϊνών, ενώ η μικροπολικότητα δεν παρουσίασε σημαντικές διαφοροποιήσεις. Τελικά, ο προσδιορισμός της fractal διάστασης είναι πολύ σημαντικός για κολλοειδή συστήματα, επειδή η fractal γεωμετρία επιτρέπει σε επιστήμονες από διαφορετικά επιστημονικά πεδία να διατυπώσουν εναλλακτικές υποθέσεις για τις πειραματικές παρατηρήσεις, οι οποίες οδηγούν σε περισσότερο ρεαλιστικές εξηγήσεις της φαινομενολογίας σε σύγκριση με την παραδοσιακή προσέγγιση της ευκλείδειας γεωμετρίας, ειδικότερα για τα κολλοειδή νάνο-συστήματα μεταφοράς φαρμακομορίων. Αυτοί οι προσανατολισμοί της έρευνας θα μπορούσαν να αποτελέσουν εφελκύριο για τον ορθολογιστικό σχεδιασμό aDDnSs με πλήρη γνώση των μορφολογικών χαρακτηριστικών τους, του μορφοκλασματικού τους

ολογράμματος, το οποίο τροποποιεί τα βιοφαρμακευτικά και τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά του υποψήφιου φαρμακομορίου και διασφαλίζει την αποτελεσματικότητά του.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adachi Y., Ooi S., *J. Colloid Interface Sci.*, 135, 374, 1990
- Arnida, Janát-Amsbury, M.M., Ray, A., Peterson, C.M., Chandehari H., 2011. Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their distribution and uptake by macrophages. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 77, 417-423
- Bangham, A. D., Standish, M. M., Watkins, J. C., 1965. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J. Mol. Biol.* 13:238–252
- Bonacucina, G., Cepsi, M., Misici-Falsi, M., Palmieri, G. F., 2009. Colloidal Soft Matter as Drug Delivery System. *J. Pharm. Sci.* 98:1-42
- Bonté, F., Juliano, R.L., 1986. Interactions of liposomes with Serum Proteins, *Chem. Phys. Lipids.* 40(2-4): 359-372
- Bushell G.C., Yan Y.D., Woodfield D., Raper J., Amal R., On the techniques for measurement of mass fractal dimension of aggragtes, *Advances in Colloid and Interface Science*, 95, 1-50, 2002
- Burchard, W., 1983. Static and dynamic light scattering from branched polymers and biopolymers. *Adv. Polym. Sci.* 48,1-124
- Chen, M.L., Chen, M.L., Chen, X.W., Wang, J.H., 2010. Functionalization of MWNTs with Hyperbranched PEI for Highly Selective Isolation of BSA. *Macromol. Biosci.* 10, 906-915
- Chu B., Lin T., Characterization of nanoparticles by scattering techniques, *Journal of Nanoparticle Research*, 2:29-41, 2000
- Delgado A.V., Conzález-Caballero F., Hunter R.J., Koopal L.K., Lyklema J., 2007. Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena. *J. Colloid Interface Sci.* 309(2), 194-224
- Derjaguin B.V., Landau L.D., 1941. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of adhesion of strongly charged particles in solution of electrolytes. *Acta Physicochim. URSS* 14, 633-62
- Demetzos, C., 2010a. Drug delivery nanosystems and their classification based on their dynamic variability. In: 2nd International Symposium on Biological Applications of Dendrimers, June 23–26, Porquerolles islands, France
- Demetzos, C., 2010b. Advances in drug delivery systems (DDSs). In: International Congress on New Delivery Systems, Biosimilars, Bioequivalence-Biowaivers-Biotechnology Products, July 2–3, Athens, Greece

Dimitrova, M.N., Tsekov, R., Matsumura, H., Fussawa, K., 2000. Size Dependence of Protein-Induced Flocculation of Phosphatidylcholine Liposomes, *J. Colloid Interface Sci.* 226, 44-50

Forrest, S.R., Witten, T.A., 1979. Long- range correlations in smoke particle aggregates. *J. Phys. A: Math. Gen.* 12, 5, L109-L117

Gardikis, K., Tsimplouli, C., Dimas, K., Micha-Screttas, M., Demetzos, C., 2010. New chimeric advanced Drug Delivery nano System (chi-aDDnSs) as doxorubicin carriers, *Int. J. Pharm.* 402, 231-237

Gardikis, K., Fessas, D., Signorelli, M., Dimas, K., Tsimplouli, C., Ionov, M., Demetzos, C., 2011. A new chimeric drug delivery nano system (chi-aDDnS) composed of PAMAM G 3.5 dendrimer and liposomes as doxorubicin's carrier. *In vitro pharmacological studies*, *JNN* (5), 3764-72

Gregoriadis, G., Wills, E. J., Swain, C.P., Tavill, A. S., 1974. Drug-carrier potential of liposomes in cancer chemotherapy. *Lancet* 1,1313–1316

Gregory, J., 2009. Monitoring particle aggregation processes. *Adv. Colloid Interface Sci.* 147-148,109-123

Grogan, M.J., Rotkina, L., Bau, H.H., 2011. In situ liquid-cell electron microscopy of colloid aggregation and growth dynamics. *Physical Review E* 83, 061405,1-5

Hamsy A., Foret M., Pelous J., Jullien R., Small-angle neutron-scattering investigation of short-range correlation in fractal aerosols: Simulations and experiments, *Phys. Rev. B Condens. Matter*, 48 (13):9345-9353, 1993

Hashizaki, K., Taguchi, H., Sakai, H., Abe, M., Saito, Y., Ogawa, N., 2006. Carboxyfluorescein Leakage from Poly(ethylene glycol)-Grafted liposomes induced by the interaction with serum, *Chem. Pharm. Bull.* 54 (1) 80-84

Harshe Y.M., Lattuada M., Soos M., Experimental and Modeling study of Breakage and Restructuring of Open and Dense Colloidal Aggregates, *Langmuir*, 27, 5739-5752, 2011

Hidalgo-Álvarez R., Martín A., Fernández A., Bastros F., Martínez F., de las Nieves F.J., Electrokinetic properties, colloidal stability and aggregate kinetics of polymer colloids, *Advances in Colloid and Interface Science*, 67, 1-118, 1996

Hioki, A., Wakasugi, A., Kawano, K., Hattori, Y., Maitani, Y., 2010. Development of an in vitro Drug Release Assay of PEGylated liposome using bovine serum albumin and high temperature. *Biol. Pharm. Bull.* 33(9), 1466-1470

Hirsch-Lerner, D., Zhang, M., Eliyahu, H., Ferrari, M. E., Wheeler, C. J., Barenholz, Y., 2005. Effect of “helper lipid” on lipoplex electrostatics. *Biochimica et Biophysica Acta* 1714, 71-84

van de Hoven, J.M., Van Tomme, S.R., Metselaar, J.M., Nuijen, B., Beijnen, J.H., Stom G., 2011. Liposomal Drug Formulations in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Mol. Pharm.* 8, 1002-1015

Hughes, G.A., 2005. Nanostructure-mediated drug delivery. *Nanomedicine.* 1, 22-30

Hosemann R., Bagchi S.N., *Direct Analysis of Diffraction by Matter*, North Holland, Amsterdam, 1962

Hurd A.J., Flower W.L., *J. Colloid Interface Sci.* 122, 178, 1988

Jasmine, J. M., Prasad, E., 2010. Fractal growth of PAMAM dendrimers aggregate and its impact on the intrinsic emission properties. *J. Phys. Chem. B*, 114, 7735-7742

Jullien, R., 1987. Aggregation phenomena and fractal aggregates. *Contmp. Phys.*, 28, 5, 477-493

Jullien R., Comment on "Diffusion limited aggregation in two dimension", *Phys. Rev. Lett.* 55 (16):1697, 1985

Jullien R., Meakin P., *J. Colloid Interface Sci.* 127, 265, 1989

Kim, T., Lee, C.H., Joo, S.W., Lee, K., 2008. Kinetics of gold nanoparticle aggregation: Experiments and modeling. *J. Colloid Interface Sci.* 318, 238-143

Kiselev, M.A., Wartewig, S., Janich, M., Lesieur, P., Kiselev, A.M., Ollivon, M., Neubert, R., 2003. Does sucrose influence the properties of DMPC vesicles?. *Chem. Phys. Lipids* 123, 31-44

Kontogiannopoulos, K.N., Assimopoulou, A.N., Hantziantoniou, S., Karatassos, K., Demetzos, C., Papageorgiou, V.P., 2011 Chimeric advanced drug delivery nano systems (chi-aDDnSs) for shikonin combining dendritic and liposomal technology, *Int. J. Pharm.* in press

Kin M. J., Cluster structure of Eden model and directed polymers in a random potential, *J. Phys A Math Gen* 26 (1993) L33-L36

Kolb M., Botet R., Jullien R., Scaling of kinetically growing cluster, *Phys. R. Articles*, Vol. 51 (13), (1983)

Kolb M., Reversible diffusion-limited cluster aggregation, *J. Phys A Math Gen* 19 (1986), L263-L268

^aLanger J. S. and Muller-Krumbhaar, Theory of Dendritic I. Elements of a Stability Analysis, *Acta Metallurgica*, Vol. 26 pp 1681-1687, (1978)

^bLanger J. S. and Muller-Krumbhaar, Theory of Dendritic II. Instabilities in the limit of vanishing surface tension, *Acta Metallurgica*, Vol. 26 pp 1689-1695, (1978)

^cLanger J. S. and Muller-Krumbhaar, Theory of Dendritic III. Effects of surface tension, *Acta Metallurgica*, Vol. 26 pp 1697-1708 (1978)

Law, S.L., Lo, W.Y., Pai, S.H., The, G.W., Kou, F.Y., 1986. The adsorption of bovine serum albumin by liposomes, *Int. J. Pharm.* 32, 237-241

Lin, M.Y., Lindsay, H.M., Weitz, D.A., Klein, R., Ball, R.C., Meakin, P., 1989 Universal reaction – limited colloid aggregation, *Nature* 339, 360-362

Lindsay H.M., Klein R., Weitz D.A., Lin M.Y., Meakin P., Effect of rotational diffusion on quasielastic light scattering from fractal colloid aggregates, *Physical Review A*, Vol. 38, 5, 1988

Lindsay H.M., Klein R., Weitz D.A., Lin M.Y., Meakin P., Structure and anisotropy of colloid aggregates, *Physical Review A*, Vol. 39, 6, 1989

Lin M.Y., Lindsay H.M., Weitz D.A., Klein R., Ball R.C., Meakin P., Universal reaction – limited colloid aggregation, *Nature* 339, 360, 1989

Mandelbrot B.B., *Fractals, Form, Chance and Dimension* (Freeman, San Francisco, 1977

Mandelbrot B.B., *The Fractal Geometry of Nature*, San Francisco: Freeman & Co, 1982

Meakin P., Formation of Fractal Cluster and Networks by Irreversible Diffusion-Limited Aggregation, *Phys. Review letters* Vol. 57, 13, 1983

Meakin P., Jullien R., Random-sequential adsorption of disks of different sizes, *Phys. Rev. A*, 46 (4):2029-2038, 1992

Meakin, P., 1983a. The structure of two-dimensional Witten-Sander aggregates. *J. Phys A Math Gen* 19, L661-L666

Meakin, P., 1983b. Formation of Fractal Cluster and Networks by Irreversible Diffusion-Limited Aggregation, *Phys. Rev. Lett.* 51, 13, 1119-1122

Meakin, P., 1986. A New Model for Biological Pattern Formation. *J. Theor. Biol.*, 118, 101-113

Metulio, L., Ferrone, M., Coslanich, A., Fuchs, S., Fermeglia, M., Paneni, M.S., Prich, S., 2004. Polyamidoamine (Yet not PAMAM) Dendrimers as Bioinspired Materials for Drug Delivery: Structure – Activity Relationships by Molecular Simulations. *Biomacromolecules*, 5 (4), 1371-1378

Mishra, B., Bhavesh, B., Patel, Tiwari, S., 2010. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine*. 6, 9-24

- Ogasawara, T., Izawa, K., Hattori, N., Okabayashi, H., O'Connor, C.J., 2000. Growth process for fractal polymer aggregates formed by perfluorooctyltrimethoxysilane. Time-resolved small-angle X-ray scattering study. *Colloid Polym. Sci.* 278, 293-300
- Okhi, S., Ohshima, H., 1999. Interaction and aggregation of lipid vesicles (DLVO theory versus modified DLVO theory). *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 14, 27-45
- Okhi, S., Arnold K., 2000. A mechanism for ion-induced lipid fusion, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 18, 83-97
- Racz Z., Vicsek K.T., 1983. Diffusion-controlled deposition: Cluster statistics and scaling. *Phys. Rev. Lett.* 51, 26, 2382-2385
- Roldán-Vargas, S., Barnabas-Rodríguez, R., Martín-Molina, A., Quesada-Pérez, M., Estelrich, J., Callejas-Fernández, J., 2008. Growth of lipid vesicle structures: From surface fractals to mass fractals. *Physical Review E* 78, 010902(R), 1-4
- Roldán-Vargas, S., Barnabas-Rodríguez, R., Quesada-Pérez, M., Estelrich, J., Callejas-Fernández, J., 2009. Surface fractals in liposome aggregation. The American physical society, *Physical Review* 79, 011905, 1-14
- Sabín, J., Prieto, G., Messina, P.V., Ruso, J.M., Hidalgo-Álvarez, R., Sarmiento, F., 2005. On the effect of Ca^{2+} and La^{3+} on the Colloidal Stability of Liposomes. *Langmuir*, 21, 10968-10975
- Sabín, J., Prieto, G., Ruso, J.M., Hidalgo-Álvarez, R., Sarmiento, F., 2006. Size and stability of liposomes: A possible role of hydration and osmotic forces. *Eur. Phys. J.E* 20, 401-408
- Sabín, J., Prieto, G., Ruso, J.M., Sarmiento, F., 2007a. Fractal aggregates induced by liposome- liposome interaction in the presence of Ca^{2+} . *Eur. Phys. J. E* 24, 201–210
- Sabín, J., Prieto, G., Ruso, J.M., Messina, P.V., Sarmiento, F., 2007b. Aggregation of liposomes in presence of La^{3+} : A study of the fractal dimension. *Phys. Rev. E* 76, 011408, 1-7
- Sabín, J., Prieto, G., Ruso, J.M., Messina, P.V., Salgado, F.J., Nogueira, M., Costas, M., Sarmiento, F., 2009. Interactions between DMPC Liposomes and the Serum Blood Proteins HSA and IgG. *J. Phys. Chem. B*, 113, 1655-1661
- Schmitt, A., Fernández-Barbero, A., Cabrerizo-Vílchez, M. A., Hidalgo-Álvarez, R., 2000. Dynamic scaling in surface-controlled colloidal aggregation, *J. Phys.: Condens. Matter* 12, A281-A286
- Semple, S.C., Chonn, A., Cullis, P. R., 1996. Influence of Cholesterol on the Association of Plasma Proteins with Liposomes. *Biochemistry* 35 (8), 2521-2525

Semple, S.C., Chonn, A., Cullis, P. R., 1998. Interactions of liposomes and lipid-based carrier systems with blood proteins: Relation to clearance behavior in vivo. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 32, 3-17

Shimanouchi, T., Sasaki, M., Hiroiwa, A., Yoshimoto, N., Miyagawa, K., Umakoshim, H., Kuboi, R., 2011. Relationship between the mobility of phosphocholine headgroups of liposomes and the hydrophobicity at the membrane interface: A characterization with spectrophotometric measurements. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 88, 221-230

Sotiriou, K., Pispas, S., Hadjichristidis, N., 2007. Controlling the colloidal behavior of styrene-isoprene diblock copolymers by selective end functionalization. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 293, 51-57

Souza, G.R., Staquicini, F.I., Christianson, D.R., Ozawa, M.G., Houston Miller, J., Pasqualini, R., Arap, W., 2010. Combinatorial targeting and nanotechnology applications. *Biomed. Microdevices* 12, 597-606

Suzuki M., Oshima T., *Powder Tech.* 35, 159, 1983

Thouy R., Jullien R., *J. Phys. I France* 6, 1365, 1996

Tierney, K.J., Block, D.E., Longo, M.L., 2005. Elasticity and phase behavior of DPPC membrane modulated by cholesterol, ergosterol and ethanol. *Biophys. J.* 89, 2481-2493

Tsunoda, T., Imura, T., Kadota, M., Yamazaki, T., Yamauchi, H., Kwon, K.O., Yokoyama, S., Sakai, H., Abe, M., 2001. Effects of lysozyme and bovine serum albumin on membrane characteristics of dipalmitoylphosphatidylglycerol liposomes *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 20, 155-163

Vicsek K.T., Family F., *Dynamic Scaling for Aggregation of Clusters*, *Phys. Review letters* Vol. 52, 19, (1984)

Verwey, E.J.B., Overbeck, J.Th.G., 1948. *Theory of the Stability of Lyophobic Colloids*, Elsevier, Amsterdam

Vogtt, K., Joworrek, C., Garamus, V.M., Winter, R., 2010. Microdomains in Lipid Vesicles: Structure and Distribution Assessed by Small-Angle Scattering. *J. Phys. Chem. B*, 114, 5643-5648

Wang, N., Wang, T., Li, T., Deng, Y., 2009. Modulation of the physicochemical state of interior agents to prepare controlled release liposomes. *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 69, 232-238

Weissmann, G., Brand, A., Franklin, E. C., 1974. Interactions of Immunoglobulins with Liposomes. J. Clin. Invest. 53, 536-543

Witten, T.A., Sander, L.M., 1981. Diffusion –Limited Aggregation, a kinetic critical phenomena, Phys. Rev. Lett. 47, 19, 1400-1403

Witten, T.A, Sander, L.M., 1983. Diffusion –Limited Aggregation, Phys. Rev. B 27, 9, 5686-5697

Yokouchi, Y., Tsunoda, T., Imura, T., Yamauchi, H., Yokoyama, S., Sakai, H., Abe, M., 2001. Effect of adsorption of bovine serum albumin on liposomal membrane characteristics, Colloids Surf B: Biointerfaces 20, 95-103

Zeng Y., Meriani S., J. Appl. Crystall., 27, 782, 1994

Zhou Z., Chu B., Light-scattering study on fractal aggregates of polystyrene spheres: kinetic and structural Approaches, Journal of Colloid and Interface Science, Vol. 143, No 2.,1991

Ελληνική Βιβλιογραφία

Δανέζης Μ., Θεοδόσιου Σ., Η Κοσμολογία της Νόησης, Εκδόσεις Δίαυλος, Αθήνα 2003, σελ. 131-132

Moore Pete, Οι Επιστήμονες που Διαμόρφωσαν τον Κόσμο μας, Εκδόσεις Σαββάλας, 2003, σελ.106-107