

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**



**TESIS DOCTORAL**

**Estudio físico-químico de fluidos complejos de uso cosmético**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Laura Fernández Peña**

Directores

**Ramón González Rubio**

**Eduardo Guzmán Solís**

Madrid

Ed. electrónica 2019

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA**



TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO FÍSICO-QUÍMICO DE FLUIDOS  
COMPLEJOS DE USO COSMÉTICO**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por:

**LAURA FERNÁNDEZ PEÑA**

Directores:

**RAMÓN GONZÁLEZ RUBIO**  
**EDUARDO GUZMÁN SOLÍS**

2019





UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS  
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. LAURA FERNÁNDEZ PEÑA,  
estudiante en el Programa de Doctorado D9BL-DOCTORADO EN QUÍMICA AVANZADA,  
de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de  
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y  
titulada:

ESTUDIO FÍSICO-QUÍMICO DE FLUIDOS COMPLEJOS DE USO COSMÉTICO

y dirigida por: RAMÓN GONZÁLEZ RUBIO Y EDUARDO GUZMÁN SOLÍS

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 29 de mayo de 2019

Fdo.:

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en  
la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.



# ÍNDICE

---

---

<b>MOTIVACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>5</b>
1.1. COSMÉTICA PARA EL CUIDADO CAPILAR .....	6
1.1.1. ESTRUCTURA DEL CABELLO.....	6
1.1.2. PROBLEMÁTICA.....	8
1.1.3. FORMULACIÓN COSMÉTICA.....	8
1.2. COSMÉTICA PARA EL CUIDADO DE LA PIEL.....	10
1.2.1. ESTRUCTURA DE LA PIEL .....	10
1.2.2. PROBLEMÁTICA.....	11
1.3. FÍSICO-QUÍMICA Y COSMÉTICA .....	12
1.3.1. FÍSICO-QUÍMICA PARA EL CUIDADO CAPILAR .....	12
1.3.2. SISTEMAS DE SOLUBILIZACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS .....	20
1.4. BIBLIOGRAFÍA.....	24
<b>2. MATERIALES Y TÉCNICAS</b> .....	<b>31</b>
2.1. MATERIALES.....	31
2.1.1. POLÍMEROS .....	31
2.1.2. TENSIOACTIVOS .....	33
2.1.3. PRINCIPIOS ACTIVOS .....	36
2.1.4. ACEITES.....	37
2.1.5. SALES.....	37
2.2. SUSTRATOS.....	38
2.2.1. SUSTRATOS MODELO.....	38

2.2.2.	SUSTRATOS NATURALES.....	39
2.3.	TÉCNICAS EXPERIMENTALES.....	39
2.3.1.	CARACTERIZACIÓN DE SUPERFICIES SÓLIDAS.....	40
2.3.2.	CARACTERIZACION EN DISOLUCIÓN.....	55
2.3.3.	CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN.....	63
2.4.	BIBLIOGRAFÍA.....	65
<b>3.</b>	<b>ESTUDIO DE DISOLUCIONES DE DOS POLÍMEROS CON INTERÉS COSMÉTICO.....</b>	<b>69</b>
3.1.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	70
3.2.	RESULTADOS.....	71
3.2.1.	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLAPAMIENTO.....	71
3.2.2.	MERQUAT 2003.....	74
3.2.3.	PDADMAC.....	77
3.2.4.	ESTUDIO DE MEZCLAS PDADMAC-MERQUAT 2003 CON DISTINTO CONTENIDO POLIMÉRICO.....	80
3.3.	CONCLUSIONES.....	87
3.4.	BIBLIOGRAFIA.....	89
<b>4.</b>	<b>TENSIOACTIVOS DERIVADOS DE AZÚCARES: CARACTERIZACIÓN Y ADSORCIÓN CON UN POLICACIÓN.....</b>	<b>93</b>
4.1.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	94
4.2.	RESULTADOS.....	94
4.2.1.	ESTUDIO EN DISOLUCIÓN.....	94
4.2.2.	ADSORCIÓN SOBRE SUPERFICIES SÓLIDAS.....	99
4.2.3.	ALTERNATIVA PARA LA FORMULACIÓN COSMÉTICA.....	107
4.3.	CONCLUSIONES.....	111
4.4.	BIBLIOGRAFÍA.....	112
<b>5.</b>	<b>EXPLORANDO EL DISEÑO DE FORMULACIONES DE INTERÉS COSMÉTICO DESDE UNA PERSPECTIVA FÍSICO-QUÍMICA.....</b>	<b>115</b>
5.1.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	117
5.2.	RESULTADOS.....	118
5.2.1.	DETERMINACIÓN DE LA REGIÓN DE SEPARACIÓN DE FASES ..	118
5.2.2.	ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN SOBRE SUPERFICIES SÓLIDAS ....	120
5.3.	CONCLUSIONES.....	128
5.4.	BIBLIOGRAFÍA.....	129

<b>6. ESTUDIO DEL USO DE POLISACÁRIDOS EN EL DESARROLLO DE NUEVAS FORMULACIONES COSMÉTICAS</b> .....	<b>131</b>
6.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .....	132
6.2. RESULTADOS .....	133
6.2.1. DETERMINACIÓN DE LA REGIÓN DE SEPARACIÓN DE FASES ..	133
6.2.2. ESTUDIO DE LA INTERFASE SÓLIDO-LÍQUIDO.....	135
6.3. CONCLUSIONES .....	143
6.4. BIBLIOGRAFIA.....	145
<b>7. DISEÑO DE PLATAFORMAS PARA LA ENCAPSULACIÓN DE SUSTANCIAS HIDROFÓBICAS CON INTERÉS COSMÉTICO</b> .....	<b>147</b>
7.1. SISTEMAS TIPO A: MICELAS, VESÍCULAS Y FASES LAMELARES .....	149
7.1.1. MICELAS ESFÉRICAS.....	150
7.1.2. MICELAS CILÍNDRICAS .....	152
7.1.3. VESÍCULAS .....	153
7.1.4. FASES LAMELARES .....	153
7.2. SISTEMAS TIPO B: NANOEMULSIONES Y MICROEMULSIONES.....	163
7.2.1. NANOEMULSIONES.....	163
7.2.2. MICROEMULSIONES .....	168
7.3. CONCLUSIONES .....	174
7.4. APÉNDICE.....	176
7.5. BIBLIOGRAFIA.....	178
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	<b>183</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>185</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>191</b>





# MOTIVACIÓN Y OBJETIVOS

---

La preocupación por una apariencia más joven y saludable ha desencadenado un significativo auge de la cosmética en la vida diaria, siendo cada vez mayor el número de personas que usan productos y tratamientos cosméticos regularmente. Esto ha provocado que en los últimos años el desarrollo de formulaciones cosméticas para el cuidado del cabello y la piel se haya convertido en un campo de estudio multidisciplinar, en el que los esfuerzos combinados de distintas ramas de la ciencia (química, física, biología o farmacia) y de la tecnología han confluído para el desarrollo de formulaciones cada vez más eficientes y con mejores propiedades en relación a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. Este último aspecto es especialmente importante debido al desarrollo de legislaciones cada vez más restrictivas en cuanto al uso de compuestos químicos en productos de consumo humano. En particular, desde la entrada en vigor del reglamento REACH (*Registration, Evaluation, and Authorization of Chemicals*) se limita, en gran medida, el uso de multitud de compuestos químicos tradicionalmente usados en cosmética como pueden ser las siliconas, polímeros catiónicos y tensioactivos aniónicos [1, 2].

Lo anterior ha hecho que la industria cosmética se haya visto obligada a realizar un profundo análisis de las bases físico-químicas que gobiernan el mecanismo de acción de las distintas formulaciones. De modo que la Química Física se ha convertido en un componente esencial en la innovación cosmética, particularmente en las etapas de concepción y desarrollo de nuevos productos [3, 4].

La complejidad de la mayoría de las formulaciones cosméticas hace necesaria la comprensión del papel que desempeña cada uno de sus componentes para así poder proponer estrategias que permitan la elección de los compuestos más adecuados sin comprometer la percepción sensorial del usuario. De este modo, el proceso de formulación implica un complejo equilibrio de los distintos ingredientes en una sola entidad física que es el producto finalizado. Para llegar a dicho objetivo, la Química-Física juega un papel decisivo aunque muchas veces invisible. La formulación cosmética debe ser considerada más que una simple mezcla de diferentes ingredientes, siendo el objetivo último del diseño de cualquier producto la satisfacción del consumidor [4, 5]. Por tanto, para que el diseño de nuevas formulaciones cosméticas sea exitoso, se deben cumplir cuatro requisitos básicos: seguridad, estabilidad, eficacia y usabilidad. Este último aspecto se encuentra correlacionado con la percepción sensorial que el cliente obtiene tras la aplicación de la formulación [6].

Es importante reseñar que a pesar de que esta tesis centra su interés en los aspectos físico-químicos asociados al diseño y mecanismo de acción de formulaciones cosméticas para el cuidado del cabello y de la piel, el término cosmética es mucho más amplio ya que incluye aspectos relacionados tanto con las ciencias naturales como con las ciencias sociales.

## ESTRUCTURA Y OBJETIVOS DE LA TESIS

Los estudios incluidos en la presente tesis son el resultado de diversos proyectos de colaboración entre el Grupo de Sistemas Complejos de la Universidad Complutense de Madrid y la multinacional cosmética L'Oréal Paris (Francia) destinados a la comprensión de las bases físico-químicas que gobiernan el mecanismo de acción de diferentes sistemas de interés cosmético.

En particular, el trabajo realizado ha centrado su interés en dos grandes núcleos: (i) la comprensión de los fundamentos físico-químicos que gobiernan el mecanismo de acción de formulaciones para el acondicionamiento y cuidado capilar (*Capítulos 3 a 6*), y (ii) el desarrollo de diferentes estrategias para maximizar la solubilización de moléculas hidrofóbicas con interés para el cuidado y reparación de la piel (*Capítulo 7*). En resumen, la presente tesis contiene 8 capítulos (5 de ellos presentando los resultados originales obtenidos) y un resumen en español e inglés de los aspectos más relevantes de los estudios realizados. La estructura de la tesis y objetivos de cada uno de los capítulos se detallan a continuación:

En el *Capítulo 1* se discuten algunos aspectos fundamentales relacionados con el desarrollo de formulaciones cosméticas, centrando la atención en tres aspectos: (i) características físico-químicas y estructura de las superficies de interés para las aplicaciones cosméticas (cabello y piel); (ii) problemática surgida como resultado del deterioro del cabello y la piel; y (iii) desarrollo de soluciones para la mejora de la salud capilar y dérmica. Este último punto recoge y compatibiliza dos perspectivas: la primera relacionada con los aspectos meramente cosméticos del diseño de formulaciones, y la segunda relacionada con las bases físico-químicas que gobiernan tanto los procesos cosméticos como el diseño de nuevas formulaciones. Este primer capítulo deja clara la necesidad de profundizar en la comprensión de los principios fundamentales de la ciencia y tecnología de coloides e interfases para el desarrollo de formulaciones que permitan satisfacer al consumidor, respetando la legislación vigente referente al cuidado de la salud humana y ambiental.

El *Capítulo 2* recoge los aspectos metodológicos más importantes para en el desarrollo de la presente tesis, pudiendo desglosar su contenido en dos grandes bloques. El primero se centra en la presentación de las características más representativas de los distintos compuestos químicos y sustratos utilizados en los estudios realizados, mientras que la segunda parte se centra en la descripción tanto de los aspectos metodológicos como de los fundamentos físicos de las distintas técnicas utilizadas.

El *Capítulo 3* presenta un estudio sistemático del comportamiento de disoluciones de dos polielectrolitos, con distinta densidad de carga, y de distintas mezclas de los mismos, así como de los procesos de adsorción de dichas disoluciones sobre superficies sólidas que mimetizan la carga negativa del cabello dañado. Los estudios comprendidos en este capítulo tienen como objetivo evaluar los principios físico-químicos que gobiernan la actividad de

dichos polielectrolitos como acondicionadores (principalmente la cantidad de material depositado y grado de hidratación de las capas), de manera que se pueda valorar la posible sustitución de un polímero completamente cargado como es el poli (cloruro de dialildimetilamonio) por otro con una menor densidad de carga. De este modo, la composición de las futuras formulaciones cosméticas de champús cumpliría con las restricciones impuestas por las nuevas legislaciones.

En el *Capítulo 4* se ha analizado la posible sustitución de los tensioactivos sintéticos tradicionalmente utilizados en cosmética por una serie de tensioactivos derivados de azúcares que difieren en sus características moleculares. La finalidad de este estudio es buscar posibles alternativas para el diseño de formulaciones cosméticas de champús que sean más respetuosas tanto con la piel y las mucosas como con el medio ambiente. En este capítulo se combinan estudios de adsorción de los sistemas experimentales sobre superficies modelo con carga similar al cabello dañado con otros estudios en los que se analiza la adsorción sobre fibras capilares reales mediante el uso de microscopía electrónica de barrido. De los resultados obtenidos se ha podido concluir que el uso de superficies modelo es una buena aproximación para obtener una comprensión de los principios físico-químicos que gobiernan el funcionamiento de formulaciones acondicionadoras, dado que la deposición de las mismas se limita a la zona superficial de la fibra capilar, siendo su difusión a la zona interior limitada. Además, los resultados obtenidos han confirmado que el uso de nuevos tensioactivos derivados de azúcares es una buena alternativa para el diseño de nuevas formulaciones de champús más adaptadas a la legislación actual.

En el *Capítulo 5* se aborda el problema de la adsorción mejorada por precipitación, que gobierna el mecanismo de acción de la mayoría de champús durante su aplicación. Para ello ha sido necesario entender tanto la respuesta de formulaciones concentradas al proceso de dilución como las fuerzas que conducen al sistema a la separación de fases durante dicho proceso. Además, en este capítulo se pretende comprender el comportamiento de formulaciones complejas de champús a partir del análisis del comportamiento de mezclas más simples (pseudo-binarias o pseudo-ternarias), es decir, incluyendo solo parte de los componentes presentes en el champú con la finalidad de proponer posibles alternativas para el diseño de formulaciones.

En el *Capítulo 6* se extienden los estudios del capítulo anterior analizando la posible sustitución de los polímeros sintéticos utilizados en champús comerciales por polisacáridos, fomentándose de este modo el diseño de formulaciones cosméticas más verdes sin comprometer la eficacia de las formulaciones.

En el *Capítulo 7* el interés se centra en el diseño de plataformas coloidales para la encapsulación de activos con interés en el tratamiento de problemas cosméticos asociados al proceso de degradación de la barrera protectora de la piel. Este capítulo abandona la temática general de los anteriores capítulos enfocando el interés en la formulación de sistemas con mayor eficiencia de encapsulación de moléculas de interés cosmético en lugar de analizar los efectos resultantes de la aplicación de las formulaciones, pudiéndose considerar un estudio de carácter más explorativo.

En el *Capítulo 8* se resumen las conclusiones generales extraídas de los estudios incluidos en la presente tesis. Para terminar se han incluido dos capítulos adicionales (*Resumen* y *Summary*) que contienen un resumen en lengua española e inglesa de los resultados y conclusiones más relevantes de los estudios realizados en esta tesis.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- [1] Fisk P. Chemical risk assessment: a manual for REACH. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [2] Llamas S, Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of polyelectrolytes and polyelectrolytes-surfactant mixtures at surfaces: a physico-chemical approach to a cosmetic challenge. *Adv Colloid Interface Sci.* 2015;222:461-87.
- [3] Mitsui T. New cosmetic science. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science; 1997.
- [4] Goddard ED, Gruber JV. Principles of polymer science and technology in cosmetics and personal care. Boca Raton, United States of America: CRC Press; 1999.
- [5] Spencer N. Aqueous lubrication: natural and biomimetic approaches. Hackensack, United States of America: World Scientific Publishing Co., Inc.; 2014.
- [6] Asaka T, Ishikawa K. Quality Assurance Guidebook. Tokyo, Japan: Union of Japanese Scientists and Engineers Publications; 1974.

# 1. INTRODUCCIÓN

---

En la actualidad el término “*fluidos complejos*” engloba a una gran variedad de sistemas de naturaleza coloidal y supramolecular constituido por una fase continua que puede ser un gas o un líquido, y una fase dispersa formada por partículas u otras sustancias. De este modo, es posible encuadrar los distintos sistemas estudiados en la presente tesis dentro de la categoría de los *fluidos complejos*: mezclas formadas por polielectrolitos y tensioactivos de carga opuesta, disoluciones poliméricas, sistemas autoensamblados (micelas, vesículas o fases lamelares), emulsiones y microemulsiones. Cabe mencionar que en los últimos años, el estudio de estos sistemas complejos ha experimentado un crecimiento espectacular debido, en parte, a su amplia difusión en diferentes sectores tecnológicos como la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética [1-3]. Muchas de sus aplicaciones están relacionadas con la encapsulación y liberación de principios activos o con la interacción de los complejos formados en disolución con interfases sólidas y fluidas. De este modo, la comprensión de los principios físico-químicos que gobiernan el mecanismo de acción de este tipo de sistemas se ha convertido en un reto tanto para ciencia básica como para la tecnología.

Más específicamente, la ciencia cosmética y la industria farmacéutica avanzan para dar un enfoque funcional a los productos para el cuidado personal de manera que no solo aporten un aspecto saludable a la zona de aplicación. También deben ser capaces de frenar diversos procesos degenerativos y enfermedades asociadas a la piel y al cabello, y de reparar y mitigar los daños originados por factores intrínsecos (edad) y extrínsecos (radiación UV, contaminantes, tratamientos químicos). De esta manera, se hace necesaria la innovación hacia la búsqueda de nuevos productos que se adapten a las necesidades del consumidor [4, 5].

Es importante reseñar que, con la finalidad de mejorar la protección de la salud humana y el medio ambiente, en 2007 entró en vigor en la Unión Europea el Reglamento (CE) n° 1907/2006 o REACH (*Registration, Evaluation, and Authorization of CHemicals*) que limita el número de ingredientes que tiene disponibles la industria para el desarrollo de nuevas formulaciones y procesos [6]. Esto obliga a sustituir numerosos compuestos químicos, que se han venido usando con frecuencia en la mayoría de los productos que actualmente se encuentran en el mercado, por otros que cumplan las especificaciones marcadas por REACH y que presenten similar o mejor eficacia a la de los productos que se comercializan en la actualidad. La comprensión de las bases físico-químicas que gobiernan el funcionamiento de nuevas formulaciones cosméticas para el cuidado del cabello y la piel centra el interés de esta tesis, colaborando los resultados a un objetivo mucho más amplio

como es el de diseñar nuevas formulaciones cosméticas de mayor eficiencia que las actuales, y que cumplan todos los requisitos impuestos por la legislación vigente.

## 1.1. COSMÉTICA PARA EL CUIDADO CAPILAR

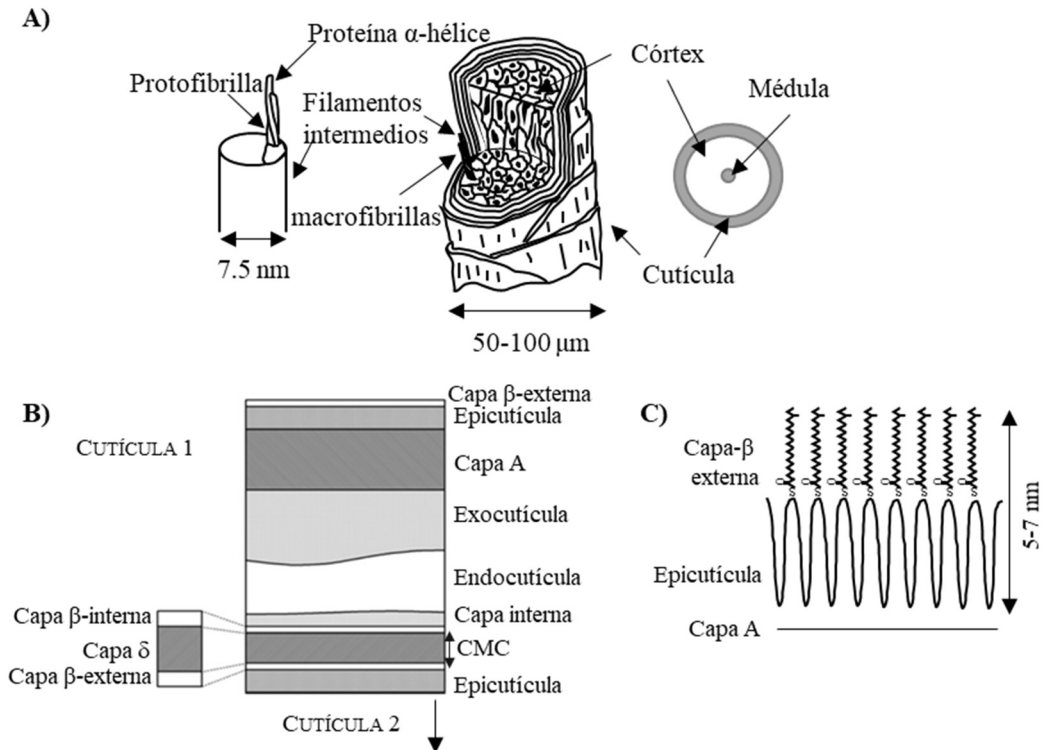
En cosmética el primer propósito de cualquier producto para el acondicionamiento capilar es reducir la magnitud de las fuerzas asociadas con el peinado o cepillado del cabello, lo cual se logra generalmente mediante la deposición de compuestos químicos con carácter acondicionador, generalmente de naturaleza polimérica. Previamente a la descripción de los procesos físico-químicos que tienen lugar durante el proceso de aplicación de un producto cosmético, es importante conocer la naturaleza del cabello, el cual es un sistema integrado con un comportamiento químico y físico peculiar dado su carácter de biomaterial compuesto [7].

### 1.1.1. ESTRUCTURA DEL CABELLO

El cabello es un material complejo compuesto de proteínas, lípidos, agua, pigmentos y otros oligoelementos. El componente principal de este biomaterial compuesto es la queratina, una proteína altamente reticulada debido a su alto contenido de cistina que conduce a la formación de enlaces disulfuro, que le confiere al cabello su fortaleza mecánica. El número promedio de fibras capilares en una cabeza humana se encuentra en el intervalo 120000–150000, lo que implica una superficie de unos 6 m<sup>2</sup> para cabellos de unos 20 cm de largo. Esto hace que la superficie capilar desempeñe un papel esencial en la percepción de estímulos y la salud capilar [3].

El cabello, que se desarrolla mediante la reproducción de células que forman las capas germinales de la piel en estructuras distintivas conocidas como folículos polisebáceos, está constituido principalmente por tres partes: el bulbo, la raíz y el tallo. El bulbo es el extremo más profundo del cabello y también el encargado del crecimiento. Este está conectado a las papilas dérmicas de los folículos que se encuentran profundamente vascularizadas e inervadas, lo cual permite la aportación de los nutrientes necesarios para el crecimiento del cabello. La raíz está fuertemente fijada en el folículo piloso, siendo esta la parte del cabello localizada entre el bulbo y la superficie de la epidermis donde el cabello toma la forma del tallo. A medida que las células se mueven hacia la superficie de la piel, los aminoácidos que contienen se unen para crear lo que se conoce como tallo del cabello [8, 9]

La Figura 1.1.A muestra una sección longitudinal y transversal del tallo del cabello. Una fibra capilar presenta un diámetro de 50-100 μm y está formado por tres capas concéntricas: una capa central, la médula, compuesta por un núcleo de células centrales, cuya existencia viene determinada por el tipo de cabello; una capa de fibras denominada corteza o córtex que corresponde aproximadamente al 90% del peso del cabello; y una capa externa, la cutícula, que protege la fibra desde el cuero cabelludo hasta las puntas. Esta última está compuesta por escamas solapadas (*queratinocitos*) de 60 μm de longitud y 0.5 μm de espesor, cuya forma y orientación son responsables del efecto de fricción en el cabello. Dependiendo de la humedad, el cabello está compuesto en un 65-95% de su peso por proteínas, pudiendo ascender el grado de hidratación hasta un 32% del peso total de cabello. El resto del peso son pigmentos lipídicos y otros componentes [8, 10, 11].



**Figura 1.1.** A) Esquema de la estructura de una fibra capilar. B) Esquema de la estructura sublamelar de la cutícula. C) Esquema de la superficie externa del cabello

La cutícula está formada por 6-8 escamas de espesor dependiendo de la etnia [7]. Se puede considerar que es el componente más importante del cabello humano, ya que es el sustrato de la mayor parte de los tratamientos cosméticos. Como se puede observar en Figura 1.1.B, cada célula de la cutícula se puede dividir en varias capas sublamelares (de fuera hacia dentro): capa-F, epicutícula, capa A, capa B o exocutícula, endocutícula y membrana celular compleja (CMC). La epicutícula está cubierta por una delgada lámina (capa-F o capa-β externa) de ácidos grasos unidos covalentemente mediante enlace tioéster a la proteína, donde el ácido graso predominante es el ácido 18-metil eicosanoico (18-MEA) (Figura 1.1.C). Debajo de la epicutícula se encuentra la capa-A, rica en cistinas (~30%) y altamente entrecruzada lo que le convierte en una capa de gran resistencia mecánica y química. Esta viene seguida de la exocutícula y la endocutícula, siendo la primera también rica en cistina (~15%) [11, 12].

La membrana celular compleja es la materia intercelular encargada de unir las membranas celulares entre dos células de la cutícula, dos células corticales, consistiendo en membranas celulares y material adhesivo que une las membranas celulares y las células cutícula-córtex. La capa más importante de la CMC se llama la capa-β, considerada el cemento intercelular.



### 1.1.2. PROBLEMÁTICA

La exposición ambiental y los tratamientos térmicos o químicos provocan cambios en la textura del pelo, dando lugar al encrespamiento y enredado capilar así como a la sequedad del mismo. Cuando el cabello está muy desgastado y tratado químicamente se produce una significativa pérdida del contenido en 18-MEA. La eliminación del enlace covalente entre el 18-MEA y la epicutícula provoca que el cabello se haga más hidrofílico, conduciendo al hinchamiento de la cutícula y como consecuencia a su desprendimiento.

Cuando una o varias de las capas de la cutícula se deterioran es imposible restablecerlas biológicamente ya que las fibras del cabello están compuestas de células muertas, lo que impide su replicación. Si la cutícula desaparece, la exposición de la corteza al ambiente y otros daños en la misma pueden provocar que se fracture la fibra capilar. De hecho cuando se producen procesos de descamación de las fibras capilares, el cabello pierde parcialmente su brillo como resultado de la dispersión aleatoria de la luz reflejada y no presenta un aspecto suave. Gracias a los productos cosméticos es posible reparar físicamente esos daños de manera temporal. De modo que una de las funciones de los champús y acondicionadores es cubrir y rellenar el área dañada para reducir la fricción entre fibras y la absorción de agua [7, 9, 13].

### 1.1.3. FORMULACIÓN COSMÉTICA

Teniendo en cuenta lo anterior, se puede afirmar que las formulaciones cosméticas para el cuidado capilar no solo actúan como agentes limpiadores para el cuero cabelludo, sino que se emplean para prevenir el daño del tallo del cabello. Además, muchas enfermedades del cuero cabelludo como la dermatitis o la psoriasis también son tratadas usando principios activos que se añaden en las formulaciones del champú [7].

La función principal de los champús es la de limpiar el exceso de suciedad, sebo, residuos de productos cosméticos o contaminantes ambientales. En general, un champú típico contiene una mezcla de tensioactivos primarios y secundarios que le confieren su carácter limpiador, agentes espesantes, disolventes, agentes acondicionadores, especies que permiten mantener el pH, sales inertes y otros compuestos químicos como pueden ser los perfumes [9].

Desde el punto de vista químico y de formulación, los champús están formados principalmente por *bases de lavado*, una mezcla de tensioactivos que eliminan la suciedad. Los tensioactivos actúan a través del debilitamiento de las fuerzas de adherencia fisicoquímicas que unen las impurezas y residuos al cabello, atrapan con sus colas estas impurezas quedando así solubilizadas en el interior hidrofóbico de las micelas de tensioactivo o suspendidas en agua [7]. La presencia de mezcla de tensioactivos mejora el rendimiento de la formulación y reduce el efecto irritante que puede provocar un único tensioactivo. En particular, los detergentes se pueden clasificar en aniónicos, catiónicos, zwitteriónicos y no iónicos [7, 9, 14]:

- I. *Tensioactivos aniónicos*: caracterizados por un grupo polar con carga negativa. Son los más eficientes en la limpieza de las grasas, sebo y la suciedad en general. Sin embargo, el incremento de cargas negativas en la superficie del cabello provoca un aumento en la fricción entre fibras. Por ello se agregan otros tensioactivos secundarios como los no iónicos. Los grupos hidrofílicos más comunes son los carboxilatos, sulfatos, sulfonatos y fosfatos.

- II. *Tensioactivos catiónicos*: caracterizados por un grupo polar cargado positivamente. Tienden a neutralizar la carga negativa de la superficie del cabello, minimizando el encrespamiento. Se utilizan a menudo como suavizantes. Los más comunes son los compuestos de amonio cuaternario.
- III. *Tensioactivos no iónicos*: no exhiben carga eléctrica neta en disoluciones acuosas debido a la ausencia de grupos disociables hidrófilos. Son menos agresivos que otros tensioactivos y, gracias a sus propiedades eudérmicas, son ampliamente utilizados como emulsionantes y solubilizantes en formulaciones cosméticas. Los más comunes son aquellos basados en óxidos de etileno, denominados tensioactivos etoxilados. Los alcoholes que presentan cadenas largas también exhiben algunas propiedades tensioactivas. Otra clase importante de productos no iónicos son los productos “multihidroxi”, como los ésteres de glicol, los ésteres de glicerol y poliglicerol, los glucósidos y poliglucósidos, y los ésteres de sacarosa. A menudo se obtienen de plantas, como los glucósidos.
- IV. *Tensioactivos zwitteriónicos*: contienen grupos tanto catiónicos como aniónicos. Se caracterizan por el control de carga a través de los valores de pH de la disolución. Esto significa que pueden actuar como tensioactivos aniónicos en una solución alcalina o como tensioactivos catiónicos en una solución ácida. Presentan buenas propiedades espumantes, detergentes y humectantes. Además, se caracterizan por poseer unas excelentes propiedades dermatológicas, por lo que se utilizan para reducir la agresividad de los tensioactivos aniónicos. Los más comunes son las N-alkil betaínas, derivadas de la trimetiglicina (betaína).

En cuanto a los agentes acondicionadores, estos se emplean para reducir la fricción entre fibras, desenredar el cabello, minimizar el encrespamiento y mejorar la capacidad del peinado. Además de neutralizar la carga negativa de la fibra capilar mediante la adición de cargas positivas, lubrican la cutícula de manera que se reduzca la hidrofiliidad de la fibra. Estas sustancias antiestáticas y lubricantes pueden catalogarse en cinco grupos principales: polímeros, aceites, ceras, aminoácidos hidrolizados y moléculas catiónicas [7]. Dependiendo de la capacidad para introducirse en la fibra, el acondicionador puede actuar solo sobre la superficie de la cutícula o llegar incluso a la parte interna del córtex. De modo que las moléculas pequeñas como las ceramidas pueden introducirse en córtex, mientras que las grandes actúan únicamente sobre la cutícula.

El efecto de la ionización en agua del ácido cisteico, que se produce como consecuencia de la oxidación de los enlaces de la cistina presentes en la queratina, hace que la fibra capilar dañada presente un carga más negativa con un alto número de grupos sulfonato, siendo como resultado más receptiva a la interacción con especies adsorbentes con carga positiva [3, 15]. Esto hace que el uso de polímeros de naturaleza catiónica, junto con el de las siliconas, se encuentre ampliamente extendido en cosmética debido a su alta afinidad por la superficie del cabello dañado. El uso de polímeros catiónicos es especialmente interesante dado que son solubles en agua y generalmente, a baja concentración (0.1 a 1%), son compatibles con otros componentes del champú [3]. Dentro de los polielectrolitos utilizados en cosmética, los pertenecientes a la familia de las sales de amonio cuaternario, conocida como *polyquaternium*, se encuentran entre los más ampliamente utilizados. En la Tabla 1.1 se muestra un ejemplo de composición de una formulación cosmética para el acondicionamiento capilar.

**Tabla 1.1.** Formulación típica de un champú acondicionador [13].

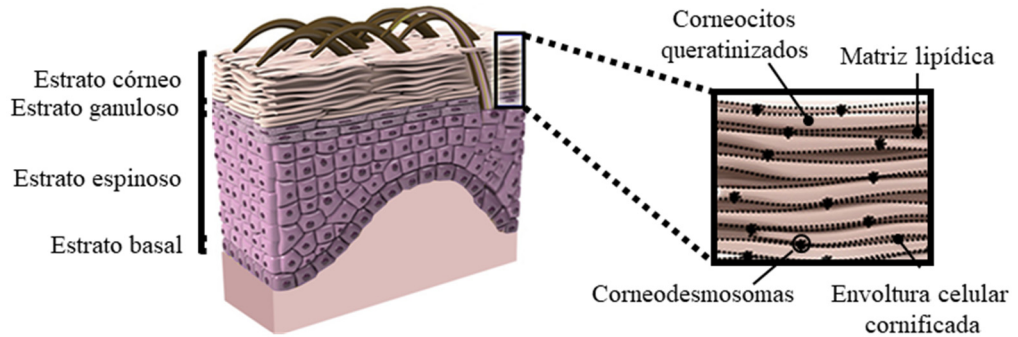
<i>COMPONENTES</i>	<i>%</i>
Sulfato del polioxietilen éter de trietanolamina (disolución acuosa al 30wt%)	10
Lauril éter sulfato de sodio (disolución acuosa al 30wt%)	20
Lauril sulfato de sodio (disolución acuosa al 30wt%)	5
Dietanolamida de ácido laurico	3
Lauramidopropilbetaína (disolución acuosa al 30wt%)	7
Celulosa catiónica	0.2
Diestearato de etilenglicol	2.0
Perfume	0.5
Color	q.s
Conservantes	q.s
Ajustador de pH	q.s
Agua purificada	52.3

## 1.2. COSMÉTICA PARA EL CUIDADO DE LA PIEL

La piel es el órgano más grande del cuerpo. Actúa como interfase entre este y el medio ambiente protegiéndolo de diversos estímulos externos y daños, así como de la pérdida de agua. En una persona adulta, la piel presenta un área superficial cercana a 1.6 m<sup>2</sup> y su espesor varía según la edad, el sexo o la etnia [13, 16]. En las últimas décadas se ha convertido en un portal importante para la entrada de diversos principios activos por vía tópica [17]. Sin embargo, dado el carácter de barrera protectora de la piel, el éxito de este tipo de tratamientos supone un gran desafío para la industria cosmética y farmacéutica, ya que el objetivo de la liberación es traspasar esa barrera protectora hasta llegar a la capa subcutánea [18].

### 1.2.1. ESTRUCTURA DE LA PIEL

La piel se puede dividir en tres capas llamadas epidermis, dermis e hipodermis (Figura 1.2). La epidermis, que es la capa más externa, consiste principalmente en agrupaciones de células conocidas como queratinocitos, que están dispuestas en varias capas estratificadas de 0.1-0.3 mm de espesor. De fuera hacia dentro esas capas se conocen como estrato córneo, estrato granular, estrato espinoso y estrato basal, encontrándose esta última formada por una sola capa de células columnares que se apoyan contra la membrana basal que está en contacto con la dermis [13, 16]. La capa más externa, el estrato córneo, actúa como una barrera que modula la permeabilidad epidérmica evitando la pérdida de agua y electrolitos. Además de esto, es la encargada de la protección contra daños oxidativos y agentes ambientales. Los cambios en la protección de esta barrera, causados por factores intrínsecos o extrínsecos, pueden alterar tanto la apariencia como la funcionalidad de la



**Figura 1.2.** Esquema de las distintas capas que componen la piel con una ampliación de la estructura “ladrillo y mortero” del estrato córneo [20].

piel [19]. De modo que comprender la estructura y función del estrato córneo es vital ya que es el punto clave para una piel sana [16].

El estrato córneo es un tejido estructuralmente heterogéneo compuesto por células anucleadas, conocidas como corneocitos, y dominios internucleares enriquecidos en lípidos. El estrato córneo se forma durante un proceso firmemente regulado de diferenciación de queratinocitos llamado cornificación. Este proceso conlleva el paso de los queratinocitos a través de las cuatro capas celulares de la epidermis mencionadas anteriormente. En el estrato granuloso, los queratinocitos comienzan a producir dos gránulos circunscritos a la membrana: gránulos de queratohialina y cuerpos lamelares. Los orgánulos de queratohialina contienen una cantidad abundante de moléculas de queratina agrupadas por una variedad de otras proteínas como es el caso de la filagrina, la cual es una proteína agregadora de filamentos y encargada de proporcionar el factor de hidratación natural FNM al estrato córneo. Los cuerpos lamelares son vesículas transportadoras de lípidos formadas en los queratinocitos suprabasales, que se secretan en el espacio intercelular entre los corneocitos liberando lípidos no polares. Estos lípidos, que en su mayoría son ceramidas (50%), colesterol (25%) y ácidos grasos (10-20%), se agrupan formando una bicapa lipídica convirtiéndose en un componente esencial para la formación de la barrera de permeabilidad de la epidermis, dando lugar a una estructura conocida como ladrillo-mortero, donde los lípidos actúan como un pegamento entre los corneocitos que se podrían considerar como los ladrillos.

Los corneocitos desarrollan una envoltura proteica resistente químicamente en la periferia de la célula. Esta envoltura, conocida como envoltura celular cornificada, está formada a partir de proteínas del citoesqueleto entrecruzadas y actúa como una barrera física vital para el estrato córneo. Por otro lado, los corneocitos se adhieren unos a otros a través de corneodesmosomas [13, 16, 20, 21].

### 1.2.2. PROBLEMÁTICA

El inevitable paso del tiempo, junto a factores extrínsecos como la exposición solar y otros agentes ambientales como la contaminación o el uso de agentes químicos irritantes, son algunas de las causas del envejecimiento de la piel, y como consecuencia de sus procesos degenerativos. Los diferentes factores mencionados anteriormente provocan la alteración o pérdida de los ácidos grasos del estrato córneo que derivan en el debilitamiento

de barrera protectora de la piel y su capacidad de retención de agua. Esto conduce a la aparición de arrugas, sequedad y flacidez en la piel [22-25].

El interés creciente por conservar la apariencia de una piel juvenil que refleje buena salud ha suscitado que tanto la industria cosmética como farmacéutica centren su interés en el estudio de la piel y de sus afecciones para así poder retrasar el envejecimiento cutáneo.

### **1.3. FÍSICO-QUÍMICA Y COSMÉTICA**

Las secciones previas han puesto de manifiesto que el avance de la ciencia cosmética, especialmente el diseño de nuevas formulaciones, no se puede desligar de la modificación de las propiedades físico-químicas de los sustratos de interés cosmético (fibras capilares o piel). Esto requiere una comprensión de las distintas interacciones implicadas en este tipo sistemas. En general, los productos cosméticos pueden ser considerados como mezclas multicomponente, de modo que para el diseño, fabricación y estabilidad de estas se hace necesario comprender las bases físico-químicas que gobiernan su comportamiento. A pesar de que la Química Física es una ciencia muy amplia, desde un punto de vista cosmético es posible reducir el campo de interés a la ciencia y tecnología de coloides e interfases.

#### **1.3.1. FÍSICO-QUÍMICA PARA EL CUIDADO CAPILAR**

Los champús y acondicionadores se usan ampliamente en la limpieza y mejora de las propiedades sensoriales de las fibras capilares, siendo productos que se usan generalmente en medio acuoso. Su eficacia se encuentra ligada a la deposición de polímeros o complejos polímero-tensioactivo sobre la superficie del cabello, la cual es relativamente grande (c.a.  $6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ). En general, el mecanismo de acción de las formulaciones comerciales para el cuidado capilar se basa en la interacción en disolución de polímeros con tensioactivos cargados, neutros y/o zwitteriónicos. La elección de la combinación adecuada de los componentes conduce a la obtención de un champú monofásico que separa en fases debido al proceso de dilución que ocurre durante el lavado. Una vez que se produce la separación de fases, las partículas de los agentes acondicionadores se depositan en la superficie del cabello por precipitación. En general, se acepta que el concepto de formación y deposición de partículas acondicionadoras sobre la fibra capilar presenta una vital importancia en el proceso de acondicionamiento capilar [26].

Es importante destacar que la mayoría de las formulaciones cosméticas para el cuidado capilar implican tanto la interacción de polielectrolitos y tensioactivos en disolución como la interacción de estos con la superficie de la fibra capilar. Esto hace que sea preciso realizar un análisis de los procesos de asociación de dichos componentes y de su deposición sobre superficies sólidas.

##### **1.3.1.1. COMPLEJOS POLIELECTROLITO-TENSIOACTIVO**

En relación a las disoluciones poliméricas o mezclas polielectrolito-tensioactivo, la comprensión del comportamiento de los complejos en la interfase (sólida o fluida) requiere profundizar en los mecanismos subyacentes al proceso de complejación que se producen en disolución [27-29]. El estudio de la complejidad estructural de estas mezclas y la riqueza de su comportamiento de fase, que resulta de la formación de agregados macroscópicos, es

esencial para proporcionar una descripción del comportamiento y propiedades de este tipo de sistemas supramoleculares [30-35]. En los últimos años se han realizado grandes esfuerzos, tanto experimentales como teóricos, para tratar de desentrañar el complejo comportamiento físico-químico del ensamblaje de los polielectrolitos y tensioactivos [3, 27-31, 36-43]. Sin embargo, los avances experimentales no han sido acompañados por el desarrollo de un marco teórico que permita una descripción completa del escenario físico-químico, ya que la mayoría de los estudios teóricos utilizan modelos termodinámicos que no siempre reflejan los detalles de los sistemas reales formados por polielectrolitos y tensioactivos de carga opuesta [36, 38-41].

#### 1.3.1.1.1. Interacciones intermoleculares

El comportamiento en disolución de los sistemas polímero-tensioactivo es relevante para comprender tanto los procesos de adsorción en la interfase líquido-vapor y líquido-sólido como las propiedades reológicas superficiales en interfases fluidas. La interacción de los polímeros y tensioactivos se puede comprender a través de su comportamiento de asociación. Si bien es conocido que la concentración micelar crítica (cmc) es la concentración a la cual las moléculas libres de tensioactivo se asocian con otras para formar micelas, en el caso de las mezclas de polímeros y tensioactivos aparece la concentración de agregación crítica (cac) que es la concentración a la cual los polímeros o polielectrolitos empiezan a asociarse con las moléculas de tensioactivo presentes en la disolución. Para mezclas polielectrolito-tensioactivo, la cac suele aparecer a varios órdenes de magnitud por debajo de la cmc. Esto se debe a que la presencia de cadenas de polímero en disolución provoca que la formación de micelas sea más favorable energéticamente a concentraciones más bajas de tensioactivo.

La asociación de los complejos polielectrolito-tensioactivo (PECs) puede venir gobernada tanto por interacciones de naturaleza electrostática, donde dos componentes se atraen o repelen debido a la presencia de cargas, como hidrofóbicas, donde las moléculas son atraídas debido a la existencia de dominios en las moléculas que presentan baja afinidad por el agua. La influencia de este tipo de interacciones en el proceso de asociación de polímeros y tensioactivos puede explotarse variando las características de los polielectrolitos (densidad de carga, peso molecular o grupos funcionales) y de los tensioactivos (naturaleza de la cabeza hidrofílica, longitud de la cadena hidrofóbica y concentración) [29, 44].

##### INTERACCIONES HIDROFÓBICAS:

Las interacciones hidrofóbicas son impulsadas por la repulsión entre un soluto no polar, generalmente presentando una cadena hidrocarbonada, y el disolvente polar circundante, generalmente agua. Es generalmente aceptado que las moléculas de agua se comportan como una red de moléculas polares en las que el enlace de hidrógeno entre las moléculas excluye otros solutos. Como consecuencia, las cadenas hidrocarbonadas, que presentan baja solubilidad en agua, se agregan con otras moléculas no polares para minimizar sus puntos de contacto con el agua. En referencia a los polielectrolitos, estos son solubles en agua y se encuentran completamente extendidos en medio acuoso debido a las interacciones favorables entre los monómeros cargados y el agua, así como a las repulsiones entre monómeros vecinos. En cambio, los polímeros no cargados colapsan con el grado de colapso dependiendo de la hidrofobicidad de la cadena polimérica. En condiciones de buen disolvente o disolvente theta, el polímero adquiere una conformación *random-coil* que se encuentra menos extendida que el polielectrolito. En condiciones de mal disolvente, como

ocurre en general con las moléculas que contienen cadenas hidrocarbonadas, el polímero se encuentra en una conformación colapsada. El cambio termodinámico de una conformación extendida a una ovillada viene dada principalmente por las interacciones hidrofóbicas.

**Efecto de la temperatura:** Tanto la contribución entálpica como entrópica, que juegan un papel importante las interacciones hidrofóbicas, se encuentran fuertemente afectadas por la temperatura, por lo que la fortaleza de estas interacciones está fuertemente ligada a la temperatura. En los sistemas formados por polielectrolitos y tensioactivos con cargas opuestas, la magnitud de la interacción disminuye con la temperatura. En cambio, cuando se trata de compuestos no iónicos, la asociación aumenta debido a que las interacciones hidrofóbicas aumentan con la temperatura. A temperaturas elevadas se rompe esa red de moléculas de agua y los enlaces de hidrógeno, favoreciendo la micelización del tensioactivo.

**Efecto de la longitud de cadena de tensioactivo:** El aumento del número de grupos alquílicos en la cadena hidrocarbonada de los tensioactivos aumenta la hidrofobicidad debido a la baja solubilidad de la cadena en agua. De este modo, el aumento de la hidrofobicidad de la cadena de los tensioactivos reduce tanto la  $cac$  en sistemas con polielectrolito como la  $cmc$ . La energía libre de ambas transiciones disminuye conduciendo a interacciones más fuertes dentro de las micelas.

#### INTERACCIONES ELECTROSTÁTICAS:

Las interacciones electrostáticas de los polielectrolitos son muy sensibles a los contraiones de carga opuesta. Estos pueden estar libres en disolución o apantallando sus cargas de manera que disminuya la carga efectiva del polímero. La interacción de tensioactivos iónicos con polielectrolitos de carga opuesta es un tipo especial de interacción con contraiones ya que el tensioactivo actúa como un contraión, sin embargo, en este caso cada molécula es más compleja que un pequeño ión inorgánico. En base a lo anterior, los polielectrolitos y los tensioactivos se pueden unir en disolución formando pares iónicos. Aunque esta asociación presenta una contribución entálpica, se asume que viene gobernada principalmente por una ganancia entrópica cuando pequeños contraiones son liberados de las dos moléculas que se asocian. Esta asociación se encuentra fuertemente condicionada por parámetros tales como el pH de la disolución, la relación de monómeros cargados del polímero frente al número de moléculas de tensioactivo, la valencia de los contraiones, o la fuerza iónica, entre otros, viniendo la fuerza de estas interacciones descrita por la ley de Coulomb:

$$F = \frac{K_e q_1 q_2}{r^2} \quad (1.1)$$

donde  $F$  es la magnitud de la fuerza creada por repulsión o atracción de dos cargas puntuales ( $q_1$  y  $q_2$ ) que interactúan a una distancia  $r$ ; y  $K_e$  la constante de Coulomb que representa la permitividad dieléctrica relativa del medio [45].

**Efecto de la fuerza iónica:** la adición de sal a la disolución puede reducir la fuerza de las interacciones electrostáticas ya que el potencial de Coulomb se ve debilitado entre los iones del polielectrolito y tensioactivo. De modo que cuando la concentración de sal es relativamente baja, las interacciones entre estos son fuertes. Sin embargo, a altas concentraciones de sal, los polielectrolitos se comportan como polímeros neutros

disminuyendo así la posibilidad de interacción con el tensioactivo. Así mismo, la valencia de los contraiones es un factor importante en la interacción.

**Efecto del pH:** La interacción entre polielectrolitos y tensioactivos de carga opuesta se puede manipular si estos son ácidos o bases débiles. La disociación de la carga depende fuertemente del pH de la disolución, por lo que las interacciones electrostáticas pueden verse modificadas cuando este parámetro se modifica.

**Concentración de tensioactivo:** Cuando la relación de monómeros cargados de polímero y las moléculas de tensioactivo (con carga opuesta) es igual a uno se produce la formación de complejos neutros que precipitan por su baja solubilidad en agua.

#### 1.3.1.1.2. Asociación polímero-tensioactivo [29]

Las especificidad de las interacciones entre los polielectrolitos y tensioactivos determinan su comportamiento de mezcla, dificultando significativamente la predicción de su diagrama de fases [42, 46-48]. El comportamiento de fase de estas mezclas está íntimamente ligado tanto a las propiedades de los polímeros y tensioactivos como a las condiciones de la disolución (pH, fuerza iónica, temperatura). De hecho, las interacciones hidrofóbicas entre la cadena del polímero y las colas de los tensioactivos puede modificar sustancialmente el diagrama de fases de estos sistemas debido a una asociación cooperativa entre las dos especies, por lo que la isoterma de asociación se suele usar para obtener información sobre el proceso de asociación [31]. En la mayoría de los casos, los modelos de asociación están basados en modelos termodinámicos y/o estadísticos [49].

Dependiendo de la naturaleza de la interacción entre estas dos especies, la asociación del tensioactivo en cuestión con la cadena de polímero puede mostrar un comportamiento no-cooperativo, cooperativo o anticooperativo [32]. La asociación cooperativa se caracteriza por una repentina aparición, y posterior desaparición, del proceso de unión en un intervalo de concentración de tensioactivo relativamente estrecho. En general, este tipo de asociación se produce en sistemas en los cuales el mecanismo de interacción adquiere gran importancia durante el proceso de formación de los complejos polielectrolito-tensioactivo. Un ejemplo de esta situación es la aparición de interacciones hidrofóbicas en el proceso de asociación de complejos polielectrolito-tensioactivo de carga opuesta, donde la interacción más representativa es la interacción electrostática de estas especies [50]. De este modo, la asociación cooperativa está relacionada con la unión de moléculas de tensioactivo a otras moléculas de tensioactivo que se encuentran unidas al polímero. Este hecho es debido a la existencia de una interacción atractiva que favorece la unión de moléculas adicionales del tensioactivo [51]. La asociación anti-cooperativa se caracteriza por el enlace de moléculas de tensioactivo en las regiones del polímero no ocupadas por otros tensioactivos como consecuencia de la existencia de interacciones repulsivas [52]. La interacción no cooperativa ocurre solo en aquellos casos en los que el tensioactivo se une a la cadena polimérica a través de interacciones específicas polímero-tensioactivo [53].

Los efectos de asociación tienen gran importancia en las propiedades de estos sistemas en disolución, las cuales muestran cambios cuando la concentración de tensioactivo se aproxima a la cac. El método más directo para evaluar la cac es el uso de electrodos selectivos que permiten hacer una estimación del número de moléculas de tensioactivo que se encuentran unidas a las cadenas de polímero [30, 54-56]. El grado de asociación  $\beta$  se determina a partir de la concentración de moléculas de tensioactivo que quedan libres en disolución ( $c_f$ ). De este modo que  $\beta$  se puede definir como

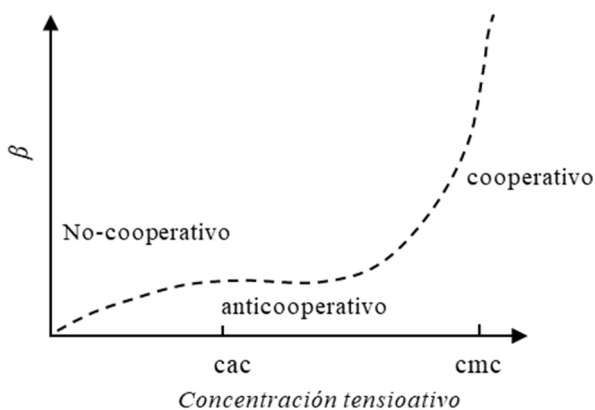


$$\beta = \frac{c_b}{c_p} \quad \text{siendo } c_b = c_s - c_f \quad (1.2)$$

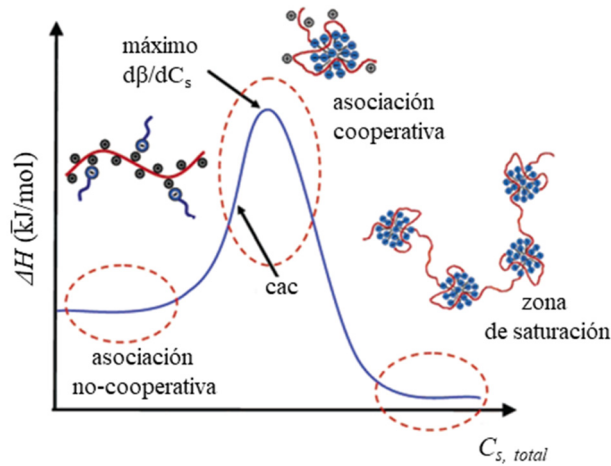
donde  $c_b$  es la concentración de moléculas de tensioactivo enlazadas;  $c_p$  la concentración de polímero, y  $c_s$  y  $c_f$  son las concentraciones de tensioactivo total y libre presentes de la disolución. En la mayoría de los casos, los resultados experimentales describen una curva sigmoidal conocida como isoterma de asociación (Figura 1.3) que muestra las diferentes regiones dependiendo del tipo de cooperatividad de la interacción involucrada en la formación de los complejos en disolución.

Las regiones de unión cooperativa están asociadas con un aumento brusco de la cantidad de moléculas de tensioactivo enlazadas al polímero, mientras que la pendiente del aumento de la región no-cooperativa es menor. Por otro lado, la unión anticooperativa está asociada con la aparición de un valor casi constante de la cantidad de tensioactivo unida a las cadenas de poliméricas, ya que las interacciones repulsivas evitan la unión de moléculas adicionales de tensioactivo a la cadena del polímero [53].

La calorimetría de valoración isotérmica (ITC) es otro de los métodos que se emplean para medir la isoterma de asociación, ya que el proceso de asociación se relaciona con la termodinámica de la complejación. La señal ITC debida a la adsorción del tensioactivo sobre el polielectrolito de carga opuesta se determina sustrayendo el calor correspondiente al proceso de disolución del polielectrolito, que normalmente es despreciable, y del tensioactivo. De este modo, el proceso de asociación del tensioactivo sobre la cadena de polímero se puede describir con una función de las diferentes contribuciones a la entalpía ( $\Delta H$ ) implicadas en el proceso de asociación. Entre estas contribuciones se puede destacar la disociación de micelas, la asociación del tensioactivo sobre la cadena del polímero, los cambios conformacionales del polímero y los efectos de dilución [57, 58]. La curva ITC de una mezcla arbitraria polielectrolito-tensioactivo se muestra en la Figura 1.4, pudiéndose observar la aparición de tres regiones características: una meseta en el límite de baja concentración de tensioactivo, un pico a concentraciones intermedias de tensioactivo y otra nueva meseta a alta concentración de tensioactivo donde la entalpía se aproxima a cero. La primera región corresponde a la región del comportamiento no-cooperativo justo antes de



**Figura 1.3.** Representación esquemática de la isoterma de asociación de un polielectrolito y tensioactivo de carga opuesta incluyendo la región del comportamiento cooperativo, no-cooperativo y anticooperativo [31].



**Figura 1.4.** Representación esquemática de una curva de calorimetría de valoración isotérmica (ITC) obtenida para un proceso de asociación polímero-tensioactivo [59].

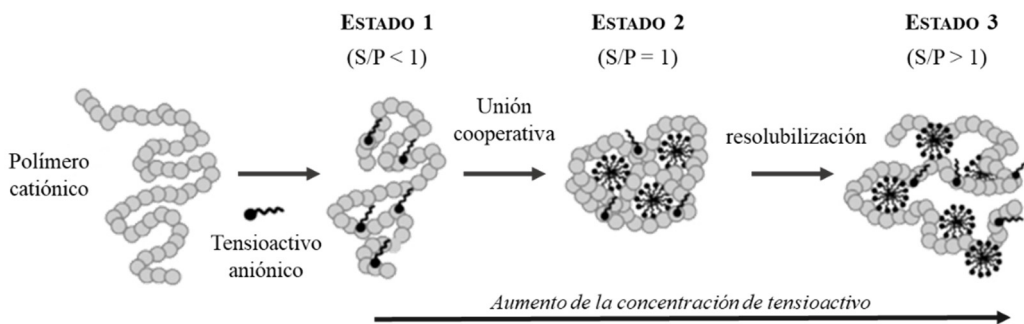
la cac. El máximo, conocido como “pico de cooperatividad”, refleja la unión más fuerte debida a las interacciones hidrófobas favorables entre las moléculas de tensioactivo unidas cooperativamente. Finalmente, a altas concentraciones de tensioactivo la entalpía de asociación se aproxima a cero cuando las cadenas de polímero se encuentran saturadas y no presentan más sitios de unión para el tensioactivo [59].

Cabe mencionar que tradicionalmente el comportamiento termodinámico de las mezclas polímero-tensioactivo ha sido explicado recurriendo al modelo de Satake-Yang que considera al polímero como una red con  $N$  sitios donde el tensioactivo se puede enlazar y que proporciona la base para establecer una constante de enlace y sus consiguientes parámetros termodinámicos [53, 55, 56].

#### 1.3.1.1.3. Diagrama de fases [29]

Conocer el comportamiento de fase de las mezclas polímero-tensioactivo es importante porque la presencia de coacervatos o precipitados desempeña un papel clave en aplicaciones tales como el rendimiento eficiente en champús y acondicionadores [3, 42, 60, 61]. La aparición de la región de separación de fases en este tipo de mezclas se puede detectar por medidas de turbidez ya que cuando el sistema ingresa en dicha región esta propiedad evidencia un cambio significativo [48, 62]

En relación a las mezclas polielectrolito-tensioactivo de carga puesta, es conocido que a bajas concentraciones de polímero (P) y tensioactivo (S), las mezclas presentan un aspecto transparente ( $S/P < 1$ ) (Figura 1.5). Sin embargo, cuando la concentración de tensioactivo aumenta hasta alcanzar una relación  $S/P = 1$ , las mezclas adquieren un aspecto turbio y se separan en fases. Esto es debido a una desestabilización coloidal debida a la neutralización de las cargas del polielectrolito. En base a los modelos clásicos de asociación cooperativa de los tensioactivos, este comportamiento suele interpretarse en términos de formación de micelas de tensioactivo que se agregan alrededor de las cadenas de polielectrolito. No obstante, cuando la relación  $S/P > 1$  se produce la resolubilización de los complejos lo cual conduce a la salida de la región de precipitación y por tanto las mezclas vuelven a adquirir un aspecto transparente [29, 30, 34, 63].



**Figura 1.5.** Representación esquemática de los tres estados en los que se pueden presentar los complejos polímero-tensioactivo de carga opuesta en disolución a medida que se aumenta la concentración de tensioactivo. Los estados 1 y 3 corresponden a disoluciones de carácter monofásico, mientras que el estado 2 es relativo a la precipitación de los complejos como consecuencia de la neutralización de carga por la asociación cooperativa polímero-tensioactivo [30, 34]

Por otro lado, cuando la concentración de polímero es muy superior a la de tensioactivo, la unión de las moléculas de este último a las cadenas de polímero se asocia con la redistribución de la carga a lo largo de la cadena, lo que conduce a la formación de complejos que involucran más de una cadena de polímero donde las micelas de tensioactivo actúan como puente entre distintas cadenas [64, 65]. La formación de estos complejos multicadena está de acuerdo con los resultados obtenidos mediante cálculos basados en teorías de campo medio (SCF) realizados por Banerjee et al [36]. De modo que la aparición de la región de precipitación de estas mezclas no se debe a la neutralización de cargas, sino que aparece como consecuencia de la formación de agregados de gran tamaño que no precisan ser neutros, siendo lo que generalmente se conoce como agregados cinéticamente atrapados. La formación de este tipo de agregados puede controlarse a través de la metodología de preparación de las disoluciones como se discutirá a continuación.

#### 1.3.1.1.4. Efecto del método de preparación de muestras

En los últimos años, diversos estudios han puesto de manifiesto que el método de preparación de muestras condiciona la formación de complejos en disolución [28, 63, 66, 67]. Para una mezcla de igual composición, dependiendo del método de preparación aplicado, se puede observar la precipitación o la formación de complejos estables en disolución. La adición del tensioactivo sobre el polielectrolito o el polielectrolito sobre el tensioactivo cambia la agregación y el tamaño de los complejos resultantes [44], pudiéndose atribuir este comportamiento al exceso de concentración local (gradientes de Marangoni) de cualquiera de los componentes. De este modo, la metodología de preparación puede determinar la aparición de sistemas separados en fases para composiciones que se encuentren lejos del punto isoeléctrico del sistema en cuestión.

Lo anterior define que las mezclas polielectrolito-tensioactivo sean consideradas como sistemas de no equilibrio que conducen a la formación de agregados cinéticamente atrapados que pueden evolucionar con el tiempo hasta adquirir su conformación de equilibrio [28]. En algunos casos, el tiempo requerido para alcanzar el estado de equilibrio es relativamente lento, lo que hace necesario controlar tanto la composición como el protocolo de preparación de las mezclas para así poder proporcionar una descripción físico-

química que explique los fenómenos de complejación tanto en disolución (*bulk*) como en interfases [28, 68, 69].

### 1.3.1.2. DEPOSICIÓN SOBRE SUPERFICIES

La adsorción de complejos polímero-tensioactivo sobre superficies sólidas depende de diversos factores como son las propiedades del polímero (carga, peso molecular, concentración), de la superficie (carga, energía superficial) y de la disolución (pH, temperatura, calidad del disolvente, fuerza iónica), así como la naturaleza y concentración del tensioactivo [3, 70]. Además, la proximidad de la región de separación de fases juega un papel importante en el proceso de adsorción.

A baja concentración de tensioactivo, el proceso de adsorción de los complejos polímero-tensioactivo se encuentra gobernado por el comportamiento del polímero, es decir, por la interacción de este con la superficie [71]. Sin embargo, independientemente de la naturaleza del sustrato utilizado [72], cuando aumenta la concentración de tensioactivo la adsorción de estos sistemas sobre superficies sólidas se ve mejorada hasta alcanzar una meseta en la región de separación de fases [3]. Si se supera dicha región por el aumento de la concentración de tensioactivo, la adsorción se ve reducida nuevamente como resultado de la resolubilización de los complejos. De este modo, se puede afirmar que a medida que empeora la solubilidad de los complejos formados en disolución la adsorción sobre superficies sólidas aumenta. En referencia a los polielectrolitos y tensioactivos de carga opuesta, la sobrecompensación de cargas del polielectrolito ( $S/P > 1$ ) lidera una disminución de la adsorción como consecuencia de la repulsión electrostática entre la superficie y los complejos formados.

La fuerza iónica juega un papel muy importante en la adsorción debido a que el apantallamiento de cargas del polielectrolito modifica la interacción electrostática entre el polímero y el tensioactivo, y entre los complejos formados y la superficie. Esto puede afectar a la adsorción ya que se modifica la agregación de los complejos en disolución y el equilibrio de los mismos cambia [3, 71]. Por otro lado, si la superficie de adsorción presenta carga, también se puede producir en apantallamiento de los sitios de unión de los complejos, lo cual modificaría una vez más la adsorción de estos [73-75]. Asimismo, el tipo de sal que se emplea para ajustar la fuerza iónica modifica significativamente la adsorción y las propiedades de los polímeros o complejos polímero-tensioactivo. En general, el catión de la sal inerte no interfiere de manera significativa en la adsorción, sin embargo, el contraión es crítico y sus efectos vienen controlados por las series de Hofmeister [76].

Dado que el polímero presenta una gran influencia en la adsorción, y que en cosmética es habitual el uso de polímeros catiónicos, es importante conocer el papel que desempeñan las interacciones electrostáticas en la adsorción de estos sobre superficies sólidas de cara a la preparación de nuevas formulaciones cosméticas:

**Efecto de la densidad de carga del polímero:** Los polímeros con baja densidad de carga presentan una conformación ovillada debido a bajas repulsiones intracadena y entre cadenas. En cambio cuando la densidad de carga del polímero es elevada, este adquiere una conformación más extendida debido al aumento de repulsiones electrostáticas entre las unidades monoméricas cargadas. Predicciones teóricas y resultados experimentales han demostrado que la adsorción de los polielectrolitos con baja densidad de carga tiene lugar a partir de un número reducido de puntos de unión donde se proyectan bucles y colas en posición vertical a la superficie de interacción. En cambio, cuando la densidad de carga es

elevada, la adsorción tiene lugar de una manera más extendida dando lugar a espesores más pequeños que en el caso anterior [73, 77-79].

**Efecto de la concentración de polímero:** La adsorción aumenta con la concentración de polímero hasta alcanzar una meseta donde el efecto de la concentración deja de tener influencia en la adsorción. Se conoce como isoterma de adsorción a la curva de cantidad adsorbida frente a concentración.

### 1.3.1.3. ADSORCIÓN MEJORADA POR PRECIPITACIÓN

Las formulaciones cosméticas de champús y acondicionadores contienen una gran variedad de tensioactivos (aniónicos, neutros y zwitteriónicos) y polímeros [60, 80]. Las mezclas comerciales presentan un aspecto monofásico transparente cuya relación S/P es superior a uno (Figura 1.5), de modo que el escenario encontrado en las mezclas es aquel en el que los polímeros se encuentran solubilizados por micelas de tensioactivo.

El proceso de aplicación del producto comercial se encuentra gobernado por el fenómeno que se denomina deposición mejorada por precipitación como consecuencia del proceso de dilución que ocurre durante el lavado [80, 81], siendo esto conocido como *efecto Lochhead* [82]. El lavado y posterior aclarado del cabello conduce al sistema al Estado 2 ilustrado en la Figura 1.5, donde  $S/P=1$ , produciéndose la precipitación de los complejos sobre el cabello [34, 60, 80, 81, 83].

Un punto importante en la obtención de precipitados favorables en la aplicación del producto comercial es la existencia de la región de precipitación durante el proceso de dilución. Además, es importante poder controlar los estados de estabilidad y precipitación de los complejos durante este proceso. Por ejemplo, es importante que los complejos contenidos en el champú puedan precipitar dentro de unos márgenes de dilución razonables para un típico proceso de lavado y aclarado. Esto quiere decir que la precipitación del champú debe ocurrir para diluciones comprendidas entre factores 10-20. Durante la dilución la composición de la mezcla, así como la dinámica de los complejos, cambia continuamente, es decir, la composición y el carácter de los complejos precipitados cambian dentro de los límites marcados por el inicio de la región de precipitación y el inicio de región de resolubilización. Estos cambios están asociados a los polímeros y tensioactivos seleccionados y a su composición.

### 1.3.2. SISTEMAS DE SOLUBILIZACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS

La importancia de los estudios científicos aplicados a la ciencia cosmética ha experimentado una profunda revolución guiada por un conocimiento cada vez mayor de la fisiología de la piel. La preocupación por solventar las afecciones de la piel ha dado lugar a la aparición de los productos conocidos como *cosmeceúticos*, productos que además de perseguir un fin estético contienen principios activos que presentan alta actividad bioquímica sobre la piel. La mayoría de estos principios activos presentan una naturaleza hidrofóbica. Teniendo en cuenta que en la mayoría de las formulaciones cosméticas el componente mayoritario es agua se hace necesaria la búsqueda de formulaciones en las que se pueda incluir este tipo de activos sin perjudicar la estabilidad de la formulación

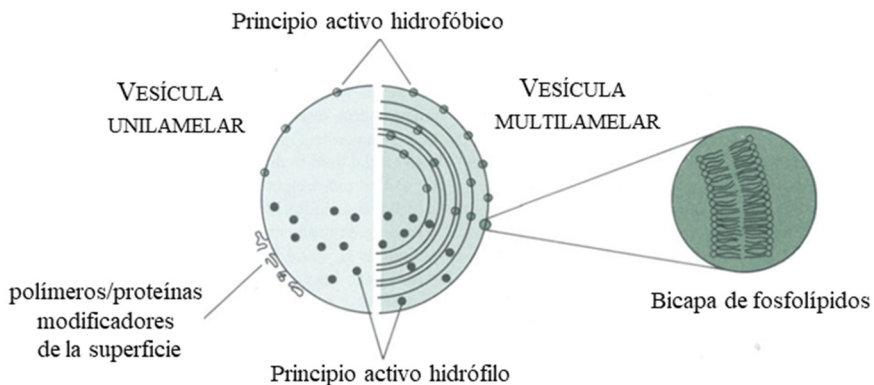
Las soluciones acuosas de tensioactivo son capaces de disolver de manera completa y transparente un gran número de sustancias apolares que son difíciles de disolver en el agua. Este fenómeno conocido como solubilización no puede ocurrir a concentraciones de

tensioactivo por debajo de cmc. De este modo, los sistemas de solubilización más simples en los que se puede pensar son las micelas. En el diseño de plataformas para la solubilización de moléculas activas es importante conocer la cantidad máxima que se puede disolver, la cual depende tanto de la concentración de tensioactivo como del balance hidrófilo-lipofílico (HLB) del mismo. [13]. Otros sistemas de solubilización y liberación de principios activos como las emulsiones, microemulsiones y estructuras autoensambladas pueden ser útiles como transportadores y liberadores de principios activos en la piel.

### 1.3.2.1. LIPOSOMAS

Los liposomas son sistemas coloidales constituidos por vesículas compuestas por una doble capa de fosfolípidos [84]. Estas pueden estar compuestas por una capa (unilamelar) o múltiples capas concéntricas (multilamelar). Dependiendo del tamaño las vesículas unilamelares se pueden catalogar en vesículas unilamelares pequeñas (SUV) o unilamelares grandes (LUV). Estas estructuras autoensambladas son capaces de encapsular tanto moléculas hidrofílicas como hidrofóbicas en sus bicapas concéntricas como muestra la Figura 1.6. Los principios activos hidrofílicos se suelen atrapar en el compartimento acuoso interno, mientras que los hidrofóbicos o anfifílicos y las moléculas cargadas suelen asociarse a la bicapa de fosfolípidos [85-89]. Esta envoltura lipídica permite proteger a los principios activos de la degradación.

Los liposomas han sido utilizados con gran frecuencia como plataformas transportadoras de principios activos para tratamientos en los que es necesario atravesar la barrera dérmica. Esto es debido a que su naturaleza lipídica les permite penetrar en el estrato córneo y modificar la bicapa de lípidos cutánea. Además son capaces de modular la velocidad y el alcance de la absorción sistémica de principios activos. En la literatura se han propuesto diversos mecanismos para la penetración de los liposomas para la liberación de moléculas encapsuladas [85]. El primer mecanismo propone que el principio activo se separa de la vesícula cuando entra en contacto con la piel y atraviesa el estrato córneo [90]. Por otro lado, el segundo mecanismo sugiere cambios en la estructura de los lípidos intercelulares



**Figura 1.6.** Representación esquemática de una vesícula. La bicapa lipídica separa uno (*vesícula unilamelar*) o más compartimentos acuosos (*vesícula multilamelar*) concéntricos de la fase acuosa exterior. Los principios activos pueden ser atrapados en el compartimento acuoso (o compartimentos acuosos) o dentro de las bicapas. Las propiedades de superficie se pueden modificar mediante el enlace covalente o hidrofóbico de moléculas cargadas o polímeros en la superficie de la bicapa [86, 87].

como resultado de la aplicación tópica de liposomas, lo que lleva a la penetración de las vesículas íntegramente, es decir, los componentes lipídicos de las vesículas se fusionan y se mezclan con los lípidos del estrato córneo para mejorar así la penetración del activo [91].

### 1.3.2.2. CRISTALES LÍQUIDOS LIOTRÓPICOS

Los cristales líquidos son sustancias que fluyen como un líquido pero que a su vez mantienen alguna de las características estructurales de un sólido cristalino, pudiéndose clasificar en termotrópicos (TLCs), cuando experimentan cambios de fase debido a la modificación de con la temperatura, y liotrópicos (LLCs), que además de la temperatura, cambian de fase con la concentración del compuesto en disolución (normalmente agua) [89, 92]. Estos últimos presentan tres tipos de mesofases: lamelar, hexagonal y cúbica.

El uso de cristales líquidos liotrópicos ha sido explorado como posible alternativa para administración de diversos fármacos debido a sus propiedades biocompatibles, biodegradables, bioadhesivas y no tóxicas. Sus características anfífilas permiten la incorporación de principios activos hidrofóbicos e hidrofílicos en su estructura para facilitar la penetración a través de la piel y las membranas biológicas [93]. Además, los tensioactivos no iónicos, que tienen mayor actividad interfacial debido a la presencia de componentes polares y no polares, ofrecen mayores beneficios que otros tensioactivos en términos de estabilidad, compatibilidad y toxicidad.

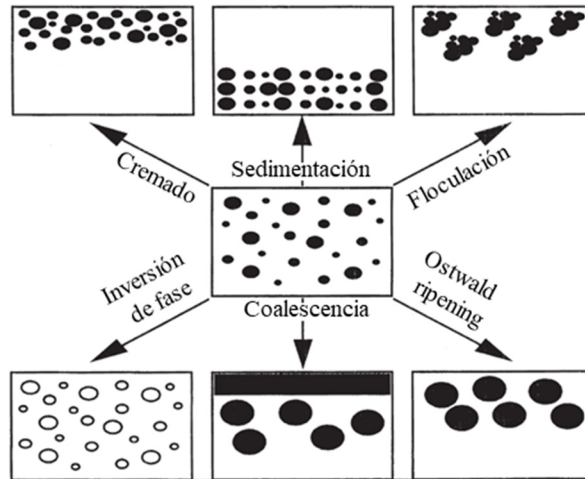
### 1.3.2.3. EMULSIONES

Las emulsiones son un tipo de sistemas dispersos formados por dos líquidos inmiscibles, donde una de las fases (*fase dispersa*) se encuentra dispersada en forma de gotas en la otra fase (*fase continua*). Para que se produzca esta dispersión de gotas se requiere un tercer componente de tipo tensioactivo conocido como *emulsificante*, el cual es crucial para asegurar la estabilidad de las emulsiones. En el caso más simple se pueden distinguir tres tipos de emulsiones en relación a su composición: emulsiones de aceite en agua (O/W); agua en aceite (W/O) o aceite en aceite (O/O). Este último tipo tiene lugar cuando un aceite polar se dispersa en un aceite no polar, o viceversa [94]. También se pueden encontrar otro tipo de emulsiones más complejas, las emulsiones múltiples, conocidas como *emulsiones de emulsiones* o *emulsiones dobles o triples*, donde la propia fase interna contiene gotas dispersas que son miscibles con la fase continua [95].

Las emulsiones convencionales están sujetas a diferentes problemas de desestabilización tal y como se ilustra en la Figura 1.7. Los fenómenos físicos involucrados en cada proceso de desestabilización no son simples y requieren un análisis de las diversas fuerzas superficiales involucradas. Además, estos pueden tener lugar simultáneamente en lugar de en forma consecutiva, lo que a su vez complica el análisis.

En base a lo anterior, los distintos procesos que contribuyen a la desestabilización de las emulsiones son: [94]:

**Cremado y sedimentación:** provienen de fuerzas externas, habitualmente la gravitacional y centrífuga. Cuando estas fuerzas superan el movimiento browniano de las gotas se produce un gradiente de concentración que, dependiendo de la densidad, impulsa las gotas más grandes a la superficie (cremado) o las empuja hacia el fondo del recipiente que las contiene (sedimentación).



**Figura 1.7.** Representación esquemática de los distintos procesos de desestabilización que tienen lugar en las emulsiones [94].

**Floculación:** Este proceso se refiere a la agregación de las gotas, sin ningún cambio en el tamaño de la gota primaria, en unidades más grandes. Es el resultado de las atracciones de van der Waals que son universales con todos los sistemas dispersos. La floculación ocurre cuando no hay suficiente repulsión para mantener las gotas individuales separadas a distancias donde la atracción de van der Waals es débil. La fortaleza de esta desestabilización depende de la energía atractiva involucrada.

**Ostwald ripening:** Este efecto resulta de la solubilidad finita de las fases líquidas. Los líquidos a los que se hace referencia como "inmiscibles" a menudo tienen solubilidades mutuas que no son despreciables. En emulsiones polidispersas, debido a los efectos de curvatura, las gotas más pequeñas tienen una mayor solubilidad en comparación con las gotas más grandes. Con el tiempo, las gotas más pequeñas desaparecen y sus moléculas, que difunden al volumen, se depositan en las gotas más grandes. Con el tiempo, la distribución del tamaño de gota cambia a valores más grandes.

**Coalescencia:** Este proceso es el resultado de la fusión de dos gotas para formar una más grande. En casos límite de coalescencia se produce la separación completa de la emulsión en dos fases líquidas distintas.

**Inversión de fase:** En este proceso se produce un intercambio entre la fase dispersa y el medio. En muchos casos, la inversión de fase pasa por un estado de transición mediante el cual se producen múltiples emulsiones.

### 1.3.2.3.1. Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones son emulsiones *cinéticamente estables* de aspecto transparente o translúcido. Este tipo de emulsiones, también conocidas como miniemulsiones, se obtienen de forma espontánea con ayuda de agitación suave, y presentan tamaños de gota de 50-200 nm [96, 97] que evitan los problemas de desestabilización que sufren las emulsiones convencionales. El tamaño nanométrico de las gotas y su gran área superficial favorecen una penetración fácil y rápida a través de la piel, convirtiéndose así este tipo de emulsiones en una buena plataforma de encapsulación y liberación de principios activos [96].



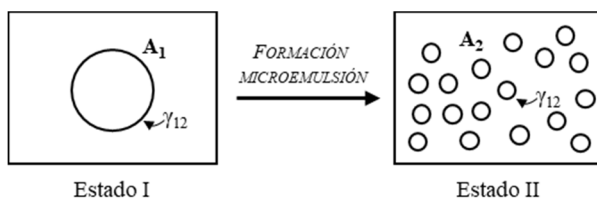
### 1.3.2.3.2. Microemulsiones

Las microemulsiones son dispersiones de agua y aceite *termodinámicamente estables* que se obtienen de forma espontánea y presentan un aspecto transparente [85, 98], lo cual supone un beneficio de cara al diseño de formulaciones cosméticas para la encapsulación de principios activos. Las gotas están estabilizadas por una película interfacial flexible formada por una molécula anfifílica, como un tensioactivo, en combinación con un co-tensioactivo tal como un compuesto polihidroxilado o un alcohol de cadena corta-media [99]. De hecho, la gran estabilidad de las microemulsiones es consecuencia de la baja tensión interfacial existente entre la fase acuosa y la fase oleosa ( $\gamma_{12}$ ) [85].

La espontaneidad del proceso de formación de este tipo de emulsiones se puede explicar recurriendo a la segunda ley de la termodinámica, donde la energía libre involucrada en la formación de las microemulsiones  $\Delta G_m$  viene dada por

$$\Delta G_m = \Delta A\gamma_{12} - T\Delta S^{conf} \quad (1.3)$$

donde  $\Delta A\gamma_{12}$  y  $T\Delta S^{conf}$  corresponden al incremento de energía interfacial y de entropía, respectivamente, cuando se pasa del estado I al estado II, tal y como se ilustra la Figura 1.8. En las microemulsiones,  $\Delta A\gamma_{12} < -T\Delta S^{conf}$  de modo que  $\Delta G_m < 0$ , por tanto, las microemulsiones se producen de manera espontánea y son sistemas termodinámicamente estables. Cabe mencionar que en las macroemulsiones  $\Delta A\gamma_{12} > -T\Delta S^{conf}$ , por lo que estos sistemas no se producen de manera espontánea ni son termodinámicamente estables [14]. En muchos casos para conseguir la formación de microemulsiones es necesario adicionar un componente adicional, denominado co-tensioactivo.



**Figura 1.8.** Esquema general de la formación microemulsiones [14].  $A_1$  es el área superficial de la gota,  $A_2$  el área de todas las gotas de la microemulsión, y  $\gamma_{12}$  es la tensión interfacial O/W o W/O. (Nótese que el estado II es más entrópico que el estado I.)

## 1.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Goddard ED. Application of Polymer–Surfactant Systems. In: Goddard ED, Ananthapadmanabhan KP, editors. Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 1998.
- [2] Szczepanowicz K, Bazylińska U, Pietkiewicz J, Szyk-Warszowska L, Wilk KA, Warszowski P. Biocompatible long-sustained release oil-core polyelectrolyte nanocarriers: From controlling physical state and stability to biological impact. Adv Colloid Interface Sci. 2015;222:678-91.

- [3] Llamas S, Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of Polyelectrolytes and Polyelectrolytes-Surfactant Mixtures at Surfaces: A Physico-chemical Approach to a Cosmetic Challenge. *Adv Colloid Interface Sci* 2015;222:461-87.
- [4] Martins IM, Barreiro MF, Coelho M, Rodrigues AE. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. *Chem Eng J*. 2014;245:191-200.
- [5] Barel AO, Paye M, Maibach HI. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. Boca Ratón, United States of America: CRC Press 2009.
- [6] Fisk P. *Chemical risk assessment: a manual for REACH*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [7] Dias MFRG. Hair cosmetics: an overview. *Int J Trichology*. 2015;7.
- [8] Halal J, Schoon DD. *Hair structure and chemistry simplified*. New York, United States of America: Milady Publishing Corporation; 2002.
- [9] Gubitosa J, Rizzi V, Fini P, Cosma P. Hair Care Cosmetics: From Traditional Shampoo to Solid Clay and Herbal Shampoo, *A Review Cosmetics*. 2019;6:13.
- [10] Yu Y, Yang W, Wang B, Meyers MA. Structure and mechanical behavior of human hair. *Mat Sci Eng C*. 2017;73:152-63.
- [11] Velasco M, de Sá Dias TC, Freitas A, Dias Vieira Júnior N, Pinto C, Kaneko T, et al. Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. *BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*. 2009;45.
- [12] Bhushan B. Nanoscale characterization of human hair and hair conditioners. *Prog Mater Sci*. 2008;53:585-710.
- [13] Mitsui T. *New cosmetic science*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science; 1997.
- [14] Tadros TF. *Applied surfactants: principles and applications*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2006.
- [15] Robbins CR. *Chemical and physical behavior of human hair*. Weinheim, Germany: Springer Verlag-VCH; 2012.
- [16] Draelos ZD. *Cosmetic dermatology: products and procedures*. Hoboken, United States of America: John Wiley & Sons; 2015.
- [17] Touitou E, Godin B, Karl Y, Bujanover S, Becker Y. Oleic acid, a skin penetration enhancer, affects Langerhans cells and corneocytes. *J Control Release*. 2002;80:1-7.
- [18] Patzelt A, Lademann J, Richter H, Darvin ME, Schanzer S, Thiede G, et al. In vivo investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier. *Skin Res Technol*. 2012;18:364-9.
- [19] Chen KH, Guo BZ, Luo JW. Quaternized carboxymethyl chitosan/organic montmorillonite nanocomposite as a novel cosmetic ingredient against skin aging. *Carbohydr Polym*. 2017;173:100-6.
- [20] Egawa G, Kabashima K. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;138:350-8.

- [21] Lin TK, Zhong LL, Santiago JL. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *Int J Mol Sci.* 2018;19:21.
- [22] Sahle FF, Gebre-Mariam T, Dobner B, Wohlrab J, Neubert RHH. Skin Diseases Associated with the Depletion of Stratum Corneum Lipids and Stratum Corneum Lipid Substitution Therapy. *Skin Pharmacol Physiol.* 2015;28:42-55.
- [23] Holleran WM, Takagi Y, Uchida Y. Epidermal sphingolipids: Metabolism, function, and roles in skin disorders. *FEBS Lett.* 2006;580:5456-66.
- [24] Boireau-Adamezyk E, Baillet-Guffroy A, Stamatas GN. Age-dependent changes in stratum corneum barrier function. *Skin Res Technol.* 2014;20:409-15.
- [25] Addor FASA. Beyond photoaging: additional factors involved in the process of skin aging. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2018;11:437-43.
- [26] Luengo GS, Galliano A, Dubief C. Aqueous lubrication in cosmetics. In: Spencer ND, editor. *Aqueous Lubrication: Natural and Biomimetic Approaches.* Chennai, India: World Scientific; 2014. p. 103-44.
- [27] Gradzielski M, Hoffmann I. Polyelectrolyte-surfactant complexes (PESCs) composed of oppositely charged components. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2018;35:124-41.
- [28] Varga I, Campbell RA. General Physical Description of the Behavior of Oppositely Charged Polyelectrolyte/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir.* 2017;33:5915-24.
- [29] Guzmán E, Llamas S, Maestro A, Fernández-Peña L, Akanno A, Miller R, et al. Polymer–surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2016;233:38-64.
- [30] Bain CD, Claesson PM, Langevin D, Meszaros R, Nylander T, Stubenrauch C, et al. Complexes of surfactants with oppositely charged polymers at surfaces and in bulk. *Adv Colloid Interface Sci.* 2010;155:32–49.
- [31] Nylander T, Samoshina Y, Lindman B. Formation of polyelectrolyte–surfactant complexes on surfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2006;123–126:105-23.
- [32] Holmberg K, Jönsson B, Kronberg B, Lindman B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution.* Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2002.
- [33] Thalberg K, Lindman B. Polymer-surfactant interactions recent developments. In: Goddard ED, Ananthapadmanabhan KP, editors. *Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins.* Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 1993.
- [34] Miyake M. Recent progress of the characterization of oppositely charged polymer/surfactant complex in dilution deposition system. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;239:146-57.
- [35] Rojas OJ, Claesson PM, Berglund KD, Tilton RD. Coadsorption and Surface Forces for Selective Surfaces in Contact with Aqueous Mixtures of Oppositely Charged Surfactants and Low Charge Density Polyelectrolytes. *Langmuir.* 2004;20:3221-30.
- [36] Banerjee S, Cazeneuve C, Baghdadli N, Ringeissen S, Leermakers FAM, Luengo GS. Surfactant-polymer interactions: molecular architecture does matter. *Soft Matter.* 2015;11:2504-11.

- [37] Banerjee S, Cazeneuve C, Baghdadli N, Ringeissen S, Lénforte F, Leermakers FAM, et al. Modeling of Polyelectrolyte Adsorption from Micellar Solutions onto Biomimetic Substrates. *J Phys Chem B*. 2017;121:8638-51.
- [38] Mészáros R, Thompson L, Bos M, Varga I, Gilányi T. Interaction of Sodium Dodecyl Sulfate with Polyethyleneimine: Surfactant-Induced Polymer Solution Colloid Dispersion Transition. *Langmuir*. 2003;19:609-15.
- [39] Mezei A, Pojják K, Mészáros R. Nonequilibrium Features of the Association between Poly(vinylamine) and Sodium Dodecyl Sulfate: The Validity of the Colloid Dispersion Concept. *J Phys Chem B*. 2008;112:9693-9.
- [40] Pojják K, Bertalanits E, Mészáros R. Effect of salt on the Equilibrium and Nonequilibrium Features of Polyelectrolyte/Surfactant Association. *Langmuir*. 2011;27:9139-47.
- [41] Bodnár K, Fegyver E, Nagy M, Mészáros R. Impact of Polyelectrolyte Chemistry on the Thermodynamic Stability of Oppositely Charged Macromolecules/Surfactant Mixtures. *Langmuir*. 2016;32:1259-68.
- [42] Piculell L, Lindman B. Association and Segregation in Aqueous Polymer/Polymer, Polymer/Surfactant, and Surfactant/Surfactant Mixtures: Similarities and Differences. *Adv Colloid Interface Sci*. 1992;41:149-78.
- [43] Piculell L. Understanding and Exploiting the Phase Behavior of Mixtures of Oppositely Charged Polymers and Surfactants in Water. *Langmuir*. 2013;29:10313-29.
- [44] Khan N, Brettmann B. Intermolecular Interactions in Polyelectrolyte and Surfactant Complexes in Solution. *Polymers*. 2018;11:51.
- [45] Dill K, Bromberg S. *Molecular driving forces: statistical thermodynamics in biology, chemistry, physics, and nanoscience*. New York, United States of America: Garland Science; 2012.
- [46] Hellebust S, Blokhuis AM, Nilsson S. Associative and segregative phase behaviour of a mixed aqueous cationic surfactant and anionic hydrophilic polymer system. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2004;243:133-8.
- [47] Sovilj V, Petrović L. Interaction and phase separation in the system HPMC/NaCMC/SDS. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2007;298:94-8.
- [48] Reynolds JA, Tanford C. The gross conformation of protein-sodium dodecyl sulfate complexes. *J Biol Chem*. 1970;245:5161-5.
- [49] Tardani F, Mesa CL. Titration of DNA/Carbon Nanotube Complexes with Double-Chained Oppositely Charged Surfactants. *Nanomaterials (Basel)*. 2015;5:722-36.
- [50] Yui N, Mrsny RJ, Park K. *Reflexive polymers and hydrogels: understanding and designing fast responsive polymeric systems*. Boca Ratón, United States of America: CRC press; 2004.
- [51] Wagner K. On the Interaction of Nucleotides with Basic Polyamino Acids. *Cooperative Binding Behavior*. 1969;10:261-7.
- [52] Ruchmann J, Fouilloux S, Tribet C. Light-responsive hydrophobic association of surfactants with azobenzene-modified polymers. *Soft Matter*. 2008;4:2098-108.

- [53] Kwak JC. Polymer-surfactant systems. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 1998.
- [54] Langevin D. Complexation of oppositely charged polyelectrolytes and surfactants in aqueous solutions. A review. *Adv Colloid Interface Sci.* 2009;147-148:170-7.
- [55] Nishio T, Shimizu T, Kwak JCT, Minakata A. The cooperative binding of large ligands to a one-dimensional lattice: the steric hindrance effect. *Biophys Chem.* 2003;104.
- [56] Nishio T, Shimizu T. Model analysis of surfactant-polymer interaction as cooperative ligand binding to linear lattice. *Biophys Chem.* 2005;117:19-25.
- [57] Wang C, Tam KC. New Insights on the Interaction Mechanism within Oppositely Charged Polymer/Surfactant Systems. *Langmuir.* 2002;18:6484-90.
- [58] Diab C, Winnik FM, Tribet C. Enthalpy of Interaction and Binding Isotherms of Non-ionic Surfactants onto Micellar Amphiphilic Polymers (Amphipols). *Langmuir.* 2007;23:3025-35.
- [59] Lapitsky Y, Parikh M, Kaler EW. Calorimetric Determination of Surfactant/Polyelectrolyte Binding Isotherms. *J Phys Chem B.* 2007;111:8379-87.
- [60] Goddard ED, Gruber JV. Principles of polymer science and technology in cosmetics and personal care. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 1999.
- [61] Radeva T. Physical chemistry of polyelectrolytes. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 2001.
- [62] Hoffmann I, Heunemann P, Prévost S, Schweins R, Wagner NJ, Gradzielski M. Self-Aggregation of Mixtures of Oppositely Charged Polyelectrolytes and Surfactants Studied by Rheology, Dynamic Light Scattering and Small-Angle Neutron Scattering. *Langmuir.* 2011;27:4386-96.
- [63] Campbell RA, Arteta MY, Angus-Smyth A, Nylander T, Varga I. Effects of Bulk Colloidal Stability on Adsorption Layers of Poly(diallyldimethylammonium Chloride)/Sodium Dodecyl Sulfate at the Air-Water Interface Studied by Neutron Reflectometry. *J Phys Chem B.* 2011;115:15202-13.
- [64] Llamas S, Guzman E, Baghdadli N, Ortega F, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of poly(diallyldimethylammonium chloride)-sodium methyl-cocoyl-aurate complexes onto solid surfaces. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2016;505:150-7.
- [65] Akanno A, Guzman E, Fernandez-Peña L, Llamas S, Ortega F, Rubio RG. Equilibration of a Polycation-Anionic Surfactant Mixture at the Water/Vapor Interface. *Langmuir.* 2018;34:7455-64.
- [66] Bali K, Varga Z, Kardos A, Varga I, Gilányi T, Domján A, et al. Effect of Dilution on the Nonequilibrium Polyelectrolyte/Surfactant Association. *Langmuir.* 2018;34:14652-60.
- [67] Llamas S, Guzmán E, Akanno A, Fernández-Peña L, Ortega F, Campbell RA, et al. Study of the Liquid/Vapor Interfacial Properties of Concentrated Polyelectrolyte-Surfactant Mixtures Using Surface Tensiometry and Neutron Reflectometry: Equilibrium, Adsorption Kinetics, and Dilational Rheology. *J Phys Chem C.* 2018;122:4419-27.
- [68] Naderi A, Claesson PM, Bergström M, Dédinaté A. Trapped non-equilibrium states in aqueous solutions of oppositely charged polyelectrolytes and surfactants: effect of mixing protocol and salt concentration. *Colloids Surf A.* 2005;253:83-93.

- [69] Bodnár K, Szarka K, Nagy M, Mészáros R. Effect of the Charge Regulation Behavior of Polyelectrolytes on Their Nonequilibrium Complexation with Oppositely Charged Surfactants. *J Phys Chem B*. 2016;120:12720-9.
- [70] Nylander T, Samoshina Y, Lindman B. Formation of polyelectrolyte–surfactant complexes on surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006;123-126:105-23.
- [71] Dedinaite A, Claesson PM. Interfacial Properties of Aggregates Formed by Cationic Polyelectrolyte and Anionic Surfactant. *Langmuir*. 2000;16:1951-9.
- [72] Clauzel M, Johnson ES, Nylander T, Panandiker RK, Sivik MR, Piculell L. Surface Deposition and Phase Behavior of Oppositely Charged Polyion–Surfactant Ion Complexes. Delivery of Silicone Oil Emulsions to Hydrophobic and Hydrophilic Surfaces. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2011;3:2451-62.
- [73] Van de Steeg HGM, Cohen Stuart MA, De Keizer A, Bijsterbosch BH. Polyelectrolyte adsorption: a subtle balance of forces. *Langmuir*. 1992;8:2538-46.
- [74] Knoll W, Advincula RC. *Functional Polymer Films: 2 Volume Set*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2011.
- [75] Dobrynin AV, Rubinstein M. Effect of Short-Range Interactions on Polyelectrolyte Adsorption at Charged Surfaces. *J Phys Chem B*. 2003;107:8260-9.
- [76] Salomäki M, Tervasmäki P, Areva S, Kankare J. The Hofmeister Anion Effect and the Growth of Polyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*. 2004;20:3679-83.
- [77] Samoshina Y, Nylander T, Claesson P, Schillén K, Iliopoulos I, Lindman B. Adsorption and Aggregation of Cationic Amphiphilic Polyelectrolytes on Silica. *Langmuir*. 2005;21:2855-64.
- [78] Samoshina Y, Nylander T, Shubin V, Bauer R, Eskilsson K. Equilibrium Aspects of Polycation Adsorption on Silica Surface: How the Adsorbed Layer Responds to Changes in Bulk Solution. *Langmuir*. 2005;21:5872-81.
- [79] Rojas OJ, Ernstsson M, Neuman RD, Claesson PM. Effect of Polyelectrolyte Charge Density on the Adsorption and Desorption Behavior on Mica. *Langmuir*. 2002;18:1604-12.
- [80] Lochhead RY. Shampoo and conditioner science. In: Evans T, Wickett RR, editors. *Practical Modern Hair Science*. Carol Stream, United States of America: Allured books; 2012. p. 75-115.
- [81] Goddard ED, Phillips TS, Hannan RB. Water Soluble Polymer-Surfactant Interaction—Part I. *J Soc Cosmet Chem*. 1975;26:461-75.
- [82] Lepilleur C, Mullay J, Kyer C, McCalister P, Clifford T. Use of statistical modeling to predict the effect of formulation composition on coacervation, silicone deposition, and conditioning sensory performance of cationic cassia polymers. *J Cosmet Sci*. 2011;62:161-77.
- [83] Goddard ED, Hannan RB. Cationic polymer/anionic surfactant interactions. *J Colloid Interface Sci*. 1976;55:73–9.
- [84] Bangham AD, Standish MM, Watkins JC. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol*. 1965;13:238-52.
- [85] Kulkarni VS. *Handbook of non-invasive drug delivery systems: science and technology*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier; 2009.

- [86] Gregoriadis G, Florence AT. Liposomes in drug delivery. Clinical, diagnostic and ophthalmic potential. *Drugs*. 1993;45:15-28.
- [87] Fielding RM. Liposomal drug delivery. Advantages and limitations from a clinical pharmacokinetic and therapeutic perspective. *Clin Pharmacokinet*. 1991;21:155-64.
- [88] Simão AMS, Bolean M, Cury TAC, Stabeli RG, Itri R, Ciancaglini P. Liposomal systems as carriers for bioactive compounds. *Biophys Rev*. 2015;7:391-7.
- [89] Mishra M. Handbook of encapsulation and controlled release. Boca Ratón, United States of America: CRC press; 2015.
- [90] Ganesan MG, Weiner ND, Flynn GL, Ho NFH. Influence of liposomal drug entrapment on percutaneous absorption. *Int J Pharm*. 1984;20:139-54.
- [91] Kirjavainen M, Urtti A, Jaaskelainen I, Suhonen TM, Paronen P, Valjakka-Koskela R, et al. Interaction of liposomes with human skin in vitro--the influence of lipid composition and structure. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1304:179-89.
- [92] Rajabalaya R, Musa MN, Kifli N, David SR. Oral and transdermal drug delivery systems: role of lipid-based lyotropic liquid crystals. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:393-406.
- [93] Oyafuso M, Carvalho F, M. Takeshita T, Ribeiro de Souza A, De Araujo D, Merino V, et al. Development and In Vitro Evaluation of Lyotropic Liquid Crystals for the Controlled Release of Dexamethasone. *Polymers*. 2017;9:330.
- [94] Tadros TF. Emulsion science and technology: a general introduction. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2009.
- [95] Khan AY, Talegaonkar S, Iqbal Z, Ahmed FJ, Khar RK. Multiple emulsions: an overview. *Curr Drug Deliv*. 2006;3:429-43.
- [96] Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv Colloid Interface Sci*. 2004;108-109:303-18.
- [97] Sjöblom J. Emulsions and emulsion stability: Surfactant science series. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 2005.
- [98] Klier J, Tucker CJ, Kalantar TH, Green DP. Properties and applications of microemulsions. *Adv Mater*. 2000;12:1751-7.
- [99] Boonme P. Applications of microemulsions in cosmetics. *J Cosmet Dermatol*. 2007;6:223-8.

## 2. MATERIALES Y TÉCNICAS

---

Este capítulo presenta una descripción general de los materiales, aspectos metodológicos y técnicas experimentales que se han empleado para el desarrollo del trabajo incluido en esta tesis. En la primera parte se recogen las características más representativas de los materiales y sustratos empleados. En particular, en la descripción de los polímeros y tensioactivos, se incluye información acerca de su potencial utilidad en casos prácticos. En la segunda parte del capítulo se describen los aspectos más relevantes de los fundamentos físicos en los que se basan las distintas técnicas instrumentales empleadas.

### 2.1. MATERIALES

#### 2.1.1. POLÍMEROS

Todos los polímeros utilizados, resumidos en la Tabla 2.1, presentan interés en la industria cosmética para el desarrollo de formulaciones para el cuidado y reparación del cabello [1]. Los tres primeros pertenecen a la familia de las sales de amonio cuaternario, comúnmente conocida como *polyquaternium*, y presentan una alta capacidad de adsorción a la queratina del cabello dañado. El cuarto polímero, también una sal de amonio cuaternario, deriva del polisacárido goma guar que se extrae de las legumbres de la familia *Cyamopsis tetragonoloba*.

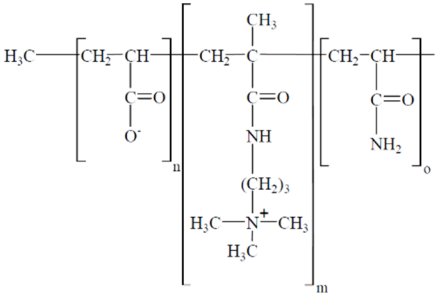
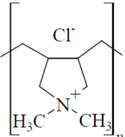
El *Merquat 2003*, conocido como polyquaternium-53, es un copolímero de ácido acrílico, cloruro de metilacrilamidapropiltrimonio (MAPTAC) y acrilamida. En cosmética se utilizan este tipo de copolímeros de sales de amonio cuaternario con co-monómeros neutros y cargados negativamente para facilitar el proceso de desenredado y mejorar el peinado en cabellos secos o húmedos. A pesar de que, de manera estricta, debería ser considerado como un polímero zwitteriónico, se considera catiónico debido a que el número de grupos cargados positivamente es superior al número de grupos cargados negativamente. El poli (cloruro de dialildimetilamonio), PDADMAC, es un homopolímero catiónico fuertemente cargado, frecuentemente utilizado en cosmética tanto en formulaciones para el cuidado del cabello como de la piel [1]. Este polímero es también conocido en aplicaciones cosméticas como Merquat 100 o polyquaternium-6. Más allá de sus usos en la industria cosmética, el PDADMAC ha sido ampliamente estudiado en el tratamiento de aguas como



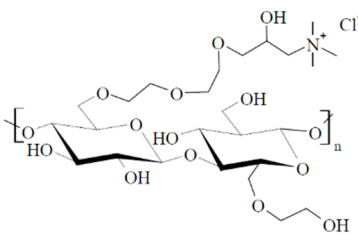
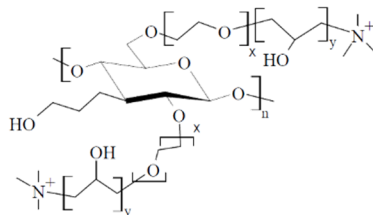
agente floculante, en la fabricación de papel como agente de retención y en la fabricación de multicapas[1-3].

**Tabla 2.1.** Cuadro resumen mostrando la estructura y especificaciones de los distintos polímeros.

### POLÍMEROS SINTÉTICOS

Copolímero de ácido acrílico, cloruro de metacrilamidapropiltrimonio y acrilamida (Merquat 2003)		
	<p>Composición monomérica: Ácido acrílico 10%/ MAPTAC 40%/ acrilamida 50%</p> <p>INCI: polyquaternium-53</p> <p>Nº de registro CAS: 84647-38-1</p> <p>Mw: 1200 kDa</p> <p>Viscosidad: 55536 cP (25°C)</p> <p>Materia activa: 20.5%</p> <p>Distribuidor: Lubrizol</p>	
Poli (cloruro de dialildimetilamonio) (PDADMAC)		
	<p>INCI: polyquaternium-6</p> <p>Nº de registro CAS: 26062-79-3</p> <p>Distribuidor: Sigma-Aldrich</p>	<p>Materia activa: 20%</p> <p>Mw: 100-200 kDa</p> <p>Viscosidad: 60-180 cP (25°C)</p>

### POLISACÁRIDOS

Hidroxietilcelulosa cuaternizada con cloruro de 2,3-epoxipropiltrimetilamonio (JR400)		
	<p>INCI: polyquaternium-10</p> <p>Número de registro CAS: 68610-92-4</p> <p>Mw: 400-500 kDa</p> <p>Materia activa: 100%</p> <p>Distribuidor: Sigma-Aldrich</p>	
Cloruro de hidroxipropil guar hidroxipropiltrimonio (Jaguar C162)		
	<p>Número de registro CAS: 71329-50-5</p> <p>Mw: 400-500 kDa</p> <p>Materia activa: 100%</p> <p>Distribuidor: Solvay</p>	

Los dos últimos polímeros, derivados de polisacáridos, suponen un avance en el desarrollo de nuevas formulaciones cosméticas ya que permiten mejorar la biodegradabilidad de las mismas. Además, reducen los efectos adversos de los polímeros convencionales por su menor carácter irritante y aportan lubricidad y tacto suave al cabello y la piel [1]. El primer polisacárido, la hidroxietilcelulosa cuaternizada con cloruro de 2,3-epoxipropiltrimetilamonio (JR400 o polyquaternium-10), es un polímero que contiene un esqueleto de origen celulósico natural como el algodón y la madera. El segundo polisacárido es el cloruro de hidroxipropil guar hidroxipropiltriamonio (Jaguar C162).

### 2.1.2. TENSIOACTIVOS

En la Tabla 2.2 se recogen los tensioactivos empleados. Estos se encuentran clasificados en dos grandes grupos: tensioactivos de origen natural y tensioactivos sintéticos.

Dentro de los tensioactivos de origen natural, o biotensioactivos, se han estudiado diversos tensioactivos pertenecientes a la familia de los *ramnolípidos*. Los ramnolípidos, que son una clase de glicolípidos constituidos por mono y disacáridos de ramnosa unidos por un enlace glicosídico a una molécula de  $\beta$ -hidroxidecanoil- $\beta$ -hidroxidecanoato, se obtienen por fermentación de *pseudomonas aeruginosa* y posteriormente se purifican [4-6]. Estos poseen grupos carboxilo que hacen que se comporten como tensioactivos aniónicos a  $\text{pH} > 4$ . En esta tesis se han estudiado dos mezclas de mono-ramnolípido (mono-RL) con di-ramnolípido (di-RL) así como ambos tensioactivos por separado con dos longitudes de cadena diferentes: 10 y 14 carbonos. Otro de los biotensioactivos utilizados es el caprilil/capril glucósido (APG), un alquil éter de glucosa que se obtiene a partir de materias primas de origen vegetal que presenta un carácter de tensioactivo neutro. El último tensioactivo de origen natural es el 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfolina (DOPC) que es un fosfolípido presente en las membranas celulares y se puede usar en la preparación de vesículas para la encapsulación de principios activos [7].

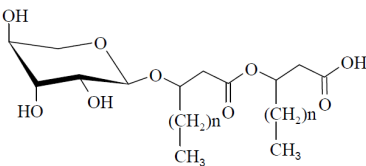
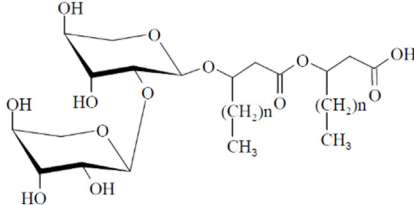
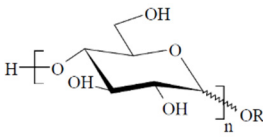
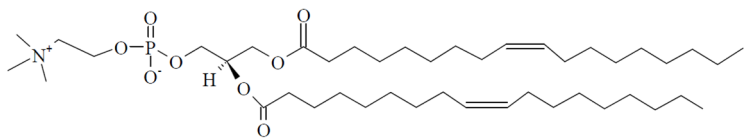
Dentro de los tensioactivos sintéticos se pueden encontrar diversos tipos dependiendo de la naturaleza de su cabeza polar (aniónicos, catiónicos y zwitteriónicos). Como tensioactivos aniónicos, se han utilizado el lauril éter sulfato sódico (LESS), el ácido carboxílico del lauril éter (AKYPO) y el dioctil sulfosuccinato sódico (AOT). El LESS tiene excelentes propiedades humectantes y emulsionantes. El AKYPO actúa como tensioactivo aniónico, cotensioactivo, solubilizante y emulsionante. El AOT, que posee doble cadena hidrofóbica, presenta una solubilidad apreciable en hidrocarburos, además de ser un buen emulsionante incluso en ausencia de cotensioactivos.

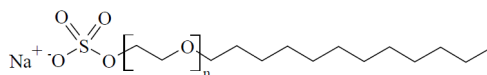
Los tensioactivos no-iónicos utilizados, además de ser buenos emulsionantes, se caracterizan por provocar una menor irritabilidad que los tensioactivos aniónicos. Dentro de este grupo se encuentran el tensioactivo zwitteriónico cocamidopropil betaína (CAPB) y los tensioactivos neutros monooleato de polioxietileno(20) sorbitano (TWEEN 80), Laureth-4 y Laureth-12. Estos dos últimos son tensioactivos lauril éter que contienen cadenas con diferente número de grupos oxietileno, el cual viene marcado por el número que acompaña al nombre laureth.

Tanto los tensioactivos catiónicos como los contraiones bromuro se intentan eliminar de las formulaciones cosméticas debido a su toxicidad (lisis de la pared celular) y la baja biodegradabilidad que presentan. No obstante, en esta tesis se han utilizado el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTABr) y el bromuro de dimetildioctadecilamonio (DODAB)

para el desarrollo de una serie de experimentos preliminares basados en la encapsulación de activos que presentan una alta hidrofobicidad.

**Tabla 2.2.** Estructura y especificaciones de los distintos tensioactivos.

<b>BIOTENSIOACTIVOS</b>		
<b>Mono-Ramrólípido (Mono-RL)</b>		
	<i>Mono-RL<sub>C10</sub></i>	<i>Mono-RL<sub>C14</sub></i>
	n: 6	10
Materia activa: 5%	5%	100%
N° de registro CAS: 37134-61-5		-
Distribuidor: L'Oréal París		
<b>Di-Ramrólípido (Di-RL)</b>		
	<i>Di-RL<sub>C10</sub></i>	<i>Di-RL<sub>C14</sub></i>
	n: 6	10
Materia activa: 5%	5%	100%
N° de registro CAS: 4348-76-9		-
Distribuidor: L'Oréal París		
<b>Mono-Ramrólípido + Di-Ramrólípido</b>		
	<b>EXTRACTO NATURAL</b>	<b>MEZCLA INDUSTRIAL</b>
Relación Mono-RL:di-RL:	35:50	55:41
Materia activa:	2%	1.13%
Distribuidor: L'Oréal París		
<b>Caprilil/capril glucósido (APG)</b>		
	<b><i>Ifracap</i>® LOS 2 N 70 LD</b>	
	INCI: caprylyl/capryl glucoside R= C <sub>8</sub> /C <sub>10</sub> (50%-50%)      n=1-3 Número de registro CAS: 68515-73-1 Materia activa: 60 wt% Distribuidor: SEPPIC	
<b>1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DOPC)</b>		
		
INCI: Dioleoyl phosphatidylcholine Número de registro CAS: 4235-95-4		Materia activa: 100% Distribuidor: Sigma-Aldrich

**TENSIOACTIVOS SINTÉTICOS****TENSIOACTIVOS ANIÓNICOS****Lauril éter sulfato sódico (LESS)*****Ifracon*® LOS 2 N 70 LD**

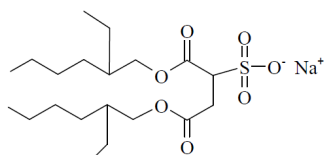
INCI: Sodium Laureth Sulfate (n=2)

Número de registro CAS: 68585-34-2

Aspecto: disolución acuosa

Materia activa: 70 wt%

Distribuidor: Ecogreen Oleochemicals

**Diocil sulfosuccinato sódico (AOT)**

INCI: Diethylhexyl sodium sulfosuccinate

Número de registro CAS: 577-11-7

Aspecto: sólido

Distribuidor: Sigma-Aldrich

**Ácido carboxílico del lauril éter (AKYPO)*****EMPICOL CED 5 / FL***

(Laureth-6 carboxylic acid)

Laureth-5 carboxylic acid

Huntsman

89.95%

R= C<sub>12</sub>/C<sub>14</sub> n=4.5

Número de registro CAS: 27306-90-7

Aspecto: disolución acuosa

***AKYPO RLM 45 CA***

(Laureth-5 carboxylic acid)

Laureth-6 carboxylic acid

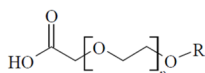
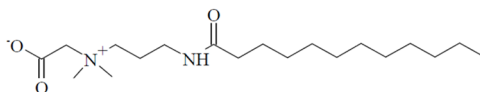
Kao Chemicals Europe

91.4%

INCI:

Distribuidor:

Materia activa:

**TENSIOACTIVOS NEUTROS Y ZWITTERIÓNICOS****Cocamidopropil Betaína (CAPB)*****MACKAM 50ULB***

INCI: Cocamidopropyl Betaine

Número de registro CAS: 61789-40-0

Aspecto: disolución acuosa

Materia activa: 38 wt%

Distribuidor: Solvay

**Lauril éter(n) (Laureth-n)**

INCI:

Número de registro CAS:

n:

***Ifracan L 4***

Laureth-4

5274-68-0

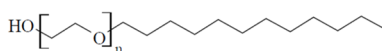
4

***Ifracan L 12***

Laureth-12

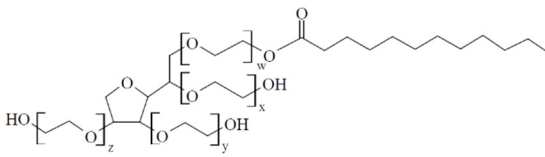
3056-00-6

12

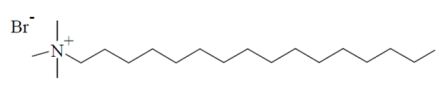
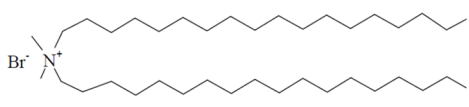


Materia activa: 100%

Distribuidor: Ecogreen Oleochemicals

Monooleato de polioxietilen(20) sorbitano ( <b>TWEEN 80</b> )	
	$x+y+z+w=20$ INCI: Polysorbate 80 Número de registro CAS: 9005-65-6 Materia activa: 100% Distribuidor: Sigma-Aldrich

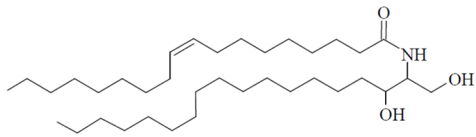
### TENSIOACTIVOS CATIÓNICOS

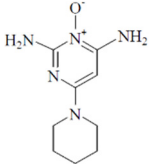
Bromuro de hexadeciltrimetilamonio ( <b>CTABr</b> )	
	INCI: Cetrimonium bromide Número de registro CAS: 9005-65-6 Materia activa: 100% Distribuidor: Sigma-Aldrich
Bromuro de dimetildioctadecilamonio ( <b>DODAB</b> )	
	INCI: Distearyldimethylammonium bromide Número de registro CAS: 3700-67-2 Materia activa: 100% Distribuidor: Sigma-Aldrich

### 2.1.3. PRINCIPIOS ACTIVOS

Uno de los problemas más importantes del desarrollo de formulaciones cosméticas para el cuidado personal, cuyo componente mayoritario suele ser agua, es la solubilización de principios activos altamente hidrofóbicos. Por tanto, es preciso buscar estrategias que permitan incrementar el grado de dispersión de estos principios activos en medio acuoso. Por este motivo, en el Capítulo 7 se van a estudiar distintos mecanismos de solubilización de estos principios activos. La Tabla 2.3 muestra las estructuras y características de los principios activos utilizados en esta tesis: la N-oleil-D-eritro-esfinganina (ceramida) y el minoxidil. El interés por las ceramidas viene del papel que desempeñan en la barrera protectora de la piel, en especial en la retención de agua de la misma cuya pérdida conduce a la aparición de arrugas y sequedad [8, 9]. Por su parte, el interés por el minoxidil reside en su habilidad para reducir la caída de cabello así como su capacidad para fomentar el crecimiento capilar [10].

**Tabla 2.3.** Estructura y especificaciones de los principios activos.

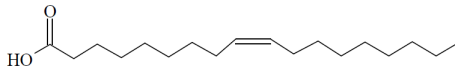
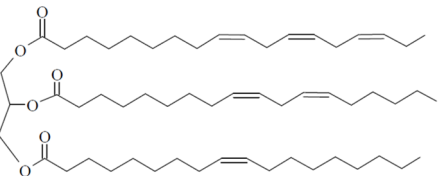
N-oleil-D-eritro-esfinganina ( <b>Ceramida</b> )	
	<b>Cer(d18:0/18:1(9Z))</b> INCI: 2-oleamido-1,3-octadecanediol Número de registro CAS: 54422-45-6 Materia activa: 100 wt% Distribuidor: Avanti Polar Lipids

Minoxidil	
	INCI: Pyrrolidinyl diaminopyrimidine oxide Número de registro CAS: 38304-91-5 Materia activa: 100 wt% Distribuidor: Sigma-Aldrich

### 2.1.4. ACEITES

Una buena estrategia para la solubilización de principios activos altamente hidrofóbicos es la preparación de emulsiones y microemulsiones. De modo que en el Capítulo 7 se van a estudiar este tipo de mecanismos, empleando como fase oleosa los aceites que se recogen en la Tabla 2.4.

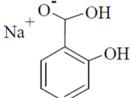
**Tabla 2.4.** Aceites: estructura y especificaciones.

Ácido oleico	
	N° de registro CAS: 112-80-1 Viscosidad: 39.1 mPa·s a 20°C Distribuidor: Fisher Scientific
Aceite de soja	
	Número de registro CAS: 8001-22-7 Viscosidad: 47 mPa·s a 20°C Distribuidor: Alfa Aesar

### 2.1.5. SALES

En los capítulos relacionados con el estudio del comportamiento de mezclas de polímeros, y mezclas polímero-tensioactivo, se ha empleado cloruro sódico o cloruro potásico en concentraciones semejantes al contenido presente en las formulaciones cosméticas. Por otro lado, la sal escogida para la formación de micelas catiónicas cilíndricas ha sido el salicilato sódico debido a la hidrofobicidad del contraión salicilato, cuyas especificaciones y estructura se recogen en la Tabla 2.5.

**Tabla 2.5.** Sales: estructura y especificaciones.

Sales comunes		
	<b>Cloruro potásico</b>	<b>Cloruro sódico</b>
Número de registro CAS:	7447-40-7	7647-14-5
Mw:	74.55 g·mol <sup>-1</sup>	58.44 g·mol <sup>-1</sup>
Distribuidor:	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich
Salicilato sódico		
	N° de registro CAS: 54-21-7 Mw: 160.10 g·mol <sup>-1</sup> Distribuidor: Merck	

## 2.2. SUSTRATOS

En este apartado se describen los distintos sustratos utilizados para el estudio de la y adsorción de las distintas mezclas estudiadas. Dentro de los sustratos se pueden encontrar dos grupos: sustratos modelo y sustratos naturales. En el primer grupo se recogen las obleas de silicio y los electrodos de oro empleados según el requerimiento de la técnica experimental. Como sustrato natural se incluyen las fibras capilares estandarizadas y suministradas por la empresa cosmética L'Oréal Research and Innovation (Aulnay-Sous Bois, France).

### 2.2.1. SUSTRATOS MODELO

Se emplea esta terminología dado que son superficies sólidas macroscópicas modificadas de modo que presenten una carga similar a la del cabello dañado. Es decir, es necesario conferirle una cierta densidad de carga negativa y un cierto grado de hidrofobicidad [11].

#### 2.2.1.1. OBLEAS DE SILICIO

Las obleas de silicio se utilizan como sustratos modelo en estudios tanto de elipsometría como de microscopía de fuerza atómica (AFM), presentando un tamaño de 1 y 0.5 pulgadas, respectivamente. Dichas obleas han sido suministradas por Sil'tronix Silicon Technologies (Francia). Previamente a su utilización, es necesario realizar una limpieza y activación de las mismas mediante oxidación de la superficie. Para este proceso se utiliza disolución piraña que es una mezcla de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en relación volumétrica 70:30. Esta mezcla, que presenta un alto poder oxidante, permite producir una capa homogénea de óxido de silicio que confiere carga negativa a la superficie del silicio.

### 2.2.1.2. ELECTRODOS DE ORO

Los experimentos de microbalanza de cristal de cuarzo disipativa requieren la utilización de sustratos que presenten una región electroactiva, por ello, para dichos experimentos se utilizan cristales de cuarzo sobre los que se han evaporado dos electrodos de oro. Debido a que la superficie de oro no presenta carga superficial, es necesario funcionalizarla. En esta tesis se ha empleado el 3-mercaptopropanosulfonato de sodio ( $\text{HS}-(\text{CH}_2)_3-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$ , Sigma-Aldrich, pureza  $>90^\circ$ ) por dos motivos: se forma un enlace covalente Au-SH y su grupo terminal  $\text{SO}_3^-$  simula la S-sulfocisteína del cabello dañado [11].

Para la funcionalización se sumerge el electrodo, previamente limpiado con disolución piraña, en una disolución saturada de  $\text{HS}-(\text{CH}_2)_3-\text{SO}_3^- \text{Na}^+$  en EtOH durante 24h. Aunque el enlace Au-SH es inmediato, se alarga el tiempo de inmersión para obtener una monocapa autoensamblada (SAM) con el menor número de defectos posibles y, por consiguiente, con una densidad de carga más homogénea [12]. Es importante reseñar que los experimentos realizados, utilizando electrodos de oro modificados siguiendo el procedimiento indicado, conducen a resultados similares. Esto permite la comparación de los estudios realizados mediante microbalanza de cuarzo disipativa y elipsometría.

### 2.2.2. SUSTRATOS NATURALES

Desde los orígenes, el culto por el cuerpo ha llevado al ser humano a usar distintos productos para protegerlo e hidratarlo. En consecuencia, el cuidado del cabello y la piel son los puntos clave para la investigación en el campo de la cosmética. De este modo, a pesar de que los estudios realizados con sustratos modelo proporcionan información relacionada con las bases químico-físicas de la aplicación de formulaciones cosméticas, para corroborar dichos datos es necesario realizar estudios sobre sustratos con características lo más similares posibles al sustrato real de los tratamientos cosméticos: el cabello.

#### 2.2.2.1. FIBRAS CAPILARES

Fibras capilares con distintos niveles de deterioro han sido utilizadas para estudiar la efectividad de su reparación con nuevas formulaciones cosméticas. El efecto la adsorción y absorción de las formulaciones cosméticas sobre dichas fibras capilares ha sido realizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

## 2.3. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

En los estudios contenidos en la presente tesis se han utilizado diferentes técnicas, englobadas en distintos grupos dependiendo de la información obtenida: caracterización de superficies sólidas, caracterización de disoluciones y caracterización de la composición.



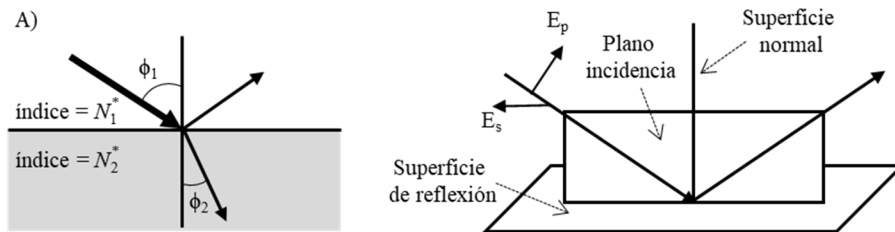
## 2.3.1. CARACTERIZACIÓN DE SUPERFICIES SÓLIDAS

### 2.3.1.1. ELIPSOMETRÍA [13]

El término “*elipsometría*” fue introducido en 1945 por Alexandre Rothen [14], aunque los primeros estudios con esta técnica, que permite estudiar superficies y películas finas, se remontan a finales del siglo XIX [15]. La elipsometría es la técnica que mide el cambio en el estado de polarización de la luz reflejada por la superficie de una muestra objeto de estudio, por lo que es necesario realizar una descripción breve de los principios fundamentales de la reflexión de la luz.

#### 2.3.1.1.1. Reflexión

Cuando la luz incide sobre una interfase que separa dos medios, parte de la luz es reflejada y parte transmitida (Figura 2.1.a). En el caso de los experimentos de elipsometría, la radiación empleada es plano polarizada y se pueden distinguir dos tipos de polarizaciones: *polarización p* en el plano de incidencia y *polarización s* perpendicular al plano de incidencia. Siendo el plano de incidencia aquel que contiene el haz de luz antes y después de la reflexión y es normal a la superficie (Figura 2.1.B).



**Figura 2.1.** A) Reflexión y transmisión en una interfase. B) Reflexión de la luz en una superficie.

### Coefficientes de reflexión de Fresnel

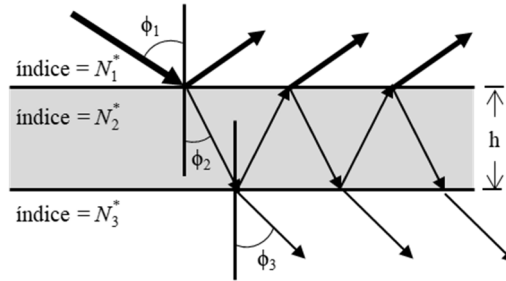
El cociente entre las amplitudes de las ondas reflejadas e incidentes permite definir el *coeficiente de reflexión de Fresnel*  $r$  que, para los dos estados de polarización  $p$  o  $s$ , se describe de la siguiente forma:

$$r_{12}^p = \frac{N_2^* \cos \phi_1 - N_1^* \cos \phi_2}{N_2^* \cos \phi_1 + N_1^* \cos \phi_2} \quad r_{12}^s = \frac{N_2^* \cos \phi_1 - N_1^* \cos \phi_2}{N_2^* \cos \phi_1 + N_1^* \cos \phi_2} \quad (2.1)$$

donde los superíndices  $p$  o  $s$  representan el estado de polarización de las ondas; los subíndices 1 y 2 hacen referencia a los medios que separan la interfase.;  $N^*$  es el índice de refracción complejo ( $N^* = n - ik$ ) y;  $\phi_1$   $\phi_2$  son los ángulos de incidencia y transmisión de las ondas en el medio, respectivamente.

### Coeficientes de Reflexión total por interfaces múltiples

Cuando en el material objeto de estudio existen múltiples interfaces (Figura 2.2), la reflexión total es la suma de la reflexión en la superficie exterior con todas las componentes de la reflexión en cada una de las interfaces intermedias donde se transmite la luz.



**Figura 2.2.** Reflexión y transmisión para un sistema compuesto por múltiples interfaces

Azzam[16] y Heavens[17] dedujeron la relación existente entre la amplitud de la onda reflejada resultante y la amplitud de la onda incidente, que viene dada por el *coeficiente de reflexión total*,  $R$ :

$$R^p = \frac{r_{12}^p + r_{23}^p e^{-2i\beta}}{1 + r_{12}^p r_{23}^p e^{-2i\beta}} \quad R^s = \frac{r_{12}^s + r_{23}^s e^{-2i\beta}}{1 + r_{12}^s r_{23}^s e^{-2i\beta}} \quad (2.2)$$

donde el subíndice “23” hace referencia al *coeficiente de reflexión de Fresnel* entre los medios 2 y 3, y  $\beta$  es el espesor de la fase que viene dado por:

$$\beta = 2\pi \left( \frac{h_{op}}{\lambda} \right) N_2^* \cos \phi_2 \quad (2.3)$$

donde  $h_{op}$  es el espesor de la película. Cuando  $h_{op} \rightarrow 0$  el coeficiente de reflexión total es igual al coeficiente de Fresnel entre el medio 1 y 3.

#### 2.3.1.1.2. Ángulos elipsométricos: *delta* ( $\Delta$ ) y *psi* ( $\Psi$ )

En la radiación, tanto incidente como reflejada, existe un desfase entre la componente paralela y perpendicular denotado por  $\delta$ . La diferencia de fase entre el haz incidente  $\delta_1$  y el reflejado  $\delta_2$  permite definir el ángulo elipsométrico  $\Delta$  que puede tomar valores entre  $0^\circ$  y  $360^\circ$ :

$$\Delta = \delta_1 - \delta_2 \quad (2.4)$$

Además de la diferencia de fase, tras la reflexión se puede producir una modificación en la amplitud de las componentes paralela y perpendicular de la luz. Este cambio viene definido por el ángulo elipsométrico  $\Psi$  que puede variar entre  $0^\circ$  y  $90^\circ$ .

$$\tan \psi = \frac{|R^p|}{|R^s|} \quad (2.5)$$

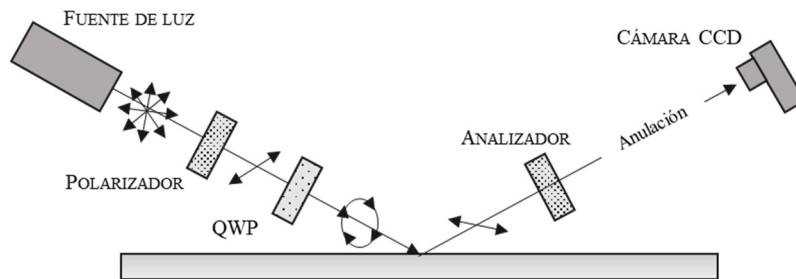
Finalmente, la cantidad compleja de ese cambio de amplitud, que viene dada por la razón compleja de los coeficientes de reflexión total, permite definir la ecuación fundamental de la elipsometría como:

$$\rho = \frac{R^p}{R^s} = e^{i\Delta} \tan \psi \quad (2.6)$$

### 2.3.1.1.3. Instrumentación

Las medidas de elipsometría han sido realizadas en el Centro de Espectroscopía y Correlación de la Universidad Complutense de Madrid, empleando un elipsómetro EP<sup>3</sup> de la empresa Nanofilm (Göttingen, Alemania).

La Figura 2.3 muestra un esquema general de un elipsómetro similar al utilizado en esta tesis incluyendo los elementos ópticos presentes en el mismo. El equipo está provisto de un láser de estado sólido del tipo Nd-YAG de longitud de onda de 532 nm y potencia máxima 50 mW como fuente de luz monocromática, seguido de un polarizador (P) que polariza linealmente la luz, a la cual se le induce, posteriormente, una elipticidad mediante una placa de cuarto de onda (QWP).



**Figura 2.3.** Esquema de un elipsómetro similar al elipsómetro Nanofilm EP<sup>3</sup> usado en los experimentos de esta tesis.

La luz elípticamente polarizada incide sobre la superficie de interés, recogiéndose su reflexión en un elemento óptico que determina el estado de la polarización resultante del haz de luz, el analizador rotatorio (A). Finalmente, como método de detección se utiliza una cámara CCD que permite determinar las condiciones en las que la intensidad de luz que le llega es mínima (*condiciones de anulación*).

### Condiciones experimentales

En el equipo utilizado, que es de tipo anulación (*Null-ellipsometry*), se fija la QWP en un ángulo de 45° (o -45°) y se giran tanto el polarizador como el analizador hasta que se anula

la intensidad del haz reflejado. Cabe mencionar que la combinación polarizador-QWP funciona como un polarizador elíptico ya que la elipticidad es ajustada de tal manera que tras la reflexión esta sea anulada y llegue luz linealmente polarizada al analizador. Según este procedimiento, al fijar el ángulo de la placa de cuarto de onda ( $45^\circ$  y  $-45^\circ$ ) y realizar restricciones angulares para evitar redundancias ( $180^\circ$  entre sí), se pueden reducir las combinaciones de anulación a cuatro zonas donde el analizador y polarizador deben encontrarse en los siguientes intervalos:

$$\text{Zona 1:} \quad -45^\circ < P_1 < 135^\circ \quad 0^\circ < A_1 < 90^\circ \quad \text{QWP} = 45^\circ \quad (2.7.a)$$

$$\text{Zona 2:} \quad -45^\circ < P_2 < 135^\circ \quad 0^\circ < A_2 < 90^\circ \quad \text{QWP} = -45^\circ \quad (2.7.b)$$

$$\text{Zona 3:} \quad -135^\circ < P_3 < 45^\circ \quad -90^\circ < A_3 < 0^\circ \quad \text{QWP} = 45^\circ \quad (2.7.c)$$

$$\text{Zona 4:} \quad -135^\circ < P_4 < 45^\circ \quad -90^\circ < A_4 < 0^\circ \quad \text{QWP} = -45^\circ \quad (2.7.d)$$

La relación de los ángulos elipsométricos  $\Delta$  y  $\Psi$  con los ángulos A y P en cada una de las cuatro zonas queda del siguiente modo:

$$\Delta_{1,2} = 270^\circ - 2P_{1,2} \quad \Delta_{3,4} = 90^\circ - 2P_{3,4} \quad (2.8.a)$$

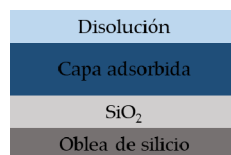
$$\Psi_{1,2} = A_{1,2} \quad \Psi_{3,4} = A_{3,4} \quad (2.8.b)$$

Si la compensación de la elipticidad es exacta sería posible utilizar cualquiera de las cuatro zonas para el cálculo de  $\Delta$  y  $\Psi$ . Sin embargo, el uso del valor promedio de las distintas zonas reduce errores.

Por último, mencionar que en esta tesis se han realizado los experimentos en líquido y para ello es necesaria una célula especial que limita las medidas a un ángulo de incidencia fijo de  $60^\circ$ .

#### 2.3.1.1.4. Análisis de datos [16]

En elipsometría el análisis de los datos consiste en ajustar los ángulos elipsométricos  $\Delta$  y  $\Psi$  a un modelo de interfase concreto que, para el caso de los experimentos realizados en esta tesis, se ilustra en la Figura 2.4. Dicho modelo se caracteriza por el espesor e índice de refracción de cada capa. La primera capa corresponde al sustrato empleado, silicio, cuyo índice de refracción es  $n=4.1653-0.049i$ . La segunda capa es la capa nativa de óxido de silicio donde  $n=1.4605$  y su espesor se obtiene del análisis de los datos experimentales antes de la adsorción. La tercera capa corresponde a la



**Figura 2.4.** Modelo de cuatro capas empleado para el análisis de los datos obtenidos mediante elipsometría.

capa adsorbida sobre la superficie, y cuyo espesor e índice de refracción quieren ser conocidos. Por último, la capa externa (cuarta capa) es la disolución para la que se supone un índice de refracción constante e igual al de la disolución polimérica.

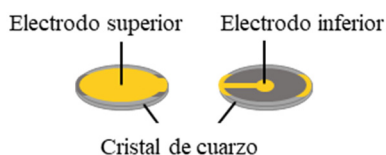
El análisis de los datos se ha llevado a cabo mediante una rutina de minimización numérica tipo Simplex [18, 19] ajustando la elipticidad a partir de la resolución de las ecuaciones de Fresnel. El programa iterativo permite resolver dichas ecuaciones minimizando las diferencias entre los valores de  $\Delta$  y  $\Psi$  experimentales y calculados. A partir de esa minimización se pueden extraer los valores del espesor e índice de refracción de las distintas capas.

### 2.3.1.2. MICROBALANZA DE CRISTAL DE CUARZO DISIPATIVA

La microbalanza de cristal de cuarzo disipativa (QCM-D) es un dispositivo altamente sensible a las pequeñas variaciones de masa debido a la adsorción de material sobre la superficie de su elemento activo: el cristal de cuarzo. Lo anterior la ha convertido en una técnica de gran precisión para determinar el espesor y el módulo de cizalla de películas adsorbidas sobre superficies sólidas tanto en fase líquida como en fase gas. Esto se debe a los cambios que experimenta la frecuencia de resonancia ( $f_0$ ) del cristal de cuarzo al hacerlo su masa [20, 21].

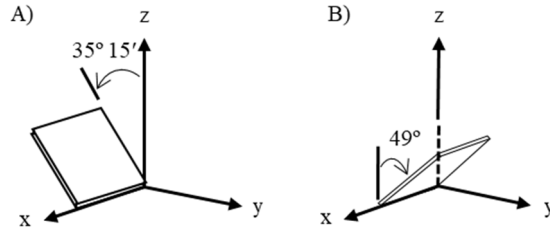
Es por ello que la parte esencial de la QCM-D es un cristal de cuarzo que posee propiedades piezoeléctricas, lo que quiere decir que existe una correlación entre los cambios de propiedades eléctricas y mecánicas del cristal debidas a la adsorción de material sobre su superficie [20].

El cristal se encuentra entre dos electrodos, uno en la parte superior y otro en la parte inferior del mismo (Figura 2.5) El electrodo inferior, generalmente de oro, actúa como contacto eléctrico con el resto del circuito oscilador [22], mientras que el superior, también de oro en los estudios realizados en esta tesis, es la superficie donde se deposita el material objeto de estudio.



**Figura 2.5.** Representación esquemática de un cristal de cuarzo (panel izquierdo) y sus correspondientes ejes cristalográficos (panel derecho).

Generalmente los sensores de cuarzo se emplean como resonadores que trabajan en modo de cizalla (TSM). El ángulo de corte del cristal de cuarzo determina el modo de vibración mecánica inducida en el resonador y define la estabilidad de su frecuencia de resonancia. El mejor corte del cristal, y más ampliamente utilizado, el de tipo AT que a su vez ha sido empleado en esta Tesis (ver Figura 2.6).



**Figura 2.6.** Corte del cristal de cuarzo [21]. A) Tipo AT. B) Tipo BT.

El origen de esta técnica data en 1959 de la mano de Günter Sauerbrey [23], quien la desarrolló como una técnica gravimétrica de alta precisión. Sin embargo, la versión actual permite, junto a la determinación de la masa depositada, obtener información de las propiedades viscoelásticas de la película adsorbida mediante la determinación de la energía disipada por el cristal en cada oscilación, la cual es medida a través del factor-D [24].

### 2.3.1.2.1. Modelo analítico de Sauerbrey

Como ya se ha mencionado, Sauerbrey demostró que se podía relacionar el cambio de la frecuencia de resonancia del cristal con la masa adsorbida sobre la superficie del electrodo. Esta relación lineal entre el cambio de frecuencia  $\Delta f$  y la masa adsorbida  $\Delta m$  viene dada por:

$$\Delta m = -\frac{C}{\kappa} \Delta f \quad (2.9)$$

donde  $\kappa$  es el número del armónico considerado ( $\kappa = 1$  corresponde a la frecuencia fundamental y  $\kappa(\text{impar}) > 1$  corresponde a los distintos sobretonos de la frecuencia fundamental) y  $C$  es un factor de sensibilidad dependiente del cristal de cuarzo utilizado y que viene definido:

$$C = \frac{t_q \rho_q}{f_0} \quad (2.10)$$

siendo  $t_q$  y  $\rho_q$  el espesor y la densidad del cristal, respectivamente.  $f_0$  presenta un valor de 5 MHz para los cristales utilizados en esta tesis [20]. El valor del factor de sensibilidad para los cristales utilizados es de  $17.7 \text{ Hz} \cdot \text{ng} \cdot \text{cm}^{-2}$ .

No obstante, la relación definida por la ecuación de Sauerbrey no toma en consideración que la mayoría de los experimentos que se realizan usando la microbalanza de cuarzo disipativa (QCM-D) implican el estudio del proceso de adsorción sobre el cristal desde una disolución, lo que introduce una contribución a la variación de frecuencia de resonancia del cristal de cuarzo que depende de la viscosidad  $\eta_L$  y densidad  $\rho_L$  de la solución [25]. El efecto de la naturaleza del disolvente sigue la expresión deducida por Kanazawa y Gordon [26] que permite correlacionar la variación de frecuencia que ocurre en un cristal de cuarzo por estar en contacto con un líquido en función de las propiedades del cuarzo y de las características del líquido:

$$\Delta f = - \left[ \frac{f_0^{3/2}}{(\pi \mu_q \rho_q)^{1/2}} \right] (\rho_L \eta_L)^{1/2} \quad (2.11)$$

donde  $\mu_q$  representa el módulo de cizalla del cristal de cuarzo, el cual asume un valor de  $2.95 \cdot 10^{10}$  N/m<sup>2</sup>. La variación de  $\Delta f$  calculada en términos de la ecuación (2.11) concuerda de manera razonable con los datos experimentales para la mayoría de los sistemas estudiados en la literatura [27]. Sin embargo, para disoluciones extremadamente viscosas [28], o cuando se usan cristales altamente rugosos (rugosidad superior a una 0.1  $\mu\text{m}$ ) [29], pueden aparecer desviaciones del comportamiento descrito anteriormente[30].

### 2.3.1.2.2. Incorporación del factor de disipación

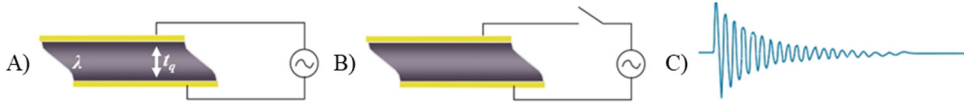
La ecuación de Sauerbrey es un caso límite, y su aplicabilidad queda reducida al cumplimiento de las siguientes condiciones:

1. La masa adsorbida debe ser pequeña en relación a la masa del cristal.
2. La película debe ser rígida. Es decir, su movimiento no debe sufrir retardo con respecto al cristal.
3. La masa adsorbida debe estar distribuida homogéneamente por todo el área activa del electrodo.

En los años 80 del pasado siglo se comenzó a utilizar la QCM para estudiar la adsorción de materiales sobre la superficie del cristal desde disoluciones. Sin embargo, este tipo de muestras incorporan una contribución viscosa al cambio de frecuencia del cristal, vulnerando así la primera condición para que se pueda aplicar la ecuación de Sauerbrey [26]. Esta limitación provocó la aparición de nuevos enfoques de la QCM para poder caracterizar aquellos depósitos en los que su carácter viscoso provoca la aparición de fenómenos de disipación de energía asociados a la fricción. Para este tipo de muestras, además de conocer las variaciones de la frecuencia, es indispensable conocer la disipación de energía durante el proceso de oscilación del cristal. La determinación del factor de disipación puede realizarse recurriendo a diferentes enfoques, siendo los dos más frecuentemente utilizados: (I) la monitorización del decaimiento de la oscilación del cristal en las proximidades de la frecuencia de resonancia después de una rápida excitación mediante la aplicación de una diferencia de potencial, y (II) el análisis de impedancias.

#### I. Monitorización QCM-D

El funcionamiento de la microbalanza de cristal de cuarzo disipativa (QCM-D) se basa en el hecho de que al aplicar una diferencia de potencial sobre el cristal de cuarzo de corte A, se excita su oscilación en el modo de cizalla con una longitud de onda  $\lambda$ , propagándose esta oscilación a lo largo del espesor del cristal (TSM). La Figura 2.7.A muestra esquemáticamente el funcionamiento de la QCM-D durante la aplicación de la diferencia de potencial.



**Figura 2.7.** Esquema del funcionamiento de una QCM-D. A) Oscilación del electrodo de cuarzo cuando existe una diferencia de potencial aplicada sobre él. B) Eliminación de la diferencia de potencial aplicada sobre el electrodo de cuarzo. C) Fenómeno de amortiguamiento de la oscilación del cristal de cuarzo una vez que se elimina la diferencia de potencial. Adaptado a la referencia [20].

El método de determinación de la disipación consiste en detener la aplicación de la diferencia de potencial  $U$  sobre el cristal piezoeléctrico a un determinado tiempo  $t=0$ . En dichas condiciones la diferencia de potencial decae con el tiempo definiendo una función sinusoidal amortiguada  $U(t)$  (ver Figura 2.7.C) [31]:

$$U(t) = A_0 e^{-t/\tau} \text{sen}(2\pi ft + \phi) \quad t \geq 0 \quad (2.12)$$

donde  $A_0$  es la amplitud del decaimiento,  $\phi$  es la fase y  $\tau$  es el tiempo característico de decaimiento que se relaciona con el factor de disipación:

$$D = \frac{1}{\pi f \tau} = \frac{1}{Q} = \frac{E_{\text{disipada}}}{2\pi E_{\text{almacenada}}} \quad (2.13)$$

siendo  $Q$  el factor de calidad,  $E_{\text{disipada}}$  la energía disipada durante un ciclo de oscilación y  $E_{\text{almacenada}}$  la energía almacenada en el sistema de oscilación.

## II. Análisis de impedancias

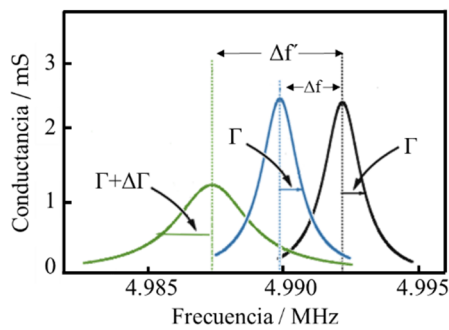
Un procedimiento paralelo al de la determinación de la disipación mediante el estudio del decaimiento de la oscilación, es la metodología desarrollada por Johannsmann et al. [32-35]. Dicha metodología consiste en aplicar una aproximación basada en circuitos equivalentes para realizar el análisis cuantitativo del espectro de impedancias. El análisis de impedancias se lleva a cabo conectando el cristal de cuarzo a un analizador de impedancias y aplicando sobre el cristal una diferencia de potencial a diferentes frecuencias.

Se ha de tener en cuenta que la frecuencia se define como una magnitud compleja  $f^* = f_0 + i\Gamma$  donde la parte real es la frecuencia de resonancia  $f_0$  y la componente imaginaria es la anchura de banda  $\Gamma$  (ver Figura 2.8). Tanto la adsorción del material como su componente elástica se asocian a variaciones en  $f_0$ . En cambio, la componente de fricción viscosa se asocia a  $\Gamma$ . Es por ello que el análisis de los espectros de impedancias es complicado.

En la Figura 2.8 se muestra un ejemplo de la posible modificación de un espectro de impedancias debido a la adsorción de materiales con distintas características mecánicas. Al adsorberse un material sobre la superficie del cristal se observa una disminución de la frecuencia de resonancia, tanto si la película es rígida como si presenta características viscoelásticas. Dicho efecto no es ninguna novedad, siendo predicho por la ecuación de



Sauerbrey. Sin embargo, dependiendo de la naturaleza de la película adsorbida, se pueden encontrar, o no, modificaciones en la anchura del espectro de impedancias del cristal. De este modo, se observa que si la película tiene un carácter rígido (curva azul), la anchura de la banda no se ve modificada ya que se mueve solidariamente con el cristal, no existiendo fenómenos de disipación debidos a la fricción. En cambio, si la película adsorbida tiene naturaleza viscoelástica (curva verde), se produce un ensanchamiento de la banda “ $\Gamma+\Delta\Gamma$ ” como consecuencia del retardo en la oscilación de la muestra con respecto al cristal debido a las características viscoelásticas del material adsorbido. Cabe resaltar que el hecho de que la película adsorbida presente características viscoelásticas, invalida la utilización de la ecuación de Sauerbrey para la obtención de la cantidad de materia adsorbida sobre el cristal, siendo necesario introducir consideraciones adicionales al tratamiento de datos.



**Figura 2.8.** Espectro de impedancias idealizado. — Cristal sin masa adsorbida  
— Cristal + película rígida — Cristal + película viscoelástica.

Tanto el método de monitorización, descrito en el apartado anterior, como el de análisis de impedancias han demostrado ser válidos para el estudio de películas viscoelásticas depositadas sobre un cristal de cuarzo [34, 36]. Ambos son equivalentes dada la relación existente entre la disipación o el factor de calidad y la anchura de banda del espectro de impedancias, tal y como se muestra en la siguiente ecuación:

$$D = \frac{1}{Q} = \frac{2\Gamma}{f} \quad (2.14)$$

### 2.3.1.3. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LAS PELÍCULAS ADSORBIDAS

Anteriormente se ha comentado que las propiedades viscoelásticas de las películas depositadas limitan la utilización del modelo de Sauerbrey para la determinación de la cantidad de materia adsorbida sobre el cristal debido a los efectos de la disipación de energía durante la oscilación. Es por ello que se deben incluir consideraciones adicionales al análisis de los resultados experimentales que tengan en cuenta el papel de las características viscoelásticas del material adsorbido en la respuesta del cristal de cuarzo. En general, para la representación de la respuesta de películas viscoelásticas se utiliza el modelo de Voigt que ha demostrado su validez tanto en líquido como en gas. Este modo se caracteriza por un módulo de cizalla complejo  $G_f$  definido por:

$$G_f = G_f' + iG_f'' = \mu_f + i2\pi f\eta_f = \mu_f (1 + 2\pi f\tau) \quad (2.15)$$

donde  $G_f'$  módulo de almacenamiento,  $G_f''$  módulo de pérdidas,  $\mu_f$  el módulo elástico de cizalla,  $\eta_f$  viscosidad de cizalla y,  $\tau$  es el tiempo característico de la relajación del material adsorbido ( $\tau = \eta_f/\mu_f$ ).

Considerando una película viscoelástica de espesor uniforme, rodeada por un fluido Newtoniano semi-infinito, y asumiendo que su comportamiento puede ser definido a un componente elástico en paralelo con un componente viscoso y que además existen condiciones de no deslizamiento, es posible obtener los cambios de frecuencia  $\Delta f$  y disipación  $\Delta D$  de la parte imaginaria y real de la función  $\beta$ , respectivamente [37, 38]:

$$\Delta f = \frac{Im(\beta)}{2\pi t_q \rho_q} \quad (2.16)$$

$$\Delta D = -\frac{Re(\beta)}{\pi f_q t_q \rho_q} \quad (2.17)$$

donde  $\beta$  depende del módulo elástico de cizalla “ $\mu_f$ ” y de la viscosidad de cizalla “ $\eta_f$ ”:

$$\beta = \xi_1 \frac{2\pi f\eta_1 - i\mu_1}{2\pi f} \frac{1 - \alpha e^{2\xi_1 h_{ac}}}{1 + \alpha e^{2\xi_1 h_{ac}}} \quad (2.18)$$

$$\alpha = \frac{\frac{\xi_1}{\xi_2} \frac{2\pi f\eta_1 - i\mu_1}{2\pi f\eta_2} + 1}{\frac{\xi_1}{\xi_2} \frac{2\pi f\eta_1 - i\mu_1}{2\pi f\eta_2} - 1} \quad (2.19)$$

$$\xi_1 = \sqrt{\frac{(2\pi f)^2 \rho_1}{\mu_1 + i2\pi f\eta_1}} \quad (2.20)$$

$$\xi_2 = \sqrt{i \frac{2\pi f \rho_2}{\eta_2}} \quad (2.21)$$

siendo  $h_{ac}$  el espesor de la película viscoelástica que proporciona información sobre la cantidad de materia adsorbida,  $\mu_1$  el módulo elástico de la película,  $\rho_1$  y  $\rho_2$  la densidad de la película y el líquido respectivamente y, a su vez,  $\eta_1$  y  $\eta_2$  la viscosidad de la película y el líquido.

### 2.3.1.3.1. Equipo de medida

El equipo utilizado ha sido una microbalanza de cristal de cuarzo disipativa (QCM-D) modelo Z-500 de KSV (Finlandia) que permite realizar medidas del proceso de adsorción y crecimiento de películas en disolución. Los cristales de cuarzo utilizados presentan dos electrodos de oro en ambas caras del cristal de cuarzo. Dichos cristales presentan corte A, un diámetro de 14 mm y un espesor 0.3 mm.

El equipo utilizado permite realizar medidas de la frecuencia de resonancia fundamental del cristal de cuarzo (5 MHz) y de sus correspondientes armónicos impares hasta el undécimo, lo que facilita la determinación de la cantidad de materia depositada sobre el cristal.

### I. Análisis de los datos

El análisis de los datos experimentales se ha realizado empleando el paquete comercial QCM-Z *Browse*. Este software, mediante el algoritmo de Levenberg-Marquard, realiza una minimización de las diferencias existentes entre la impedancia experimental y la calculada.

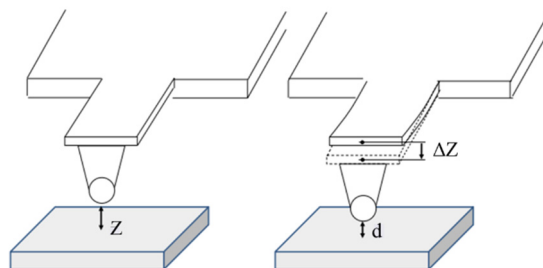
#### 2.3.1.4. MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA

La microscopía de fuerza atómica (AFM), también conocida como microscopía de fuerza de barrido (SFM) [39], surgió en 1982 de la mano de Binnig, Quate y Gerber [40] para superar las limitaciones de la microscopía de efecto túnel (STM), cuya aplicación se encuentra restringida al estudio de materiales conductores [41].

El AFM, así como sus predecesores, STM y microscopio óptico de campo cercano, pertenece al grupo de microscopios de sonda de barrido (SPM). Estos microscopios tienen un método operativo común que consiste en aproximar una sonda a la muestra objeto de estudio con el fin de obtener mapas de interacción entre la sonda y la superficie, lo que permite, a su vez, obtener imágenes [42].

El funcionamiento de un AFM depende de las fuerzas de interacción que tienen lugar entre una punta afilada y la superficie del material a estudiar. Estas fuerzas son ubicuas y se dan entre puntas y superficies de cualquier material, es decir, se dan sin necesidad de que el sustrato o la punta presenten ninguna característica específica.

Habitualmente, la punta se encuentra colocada en el final de un cantiléver o palanca cuya deflexión está perfectamente monitorizada. La Figura 2.9 muestra cómo las fuerzas de interacción entre la punta y la superficie provocan que el cantiléver, con una constante elástica  $k_c$  ( $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$ ) situado a una distancia  $z$  de la superficie, experimente una deflexión hacia la superficie. Cabe mencionar que cuando la distancia  $z$  es lo suficientemente pequeña, las fuerzas de interacción pueden presentar valores en el intervalo  $10^{-7} - 10^{-13}$  N [41].



**Figura 2.9.** Secuencia de eventos cuando la punta del cantiléver se aproxima a la superficie del sustrato [41].

Por otro lado, cuando la deflexión es lo suficientemente pequeña, el movimiento del cantiléver se puede describir en términos de la ley de Hook, que predice una restauración igual y opuesta a la fuerza de interacción que ha provocado la deflexión:

$$F_{\text{restauración}} = -k_c \Delta Z \quad (2.22)$$

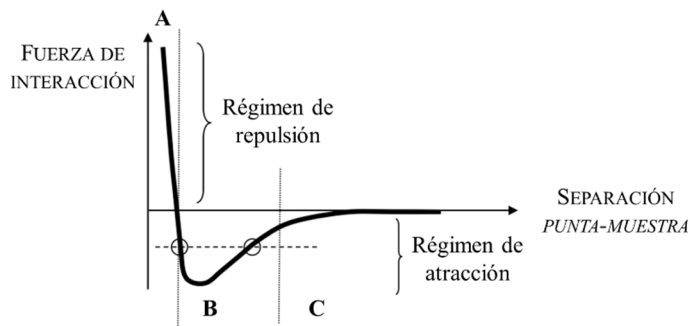
Atendiendo a la Tabla 2.6, que muestra las características de una serie de microcantilévares comerciales, se puede comprobar que la longitud, anchura y espesor del cantiléver tienen gran influencia en la constante elástica y, consecuentemente, en la deflexión del cantiléver.

**Tabla 2.6.** Características de distintos cantilévares comerciales de la empresa MikroMasch con sus dimensiones características, constantes elásticas  $k_c$  y frecuencias de resonancia  $f_0$ .

Material	longitud	anchura	espesor	$k_c / N \cdot m^{-1}$			$f_0 / kHz$		
	μm			mín.	típica	máx.	mín.	típica	máx.
Si	250 ± 5	35 ± 3	2 ± 0.5	0.3	0.8	2	30	40	55
Si	350 ± 5	35 ± 3	2 ± 0.5	0.1	0.3	0.6	15	20	30
Si	250 ± 5	32.5 ± 3	1 ± 0.5	0.01	0.09	0.36	8	20	32

Generalmente, la interacción entre la punta y la muestra tiene una componente normal a la superficie y otra componente lateral en el plano de la superficie. Aunque esta interacción puede ser muy compleja, se puede esperar que tal interacción se pueda aproximar al esquema mostrado en la Figura 2.10.

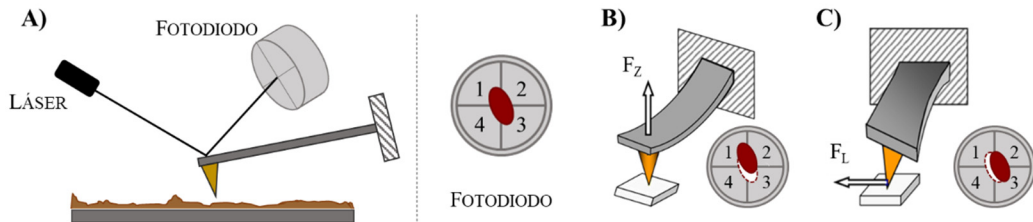
Desde un punto de vista cualitativo, existen diferentes regímenes en la fuerza de interacción ( $F$ ) entre la punta y la superficie en función de la separación, siendo posible utilizar un potencial anarmónico para la describir la curva fuerza–distancia. Cuando la



**Figura 2.10.** Esquema que ilustra la variación de la fuerza de interacción en función de la separación entre la punta y el sustrato. Tres regiones (A, B, C) están indicadas. Se logran diferentes modos de obtención de imágenes cuando la punta se coloca en cada región [41].

distancia entre la punta y la superficie es alta, la fuerza de interacción es prácticamente nula. A medida que el cantiléver se acerca al sustrato aparece un régimen de atracción ( $F < 0$ ) donde la interacción atractiva se hace más favorable (región C y B) hasta llegar a la distancia de aproximación en la que la interacción es máxima (mínimo de la curva fuerza-distancia). Una vez superado dicho régimen, se entra en un régimen en el que la aproximación de la punta a la superficie provoca una interacción repulsiva ( $F > 0$ ) forzando que el microcantiléver se separe del sustrato cuando la punta entra en contacto con el mismo (región A) [41, 43]. La existencia de distintas regiones en la interacción punta-superficie define la aparición de diferentes tipos de operación para la realización de experimentos de AFM, correspondiendo la región C a experimentos en los que no existe contacto (NC-AFM), la región B a aquellos en los que existe un contacto intermitente (TM-AFM) y la región A, a aquellos en los que existe un contacto continuo entre la superficie y la punta (C-AFM).

Para la adquisición de la topografía de la superficie se determinan las pequeñas deflexiones del cantiléver a medida que se desplaza sobre la muestra, empleándose para ello un sistema óptico que debe estar alineado de tal manera que el haz del láser reflejado sobre el cantiléver incida en el centro de un fotodetector constituido por cuatro fotodiodos, usados como fotodetectores sensibles a la posición (Figura 2.11.A) [43].



**Figura 2.11.** A) Descripción esquemática del sistema óptico que detecta la deflexión del cantiléver con la posición inicial del láser en el fotodiodo. B) Flexión del cantiléver con el correspondiente cambio de posición del láser en el fotodiodo. C) Torsión del cantiléver con el correspondiente cambio de posición del láser en el fotodiodo [43].

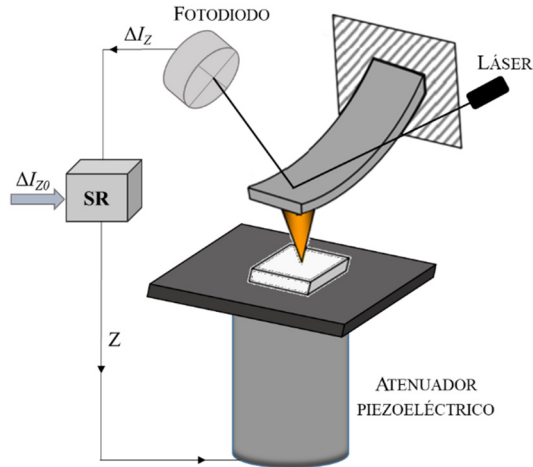
El sistema óptico de detección permite medir tanto la flexión del cantiléver debida a fuerzas de atracción o repulsión ( $F_Z$ ) como la torsión del cantiléver debida a las componentes laterales ( $F_L$ ) de la interacción entre la punta y la superficie. Si se designan los valores iniciales de la corriente fotoeléctrica en el fotodiodo como  $I_i$ , y tras el cambio en la posición del cantiléver  $I_i'$ , se puede caracterizar el valor y la dirección de la flexión y torsión del cantiléver en función del cambio de dicha posición como  $\Delta I_i = I_i' - I_i$ . De modo que la diferencia de corriente fotoeléctrica proporcional a la flexión del cantiléver debida a la fuerza normal a la superficie (Figura 2.11.B) se expresa como:

$$\Delta I_Z = (\Delta I_1 + \Delta I_2) - (\Delta I_3 + \Delta I_4) \quad (2.23)$$

mientras que la diferencia de corriente correspondiente a la flexión del cantiléver debida a las fuerzas laterales (Figura 2.11.C) toma la siguiente forma:

$$\Delta I_L = (\Delta I_1 + \Delta I_4) - (\Delta I_2 + \Delta I_3) \quad (2.24)$$

El valor de  $\Delta I_Z$  se utiliza como parámetro en un sistema de retroacción (SR) del AFM (Figura 2.12) que mantiene dicho valor constante con ayuda de un escáner piezoeléctrico, que controla la distancia punta-muestra de manera que  $\Delta Z$  sea igual que el valor inicial predeterminado  $\Delta Z_0$ . Finalmente, el voltaje del escáner se recoge como topografía  $Z = f(x, y)$  [43].



**Figura 2.12.** Esquema simplificado del sistema de retroacción del AFM.  $\Delta I_z$  es la diferencia de corriente fotoeléctrica proporcional a la flexión del cantiléver y  $Z$  el voltaje del escáner.

#### 2.3.1.4.1. Modos de operación

Los métodos de operación en AFM se pueden dividir en *modo estático*, donde la punta no vibra durante el escaneo, y *modo dinámico* donde se excita el cantiléver de manera que vibre a su frecuencia de resonancia.

En el modo dinámico se puede modular tanto la amplitud (AM-AFM) como la frecuencia (FM-AFM). Normalmente, al primero se suele referir como modo intermitente o modo *tapping*, siendo este el modo utilizado en esta tesis. En él, la punta se excita a una amplitud fija y los cambios en la misma proporcionan información estructural de la superficie generándose una imagen topográfica [44].

#### 2.3.1.4.2. Equipo de medida

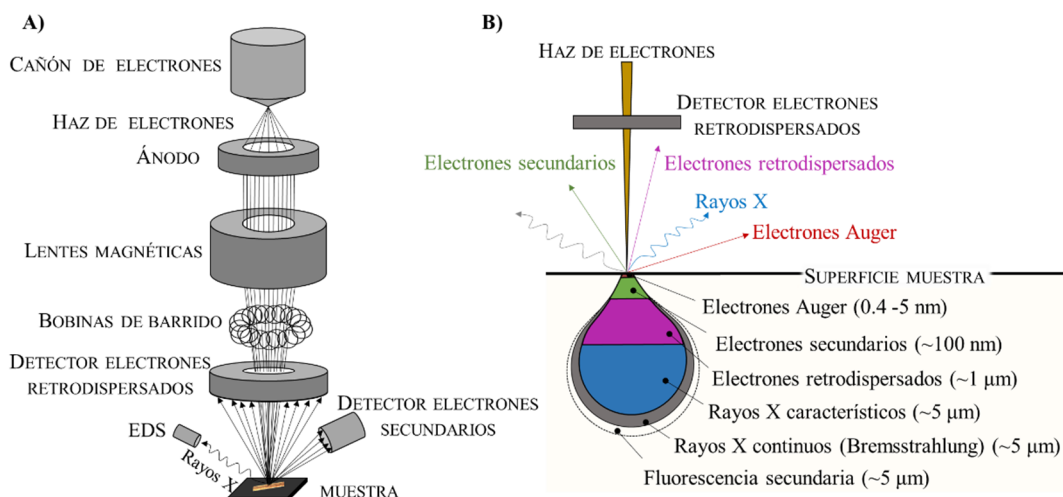
El equipo que se ha utilizado es el microscopio de fuerza atómica modelo Ntegra Spectra de la empresa NT-MDT (Rusia), del Centro de Espectroscopía y Correlación de la Universidad Complutense de Madrid. El tratamiento de las imágenes topográficas, y sus correspondientes perfiles de alturas, se ha realizado con el paquete de análisis Image Analysis 3.5.0.2069.

### 2.3.1.5. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La microscopía electrónica de barrido (MEB o SEM) es una de las técnicas más versátiles para el análisis morfológico y la caracterización de la composición química de materiales orgánicos e inorgánicos a escala nano y micrométrica [45, 46]. A diferencia de las microscopías ópticas, en lugar de un haz de luz, esta técnica emplea un haz fino de electrones que son acelerados a alta energía (0.1 - 30 keV) [45, 47].

Tras la generación del haz de electrones, este viaja en el vacío a través de las lentes electromagnéticas, aperturas y bobinas de barrido presentes en la columna del microscopio hasta llegar al compartimento donde se encuentra la muestra (Figura 2.13.A). Cuando el haz de electrones golpea y penetra en la muestra, esta desvía el haz en un modo de dispersión elástica e inelástica dando lugar a una gran variedad de señales. La dispersión inelástica tiene lugar cuando los electrones incidentes que interactúan con los átomos y electrones de la muestra pierden y transfieren su energía cinética a los núcleos atómicos. La pérdida de energía depende de si los electrones de la muestra se excitan de manera individual o colectiva y de la energía de enlace del electrón al átomo. Como resultado de la excitación de los electrones durante la ionización de sus átomos se generan los *electrones secundarios* que se caracterizan por poseer energías inferiores a 50 eV y se emplean para obtener información acerca de la topografía de la superficie. La dispersión elástica, en cambio, tiene lugar cuando el electrón incidente es desviado de su trayectoria por el núcleo atómico sin producirse pérdida de energía cinética en el proceso. Cuando los electrones incidentes sufren una dispersión elástica mayor de 90° se les conoce como *electrones retrodispersados* los cuales son más energéticos y producen una señal útil para la obtención de imágenes. Además de las señales que se utilizan para la formación de imágenes, cuando el haz de electrones interactúa con la muestra se producen otro tipo de señales entre las que se incluyen los electrones Auger, rayos X característicos y rayos X continuos [46, 47].

Cuando un electrón primario colisiona con el interior de un átomo de la muestra, un electrón de la capa interna es expulsado de su órbita y se aleja de los límites del átomo. Este proceso provoca que haya una vacante en el orbital y conduce al átomo a un estado



**Figura 2.13.** A) Esquema de un microscopio electrónico de barrido. B) Esquema de los volúmenes de interacción al dispersar el haz dentro de la muestra.

energético excitado. No obstante, la vacante es inmediatamente cubierta por un electrón de otra capa más externa devolviendo así al átomo a su estado fundamental. En este proceso se libera una energía, en forma de fotón de rayos X, equivalente a la diferencia de energía entre las dos capas electrónicas. Estos rayos X se denominan *rayos X característicos*, ya que son exclusivos del elemento del que proceden. Además de esto se genera un fondo continuo como consecuencia de la desaceleración de los electrones de alta energía a medida que interactúan con la nube de electrones y con los núcleos atómicos en la muestra (*rayos X continuos*). La combinación de ambos da lugar al espectro EDS (espectroscopía de rayos X por energía dispersiva o *energy-dispersive x-ray spectroscopy*) característico de la muestra en cuestión [46].

Como se observa en la Figura 2.13.B, cuando el haz de electrones incide sobre la superficie de la muestra los electrones no permanecen confinados en la superficie ni tampoco penetran en línea recta, sino que los eventos de dispersión elástica e inelástica provocan que los electrones penetren en profundidad y se extiendan lateralmente a lo largo de la muestra formando un *volumen de interacción* relativamente grande. La densidad de los eventos de dispersión elástica cambian desde el punto donde impacta el haz hasta el límite del volumen de interacción, por ello es importante darse cuenta de que este es el volumen de la muestra de donde se extraen todas las imágenes y la información microquímica [47].

#### 2.3.1.5.1. Condiciones experimentales

Cuando la muestra en estudio no es conductora, el haz de electrones que golpea la superficie no encuentra un camino conductor para disiparse y los electrones se acumulan dentro de la muestra en forma de una carga negativa localizada, que es conocida como *acumulación de carga* o carga de la muestra. Este tipo de carga electrostática aumenta el potencial local interrumpiendo la emisión normal de electrones secundarios y por consiguiente degrada la capacidad de obtención de imágenes en SEM [47]. De este modo, como las muestras aquí estudiadas no son conductoras, se requiere realizar una pulverización catódica sobre las mismas para evitar el proceso de carga.

#### 2.3.1.5.2. Equipo de medida

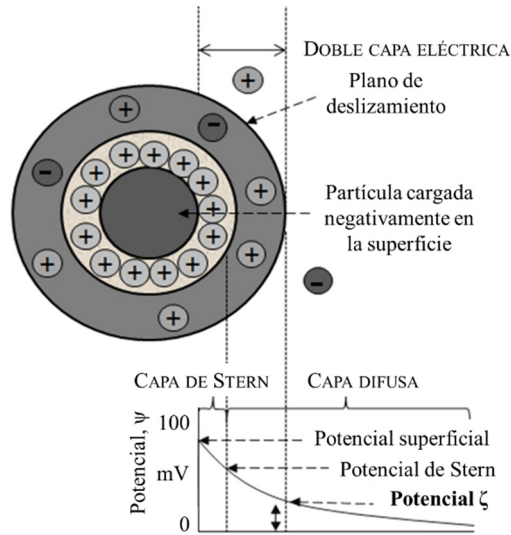
Las medidas de SEM se han realizado en el Centro Nacional de Microscopía Electrónica usando el microscopio electrónico JEOL modelo JSM 7600F. La elección de este microscopio viene dictada por su configuración, ya que permite obtener imágenes de alta resolución usando voltajes de aceleración de corriente de electrones relativamente bajos, lo que reduce los problemas de degradación en materiales blandos, y está provisto de un sistema de análisis elemental EDS que permite la caracterización de la composición de la muestra.

### 2.3.2. CARACTERIZACION EN DISOLUCIÓN

#### 2.3.2.1. MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA.

Muchas de las propiedades importantes de los sistemas coloidales son consecuencia, directa o indirectamente, de la carga eléctrica de las partículas siendo la distribución de carga de





**Figura 2.14.** Esquema de la doble capa eléctrica alrededor de la partícula cargada.

las partículas en muchos aspectos responsable del comportamiento del flujo de la suspensión coloidal y de la estabilidad de las partículas en relación a la coagulación [48].

En general, se acepta que las partículas coloidales poseen un exceso de carga superficial como resultado de la ionización de los grupos funcionales o de la adsorción de otros iones presentes en el medio. Este exceso de carga superficial genera una distribución de carga alrededor de la partícula cuya estructura adopta la forma de *doble capa eléctrica* y es debida a la atracción de los contraiones hacia la superficie y a la repulsión de los co-iones desde la misma. Como ilustra la Figura 2.14, la doble capa está formada por dos regiones con propiedades claramente diferenciadas: la primera, más próxima a la superficie de la partícula y de poco espesor, donde los iones se encuentran firmemente ligados, se denomina capa rígida o de Stern [49], y la segunda, más extendida, donde el efecto térmico permite un movimiento iónico más acusado, se denomina capa difusa [50, 51].

En la capa difusa se encuentra un plano de deslizamiento donde la distribución iónica se rompe en caso de que la partícula se ponga en movimiento. Este proceso de ruptura, que tiene lugar cuando se aplica una diferencia de potencial, se produce a lo largo de la superficie de separación de las capas rígida y difusa, y se le denomina *potencial zeta* ( $\zeta$ ) o potencial electrocinético. Una relación teórica entre el potencial  $\zeta$  y la velocidad que adquiere la partícula por unidad de campo eléctrico aplicado, o *movilidad electroforética*, puede deducirse a partir de consideraciones simples que se van a detallar a continuación.

Cuando una partícula se ve sometida a un campo eléctrico externo  $E$ , como consecuencia de la aplicación de una diferencia de potencial entre dos electrodos separados una distancia  $l$ , esta experimenta una fuerza  $F_{elec}$  que la acelera y una fuerza viscosa que se opone al movimiento. Cuando se alcanza un estado de equilibrio entre ambas fuerzas la partícula adquiere una velocidad límite  $v$ , que viene dada por:

$$F_{elec} = Eq = f_v \cdot v \quad \text{o lo que es lo mismo} \quad v = \frac{F_{elec}}{f_v} = \frac{E \cdot q}{f_v} \quad (2.25)$$

donde  $f_v$  es la resistencia a la fricción que, según la ley de Stokes, para esferas toma un valor de  $f_v = 6\pi\eta a$ , siendo el campo eléctrico en la superficie de una partícula esférica con radio  $a$  y carga superficial  $q$ :

$$E = \frac{1}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \frac{q}{a^2} \quad (2.26)$$

siendo  $\epsilon$  la permitividad relativa,  $\epsilon_0$  la permitividad en el vacío y  $q=4\pi\epsilon\epsilon_0 a \zeta$ , que se deduce del trabajo necesario para separar la capa rígida de la capa difusa:

$$\psi = \int_a^\infty E da = \frac{1}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \int_a^\infty \frac{q}{a^2} \cdot da = \frac{1}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \frac{q}{a} = \zeta \quad (2.27)$$

Finalmente, siguiendo la ecuación de Henry, la movilidad electroforética se relaciona con la velocidad límite y el potencial  $\zeta$  de la siguiente forma:

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{q}{f_v} = \frac{2\pi\epsilon\epsilon_0 \zeta}{3\eta} \cdot f(\kappa a) \quad (2.28)$$

donde  $f(\kappa a) = 1$  en el límite de Hückel y  $f(\kappa a) = 1.5$  en el límite de Smoluchowski.

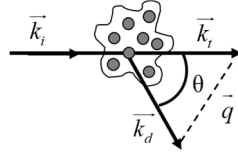
### 2.3.2.1.1. Equipo de medida

Los experimentos han sido realizados empleando el equipo Zeta Nanosizer modelo ZS de Malvern Instruments (USA) dotado de un láser de He-Ne con una longitud de onda de 632 nm. Este equipo combina la Velocimetría de Láser Doppler con la dispersión de luz para análisis de fase (PALS de sus siglas en inglés) en una técnica patentada llamada M3-PALS. Esto permite mejorar el análisis de muestras que presentan alta conductividad o muy baja movilidad así como calcular sus distribuciones de movilidad.

### 2.3.2.2. DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)

La dispersión de luz dinámica (DLS), a la que en ocasiones se hace referencia como dispersión cuasi-elástica de luz (QELS), es una técnica ampliamente utilizada para la caracterización de suspensiones coloidales y poliméricas ya que aporta información del comportamiento dinámico de estos sistemas.

El fundamento de esta técnica está basado en la dispersión de la luz cuando la radiación electromagnética interacciona con la materia (Figura 2.15). Cuando la luz atraviesa una suspensión coloidal, el campo eléctrico incidente  $\vec{E}_i$  induce un dipolo oscilante ( $\mu = \alpha \vec{E}_i$ ) que produce una radiación secundaria denominada *dispersión Rayleigh* que se dispersa en todas las direcciones [52].



**Figura 2.15.** Fenómeno de dispersión. La dispersión de la luz sobre la partícula cambia el vector de onda de  $\vec{k}_i$  a  $\vec{k}_d$ . Como resultado de la colisión, la dirección de vector cambia, pero no lo hace la longitud de onda. Por lo tanto, la longitud del vector permanece sin cambios.

La diferencia entre los vectores de onda de las radiaciones incidente y dispersada, se denomina vector de onda de dispersión o vector de transferencia de momento  $q$ . Dado que la transferencia de momento es muy pequeña, o lo que es lo mismo, las longitudes de onda incidente y dispersada son aproximadamente iguales  $\lambda_i \approx \lambda_d$ , y por tanto  $|\vec{k}_i| \approx |\vec{k}_d| = k$ , es posible expresar el vector de onda como:

$$|\vec{q}|^2 = |\vec{k}_d - \vec{k}_i|^2 \approx 4k^2 \text{sen}^2\left(\frac{\theta}{2}\right) = \frac{16\pi^2 n_0^2}{\lambda_i^2} \text{sen}^2\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.29)$$

siendo la magnitud del vector de onda:

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda_i} \text{sen}\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.30)$$

donde  $n_0$  es el índice de refracción del medio y  $\theta$  el ángulo de dispersión considerado.

La intensidad de luz dispersada por un número  $N$  de partículas se puede expresar de la siguiente manera:

$$I_{d,\text{total}}(t) = I_{d,n} \sum_{j=1}^N \sum_{k=1}^N \cos(\phi_j(t) - \phi_k(t)) \quad (2.31)$$

donde la intensidad de luz está indicada explícitamente en función del tiempo, siendo dicha dependencia debida al movimiento al azar de los coloides (*movimiento Browniano*) [53]. Es por ello que la técnica de DLS utiliza las fluctuaciones temporales de la luz dispersada para la obtención de la función de autocorrelación de intensidades  $G^2(t)$  definida como el promedio temporal del producto de la intensidad en dos tiempos discretos separados por un intervalo  $t$ :

$$G^2(t) = \langle I_d(t') I_d(t'+t) \rangle = \langle |E_d(t')|^2 |E_d(t'+t)|^2 \rangle \quad (2.32)$$

cuando el intervalo de tiempo es igual a cero ( $t=0$ ) se promedia el producto de la señal quedando  $G^2(t)$ :

$$G^2(t) = \langle I_d(t')I_d(t) \rangle = \langle I_d^2 \rangle \quad (2.33)$$

mientras que cuando el intervalo es muy grande,  $t \rightarrow \infty$ , las señales que se producen en ambos instantes dejan de estar correlacionadas y el correlador obtiene la función de autocorrelación de intensidad  $G^2(t)$  que toma la siguiente forma:

$$G^2(t) = \langle I_d(t')I_d(t) \rangle = \langle I_d \rangle^2 \quad (2.34)$$

Si el sistema es ergódico la **relación de Siegert** [54] permite establecer una conexión entre esta y la función de autocorrelación del campo eléctrico  $G^1(t)$ :

$$G^2(t) = \langle I_d \rangle^2 + |G^1(t)|^2 \quad (2.35)$$

que, normalizando:

$$g^2(t) = \frac{G^2(t)}{\langle I_d \rangle^2} = 1 + \beta |g^1(t)|^2 \quad (2.36)$$

donde  $\beta$  es conocido como *factor de coherencia*, denominado así por su relación con el número de áreas coherentes que ve el detector, y  $g^1(t)$  el factor de estructura dinámico [55, 56]:

$$g^1(t) = \frac{\langle E_d(t')E_d(t'+t) \rangle}{\langle E_d(t) \rangle^2} \quad (2.37)$$

En esta tesis se han empleado tres métodos de análisis de la función de autocorrelación para determinar el coeficiente de difusión: el método de cumulantes, el método CONTIN y la exponencial expandida.

### 2.3.2.2.1. Método de cumulantes

El método de cumulantes es válido para sistemas con dispersión Rayleigh y un único decaimiento en la función de autocorrelación, que corresponde a una distribución de intensidades monomodal, cuya anchura se debe a la polidispersidad. El análisis de la función de autocorrelación se realiza mediante una expansión polinómica [57]:

$$\ln g^2(t) = \ln A - \Gamma t + \frac{\mu_2}{2} t^2 - \frac{\mu_3}{6} t^3 + \dots \quad (2.38)$$

donde  $A$  es la amplitud de la función de autocorrelación,  $\mu_2$  y  $\mu_3$  los cumulantes de segundo y tercer orden respectivamente y  $\Gamma$  el promedio del inverso del tiempo de relajación  $\tau$ , que se relaciona con el coeficiente de difusión  $D$  y el vector de onda  $q$  según:

$$\Gamma = \frac{1}{\tau} = D \cdot q^2 \quad (2.39)$$

El índice de polidispersidad  $PdI$  se puede determinar a partir del segundo cumulante y del promedio de la frecuencia de decaimiento:

$$PdI = \frac{\mu_2}{\Gamma^2} \quad (2.40)$$

Cabe mencionar que  $\mu_3$  da información de la asimetría de la distribución aunque generalmente el ajuste polinómico se realiza truncando a orden 2.

Una vez conocido el coeficiente de difusión se puede calcular el radio hidrodinámico aparente<sup>1</sup> mediante la ecuación de Stokes-Einstein [53]:

$$R_h = \frac{k_B T}{6\eta\pi D} \quad (2.41)$$

y la correspondiente anchura de la distribución de tamaños:

$$anchura = \frac{\sqrt{\mu_2}}{\Gamma} R_h \quad (2.42)$$

#### 2.3.2.2.2. Método CONTIN

El método de regulación restringida para la inversión de datos (CONTIN), que fue desarrollado por Provencher [58-60], se cumple para sistemas polidispersos así como muestras multimodales que no se pueden ajustar por el método de cumulantes. Para este tipo de sistemas  $g^1(t)$  no puede representarse como un decaimiento único sino como una integral de intensidades ponderada sobre una distribución de tasas de decaimiento  $G(\Gamma)$  representada como:

$$g^1(t) = \int_0^\infty G(\Gamma) e^{-\Gamma t} d\Gamma \quad (2.43)$$

---

<sup>1</sup> La utilización estricta de la ecuación de Stokes-Einstein para relacionar el coeficiente de difusión y el radio hidrodinámico implica que las fluctuaciones de concentración medidas obedezcan un proceso difusivo, que la difusión se produzca en un fluido estacionario newtoniano, que la concentración de difusores sea infinitamente pequeña (ausencia de interacciones), que las partículas que difunden tengan geometría esférica, bajo número de Reynolds y condiciones de contorno en la interfase fluido-partícula *non-slip*.

La obtención de  $G(\Gamma)$  se realiza mediante la transformada inversa de Laplace (ILT) que da lugar a un problema matemático donde pueden aparecer múltiples soluciones. De modo que el método CONTIN emplea una técnica estadística no lineal para suavizar la solución, un parámetro de regularización basado en la *prueba-F* de Fisher [61] y un principio de parsimonia que elige la función de distribución con menos grados de libertad (más sencilla) que concuerda con los datos, dando como resultado distribuciones más estrechas. El ajuste se realiza mediante la ecuación (2.46) que incluye la minimización de los residuos regularizados y una función de probabilidad adecuada [62]:

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^N \left( \frac{1}{\sigma_j^2} \right) \left[ g^1(t_j) - \int G(\Gamma) e^{(-\Gamma t_j)} d\Gamma \right]^2 + \alpha^2 \|LG(\Gamma)\|^2 \quad (2.44)$$

donde  $\sigma$  es el peso estadístico,  $L$  es el operador del regularizador y  $\alpha$  es el regularizador que agrega una restricción adicional a la solución mientras se realiza el análisis de datos relacionado en el proceso de minimización de  $\chi^2$ .

### 2.3.2.2.3. Método de exponencial expandida

Debido a la alta polidispersidad de las muestras *polímero-tensioactivo* estudiadas en esta tesis, no se puede hablar en términos de distribuciones discretas, sino de una única distribución considerablemente ancha ya que se tienen agregados supramoleculares de una gran variedad de tamaños, es por ello que se ha utilizado como modelo para describir las funciones de autocorrelación una exponencial expandida, la cual es capaz de describir de manera robusta y satisfactoria los datos experimentales que se detallarán en los próximos capítulos:

$$g^2(t) - 1 = A e^{\left( -\left( \frac{t}{\tau_s} \right)^\beta \right)} \quad (2.45)$$

donde  $\beta$  el factor de estrechamiento que proporciona información de la anchura de la distribución de tamaños ( $0.5 < \beta < 1$ ). Cuanto más alejado de 1 y más próximo a 0.5 sea su valor, más ancha será la distribución de tamaños.

A partir del valor de  $\beta$ , y el tiempo de la exponencial extendida se obtiene el tiempo promedio de relajación  $\langle \tau \rangle$ :

$$\langle \tau \rangle = \frac{\tau_s}{\beta} \Gamma \left( \frac{1}{\beta} \right) \quad (2.46)$$

donde  $\Gamma$  es la función gamma y se define como:

$$\Gamma \left( \frac{1}{\beta} \right) = \frac{e^{-\gamma/\beta}}{1/\beta} \cdot \prod_{n=1}^{\infty} \left( 1 + \frac{1/\beta}{n} \right)^{-1} \cdot e^{1/\beta n} \quad (2.47)$$

Usando el valor del tiempo de relajación promedio es posible estimar un valor más probable para el tamaño de los agregados mediante la combinación de las ecuaciones (2.39) y (2.41).

#### 2.3.2.2.4. Equipo de medida

El equipo de medida utilizado para los experimentos de dispersión de luz dinámica ha sido un Malvern Zeta Nanosizer modelo ZS provisto de un láser de He-Ne de longitud de onda de 632 nm. El detector está situado a 173° respecto del haz incidente, dando lugar a la detección denominada *quasi-backscattering*, que presenta una serie de ventajas respecto de la detección de 90° como la reducción del efecto de la dispersión múltiple y de la contribución de centros dispersores de gran tamaño como es el caso del polvo.

#### 2.3.2.3. TURBIDIMETRÍA

La turbidimetría es una técnica que proporciona una idea cualitativa de la existencia de agregados macromoleculares que limitan el paso de luz a través de la muestra objeto de estudio. De manera que estos agregados permiten determinar de manera cualitativa el carácter monofásico o bifásico de la muestra.

En general, la intensidad de luz transmitida por sistemas monofásicos es cercana al 100% de la intensidad recibida cuando las muestras no absorben radiación a la longitud de onda de trabajo. Sin embargo, cuando existen muestras con presencia de agregados supramoleculares la intensidad de radiación transmitida se reduce como consecuencia de la turbidez de las disoluciones.

Para la determinación de la turbidez de las muestras se mide la absorbancia de las mismas pudiendo relacionarla con la transmitancia,  $T$ , de la siguiente forma:

$$Abs = -\log \frac{I}{I_0} = -\log T \quad (2.48)$$

que a su vez se puede relacionar con la turbidez mediante la expresión:

$$Turbidez = 1 - T \quad (2.49)$$

##### 2.3.2.3.1. Equipo de medida

El equipo de medida utilizado ha sido el espectrofotómetro Ultravioleta-Visible HP8452 que proporciona el espectro UV-Vis de cada muestra y está equipado con dos lámparas, siendo la empleada en UV de deuterio, y un detector de matriz de diodos (*diode array*), que permite obtener un intervalo espectral de 200 a 920 nm.

Para la obtención de la turbidez, se ha adquirido el valor de absorbancia correspondiente a una longitud de onda fija de 400 nm en la que no existen posibles fenómenos de interferencia con procesos de adsorción de los componentes de la muestra.

### 2.3.3. CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN

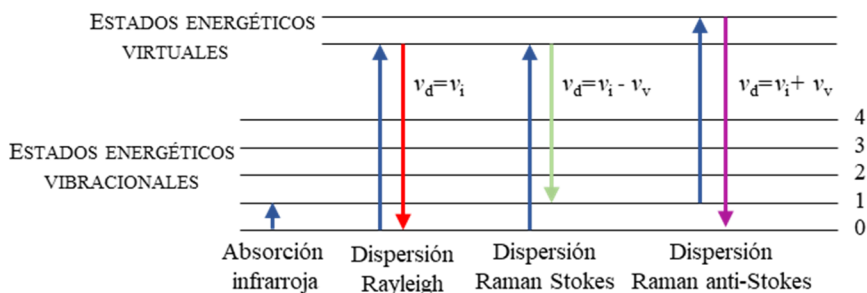
#### 2.3.3.1. ESPECTROSCOPIA RAMAN

La espectroscopía Raman es una técnica de análisis que hace uso de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia para estudiar la composición de la misma. Su fundamento físico está basado en el *efecto Raman* que fue predicho teóricamente en 1923 por A. Smekal [63] y observado por primera vez en diferentes líquidos en 1928 por K.S. Krishan y C.V. Raman [64], de quien recibió el nombre [65, 66].

Como en cualquier espectroscopía, en la espectroscopía Raman se hace incidir un haz de luz monocromática (en el espectro ultravioleta, visible o infrarrojo cercano) sobre un medio material produciéndose, entre otros fenómenos, la dispersión de la luz. Cuando la radiación incide sobre la muestra, se absorbe un fotón que no coincide con las diferencias de energía entre estados electrónicos y que lleva al sistema a un estado excitado virtual (Figura 2.16). La desactivación de ese estado se produce por emisión de un fotón, que da lugar a la dispersión de luz.

La mayor parte de la radiación dispersada tiene la misma frecuencia que la radiación incidente y recibe el nombre de *dispersión Rayleigh*. No obstante, una pequeña fracción de esta radiación tiene una frecuencia menor ya que la desactivación no se produce al nivel fundamental vibracional, sino a uno de los niveles vibratoriales superiores. Esta radiación se denomina *dispersión Raman Stokes*. Por otra parte, si la excitación inicial no procede del nivel vibracional fundamental sino de uno de los niveles superiores, y la posterior desactivación se produce al nivel fundamental, aparece una radiación que tiene lugar a frecuencias mayores que la radiación incidente y es conocida como *dispersión Raman anti-Stokes*.

La diferencia entre la energía incidente y dispersada deben corresponder a la energía necesaria para producir un tránsito entre dos niveles vibratoriales del sistema, por lo que, en la radiación Raman Stokes y anti-Stokes, se incluye información del espectro vibracional del medio que produce la dispersión [66]. En general, la radiación anti-Stokes suele ser apreciablemente menos intensa que la radiación Stokes, ya que la población del nivel vibracional de partida es mucho menor que la del nivel fundamental, por lo que es habitual usar la parte Stokes del espectro. No obstante, a pesar de su baja intensidad, la señal anti-



**Figura 2.16.** Diagrama energético en el que las líneas horizontales representan distintos estados vibratoriales y en el que se muestran las transiciones entre estados energéticos para diferentes interacciones luz-materia.



Stokes suele ser más útil cuando se trata de muestras fluorescentes, ya que la fluorescencia puede interferir en la observación del espectro Stokes, pero no en el anti-Stokes [67].

#### **2.3.3.1.1. Instrumentación**

Un espectrómetro Raman consta de: una fuente de radiación monocromática y coherente, siendo la más habitual un láser UV, visible o IR cercano; un sistema de enfoque de la radiación incidente y de recogida de la radiación dispersada; un sistema de separación espectral, normalmente un monocromador con una o varias redes de difracción; y por último, un detector que puede ser un tubo fotomultiplicador o, más habitualmente, un detector posicional como una CCD (charged-coupled device).

Debido a que la intensidad de la dispersión Rayleigh es varios órdenes de magnitud mayor que la intensidad Raman es necesario filtrar o separar dicha radiación Rayleigh. Para ello se recurre al uso de monocromadores dobles o triples o al uso de filtros de banda o de tipo *notch* que eliminan por completo la intensidad de la línea del láser.

#### **2.3.3.1.2. Micro-Raman**

En los años 90 se estableció la microscopía Raman, donde se combina un espectrómetro Raman con un microscopio óptico. En los inicios el microscopio se empleaba únicamente para obtener el espectro de un punto determinado de un área de pocos micrómetros. Sin embargo, la evolución de esta técnica conllevó la implantación de soportes motorizados que permitieran escanear la muestra y recolectar espectros Raman en un número determinado de posiciones de la misma [68]. De este modo, actualmente es posible extraer información química de una muestra mediante la realización de mapas Raman que permiten obtener la distribución de componentes con una resolución lateral micrométrica. Además, hoy en día se utiliza la microscopía confocal, en la que la recogida de la radiación Raman por medio del microscopio se realiza a través de una apertura regulable que selecciona la luz del plano focal, mejorando el contraste y eliminando la señal procedente de planos superiores e inferiores al plano focal, lo que a su vez permite realizar mapas o perfiles en el eje z.

En esta tesis se ha empleado la técnica micro-Raman confocal para caracterizar, mediante la elaboración de mapas Raman, la distribución composicional de unas estructuras autoensambladas que se desarrollarán en el Capítulo 7.

#### **2.3.3.1.3. Equipo de medida**

Las medidas Raman realizadas en este trabajo se han llevado a cabo en el Centro de Espectroscopía y Correlación de la Universidad Complutense de Madrid usando el espectrómetro micro-Raman confocal NT-MDT Ntegra Spectra que está provisto de tres láseres con longitudes de onda de 532, 632.8 y 785 nm.

El espectrómetro es de tipo dispersivo con un monocromador simple de 520 mm de focal, equipado con tres redes de difracción intercambiables de 150, 600 y 800 líneas, y lleva acoplado un detector CCD Andor iDus DU-420, de 1024x128 pixeles y refrigeración por Peltier. Así mismo, el equipo está provisto de un microscopio Olympus, modelo BXH1, con objetivos MPlan de distancia de trabajo larga de 5x/0.10 y 20x/0.45, y objetivos MPlan de 50x/0.75 y 100x/0.95. El microscopio lleva acopada una pletina motorizada de manera

que se pueden realizar mapas Raman con una resolución de 0.156  $\mu\text{m}$  y un desplazamiento máximo de barrido de 70x70 mm.

El análisis de los datos se ha llevado a cabo con un programa informático diseñado y realizado en el propio Centro.

## 2.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Goddard ED, Gruber JV. Principles of polymer science and technology in cosmetics and personal care. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 1999.
- [2] von Klitzing R, Kolaric B, Jaeger W, Brandt A. Structuring of poly(DADMAC) chains in aqueous media: a comparison between bulk and free-standing film measurements. *Phys Chem Chem Phys*. 2002;4:1907-14.
- [3] Decher G, Schlenoff JB. Multilayer thin films: sequential assembly of nanocomposite materials. Hoboken, United States of America: John Wiley & Sons; 2006.
- [4] Reis RS, Pereira AG, Neves BC, Freire DMG. Gene regulation of rhamnolipid production in *Pseudomonas aeruginosa* - A review. *Bioresour Technol*. 2011;102:6377-84.
- [5] Sarachat T, Pornsunthorntawe O, Chavadej S, Rujiravanit R. Purification and concentration of a rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 using foam fractionation. *Bioresour Technol*. 2010;101:324-30.
- [6] George S, Jayachandran K. Production and characterization of rhamnolipid biosurfactant from waste frying coconut oil using a novel *Pseudomonas aeruginosa* D. *J Appl Microbiol*. 2013;114:373-83.
- [7] de la Serna JB, Perez-Gil J, Simonsen AC, Bagatolli LA. Cholesterol rules - Direct observation of the coexistence of two fluid phases in native pulmonary surfactant membranes at physiological temperatures. *J Biol Chem*. 2004;279:40715-22.
- [8] Sahle FF, Gebre-Mariam T, Dobner B, Wohlrab J, Neubert RHH. Skin Diseases Associated with the Depletion of Stratum Corneum Lipids and Stratum Corneum Lipid Substitution Therapy. *Skin Pharmacol Physiol*. 2015;28:42-55.
- [9] Holleran WM, Takagi Y, Uchida Y. Epidermal sphingolipids: Metabolism, function, and roles in skin disorders. *Febs Lett*. 2006;580:5456-66.
- [10] Tricarico D, Maqoud F, Curci A, Camerino G, Zizzo N, Denora N, et al. Characterization of minoxidil/hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex in aqueous alginate gel useful for alopecia management: Efficacy evaluation in male rat. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;122:146-57.
- [11] Robbins CR. Chemical and physical behavior of human hair. Berlin, Germany: Springer; 2012.
- [12] Love JC, Estroff LA, Kriebel JK, Nuzzo RG, Whitesides GM. Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. *Chem Rev*. 2005;105:1103-70.
- [13] Tompkins HG. A user's guide to ellipsometry. Cambridge, United States of America: Academic Press; 1993.

- [14] Rothen A. The Ellipsometer, an Apparatus to Measure Thicknesses of Thin Films. *Rev Sci Instrum.* 1945;16:26-30.
- [15] Drude P. Ueber die reflexion und brechung ebener lichtwellen beim durchgang durch eine mit oberflächenschichten behaftete planparallele platte. *Ann Phys.* 1891;279:126-57.
- [16] Azzam R.M.A., Bashara NM. *Ellipsometry and Polarized Light.* Amsterdam, The Netherlands: North-Holland Publishing; 1977.
- [17] Heavens OS. *Optical Properties of Thin Solid Films.* New York, United States of America: Dover Publications; 1965.
- [18] Fakhraai Z, Valadkhan S, Forrest JA. Qualitative discrepancy between different measures of dynamic in thin polymer films. *Eur Phys J E Soft Matter.* 2005;18:143-8.
- [19] Bertsekas DP. *Nonlinear Programming.* Belmont, United States of America: Athena Scientific; 1999.
- [20] Dixon MC. Quartz crystal microbalance with dissipation monitoring: enabling real-time characterization of biological materials and their interactions. *J Biomol Tech.* 2008;19:151-8.
- [21] Lu C, Czanderna AW. *Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances.* Amsterdam, The Netherlands Elsevier; 2012.
- [22] Johannsmann D. *The Quartz Crystal Microbalance in Soft Matter Research.* Basel, Switzerland: Springer; 2014.
- [23] Sauerbrey G. Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. *Z Phys.* 1959;155:17.
- [24] Michael Rodahl BK. Quartz crystal microbalance setup for frequency and Q-factor measurements in gaseous and liquid environments. *Rev Sci Instrum.* 1995;66:7.
- [25] Nomura T, Okuhara M. Frequency shifts of piezoelectric quartz crystals immersed in organic liquids. *Anal Chim Acta.* 1982;142:281-4.
- [26] Keiji Kanazawa K, Gordon JG. The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with liquid. *Anal Chim Acta.* 1985;175:99-105.
- [27] Bruckenstein S, Shay M. Experimental aspects of use of the quartz crystal microbalance in solution. *Electrochim Acta.* 1985;30:1295-300.
- [28] Kipling AL, Thompson M. Network analysis method applied to liquid-phase acoustic wave sensors. *Anal Chem.* 1990;62:1514-9.
- [29] Yang M, Thompson M. Surface morphology and the response of the thickness-shear mode acoustic wave sensor in liquids. *Langmuir.* 1993;9:1990-4.
- [30] Nomura T, Maruyama M. Effect of metal ions on a piezoelectric quartz crystal in aqueous solution and the adsorptive determination of iron(III) as phosphate. *Anal Chim Acta.* 1983;147:365-9.
- [31] Rodahl M, Kasemo B. A simple setup to simultaneously measure the resonant frequency and the absolute dissipation factor of a quartz crystal microbalance. *Rev Sci Instrum.* 1996;67:3238-41.
- [32] Johannsmann D, Mathauer K, Wegner G, Knoll W. Viscoelastic Properties of Thin-Films probed with a Quartz-Crystal Resonator. *Phys Rev B.* 1992;46:7808-15.

- [33] Johannsmann D. Viscoelastic analysis of organic thin films on quartz resonators. *Macromol Chem Phys*. 1999;200:501-16.
- [34] Johannsmann D. Viscoelastic, mechanical, and dielectric measurements on complex samples with the quartz crystal microbalance. *Phys Chem Chem Phys*. 2008;10:4516-34.
- [35] Domack A, Prucker O, Ruhe J, Johannsmann D. Swelling of a polymer brush probed with a quartz crystal resonator. *Phys Rev E*. 1997;56:680-9.
- [36] Kanazawa KK. Steady state and transient QCM solutions at the metal | solution interface. *J Electroanal Chem*. 2002;524-525:103-9.
- [37] Rodahl M, Hook F, Fredriksson C, Keller CA, Krozer A, Brzezinski P, et al. Simultaneous frequency and dissipation factor QCM measurements of biomolecular adsorption and cell adhesion. *Faraday Discuss*. 1997;107:229-46.
- [38] Duner G, Thormann E, Dedinaite A. Quartz Crystal Microbalance with Dissipation (QCM-D) studies of the viscoelastic response from a continuously growing grafted polyelectrolyte layer. *J Colloid Interface Sci*. 2013;408:229-34.
- [39] Kaupp G. Atomic force microscopy, scanning nearfield optical microscopy and nanoscratching: application to rough and natural surfaces. Berlin, Germany: Springer; 2006.
- [40] Binnig G, Quate CF, Gerber C. Atomic force microscope. *Phys Rev Lett*. 1986;56:930.
- [41] Reifengerger R. *Fundamentals of Atomic Force Microscopy: Part I: Foundations*. Singapore, Singapore: World Scientific 2016.
- [42] Cappella B. *Mechanical Properties of Polymers Measured Through AFM Force-distance Curves*. Basel, Switzerland: Springer; 2016.
- [43] Mironov VL. *Fundamentals of scanning probe microscopy*. Nizhniy Novgorod, Russia: The Russian Academy of Sciences; 2004.
- [44] De Oliveira R, Albuquerque D, Cruz T, Yamaji F, Leite F. Measurement of the Nanoscale Roughness by Atomic Force Microscopy: Basic Principles and Applications. In: Bellitto V, editor. *Atomic Force Microscopy—Imaging, Measuring and Manipulating Surfaces at the Atomic Scale*. London, United Kingdom: IntechOpen; 2012.
- [45] Goldstein JI, Newbury DE, Michael JR, Ritchie NW, Scott JHJ, Joy DC. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. New York, United States of America: Springer US; 2017.
- [46] Zhou W, Wang ZL. *Scanning microscopy for nanotechnology: techniques and applications*. New York, United States of America: Springer; 2007. p. XIV, 522.
- [47] Ul-Hamid A. *A Beginners' Guide to Scanning Electron Microscopy*. 1 ed. Basel, Switzerland: Springer; 2018.
- [48] Hunter RJ. *Zeta potential in colloid science: principles and applications*. Cambridge, United States of America: Academic press; 2013.
- [49] Stern O. Zur theorie der elektrolytischen doppelschicht. *Ber Bunsenges Phys Chem*. 1924;30:508-16.
- [50] Gouy M. Sur la constitution de la charge électrique à la surface d'un électrolyte. *J Phys Theor Appl*. 1910;9:457-68.

- [51] Chapman DL. LI. A contribution to the theory of electrocapillarity. Lond Edinb Dubl Phil Mag. 1913;25:475-81.
- [52] Rayleigh L. X. On the electromagnetic theory of light. Lond Edinb Dubl Phil Mag 1881;12:81-101.
- [53] Øgøndal LH. Light Scattering Demystified: Theory and Practice Teori og praksis. (University of Copenhagen ed.) Danmark 2017.
- [54] Siegert A. On the fluctuations in signals returned by many independently moving scatterers. Cambridge, United States of America: Radiation Laboratory, Massachusetts Institute of Technology; 1943.
- [55] Berne BJ, Pecora R. Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics. New York, United States of America: Courier Corporation; 2000.
- [56] Pecora R. Dynamic light scattering: applications of photon correlation spectroscopy. New York, United States of America: Springer; 2013.
- [57] Frisken BJ. Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data. Appl Opt. 2001;40:4087-91.
- [58] Provencher SW. A constrained regularization method for inverting data represented by linear algebraic or integral equations. Comput Phys Commun. 1982;27:213-27.
- [59] Provencher SW. CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations. Comput Phys Commun. 1982;27:229-42.
- [60] Provencher SW, Štěpánek P. Global Analysis of Dynamic Light Scattering Autocorrelation Functions. Part Part Syst Charact. 1996;13:291-4.
- [61] Buckin V. Trends in Colloid and Interface Science XIV. Berlin, Germany: Springer; 2000.
- [62] Stetefeld J, McKenna SA, Patel TR. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. Biophys Rev. 2016;8:409-27.
- [63] Smekal A. Zur quantentheorie der dispersion. Naturwissenschaften. 1923;11:873-5.
- [64] Raman CV, Krishnan KS. A New Type of Secondary Radiation. Nature. 1928;121:501.
- [65] Bumrah GS, Sharma RM. Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. Egypt J Forensic Sci. 2016;6:209-15.
- [66] Bertrán Rusca J, Núñez Delgado J. Química Física. Barcelona, Spain: Ariel; 2002.
- [67] Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principios de análisis instrumental. Madrid, Spain: McGraw Hill 2001.
- [68] Dieing T, Hollricher O, Toporski J. Confocal Raman Microscopy. Berlin, Germany: Springer; 2010.

### 3. ESTUDIO DE DISOLUCIONES DE DOS POLÍMEROS CON INTERÉS COSMÉTICO

---

El estudio de la interacción entre macromoléculas (polímeros sintéticos, coloides, polielectrolitos o proteínas) y superficies, tanto sólidas como fluidas, ha recibido en los últimos años una gran atención debido a su interés en multitud de áreas englobadas en el ámbito de la nanotecnología, entre las que se incluyen la fabricación de recubrimientos biocompatibles, la estabilidad de suspensiones coloidales, los procesos de floculación y la cosmética. La comprensión de las bases químico-físicas que controlan los citados procesos, ha permitido el desarrollo de múltiples aplicaciones tecnológicas en los últimos años [1-5]. Desde un punto de vista físico-químico se puede considerar que la adsorción de macromoléculas sobre una superficie, sólida o fluida, permite modificar las propiedades de la superficie y las interacciones entre esta y su entorno, siendo necesario el estudio de la cinética de adsorción y la caracterización de las propiedades de la capa adsorbida (espesor, composición, grado de recubrimiento, etc.) para optimizar el proceso de adsorción [6-9]. En concreto, la adsorción de polímeros sobre la superficie del cabello produce modificaciones tanto en las propiedades de las fibras capilares como en las interacciones entre diferentes fibras [6, 7]. Sin embargo, la heterogeneidad estructural del cabello hace difícil el estudio de los procesos de adsorción directamente sobre su superficie [10], por lo que el uso de superficies sólidas que mimetizan alguna de las propiedades químico-físicas del cabello dañado, como es el caso de su carga superficial, presenta gran interés de cara al desarrollo de formulaciones cosméticas para el cuidado y la reparación capilar.

En general, el proceso de adsorción de polímeros, el cual se encuentra fuertemente condicionado por el comportamiento de las cadenas poliméricas en disolución, viene controlado por una gran variedad de interacciones (polímero-polímero, polímero-disolvente, polímero-superficie, etc.), requiriendo para su comprensión un detallado estudio de las distintas variables por las que pueden verse afectadas las citadas interacciones: densidad de carga y rigidez de la cadenas poliméricas, naturaleza de la superficie, concentración de polímero, fuerza iónica, pH, temperatura y calidad del disolvente para el polímero en cuestión [1-4, 9].

En el presente capítulo se ha llevado a cabo un estudio del comportamiento de disoluciones que contienen dos polímeros con interés en el diseño de formulaciones para el

acondicionamiento y reparación capilar. Dicha mezcla ha sido elegida porque se encuentra presente en una formulación compleja, que incluye tensioactivos (*Formulación Optimizada "FO"*), cuyo estudio en detalle será desarrollado en el Capítulo 5. En este capítulo se va a estudiar el comportamiento de estos polímeros en disolución, tanto de manera individual como la mezcla de ambos, así como la adsorción de estos sobre una superficie con carga negativa que mimetiza la carga superficial del cabello dañado. Para la comprensión de los principios químico-físicos que gobiernan el comportamiento de este tipo de sistemas poliméricos, tanto en disolución como en su adsorción sobre superficies sólidas, se va a analizar el efecto de la fuerza iónica, el papel de la concentración total de polímero en disolución y la fracción de cada polímero en la mezcla.

Los polímeros utilizados son el PDADMAC y Merquat 2003, los cuales han sido previamente descritos en la sección 2.1.1. El PDADMAC es un polímero ampliamente estudiado en la literatura tanto de manera individual como formando complejos con diversos tensioactivos o polielectrolitos de cargas opuestas [11-14]. En cambio, el Merquat 2003 es un copolímero recientemente introducido en cosmética, cuya particularidad reside en la naturaleza de sus monómeros lo que provoca que la interacción con las superficies sea diferente a un polímero puramente catiónico como es el caso del PDADMAC. Este copolímero, cuya densidad de carga positiva sobre el total de monómeros es del 40%, podría postularse como un buen sustituto del PDADMAC.

En este capítulo, además de analizar el efecto que induce la modificación de las variables mencionadas anteriormente en el comportamiento de las mezclas tanto en disolución como en su adsorción sobre superficies sólidas, se pretende optimizar la composición de la mezcla de polímeros que debería ser utilizada para obtener la mayor eficiencia en el desarrollo de una formulación para su aplicación cosmética.

### 3.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Todas las disoluciones poliméricas estudiadas en este capítulo han sido preparadas con agua de calidad Milli-Q, presentando una resistividad mayor de  $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$  y un contenido orgánico inferior a 6 ppm. El pH de todas las disoluciones se ajustó a un valor de 5.5 mediante el uso de ácido cítrico.

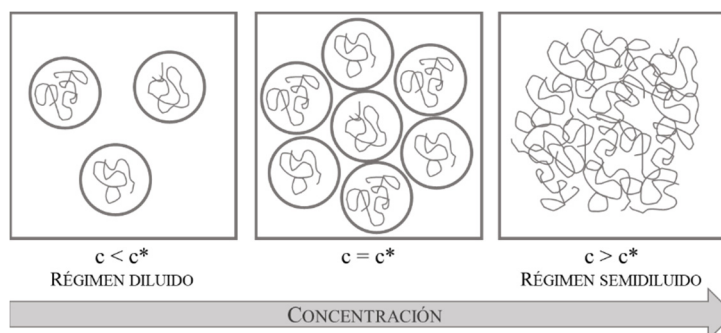
Las disoluciones poliméricas utilizadas son relativamente concentradas, de modo que, para entender mejor su comportamiento, es necesario conocer su conformación en disolución. Para ello se hace necesaria la determinación de la concentración de solapamiento  $c^*$  de ambos polímeros que se va a llevar a cabo empleando la técnica de dispersión de luz dinámica, DLS. Este estudio es necesario de cara a la caracterización en disolución ya que la explicación fenomenológica del comportamiento de los polímeros difiere en función de si las cadenas poliméricas se encuentran aisladas o están formando una red entrecruzada [3]. Para la determinación de  $c^*$  se han estudiado disoluciones con concentraciones variables de polímero en el intervalo  $\sim 0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} - 30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  con un contenido de NaCl de 120 mM para controlar la fuerza iónica. Cabe mencionar que el contenido de NaCl es similar al presente en las formulaciones cosméticas, siendo esta sal una de las más comunes en dichas formulaciones. Desde un punto de vista práctico se podrían incluir sales que contuvieran otro catión y distinta concentración, sin embargo, de cara al diseño de nuevas formulaciones cosméticas, el anión debe ser siempre un ión cloruro ya que es el permitido por REACH [15].

Tras la determinación del valor de  $c^*$ , y teniendo en cuenta que las formulaciones cosméticas tienen un contenido polimérico total entre  $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , se van a realizar estudios de diversas disoluciones poliméricas con concentraciones de polímero dentro de ese intervalo. En primer lugar se van a caracterizar los polímeros puros en función de su concentración y de la fuerza iónica de las disoluciones. En segundo lugar, se va a realizar un análisis del comportamiento de mezclas de PDADMAC y Merquat 2003 que contienen distintas proporciones de cada uno de ellos manteniendo una concentración polimérica total de  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

## 3.2. RESULTADOS

### 3.2.1. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SOLAPAMIENTO

La concentración es un elemento clave en el comportamiento de los polímeros en disolución. En disoluciones diluidas, las moléculas de polímero se mueven libremente a través de la disolución produciéndose eventualmente colisiones entre las distintas cadenas. A medida que aumenta la concentración de polímero en la disolución también lo hace la probabilidad de colisión, así como de interpenetración entre cadenas, hasta llegar a una concentración umbral en la cual se produce el solapamiento de las cadenas (Figura 3.1). Además de esto, conformaciones poliméricas más extendidas facilitan el entrecruzamiento de las distintas cadenas a concentraciones más bajas que conformaciones más ovilladas. Dicha concentración a la cual las cadenas empiezan a entrecruzarse es conocida como concentración de solapamiento  $c^*$ , y provoca cambios en el comportamiento dinámico de las disoluciones apareciendo nuevos procesos relacionados con las interacciones entre cadenas y con la reversibilidad de las uniones físicas temporales entre las mismas. Este nuevo comportamiento dinámico hace posible la determinación de  $c^*$  mediante la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS), puesto que un cambio brusco en el coeficiente de difusión, o en la intensidad de luz dispersada, puede asociarse al paso desde el régimen diluido al régimen semidiluido. En este último régimen se engloban aquellas disoluciones cuya  $c \geq c^*$  [16].

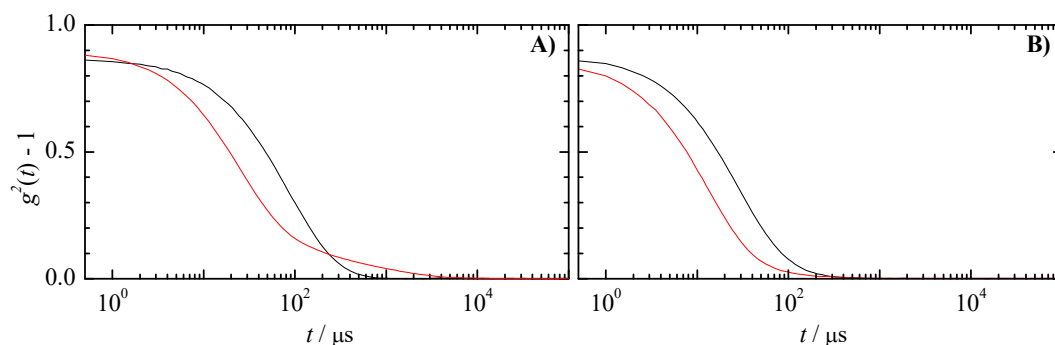


**Figura 3.1.** Representación esquemática de los distintos regímenes de comportamiento que pueden ocurrir en disoluciones poliméricas en función de la concentración [16, 17].



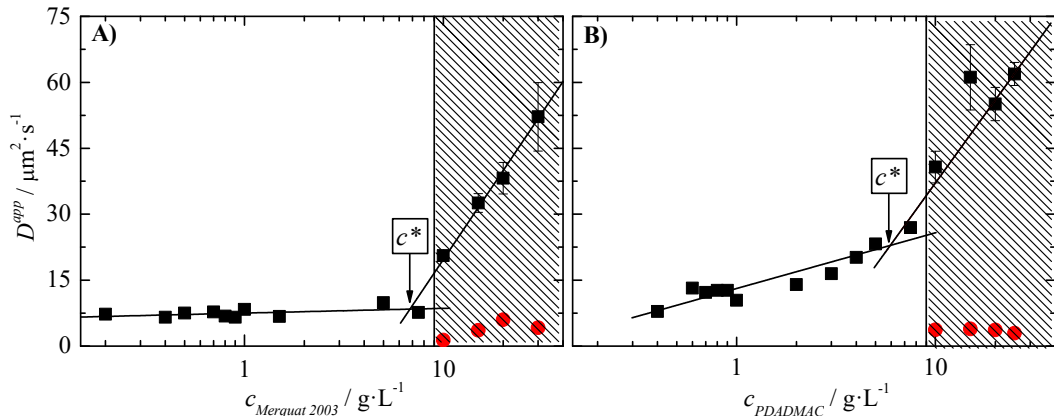
Cuando se trata de polielectrolitos, en ausencia de sal las cadenas se encuentran extendidas, ya sea como cadenas aisladas completamente estiradas o como una cadenas de conglomerados (o *blobs*) electrostáticos completamente extendidos. En cambio, en presencia de sal los polielectrolitos adquieren conformaciones más enrolladas como consecuencia del apantallamiento de sus cargas [18]. De hecho, cuando hay exceso de sal los polielectrolitos se comportan como polímeros neutros. Se puede afirmar, por tanto, que la fuerza iónica es un factor determinante en la conformación que adquiere un determinado polielectrolito, ya que se modifica tanto su radio de giro  $\langle S^2 \rangle$  como el valor de  $c^*$ [11].

Para poder comprender el comportamiento de las muestras poliméricas que se van a estudiar en este capítulo, ha sido necesaria la determinación de la  $c^*$  de ambos polímeros. Para ello se ha evaluado la dependencia con la concentración del coeficiente de difusión aparente,  $D^{app}$ , obtenido mediante DLS. Previamente al análisis detallado de los datos, a modo de ejemplo, la Figura 3.2 muestra una comparación de las funciones de autocorrelación de intensidades para diversas muestras con concentraciones inferiores y superiores a  $c^*$ . En dicha figura se observa un comportamiento dinámico monomodal cuando  $c < c^*$ , y bimodal cuando  $c > c^*$ .



**Figura 3.2.** Comparación de las funciones de autocorrelación de intensidades para disoluciones de los polímeros puros a concentraciones de polímero inferiores y superiores a  $c^*$ . A) — 0.2 g·L<sup>-1</sup> Merquat 2003 ( $c < c^*$ ) — 20 g·L<sup>-1</sup> Merquat 2003 ( $c > c^*$ ). B) — 4 g·L<sup>-1</sup> de PDADMAC ( $c < c^*$ ) — 15 g·L<sup>-1</sup> de PDADMAC ( $c > c^*$ ). (Todas las disoluciones poliméricas tienen un contenido de 120 mM de NaCl)

La Figura 3.3 muestra la dependencia del coeficiente de difusión aparente, estimado a partir de las funciones de autocorrelación, en función de la concentración de polímero para disoluciones con una concentración fija de NaCl de 120 mM. En primer lugar, los resultados muestran que para disoluciones poliméricas con concentraciones inferiores a 10 g·L<sup>-1</sup>, el coeficiente de difusión aparente de las disoluciones de PDADMAC presenta una dependencia pseudolineal con la concentración de polímero, mientras que para el caso de las disoluciones de Merquat 2003 no se aprecia variación con la concentración de polímero lo que permite asumir que este último polímero se encuentra en condiciones zeta, es decir, que la interacción monómero-disolvente y monómero-monómero son equivalentes. Sin embargo, por encima de dicha concentración se observa la aparición de un segundo proceso dinámico en ambos casos, identificado como modo lento, que aparece a tiempos más largos que la difusión browniana de las cadenas poliméricas y no depende de la concentración, pudiendo ser asociado con el comportamiento elástico de la red polimérica.



**Figura 3.3.** Dependencia del coeficiente de difusión aparente  $D^{app}$  con la concentración de polímero para disoluciones de Merquat 2003 (A) y de PDADMAC (B) y conteniendo NaCl en concentración 120 mM. El punto de cruce de las dos rectas sitúa la  $c^*$ . En la zona rayada las cadenas poliméricas forman una malla entrecruzada.

Llegado este punto, se debe tener en cuenta que la concentración de solapamiento se obtiene del punto de cruce entre los dos regímenes de comportamiento dinámico encontrados al variar la concentración. De este modo, para los dos sistemas aquí estudiados, la concentración de solapamiento es obtenida del punto en el se cortan las dos rectas que representan cada uno de los regímenes dinámicos de comportamiento de las disoluciones de los polímeros tal y como se muestra en la Figura 3.3. Dicha aproximación sitúa la concentración de solapamiento del Merquat 2003 y PDADMAC en un valor aproximado de  $6.7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  respectivamente. La aparición del modo lento se debe a un proceso de percolación polimérica que suele ocurrir a varios órdenes de magnitud de  $c^*$ . Esto quiere decir que a partir de las concentraciones mencionadas se empiezan a entrecruzar algunas cadenas poliméricas, pero no es hasta  $9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  cuando las cadenas poliméricas forman una malla entrecruzada.

En un principio cabría esperar que la  $c^*_{\text{Merquat 2003}}$  apareciese a valores de concentración muy inferiores que la  $c^*_{\text{PDADMAC}}$  dado que el Merquat 2003 tiene un peso molecular mucho más elevado que el PDADMAC. No obstante, el PDADMAC tiene mayor densidad de cargas positivas que el Merquat 2003 lo que justificaría la existencia de conformaciones de polímero extendidas como consecuencia de las repulsiones electrostáticas entre las unidades monoméricas, provocando un aumento del radio de giro y por tanto una disminución de la concentración de solapamiento. La menor densidad de carga de las cadenas de Merquat 2003 justificaría que adoptase una conformación ovillada en disolución dando lugar a un aumento de la concentración de solapamiento. De este modo, el efecto del mayor tamaño del Merquat 2003 es compensado por su menor densidad de carga en relación al PDADMAC, lo que conduce a la aparición de un valor próximo de  $c^*$  para ambos polímeros. Una vez sobrepasada la concentración de solapamiento, el coeficiente de difusión del modo rápido aumenta con la concentración para ambos polímeros siendo más acusado este aumento en las disoluciones de PDADMAC por su mayor densidad de carga positiva.

Los resultados obtenidos para el valor de  $c^*$  permiten asumir que tanto las disoluciones poliméricas estudiadas en este capítulo, como las mezclas polímero-tensioactivo que se

estudiarán en capítulos sucesivos, presentan cadenas poliméricas aisladas y no en forma de malla, lo que facilita la interpretación de la fenomenología encontrada.

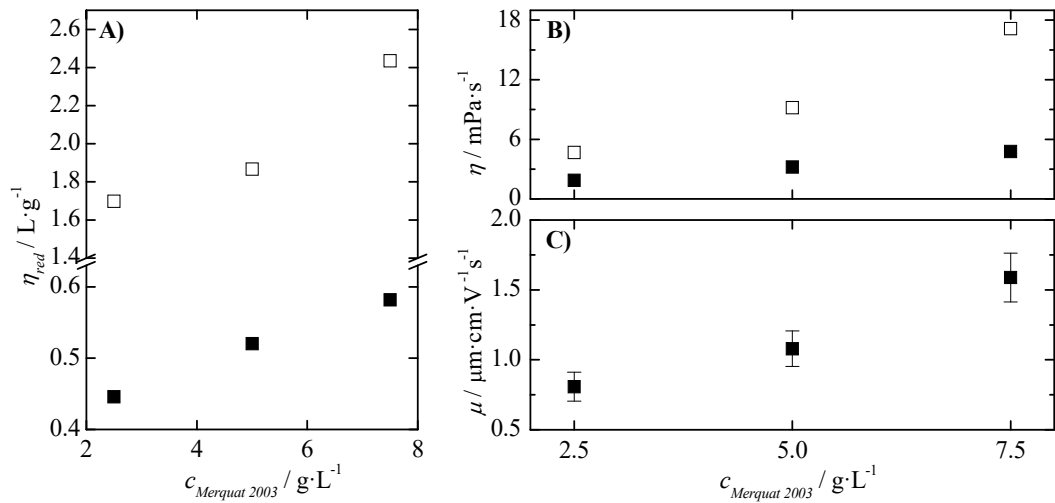
Por último, mediante la extrapolación de los coeficientes de difusión aparente a dilución infinita en el régimen diluido se puede obtener el coeficiente de difusión a dilución infinita  $D_{C \rightarrow 0}$ :  $D_{C \rightarrow 0}$  (PDADMAC) =  $1.4 \cdot D_{C \rightarrow 0}$  (Merquat 2003). Dichos valores indican que una cadena aislada de PDADMAC difunde más rápido que la correspondiente del Merquat 2003, hecho que se justifica teniendo en cuenta que el primero tiene un peso molecular menor. A su vez, a partir de los valores obtenidos para el coeficiente de difusión a dilución infinita se puede estimar el tamaño de las cadenas de polímero en la forma de su radio hidrodinámico aparente  $R_h^{app}$ , recurriendo para ello a la ecuación de Stokes-Einstein (ec. (2.41)) que relaciona el coeficiente de difusión con el radio hidrodinámico aparente de las cadenas. De este modo se obtiene que una cadena aislada de PDADMAC presenta un  $R_h^{app} \approx 25 \pm 2$  nm, mientras que una cadena aislada del copolímero Merquat 2003 tiene un  $R_h^{app} \approx 35 \pm 2$  nm.

### 3.2.2. MERQUAT 2003

#### 3.2.2.1. ESTUDIO EN DISOLUCIÓN

Como es conocido, las disoluciones poliméricas se caracterizan por presentar viscosidades elevadas. Esto se encuentra fuertemente ligado a la naturaleza del polímero estudiado, a la concentración de las disoluciones, al peso molecular promedio de sus cadenas y, como resultado de ello, al grado de empaquetamiento de las cadenas en disolución [19]. Además, la viscosidad, más específicamente la viscosidad intrínseca  $[\eta]$ , es una de las propiedades de las disoluciones poliméricas que está más directamente relacionada con el tamaño de la cadena polimérica. La determinación de dicha viscosidad puede realizarse mediante un ajuste lineal de la dependencia con la concentración de la viscosidad reducida  $\eta_{red}$ , la cual relaciona la contribución a la viscosidad debida al polímero con la concentración de la disolución ( $\eta_{sp} \cdot C^{-1}$ ). La Figura 3.4.A representa la viscosidad reducida, calculada a partir de la viscosidad de la disolución  $\eta$  (Figura 3.4.B) que ha sido obtenida usando un viscosímetro capilar tipo *Ubbelohde* [20], para disoluciones de Merquat 2003 de distinta concentración preparadas tanto en agua pura como en disoluciones de NaCl de concentración 120 mM. Los resultados muestran que para el Merquat 2003 se produce un aumento de  $\eta_{red}$  con la concentración tanto en las muestras con sal como en aquellas sin sal. Si se realiza una extrapolación a *dilución infinita* ( $C \rightarrow 0$ ), se puede afirmar que el volumen hidrodinámico de la cadena en ausencia de sal es aproximadamente tres veces superior al volumen hidrodinámico de la cadena en presencia de sal. La diferencia de viscosidades debida a la sal se puede justificar considerando que en las disoluciones preparadas en agua pura las cadenas poliméricas se encuentran más extendidas como consecuencia de la repulsión electrostática entre monómeros, lo que dificulta el flujo del fluido a través de la disolución. En cambio, la presencia de sal en el medio favorece el flujo del fluido ya que aumenta el espacio libre en la disolución por la formación de conformaciones más ovilladas debido al apantallamiento de cargas del polímero.

Por otro lado, la Figura 3.4.C recoge únicamente los valores de la movilidad electroforética de las disoluciones poliméricas con sal. La baja conductividad de las disoluciones sin sal y su mayor viscosidad hace difícil la obtención de valores de movilidad electroforética con sentido físico en dichas condiciones. Sin embargo, desde un punto de



**Figura 3.4.** Dependencia de la viscosidad reducida  $\eta_{red}$  (A) y movilidad electroforética  $\mu$  (B) con la concentración de Merquat 2003. (■) Disoluciones con 120 mM de NaCl. (□) Disoluciones sin NaCl.

vista cualitativo, sería esperable que la dependencia de la movilidad electroforética con la concentración y su signo fueran similares a los presentes en las disoluciones con sal, siendo estos valores superiores dado el menor grado de apantallamiento de las cargas.

Teniendo presente que la viscosidad de la disolución aumenta con la concentración de Merquat 2003 (Figura 3.4.B), el análisis de la dependencia de la movilidad electroforética con la concentración requiere recurrir a la aproximación de Smoluchowski (ec. (2.28)), donde se define la movilidad electroforética como una magnitud inversamente proporcional a la viscosidad y directamente proporcional al potencial  $\zeta$ . De este modo, considerando el aumento de viscosidad encontrado al aumentar la concentración, es esperable que el aumento de la movilidad electroforética sea el resultado de un aumento del potencial  $\zeta$ , es decir, de la carga efectiva de las cadenas en disolución. Esto se debe a que en las tres concentraciones de polímero el contenido de sal es el mismo, por lo que el apantallamiento efectivo de las cargas de las cadenas poliméricas experimenta una reducción a medida que aumenta la concentración de Merquat 2003 en disolución, siendo el resultado un aumento de la carga efectiva de las cadenas debido a la reducción de la condensación de iones.

### 3.2.2.2. ADSORCIÓN EN LA INTERFASE SÓLIDO-LÍQUIDO

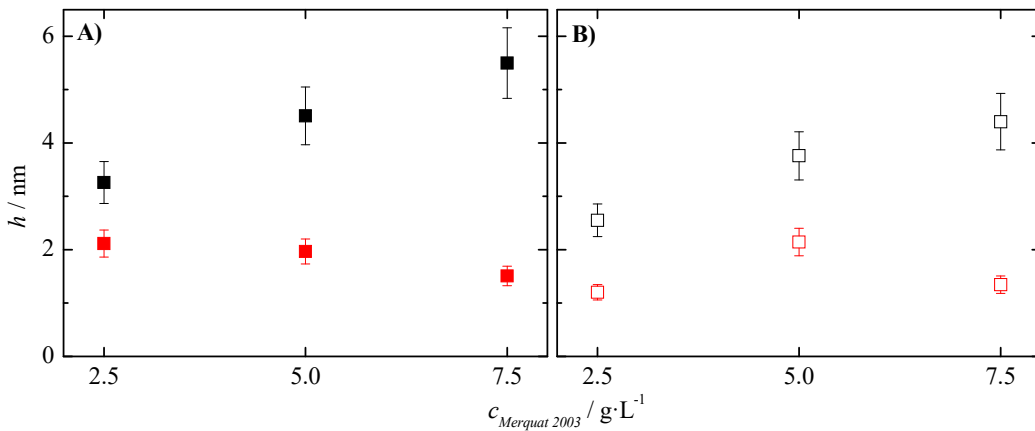
El proceso de adsorción de las mezclas anteriores se ha estudiado empleando dos técnicas complementarias como son la elipsometría y la microbalanza de cristal cuarzo disipativa (QCM-D), las cuales han sido descritas en detalle en el Capítulo 2. La primera proporciona información del espesor asociado a la cantidad de polímero depositado desde la disolución ( $h_{op}$ ), mientras que la segunda proporciona información acerca del espesor total de la capa adsorbida, englobando este la cantidad de polímero adsorbido junto al agua co-adsorbida entre las cadenas de polímero ( $h_{ac}$ ). De modo que recurriendo a la relación mostrada en la ecuación (3.1), que relaciona los espesores obtenidos por ambas técnicas, se puede estimar la cantidad de agua contenida en la capa adsorbida  $X_{H_2O}$  [21]:

$$X_{H_2O} = \frac{h_{ac} - h_{op}}{h_{ac}} \quad (3.1)$$

En la Figura 3.5 se representan los espesores ópticos,  $h_{op}$ , obtenidos por elipsometría, y los espesores acústicos,  $h_{ac}$ , obtenidos por QCM-D para las disoluciones de Merquat 2003 de distinta concentración, con una concentración de NaCl de 120 mM (Figura 3.5.A) y sin NaCl (Figura 3.5.B). A diferencia de los estudios anteriores, donde la caracterización de las disoluciones sin sal era compleja y solo se obtenía información cualitativa del comportamiento del polímero, el estudio de la adsorción en la interfase sólido-líquido no entraña problemas para el estudio de dichas disoluciones.

Los resultados muestran que las dependencias cualitativas de los espesores con la concentración de polímero son independientes de la presencia o ausencia de sal en las disoluciones. Sin embargo, se encuentra que los espesores de las capas adsorbidas de Merquat 2003 en presencia de NaCl son mayores que sin NaCl. Esto se debe una vez más al efecto de la fuerza iónica y, por consiguiente, al apantallamiento de cargas. El aumento de la concentración de sal reduce la calidad disolvente del agua para el polímero como resultado tanto del apantallamiento de las cargas de los monómeros MAPTAC (cargados positivamente) como por la pérdida de la solubilidad del bloque neutro, lo que facilita la deposición sobre la superficie.

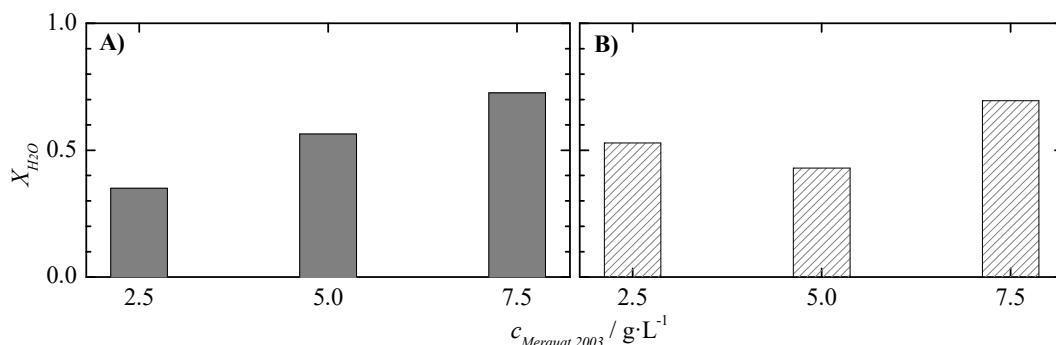
Además, las repulsiones electrostáticas inherentes entre la superficie y los monómeros cargados negativamente se van a reducir. De este modo, en presencia de sal, se va producir la adsorción de un gran número de cadenas debido a la interacción entre los monómeros cargados positivamente de las distintas cadenas que no se encuentran apantallados y la superficie. En el proceso de adsorción los monómeros apantallados y neutros de las cadenas se desplazan en la dirección vertical, incrementándose el espesor de las capas. En cambio, en ausencia de sal, las cadenas de polímero se adsorben de forma más extendida sobre el sustrato saturando antes la superficie de interacción. Además, la adsorción se ve reducida por la interacción repulsiva entre los grupos cargados negativamente en la cadena del



**Figura 3.5.** Dependencia del espesor obtenido por elipsometría y microbalanza de cristal de cuarzo disipativa con la concentración de Merquat 2003 para las capas adsorbidas desde disoluciones en presencia y en ausencia de sal: A) Merquat 2003 + 120 mM de NaCl ■  $h_{ac}$  ■  $h_{op}$  B) Merquat 2003 sin NaCl □  $h_{ac}$  □  $h_{op}$

polímero y la superficie. Cuando se analiza la dependencia de la adsorción de polímero con la concentración, el ligero incremento de espesor observado al aumentar la concentración de polímero se puede justificar en el mayor número de cadenas disponibles para interactuar con la superficie, que hace que se produzca una competencia entre las cadenas durante la adsorción, y como consecuencia se generen estructuras adsorbidas difusas con una mayor cantidad de material adsorbido. Efectos similares a los discutidos han sido descritos en la literatura para la adsorción de otros copolímeros similares al Merquat 2003 que difieren en la estructura de los monómeros [22].

La comparación de los espesores obtenidos mediante QCM-D y elipsometría muestran claramente que al aumentar la concentración de polímero, aumenta el grado de hidratación, es decir, aumenta la cantidad de agua coadsorbida en la monocapa (ver Figura 3.6). Este hecho se justifica considerando que el aumento de la concentración de polímero conlleva mayor número de repulsiones entre los monómeros de la misma cadena y de distintas cadenas, lo que conduce a la formación de capas más desordenadas facilitando así la incorporación de moléculas de agua en la capa adsorbida. Cabe reseñar que el contenido en agua no muestra una variación significativa con la fuerza iónica de las disoluciones.

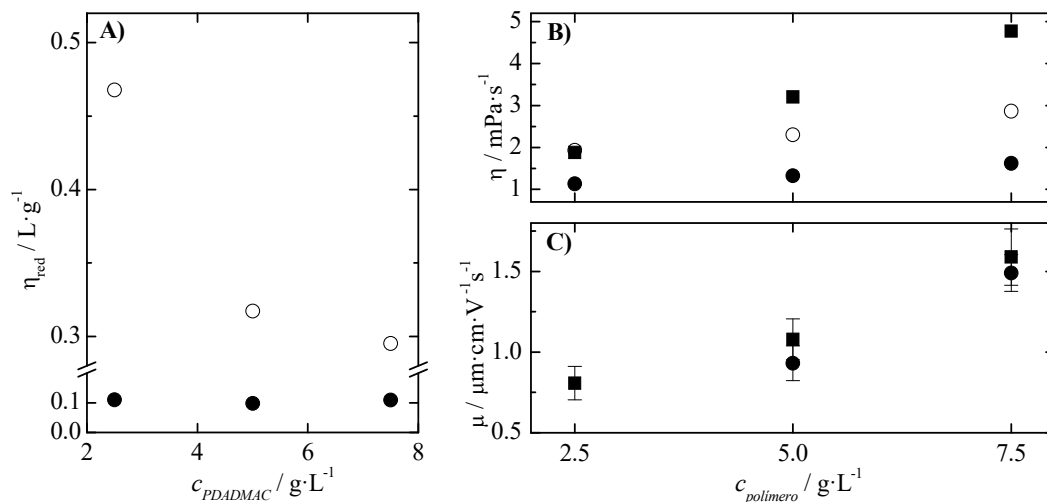


**Figura 3.6.** Dependencia con la concentración de polímero de la cantidad de agua coadsorbida junto a las cadenas de Merquat 2003 para capas obtenidas en presencia de 120 mM de NaCl (A) y en ausencia de NaCl (B).

### 3.2.3. PDADMAC

#### 3.2.3.1. ESTUDIO EN DISOLUCIÓN

Para la caracterización de las disoluciones de PDADMAC se ha realizado un estudio análogo al desarrollado anteriormente en el estudio de disoluciones de Merquat 2003. Como ilustra la Figura 3.7.A, los resultados de viscosidad reducida presentan un comportamiento completamente diferente al encontrado para el Merquat 2003. En presencia de sal no se observa variación de  $\eta_{\text{red}}$  con la concentración, lo cual parece indicar que al menos en agua no hay variación del tamaño de la cadena con la concentración de PDADMAC. Sin embargo, en ausencia de sal la viscosidad reducida exhibe un aumento al disminuir la concentración. Esto puede justificarse teniendo en cuenta el efecto de expansión de la cadena de PDADMAC al disminuir la concentración, ya que las fuerzas electrostáticas repulsivas quedan liberadas del efecto pantalla debido a la concentración [23]. Además,



**Figura 3.7.** Dependencia de la viscosidad reducida  $\eta_{red}$  (A), viscosidad  $\eta$  (B) y movilidad electroforética  $\mu$  (C) con la concentración de polímero. (●) Disoluciones de PDADMAC con 120 mM de NaCl. (○) Disoluciones de PDADMAC sin NaCl. (■) Disoluciones de Merquat 2003 con 120 mM de NaCl.

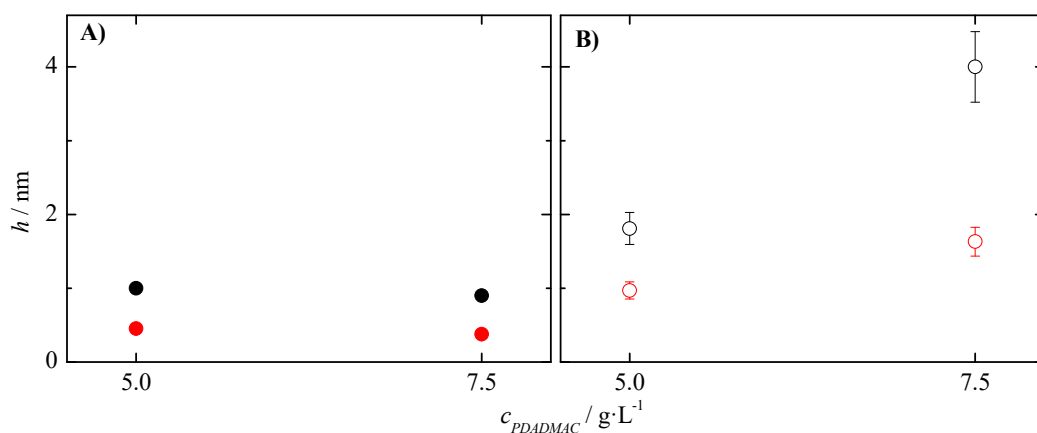
cabe destacar que la viscosidad de este polímero es significativamente inferior a la viscosidad encontrada para el Merquat 2003 lo cual se podría justificar teniendo en cuenta la gran diferencia de pesos moleculares promedios existente entre ambos polímeros ( $M_w$  Merquat 2003  $\approx 6 \cdot M_w$  PDADMAC). Como se mencionó anteriormente, el tamaño de las cadenas poliméricas es uno de los factores determinantes de la viscosidad de las disoluciones poliméricas, por eso las disoluciones de PDADMAC son menos viscosas que las del Merquat 2003. Cabe mencionar que a igualdad de pesos moleculares el PDADMAC tendría mayor viscosidad como consecuencia de su conformación más extendida, pero en este caso la diferencia de pesos moleculares es tan elevada que prevalece la influencia de este parámetro en la viscosidad.

Por otro lado, la Figura 3.7.C recoge una comparación de las movilidades electroforéticas de ambos polímeros donde queda reflejado que no existe diferencia entre estos. Teniendo en cuenta la gran diferencia de viscosidades (Figura 3.7.B), los resultados evidencian que el Merquat 2003 presenta un potencial  $\zeta$  superior al PDADMAC. Este hecho evidencia una vez más el efecto que tiene el peso molecular del polímero en las propiedades físico-químicas de los polímeros en disolución. Como ya se comentó anteriormente, el aumento de movilidad electroforética con la concentración se debe a la reducción del apantallamiento de cargas, lo que conduce a un aumento de potencial  $\zeta$ .

### 3.2.3.2. ADSORCIÓN EN LA INTERFASE SÓLIDO-LÍQUIDO

Como ya se ha mencionado anteriormente, el PDADMAC es un polímero puramente catiónico por lo que la fenomenología de adsorción se va a ver modificada respecto a la discutida con el Merquat 2003. En la literatura se ha enfatizado mucho en que a baja concentración de sal los polielectrolitos se adsorben en una conformación más extendida sobre superficies de carga opuesta y que la adsorción aumenta al hacerlo la concentración de sal. Sin embargo, Van de Steeg et al. [24] demostraron mediante cálculos de campo

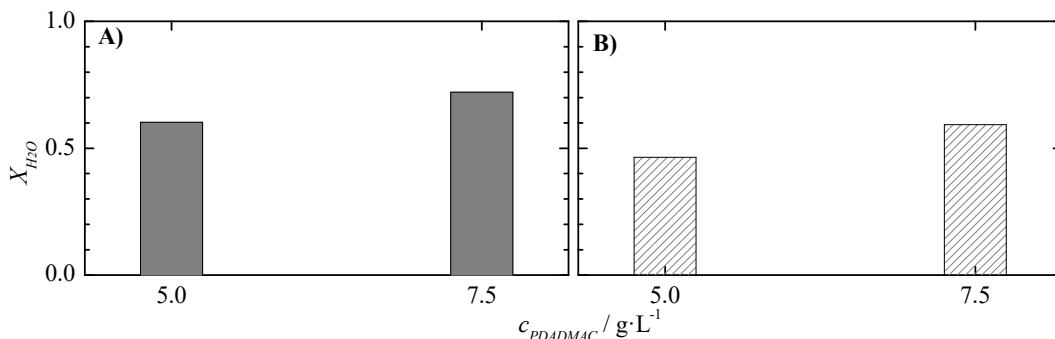
medio usando un modelo de red (*mean-field lattice*) que esta descripción era incompleta e introdujeron el concepto de “régimen de adsorción mejorada por apantallamiento” y “régimen de adsorción reducida por apantallamiento”. En el primer régimen, la presencia de sal produce el apantallamiento de las repulsiones entre los segmentos poliméricos, lo cual conduce a un aumento en la adsorción siempre que la interacción no-electrostática entre el polímero y la superficie sea lo suficientemente fuerte como para mantener al polielectrolito apantallado adsorbido. Sin embargo, en el segundo régimen, que es el escenario observado para el PDADMAC (Figura 3.8), se produce tanto el apantallamiento de cargas de las cadenas poliméricas como el de la superficie de interacción (también cargada), lo cual conduce a una disminución de la adsorción en presencia de sal [24-26]. Además, en la Figura 3.8, los resultados muestra que en presencia de sal no hay variación de la adsorción con la concentración, lo que confirma que la superficie se encuentra completamente saturada, mientras que en ausencia de sal la adsorción aumenta al hacerlo la concentración de polímero.



**Figura 3.8.** Dependencia del espesor obtenido por elipsometría y microbalanza de cristal de cuarzo disipativa con la concentración de PDADMAC para las capas adsorbidas desde disoluciones en presencia y en ausencia de sal: A) PDADMAC + 120mM de NaCl ●  $h_{ac}$  ●  $h_{op}$  B) PDADMAC sin NaCl ○  $h_{ac}$  ○  $h_{op}$

Por último, la Figura 3.9 recoge los grados de hidratación de las capas adsorbidas, obtenidos por comparación de los resultados de elipsometría y QCM-D, tanto en presencia como en ausencia de sal. En dicha figura se puede observar que dichos grados de hidratación son semejantes en ambos casos, aumentando ligeramente con la concentración de polímero en disolución, lo que se justifica por la formación de una capa más difusa.





**Figura 3.9.** Dependencia con la concentración de polímero de la cantidad de agua coadsorbida junto a las cadenas de PDADMAC para capas obtenidas en presencia de 120 mM de NaCl (A) y en ausencia de NaCl (B).

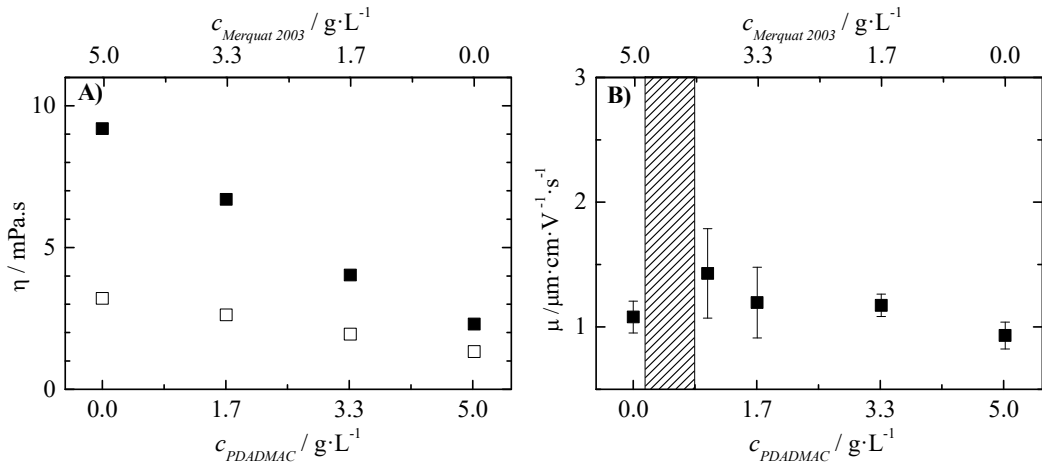
### 3.2.4. ESTUDIO DE MEZCLAS PDADMAC-MERQUAT 2003 CON DISTINTO CONTENIDO POLIMÉRICO

En las secciones anteriores se ha discutido el comportamiento de adsorción y en disolución del PDADMAC y Merquat 2003 de manera individual. Sin embargo, las formulaciones cosméticas presentan mezclas de ambos polímeros, por lo que resulta importante realizar el estudio del comportamiento de la mezcla de estos. En primer lugar se va a realizar la caracterización de la mezcla de ambos polímeros manteniendo una concentración polimérica total de  $5 g \cdot L^{-1}$ , modificando la relación PDADMAC:Merquat 2003. Este estudio pretende analizar el efecto de la reducción del contenido polimérico, en relación al existente en la *Formulación Optimizada (FO)*, de cara al diseño de mezclas más acordes a los requerimientos impuestos por la reciente legislación europea. En segundo lugar, se pretende optimizar la relación de ambos polímeros manteniendo el contenido polimérico existente en la *FO* ( $7.5 g \cdot L^{-1}$ ). En este último caso, la optimización de la composición de la mezcla podría chocar con las limitaciones impuestas por REACH, ya que a pesar de que las mezclas podrían presentar mayor eficiencia que las utilizadas en la actualidad, su mayor impacto ambiental obligaría a descartar su utilización.

#### 3.2.4.1. MEZCLAS CON UNA CONCENTRACIÓN DE POLÍMERO TOTAL $5 g \cdot L^{-1}$

##### 3.2.4.1.1. Estudio en disolución

Dado que la  $c^*$  de ambos polímeros es semejante, el estudio del comportamiento de la mezcla de los mismos resulta sencillo dentro de la complejidad que supone el estudio de la mezcla de dos polímeros de distinta naturaleza. De este modo, sería esperable que en el intervalo de concentraciones explorado, las cadenas de ambos polímeros aparezcan aisladas y no existan interferencias en las interacciones debido a la formación de redes poliméricas entrecruzadas. Como se puede observar en la Figura 3.10.A la viscosidad de las disoluciones presentan un decaimiento pseudolineal al aumentar el contenido de PDADMAC en la mezcla. Este hecho indica que la contribución de cada polímero a la viscosidad es equivalente y depende de su contenido en la mezcla.

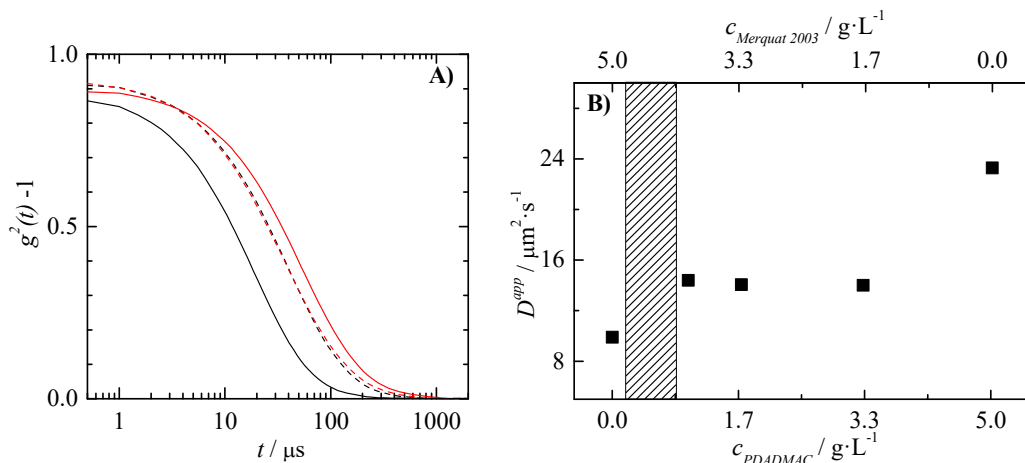


**Figura 3.10.** Dependencia de la viscosidad  $\eta$  (A) y movilidad electroforética  $\mu$  (B) con la concentración de PDADMAC y Merquat 2003 para disoluciones con una concentración fija de polímero de  $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . (■) Disoluciones con 120 mM de NaCl. (□) Disoluciones sin NaCl. (La zona sombreada corresponde a una región de desestabilización coloidal que conduce al sistema a la separación de fases)

En cambio, la movilidad electroforética de las mezclas con sal (Figura 3.10.B) es prácticamente constante independientemente de la relación polimérica existente, lo cual parece indicar que a medida que aumenta el contenido de PDADMAC en la mezcla, el potencial  $\zeta$  disminuye aproximándose cada vez más al potencial  $\zeta$  de este. Cabe mencionar que la zona marcada con rayas es una zona donde la mezcla entra en la región de separación de fases como consecuencia de la formación de complejos de gran tamaño.

Por otro lado, para analizar las diferencias de la difusión de los polímeros en disolución, se han llevado a cabo experimentos de dispersión de luz dinámica. Debido a la existencia de dos componentes de distinta naturaleza, sería esperable la aparición de dos modos o un ensanchamiento muy acusado de las distribuciones de tamaño. Sin embargo, como se puede observar en la Figura 3.11.A, las funciones de autocorrelación de las mezclas estudiadas son monomodales y presentan un decaimiento intermedio entre los polímeros puros. Los coeficientes de difusión aparentes de las mezclas (Figura 3.11.B), obtenidos por el análisis CONTIN de las funciones de autocorrelación de intensidades, muestran un comportamiento dinámico intermedio entre los polímeros puros, siendo este comportamiento más parecido al del Merquat 2003.

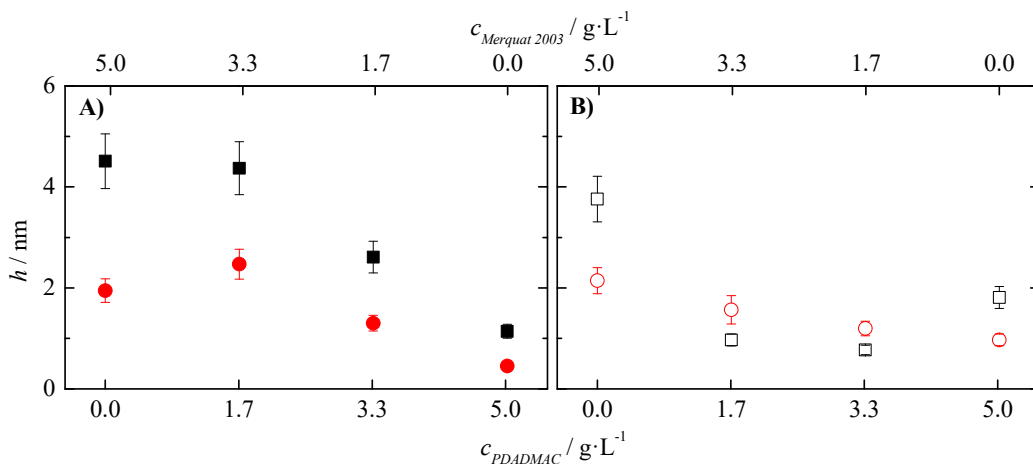
Teniendo en cuenta que la intensidad de luz dispersada aumenta con la sexta potencia del diámetro ( $I \propto d^6$ ), la luz dispersada de los objetos grandes enmascara la señal de los objetos más pequeños [27]. En este caso, el Merquat 2003 tiene un peso molecular mucho más elevado que el PDADMAC y, por consiguiente, su contribución en la intensidad de luz dispersada es mayoritaria. Es por ello que en la mezcla de ambos polímeros se obtiene un coeficiente de difusión más próximo al obtenido cuando solo se tiene Merquat 2003.



**Figura 3.11.** Resultados obtenidos mediante DLS y analizados por CONTIN para disoluciones con distinta relación PDADMAC:Merquat 2003 a  $c_{polimero} = 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $c_{NaCl} = 120 \text{ mM}$ . A) Funciones de autocorrelación de intensidades para: — Merquat 2003 puro — PDADMAC puro --- PDADMAC:Merquat 2003 (1:2) --- PDADMAC:Merquat 2003 (2:1). B) Dependencia del coeficiente de difusión aparente  $D^{app}$  con la concentración de los componentes. (La zona sombreada corresponde a una región de desestabilización coloidal que conduce al sistema a la separación de fases)

### 3.2.4.2. ADSORCIÓN EN LA INTERFASE SÓLIDO-LÍQUIDO

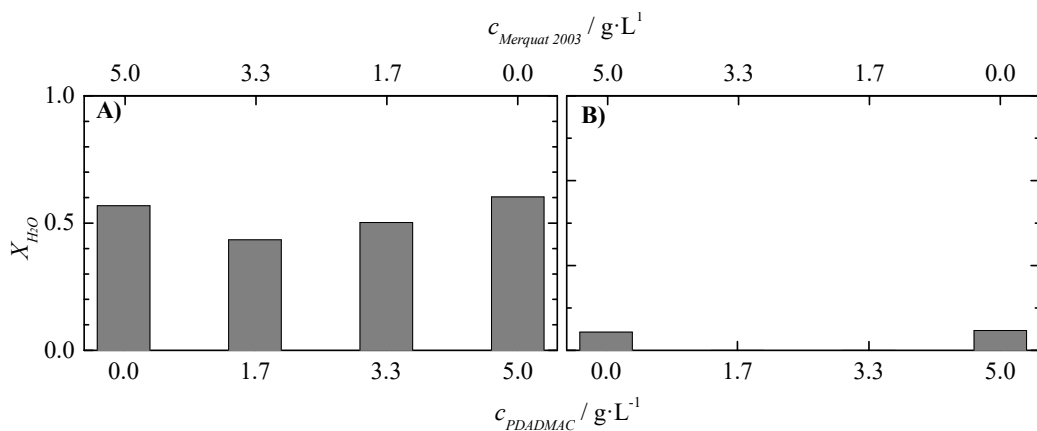
La adsorción de la mezcla de PDADMAC y Merquat 2003 sobre superficies sólidas que mimetizan la carga negativa del cabello dañado se recoge en la Figura 3.12. En ella se puede observar que la adsorción de las mezclas con sal disminuye al aumentar el contenido



**Figura 3.12.** Dependencia del espesor obtenido por elipsometría y microbalanza de cristal de cuarzo disipativa con la concentración de cada uno de los componentes para mezclas PDADMAC - Merquat 2003 con contenido polimérico total de  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . A) Mezclas PDADMAC - Merquat 2003 + 120 mM de NaCl ■  $h_{ac}$  ●  $h_{op}$  B) Mezclas PDADMAC - Merquat 2003 sin NaCl □  $h_{ac}$  ○  $h_{op}$

de PDADMAC en la mezcla. A la vista de los resultados se podría afirmar que la tendencia de adsorción es coherente con el comportamiento encontrado en disolución para este tipo de mezclas. Como se ha comprobado en las secciones anteriores, el Merquat 2003 presenta varias ventajas de cara a la adsorción. Por un lado su naturaleza copolimérica permite que los monómeros neutros, apantallados y cargados negativamente se dispongan hacia el exterior verticalmente aumentando así la adsorción. Además, presenta un potencial  $\zeta$  mayor que el PDADMAC, por lo que presenta más puntos de interacción con la superficie que el PDADMAC. Teniendo en cuenta que este último se adsorbe de manera más extendida que el Merquat 2003 y que, en presencia de sal, se encuentra en el régimen de adsorción reducida por apantallamiento [24], la incorporación de PDADMAC a la mezcla conduce a la aparición de un efecto sinérgico en la adsorción cuando la relación de PDADMAC:Merquat 2003 en disolución es 1:2, pero este efecto desaparece a medida que aumenta el contenido de PDADMAC en la disolución.

Por otro lado, respecto a adsorción en ausencia de NaCl (Figura 3.12.B), la mezcla PDADMAC-Merquat 2003 presenta, dentro de las barras de error, una densificación muy elevada de la capa que implica un bajo grado de hidratación de la misma (Figura 3.13.B), siendo el espesor de las capas adsorbidas cada vez menor a medida que aumenta la cantidad de PDADMAC en la mezcla. Esto se podría justificar asumiendo que la ausencia de apantallamiento de cargas es perjudicial para la adsorción debido a que las repulsiones electrostáticas entre los monómeros cargados positivamente es muy alta y se fomenta la adsorción del polímero en una conformación más extendida. Similar efecto sería esperable para los monómeros neutros del Merquat 2003 que se encontrarían en condiciones de buen disolvente, lo que haría que durante su adsorción se maximizaran las interacciones con el disolvente. Por el contrario, para el caso de los monómeros cargados positivamente, la ausencia de apantallamiento por el efecto de la sal introduciría una componente repulsiva a la interacción PDADMAC-Merquat 2003, y por tanto se reduciría su adsorción, pudiéndose concluir que la ausencia de sal perjudica la adsorción de las mezclas. De este modo, la adsorción de películas en las que las cadenas adsorbidas se encuentran extendidas sobre la superficie reduce la incorporación de moléculas de agua dentro de la estructura de la capa, tal y como se muestra en la Figura 3.13.B.

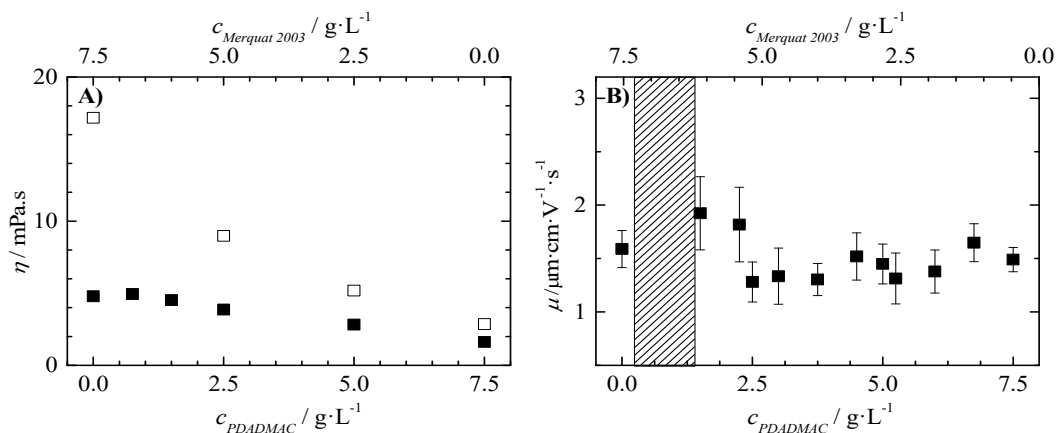


**Figura 3.13.** Dependencia con la concentración de cada uno de los polímeros en la mezcla de la cantidad de agua coadsorbida junto a las cadenas para mezclas PDADMAC-Merquat2003 con contenido polimérico total de  $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . (A) Capas obtenidas en presencia de  $120\text{ mM}$  de NaCl. (B) Capas obtenidas en ausencia de NaCl.

### 3.2.4.3. MEZCLAS CON UNA CONCENTRACIÓN DE POLÍMERO TOTAL $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

#### 3.2.4.3.1. Estudio en disolución

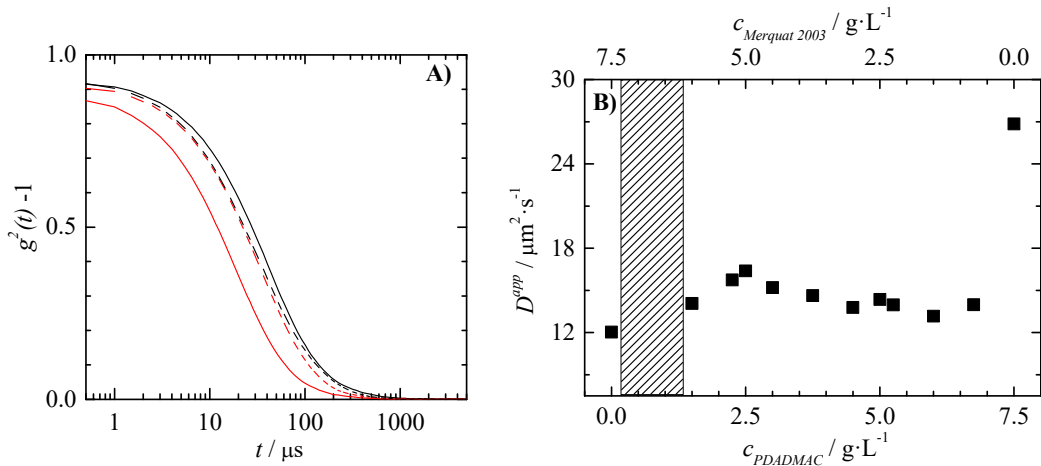
La Figura 3.14 muestra la dependencia de la viscosidad y la movilidad electroforética con la concentración de cada uno de los componentes en las mezclas estudiadas donde se mantiene una concentración polimérica total de  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .



**Figura 3.14.** Mezclas PDADMAC-Merquat 2003 con una concentración polimérica total de  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . A) Dependencia de la viscosidad de las mezclas con la concentración de cada uno de los componentes (■) Disoluciones poliméricas con 120 mM de NaCl (□) Disoluciones poliméricas sin NaCl. B) Dependencia de la movilidad electroforética de las mezclas con 120 mM. (La zona sombreada corresponde a una región de desestabilización coloidal que conduce al sistema a la separación de fases)

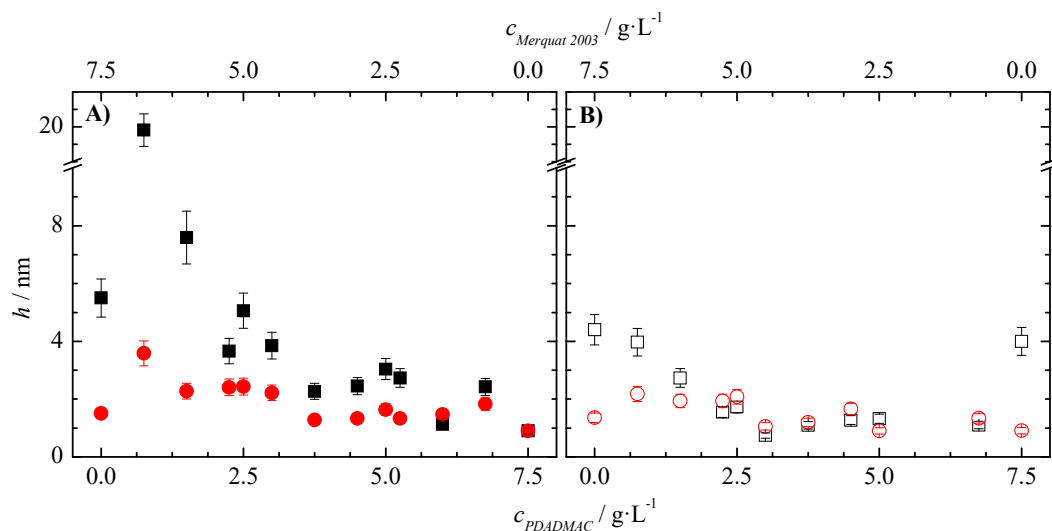
Como ocurría en el apartado anterior, a medida que aumenta la concentración de PDADMAC en la mezcla polimérica disminuye la viscosidad de la disolución. La movilidad electroforética, por su parte, permanece constante en todo el intervalo de concentraciones estudiado lo que implica que al ir aumentando la concentración de PDADMAC, este empieza a gobernar el comportamiento de la disolución hasta convertirse en el polímero mayoritario de modo que el potencial  $\zeta$  disminuye casi-linealmente hasta alcanzar el valor correspondiente al PDADMAC puro. De nuevo la zona sombreada indica la entrada en una región de separación de fases como consecuencia de la desestabilización coloidal de la mezcla.

Continuando con el estudio en disolución de las mezclas poliméricas, la Figura 3.15 recoge los resultados obtenidos en DLS. De nuevo, las funciones de autocorrelación de intensidades correspondientes a las mezclas presentan un carácter monomodal (Figura 3.15.A) siguiendo un decaimiento intermedio entre los polímeros puros de manera análoga a lo encontrado anteriormente para disoluciones con un contenido polimérico inferior. La contribución a la intensidad de dispersión de las mezclas viene dada, una vez más, por el Merquat 2003 ya que el coeficiente de difusión de las mezclas es semejante al del Merquat 2003 (Figura 3.15.B).

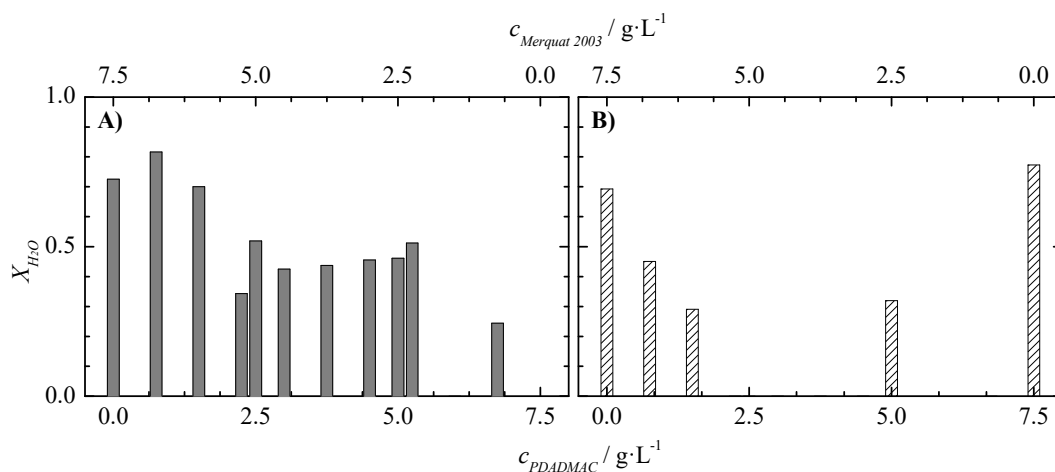


**Figura 3.15.** Resultados obtenidos mediante DLS para disoluciones con distinta relación PDADMAC:Merquat 2003 a  $c_{polimero} = 7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  y  $c_{NaCl} = 120 \text{ mM}$ . A) Funciones de autocorrelación de intensidades: —Merquat 2003 puro —PDADMAC puro ---PDADMAC:Merquat 2003 (1:2) ---PDADMAC:Merquat 2003 (2:1). B) Dependencia del coeficiente de difusión  $D^{app}$  con la concentración de los componentes. (La zona sombreada corresponde a una región de desestabilización coloidal que conduce al sistema a la separación de fases)

Los estudios de adsorción en la interfase sólido-líquido indican que la interacción de ambos polímeros en disolución en presencia de NaCl presenta un efecto sinérgico de cara a la adsorción (Figura 3.16.A), ya que todas las mezclas presentan espesores más elevados que los correspondientes a las muestras de los polímeros puros. Como ya se comprobó en los apartados anteriores, la distinta naturaleza de los monómeros del Merquat 2003 supone una gran ventaja en el proceso de adsorción sobre superficies sólidas y por tanto, un beneficio de cara a la aplicación cosmética. De todas las mezclas estudiadas, las que presentan mejores resultados de adsorción son aquellas que se encuentran en las proximidades de la región de separación de fases. Los resultados también muestran que cuando el contenido de PDADMAC en la mezcla supera el contenido de Merquat 2003, el proceso de adsorción está controlado por el PDADMAC. La adsorción ocurre con las cadenas en una forma más extendida, por lo que se satura más rápidamente la superficie de interacción y se obtienen capas de menor espesor y menos hidratadas (ver Figura 3.17.A). En ausencia de sal (Figura 3.16.B), la tendencia es semejante pero los espesores son más pequeños y las capas no se encuentran prácticamente hidratadas en la mayoría de los casos (ver Figura 3.17.B). Este hecho es consecuencia del elevado número de cargas positivas que saturan más fácilmente la superficie de adsorción. No obstante, esta explicación no se justifica para la mezcla cuya relación PDADMAC:Merquat 2003 es 9:1 ( $c_{PDADMAC}:c_{Merquat\ 2003} = (6.75:0.75) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) donde el espesor de la capa adsorbida en ausencia de sal es mayor que en presencia de esta. Como ocurre con el PDADMAC puro, esta muestra, que tiene un contenido de Merquat 2003 muy pequeño, se encuentra en el régimen de adsorción reducida por apantallamiento mencionado anteriormente [24-26].



**Figura 3.16.** Dependencia del espesor obtenido por elipsometría y microbalanza de cristal de cuarzo disipativa con la concentración de cada uno de los componentes para mezclas PDADMAC - Merquat 2003 con contenido polimérico total de  $7.5\ g \cdot L^{-1}$ . A) Mezclas PDADMAC - Merquat 2003 + 120 mM de NaCl ■  $h_{ac}$  ●  $h_{op}$  B) Mezclas PDADMAC - Merquat 2003 sin NaCl □  $h_{ac}$  ○  $h_{op}$

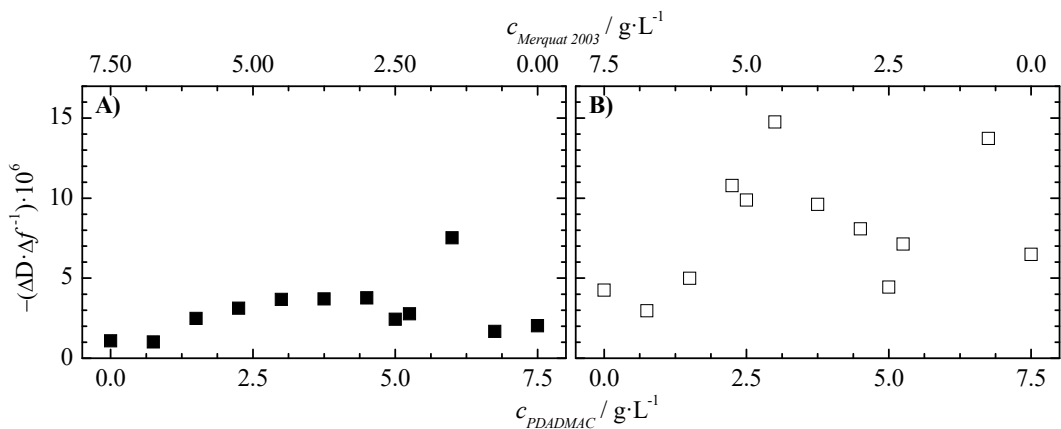


**Figura 3.17.** Dependencia, con la concentración de cada uno de los polímeros en la mezcla, de la cantidad de agua coadsorbida junto a las cadenas para mezclas PDADMAC-Merquat2003 con contenido polimérico total de  $7.5\ g \cdot L^{-1}$ . A) Capas obtenidas en presencia de 120 mM de NaCl. B) Capas obtenidas en ausencia de NaCl.

Por otro lado, los experimentos realizados usando la microbalanza de cuarzo disipativa permiten obtener información adicional sobre el proceso de adsorción en términos de la relación entre las propiedades mecánicas de la película y la cantidad de materia adsorbida. La Figura 3.18 muestra la dependencia de la relación entre el cambio del factor de disipación y el cambio de frecuencia  $-(\Delta D/\Delta f)$  para la adsorción de mezclas PDADMAC-

Merquat 2003 con la concentración de cada uno de los componentes en la disolución de concentración total  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  [28-31]. Siguiendo la discusión realizada en el Capítulo 2, los cambios del factor de disipación se relacionan con las propiedades mecánicas de las capas adsorbidas, mientras que los cambios de frecuencia están relacionados con la cantidad de polímero y agua de hidratación que constituyen la capa formada.

Cabe destacar que independientemente de la ausencia o presencia de sal, se encuentra un aumento de la importancia del factor de disipación en relación a la cantidad de material adsorbido. Sin embargo, dada la disminución del espesor de las capas encontrada al aumentar la concentración de PDADMAC en las mezclas (Figura 3.16), el aumento en la relación  $-(\Delta D/\Delta f)$  no se encuentra asociado a la formación de capas más blandas sino a la formación de capas cada vez más delgadas con las cadenas poliméricas más extendidas sobre la superficie. Una vez que el contenido de la mezcla se hace mayoritario en PDADMAC, la relación  $-(\Delta D/\Delta f)$  cae a medida que aumenta la concentración de dicho polímero, siendo una evidencia más significativa del efecto de la formación de capas cada vez más planas sobre la superficie. En este caso, el factor de disipación presenta una importancia reducida. Finalmente, como ya se ha mencionado, la ausencia de sal conduce de modo cualitativo a un resultado similar al encontrado para la adsorción en presencia de cloruro sódico. Sin embargo, el efecto de la reducción del espesor de la capa es mucho más acusado; por consiguiente, se observa claramente una mayor variación de la relación  $-(\Delta D/\Delta f)$  con la concentración de los componentes en la mezcla.



**Figura 3.18.** Dependencia, con la concentración de cada uno de los polímeros en la mezcla, de la relación entre el cambio del factor de disipación y el cambio de frecuencia,  $-(\Delta D/\Delta f)$  durante la adsorción mezclas PDADMAC-Merquat2003 con contenido polimérico total de  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ . A) Capas obtenidas en presencia de 120 mM de NaCl. B) Capas obtenidas en ausencia de NaCl.

### 3.3. CONCLUSIONES

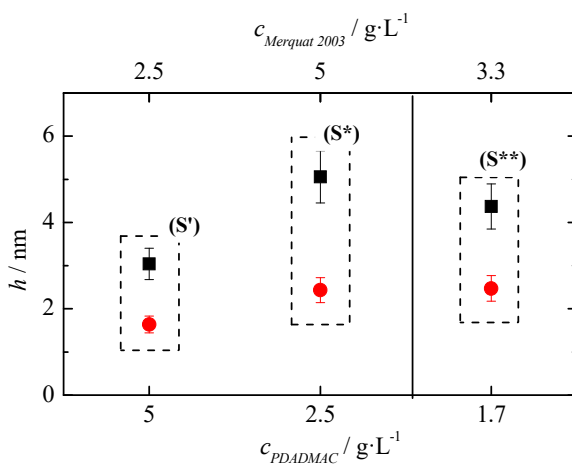
En este capítulo se ha discutido el comportamiento de dos polímeros de interés cosmético (Merquat 2003 y PDADMAC), así como de la mezcla de ambos presentando distintas composiciones PDADMAC:Merquat 2003 y diferente contenido polimérico total.



La caracterización de las disoluciones de los polímeros puros ha mostrado que, en las condiciones de trabajo aquí presentadas, la concentración de solapamiento de los polímeros objeto de estudio de este capítulo es similar y se encuentra por encima del intervalo de concentraciones utilizadas para los estudios realizados, lo cual facilita el análisis de los resultados obtenidos. Cabría esperar que, como ambos polímeros tienen diferente peso molecular y presentan monómeros de distinta naturaleza en su estructura, estos difirieran significativamente en la concentración a la cual las cadenas dejan de comportarse como cadenas aisladas para pasar a comportarse como una red entrecruzada. Sin embargo, el Merquat 2003 a pesar de tener un peso molecular seis veces mayor que el PDADMAC, adquiere una conformación más ovillada que este último debido a la menor repulsión electrostática entre sus monómeros, lo que hace que esa diferencia de pesos moleculares se encuentre compensada con la distinta conformación de las cadenas del polímero y por consiguiente ambos presenten un valor de  $c^*$  semejante.

Por otro lado, se ha comprobado que ambos polímeros presentan un comportamiento totalmente distinto tanto en disolución como en su adsorción sobre superficies sólidas cargadas negativamente, pero que la combinación de ambos tiene un efecto sinérgico en el proceso de adsorción, lo cual supone un beneficio de cara a la aplicación cosmética ya que se obtienen espesores más elevados y las capas adsorbidas están más hidratadas. Así mismo, cabe mencionar que las mezclas que mejores resultados aportan son aquellas en las que la proporción de Merquat 2003 es superior a la del PDADMAC debido a la naturaleza de dicho copolímero.

Cabe mencionar que en el desarrollo de formulaciones para aplicaciones cosméticas se están empleando mezclas con una concentración total de polímero de  $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  cuya relación PDADMAC-Merquat 2003 es 2:1 (Muestra S'). Esta mezcla se va a utilizar en el desarrollo de estudios con formulaciones más complejas en capítulos sucesivos de esta tesis. Sin embargo, en vista de los resultados proporcionados en este capítulo, el uso de mezcla donde la relación PDADMAC-Merquat 2003 es 1:2 (muestra S\*) aporta mejores resultados en los estudios realizados de cara a su posible aplicación cosmética (Figura 3.19). Sin embargo,



**Figura 3.19.** Dependencia del espesor obtenido por elipsometría y microbalanza de cristal de cuarzo disipativa con la concentración de cada uno de los componentes para mezclas PDADMAC-Merquat 2003 seleccionadas por su potencial aplicación cosmética en presencia de 120 mM de NaCl ■  $h_{\text{ac}}$  ●  $h_{\text{op}}$ .

para el cumplimiento de la legislación europea [15] es necesario reducir la cantidad de polímero catiónico presente en la formulación. En esta línea se han realizado estudios con esta relación (1:2), pero reduciendo el contenido de polímero total a  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Muestra S\*\*), y se ha podido comprobar que presenta mejores resultados incluso que la muestra S\* (ver Figura 3.19). Finalmente, se puede concluir que estos resultados abren la puerta a la reducción del contenido polimérico de las formulaciones hasta una concentración de  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  sin comprometer su eficacia.

### 3.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Holmberg K, Jönsson B, Kronberg B, Lindman B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2002.
- [2] Guzman E, Ritacco H, Ortega F, Svitova T, Radke CJ, Rubio RG. Adsorption Kinetics and Mechanical Properties of Ultrathin Polyelectrolyte Multilayers: Liquid-Supported versus Solid-Supported Films. *J Phys Chem B*. 2009;113:7128-37.
- [3] Netz RR, Andelman D. Neutral and charged polymers at interfaces. *Phys Rep*. 2003;380:1-95.
- [4] Fler GJ, Cohen Stuart MA, Scheutjen JMH, Cosgrove T, Vicent B. *Polymer at Interfaces*. Heidelberg, The Netherlands: Springer; 1998.
- [5] Hammond PT. Recent explorations in electrostatic multilayer thin film assembly. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 1999;4:430-42.
- [6] Goddard ED, Schmitt RL. Atomic force microscopy investigations into the adsorption of cationic polymers. *Cosmetic and Toiletries*. 1994;109:55-61.
- [7] Dupres V, Camesano T, Langevin D, Checco A, Guenoun P. Atomic force microscopy imaging of hair: correlations between surface potential and wetting at the nanometer scale. *J Colloid Interface Sci*. 2004;269:329-35.
- [8] Linse P, Kallrot N. Polymer Adsorption from Bulk Solution onto Planar Surfaces: Effect of Polymer Flexibility and Surface Attraction in Good Solvent. *Macromolecules*. 2010;43:2054-68.
- [9] Stuart MAC, Kleijn JM. Kinetics of polyelectrolyte adsorption. In: Radeva T, editor. *Physical Chemistry of Polyelectrolytes*. New York, United States of America: CRC Press; 2001. p. 303-26.
- [10] Luengo GS, Galliano A, Dubief C. Aqueous Lubrication in Cosmetics. In: Spencer ND, editor. *Aqueous Lubrication: Natural and Biomimetic Approaches*. Chennai, India: World Scientific; 2014. p. 103-44.
- [11] Guzman E, Ritacco H, Rubio JEF, Rubio RG, Ortega F. Salt-induced changes in the growth of polyelectrolyte layers of poly(diallyl-dimethylammonium chloride) and poly(4-styrene sulfonate of sodium). *Soft Matter*. 2009;5:2130-42.
- [12] Llamas S, Guzman E, Baghdadli N, Ortega F, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of poly(diallyldimethylammonium chloride)-sodium methyl-cocoyl-aurate complexes onto solid surfaces. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2016;505:150-7.

- [13] Llamas S, Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of polyelectrolytes and polyelectrolytes-surfactant mixtures at surfaces: a physico-chemical approach to a cosmetic challenge. *Adv Colloid Interface Sci.* 2015;222:461-87.
- [14] Guzmán E, Llamas S, Maestro A, Fernández-Peña L, Akanno A, Miller R, et al. Polymer-surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2016;233:38-64.
- [15] Fisk P. *Chemical risk assessment: a manual for REACH*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [16] De Gennes P-G. *Scaling concepts in polymer physics*. New York, United States of America: Cornell University Press; 1979.
- [17] Burchard W, Eisele M. Cooperative motion and self-diffusion in dilute and semidilute poly-vinylpyrrolidone solution. *Pure Appl Chem.* 1984;56:1379-90.
- [18] Van der Maarel JR. *Introduction to biopolymer physics*. Singapore, Singapore: World Scientific; 2007.
- [19] Bertrán Rusca J, Núñez Delgado J. *Química Física*. Barcelona, Spain: Ariel; 2002.
- [20] Ubbelohde L. The Principle of the Suspended Level: Applications to the Measurement of Viscosity and Other Properties of Liquids. *Ind Eng Chem Anal.* 1937;9:85-90.
- [21] Vörös J. The Density and Refractive Index of Adsorbing Protein Layers. *Biophys J.* 2004;87:553-61.
- [22] Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Luengo GS, Rubio RG. Effect of the molecular structure on the adsorption of conditioning polyelectrolytes on solid substrates. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2011;375:209-18.
- [23] Tian B, Ge X, Pan G, Fan B, Luan Z. Adsorption and flocculation behaviors of polydiallyldimethylammonium (PDADMA) salts: Influence of counterion. *Int J Miner Process.* 2006;79:209-16.
- [24] Van de Steeg HGM, Cohen Stuart MA, De Keizer A, Bijsterbosch BH. Polyelectrolyte adsorption: a subtle balance of forces. *Langmuir.* 1992;8:2538-46.
- [25] Knoll W, Advincula RC. *Functional Polymer Films*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2011. p. 1128.
- [26] Dobrynin AV, Rubinstein M. Effect of Short-Range Interactions on Polyelectrolyte Adsorption at Charged Surfaces. *J Phys Chem B.* 2003;107:8260-9.
- [27] Stetefeld J, McKenna SA, Patel TR. *Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences*. *Biophys Rev.* 2016;8:409-27.
- [28] Ozeki T, Morita M, Yoshimine H, Furusawa H, Okahata Y. Hydration and energy dissipation measurements of biomolecules on a piezoelectric quartz oscillator by admittance analyses. *AnalChem.* 2007;79:79-88.
- [29] Furusawa H, Ozeki T, Morita M, Okahata Y. Added Mass Effect on Immobilizations of Proteins on a 27 MHz Quartz Crystal Microbalance in Aqueous Solution. *Anal Chem.* 2009;81:2268-73.

- [30] Guzman E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Luengo GS, Rubio RG. Adsorption of Conditioning Polymers on Solid Substrates with Different Charge Density. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2011;3:3181-8.
- [31] Guzman E, Ortega F, Prolongo MG, Starov VM, Rubio RG. Influence of the molecular architecture on the adsorption onto solid surfaces: comb-like polymers. *Phys Chem Chem Phys*. 2011;13:16416-23.



## 4. TENSIOACTIVOS DERIVADOS DE AZÚCARES: CARACTERIZACIÓN Y ADSORCIÓN CON UN POLICATIÓN

---

El primer paso en la fabricación de nuevas formulaciones que cumplan los requerimientos impuestos por la legislación vigente es la sustitución de los tensioactivos convencionales, como son el lauril éter sulfato sódico (LESS) o la cocoilbetaína (CB), por tensioactivos de origen natural, como pueden ser los glicolípidos [1, 2]. Entre estos, los ramnolípidos (RL), ya descritos en el Capítulo 2, pueden suponer una alternativa prometedora ya que al ser producidos por bacterias su producción a escala industrial no supondría gran dificultad [2, 3]. En la línea de buscar alternativas para el desarrollo de nuevas formulaciones capaces de adaptarse a la nueva reglamentación europea, el propósito de este capítulo es el estudio de mezclas del polielectrolito PDADMAC con distintos biotensioactivos como son los ramnolípidos (mono-RL y di-RL con dos longitudes de cadena distintas). Además, debido a la similitud química con los ramnolípidos, también se ha estudiado la mezcla polímero-tensioactivo usando un tensioactivo comercial, fácilmente accesible, como es el caso del caprilil/capril glucósido (APG).

En este capítulo se ha llevado a cabo una caracterización del proceso de agregación en disolución de distintas mezclas polímero-tensioactivo, así como un estudio sistemático de la adsorción de los complejos formados en disolución sobre superficies sólidas con carga negativa. Como ya se ha comentado anteriormente, el estudio de la adsorción de complejos polímero-tensioactivo sobre superficies sólidas con carga similar a la carga de las fibras del cabello dañado, permite comprender el comportamiento de las formulaciones para cosmética capilar durante su aplicación [4-7]. El empleo de superficies modelo es esencial dado que las fibras capilares presentan una gran complejidad química y estructural, lo que dificulta y encarece la posibilidad de realizar un estudio exhaustivo de los procesos de adsorción sobre las mismas [8, 9].

## 4.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Previamente a la discusión de los resultados, en este apartado se presenta una breve descripción del esquema metodológico usado en la realización de los estudios recogidos en este capítulo.

Dado que el LESS es el tensioactivo más utilizado en las formulaciones cosméticas para la preparación de champús y acondicionadores, se ha empleado como tensioactivo de referencia en los estudios de adsorción realizados [10]. Por otra parte, los ramnolípidos utilizados van a ser identificados en función de su número de anillos de ramnosa y de la longitud de su cadena hidrocarbonada: mono-RL(C<sub>10</sub>), mono-RL(C<sub>14</sub>), di-RL(C<sub>10</sub>) y di-RL(C<sub>14</sub>).

El pH de todas las mezclas ha sido ajustado a 5.6 empleando ácido acético glacial (pureza > 99 %). Además, para mantener la fuerza iónica constante, todas las mezclas contienen una concentración salina de 40 mM de KCl. De este modo, las condiciones de las disoluciones a estudiar son similares a la de la mayoría de las formulaciones cosméticas utilizadas en el cuidado capilar, lo que permite una reducción de la decoloración del cabello y una minimización de la irritación de la piel y mucosas [11]. Las disoluciones con las que se ha trabajado tienen un contenido fijo de polímero de 2 g·L<sup>-1</sup> y concentraciones crecientes de tensioactivo en el intervalo 10<sup>-6</sup> - 10 mM. A su vez, todos los experimentos han sido realizados a 25.0 ± 0.1°C.

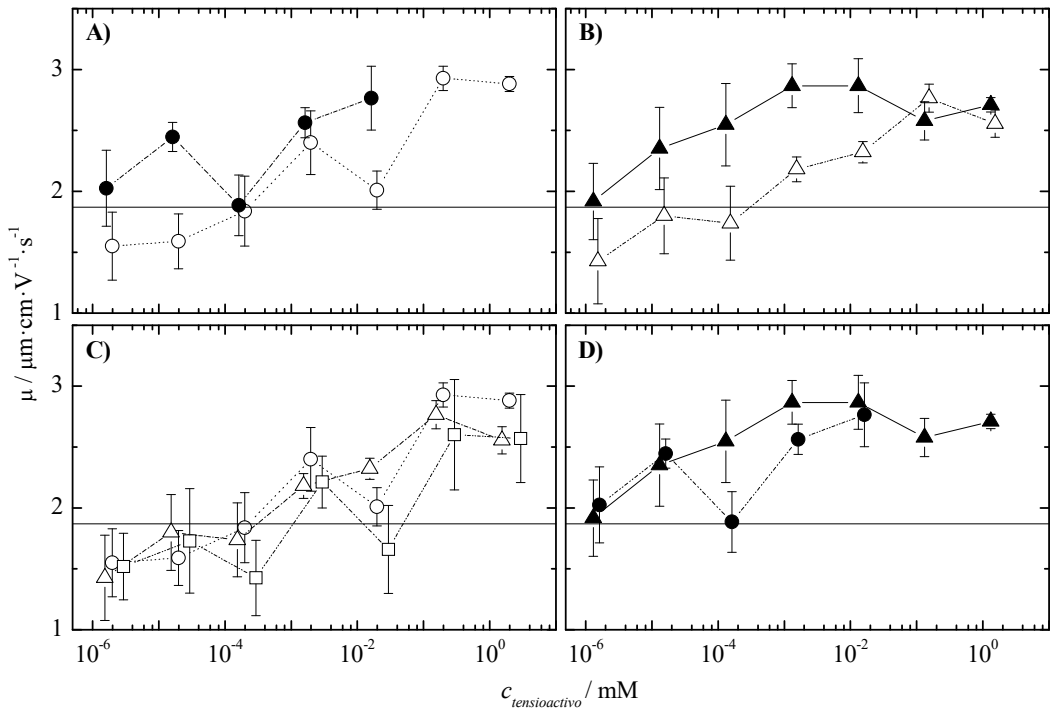
## 4.2. RESULTADOS

### 4.2.1. ESTUDIO EN DISOLUCIÓN

En esta sección se va a estudiar la carga efectiva y el tamaño aparente de los agregados polímero-tensioactivo formados en disolución, así como el carácter monofásico o multifásico de las mezclas obtenidas. Cabe mencionar que para las mezclas de PDADMAC-mono-RL(C<sub>14</sub>) ha sido imposible preparar disoluciones con concentraciones de tensioactivo superiores a 0.018 mM debido a su alta hidrofobicidad, que limita su solubilidad en agua.

#### 4.2.1.1. MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA

La Figura 4.1 ilustra la dependencia de la movilidad electroforética con la concentración de tensioactivo para las distintas mezclas PDADMAC-tensioactivo estudiadas en el presente capítulo. Uno de los datos más relevantes encontrados en la movilidad electroforética es que en ninguno de los casos aparece neutralización ni inversión de carga, lo que implica que en todo el intervalo de concentraciones estudiado los complejos polímero-tensioactivo presentes en la disolución se encuentran cargados positivamente. Los valores positivos parecen ser bastante independientes de la naturaleza del tensioactivo, al menos para las concentraciones más bajas de tensioactivo. Este comportamiento parece sugerir que la carga de los agregados está controlada en todo el intervalo de concentraciones por la carga de las cadenas de polímero, dado que las concentraciones más altas de



**Figura 4.1.** Dependencia de la movilidad electroforética con la concentración de tensioactivo para las diferentes mezclas de PDADMAC-tensioactivo estudiadas en este capítulo: A) Efecto de la longitud de la cadena hidrofóbica en mono-RL. B) Efecto de la longitud de la cadena hidrofóbica en di-RL. C) Efecto de la hidrofobicidad y carga de los tensioactivos C<sub>10</sub>. D) Efecto de la hidrofobicidad de los tensioactivos C<sub>14</sub>. Los símbolos hacen referencia a las diferentes muestras: ○ mono-RL(C<sub>10</sub>) ● mono-RL(C<sub>14</sub>) Δ di-RL(C<sub>10</sub>) ▲ di-RL(C<sub>14</sub>) □ APG. La línea horizontal corresponde a la movilidad electroforética del PDADMAC que equivale a  $\zeta=24\pm 1$  mV. Las líneas entre puntos se muestran como guía para los ojos.

tensioactivo son más de un orden de magnitud inferiores a la necesaria para la neutralización de las cargas del polímero.

A concentraciones altas de tensioactivo se observa un ligero aumento de la movilidad electroforética. Esto puede ser un signo de la formación de complejos en los que están implicadas varias cadenas de polímero (*complejos multicadena* [12]). En estos complejos, las cadenas de polímero están unidas por moléculas de tensioactivo que actúan como puente. Esto podría entenderse considerando la formación de micelas y hemi-micelas unidas a cadenas poliméricas que pueden actuar de puente con otras cadenas de polímero [13]. Además, cabe mencionar que la formación de estos complejos multicadena se ve favorecido por el incremento de la hidrofobicidad de los tensioactivos. Dicho escenario se ve soportado por el aumento de la movilidad electroforética de los complejos a partir de concentraciones más bajas en aquellas mezclas que contienen RL con cadenas alquílicas de 14 átomos de carbono (Figura 4.1.A y Figura 4.1.B). Esto podría explicarse usando una analogía con el efecto de la hidrofobicidad en la concentración micelar crítica, cmc, de dichos tensioactivos en disolución. Así, al igual que al aumentar la hidrofobicidad de los tensioactivos se produce su micelización en disolución a concentraciones más bajas, la



micelación sobre las cadenas poliméricas aparece a concentraciones más bajas a medida que aumenta la hidrofobicidad del tensioactivo. Los resultados de las mezclas de PDADMAC-ramnolípido se pueden comprender fácilmente sobre la base de la formación de micelas o hemi-micelas puente, ya que la formación de complejos multicadena viene dada por la interacción electrostática de los grupos carboxilato disociados del tensioactivo y el grupo amonio cuaternario de otras cadenas de polímero. Sin embargo, el escenario de interacción es más complejo cuando se consideran las mezclas que contienen APG. Esto se debe, en parte, a la ausencia de un grupo principal cargado en dicho tensioactivo. No obstante, sobre la base de los resultados experimentales, la formación de puentes entre las cadenas es susceptible de ocurrir. Esto podría explicarse teniendo en cuenta la existencia de una interacción de naturaleza hidrófoba entre la cadena alquílica de las moléculas del tensioactivo y los dominios hidrófobos de las cadenas de PDADMAC. Dichos agregados en los que las cabezas del tensioactivo están expuestas al entorno acuoso pueden interactuar a través de enlaces de hidrógeno, conduciendo a la formación de complejos multicadena, como lo demuestra el aumento de la movilidad electroforética.

#### 4.2.1.2. TURBIDIMETRÍA

Es esperable que las diferencias observadas en la movilidad electroforética también produzcan variaciones en la turbidez como fue discutido previamente por Llamas et al. para las mezclas de PDADMAC con el tensioactivo catiónico Lauoril-metil-taurato de sodio (SLMT) [7]. Cabe señalar que, independientemente de la naturaleza del tensioactivo, a bajas concentraciones del mismo, las disoluciones tienen un aspecto transparente. Esto está de acuerdo con la formación de complejos hidrofílicos solubles en los cuales el tensioactivo no afecta significativamente a la conformación del polímero como evidenciaba el valor casi constante de la movilidad electroforética. Sin embargo, como se puede observar en la Figura 4.2, el aumento de la concentración de tensioactivo conduce a un aumento significativo de la turbidez de la muestra.

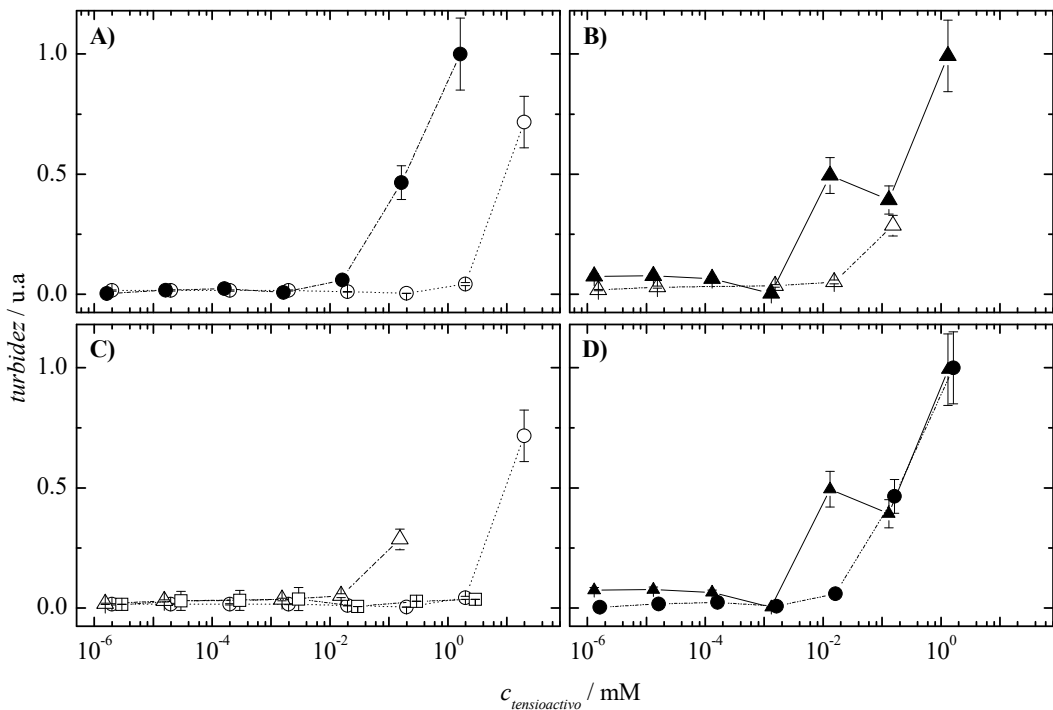
A la luz de los resultados experimentales mostrados en la Figura 4.3, es posible suponer que la entrada en la región de separación de fases para los sistemas aquí estudiados, y en consecuencia el aumento de la turbidez de las disoluciones, se relaciona principalmente con la formación de agregados constituidos por varias cadenas de polímero ya que para las concentraciones de tensioactivo utilizadas en todos los casos los sistemas se encuentran lejos del punto isoeléctrico como evidencian los resultados de la movilidad electroforética. Además, un simple cálculo muestra que para una concentración de tensioactivo entorno a



**Figura 4.2.** Ejemplo del aumento de la turbidez de las muestras PDADMAC-ramnolípido con la concentración de tensioactivo.

1 mM, y suponiendo que todas las moléculas de tensioactivo interactúan con los monómeros de la cadena polimérica, se tendrían disponibles más de 10 monómeros cargados por molécula de tensioactivo en disolución, confirmándose de esta manera que los complejos formados en disolución deberían presentar una carga neta positiva. De esta manera la entrada en la región de separación de fases difiere del escenario encontrado para la mayoría de los sistemas estudiados en la literatura donde la entrada en la región de separación de fases es el resultado de la compensación de cargas debida a la neutralización de las cargas de la cadena polimérica por la unión de moléculas de tensioactivo [14-17]. Dicho proceso de compensación de cargas conduce a la formación de complejos neutros de gran inestabilidad coloidal que separan como una fase aparte de la disolución. El aumento de la cantidad de tensioactivo conduce, más allá de la concentración de neutralización, a la inversión de carga de los complejos y la consecuente resolubilización de los mismos [14, 18, 19]. En los estudios realizados en este capítulo, los sistemas se encuentran lejos de la región de neutralización debido a la elevada concentración de polímero [20-22], por lo que la única explicación posible para el aumento de la turbidez es la formación de agregados cinéticamente atrapados durante el proceso de preparación de las muestras [23, 24].

La dependencia de la turbidez con la concentración de tensioactivo pone de manifiesto de nuevo el efecto de la hidrofobicidad del tensioactivo en la formación de complejos



**Figura 4.3.** Dependencia de la turbidez con la concentración de tensioactivo para las diferentes mezclas de PDADMAC-tensioactivo estudiadas: A) Efecto de la longitud de la cadena hidrofóbica en mono-RL. B) Efecto de la longitud de la cadena hidrofóbica en di-RL. C) Efecto de la hidrofobicidad y carga de los tensioactivos C<sub>10</sub>. D) Efecto de la hidrofobicidad de los tensioactivos C<sub>14</sub>. Los símbolos hacen referencia a las diferentes muestras: ○ mono-RL(C<sub>10</sub>) ● mono-RL(C<sub>14</sub>) △ di-RL(C<sub>10</sub>) ▲ di-RL(C<sub>14</sub>) □ APG. Las líneas entre puntos se muestran como guía para los ojos.

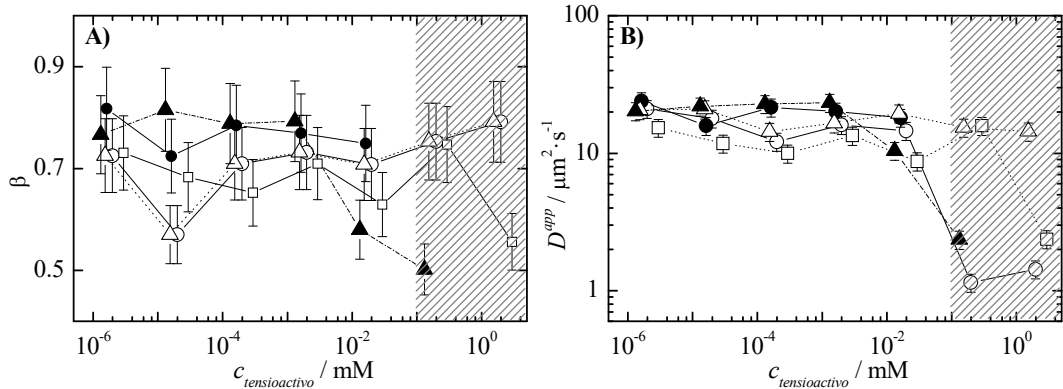
macromoleculares de menor solubilidad. Esto podría explicarse teniendo en cuenta que cuanto mayor es la hidrofobicidad del tensioactivo utilizado, menor es la concentración a la que comienzan a formar agregados micelares que actúan como puente entre distintas cadenas de polímero. Este hecho es evidente para los datos obtenidos para el mono-RL (Figura 4.3.A) y el di-RL (Figura 4.3.B), en los que se encontró un cambio brusco en la turbidez a concentraciones un orden de magnitud inferior cuando la longitud de la cadena hidrocarbonada aumenta de 10 a 14 átomos de carbono.

No obstante, esto parece estar en desacuerdo con los resultados obtenidos para los tensioactivos con la misma longitud de cadena hidrocarbonada y diferente número de anillos de azúcar en la cabeza hidrofílica. En este caso, el di-RL, del cual se espera un mayor carácter hidrofílico en comparación con el mono-RL, muestra un aumento más significativo de la turbidez con la concentración que el mono-RL (Figura 4.3.C y Figura 4.3.D). Esta aparente discrepancia con la descripción presentada anteriormente se puede explicar considerando el papel que desempeña el tamaño de la cabeza polar en el proceso de agregación de las moléculas de tensioactivo [25]. Por lo tanto, un aumento en el tamaño de la cabeza polar disminuye el número de agregación de las micelas o hemi-micelas que actúan como puente entre las cadenas de polímero, conduciendo así al aumento del número de puentes intercadena y, en consecuencia, a un aumento de la turbidez a concentraciones más bajas de tensioactivo en el caso del di-RL. Por último, en las mezclas PDADMAC-APG, no hay evidencias de un aumento de turbidez en todo el intervalo de concentraciones estudiado.

#### 4.2.1.3. DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA

A partir de experimentos de DLS se puede obtener información adicional sobre el proceso de agregación de las mezclas polímero-tensioactivo en disolución. La Figura 4.4 recoge los valores del factor de estrechamiento  $\beta$  y del coeficiente de difusión aparente  $D^{\text{app}}$ , obtenido a partir del análisis en términos de exponencial expandida de las funciones de autocorrelación obtenidas por DLS de las diferentes mezclas polímero-tensioactivo estudiadas. Cabe mencionar que el estudio por DLS de las mezclas que presentan elevada turbidez carece de sentido, puesto que en el proceso de filtración se pierde material correspondiente a los complejos de gran tamaño y, por consiguiente, los resultados podrían verse alterados por dicho proceso de filtración.

En la Figura 4.4 se puede comprobar que las muestras son polidispersas, dado que  $\beta$  adquiere en todos los casos valores próximos a 0.5. Además, los resultados parecen indicar que, en el intervalo de concentraciones estudiado, las distribuciones de tamaño mantienen una anchura similar. Por otro lado, de los valores de  $D^{\text{app}}$  es posible obtener información cualitativa sobre el tamaño de los agregados recurriendo a la ecuación de Stokes-Einstein (ec. (2.41)) que define  $D^{\text{app}} \propto R_h^{-1}$ . De este modo, es posible asumir que la disminución de  $D^{\text{app}}$  implica un aumento de tamaño de los complejos. Por tanto, a la vista de los resultados se puede afirmar que a bajas concentraciones de tensioactivo el tamaño de los agregados permanece constante y es casi independiente del tensioactivo elegido. Sin embargo, a concentraciones altas de tensioactivo (0.1-1 mM), a pesar de no poder realizar un análisis cuantitativo de los datos debido a la existencia de agregados de gran tamaño (proximidades de la región de separación de fases) que confieren turbidez a la muestra y son retenidos por el filtro durante el proceso de filtración de la misma, los resultados muestran una significativa reducción del coeficiente de difusión de los agregados que permanecen en la disolución después de dicho proceso. Este hecho permite asumir que los complejos polímero-tensioactivo que han traspasado dicho filtro presentan un elevado tamaño, lo cual



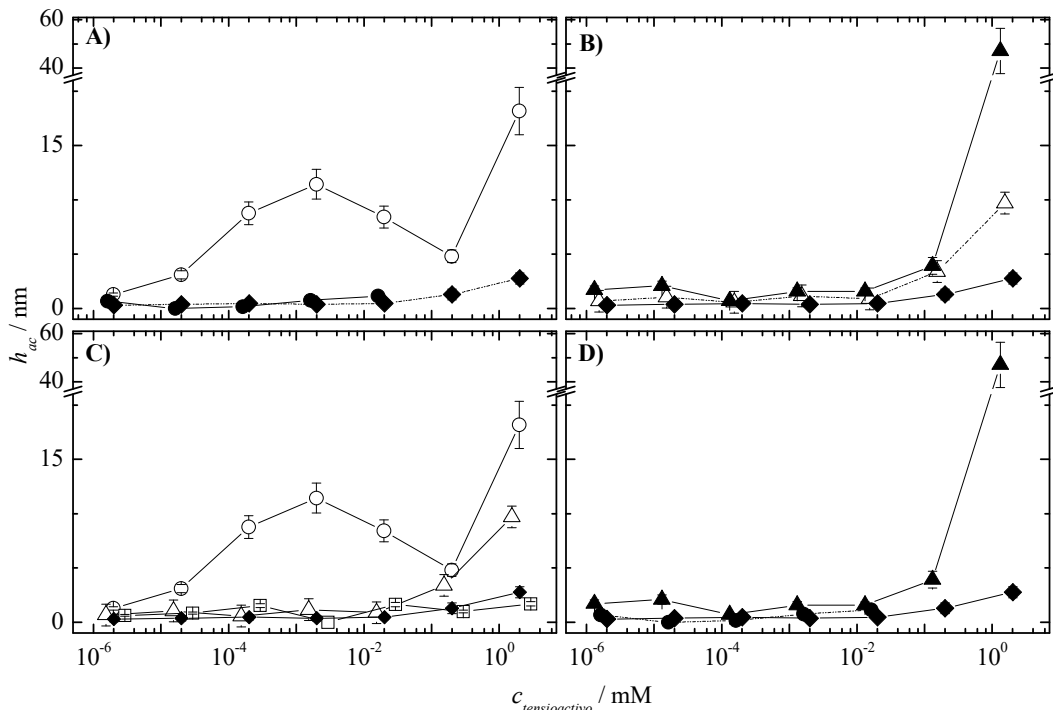
**Figura 4.4.** A) Dependencia de  $\beta$  con la concentración de tensioactivo para las distintas mezclas polímero-tensioactivo estudiadas. B) Dependencia de  $D^{app}$  con la concentración de tensioactivo para las distintas mezclas polímero-tensioactivo estudiadas. Los símbolos hacen referencia a las diferentes muestras:  $\circ$  mono-RL(C<sub>10</sub>)  $\bullet$  mono-RL(C<sub>14</sub>)  $\Delta$  di-RL(C<sub>10</sub>)  $\blacktriangle$  di-RL(C<sub>14</sub>)  $\square$  APG. Las líneas entre puntos se muestran como guía para los ojos. Nótese que la zona sombreada indica la región donde parte de los agregados presentes en la disolución quedan retenidos durante el proceso de filtración (región de separación de fases).

concuera cualitativamente con el escenario presentado anteriormente en base a los resultados de turbidez (Figura 4.3) para la agregación de polímeros y tensioactivos en disolución.

## 4.2.2. ADSORCIÓN SOBRE SUPERFICIES SÓLIDAS

### 4.2.2.1. CANTIDAD ADSORBIDA SOBRE SUPERFICIES MODELO

El patrón de agregación discutido anteriormente tiene una influencia importante en la adsorción de los complejos polímero-tensioactivo sobre superficies sólidas debido al establecimiento de un equilibrio entre ambas fases, lo cual ya ha sido descrito en la literatura para otros sistemas [7]. La Figura 4.5 recoge los valores de los espesores acústicos  $h_{ac}$  obtenidos usando QCM-D para las distintas mezclas polímero-tensioactivo estudiadas en el presente capítulo. Como se puede observar, en todos los casos la adsorción de las mezclas con ramnolípidos es superior a la adsorción correspondiente a las mezclas PDADMAC-LESS, lo cual puede tener una gran influencia en el rendimiento de nuevas formulaciones cosméticas incorporando ramnolípidos. A su vez, los resultados evidencian que a bajas concentraciones de tensioactivo, es decir, cuando las disoluciones se encuentran lejos de la región de separación de fases, los espesores de la capas adsorbidas son relativamente bajos e independientes de la concentración. En cambio, en la entrada de dicha región se produce un aumento significativo del espesor con la concentración de tensioactivo. De acuerdo con estudios previos [26], este hecho puede deberse a la precipitación de los complejos polímero-tensioactivo sobre la superficie sólida como consecuencia del colapso de los mismos. Además, en contraste con otros sistemas discutidos en la literatura, la adsorción de los complejos aquí estudiados se podría ver favorecida por su carga positiva.

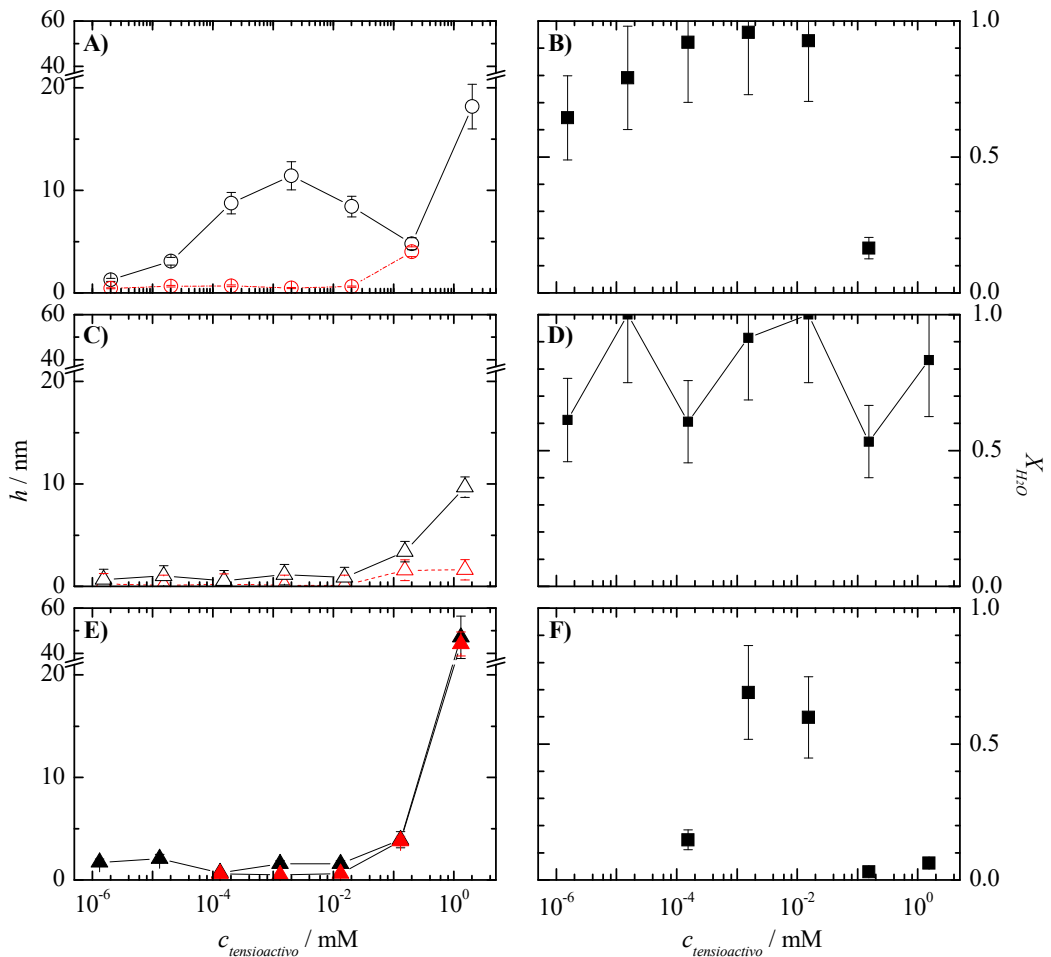


**Figura 4.5.** Dependencia de  $h_{ac}$  con la concentración de tensioactivo de las diferentes mezclas PDADMAC-tensioactivo estudiadas: A) Efecto de la longitud de la cadena hidrofóbica en mono-RL. B) Efecto de la longitud de la cadena hidrofóbica en di-RL. C). Efecto de la hidrofobicidad y carga de los tensioactivos C<sub>10</sub>. D) Efecto de la hidrofobicidad de los tensioactivos C<sub>14</sub>. Los símbolos hacen referencia a las diferentes muestras:  $\circ$  mono-RL(C<sub>10</sub>)  $\bullet$  mono-RL(C<sub>14</sub>)  $\Delta$  di-RL(C<sub>10</sub>)  $\blacktriangle$  di-RL(C<sub>14</sub>)  $\square$  APG. Las líneas entre puntos se muestran como guía para los ojos.

Cuando se analizan en detalle los espesores acústicos, correspondientes a la cantidad total adsorbida (*complejos polímero-tensioactivo + agua de hidratación*), los resultados muestran que la adsorción sigue la serie di-RL(C<sub>14</sub>) > mono-RL(C<sub>10</sub>) > di-RL(C<sub>10</sub>) > APG. Debido a su baja solubilidad, no es posible incluir en dicha serie los resultados obtenidos para el mono-RL(C<sub>14</sub>), ya que el intervalo de concentraciones que se puede estudiar queda limitado a la región de bajas concentraciones. Sin embargo, podría esperarse que las mezclas que contienen este ramnolípido condujeran a una adsorción máxima. Por otro lado, la dependencia de la cantidad adsorbida, en función de la naturaleza del tensioactivo utilizado, podría estar asociada con la hidrofobicidad de los complejos formados y, en consecuencia, con su tendencia a la separación de fases y deposición sobre la superficie. Vale la pena mencionar que para las mezclas PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) se produce un aumento considerable del espesor acústico a concentraciones bajas de tensioactivo que podría estar asociado a la formación de capas adsorbidas bastante heterogéneas que atrapan una alta fracción de moléculas de agua.

Por último, se podría concluir que ni el APG ni el mono-RL(C<sub>14</sub>) son una buena elección para reemplazar el LESS en formulaciones cosméticas para el tratamiento capilar debido a la baja adsorción del primero sobre superficies sólidas y a la baja solubilidad del segundo. Teniendo esto en cuenta, la Figura 4.6 muestra únicamente la comparación de los espesores acústicos obtenidos por QCM-D con los espesores ópticos obtenidos por elipsometría para las mezclas binarias de PDADMAC con los tensioactivos mono-RL(C<sub>10</sub>), di-RL(C<sub>10</sub>) y di-RL(C<sub>14</sub>).

Previamente a la discusión de resultados, se ha de mencionar que cuando la turbidez de las muestras es muy elevada, como es el caso de la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) para



**Figura 4.6.** Dependencia de  $h_{op}$ ,  $h_{ac}$  y  $X_{H_2O}$  con la concentración de tensioactivo,  $c$ , para las muestras binarias PDADMAC-tensioactivo estudiadas. Las gráficas de la izquierda muestran la comparación de los espesores ópticos (*en rojo*) y los espesores acústicos (*en negro*); las de la derecha, el grado de hidratación de la capa adsorbida,  $X_{H_2O}$ . **A-B** Mezcla de PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) **C-D** Mezcla de PDADMAC-di-RL(C<sub>10</sub>). **E-F** Mezcla de PDADMAC-di-RL(C<sub>14</sub>). Las líneas entre puntos se muestran como guía para los ojos.

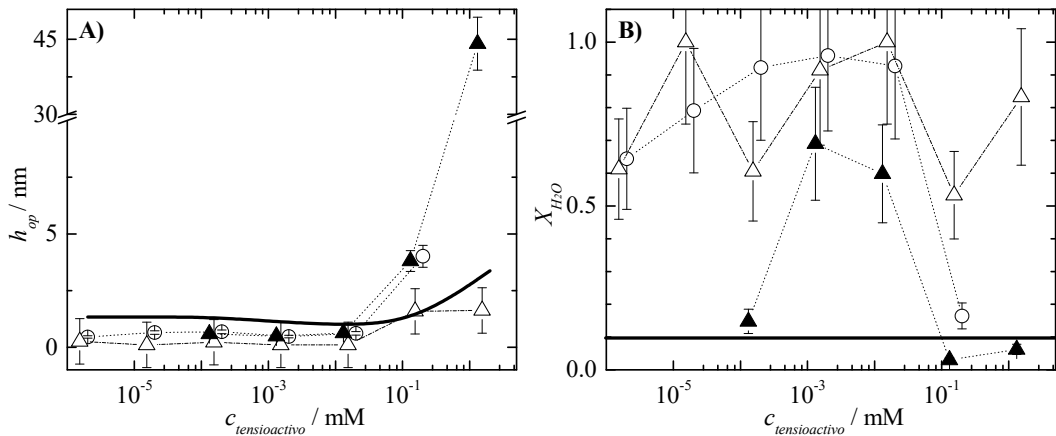
una concentración de tensioactivo de 1 mM, resulta imposible realizar experimentos de elipsometría porque el láser no consigue atravesar la disolución.

Los resultados obtenidos por elipsometría indican que para la mayoría de las mezclas polímero-tensioactivo estudiadas, la cantidad de material efectivo adsorbido (moléculas de polímero y tensioactivo) es bastante limitada. Únicamente para la mezcla con el tensioactivo di-RL(C<sub>14</sub>), la adsorción obtenida por elipsometría es comparable a la encontrada en QCM-D. Por lo tanto, es posible suponer que la mayoría de las muestras se adsorben en forma de capas altamente hidratadas, mientras que los complejos formados por el PDADMAC y el di-RL(C<sub>14</sub>) dan lugar a capas más densas que impiden una alta incorporación de agua de hidratación. Este hecho se confirma calculando el contenido en agua de las capas adsorbidas  $X_{H_2O}$  por comparación de los espesores ópticos y acústicos mediante la ec. (3.1).

Realizando esta comparación (Figura 4.6.B-D-F) se puede observar que mientras que la mezcla PDADMAC-di-RL(C<sub>14</sub>) presenta valores de  $X_{H_2O}$  entre el 10-30% en todo el intervalo de concentraciones de tensioactivo, para el resto de mezclas binarias con otros ramnolípidos el valor del grado de hidratación de la capa adsorbida asciende aproximadamente a un 80% cuando la concentración de tensioactivo es baja o intermedia. A concentraciones altas, según nos aproximamos a la región de separación de fases, se produce una gran disminución del contenido de agua en las capas adsorbidas. Esto se puede explicar considerando la formación de capas totalmente colapsadas como consecuencia de la precipitación de los complejos sobre la superficie de adsorción, lo que lleva aparejado la expulsión de agua de las capas adsorbidas. La menor solubilidad de los complejos PDADMAC-di-RL(C<sub>14</sub>) puede explicar el valor promedio más bajo del contenido de agua encontrado dentro de todo el intervalo de concentraciones de tensioactivo, en relación con los valores obtenidos para las otras mezclas. En este punto, es necesario mencionar que la optimización de la formulación cosmética se basa en alcanzar un equilibrio entre la maximización de la adsorción, que ocurre debido a la precipitación de los complejos sobre la fibra capilar, y la reducción de la fricción entre fibras, que se asocia con el contenido de agua de las capas adsorbidas [11, 27, 28].

La Figura 4.7 recoge la comparación de los espesores ópticos obtenidos por elipsometría para las mezclas binarias de PDADMAC con los tensioactivos LESS, mono-RL(C<sub>10</sub>), di-RL(C<sub>10</sub>) y di-RL(C<sub>14</sub>). Los resultados demuestran que, para todas las mezclas, a concentraciones bajas de tensioactivo la adsorción correspondiente a los complejos polímero-tensioactivo es despreciable, y que dicha adsorción aumenta a medida que la concentración de tensioactivo se aproxima a la entrada en la región de separación de fases. En base a la discusión anterior, es posible concluir que de entre las tres formulaciones consideradas, en relación a la masa adsorbida sobre superficies sólidas, la que mejores resultados aporta es la mezcla PDADMAC-di-RL(C<sub>14</sub>), la cual aumenta en un orden de magnitud la cantidad adsorbida en relación al LESS en las proximidades de la entrada en la región de separación de fases. Sin embargo, el contenido de agua de las capas adsorbidas es muy pequeño y bastante similar al encontrado para las capas de PDADMAC-LESS, lo cual puede reducir sus propiedades acondicionadoras y hace necesario encontrar nuevas formulaciones con propiedades mejoradas.

En el caso de las mezclas que contienen di-RL(C<sub>10</sub>) ocurre justo lo contrario. El contenido en agua es muy elevado mientras que la cantidad de material adsorbido es menor que la encontrada para el sistema con LESS. Por consiguiente, el reemplazo del LESS por el di-RL(C<sub>10</sub>) tampoco es una buena elección. A su vez, dado que las mezclas con APG no mostraron ninguna diferencia en relación al LESS, también se podría descartar esta



**Figura 4.7.** Dependencia de  $h_{op}$  y  $X_{H_2O}$  con la concentración de tensoactivo para las mezclas de PDADMAC con los tensoactivos — LESS ○ mono-RL(C<sub>10</sub>) △ di-RL(C<sub>10</sub>) ▲ di-RL(C<sub>14</sub>). Las líneas entre los puntos se muestran como guía para los ojos.

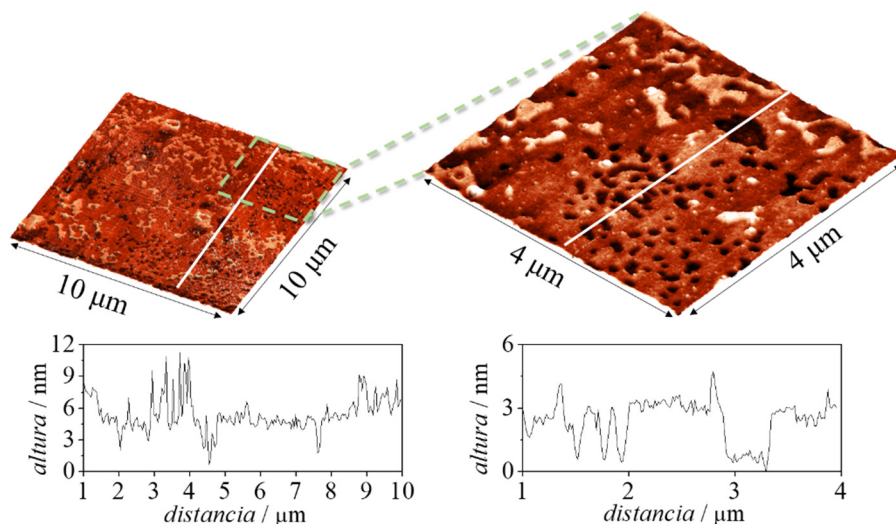
alternativa. En cambio, la situación es diferente cuando se trata de las mezclas con mono-RL(C<sub>10</sub>). En este caso, tanto el contenido en agua como la cantidad de material adsorbido aumentan en relación a la mezcla con LESS. Por tanto, la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) es una buena alternativa para sustituir al tensoactivo usado por excelencia en las formulaciones cosméticas.

#### 4.2.2.2. TOPOGRAFÍA DE LAS CAPAS ADSORBIDAS

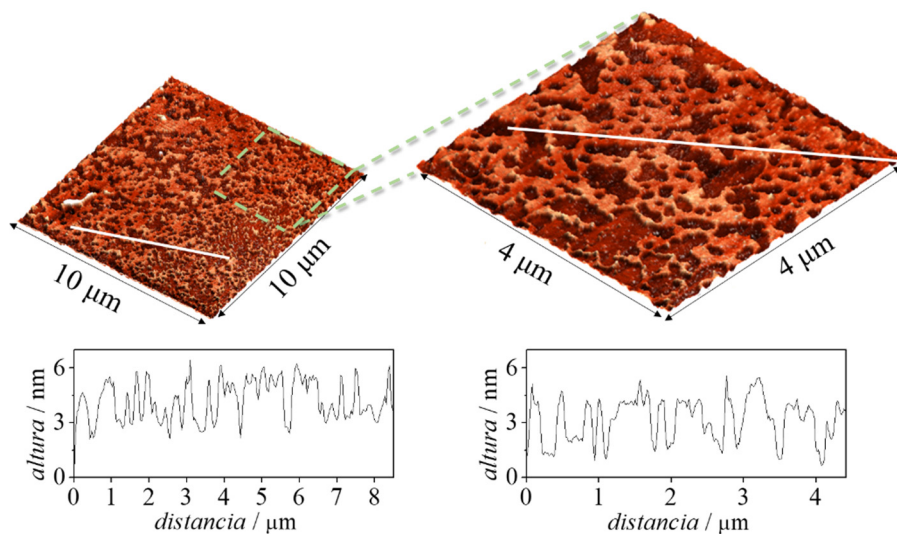
Con el fin de obtener una comprensión más detallada sobre la posible aplicación de mezclas de PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) en el desarrollo de nuevas formulaciones para el acondicionamiento y reparación capilar, se ha llevado a cabo un análisis de la topografía de las capas formadas sobre las superficies sólidas empleando la Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). Teniendo en cuenta que la adsorción a concentraciones bajas de tensoactivo es bastante limitada, se ha centrado el análisis en las concentraciones más altas,  $10^{-1}$  - 1 mM (Figura 4.9 y Figura 4.8, respectivamente).

Las imágenes de AFM evidencian una alta cobertura de la superficie por parte de los complejos polímero-tensoactivo, pudiéndose considerar este hecho como un beneficio adicional de cara a la aplicación cosmética. Además, las imágenes muestran una mayor densificación de la capa adsorbida a medida que aumenta la concentración de tensoactivo, dado que la muestra de concentración 1 mM presenta menor número de zonas vacías que la muestra  $10^{-1}$  mM. Esto concuerda con el escenario de precipitación de los complejos formados en disolución, y al posterior colapso de los agregados sobre la superficie que se ha mencionado anteriormente. De este modo, a medida que nos aproximamos a la región de separación de fases, se favorece la adsorción de complejos sobre la superficie sólida, siendo esperable que este fenómeno pueda mejorar el rendimiento acondicionador de la formulación cosmética.





**Figura 4.8.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una disolución de PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) a una concentración de tensioactivo de 1 mM. Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de 10x10 μm<sup>2</sup> usando una resolución de barrido de 19.5 nm/pto (imagen de la izquierda), y sobre un área de 4x4 μm<sup>2</sup> usando una resolución de barrido de 7.8 nm/pto (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.

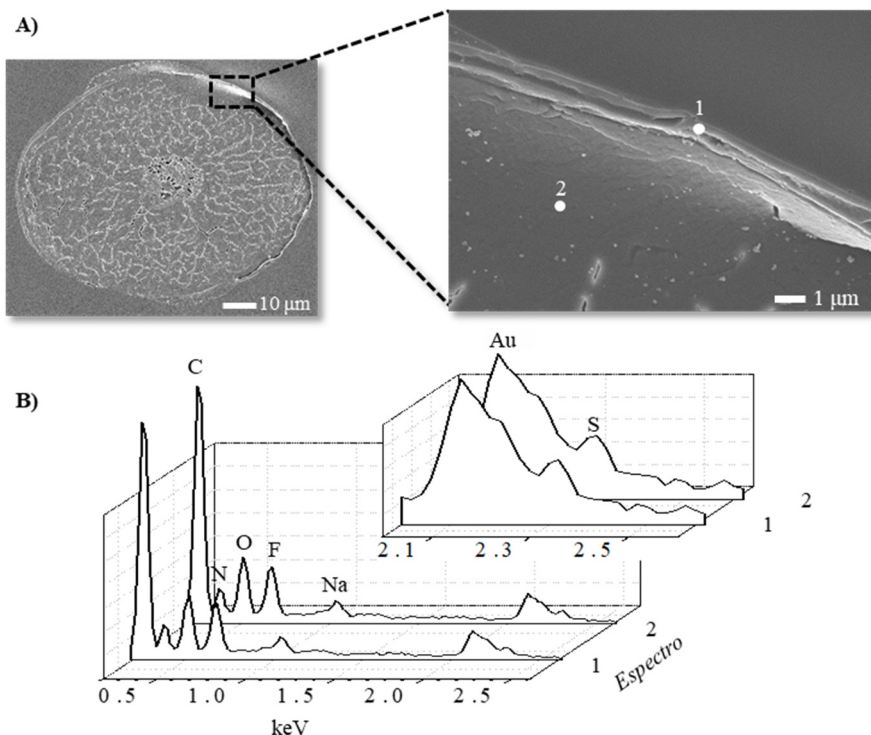


**Figura 4.9.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una disolución de PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) a una concentración de tensioactivo de 10<sup>-1</sup> mM. Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de 10x10 μm<sup>2</sup> usando una resolución de barrido de 19.5 nm/pto (imagen de la izquierda), y sobre un área de 4x4 μm<sup>2</sup> usando una resolución de barrido de 7.8 nm/pto (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.

#### 4.2.2.3. ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN SOBRE FIBRAS CAPILARES

En las secciones anteriores se ha demostrado que el mono-RL(C<sub>10</sub>) es un tensioactivo prometedor de cara a la sustitución del LESS en las formulaciones cosméticas, ya que además de presentar adsorciones más elevadas que este último, las capas adsorbidas presentan un alto grado de hidratación. Es por ello que para completar el estudio de la efectividad de la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>), se ha analizado su adsorción sobre el sustrato natural, el cabello, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).

Para la realización de estos experimentos se han estudiado dos tipos de fibras capilares estandarizadas que han sido sometidas previamente a un proceso de decoloración. En primer lugar, para tener un patrón de referencia, se ha realizado un análisis de una fibra a la cual no se le ha aplicado ningún tratamiento cosmético; en segundo lugar, se ha analizado una fibra tratada con la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) a una concentración de tensioactivo de 10<sup>-1</sup> mM que, como ya se ha comprobado en apartados anteriores, presenta unas condiciones de adsorción óptimas. La preparación de la fibra tratada se realizó mediante inmersión de la misma en la mezcla a estudiar durante dos minutos, y posterior lavado con agua de calidad Milli-Q ajustada al pH de trabajo, con la intención de reproducir, en la medida de lo posible, el proceso habitual del lavado del cabello. Tras esto, ambas fibras se embebieron en una *resina spurr* [29] para facilitar el corte transversal que



**Figura 4.10.** A) A la izquierda: imagen de un corte transversal de una fibra capilar (sin tratamiento previo) obtenida por SEM con una potencia del haz de electrones de 3 keV y magnificada 1100 veces. A la derecha: Ampliación de la fibra capilar, obtenida con una potencia del haz de 5 keV y magnificada 8500 veces. B) Análisis EDS de dos puntos de la fibra capilar señalados en la parte superior. (Nótese que la señal de Au corresponde al oro utilizado para recubrir la muestra)

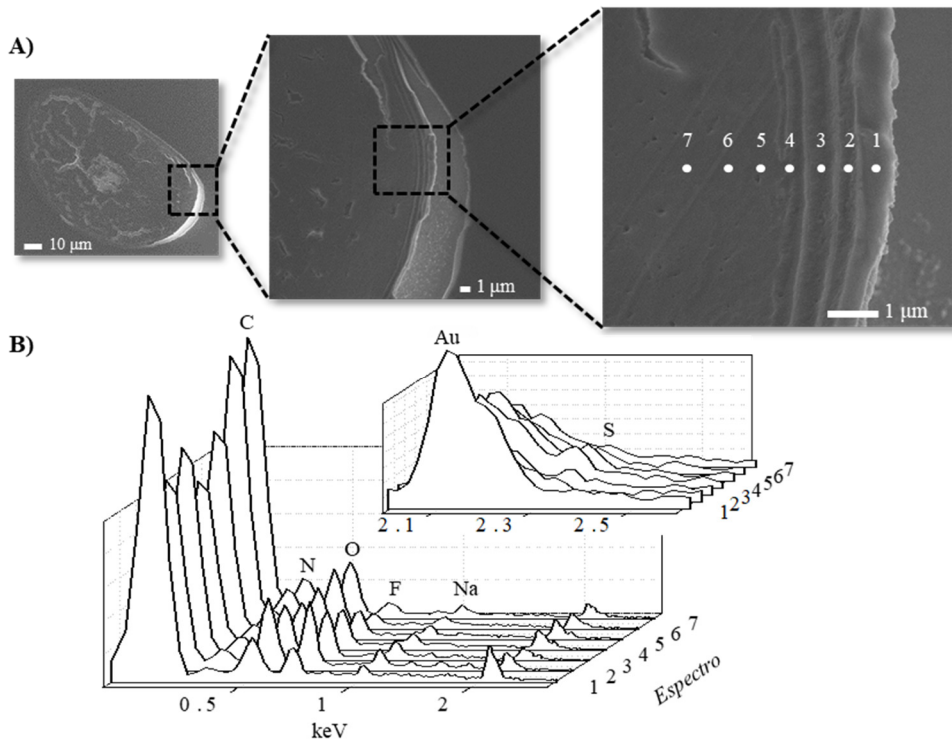
se ilustra en la Figura 4.10 a través de un microtomo. Por último, se realizó una pulverización catódica o *sputtering* de oro durante 50 segundos sobre las muestras para hacerlas conductoras y así poder observarlas usando un microscopio tipo SEM.

Como se puede observar en Figura 4.10, el cabello está formado por tres partes: una parte central, la médula, compuesta por un núcleo de células centrales, cuya existencia viene determinada por el tipo de cabello; una capa de fibras denominada corteza o córtex; y una capa externa, la cutícula, que presenta una estructura con forma de escamas solapadas que protegen el interior del cabello [30]. Los principales elementos del cabello son los conocidos *elementos CHONS*; C de carbono, H de hidrógeno, O de oxígeno, N de nitrógeno y S de azufre, siendo este último debido a las cisteínas [30]. Más específicamente, la presencia de azufre en la cutícula se asocia al alto contenido en S-sulfocisteína del cabello dañado [31]. Esto hace que el análisis elemental del cabello sin tratar, mediante espectroscopía de rayos X por energía dispersiva (EDS), evidencie la presencia de un alto contenido en *elementos CHONS* (Figura 4.10.B). Cabe mencionar que la presencia de flúor podría encontrarse asociada a la existencia de iones fluoruro en el agua utilizada para el lavado de las fibras capilares tras el proceso de decoloración [32]. Así mismo, la presencia de sodio es debida a los minerales de dicho agua.

Al inicio del capítulo se hizo mención de la dificultad que supone realizar un estudio exhaustivo del proceso de adsorción sobre el cabello debido a la complejidad química y estructural del mismo [8, 9]. Este hecho queda demostrado en la Figura 4.11.A donde la fibra capilar presenta un aspecto más achatado que la fibra control de la Figura 4.10.A.

Así mismo, en dicha figura se observa la existencia de material adsorbido sobre la cutícula del cabello, cuyo espesor asciende a los 200 nm, lo que permite suponer que el corte transversal de la fibra se ha realizado en una zona de la misma donde la adsorción se ha realizado en forma de islote de gran tamaño. Es por ello que estos estudios sobre cabello real no son reproducibles, pero sí permiten comprobar la eficacia de la formulación de manera cualitativa. A su vez, en la Figura 4.11.B, se puede comprobar la inexistencia de azufre en el Espectro 1 realizado en el punto 1 señalado en la Figura 4.11.A, lo que permite confirmar que el material adsorbido que se observa en dicha figura corresponde a la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) puesto que ni el polímero ni el tensioactivo presentan azufre en su estructura.

Otro aspecto importante obtenido del análisis de las muestras mediante EDS es la limitada penetración de la formulación cosmética hacia la parte interior de la fibra capilar, ya que las regiones 2-7 evidencian la presencia de azufre. De este modo, podría asumirse que el proceso de acondicionamiento capilar se encuentra limitado a un proceso de adsorción superficial, siendo reducida la penetración o absorción de la formulación hacia el interior de la fibra capilar. Además, estos resultados permiten dar una mayor validez a los estudios realizados utilizando superficies modelo, dado que la adsorción es el proceso mayoritario en el acondicionamiento capilar.



**Figura 4.11.** A) De izquierda a derecha: imagen de un corte transversal de una fibra capilar, tratada con la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>) a una concentración de tensioactivo de 10<sup>-1</sup> Mm, obtenida por SEM con una potencia del haz de electrones de 5 keV y magnificada 650 veces. A su derecha, ampliaciones de la fibra capilar con una potencia del haz de 5 keV y magnificadas 3300 y 14000 veces respectivamente. B) Análisis EDS de diversos puntos de la fibra capilar señalados en la parte superior. (Nótese que la señal de Au corresponde al oro utilizado para recubrir la muestra)

### 4.2.3. ALTERNATIVA PARA LA FORMULACIÓN COSMÉTICA.

Este capítulo se ha centrado en la obtención de alternativas aceptables a los sistemas convencionales usados en la fabricación de formulaciones cosméticas, es decir, de la importancia que supone la sustitución de los tensioactivos actualmente utilizados, pero en ningún momento se ha discutido la posible viabilidad económica del producto obtenido. De cara al desarrollo industrial de una determinada formulación se debe tener en cuenta el precio del producto ya que se debe alcanzar un equilibrio entre costes y efectividad.

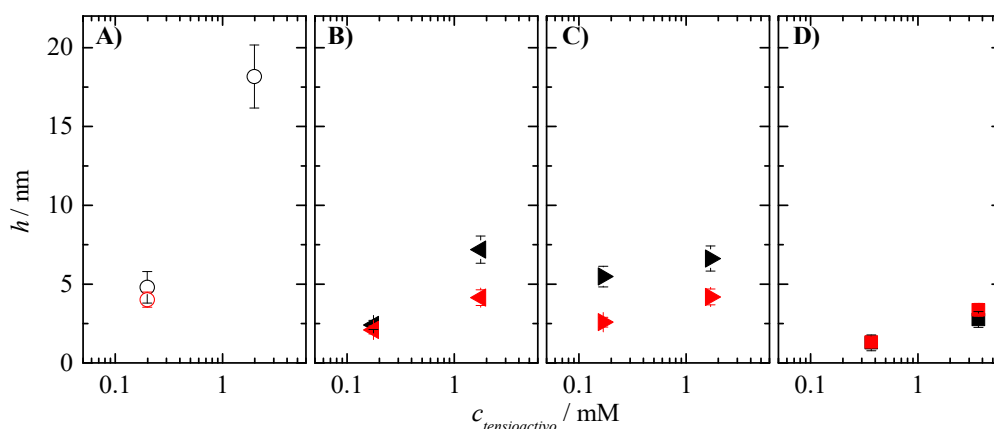
Los ramnolípidos puros son productos obtenidos por procesos de fermentación mediados por bacterias del tipo *Pseudomonas aeruginosa*. Aunque su producción no es industrialmente compleja, el producto obtenido es una compleja mezcla de compuestos que debe ser purificada para la obtención de los tensioactivos individuales lo que encarece el producto final [33-35]. De este modo, a pesar de que las formulaciones que contienen mono-RL(C<sub>10</sub>) han mostrado una alta eficacia en los estudios de laboratorio, dicho tensioactivo presenta una elevada pureza y como consecuencia es relativamente caro, lo que supone un problema de cara a su incorporación en una formulación cosmética comercial. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados óptimos que aporta este tensioactivo, si se pretendiera incorporarlo

en la formulación se debería minimizar la concentración del mismo o elevar el precio del producto comercial. La primera solución presenta problemas asociados a la posible efectividad de las formulaciones, mientras que en el segundo caso aparecerían problemas asociados con el éxito económico de las formulaciones. Otra alternativa posible sería la utilización de una mezcla de mono-RL y di-RL sin purificación previa, lo cual abarataría mucho los costes. Para evaluar la posible efectividad de esta aproximación se han estudiado formulaciones en las que el PDADMAC se combina con mezclas de ramnolípidos. En la Tabla 4.1 se recoge un resumen de las dos mezclas de ramnolípidos, previamente descritas en el Capítulo 2, que han sido estudiadas como alternativa al mono-RL( $C_{10}$ ):

**Tabla 4.1.** Resumen de las mezclas de mono-RL y di-RL estudiadas en esta tesis. Nótese que la suma de los porcentajes de los ramnolípidos presentes en la mezcla no llega al 100%, la fracción restante corresponde a la presencia de otros componentes indeterminados en la mezcla.

	% mono-RL	% di-RL	% Otros
<b>Extracto natural:</b> “(mono+di)RLs NATURAL”	35	50	15
<b>Mezcla industrial:</b> “(mono+di)RLs INDUSTRIAL”	55	41	4

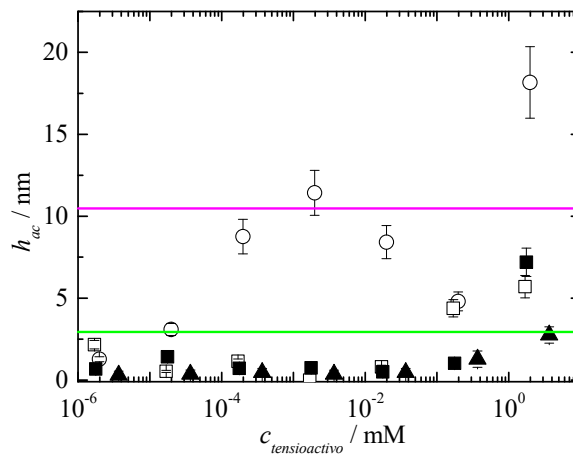
Las mezclas utilizadas en este estudio fueron un extracto natural, obtenido directamente mediante el proceso de fermentación, y una mezcla de ramnolípidos sintéticos, que difieren entre sí en la composición de ramnolípidos. La Figura 4.12 recoge una comparación de los espesores acústicos y ópticos de las mezclas de PDADMAC con mono-RL( $C_{10}$ ), (mono+di)RLs INDUSTRIAL, (mono+di)RLs NATURAL, y LESS a altas concentraciones de tensioactivo que, como se observó anteriormente, son las que mejores resultados de adsorción reportan.



**Figura 4.12.** Dependencia de los espesores ópticos (*en rojo*) y acústicos (*en negro*) con la concentración de tensioactivo,  $c$ , para las mezclas de PDADMAC-tensioactivo estudiadas. A) Mezcla de PDADMAC-mono-RL( $C_{10}$ ) B) Mezcla de PDADMAC-(mono+di)RLs INDUSTRIAL C) PDADMAC-(mono+di)RLs NATURAL D) Mezcla de PDADMAC-LESS.

A la vista de los resultados se observa que la interacción simultánea del mono-RL y di-RL provoca un efecto antagónico en la adsorción respecto de los resultados obtenidos para las mezclas de PDADMAC y mono-RL( $C_{10}$ ). No obstante, ambas mezclas PDADMAC-(mono+di)RLs presentan adsorciones mayores que el sistema PDADMAC-LESS, lo que convierte a ambas mezclas en posibles candidatos para la sustitución del LESS. Cabe destacar que el ligero aumento de espesor de la mezcla industrial en  $\sim 1$  mM, en relación a la cantidad adsorbida en la mezcla natural, podría justificarse en base a la mayor cantidad de mono-RL en la mezcla. A dicha concentración de tensioactivo, para ambas mezclas la capa adsorbida está hidratada entorno a un 40-50%, mientras que a  $10^{-1}$  mM de tensioactivo la capa de la mezcla industrial está mas densificada.

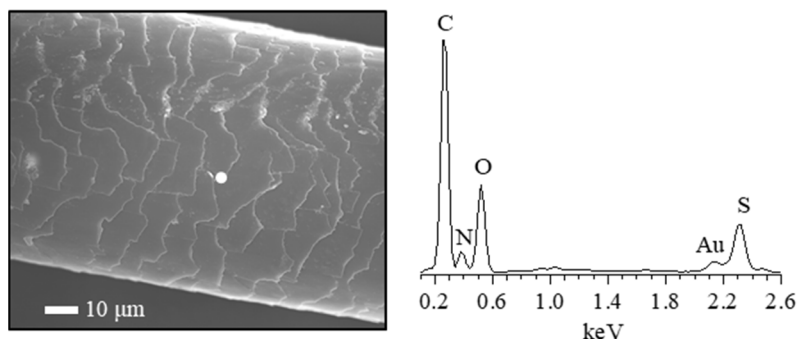
Finalmente, conviene mencionar que las condiciones habituales de uso de los productos comerciales conllevan una dilución de los mismos de 10 a 20 veces. La Figura 4.13 recoge una comparación de los espesores acústicos de los sistemas estudiados anteriormente con un producto comercial tras realizar su dilución. En ella se observa que el sistema PDADMAC-mono-RL( $C_{10}$ ) mejora considerablemente la adsorción del producto comercial, y que ambas mezclas de (mono+di)RLs presentan adsorciones equivalentes al producto comercial.



**Figura 4.13.** Comparación de espesores acústicos de las muestras estudiadas en este trabajo con un champú comercial.  $\blacktriangle$  PDADMAC-LESS  $\circ$  PDADMAC-Mono-RL( $C_{10}$ )  $\square$  PDADMAC-(Mono+Di)RLs NATURAL  $\blacksquare$  PDADMAC-(Mono+Di)RLs INDUSTRIAL  $\text{---}$  Champú comercial diluido 10 veces  $\text{---}$  Champú comercial diluido 20 veces.

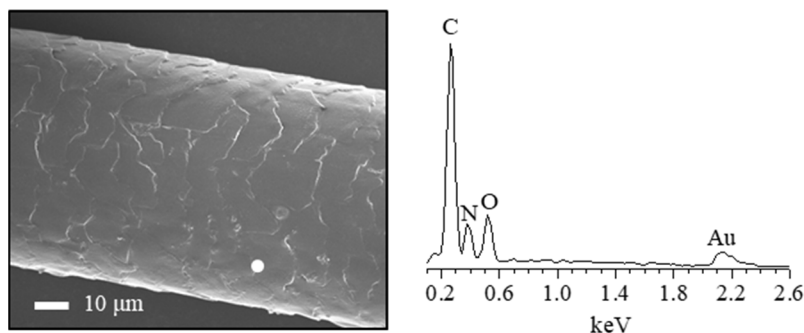
#### 4.2.3.1. ADSORCIÓN SOBRE FIBRAS CAPILARES

Teniendo en cuenta que el estudio del corte transversal de las fibras capilares, desarrollado en la sección 4.2.2.3, no parecía indicar la existencia de un proceso de absorción, o al menos no de importancia significativa, en esta sección se ha analizado directamente la adsorción de las formulaciones sobre la parte externa de la fibra capilar, la cutícula (Figura 4.14). A diferencia de las fibras capilares estudiadas anteriormente donde se observaba un alto contenido de F y Na, en las fibras que se van a mostrar a continuación no hay evidencia de dichos elementos ya que se trata de fibras capilares de distinta procedencia, que no han sido previamente tratadas.



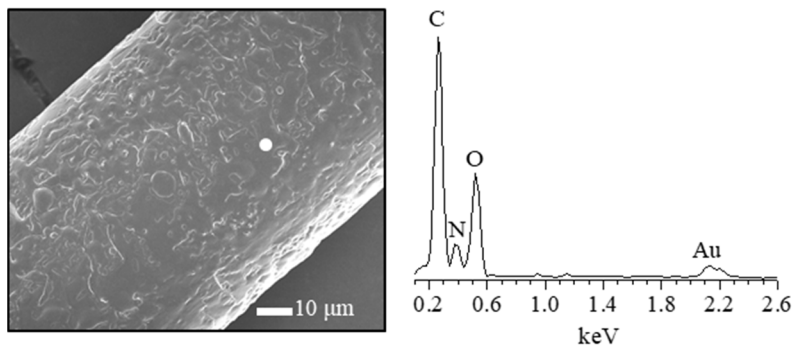
**Figura 4.14.** A la izquierda, imagen de la cutícula de una fibra capilar, sin tratamiento cosmético, obtenida por SEM con una potencia del haz de electrones de 15 keV y magnificada 950 veces. A la derecha, análisis EDS de la zona marcada con un punto en la imagen. (Nótese que la señal de Au corresponde al oro utilizado para recubrir la muestra)

Con el objeto de evaluar la efectividad de una de las mezclas de los ramnolípidos, en los experimentos realizados se sumergió una fibra capilar durante 15 minutos en una disolución de PDADMAC-(mono+di)RLS INDUSTRIAL con una concentración de tensioactivo de 1 mM, coincidente con la zona de máxima adsorción para este sistema, y seguidamente se lavó. La Figura 4.15 muestra una pérdida de la nitidez de las escamas de la cutícula como consecuencia de la adsorción de la mezcla polímero-tensioactivo. En el espectro EDS desaparece el azufre, lo que confirma la deposición de los complejos polímero-tensioactivo sobre la superficie del cabello, pudiéndose atribuir en este caso el carbono, oxígeno y nitrógeno a la mezcla polímero-tensioactivo.



**Figura 4.15.** A la izquierda, imagen de la cutícula de una fibra capilar tratada\* con la mezcla PDADMAC-(mono+di)RLS INDUSTRIAL con una concentración de tensioactivo de 1 mM, obtenida por SEM con una potencia del haz de electrones de 5 keV y magnificada 1000 veces. A la derecha, análisis EDS de la zona marcada con un punto en la imagen. \*Sumergida 15 minutos y posteriormente lavada. (Nótese que la señal de Au corresponde al oro utilizado para recubrir la muestra)

Para profundizar más en el fenómeno de la adsorción de los complejos polímero-tensioactivo sobre la superficie del cabello, se realizó otro experimento análogo al anterior en el que se sumergió la fibra en la misma mezcla polímero-tensioactivo durante 2h para evaluar si con el aumento del tiempo se incrementaba la adsorción. La Figura 4.16 muestra que, en este caso, la fibra se encuentra completamente recubierta, no apreciándose las escamas de la cutícula. A su vez, se puede observar la adsorción en forma de islotes que se mencionaba anteriormente para la mezcla PDADMAC-mono-RL(C<sub>10</sub>). El espectro EDS no se ve modificado en relación al tiempo de adsorción, por lo que se puede afirmar que las mezclas estudiadas en este trabajo tienen efectividad en la aplicación real.



**Figura 4.16.** A la izquierda, imagen de la cutícula de una fibra capilar tratada\* con la mezcla PDADMAC-(mono+di)RLs INDUSTRIAL con una concentración de tensioactivo de 1 mM, obtenida por SEM con una potencia del haz de electrones de 5 keV y magnificada 1000 veces. A la derecha, análisis EDS de la zona marcada con un punto en la imagen. \*Sumergida 2 horas y posteriormente lavada. (Nótese que la señal de Au corresponde al oro utilizado para recubrir la muestra.)

### 4.3. CONCLUSIONES

El interés que suscitan las mezclas polímero-tensioactivo en la industria cosmética precisa de un estudio exhaustivo del comportamiento físico-químico de estos sistemas para lograr una mejora en la aplicación real del producto industrial. En este capítulo, se ha pretendido demostrar que el tensioactivo aniónico clásicamente utilizado en las formulaciones cosméticas (LESS) puede ser sustituido por otros tensioactivos con mejores características de biocompatibilidad y biodegradabilidad como es el caso de los ramnolípidos aquí estudiados. La Tabla 4.2 recoge un resumen de las concentraciones de tensioactivo en las cuales se obtiene una adsorción máxima para cada uno de los tensioactivos estudiados.

El proceso de acondicionamiento se rige principalmente por la precipitación de los complejos polímero-tensioactivo sobre la fibra capilar dañada que presenta una carga superficial negativa. Se puede suponer que el estudio de la adsorción de estas mezclas en superficies sólidas con carga similar a la del cabello dañado, puede ser un buen modelo para comprender las bases físico-químicas que subyacen en el proceso de acondicionamiento. Sin embargo, para comprender bien el proceso de adsorción es necesario conocer el comportamiento de agregación de estos complejos en disolución, que en este caso está íntimamente ligado a la naturaleza de la cabeza polar, al número de anillos



**Tabla 4.2.** Tabla resumen de la adsorción máxima de los distintos tensioactivos estudiados.

	mono-RL		di-RL		monoRL+diRL		APG	LESS
	(C10)	(C14)	(C10)	(C14)	natural	industrial		
$c / \text{mM}$	2.0	0.02	1.6	1.3	1.7	1.8	2.9	2.0
$h_{ac} / \text{nm}$	18±2	1.0±0.1	10±1	47±6	7±1	7±1	2.0±0.2	3.0±0.3

de azúcar y a la longitud de la cadena hidrocarbonada de los tensioactivos. Además, en todos los casos, se ha observado que el aumento de la concentración de tensioactivo conduce al sistema a pasar de ser un sistema monofásico a ser un sistema separado en fases. Esta separación de fases juega un papel clave en el proceso de acondicionamiento de las formulaciones cosméticas.

El estudio de las diferentes mezclas ha demostrado que todos los sistemas presentan un comportamiento cualitativamente análogo en relación a su comportamiento en disolución y adsorción sobre superficies sólidas cargadas negativamente. Sin embargo, las mezclas de PDADMAC con los ramnolípidos presentan una adsorción mucho más elevada que la mezcla modelo PDADMAC-LESS, por lo que sería esperable un aumento en la eficacia de las formulaciones que contuvieran este tipo de biotensioactivos. No obstante, el análisis del grado de hidratación reduce las posibilidades de sustitución únicamente a la mezcla PDADMAC-monoRL(C<sub>10</sub>). Esta mezcla conduce a la adsorción de capas que presentan un alto grado de hidratación además de una gran cobertura de la superficie, por lo que sería un buen sustituto de aquellas formulaciones conteniendo LESS.

Además se ha propuesto una alternativa de sustitución, que cumpliría los requisitos de efectividad en la formulación y abarataría costes de producción. Tanto la mezcla industrial del (mono+di)RLs como la mezcla natural, serían buenos candidatos para sustituir al LESS, a pesar de presentar adsorciones más bajas que aquellas mezclas que contienen mono-RL(C<sub>10</sub>).

Por último, se ha comprobado la efectividad de la formulación en un sustrato natural, el cabello, mediante microscopía electrónica de barrido. El análisis EDS de las muestras, ha permitido asumir el proceso de acondicionamiento capilar se encuentra limitado a un proceso de adsorción superficial, siendo reducida la penetración de de la formulación hacia las regiones internas de la fibra capilar. Esta última afirmación aporta mayor validez a los estudios realizados con los sustratos modelo.

## 4.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Sekhon Randhawa KK, Rahman PKSM. Rhamnolipid biosurfactants—past, present, and future scenario of global market. *Front Microbiol.* 2014;5:454.
- [2] Lourith N, Kanlayavattanakul M. Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids. *Int J Cosmetic Sci.* 2009;31:255-61.
- [3] Muthusamy K, Gopalakrishnan S, Ravi TK, Sivachidambaram P. Biosurfactants: Properties, commercial production and application *Curr Sci.* 2008;94:736-47.

- [4] Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Luengo GS, Rubio RG. Adsorption of Conditioning Polymers on Solid Substrates with Different Charge Density. *ACS Appl Mat Interfaces*. 2011;3:3181-8.
- [5] Guzmán E, Ortega F, Prolongo MG, Starov VM, Rubio RG. Influence of the molecular architecture on the adsorption onto solid surfaces: comb-like polymers. *Phys Chem Chem Phys*. 2011;13:16416-23.
- [6] Llamas S, Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of polyelectrolytes and polyelectrolytes-surfactant mixtures at surfaces: a physico-chemical approach to a cosmetic challenge. *Adv Colloid Interface Sci*. 2015;222:461-87.
- [7] Llamas S, Guzmán E, Baghdadli N, Ortega F, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of poly(diallyldimethylammonium chloride)—sodium methyl-cocoyl-aurate complexes onto solid surfaces. *Colloids Surf A*. 2016;505:150-7.
- [8] Robbins CR. *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*. Berlin, Germany: Springer 2012.
- [9] Breakspear S, Smith JR, Luengo G. Effect of the covalently linked fatty acid 18-MEA on the nanotribology of hair's outermost surface. *J Struct Biol*. 2005;149:235-42.
- [10] Flick EW. *Cosmetic and Toiletry Formulations*. Norwich, United States of America: Noyer Publication-William Andrew Publishing, LLC; 1999.
- [11] Luengo GS, Galliano A, Dubief C. Aqueous Lubrication in Cosmetic. In: Spencer ND, editor. *Aqueous Lubrication Natural and Biomimetic Approaches*. Singapore, Singapore: World Scientific; 2014. p. 103-44.
- [12] Langevin D. Complexation of oppositely charged polyelectrolytes and surfactants in aqueous solutions. A review. *Adv Colloid Interface Sci*. 2009;147-148 170-7.
- [13] Léonforte F. Personal communication. 2019.
- [14] Varga I, Campbell RA. General Physical Description of the Behavior of Oppositely Charged Polyelectrolyte/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir*. 2017;33:5915-24.
- [15] Bain CD, Claesson PM, Langevin D, Meszaros R, Nylander T, Stubenrauch C, et al. Complexes of surfactants with oppositely charged polymers at surfaces and in bulk. *Adv Colloid Interface Sci*. 2010;155:32-49.
- [16] Nizri G, Lagerge S, Kamyshny A, Major DT, Magdassi S. Polymer-surfactant interactions: Binding mechanism of sodium dodecyl sulfate to poly(diallyldimethylammonium chloride). *J Colloid Interface Sci*. 2008 320:74-81.
- [17] Braun L, Uhlig M, Von Klitzing R, Campbell RA. Polymers and surfactants at fluid interfaces studied with specular neutron reflectometry. *Adv Colloid Interface Sci*. 2017;247:130-48.
- [18] Staples E, Tucker I, Penfold J, Warren N, Thomas RK, Taylor DJF. Organization of Polymer-Surfactant Mixtures at the Air-Water Interface: Sodium Dodecyl Sulfate and Poly(dimethyldiallylammonium chloride). *Langmuir*. 2002;18:5147-53.
- [19] Campbell RA, Angus-Smyth A, Arteta MY, Tonigold K, Nylander T, Varga I. New Perspective on the Cliff Edge Peak in the Surface Tension of Oppositely Charged Polyelectrolyte/Surfactant Mixtures. *J Phys Chem Lett*. 2010;1:3021-6.

- [20] Dautzenberg H. Polyelectrolytes : formation, characterization, and application. New York, United States of America: Hanser Publishers; 1994.
- [21] Dobrynin AV, Rubinstein M. Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. *Prog Polym Sci.* 2005;30:1049-118.
- [22] Guzmán E, Ritacco H, Rubio JEF, Rubio RG, Ortega F. Salt-induced changes in the growth of polyelectrolyte layers of poly(diallyldimethylammoniumchloride) and poly(4-styrene sulfonate of sodium). *Soft Matter.* 2009;5:2130-42.
- [23] Guzmán E, Llamas S, Maestro A, Fernández-Peña L, Akanno A, Miller R, et al. Polymer-surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2016;233:38-64.
- [24] Llamas S, Fernandez-Pena L, Akanno A, Guzman E, Ortega V, Ortega F, et al. Towards understanding the behavior of polyelectrolyte-surfactant mixtures at the water/vapor interface closer to technologically-relevant conditions. *Phys Chem Chem Phys.* 2018;20:1395-407.
- [25] Oliver RC, Lipfert J, Fox DA, Lo RH, Doniach S, Columbus L. Dependence of Micelle Size and Shape on Detergent Alkyl Chain Length and Head Group. *Plos One.* 2013;8:10.
- [26] Dhopalkar N, Park JH, Chari K, Dhinojwala A. Adsorption and Viscoelastic Analysis of Polyelectrolyte–Surfactant Complexes on Charged Hydrophilic Surfaces. *Langmuir.* 2015;31:1026-37.
- [27] Miyake M, Kakizawa Y. Morphological study of cationic polymer–anionic surfactant complex precipitated in solution during the dilution process. *J Cosmet Sci.* 2010;61:289-301.
- [28] Miyake M. Recent progress of the characterization of oppositely charged polymer/surfactant complex in dilution deposition system. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;239:146-57.
- [29] Spurr AR. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J Ultrastruct Res.* 1969;26:31-43.
- [30] Halal J, Schoon DD. Hair structure and chemistry simplified. New York, United States of America: Milady Publishing Corporation; 2002.
- [31] Robbins CR. Chemical and physical behavior of human hair. Berlin, Germany: Springer; 2012.
- [32] Maraver F, Vitoria I, Almerich-Silla JM, Armijo F. Fluoruro en aguas minerales naturales envasadas en España y prevención de la caries dental. *Atención Primaria.* 2015;47:15-24.
- [33] Reis RS, Pereira AG, Neves BC, Freire DMG. Gene regulation of rhamnolipid production in *Pseudomonas aeruginosa* - A review. *Bioresour Technol.* 2011;102:6377-84.
- [34] Sarachat T, Pornsunthorntawee O, Chavadej S, Rujiravanit R. Purification and concentration of a rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 using foam fractionation. *Bioresour Technol.* 2010;101:324-30.
- [35] George S, Jayachandran K. Production and characterization of rhamnolipid biosurfactant from waste frying coconut oil using a novel *Pseudomonas aeruginosa* D. *J Appl Microbiol.* 2013;114:373-83.

## 5. EXPLORANDO EL DISEÑO DE FORMULACIONES DE INTERÉS COSMÉTICO DESDE UNA PERSPECTIVA FÍSICO-QUÍMICA

---

Ya se ha discutido en capítulos anteriores que las mezclas formadas por polímeros y tensioactivos que presentan cargas opuestas suscitan un gran interés, tanto a nivel industrial como a nivel académico, por el papel que pueden desempeñar en múltiples campos de importancia tecnológica [1-5]. Este tipo de mezclas tiende a formar complejos cuyo comportamiento y propiedades químico-físicas son función de la relación “S/P” que se establece entre el *número de grupos ionizados del tensioactivo* “S” y el *número de grupos ionizados del polímero* “P” [1].

En la Figura 5.1 se muestra que cuando la relación S/P es menor que uno se obtienen complejos donde las cargas de las cadenas poliméricas no están compensadas, permaneciendo dichos complejos solubles en disolución. A medida que S/P tiende a uno se forman complejos neutros con baja estabilidad coloidal que se separan por coacervación o precipitación de la disolución, dando lugar a la llamada región de separación de fases. Añadiendo más tensioactivo, la relación S/P se torna mayor que uno y se vuelven a tener complejos cargados y estables en la disolución. Hasta el momento en esta tesis se ha trabajado con sistemas en Estado 1 que con el aumento de la concentración de tensioactivo alcanzan el “Estado 2” correspondiente a la región de precipitación de los complejos. Sin embargo, a diferencia de la fenomenología habitual donde la precipitación de los complejos se debe a una neutralización de cargas, en capítulos previos se ha demostrado mediante medidas de movilidad electroforética que los sistemas polímero-tensioactivo estudiados no alcanzan en ningún caso la neutralización de cargas, sino que entran en la región de precipitación por la formación de complejos de gran tamaño que tienden a sedimentar aún cuando el valor de la relación S/P permanece muy por debajo de uno [6, 7].

Es importante reseñar que los estudios realizados en los capítulos anteriores están lejos de simular la situación real de la aplicación del producto comercial. Las formulaciones cosméticas de champús y acondicionadores contienen una gran variedad de tensioactivos y



**Figura 5.1.** Representación esquemática de los tres estados en los que se pueden presentar los complejos polímero-tensioactivo de carga opuesta en disolución a medida que se aumenta la concentración de tensioactivo. Los estados 1 y 3 corresponden a disoluciones de carácter monofásico, mientras que el estado 2 es relativo a la precipitación de los complejos como consecuencia de la neutralización de carga por la asociación cooperativa polímero-tensioactivo [1, 4].

polímeros [8, 9] cuyo proceso de aplicación se encuentra gobernado por el fenómeno que se conoce como deposición mejorada por precipitación inducida por dilución [8, 10] o *efecto Lockheed* [11]. Esto implica que la mezcla comercial presenta un carácter monofásico concordante con el Estado 3 ilustrado en la Figura 5.1 donde los polímeros se encuentran solubilizados por micelas de tensioactivo. En el proceso de lavado y posterior aclarado del cabello, dicha mezcla sufre un proceso de dilución que conduce al sistema al Estado 2, produciéndose la precipitación de los complejos sobre el cabello [1, 8-10, 12]. Del interés por comprender las bases químico-físicas que gobiernan dicho proceso surge la motivación de este capítulo, en el que se pretende realizar un estudio que se asemeje más a las condiciones que ocurren durante el proceso de aplicación real del producto comercial.

El estudio que se aborda en este capítulo se centra en la adsorción de los complejos polímero-tensioactivo en las condiciones típicas de aplicación del producto comercial sobre superficies que simulan la carga negativa del cabello dañado [13]. Cabe mencionar que las mezclas polímero-tensioactivo estudiadas han sido elegidas en base a la composición de una formulación comercial optimizada, la FO<sub>1</sub>. Además de centrar el estudio en mezclas simples polímero-tensioactivo tanto binarias como ternarias, se realizará un estudio de la formulación completa. La idea es que la combinación de los estudios de sistemas con pocos componentes permita ayudar a comprender el comportamiento de la formulación optimizada. Un segundo objetivo de este capítulo será el diseño de una nueva formulación semejante a la FO<sub>1</sub> pero que permita avanzar hacia el cumplimiento de los requisitos estipulados por el Reglamento (CE) n° 1907/2006 [14]. Con esto se pretende simplificar la formulación mediante la sustitución de una mezcla de dos tensioactivos sintéticos por otro tensioactivo neutro de carácter biodegradable que presenta un balance hidrofóbico-lipofílico (HLB) similar al de la mezcla [15]. Con esta sustitución se aspira poder simplificar la formulación, reducir el contenido de tensioactivo en la misma y convertirla en una formulación más “verde”.

## 5.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Para la realización de los estudios de adsorción de este capítulo, se va a seguir el procedimiento de precipitación por dilución de las mezclas concentradas hasta alcanzar la región de separación de fases de las mismas. Este procedimiento conlleva la dilución de todos los componentes de la mezcla por igual, de modo que la dilución de las mezclas se ha llevado a cabo con agua de calidad Milli-Q (con una resistividad mayor de  $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  y un contenido orgánico inferior a 6 ppm) ajustada a un  $\text{pH}=4.5$  con ácido cítrico. A continuación se va a detallar la composición y características de las mezclas objeto de estudio:

La Tabla 5.1 recoge la composición de la formulación comercial optimizada ( $\text{FO}_1$ ) y la nueva formulación ( $\text{FO}_2$ ) propuesta en esta tesis. Como se puede comprobar, estas formulaciones tienen en común la mezcla de polímeros (PDADMAC-Merquat 2003) previamente estudiados en el Capítulo 3, así como diversos tensioactivos de distinta naturaleza cuya diferencia recae en la sustitución de los tensioactivos sintéticos del tipo *laureth-n* por el APG. Ambas formulaciones presentan un carácter monofásico transparente perfecto en la composición mostrada en la tabla. Esto debe ser consecuencia de la existencia de un complejo balance de interacciones entre los distintos componentes presentes en las mezclas dado que, como se discutirá más adelante, algunas de las mezclas binarias y ternarias de los componentes de la formulación optimizada separan en fases en la misma composición que aparecen en la dicha formulación. Dada la diversidad de componentes presentes en estas mezclas, en este capítulo se propone el estudio de mezclas binarias polímero-tensioactivo para intentar comprender qué fenómenos físico-químicos tienen lugar en la adsorción de los complejos sobre las superficies sólidas.

**Tabla 5.1.** Composición de las formulaciones optimizadas ( $\text{FO}_n$ ). Todas las mezclas presentan un contenido de NaCl de 120 mM y han sido preparadas con agua de calidad Milli-Q cuyo pH ha sido ajustado a 4.5 mediante la adición de ácido cítrico.

-----  
**PDADMAC ( $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) + Merquat 2003 ( $2.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )**  
 -----

<b>FO<sub>1</sub></b>	Laureth-12 (56 mM)	Laureth-4 (28 mM)	CAPB (204 mM)	LESS (186 mM)	AKYPO (136 mM)
<b>FO<sub>2</sub></b>	APG (64 mM)				

La Tabla 5.2 muestra el carácter monofásico ( $1\Phi$ ) o bifásico ( $2\Phi$ ), así como el aspecto, de cada mezcla binaria polímero-tensioactivo estudiada. Atendiendo a la tabla, se puede observar que las únicas mezclas binarias que presentan un carácter monofásico con ambos polímeros son aquellas que contienen Laureth-12, APG o CAPB, mientras que las mezclas que contienen LESS o AKYPO separan en fases. El carácter bifásico de estas últimas muestras impide su estudio por dilución, por lo que dicho tipo de estudios quedarán reducidos a las mezclas de los polímeros con Laureth-12, APG y CAPB.

Cabe mencionar que todos los experimentos se han llevado a cabo  $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ .

**Tabla 5.2.** Carácter monofásico ( $1\Phi$ ) o bifásico ( $2\Phi$ ) y aspecto de las diferentes mezclas binarias polímero-tensioactivo. Todas las mezclas presentan un contenido de NaCl de 120 mM, y han sido preparadas con agua de calidad Milli-Q cuyo pH ha sido ajustado a 4.5 mediante la adición de ácido cítrico.

----- PDADMAC (5 g·L <sup>-1</sup> ) o Merquat 2003 (2.5 g·L <sup>-1</sup> ) -----						
	APG	CAPB	Laureth-12	Laureth-4	LESS	AKYPO
ASPECTO	$1\Phi_{\text{TRANSPARENTE}}$			$2\Phi$		

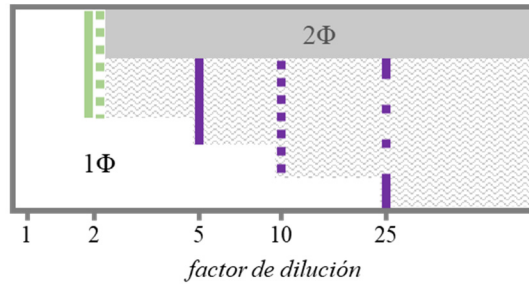
## 5.2. RESULTADOS

### 5.2.1. DETERMINACIÓN DE LA REGIÓN DE SEPARACIÓN DE FASES

Una vez determinadas las mezclas binarias polímero-tensioactivo que presentaban un carácter monofásico en las concentraciones que aparecen en las *formulaciones optimizadas* se realizó el estudio de precipitación por dilución para establecer en qué condiciones aparecía la región de separación de fases para cada una de las mezclas. Previamente a la descripción del escenario encontrado se ha tener en cuenta que las interacciones entre las cadenas poliméricas y las micelas de tensioactivo, además de verse afectadas por el contenido salino de la mezcla, aumentan con la carga aniónica del tensioactivo y con la disminución de la concentración del mismo [13].

La Figura 5.2 recoge un esquema de los factores de dilución a partir de los cuales las mezclas precipitan. Cabe mencionar que no se ha podido localizar la región de precipitación de las mezclas polímero-Laureth-12. Sin embargo, dado el carácter neutro de dicho tensioactivo no se puede afirmar claramente si a las concentraciones de trabajo ya se ha superado la región de separación de fases o si no se ha llegado todavía. En referencia a las mezclas polímero-APG (en verde) se observa que, independientemente del polímero utilizado, entran en la región de separación de fases para un  $fd=2$ , es decir, cuando se diluye la mezcla a la mitad. En primer lugar, el hecho de que las mezclas polímero-APG presenten el mismo comportamiento, a pesar de contener polímeros de distinta naturaleza y concentración, parece indicar que el papel del polímero en las propiedades de estos complejos es relativamente reducido. En segundo lugar, el hecho de que la región de precipitación de las mezclas polímero-APG aparezca antes que las mezclas con CAPB es un indicativo de que, en este caso, el factor predominante en la precipitación es la concentración de tensioactivo ya que la concentración de APG en la mezcla es muy inferior a la concentración de CAPB.

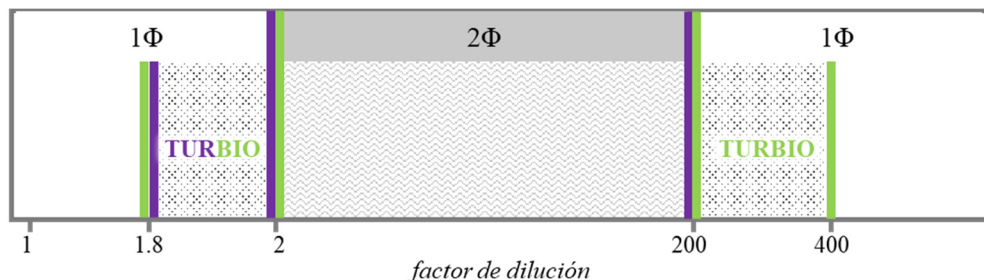
En las mezclas binarias polímero-CAPB (en morado), en las cuales se produce una interacción electrostática entre los polímeros y el tensioactivo, la precipitación viene determinada por el polímero utilizado. En la mezcla Merquat 2003-CAPB los complejos permanecen estables hasta factores de dilución mayores por la presencia de los monómeros del ácido acrílico parcialmente cargados que no se encuentran compensados, lo cual mejora la solubilidad de los complejos en disolución.



**Figura 5.2.** Esquema indicando la región de separación de fases de los distintos sistemas estudiados. Las líneas de puntos indican la entrada en la zona de separación de fases para las mezclas binarias con PDADMAC y las líneas continuas para las mezclas con Merquat 2003. El color verde corresponde a las mezclas con APG y el morado a las mezclas con CAPB. La línea de puntos y rayas corresponde a la mezcla ternaria PDADMAC-Merquat 2003-CAPB con un contenido polimérico total del  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

La Figura 5.2 también muestra la región de precipitación de un sistema ternario compuesto por la mezcla de los dos polímeros y el CAPB. En ella se observa que los complejos de la mezcla ternaria precipitan a valores de dilución aún más elevados que las mezclas binarias. Este hecho se justifica fácilmente asumiendo el aumento del número de monómeros con carga positiva que se deberían compensar, lo que favorece la estabilidad coloidal de la mezcla ternaria. Por otro lado, la Figura 5.3 ilustra el esquema de la región de precipitación de las dos formulaciones optimizadas estudiadas en este capítulo, pudiéndose afirmar que la sustitución de los tensioactivos del tipo Laureth-n por el APG no modifica el comportamiento de la formulación. Este hecho puede deberse a que en ambos casos se trata de tensioactivos neutros con un HLB semejante.

Un análisis en detalle de la Figura 5.3 pone claramente de manifiesto que las formulaciones optimizadas se encuentran muy próximas a la entrada en la separación de fases, lo que sería bueno desde el punto de vista de su aplicación práctica. Además, dicha región de separación de fases es lo suficientemente amplia como para facilitar una mayor efectividad de las formulaciones durante su proceso de aplicación.



**Figura 5.3.** Esquema indicando la región de separación de fases para las *formulaciones optimizadas*. Las líneas moradas corresponden a la FO<sub>1</sub> y las verdes a la FO<sub>2</sub>.

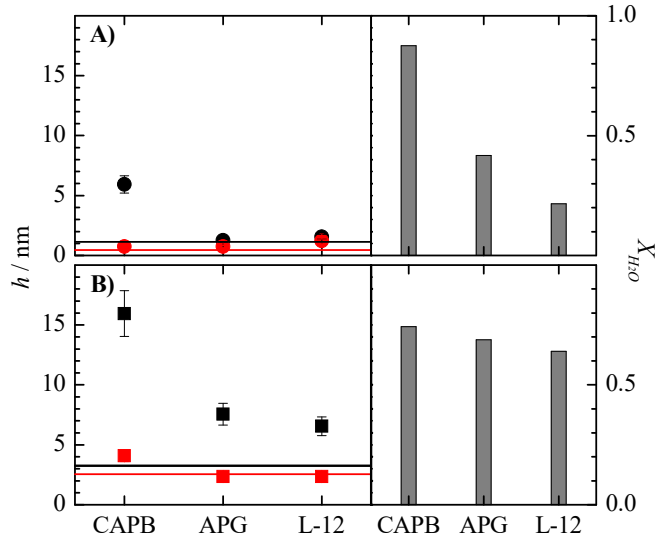


### 5.2.2. ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN SOBRE SUPERFICIES SÓLIDAS

La Figura 5.4 ilustra una comparación de los espesores ópticos y acústicos, así como el grado de hidratación de las capas obtenidas por la adsorción desde la disolución para las mezclas binarias *concentradas* que presentan un carácter monofásico en las condiciones de preparación. De manera general, a la vista de los resultados se puede observar que, en todos los casos, las capas adsorbidas de las mezclas binarias que contienen Merquat 2003 como polímero presentan una adsorción mayor que las correspondientes a las mezclas cuyo polímero es el PDADMAC. Este hecho se debe una vez más a las repulsiones electrostáticas entre los grupos carboxílicos del copolímero Merquat 2003 y la superficie de interacción, que fuerzan una propagación de los monómeros acrilato en la dirección vertical a la superficie, mientras que en las mezclas con PDADMAC, las cadenas se adsorben de manera más extendida dada la naturaleza puramente catiónica de este polímero. Por otro lado, en relación a los tensioactivos, las capas adsorbidas de las mezclas con los tensioactivos neutros, APG y Laureth-12, presentan características prácticamente idénticas entre sí cuando presentan el mismo polímero, y características diferentes a las mezclas constituidas por el tensioactivo zwitteriónico CAPB.

Realizando un análisis más detallado del comportamiento de las mezclas polímero-CAPB (Figura 5.4.A y Figura 5.4.B), se puede comprobar que la interacción electrostática entre el grupo carboxilo del tensioactivo y los grupos amonio cuaternario de los polímeros da lugar a capas más hidratadas y de espesores más elevados que las correspondientes a los polímeros puros que han sido estudiados en el Capítulo 3. Esto se debe a la reducción del número de cargas positivas que interaccionan con la superficie. A diferencia de estos sistemas binarios, donde la interacción polímero-tensioactivo es semejante independientemente del polímero utilizado, las mezclas constituidas por los tensioactivos neutros interaccionan de manera diferente según el polímero contenido en la mezcla. Con el PDADMAC la interacción es fundamentalmente hidrofóbica y tiene lugar entre las cadenas hidrofóbicas del polímero con las colas del tensioactivo, mientras que con el Merquat 2003 entra en juego una nueva interacción por enlaces de hidrógeno entre la cabeza polar del tensioactivo y los monómeros acrilamida y ácido acrílico sin disociar del polímero. Tal y como se observa en la Figura 5.4.A y Figura 5.4.B., estas interacciones polímero-tensioactivo no modifican la interacción de los polímeros con la superficie, pero favorecen una mayor hidratación de la capa adsorbida. No obstante, cabría esperar que las mezclas con APG, presentaran espesores más elevados dada la proximidad de la región de separación de fases ( $fd=2$ ). Sin embargo, los resultados evidencian que dicha región es muy pequeña y que tras el proceso de lavado, se atraviesa rápidamente dicha región.

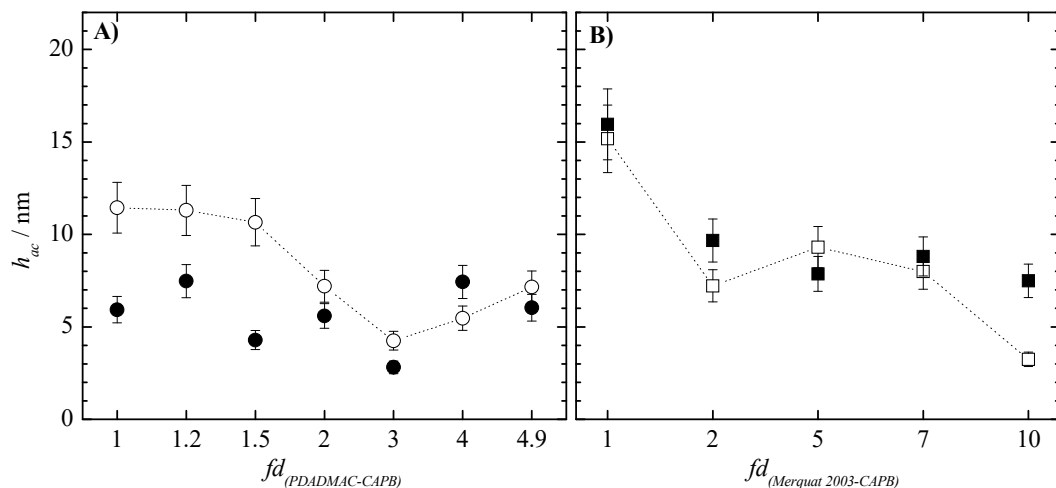
Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se ha realizado un estudio exhaustivo de las mezclas polímero-CAPB con el fin de evaluar las condiciones de dilución que mejor se ajustan a la aplicación cosmética. Cabe mencionar que este estudio se intentó realizar con el Laureth-12, pero los resultados presentaban una adsorción prácticamente nula, lo que permite suponer que la región de precipitación de los sistemas polímero-Laureth-12 debe encontrarse a concentraciones de tensioactivo más elevadas que las condiciones de trabajo, es decir, en las condiciones en las que se está trabajando con este tensioactivo ya se ha pasado la región de precipitación.



**Figura 5.4.** Comparación de espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de las capas adsorbidas para mezclas polímero-tensioactivo con distintos tensioactivos. A) Mezclas donde el polímero es PDADMAC B) Mezclas donde el polímero es Merquat 2003. (Las líneas horizontales corresponden al espesor óptico (en rojo) y acústico (en negro) de la disolución polimérica correspondiente, sin tensioactivo, con un contenido de NaCl de 120 mM.

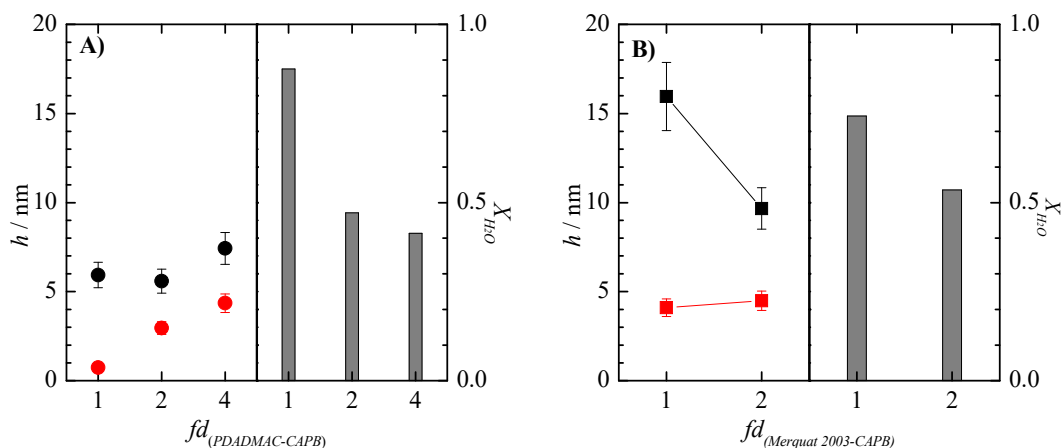
### 5.2.2.1. MEZCLAS BINARIAS POLÍMERO-CAPB

La Figura 5.5 recoge los espesores acústicos correspondientes al proceso de adsorción, y posterior lavado, de las mezclas polímero-CAPB en función de la dilución realizada. En ambas gráficas de la figura se observa una disminución de los espesores con la dilución como consecuencia de la reducción de la concentración presente en la mezcla. En cambio, a partir de los factores de dilución  $fd=3$  y  $fd=2$  de las mezclas binarias con el PDADMAC y el Merquat 2003, respectivamente, se produce un aumento de la adsorción que puede asociarse con la aproximación del sistema a la región de precipitación como resultado del proceso de dilución. Teniendo en cuenta que esta región aparece a concentraciones equivalentes a un  $fd=5$  en las mezclas PDADMAC-CAPB y  $fd=10$  en las mezclas Merquat 2003-CAPB, se podría afirmar que la entrada en esta región es más rápida en el primer sistema, mientras que en las mezclas con Merquat 2003 es más sutil y progresiva ya que las primeras señales de aparición de esta región tienen lugar a concentraciones equivalentes a un  $fd=2$ . Este último hecho puede deberse al gran peso molecular de este copolímero ( $M_w \text{ Merquat 2003} \approx 6 \cdot M_w \text{ PDADMAC}$ ) que da lugar a la formación de complejos de gran tamaño que sedimentan más fácilmente que los complejos formados por el PDADMAC, pero que a su vez, a pesar de presentar una neutralización de cargas por la interacción electrostática entre los grupos amonio cuaternario del polímero con el grupo carboxilo del CAPB, permanecen estables más tiempo en suspensión por la presencia de los monómeros acrilato de las distintas cadenas poliméricas. Los complejos formados por el PDADMAC, por su parte, permanecen estables en suspensión hasta la neutralización de cargas lo que da lugar a una entrada muy rápida en la región de precipitación.



**Figura 5.5.** Dependencia de los espesores acústicos con la dilución de las mezclas concentradas polímero-CAPB.  $\square$   $h_{ac}$  antes de lavar  $\blacksquare$   $h_{ac}$  después de lavar A) Sistema binario PDADMAC-CAPB. B) Sistema binario Merquat 2003-CAPB. (Las líneas de puntos son una guía para los ojos)

La Figura 5.6 ilustra una comparación de los espesores acústicos y ópticos de ambos sistemas para los factores de dilución más representativos recogidos en la Figura 5.5. En ella se confirma la aproximación a la región de precipitación de ambos sistemas polímero-CAPB ya que se observa un aumento del espesor óptico con la dilución de las mezclas. Este aumento es debido a la sedimentación de los complejos que a su vez conllevan una densificación de la capa adsorbida donde la incorporación de moléculas de agua se hace cada vez más difícil.

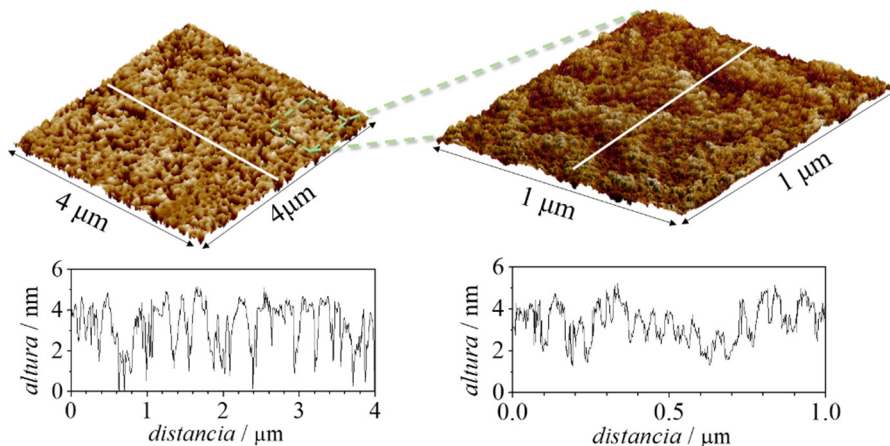


**Figura 5.6.** Comparación de espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de las capas adsorbidas para mezclas polímero-CAPB con distinto valor del factor de dilución. A) Mezclas donde el polímero es el PDADMAC. B) Mezclas donde el polímero es el Merquat 2003.

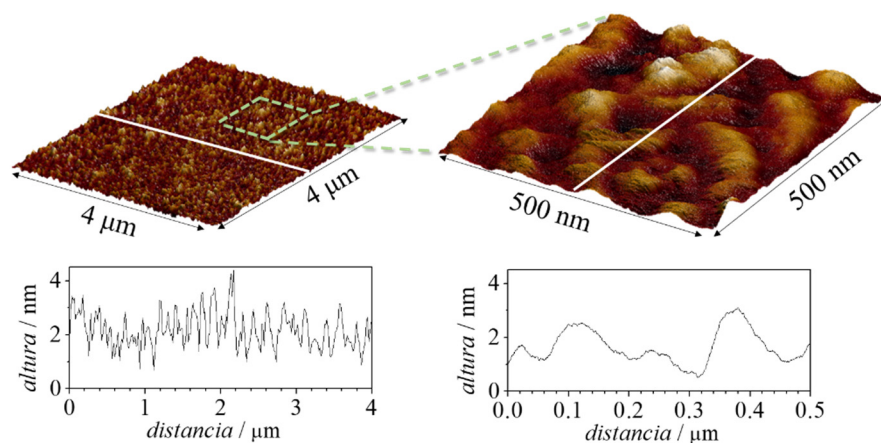
### 5.2.2.1.1. Topografía de las capas adsorbidas de la mezcla Merquat 2003-CAPB

En relación a la mezcla Merquat 2003-CAPB, se ha llevado a cabo un estudio de la topografía de la capa adsorbida de la mezcla concentrada ( $fd=1$ ) así como de la mezcla diluida cinco veces ( $fd=5$ ), empleando la microscopía de fuerza atómica (AFM). Con este estudio se pretende comprobar si la adsorción de la disolución madre (Figura 5.7) difiere de la adsorción de las mezclas diluidas. Como se ha mencionado anteriormente, la dilución de las mezclas aproxima al sistema a la región de precipitación, siendo uno de los factores determinantes de la precipitación la disminución de la concentración de tensioactivo. Por ello, dado que las mezclas correspondientes a  $fd=5$  se están aproximando a la región de separación de fases, cabría esperar que si se produce algún cambio en la topografía con la dilución del sistema, dicho cambio se podría observar en esta mezcla (Figura 5.8).

A la vista de los resultados recogidos en la Figura 5.7 y Figura 5.8 se puede confirmar que no existen diferencias significativas en la topografía de las muestras. En ambas muestras aparecen pequeñas elevaciones distribuidas uniformemente a lo largo de toda la muestra, que de acuerdo con la ISO 4287:1997, le confieren una rugosidad  $Ra$  en 2D de 0.95 nm (barrido de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$ ) a la muestra concentrada ( $fd=1$ ) y 0.5 nm (barrido de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$ ) a la muestra diluida ( $fd=5$ ). Cabe mencionar que el parámetro de altura aritmética  $Ra$ , también conocido como promedio de la línea central (CLA), es el parámetro de rugosidad más utilizado universalmente para el control general de calidad y se define como la desviación absoluta promedio de las irregularidades de rugosidad de la línea media en una longitud de muestreo [16]. Los perfiles de alturas de la muestra concentrada ( $fd=1$ ) son equivalentes al espesor obtenido por elipsometría, lo cual permite asociar el cero del perfil de alturas al sustrato y la elevada rugosidad al fenómeno de adsorción explicado para este sistema.



**Figura 5.7.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una *disolución concentrada* de Merquat 2003-CAPB ( $fd=1$ ). Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 15.6 nm/pto (imagen de la izquierda), y sobre un área de  $1 \times 1 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 3.9 nm/pto (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca. (Nótese que las escalas de ordenada y abcisa son diferentes.)



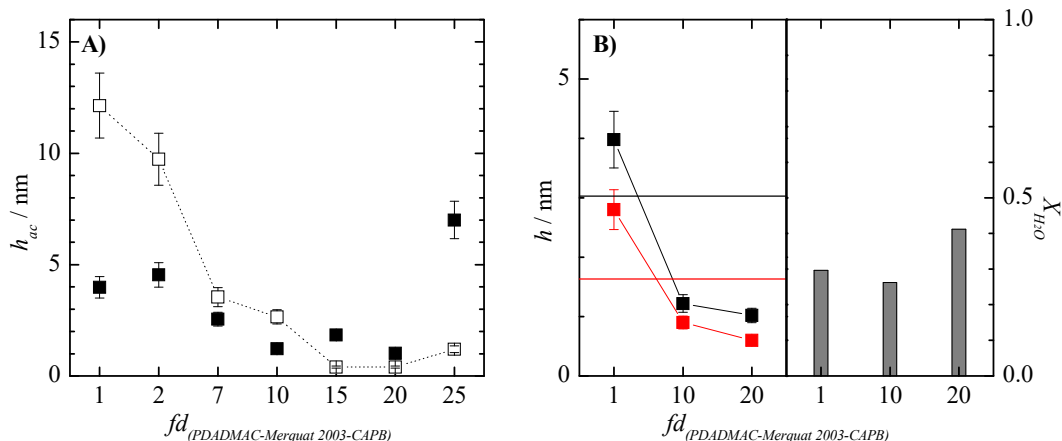
**Figura 5.8.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde la mezcla de Merquat 2003-CAPB que ha sido diluida cinco veces ( $fd=5$ ). Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 15.6 nm/pto (imagen de la izquierda) y sobre un área de  $0.5 \times 0.5 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 1.95 nm/pto (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.

### 5.2.2.2. MEZCLAS TERNARIAS PDADMAC-MERQUAT 2003-CAPB

Es conocido que en las *formulaciones optimizadas* ( $FO_n$ ) intervienen multitud de variables que conducen a la estabilización de la formulación. Como se ha podido comprobar en el apartado 5.2.1, estas formulaciones presentan un carácter transparente monofásico, mientras que algunas mezclas binarias polímero-tensioactivo formadas por componentes de la formulación optimizada en igual concentración presentan un carácter bifásico. De modo que con el estudio incluido en esta sección se pretende dar un paso más hacia la comprensión del comportamiento de las mezclas complejas mediante la incorporación de un tercer componente a las mezclas estudiadas en el apartado anterior. En base al conocimiento adquirido de las mezclas binarias polímero-CAPB, se ha realizado una mezcla de PDADMAC y Merquat 2003 en las concentraciones contenidas en la *formulación optimizada* (PDADMAC  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + Merquat 2003  $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) con dicho tensioactivo con el fin de esclarecer qué interacciones tienen lugar.

La Figura 5.9.A recoge la dependencia de los espesores acústicos, antes y después de lavar, con la dilución de la mezcla ternaria polímero-polímero-tensioactivo, pudiéndose observar que la mezcla de ambos polímeros desplaza la aproximación a la región de precipitación a valores de dilución más altos ( $fd=15$ ) que los correspondientes a las mezclas binarias. El desplazamiento de la región de precipitación se puede atribuir a la diversidad polimérica y al aumento de concentración de polímero en la mezcla [17, 18], que conllevan un aumento de cargas en el sistema que hacen más hidrofílicos los complejos y mejoran la estabilidad coloidal, retrasando así la precipitación de los mismos.

Centrando la atención en la Figura 5.9.B se observa que la capa adsorbida de la *mezcla concentrada* ( $fd=1$ ) presenta espesores mayores que la capa correspondiente a la mezcla de los polímeros. Este efecto se debe a las interacciones electrostáticas polímero-CAPB y

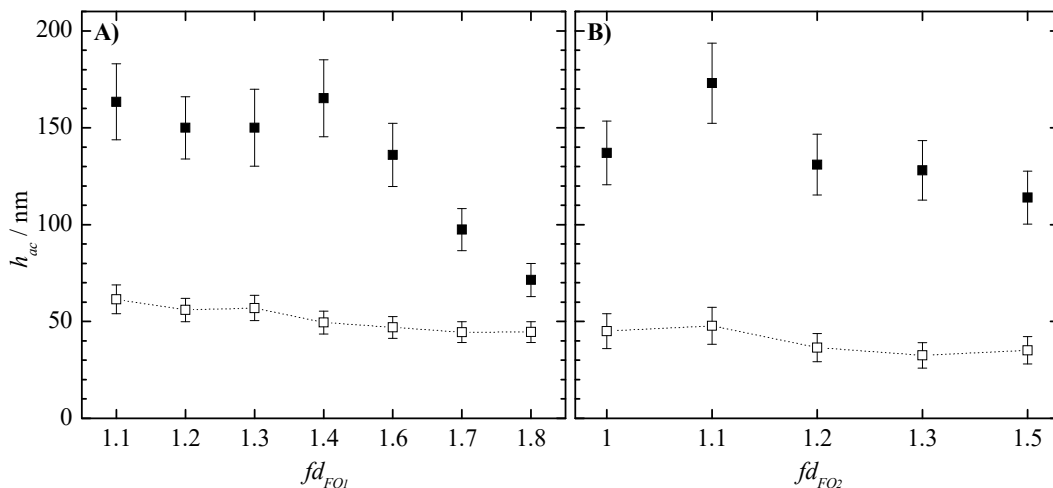


**Figura 5.9.** Dependencia de la adsorción de la mezcla ternaria PDADMAC-Merquat 2003-CAPB con contenido polimérico total del  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  en función del factor de dilución aplicado. A) Espesores acústicos:  $\square$   $h_{ac}$  antes de lavar  $\blacksquare$   $h_{ac}$  después de lavar. (La línea de puntos es una guía para los ojos) B) Comparación de espesores ópticos ( $\blacksquare$   $h_{op}$ ) y acústicos ( $\blacksquare$   $h_{ac}$ ) después de lavar, así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de las capas adsorbidas. (Las líneas horizontales corresponden al espesor óptico (en rojo) y acústico (en negro) de la disolución polimérica PDADMAC  $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  + Merquat 2003  $2.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , equivalente a  $fd=1$  sin tensioactivo, con un contenido de NaCl de 120 mM.

PDADMAC-Merquat 2003, que reducen tanto el número de grupos cargados que interaccionan con la superficie como la repulsión entre las distintas cadenas poliméricas. La reducción de esta repulsión favorece una adsorción donde los complejos se colocan de manera compacta para permitir la interacción de los monómeros cargados de los polímeros con la superficie. A su vez, haciendo una comparación con los resultados recogidos en la Figura 5.6, se puede afirmar que la contribución mayoritaria a la adsorción viene dada por el Merquat 2003, pero que la mezcla de ambos polímeros presenta un efecto antagónico respecto a la adsorción de la mezcla binaria Merquat 2003-CAPB.

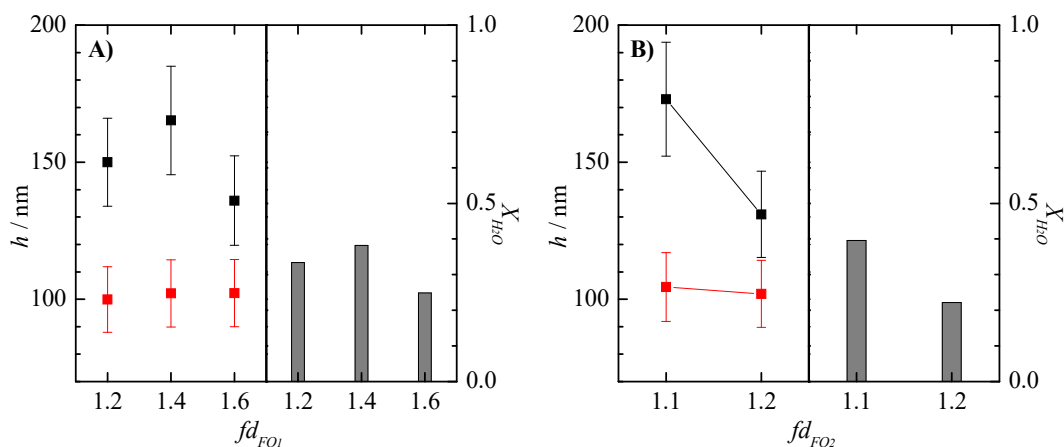
### 5.2.2.3. FORMULACIONES OPTIMIZADAS: FO<sub>1</sub> Y FO<sub>2</sub>

Con la pretensión de evaluar la efectividad de las dos formulaciones optimizadas descritas anteriormente se ha realizado un estudio de la adsorción de ambas formulaciones. En primer lugar, como se puede observar en la Figura 5.10, ambas formulaciones están muy optimizadas ya que se entra en la región de precipitación tras el lavado de las *mezclas concentradas* ( $fd=1$ ) y las capas adsorbidas presentan espesores extremadamente superiores a los sistemas binarios estudiados. Este último hecho se debe tanto a las numerosas interacciones existentes entre todos los componentes de la mezcla como a la elevada concentración de estos en la formulación. Los resultados muestran claramente que al lavar la capa inicialmente adsorbida se produce un aumento de adsorción debido a la precipitación de los complejos por la dilución que ocurre durante el lavado. Este aumento de la adsorción con el lavado se ve disminuido a medida que aumenta el factor de dilución de la muestra que se está estudiando. Este hecho permite asumir que, a medida que el sistema se aproxima más a dicha región, la capa adsorbida se densifica más reduciendo la hidratación de la misma.



**Figura 5.10.** Dependencia de los espesores acústicos con la dilución de las formulaciones optimizadas.  $\square$   $h_{ac}$  antes de lavar  $\blacksquare$   $h_{ac}$  después de lavar A) FO1. B) FO2. (Las líneas de puntos son una guía para los ojos)

La Figura 5.11 muestra la comparación de los espesores obtenidos por QCM-D y elipsometría y el grado de hidratación de las capas adsorbidas desde disoluciones de distinto factor de dilución. Esta comparación parece mostrar que, a pesar de que ambas formulaciones optimizadas parecen mostrar similar comportamiento en la adsorción, la FO<sub>1</sub> presenta mayor efectividad en términos de hidratación de las capas adsorbidas. De esta manera, el uso del APG para sustituir los tensioactivos Laureth-12 y Laureth-4 es efectivo desde el punto de vista de la adsorción, pero no lo es tanto desde el punto de vista de la hidratación de las capas adsorbidas. Por tanto, a la hora de pensar en la citada sustitución habría que realizar un balance entre estos aspectos y los beneficios que aporta la biodegradabilidad del APG y la reducción del contenido de tensioactivo en la formulación.

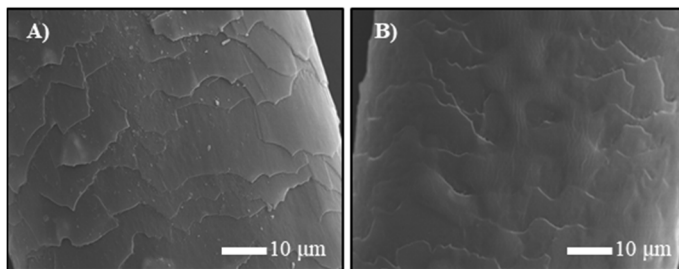


**Figura 5.11.** Comparación de espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de las capas adsorbidas para las formulaciones optimizadas con distinto valor del factor de dilución. A) FO1. B) FO2.

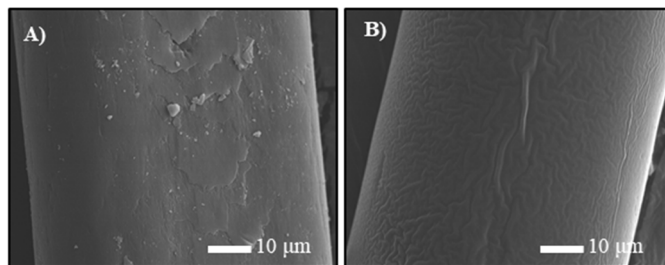
#### 5.2.2.4. ESTUDIOS EN CABELLO REAL

Una vez evaluada la efectividad, en términos de adsorción, de la formulación optimizada con APG (FO<sub>2</sub>) sobre superficies modelo que simulan la carga negativa del cabello dañado, se ha realizado un estudio cualitativo de la adsorción de esta formulación sobre una fibra capilar mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Se ha elegido realizar el estudio sobre la FO<sub>2</sub> porque a pesar de tener la desventaja referida al grado de hidratación con respecto a la FO<sub>1</sub>, su uso puede ser beneficioso por la mayor degradabilidad del APG y el menor contenido en tensioactivo presente en la disolución. El objetivo de este estudio es comprobar que ciertamente la fibra capilar se recubre con la formulación. Sin embargo, a diferencia de la situación descrita en el Capítulo 4 con las mezclas PDADMAC-ramnolípido, la presencia de LESS en la formulación impide diferenciar el azufre debido al tensioactivo del azufre debido al alto contenido en S-sulfocisteína del cabello dañado [19]. De modo que en la Figura 5.12 y Figura 5.13, únicamente se muestran las imágenes de las fibras, puesto que el análisis composicional obtenido por EDS no aporta ninguna información adicional.

La Figura 5.12 ilustra una imagen de la zona central de una fibra sin tratar y tratada con la formulación FO<sub>2</sub>. La fibra sin tratar presenta las escamas naturales de la cutícula aparentemente dañadas. En cambio, cuando se aplica la FO<sub>2</sub>, las escamas quedan cubiertas dando lugar a una apariencia más sana del cabello. Esto, desde un punto de vista práctico, puede producir una reducción de la fricción entre las fibras capilares, lo cual es importante



**Figura 5.12.** Imágenes de la zona central de una fibra capilar obtenidas por SEM con una ampliación de x1600 y una potencia del haz de 20kV. A) Fibra sin tratamiento cosmético B) Fibra tratada\* con la formulación optimizada FO<sub>2</sub>. (\*Sumergida 5 minutos y posteriormente lavada.)



**Figura 5.13.** Imágenes del extremo final o “punta” de una fibra capilar obtenidas por SEM con una ampliación de x1600 y una potencia del haz de 15-20kV. A) Fibra sin tratamiento cosmético B) Fibra tratada\* con la formulación optimizada FO<sub>2</sub>. (\*Sumergida 5 minutos y posteriormente lavada)



desde el punto de vista del acondicionamiento. Este efecto también se observa en la fibra capilar ilustrada en la Figura 5.13, con la salvedad de que en el extremo final del cabello la fibra está tan dañada que las escamas han desaparecido completamente. Por consiguiente, se puede afirmar una vez más la efectividad de esta formulación.

### 5.3. CONCLUSIONES

En este capítulo se ha intentado dar un paso adelante hacia el avance en la comprensión de los fundamentos químico-físicos de la aplicación de las formulaciones cosméticas para el tratamiento capilar, proponiendo incluso una nueva formulación que se ajusta a las especificaciones marcadas por el reglamento REACH. Con esta nueva formulación se ha logrado sustituir dos tensioactivos sintéticos por otro de naturaleza biocompatible. Además de esta sustitución se ha logrado reducir el contenido de tensioactivo en la formulación así como igualar las propiedades acondicionadores de la formulación optimizada de partida. A su vez, se ha estudiado el proceso de precipitación por dilución de estas formulaciones y de las mezclas binarias polímero-tensioactivo de todos los componentes de la formulación. De dichos estudios se puede concluir que las formulaciones aquí estudiadas, como su nombre indica, se encuentran muy optimizadas y no sería posible reducir mucho más su concentración ya que su región de precipitación es muy próxima a la concentración de partida.

Por otro lado, se ha estudiado el proceso de adsorción por dilución tanto de las formulaciones optimizadas, como de las mezclas binarias polímero-tensioactivo que presentan un carácter monofásico en las concentraciones contenidas en la formulación. Más específicamente, se ha analizado exhaustivamente el comportamiento de adsorción de las mezclas binarias polímero-CAPB y la mezcla ternaria de los dos polímeros con CAPB, pudiéndose concluir que se produce un efecto antagónico en la adsorción cuando se mezclan los dos polímeros. No obstante, como ya se ha podido comprobar, el balance de interacciones entre todos los componentes de las formulaciones optimizadas da lugar a resultados de adsorción inmejorables.

### 5.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Miyake M. Recent progress of the characterization of oppositely charged polymer/surfactant complex in dilution deposition system. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;239:146-57.
- [2] Llamas S, Guzman E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of polyelectrolytes and polyelectrolytes-surfactant mixtures at surfaces: a physico-chemical approach to a cosmetic challenge. *Adv Colloid Interface Sci.* 2015;222:461-87.
- [3] Llamas S, Guzman E, Baghdadli N, Ortega F, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of poly(diallyldimethylammonium chloride)-sodium methyl-cocoyl-aurate complexes onto solid surfaces. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2016;505:150-7.
- [4] Bain CD, Claesson PM, Langevin D, Meszaros R, Nylander T, Stubenrauch C, et al. Complexes of surfactants with oppositely charged polymers at surfaces and in bulk. *Adv Colloid Interface Sci.* 2010;155:32-49.

- [5] Robb ID, Williams PA, Warren P, Tanaka R. Phase separation in concentrated mixtures of polymers and surfactants. *J Chem Soc Faraday Trans.* 1995;91:3901-6.
- [6] Llamas S, Guzmán E, Akanno A, Fernández-Peña L, Ortega F, Campbell RA, et al. Study of the Liquid/Vapor Interfacial Properties of Concentrated Polyelectrolyte–Surfactant Mixtures Using Surface Tensiometry and Neutron Reflectometry: Equilibrium, Adsorption Kinetics, and Dilational Rheology. *J Phys Chem C.* 2018;122:4419-27.
- [7] Akanno A, Guzman E, Fernandez-Pena L, Llamas S, Ortega F, Rubio RG. Equilibration of a Polycation-Anionic Surfactant Mixture at the Water/Vapor Interface. *Langmuir.* 2018;34:7455-64.
- [8] Lochhead RY. Shampoo and conditioner science. *Practical Modern Hair Science: Allured books, Carol Stream, IL; 2012. p. 75-115.*
- [9] Goddard ED, Gruber JV. Principles of polymer science and technology in cosmetics and personal care. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 1999.
- [10] Goddard ED, Phillips TS, Hannan RB. Water Soluble Polymer-Surfactant Interaction—Part I. *J Soc Cosmet Chem.* 1975;26:461-75.
- [11] Lepilleur C, Mullay J, Kyer C, McCalister P, Clifford T. Use of statistical modeling to predict the effect of formulation composition on coacervation, silicone deposition, and conditioning sensory performance of cationic cassia polymers. *J Cosmet Sci.* 2011;62:161-77.
- [12] Goddard ED, Hannan RB. Cationic polymer/anionic surfactant interactions. *J Colloid Interface Sci.* 1976;55:73–9.
- [13] Miyake M, Kakizawa Y. Morphological study of cationic polymer-anionic surfactant complex precipitated in solution during the dilution process. *J Cosmet Sci.* 2010;61:289-301.
- [14] Fisk P. Chemical risk assessment: a manual for REACH. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [15] Hollis GL. Surfactants Europa. Cambridge, United Kingdom: Royal society of chemistry; 2007.
- [16] Gadelmawla ES, Koura MM, Maksoud TMA, Elewa IM, Soliman HH. Roughness parameters. *J Mater Process Technol.* 2002;123:133-45.
- [17] Guzmán E, Llamas S, Maestro A, Fernández-Peña L, Akanno A, Miller R, et al. Polymer–surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2016;233:38-64.
- [18] Lochhead RY, Huisinga LR, Waller T. Deposition from Conditioning Shampoo: Optimizing Coacervate Formation. *Cosmetics & Toiletries.* 2006;121:75-82.
- [19] Robbins CR. Chemical and physical behavior of human hair. Berlin, Germany: Springer; 2012.



## 6. ESTUDIO DEL USO DE POLISACÁRIDOS EN EL DESARROLLO DE NUEVAS FORMULACIONES COSMÉTICAS

---

En los capítulos anteriores se ha propuesto tanto la posibilidad de sustitución de los tensioactivos sintéticos utilizados habitualmente en las formulaciones cosméticas, por otros tensioactivos que presentaran mejores características desde el punto de vista de su biodegradabilidad y biocompatibilidad, como la sustitución del polímero catiónico usado tradicionalmente en el desarrollo de las citadas formulaciones (PDADMAC), por otro polímero de la misma familia (Merquat 2003), aunque de naturaleza zwitteriónica, cuya introducción en formulaciones cosméticas resulta más efectiva que el PDADMAC incluso a concentraciones más bajas.

En este capítulo se pretende dar un paso más para acomodar el diseño de las formulaciones cosméticas a las especificaciones marcadas por la nueva legislación europea, para ello se ha llevado a cabo un estudio en el que se han reemplazado tanto el PDADMAC como el Merquat 2003 de las mezclas polímero-tensioactivo estudiadas por dos polisacáridos, obtenidos de fuentes renovables de origen vegetal, que presentan grupos de naturaleza catiónica (JR400 y Jaguar C162). De manera análoga a lo que se hizo en el Capítulo 5, para entender la eficiencia de las nuevas formulaciones desde un punto de vista físico-químico, se han estudiado diversas mezclas polisacárido-tensioactivo en las mismas condiciones que las utilizadas en el capítulo anterior para el estudio de mezclas binarias concentradas. De este modo, es posible realizar una evaluación de la potencial efectividad de estos polímeros en el desarrollo de nuevas formulaciones. De nuevo, es importante mencionar que la sustitución exitosa de polímeros y tensioactivos requiere que las nuevas formulaciones, además de presentar un carácter más ecológico en relación a las comercializadas en la actualidad, presenten propiedades similares o incluso mejores que estas.

El estudio que aborda este capítulo se centra en la adsorción de los complejos polisacárido-tensioactivo formados en disolución sobre superficies sólidas que mimetizan la carga negativa del cabello dañado, prestando especial atención al fenómeno de

deposición mejorada por precipitación que se produce en aquellas mezclas cuya composición se encuentra en las proximidades de la región de separación de fases del sistema, ya que es generalmente aceptado que dicho fenómeno es el mecanismo de acción de las formulaciones para el acondicionamiento capilar [1-5]. En los capítulos anteriores se ha comprobado que el estudio de la deposición mejorada por precipitación se puede estudiar siguiendo dos enfoques diferentes: (a) estudio de la adsorción de mezclas obtenidas por dilución de otras mezclas concentradas con composición similar a la de la formulación de interés, y (b) estudio de la adsorción de mezclas diluidas con concentración de polímero similar a la que se encontraría en la formulación durante el proceso aplicación y distintas concentraciones de tensioactivo. Dado el interés tecnológico de los sistemas estudiados, en este capítulo se va a centrar el estudio únicamente en el primer enfoque, correspondiente al estudio del efecto de la dilución a partir de formulaciones que contienen concentraciones de polímero y tensioactivo similares a las presentes en la formulación comercial. La dilución de estas mezclas aproxima al sistema a la separación de fases, permitiendo obtener información sobre las bases fisicoquímicas del fenómeno de deposición bajo condiciones que pueden ser consideradas similares a las que ocurren durante la aplicación real del producto comercial.

## 6.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La preparación de las disoluciones se llevó a cabo siguiendo el mismo protocolo usado para el estudio de los sistemas binarios *concentrados* estudiados en el Capítulo 5. Es este último se desarrolló una formulación optimizada llamada FO<sub>2</sub>, basada en la simplificación de una formulación previa (FO<sub>1</sub>) mediante la sustitución de dos tensioactivos sintéticos del tipo *laureth-n* por otro tensioactivo de carácter neutro y biodegradable, el APG. Esta sustitución supone un avance de cara al cumplimiento del reglamento REACH [6] ya que se ha conseguido simplificar la formulación reduciendo el contenido de tensioactivo en la misma y se puede considerar como una formulación más “verde” dado que el APG, a pesar de ser un tensioactivo sintético, presenta una base azucarada. Por ello, con la pretensión de seguir avanzando en el cumplimiento de las especificaciones marcadas por esta legislación, el estudio realizado en este capítulo toma como referencia tanto los tensioactivos como las concentraciones contenidas en la formulación “FO<sub>2</sub>” para abordar el posible reemplazo de los polímeros sintéticos contenidos en la misma, por los polisacáridos JR400 y Jaguar C162. La Tabla 6.1 recoge las concentraciones de cada uno de los componentes de una potencial formulación incluyendo los polisacáridos. Es importante recordar que los estudios realizados en el presente capítulo centran su interés exclusivamente en el estudio de las mezclas binarias.

**Tabla 6.1.** Composición de una potencial formulación cosmética en las que la combinación de PDADMAC y Merquat 2003 ha sido reemplazada por uno de los polisacáridos (JR400 o Jaguar 162). Todas las mezclas presentan un contenido de NaCl de 120 mM, y han sido preparadas con agua de calidad Milli-Q cuyo pH ha sido ajustado a 4.5 mediante la adición de ácido cítrico.

### JR400 (5 g·L<sup>-1</sup>) o Jaguar C162 (5 g·L<sup>-1</sup>)

APG (64 mM)	CAPB (204 mM)	LESS (186 mM)	AKYPO (136 mM)
-------------	---------------	---------------	----------------

Cabe destacar que en las nuevas formulaciones se pretende reemplazar la mezcla de los dos polímeros citados anteriormente por solo uno de los polisacáridos, siendo la concentración de los polisacáridos equivalente a la concentración de PDADMAC en las formulaciones optimizadas. Por otro lado, las concentraciones de tensioactivo utilizadas son las encontradas en dichas formulaciones.

La Tabla 6.2 muestra el carácter monofásico ( $1\Phi$ ) o bifásico ( $2\Phi$ ), así como el aspecto, de cada mezcla binaria polisacárido-tensioactivo estudiada. Atendiendo a la tabla, se puede observar que igual que ocurría con las mezclas binarias conteniendo PDADMAC o Merquat 2003, las únicas mezclas binarias polisacárido-tensioactivo que presentan un carácter monofásico son aquellas que contienen APG o CAPB, mientras que las mezclas que contienen LESS o AKYPO muestran una clara separación en fases cuando se combinan con cualquiera de los polisacáridos. El carácter bifásico de estas últimas muestras limita a que solo se pueda realizar el estudio del proceso de dilución, y por consiguiente de adsorción, con las mezclas binarias que contienen APG o CAPB. No obstante, el hecho de que las mezclas que contienen LESS o AKYPO no presenten un carácter monofásico no limita su utilización en formulaciones completas ya que como se ha visto en el Capítulo 5, en tales formulaciones la aparición de un complejo balance de interacciones puede conducir a la formación de un sistema monofásico incluso cuando las mezclas binarias aparecen separadas en fases.

**Tabla 6.2.** Carácter monofásico o bifásico y aspecto de las diferentes mezclas binarias polisacárido-tensioactivo. Todas las mezclas presentan un contenido de NaCl de 120 mM, y han sido preparadas con agua de calidad Milli-Q cuyo pH ha sido ajustado a 4.5 mediante la adición de ácido cítrico.

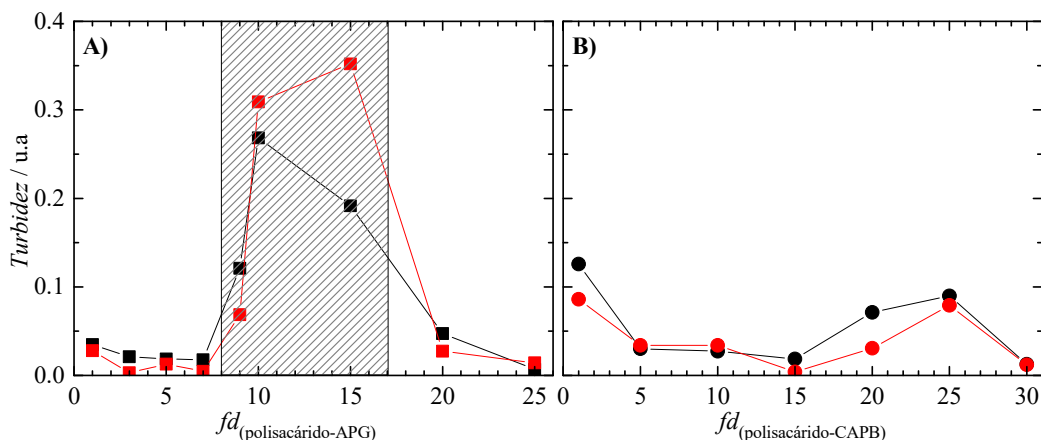
<b>JR400 (5 g·L<sup>-1</sup>)</b>				
	<b>APG (64 mM)</b>	<b>CAPB (204 mM)</b>	<b>LESS (186 mM)</b>	<b>AKYPO (136 mM)</b>
ASPECTO	$1\Phi_{\text{TRANSPARENTE}}$	$1\Phi_{\text{TRANSPARENTE}}$	$2\Phi_{\text{LÍQUIDAS}}$	$2\Phi_{\text{LÍQUIDAS}}$
<b>Jaguar C162 (0,5 wt%)</b>				
	<b>APG (64 mM)</b>	<b>CAPB (204 mM)</b>	<b>LESS (186 mM)</b>	<b>AKYPO (136 mM)</b>
ASPECTO	$1\Phi_{\text{TRANSPARENTE}}$	$1\Phi_{\text{TRANSPARENTE}}$	$2\Phi_{\text{LÍQUIDAS}}$	$2\Phi_{\text{LÍQUIDAS}}$

## 6.2. RESULTADOS

### 6.2.1. DETERMINACIÓN DE LA REGIÓN DE SEPARACIÓN DE FASES

Una vez determinadas las mezclas binarias que presentan un carácter monofásico en las concentraciones de polisacárido y tensioactivo que aparecen en las formulaciones cosméticas, es posible analizar sobre ellas el efecto de dilución y establecer, por tanto, las condiciones de aparición de la región de separación de fases para cada una de las mezclas consideradas.

En la Figura 6.1 se recogen los valores de turbidez obtenidos para distintas diluciones, representadas como factor de dilución  $fd$ , de las mezclas polisacárido-tensioactivo estudiadas. Los resultados muestran que el componente que gobierna el comportamiento de estas mezclas es el tensioactivo, es decir, cuando las mezclas polisacárido-tensioactivo presentan el mismo tensioactivo, estas presentan un comportamiento similar independientemente de la naturaleza del polisacárido empleado. Cabe mencionar que valores bajos de turbidez indican que las muestras se encuentran en estado de equilibrio en una única fase o en una región de equilibrio entre dos fases donde los agregados ya han precipitado para formar un sedimento. En cambio, tal y como explicaron Campbell et al. [7, 8], un aumento significativo de la turbidez es indicativo de la aproximación a la región de separación de fases como consecuencia de la formación de agregados insolubles. Es por ello que el aumento de turbidez observado en la Figura 6.1.B en el intervalo  $fd = 8-18$ , corresponde a la región de separación de fases de ambos sistemas polisacárido-APG. Una vez superada dicha región, los sistemas salen de la región de separación de fases volviendo a presentar un carácter transparente monofásico. Cabe mencionar que el envejecimiento de aquellas mezclas que contienen APG conduce a la precipitación de los complejos formados en el intervalo de factores de dilución anteriormente indicado, confirmando así que el sistema en dicha región se encuentra dentro de la región de separación de fases. Sin embargo, en las mezclas con CAPB, ni los resultados de turbidez mostrados en la Figura 6.1.B ni el envejecimiento de las mezclas, en un periodo de dos meses, muestran ninguna señal de la aparición de la región de separación de fases en el intervalo de factores de dilución explorado. Cabe destacar que los pequeños incrementos observados se encuentran dentro del límite de error esperado para la determinación de la turbidez y por ello no tiene ningún sentido físico realizar una discusión en base ellos. Es importante resaltar que los resultados obtenidos no implican que este sistema no presente una región de separación de fases, sino que de aparecer, esta podría aparecer a factores de dilución mayores o en condiciones de mayor concentración. La ausencia de una separación de fases para mezclas polímero-tensioactivo que contienen un tensioactivo de la familia de las betaínas ha sido asociado por Guzmán et al. [9] al carácter zwitteriónico de dichos tensioactivos, lo que limita la formación de complejos eléctricamente neutros, dado que cada carga neutralizada por la interacción entre los monómeros de las cadenas poliméricas y las cargas negativas



**Figura 6.1.** Dependencia de la turbidez con el factor de dilución para las distintas mezclas binarias polisacárido-tensioactivo estudiadas. A) Mezclas polisacárido-APG (■ Jaguar C162 ■ JR400). B) Mezclas polisacárido-CAPB (● Jaguar C162 ● JR400).

del tensioactivo es compensada por una carga positiva procedente de la molécula de tensioactivo.

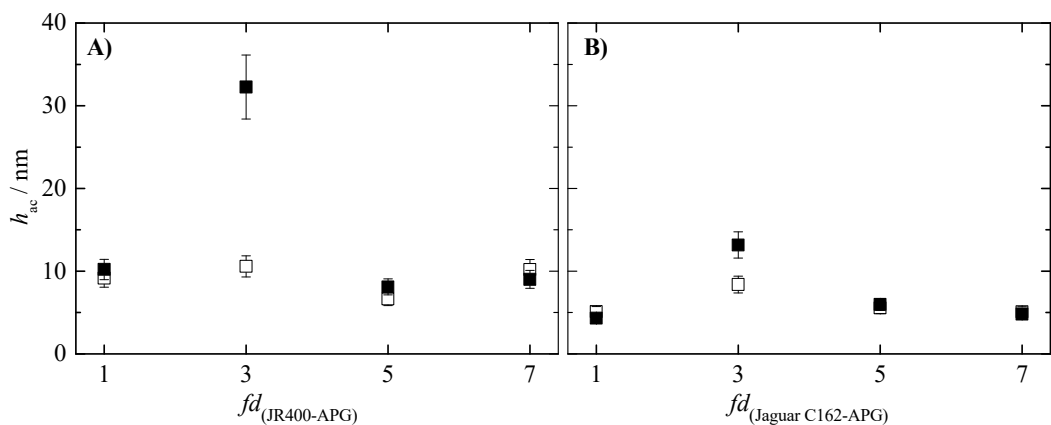
## 6.2.2. ESTUDIO DE LA INTERFASE SÓLIDO-LÍQUIDO

Una vez conocido el intervalo de valores del factor de dilución en el que aparece la región de separación de fases para las mezclas polisacárido-APG, y la ausencia de dicha región al menos en el intervalo estudiado para las mezclas polisacárido-CAPB, se procedió al estudio de la adsorción sobre superficies sólidas cargadas negativamente de las disoluciones con distintos valores del factor de dilución de las mezclas polisacárido-tensioactivo. El objetivo de estos estudios es realizar una evaluación de las condiciones de dilución que mejor se ajustan a la aplicación cosmética. Para ello, dada la similitud en el comportamiento de las mezclas cuando tienen en común el tensioactivo, este apartado se va a enfocar en base al efecto que produce el polisacárido en la mezcla.

### 6.2.2.1. MEZCLAS BINARIAS POLISACÁRIDO-APG

La Figura 6.2 recoge los espesores acústicos correspondientes al proceso de adsorción, y posterior lavado, de las mezclas polisacárido-APG en función de la dilución realizada.

Los resultados muestran que los espesores acústicos obtenidos por QCM-D son mayores cuando el polímero de la mezcla polisacárido-APG es el JR400. Además, se puede observar que tanto en las mezclas formadas por JR400 (Figura 6.2.A) como en las mezclas compuestas por Jaguar C162 (Figura 6.2.B) cuando se diluye tres veces la mezcla *concentrada* ( $fd=3$ ) se produce un aumento del espesor tras el proceso de lavado, siendo este aumento significativamente mayor en las mezclas JR400-APG. Este aislado aumento de espesor en el sistema podría asociarse en un primer momento a la estrecha región de separación de fases observada en la Figura 6.1.A, ya que en el proceso de lavado la mezcla



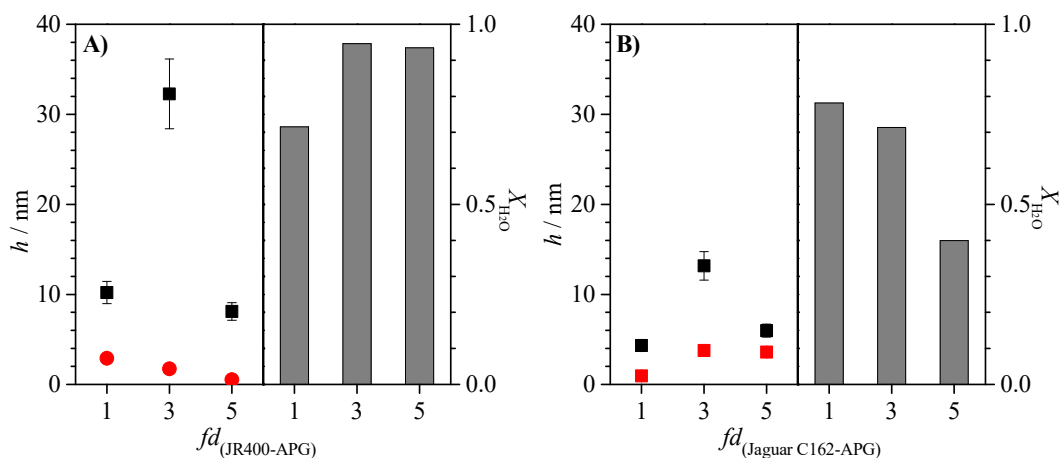
**Figura 6.2.** Dependencia de los espesores acústicos con la dilución de las mezclas *concentradas* polisacárido-APG.  $\square$   $h_{ac}$  antes de lavar  $\blacksquare$   $h_{ac}$  después de lavar A) Sistema binario JR400-APG. B) Sistema binario Jaguar C162-APG. (La línea de puntos es una guía para los ojos)



se diluye forzando la entrada del sistema en la región de precipitación de los complejos. A su vez, cabría esperar que la diferencia tan notable entre los espesores acústicos tras el lavado fuera debida a la mayor hidrofobicidad del JR400, lo que facilitaría la precipitación de los complejos aumentando de este modo el espesor. Sin embargo, atendiendo a la Figura 6.3 se puede comprobar que el espesor óptico correspondiente a la mezcla polisacárido-APG con  $fd=3$  es mayor en el sistema binario formado por el Jaguar C162, pudiéndose concluir que esa diferencia de espesores acústicos es debida a la hidratación de la capa.

Dada la naturaleza no iónica del tensioactivo, la interacción entre ambos polisacáridos con el APG debe tener lugar a través de la formación de enlaces de hidrógeno, pudiendo aparecer también interacciones hidrofóbicas entre las colas del tensioactivo con la cadena hidrocarbonada del polímero. Esto hace que el factor determinante en la adsorción de los sistemas aquí estudiados sea el tipo de monómeros que se encuentran presentes en las cadenas de los polisacáridos, ya que se espera que dicho parámetro pueda condicionar la interacción entre los complejos y la superficie cargada negativamente. Por ello, para comprender el comportamiento de las mezclas *concentradas* ( $fd=1$ ) se ha de tener en cuenta que la estructura del Jaguar C162 presenta el doble de grupos cargados de tipo amonio cuaternario que el JR400. De modo que, a la vista de los resultados mostrados en la Figura 6.3 ( $fd=1$ ), es esperable que la adsorción de las mezclas Jaguar C162-APG pueda ocurrir con las cadenas en una disposición más extendida dada la doble interacción de cada cadena polimérica con la superficie. Además, la capa adsorbida, por consiguiente, se encontrará más hidratada que la capa correspondiente a los complejos JR400-APG debido a que la alta repulsión intercadena evita el proceso de densificación. Por otro lado, la contribución de las repulsiones intracadena contribuirían a la adsorción en las conformaciones mencionadas arriba.

Una vez explicada la fenomenología de adsorción de las mezclas concentradas, si se centra la atención en la Figura 6.3.A, se puede observar una disminución de los espesores ópticos con la dilución de la mezcla así como un grado de hidratación muy elevado. En un principio, el aumento tan acusado del espesor acústico en  $fd=3$  podría atribuirse a la precipitación de los complejos tras la dilución que ocurre durante el proceso de lavado



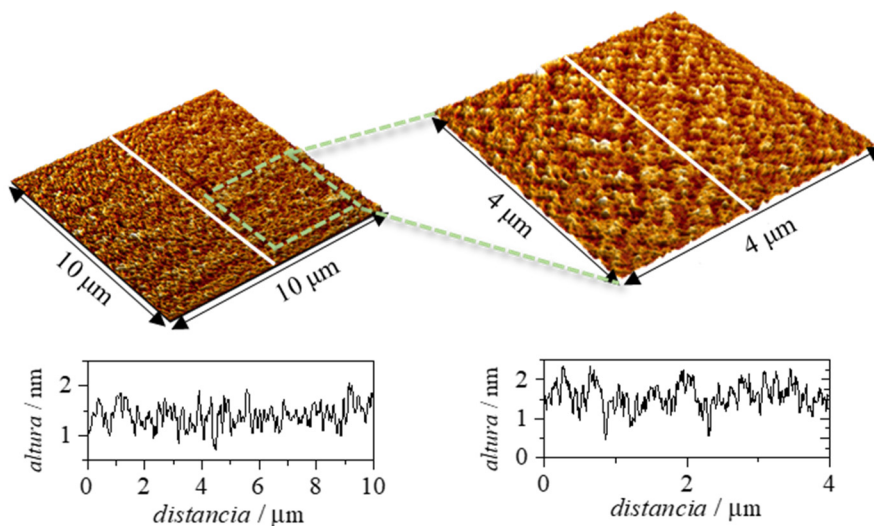
**Figura 6.3.** Comparación de espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de las capas adsorbidas para mezclas polisacárido-APG con distinto valor del factor de dilución. A) Mezclas donde el polisacárido es JR400 B) Mezclas donde el polisacárido es Jaguar C162.

como consecuencia de la proximidad del sistema a la región de separación de fases. Sin embargo, la disminución del espesor óptico con el factor de dilución parece indicar que ese alto valor encontrado para el espesor acústico se debe únicamente a la alta hidratación de la monocapa adsorbida. Cabe mencionar que el hecho de que en ambos sistemas polisacárido-APG se produzca un aumento tan acusado del espesor acústico, puede deberse a un cambio conformacional de los complejos como consecuencia de la dilución. No obstante, dada la proximidad de la región de precipitación cabría esperar un aumento del espesor a medida que la mezcla se aproxima a dicha región, tal y como ocurre en el caso del sistema Jaguar C162-APG (ver Figura 6.3.B). Sin embargo, los resultados obtenidos para el sistema JR400-APG parecen indicar una fenomenología diferente, con el espesor óptico disminuyendo a medida que aumenta  $fd$ . Las diferencias de comportamiento son difíciles de explicar en base a las similitudes encontradas en la dependencia de la turbidez con respecto al  $fd$  (ver Figura 6.1.A). Una posible explicación podría estar asociada con diferencias en la cinética de precipitación de cada sistema. De este modo, mientras que en el sistema Jaguar C162-APG la precipitación parece tener lugar de manera instantánea durante el proceso de lavado, lo que conduce a un aumento de espesor con  $fd$ , para el sistema JR400-APG la precipitación parece ser más lenta, quedando enmascarada durante el proceso de lavado.

#### 6.2.2.1.1. Topografía de las capas adsorbidas

Con el fin de esclarecer la fenomenología implicada en la adsorción de las mezclas polisacárido-APG con  $fd=3$  se ha llevado a cabo un análisis de la topografía de las capas formadas sobre las superficies sólidas, empleando para ello la microscopía de fuerza atómica (AFM). Es importante reseñar que los resultados obtenidos de este estudio pueden diferir de los que se obtienen al trabajar en disolución, ya que los experimentos de AFM se realizan en *seco*, es decir, se dejan secar las muestras antes de medirlas. Para realizar una comparación lo más acertada posible se van a comparar los perfiles de alturas obtenidos por AFM con los espesores obtenidos por elipsometría puesto que estos últimos no tienen en cuenta el papel del agua de hidratación. En primer lugar, la Figura 6.4 muestra dos imágenes topográficas en 3D obtenidas mediante AFM con sus correspondientes perfiles de alturas para una capa adsorbida sobre una superficie sólida desde una disolución de la mezcla JR400-APG con  $fd=3$ .

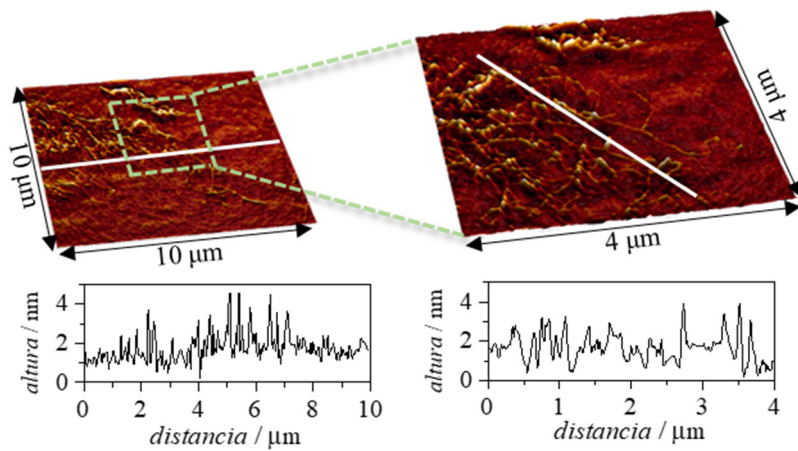
Las imágenes topográficas parecen indicar que la adsorción de la mezcla sobre el silicio conduce a la formación de una capa bastante homogénea. En ellas aparecen pequeñas elevaciones distribuidas uniformemente a lo largo de toda la muestra, que de acuerdo con la ISO 4287:1997, le confieren una rugosidad  $Ra$  en 2D de 0.14 nm (barrido de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$ ). Por otro lado, el perfil de alturas de la capa adsorbida alcanza un valor máximo de  $\sim 2$  nm, comparable con el espesor obtenido por elipsometría. Este hecho parece indicar que debajo de la imagen topográfica obtenida no hay más material adsorbido, sino que el cero obtenido en el perfil de alturas es el silicio.



**Figura 6.4.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una disolución de JR400-APG con  $fd=3$ . Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de  $39.0 \text{ nm/pto}$  (imagen de la izquierda), y sobre un área de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de  $15.6 \text{ nm/pto}$  (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.

Las imágenes 3D de la Figura 6.5, correspondientes a las capas adsorbidas para una mezcla Jaguar C162-APG con  $fd=3$ , presentan una apariencia bastante más heterogénea que la de las capas obtenidas para la mezcla anteriormente estudiada. En dichas imágenes se pueden observar unas estructuras filamentosas que podrían asociarse a los complejos Jaguar C162-APG depositados sobre la monocapa adsorbida.

Con la idea de comparar la rugosidad entre la zona donde aparecen las estructuras en forma de filamentos y la zona donde no aparecen dichas estructuras, se han obtenido los parámetros de rugosidad  $Ra$  en 2D correspondientes a un área de  $16 \mu\text{m}^2$ . En primer lugar, la rugosidad de la zona donde aparecen las estructuras filamentosas asciende a  $0.50 \text{ nm}$ , mientras que la zona donde no existen este tipo de estructuras presenta una rugosidad más baja ( $0.28 \text{ nm}$ ). Estos resultados de rugosidad parecen indicar que la zona sin estructuras filamentosas también se encuentra recubierta. Esta conclusión se extrae teniendo en cuenta que la rugosidad de la capa es superior a la del silicio ( $0.1\text{-}0.17 \text{ nm}$  en un barrido de  $1 \times 1 \mu\text{m}$  [10]). En cuanto a los perfiles de alturas obtenidos, es posible distinguir dos tipos de perfiles claramente. Por un lado, aparecen regiones del perfil donde la altura promedio asciende a los  $4\text{-}5 \text{ nm}$ , lo que concordaría con lo encontrado mediante elipsometría, y por otro, aparecen zonas con una distribución más homogénea del material adsorbido donde el perfil de alturas oscila entorno a  $1\text{-}2 \text{ nm}$ .

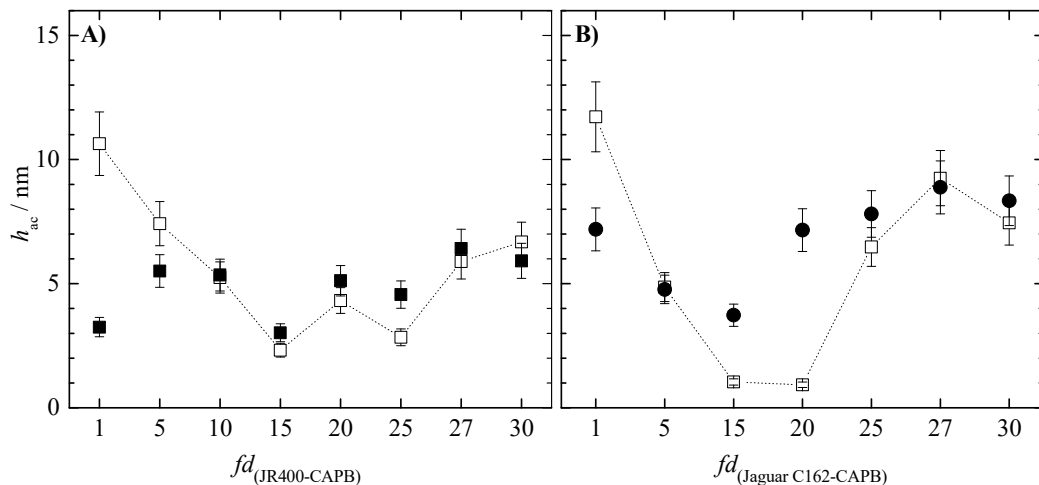


**Figura 6.5.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una disolución de Jaguar C162-APG con  $fd=3$ . Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de  $39.0 \text{ nm/pto}$  (imagen de la izquierda), y sobre un área de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de  $15.6 \text{ nm/pto}$  (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.

#### 6.2.2.2. MEZCLAS BINARIAS POLISACÁRIDO-CAPB

A diferencia del sistema anterior, el proceso de adsorción de las mezclas polisacárido-CAPB presenta la tendencia esperada en base a los estudios del proceso de precipitación por dilución. Como se puede observar en la Figura 6.6, en un principio, cuando se diluyen las mezclas *concentradas* ( $fd=1$ ) se produce una disminución de la adsorción, lo que concordaría con la reducción de concentración en la disolución. Además, en la región correspondiente a valores de  $fd$  bajos, se produce tanto para las mezclas del tensioactivo con Jaguar C162 y JR400 una disminución del espesor acústico con el proceso de lavado, lo cual puede ser asociado una vez más con una reducción de la cantidad de materia adsorbida. Cabe destacar que las dependencias encontradas para el espesor de las mezclas Jaguar C162-CAPB y JR400-CAPB muestra algunas características diferenciadoras. Analizando el caso de las mezclas donde el polímero es el JR400, se observa que a partir de  $fd=15$  el sistema empieza a mostrar un aumento de la adsorción con la dilución. Por otro lado, la cantidad de material adsorbido tras el lavado muestra también un ligero aumento con el  $fd$ . El análisis combinado de estos datos parece indicar que si bien no se ha localizado la región de precipitación para este sistema, la mejora de la adsorción puede estar asociada a la proximidad de la misma. Esto incita a pensar que para el sistema considerado la cinética de precipitación es muy lenta, y por ello no se han observado evidencias macroscópicas en las disoluciones. Para las mezclas Jaguar C162-CAPB se encuentra un comportamiento similar, aunque la aparición de evidencias asociadas al fenómeno de adsorción mejorada por precipitación son observadas de manera más clara.

De cara a la aplicación cosmética, que la región de precipitación se encuentre relativamente alejada de las condiciones habituales del uso del producto comercial, permitiría reducir el contenido polimérico y la concentración de tensioactivo en las formulaciones, lo que podría ser ventajoso desde un punto de vista tanto económico como



**Figura 6.6.** Dependencia de los espesores acústicos con la dilución de las mezclas *concentradas* polisacárido-CAPB. □  $h_{ac}$  antes de lavar ■  $h_{ac}$  después de lavar A) Sistema binario JR400-CAPB. B) Sistema binario Jaguar C162-CAPB. (La línea de puntos es una guía para los ojos)

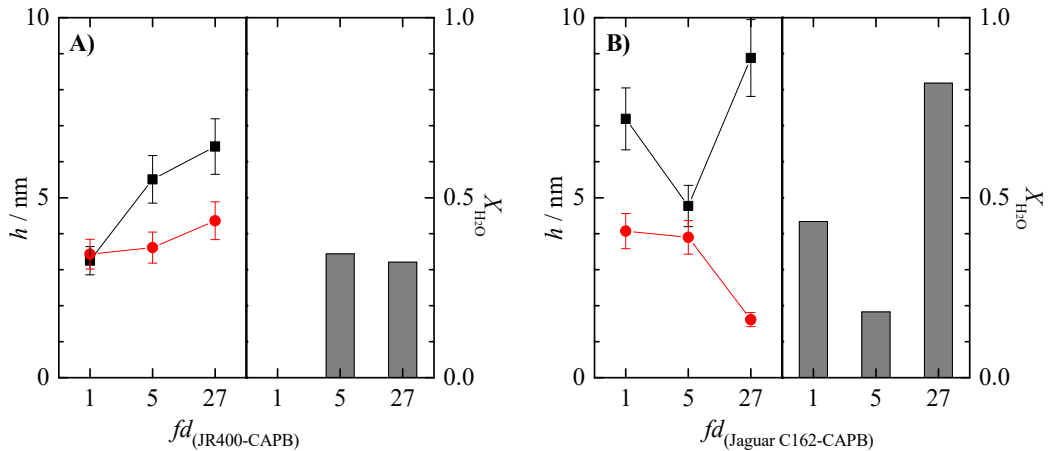
de adecuación a la legislación vigente. Sin embargo, el papel de una cinética de precipitación lenta podría ser perjudicial, dado que separaría las escalas de tiempo del proceso físico de interés y del proceso de aplicación real de la formulación. Por ello, sería preciso realizar una evaluación en detalle de este proceso. Por otro lado, cabe mencionar que no se han realizado medidas por encima de un factor de dilución  $fd=30$ , ya que la dilución es muy elevada y no sería comparable con otros sistemas estudiados.

En relación a los resultados mostrados en la Figura 6.6, parece que las mezclas Jaguar C162-CAPB presentan adsorciones más elevadas que las mezclas análogas que contienen JR400 como polímero. No obstante, para extraer conclusiones de dichos resultados se hace necesario realizar el estudio de adsorción con elipsometría y así comprobar si esa diferencia de adsorción se encuentra fundamentalmente asociada con la retención de agua y no con la adsorción de una mayor cantidad de complejos polisacárido-tensioactivo.

A la vista de los resultados de adsorción de las mezclas *concentradas* polisacárido-CAPB ( $fd=1$ ) recogidos en la Figura 6.7, parece que la adsorción de las mezclas con Jaguar C162 es mayor que la adsorción de las mezclas con el JR400, pudiéndose observar en estos sistemas el efecto contrario al descrito en los sistemas polisacárido-APG ( $fd=1$ ). En este caso, debido a la naturaleza zwitteriónica del CAPB, se produce la interacción electrostática entre los grupos amonio cuaternario de los polisacáridos con los grupos carboxilo del tensioactivo. Dado que la estructura del JR400 dispone de un grupo amonio cuaternario menos que el Jaguar C162, es esperable el escenario encontrado en la Figura 6.7.A, donde se observa una capa adsorbida no hidratada del sistema JR400-CAPB ( $fd=1$ ). La reducción de la repulsión electrostática permite que los grupos amonio cuaternario del JR400 que no se encuentran apantallados por la sal ni están interaccionando con el tensioactivo, puedan hacerlo con la superficie sólida formando una capa adsorbida muy densa sin posibilidad de incorporación de moléculas de agua. En cambio, en el caso de la mezcla Jaguar C162-CAPB debe estar produciendo una mayor repulsión electrostática

entre las distintas cadenas poliméricas como consecuencia de su segundo grupo cargado, lo que permite la incorporación de moléculas de agua dentro de la capa adsorbida.

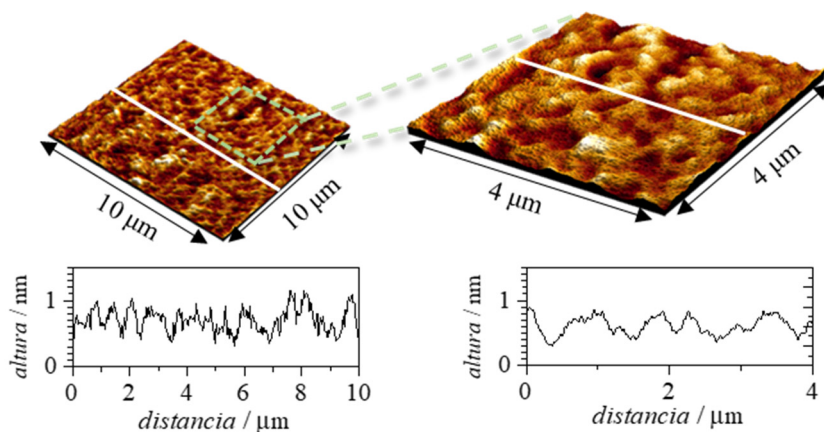
En relación a la adsorción de las diluciones de la mezcla JR400-CAPB recogidas en la Figura 6.7.A, se observa un aumento de la adsorción con la dilución como consecuencia de la aproximación a la región de precipitación. En la mezcla de Jaguar C162-CAPB (Figura 6.7.B) se produce una densificación de la capa adsorbida cuando  $fd=5$ , mientras que en  $fd=27$  parece que el sistema sale de la región de precipitación ya que la adsorción disminuye considerablemente y la hidratación de la capa es muy elevada.



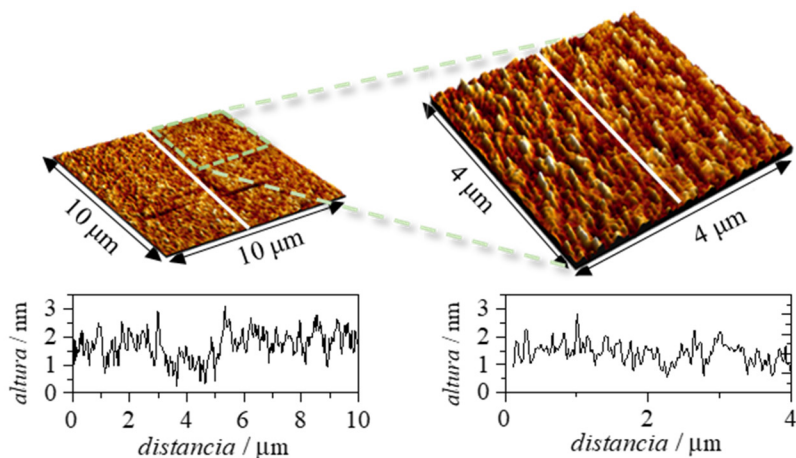
**Figura 6.7.** Comparación de espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de las capas adsorbidas para mezclas polisacárido-CAPB con distinto valor del factor de dilución. A) Mezclas donde el polisacárido es JR400 B) Mezclas donde el polisacárido es Jaguar C162.

### 6.2.2.2.1. Topografía de las capas adsorbidas

El análisis topográfico de las capas adsorbidas para las mezclas polisacárido-CAPB queda recogido en la Figura 6.8 y Figura 6.9. En ambas figuras se puede observar la existencia de surcos a lo largo de toda la capa adsorbida. Estos surcos son más alargados y estrechos en la mezcla Jaguar C162-CAPB con  $fd=27$ , lo cual implica una modificación de la rugosidad de la muestra. En las capas de la mezcla Jaguar C162-CAPB la rugosidad asciende a 0.21 nm mientras que las mezclas con JR400 presentan una rugosidad de 0.11 nm (barrido de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$ ). A su vez, los perfiles de alturas de la mezcla con JR400 difieren de los espesores ópticos, lo cual es indicativo de que el cero del perfil de alturas sigue siendo el material de estudio, es decir, la capa es tan homogénea y densificada que solo se consigue observar la zona superficial de la muestra. En cambio, el perfil de alturas de la mezcla Jaguar C162-CAPB sí que coincide con el espesor obtenido por elipsometría, lo cual era de esperar dada la topografía tan rugosa.



**Figura 6.8.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una disolución de JR400-CAPB con  $fd=27$ . Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 39.0 nm/pto (imagen de la izquierda), y sobre un área de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 15.6 nm/pto (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.



**Figura 6.9.** Resultados experimentales obtenidos mediante AFM para una capa adsorbida desde una disolución de Jaguar C162-CAPB con  $fd=27$ . Imágenes topográficas en 3D realizadas sobre un área de  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 39.0 nm/pto (imagen de la izquierda), y sobre un área de  $4 \times 4 \mu\text{m}^2$  usando una resolución de barrido de 15.6 nm/pto (imagen derecha). Debajo de cada imagen se recoge el correspondiente perfil de alturas realizado a lo largo de la zona marcada con la línea blanca.

### 6.3. CONCLUSIONES

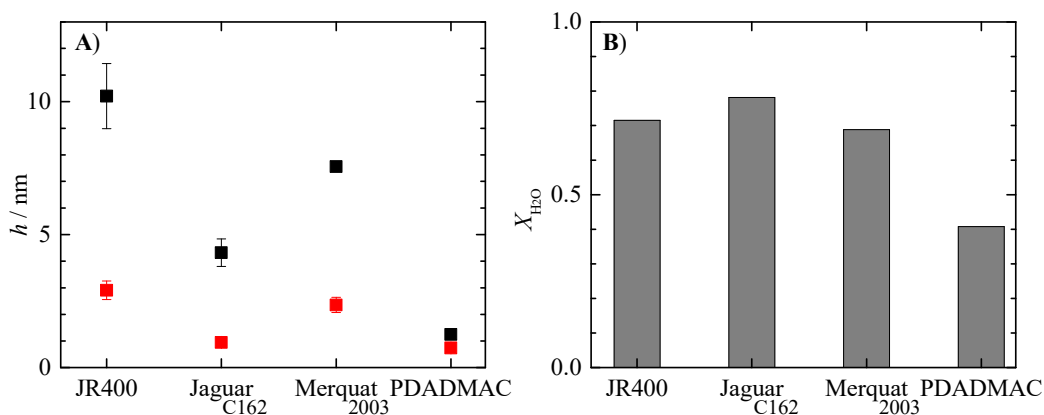
En el apartado anterior se ha realizado un estudio del proceso de adsorción por dilución de las mezclas binarias polisacárido-APG y polisacárido-CAPB. En dicho estudio se ha comprobado que el comportamiento de las mezclas presenta un carácter semejante cuando tienen en común el tensioactivo y que este comportamiento es independientemente del polisacárido presente. Sin embargo, en términos de adsorción, cabe mencionar que la naturaleza del tensioactivo, así como la naturaleza monomérica del polímero, influye en la efectividad de la formulación.

Se ha comprobado que la mezcla concentrada ( $fd=1$ ) Jaguar C162-APG presentaba peores resultados de adsorción que la mezcla concentrada JR400-APG. Sin embargo, el estudio de adsorción por dilución del primer sistema (Jaguar C162-APG), específicamente la dilución correspondiente a  $fd=3$ , además de presentar mejores resultados de adsorción que ambas mezclas concentradas, conduce a mejores resultados que el estudio de adsorción por dilución del sistema JR400-APG. Este hecho supone una gran ventaja de cara al diseño de nuevas formulaciones cosméticas, ya que la incorporación del Jaguar C162 en la formulación permitiría reducir el contenido de APG en dicha formulación.

En relación a las mezclas polisacárido-CAPB, a pesar de que los estudios de turbidez no mostraban ninguna señal de aparición de la región de separación de fases, se ha podido comprobar que los estudios de adsorción de estas mezclas presentan una tendencia típica de aproximación a dicha región a partir de  $fd=15$ . Este hecho ha permitido afirmar que la cinética de precipitación de los agregados es muy lenta y que probablemente con el tiempo, las muestras próximas a  $fd=27$  lleguen a precipitar. Por otro lado, en términos de adsorción, las mezclas exhiben un comportamiento contrario a los sistemas polisacárido-APG. En este caso, la capa adsorbida correspondiente a la mezcla concentrada Jaguar C162-CAPB tiene mayor espesor y está más hidratada que la capa adsorbida correspondiente a la mezcla concentrada JR400-CAPB. Sin embargo, en términos de dilución, la mezcla que mejores resultados reporta es esta última. De modo, se puede concluir que la posible incorporación del JR400 en la formulación permitiría la reducción del contenido de CAPB en la misma.

Hasta el momento los resultados parecen ser prometedores de cara a la incorporación de estos polisacáridos en la formulación. Sin embargo, para poder consolidar esta propuesta de sustitución es necesario comparar los resultados de adsorción de las mezclas *concentradas* aquí estudiadas con los resultados obtenidos en el Capítulo 5 para las mezclas con los polímeros sintéticos PDADMAC y Merquat 2003. De manera que la Figura 6.10 recoge una comparación de los espesores ópticos y acústicos de las capas adsorbidas de las mezclas polímero-APG, así como el grado de hidratación de las mismas. En dicha figura se puede observar que las mezclas de ambos polisacáridos con el APG conducen a la adsorción de capas con espesores más altos que la mezcla PDADMAC-APG, siendo incluso la hidratación de las capas adsorbidas mucho mayor que la correspondientes a las capas de esta última mezcla. Como ya se mencionó anteriormente, el factor determinante en la adsorción de este tipo de mezclas parece ser la naturaleza del polímero. Por ello el PDADMAC, que es un polímero puramente catiónico y presenta un tamaño relativamente pequeño en relación al resto de polímeros estudiados, se adsorbe de manera muy extendida dando lugar a la formación de capas con espesores relativamente bajos.



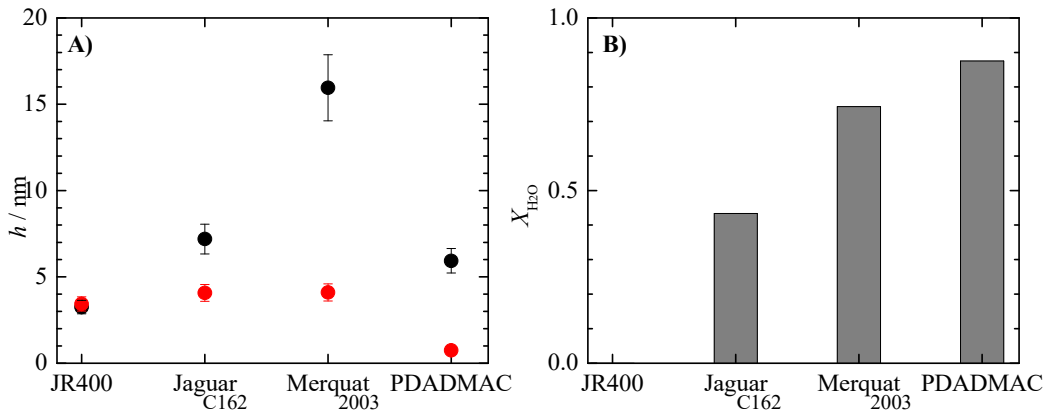


**Figura 6.10.** Comparación de los espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de la capa adsorbida de mezclas concentradas polisacárido-APG estudiadas en este capítulo con las mezclas concentradas de PDADMAC-APG y Merquat 2003-APG estudiadas en el Capítulo 5.

Por otro lado, se puede comprobar que la mezcla JR400-APG presenta espesores equivalentes e incluso mejores que la mezcla con Merquat 2003, mientras que la adsorción de mezcla con Jaguar C162 es inferior a la adsorción de esta última mezcla. En este caso, el doble grupo cargado del Jaguar C162 es contraproducente para el proceso de adsorción en relación al Merquat 2003. Por tanto, se puede concluir que el PDADMAC puede ser sustituido por cualquiera de los dos polisacáridos, pero que el Merquat 2003 solo podría ser sustituido por el JR400. Cabe mencionar que, aunque la concentración del Merquat 2003 en la formulación sea la mitad que la concentración del resto de polímeros aquí estudiados, la sustitución de este polímero sintético por otro de origen natural supondría una ventaja de cara al cumplimiento del reglamento europeo.

Por último, la Figura 6.11 recoge los espesores y grados de hidratación de las capas adsorbidas relativos a las mezclas polímero-CAPB. En este caso, ninguno de los polisacáridos puede ser propuesto para la sustitución del Merquat 2003. Este polímero presenta un espesor óptico semejante al Jaguar C162, pero la hidratación de la capa adsorbida de la mezcla con Merquat 2003 es el doble que la correspondiente a la mezcla con Jaguar C162. Como ya se ha mencionado en diversas ocasiones, la efectividad del producto cosmético no reside únicamente en una elevada adsorción, sino que también se requiere una elevada hidratación de la capa adsorbida para la reducción de la fricción entre fibras. Si además de esto se tiene en cuenta la concentración polimérica, la sustitución del Merquat 2003 por estos polisacáridos se hace inviable. El hecho de que el Merquat 2003 presente estos resultados de adsorción tan excelentes es debido a su naturaleza zwitteriónica. Independientemente de la contribución del tensioactivo, donde en este caso interacciona electrostáticamente con los grupos amonio cuaternario de los cuatro polímeros, la repulsión electrostática de grupos cargados negativamente del Merquat 2003 con la superficie de interacción, obliga a que los monómeros de ácido acrílico de este polímero se dispongan verticalmente a la superficie lo que conlleva un incremento tanto de la adsorción como de la incorporación de moléculas de agua en capa.

Por otro lado, el PDADMAC podría ser sustituido por el Jaguar C162, pero no por el JR400. Como ya se ha mencionado, la hidratación de la capa adsorbida es muy importante de cara a la aplicación cosmética. Por eso, aunque el JR400 presente un espesor óptico más



**Figura 6.11.** Comparación de los espesores ópticos (en rojo) y acústicos (negro), así como el grado de hidratación (diagrama de barras) de la capa adsorbida de mezclas concentradas polisacárido-CAPB estudiadas en este capítulo con las mezclas concentradas de PDADMAC-CAPB y Merquat 2003-CAPB estudiadas en el Capítulo 5.

elevado que el PDADMAC, la capa adsorbida no está hidratada. De modo que el JR400, en las condiciones de aplicación, no es un buen sustituto del PDADMAC. Sin embargo, en el apartado 6.2.2.2 se ha comprobado que en condiciones de dilución la mezcla JR400-CAPB presenta buenos resultados de adsorción. De este modo, si se pretendiera incorporar el JR400 en la formulación, se podría reducir el contenido de CAPB, lo cual sería satisfactorio de cara al cumplimiento del reglamento REACH [6].

## 6.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Miyake M, Kakizawa Y. Morphological study of cationic polymer-anionic surfactant complex precipitated in solution during the dilution process. *J Cosmet Sci.* 2010;61:289-301.
- [2] Miyake M. Recent progress of the characterization of oppositely charged polymer/surfactant complex in dilution deposition system. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;239:146-57.
- [3] Lochhead RY. Shampoo and conditioner science. *Practical Modern Hair Science: Allured books, Carol Stream, IL;* 2012. p. 75-115.
- [4] Lochhead RY, Huisinga LR. A Brief Review of Polymer/Surfactant Interaction. *Cosmetics & Toiletries.* 2004;119:37-46.
- [5] Lochhead RY, Huisinga LR, Waller T. Deposition from Conditioning Shampoo: Optimizing Coacervate Formation. *Cosmetics & Toiletries.* 2006;121:75-82.
- [6] Fisk P. Chemical risk assessment: a manual for REACH. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [7] Campbell RA, Arteta MY, Angus-Smyth A, Nylander T, Varga I. Effects of Bulk Colloidal Stability on Adsorption Layers of Poly(diallyldimethylammonium

Chloride)/Sodium Dodecyl Sulfate at the Air-Water Interface Studied by Neutron Reflectometry. *J Phys Chem B*. 2011;115:15202-13.

[8] Varga I, Campbell RA. General Physical Description of the Behavior of Oppositely Charged Polyelectrolyte/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir*. 2017;33:5915-24.

[9] Guzmán E, Llamas S, Fernández-Peña L, Léonforte F, Baghdadli N, Cazeneuve C, et al. Concentrated polymer-surfactant mixtures in solution and upon adsorption onto negatively charged surfaces: Experiments and Self Consistent Field Calculations. *J Colloid Interface Sci*. 2019;submitted.

[10] Morinaga H, Shimaoka K, Ohmi T. Surface Microroughness of Silicon in Wet Process and its Minimization. *Solid State Phenom* 2008;134:45-8.

## 7. DISEÑO DE PLATAFORMAS PARA LA ENCAPSULACIÓN DE SUSTANCIAS HIDROFÓBICAS CON INTERÉS COSMÉTICO

---

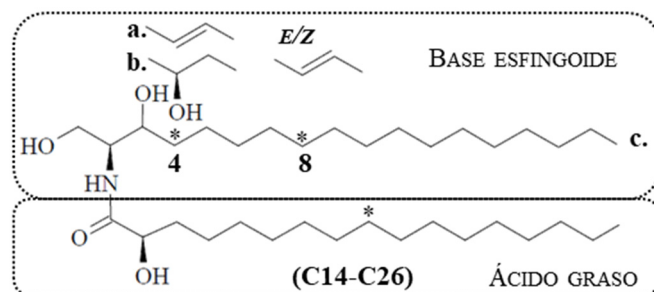
En los capítulos anteriores se ha centrado la atención en la comprensión de los principios físico-químicos que gobiernan el comportamiento de formulaciones cosméticas para el cuidado y reparación del cabello, pero en ninguno de los casos se ha hecho mención a la problemática que surge con otro tipo de formulaciones cosméticas como son las formulaciones para el cuidado y reparación de la piel. Hoy en día, el envejecimiento cutáneo, caracterizado por la aparición de arrugas, sequedad y flacidez en la piel, es una de las preocupaciones dermatológicas más frecuentes que puede presentar distintos orígenes: envejecimiento intrínseco, debido al paso del tiempo, y envejecimiento extrínseco, derivado de factores ambientales como la radiación solar ultravioleta (*fotoenvejecimiento*) o la contaminación [1]. Lo anterior ha conducido a que la industria cosmética haya desarrollado una amplia gama de productos y procedimientos para limpiar, cuidar, reparar y fortalecer la piel [2].

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, cuya función es la de actuar como barrera protectora contra agresiones externas y dar respuesta a estímulos externos, así como la de prevenir la pérdida de agua corporal [3, 4]. La capa más externa de la piel (10-20  $\mu\text{m}$  de espesor), el *estrato córneo* (SC), es la encargada de dicha protección contra agentes ambientales, estando esta formada por corneocitos queratinizados (células escamosas planas anucleadas) unidos por corneodesmosomas introducidos en una matriz lipídica de estructura lamelar ordenada dando lugar a una estructura tipo “ladrillo y mortero” (Figura 1.2) [3, 5, 6]. Dicha matriz lipídica presenta mayoritariamente en su composición ceramidas (50%), colesterol (25%) y ácidos grasos (10-20%), pero también contiene pequeñas cantidades de ésteres y sulfatos de colesterol [7]. La pérdida o alteración de estos lípidos desordena la matriz provocando alteraciones en la barrera protectora de la piel [8, 9]. En especial, la desaparición de las ceramidas conlleva la aparición de arrugas o sequedad, ya que juegan un papel importante en la capacidad de retención de agua por parte de la epidermis [10]. La variación de los niveles de ceramida se encuentran condicionados

por la edad, la étnia, la región del cuerpo o incluso la estación del año. Solo en casos extremos el déficit de ceramida comporta la aparición de enfermedades de la piel como la psoriasis y xerosis [7].

Las ceramidas son moléculas lipídicas compuestas por una base esfingoide con una longitud de cadena larga, enlazada a un ácido graso, también de cadena larga, a través de un enlace amida. En la Figura 7.1 se muestra una representación esquemática de las estructuras químicas más comunes de las ceramidas presentes en la piel. Es importante reseñar que las ceramidas no solo se encuentran en la piel, sino que también forman parte de los lípidos que componen el cabello, aunque en menor proporción (1.2 % del total de lípidos), y su pérdida conlleva el deterioro del mismo [10-12]. A su vez, las ceramidas también desempeñan un papel fundamental en la integridad de las membranas celulares ( $c < 1 \text{ mol}\%$ <sup>1</sup>), regulan los canales iónicos, actúan como segundos mensajeros, y participan en la regulación de diversos procesos celulares como la senescencia, la señalización inflamatoria y la apoptosis, siendo dichos procesos asociados a un aumento significativo de su concentración ( $c > 10 \text{ mol}\%$ ) [13-15].

Centrando la atención de nuevo en la piel, para retrasar su envejecimiento, la industria cosmética se ha planteado el diseño de formulaciones cosméticas que incluyan ceramidas y, de este modo, poder reemplazar exógenamente la pérdida de la misma. Siguiendo esa línea, en este capítulo se pretende optimizar el diseño de diversas plataformas de encapsulación de una ceramida sintética (Cer(d18:0/18:1(9Z))), a la cual se denominará de ahora en adelante simplemente como *ceramida*. La base esfingoide de esta ceramida es una esfinganina de cadena hidrocarbonada saturada de 18 átomos de carbono (d18:0) y el ácido graso, el ácido oleico (18:1). El hecho de que la esfinganina sea una de las bases esfingoides más comunes en las ceramidas contenidas en la piel humana [3], convierte a la ceramida estudiada en este capítulo en un principio activo prometedor de cara a su posible aplicación cosmética. No obstante, dada su naturaleza lipídica, que le confiere una elevada hidrofobicidad, no es posible incorporarla directamente en formulaciones cosméticas



**Figura 7.1.** Estructura química de las ceramidas más comunes de la piel humana. Los ácidos grasos son predominantemente  $\alpha$ -hidroxilados y varían en longitud de cadena (C14-C26) y  $\omega$ -9-desaturación (\*). Las bases esfingoides varían en el grado de desaturación o hidroxilación en C4, siendo **a.** esfingosina (d18:1<sup>A4</sup>), **b.** fitoesfingosina (t18:1) y **c.** esfinganina (d18:0) [3, 6].

<sup>1</sup> mol % es el porcentaje de la fracción molar del componente a estudiar.

habituales ya que el componente mayoritario de estas suele ser agua. Esto hace necesaria la búsqueda de nuevas rutas que permitan la inclusión de moléculas hidrofóbicas en dichas formulaciones. Es por ello que, como ya se ha mencionado anteriormente, en esta tesis se han desarrollado diversas plataformas de encapsulación partiendo desde ensamblajes supramoleculares de tensioactivos como pueden ser micelas, vesículas o fases lamelares, hasta llegar a sistemas más complejos como es el caso de las emulsiones o microemulsiones. Además, una de las ventajas que presentan estas plataformas de encapsulación es que su aplicación no se encuentra reducida al cuidado de la piel, sino que podrían ser utilizadas también en el diseño de nuevas formulaciones para su uso en cosmética capilar.



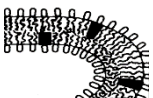
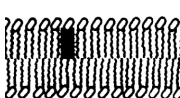
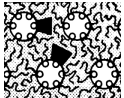
Hasta el momento se ha centrado el estudio en las ceramidas y los efectos que tiene su desaparición, pero también es importante remarcar el papel de sus metabolitos en la homeostasis de la epidermis, ya que la alteración del metabolismo de las ceramidas produce numerosas patologías como la alopecia. Ebel et al. [16] y Peters et al. [17] demostraron con estudios *in vivo* en ratones que la deficiencia de la *ceramida sintasa 4* (CerS4), responsable de la biosíntesis de las ceramidas de cadena larga, reduce la población de células madre del folículo piloso y provoca la pérdida de cabello sin afectar a la barrera de permeabilidad epidérmica [18]. Es por ello que en los últimos años la industria cosmética también ha prestado gran interés al estudio de los orígenes de la alopecia persiguiendo el diseño de formulaciones que permitan reducir el efecto de dicho problema o estimular el crecimiento de cabello nuevo en los casos en que sea posible [19].

Dentro de las distintas moléculas estudiadas para mitigar los efectos de la alopecia, el *minoxidil* (especificaciones en la Tabla 2.3) es posiblemente una de las moléculas que más interés suscita dada su aparente efectividad en la estimulación del crecimiento capilar. El minoxidil es un principio activo introducido originalmente en 1970 para tratamientos de hipertensión por vía oral dada su acción vasodilatadora. Sin embargo, se comprobó que su uso prolongado daba lugar a la aparición de *hipertriosis* o crecimiento excesivo de vello en diversas partes del cuerpo [20] ya que tiene un efecto estimulante directo en las células de la matriz del folículo piloso [21-24]. Este efecto secundario lejos de retirar ese fármaco del mercado, ha sido aprovechado por las industrias cosméticas para potenciar el crecimiento del cabello por vía tópica, de manera que en la actualidad existen formulaciones comerciales conteniendo una cantidad de minoxidil en el intervalo 1-5 wt%. Sin embargo, la pobre solubilidad en agua de esta molécula, obliga al uso de formulaciones que contienen disolventes orgánicos, lo cual supone un gran inconveniente ya que provoca dermatitis, sequedad del cuero cabelludo o irritación, entre otros efectos secundarios. Este hecho hace necesario desarrollar formulaciones que mejoren los perfiles tecnológicos y farmacológicos de la aplicación del minoxidil [22, 25]. Siguiendo una idea análoga a la planteada para la encapsulación de la ceramida, se va a explorar la encapsulación del minoxidil en nanoemulsiones de tipo aceite en agua para intentar mejorar las formulaciones que se encuentran en el mercado tanto a nivel irritativo como a nivel de concentración.

## 7.1. SISTEMAS TIPO A: *micelas, vesículas y fases lamelares*

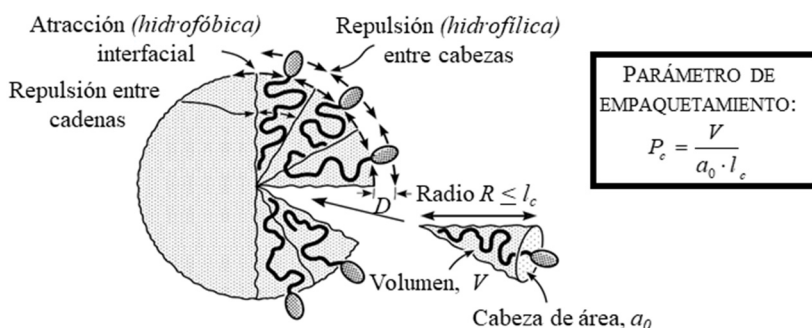
Dado el carácter anfifílico de los tensioactivos y lípidos, se planteó la posibilidad de encapsular la ceramida en estructuras autoensambladas formadas por este tipo de moléculas. Cabe mencionar que el proceso de autoensamblado está fuertemente ligado a la necesidad de minimizar la energía libre del sistema y que, como indica la Tabla 7.1, la estructura autoensamblada adoptada por los tensioactivos se encuentra condicionada por el

**Tabla 7.1.** Estructura autoensamblada adoptada por tensioactivos en función del parámetro de empaquetamiento [26].

$P_c < \frac{1}{3}$	$\frac{1}{3} \leq P_c < \frac{1}{2}$	$\frac{1}{2} \leq P_c < 1$	$P_c \approx 1$	$P_c > 1$
micelas esféricas	micelas cilíndricas	bicapas flexibles, vesículas	bicapas planas	micelas inversas
				

parámetro de empaquetamiento,  $P_c$ , que a su vez está relacionado con los factores geométricos de estas moléculas anfifílicas (ver Figura 7.2) [26].

Teniendo en cuenta lo anterior, el inicio de esta investigación comenzó con las estructuras autoensambladas más sencillas, las micelas. Seguidamente, para mantener un hilo conductor, se fueron desarrollando el resto de estructuras autoensambladas en orden creciente del parámetro de empaquetamiento.



**Figura 7.2.** Condiciones de agregación de las estructuras autoensambladas. El área óptima,  $a_0$ , donde la energía libre del sistema es mínima viene determinada por las fuerzas de repulsión entre cabezas y las fuerzas de atracción interfaciales. El volumen de la cadena,  $V$ , y su longitud,  $l_c$ , establecen los límites del empaquetamiento de las cadenas dentro del agregado [27].

### 7.1.1. MICELAS ESFÉRICAS

A pesar de que el objetivo final de los sistemas a estudiar es su introducción en una formulación cosmética, en un primer momento se realizaron estudios preliminares con diversos tensioactivos independientemente de su naturaleza, es decir, sin tener en cuenta su potencial aplicación en la preparación de formulaciones cosméticas reales ni las limitaciones impuestas por el reglamento REACH [28]. Dentro de estos tensioactivos se

encuentran el mono-RL(C<sub>10</sub>) y el LESS, que ya fueron utilizados para otras aplicaciones en el Capítulo 4.

Como paso inicial se pretendió disolver la ceramida en disoluciones micelares de los tensioactivos mencionados anteriormente, pero dada la alta hidrofobicidad de la cadena no se obtuvieron resultados satisfactorios. Para solucionar las dificultades encontradas, se planteó como alternativa predisolver la ceramida en un disolvente orgánico que además fuera polar y que estuviera permitido en cosmética, llegando a la conclusión de que el isopropanol (IPA) era un candidato prometedor. De este modo tras disolver el principio activo en IPA, se añadieron por pesada el tensioactivo y seguidamente el agua<sup>2</sup> a temperatura ambiente. Sin embargo, este protocolo de preparación tampoco fue exitoso. En este punto fue necesario realizar un estudio exhaustivo de las diversas variables que podían afectar a la solubilización de la ceramida y a la formación de micelas, concluyendo que la relación H<sub>2</sub>O:IPA, así como la temperatura del disolvente, en este caso agua, eran factores determinantes para lograr la solubilización de la ceramida. En base a los resultados obtenidos, se determinó que la relación óptima H<sub>2</sub>O:IPA se encontraba en el intervalo 97:3 - 95:5 ya que por un lado se requería que la cantidad de IPA fuera lo suficientemente alta como para poder solubilizar el principio activo, pero por otro, que la misma no sobrepasara el 5% en la relación H<sub>2</sub>O:IPA porque de otro modo se entraba en una región en la que aparecía la separación de fases. Por otro lado, se comprobó que durante el proceso de preparación el agua debía alcanzar una temperatura superior al punto de fusión de la ceramida (~90°C [29]) para permitir su encapsulación en las micelas. A pesar de las limitaciones, una vez encapsulado el principio activo, la temperatura de conservación no es relevante, siempre y cuando no baje de los 10°C.

La Tabla 7.2 recoge las composiciones de disoluciones micelares que condujeron a los mejores resultados en cuanto a la capacidad de solubilización de la ceramida. En ambos casos, la máxima cantidad de ceramida solubilizada se encuentra próxima al 0.03 wt%, pudiéndose concluir que el mono-RL(C<sub>10</sub>) es el tensioactivo más idóneo para el desarrollo de micelas para la encapsulación de ceramida. Esto se justifica por dos motivos: por un lado presenta buenas características a nivel de biocompatibilidad y biodegradabilidad, y por otro, es capaz de solubilizar más cantidad de ceramida a menor concentración.

**Tabla 7.2.** Tabla resumen de la cantidad máxima de ceramida solubilizada en micelas esféricas para los distintos tensioactivos utilizados.

	<i>C</i> tensioactivo / wt%	<i>C</i> ceramida		H <sub>2</sub> O:IPA
		wt%	<i>c</i> / · 10 <sup>-4</sup> mol %	
<b>mono-RL(C<sub>10</sub>)</b>	0.023	0.032	10.5	96:4
<b>LESS</b>	1.000	0.030	9.8	96:4

<sup>2</sup> El agua utilizada en todos los experimentos de este capítulo es de calidad Milli-Q cuyo pH ha sido ajustado previamente a un valor de 5.5 usando ácido cítrico. Este pH ha sido elegido para mimetizar las condiciones típicas de las formulaciones cosméticas.



No obstante, con este sistema de encapsulación se alcanzó un porcentaje de solubilización relativamente bajo ( $c_{\text{ceramida}} \ll c_{\text{ceramida membranas celulares}}$ ), así que partiendo de los resultados obtenidos con este tipo de micelas esféricas, se esbozó la idea de preparar otro tipo de micelas, las *micelas cilíndricas*, para intentar aumentar ese porcentaje.

### 7.1.2. MICELAS CILÍNDRICAS

Es conocido que el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTABr) forma agregados micelares de geometría cilíndrica cuando la fuerza iónica es elevada [27]. El CTABr es un tensioactivo catiónico y, por consiguiente, no permitido en cosmética. A pesar de ello, es el tensioactivo idóneo para este tipo de estudios preliminares. El protocolo de preparación de estas micelas es idéntico al procedimiento anterior, pero con una salvedad: se debe añadir la sal antes que el tensioactivo. La sal escogida para este estudio ha sido el salicilato sódico ( $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$ ), una sal con un grupo aniónico considerablemente grande capaz de facilitar la formación de micelas alargadas.

En estos experimentos se fijó la concentración de CTABr en 1 wt% y la relación  $\text{H}_2\text{O}:\text{IPA}$  en 97:3, y se fueron variando las concentraciones de salicilato sódico y ceramida hasta alcanzar las condiciones óptimas de solubilización. Para la concentración de tensioactivo utilizada, se encontró que la cantidad óptima de  $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$  para facilitar la solubilización del principio activo se encuentra en un valor de 0.3 wt%, ya que el aumento de la concentración por encima de dicho valor reduce significativamente la capacidad de solubilización de la ceramida. Usando estas condiciones se consiguió aumentar el rendimiento del proceso de solubilización de ceramida hasta un valor de 0.41 wt%, es decir, mediante este procedimiento se logró aumentar la cantidad de ceramida solubilizada en un orden de magnitud en relación a la solubilización usando micelas esféricas. La Tabla 7.3 muestra la composición de la disolución de micelas alargadas con la cual se consiguió maximizar la solubilización de ceramida.

Una vez alcanzado el máximo de solubilización en esta estructura autoensamblada, se planteó que si las ceramidas forman parte de las membranas celulares [14, 15], quizá sería posible aumentar la cantidad de ceramida solubilizada usando algún sistema autoorganizado formado por una doble capa lipídica como es el caso de las vesículas.

**Tabla 7.3.** Tabla resumen de la composición de la disolución micelar que permitió aumentar la cantidad ceramida solubilizada usando micelas cilíndricas.

$c_{\text{CTABr}} / \text{wt}\%$	$c_{\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3} / \text{wt}\%$	$c_{\text{ceramida}}$		$\text{H}_2\text{O}:\text{IPA}$
		wt%	$c / 10^{-2} \text{ mol } \%$	
1	0.30	0.41	1.35	97:3

### 7.1.3. VESÍCULAS

Las estructuras vesiculares están constituidas por lamelas o bicapas lipídicas concéntricas que encierran un interior acuoso. Las vesículas multilamelares (MUV), que son las vesículas utilizadas en este trabajo, fueron descubiertas en 1965 por Bangham [30]. El método de preparación de este tipo de vesículas es el conocido método de dispersión simple [31], que consiste en la hidratación de una película lipídica previamente formada por evaporación de una disolución de lípidos en un disolvente orgánico. Para ello se prepararon diversas disoluciones de DODAB:DOPC (50:50) en cloroformo con concentración lipídica total de  $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  añadiendo distintas cantidades de ceramida. La evaporación del cloroformo se realizó mediante una corriente de  $\text{N}_2$  (g) y la hidratación de la película, para la formación de MUV, se realizó con agua a una temperatura superior al punto de fusión de la ceramida ( $\sim 90^\circ\text{C}$  [29]) mediante agitación con ayuda de un vórtex. Habitualmente este tipo de vesículas se extruyen para la obtención de vesículas unilamelares, pero en este caso no interesa realizar ese proceso por dos motivos: por un lado, durante el proceso de extrusión podrían ocurrir fenómenos de precipitación de la ceramida y por otro, las MUV ofrecen más ventajas que las unilamelares ya que hay mayor cantidad de membrana donde incorporar ceramida para un mismo volumen de lípido.

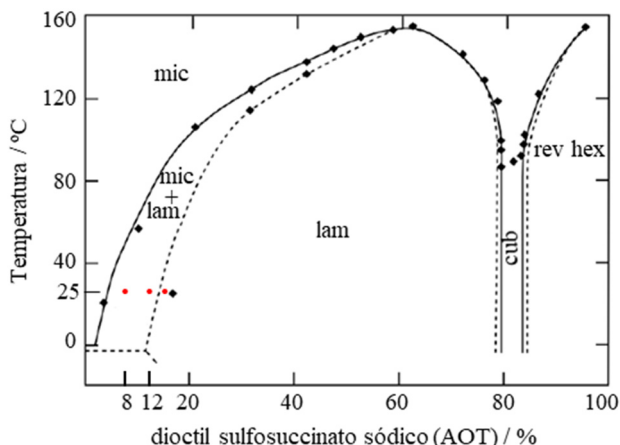
La Tabla 7.4 recoge las condiciones optimizadas de esta plataforma de encapsulación, donde se observa que se consiguió aumentar un 0.02 wt% el contenido de ceramida en la formulación respecto de las micelas esféricas, pero dicho contenido es considerablemente menor que el resultado obtenido cuando se usaron micelas cilíndricas. Para intentar aumentar el contenido de ceramid se pensó que el siguiente paso era aumentar el número de lamelas disponibles para la inclusión de la ceramida, recurriendo para ello al uso de fases lamelares.

**Tabla 7.4.** Tabla resumen de la cantidad máxima de ceramida solubilizada usando vesículas.

$c$ DODAB / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$c$ DOPC / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$c$ ceramida		H <sub>2</sub> O / %
		wt%	$c / 10^{-3}$ mol %	
0.5	0.5	0.048	1.53	98.85

### 7.1.4. FASES LAMELARES

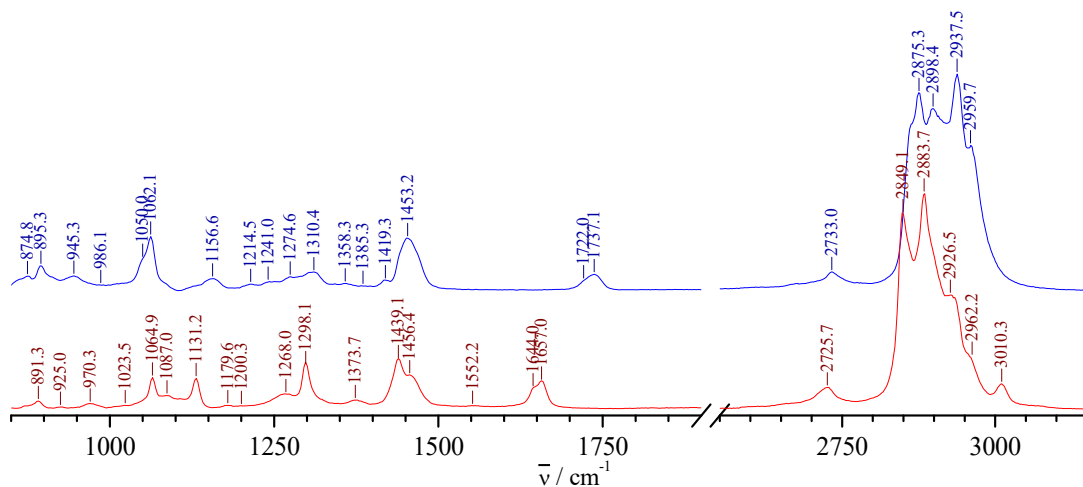
Para el diseño de las fases lamelares se ha empleado el dioctil sulfosuccinato sódico (AOT) ya que presenta un diagrama de fases binario agua-AOT donde predomina este tipo de estructuras autoensambladas incluso en condiciones donde tanto la concentración de tensioactivo como la temperatura son bajas (ver Figura 7.3) [32]. El AOT es un tensioactivo ampliamente estudiado en la literatura que presenta unas propiedades hidrófilas e hidrófobas ambivalentes que le permiten autoensamblarse tanto en presencia de disolventes polares como apolares [33]. Además, presenta una ventaja adicional que es su biocompatibilidad, ya que se emplea como aditivo en la industria alimentaria (E480) y como laxante en la industria farmacéutica. De acuerdo con el enfoque que ha adquirido esta tesis hacia la biocompatibilidad en el diseño de nuevas formulaciones cosméticas, este tensioactivo se convierte en un recurso prometedor para el diseño de nuevas formulaciones.



**Figura 7.3.** Diagrama de fases binario agua-AOT donde se observa una fase micelar (mic); una fase de coexistencia de micelas y lamelas (mic+lam); una fase lamelar (lam), que es la predominante; una fase bicontinua cúbica (cub) y una fase hexagonal inversa (rev hex) [32, 34]. Los puntos rojos indican las condiciones de concentración y temperatura estudiadas.

El procedimiento de preparación de las fases lamelares es similar al protocolo seguido para la preparación de disoluciones micelares, empleando una relación H<sub>2</sub>O:IPA de 97:3. Sin embargo, aunque en este caso no es necesario adicionar el agua a temperatura elevada, sí es conveniente para acelerar la disolución del tensioactivo. Inicialmente se trabajó con dos concentraciones de tensioactivo pertenecientes a la región de coexistencia entre disolución micelar y fase lamelar (8 wt% y 12 wt%) y otra concentración en el límite entre esta región y la región de formación de fases lamelares (15 wt%). En todos los casos se consiguió solubilizar hasta un 4 wt% de ceramida, pero el envejecimiento de las muestras conllevó la difusión de la ceramida hacia el exterior de la fase lamelar, por lo que ha sido preciso realizar un estudio de composición de las muestras para comprobar la homogeneidad de las mismas y esclarecer cuál es el límite de solubilidad de la ceramida en este sistema. Es por ello que se ha realizado un análisis de las muestras por microscopía Raman confocal mediante la elaboración de mapas Raman.

Previamente a la elaboración de los mapas, es necesario conocer el espectro Raman de los componentes de manera individual para así comprobar si es posible diferenciarlos. La Figura 7.4 recoge los espectros Raman correspondientes a la ceramida y al AOT medidos en estado sólido con el objetivo de 20x/0.45, usando el láser de excitación de  $\lambda=532$  nm; una red de difracción de 600 líneas; pinhole de 100  $\mu\text{m}$ ; tiempo de exposición 30 s y 10 acumulaciones. La asignación de bandas de estos espectros puede encontrar en la Tabla 7.5. Una primera visión de los mismos permite confirmar la existencia de dos bandas significativas, completamente diferenciadas entre ambos componentes, que aparecen a desplazamientos Raman en el intervalo 1640-1750  $\text{cm}^{-1}$ . En referencia a la ceramida, en esta región aparece la banda amida I que corresponde a la tensión C=O a 1644  $\text{cm}^{-1}$  y la tensión C=C a 1657.7  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la insaturación en posición *cis* de la esfinganina. Por otro lado, en el espectro del AOT, el cual presenta dos grupos éster en su estructura, aparecen dos tensiones C=O a 1722.0  $\text{cm}^{-1}$  y 1737.1  $\text{cm}^{-1}$ , siendo la primera la tensión del carbonilo más próximo al grupo sulfonato. Si se observa con más detenimiento



**Figura 7.4.** Espectros Raman obtenidos para la ceramida (en rojo) y el AOT (en azul) en estado sólido, adquiridos usando un láser de excitación con  $\lambda=532$  nm.

el espectro, se pueden diferenciar otras bandas significativas como aquellas que son debidas a las tensiones de los metilos y metilenos de ambos componentes ( $2800-3050$   $\text{cm}^{-1}$ ), a la tensión C-OH del alcohol secundario de la ceramida ( $1131.2$   $\text{cm}^{-1}$ ) o la deformación C=CH en el plano ( $1298.1$   $\text{cm}^{-1}$ ) de la misma.

**Tabla 7.5.** Bandas observadas en Raman para la ceramida *Cer(d18:0/18:1(9Z))* y el AOT a  $25^\circ\text{C}$  [35-37].

CERAMIDA		AOT	
$\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Asignación	$\tilde{\nu} / \text{cm}^{-1}$	Asignación
891.3	Balanceo de $\text{CH}_3$	874.8, 895.3, 945.3	$\sigma(\text{C-C})$
925.0	$\sigma(\text{C-C})$		
970.3	$\delta(\text{C-H})$ de $\text{C}=\text{C-H}$ fuera del plano		
1023.5	$\sigma(\text{C-C})$	1050, 1062.1	$\sigma_{\text{simétrica}}(\text{SO}_3)$
1064.9	$\sigma(\text{C-O})$ alcohol primario		
1087.0	$\sigma(\text{C-C})$ alquil desordenado		
1131.2	$\sigma(\text{C-O})$ alcohol secundario	1156.6	$\sigma_{\text{simétrica}}(\text{C-O-C})$
1179.6	$\delta(\text{CH}_2)$		
1268.0	Amida III ( $\sigma(\text{C-N})$ )	1214.5	$\sigma_{\text{asimétrica}}(\text{SO}_3)$
1298.1	$\delta(\text{C}=\text{CH})$ en el plano	1241, 1274.6	$\sigma_{\text{asimétrica}}(\text{C-O-C})$
1373.7	Cabeceo $\text{CH}_2$ fuera del plano	1358.3, 1385.3	$\delta(\text{CH}_2)$
1439.1	Tijera $\text{CH}_2$	1419.3	$\delta(\text{CH}_2)$ adj. a éster
1456.4	Tijera $\text{CH}_2$	1453.2	$\delta_{\text{deformación}}(\text{CH}_2)$
1552.2	Amida II ( $\delta(\text{NH}_2)$ )		

1644.0	Amida I ( $\sigma(\text{C}=\text{O})$ )		
1657.7	$\sigma(\text{C}=\text{C})$		
		1722.0	$\sigma(\text{C}=\text{O})$ próx. a $\text{SO}_3$
		1737.1	$\sigma(\text{C}=\text{O})$
2725.7	Sobretono $\text{CH}_2$	2733.0	$2x \delta(\text{CH}_2)$
2849.1	$\sigma_{\text{simétrica}}(\text{CH}_2)$	2875.3	$\sigma_{\text{simétrica}}(\text{CH}_2)$
2883.7	$\sigma_{\text{simétrica}}(\text{CH}_3)$	2898.4	$\sigma_{\text{simétrica}}(\text{CH}_3)$
2926.5	$\sigma_{\text{asimétrica}}(\text{CH}_2)$	2937.5	$\sigma_{\text{asimétrica}}(\text{CH}_2)$
2962.2	$\sigma_{\text{asimétrica}}(\text{CH}_3)$	2959.7	$\sigma_{\text{asimétrica}}(\text{CH}_3)$
3010.3	$\sigma(=\text{CH})$		

Los mapas Raman de las mezclas estudiadas se han realizado en las mismas condiciones que los compuestos puros, exceptuando los tiempos de exposición y las acumulaciones. Puesto que los mapas Raman implican la adquisición de un gran número de espectros, estos se han realizado con un único barrido y se han utilizado tiempos de exposición bajos y variables dependiendo de las condiciones de cada mapa. Como todas las muestras anteriormente citadas presentaban el mismo comportamiento, se ha trabajado con las mezclas de menor concentración de AOT (8-12 wt%) para reducir así el contenido de tensioactivo en la formulación. La Tabla 7.6 recoge un resumen de las muestras que se han analizado, los mapas que se han realizado en cada muestra y las condiciones de medida de dichos mapas. En esta sección se van a mostrar únicamente los resultados obtenidos para dos muestras en las que quedan reflejados los dos comportamientos posibles: sistemas en los que la concentración de ceramida es demasiado alta y una parte de esta difunde al exterior de la fase lamelar (8 wt% AOT + 2 wt% ceramida), y sistemas en los que la

**Tabla 7.6.** Recopilación de los mapas Raman realizados para las distintas mezclas de AOT-ceramida indicándose las condiciones experimentales de los mapas.

$c_{\text{AOT}} / \text{wt}\%$	$c_{\text{Ceramida}}$		Mapa	Tamaño del mapa / $\mu\text{m}$	Número de puntos	$t_{\text{exposición}} / \text{s}$
	wt%	$c / 10^{-2} \text{ mol}\%$				
8	1	3.5	1	100x100	105x100	2
			2	100x100	105x100	2
			3	50x50	52x50	0.7
	2	7.2	1	100x100	105x100	0.5
			2	200x72	98x36	1
12	1	3.7	1	100x100	105x100	4
			2	50x50	52x50	4
	1.5	5.6	1	100x100	105x100	0.9
			2	100x100	105x100	0.9
			3	100x100	105x100	0.9

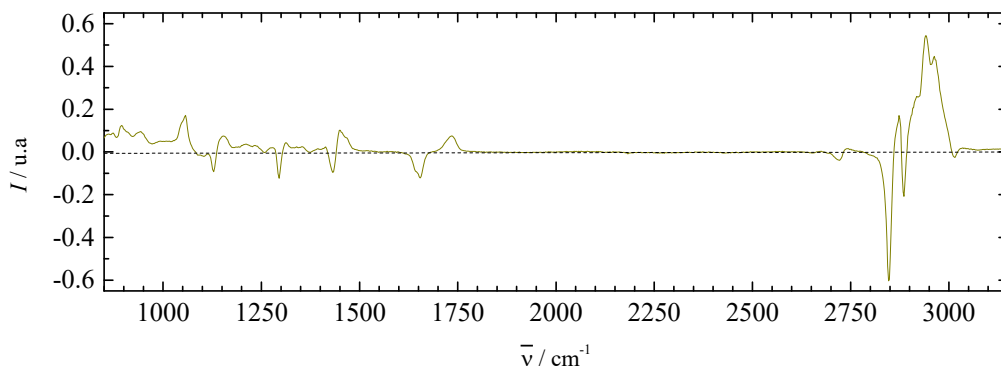
dispersión de la ceramida es completa y homogénea (8 wt% AOT + 1 wt% ceramida), es decir, la ceramida está completamente encapsulada. El resto de resultados se recogen en un apéndice en la sección 7.4.

El tratamiento de los mapas que se va a mostrar a continuación se ha llevado a cabo empleando un paquete informático de análisis diseñado en el Centro de Espectroscopía y Correlación. Este tratamiento consiste en extraer de cada punto del mapa la contribución de los componentes puros al espectro. El método desarrollado emplea un algoritmo conocido como “Dewiggle” [38] que busca el factor de contribución de cada componente al espectro. El algoritmo Dewiggle, postulado en 1991 por Banerjee y Li, permite extraer información del espectro de un componente dentro de una mezcla. Es un método que no requiere que una señal de la mezcla se asocie exclusivamente a cualquier banda del espectro puro, es decir, no muestra restricciones en relación a la superposición de bandas. El algoritmo consta de los siguientes pasos:

1. Se multiplica el espectro de uno de los componentes puros por un factor de prueba.
2. Se halla la resta entre este espectro y el espectro mezcla del punto en estudio
3. Se halla el valor absoluto del espectro resta
4. Se halla la integral y se calcula el área, obteniéndose así el par (factor, área).
5. Se repite el proceso con otros factores hasta que se obtiene el valor mínimo de área. Cabe mencionar que para optimizar la búsqueda del factor que minimiza el área se ha utilizado el método de minimización de Brent [39].

En este procedimiento se realiza para cada componente por separado y en cada uno de los puntos del mapa Raman, obteniéndose así el factor de contribución de cada componente al espectro. La ventaja de este método es que considera cada componente por separado dentro de la mezcla, lo cual elimina la incertidumbre progresiva de las restas que requieren otros métodos [38]. Por otro lado, el método de Brent es un algoritmo de minimización que combina la interpolación cuadrática inversa y los métodos de bisección y de la secante, dando lugar a respuestas más rápidas y precisas que empleando únicamente la bisección. Cabe mencionar que en ocasiones la suma de los factores de los componentes puros obtenidos del espectro mezcla no alcanza el 100 % o incluso puede superarlo. Esto se debe a que el algoritmo subestima o sobreestima la contribución de los espectros de los componentes puros al espectro mezcla como consecuencia del ruido de este último, de la línea base o de la dispersión.

Para localizar el intervalo o intervalos en los que el cálculo de los factores es más eficiente se han restado entre sí los espectros de los componentes puros (Figura 7.5). En el *espectro resta* se observan zonas que exhiben claras diferencias, lo que permite obtener información independiente de las contribuciones de cada componente al espectro (aparición de bandas con intensidad positiva y negativa en el espectro resta). Aunque el cálculo de los factores se puede realizar con todo el espectro, teniendo en cuenta la intensidad de las bandas correspondientes a las tensiones CH ( $2600\text{-}3150\text{ cm}^{-1}$ ) esta región se convierte en la mejor candidata para el cálculo de los factores ya que presenta una mayor relación señal/ruido que el resto del espectro y no exhibe problemas de línea base.



**Figura 7.5.** Espectro resta de los componentes puros ceramida y AOT.

Una vez delimitada la región del espectro con interés para el cálculo de los factores de cada componente, se ha realizado el cálculo en cada punto de los mapas Raman. Tras esto, se han generado imágenes de cada mapa en las que se muestra el factor de cada componente en cada uno de los puntos, asignándose para ello, al igual que en la Figura 7.4, el color rojo para la ceramida pura y el azul para el AOT puro. La escala de color en estos mapas va desde negro para un factor igual a cero hasta rojo o azul para factor igual a uno. Además, se ha generado una imagen donde en cada punto del mapa se representa, en su color, el factor del componente que contribuye mayoritariamente al espectro en dicho punto. Es importante reseñar que el hecho de que la imagen refleje el color correspondiente al componente mayoritario, no excluye la presencia del otro componente en dicha región de la muestra. Para cada mapa se ha calculado el histograma de los factores de contribución de cada componente. Estos histogramas permiten evaluar cuánto contribuye cada componente al espectro en distintas regiones de la muestra, lo que proporciona una idea de la posible heterogeneidad en la distribución de los componentes en la muestra. El cálculo de los histogramas se ha realizado utilizando un espaciado entre los factores de 0.01 y se ha normalizado el área ocupada por cada factor por el número total de puntos del mapa, obteniéndose de este modo histogramas en los que se muestra el porcentaje de área<sup>3</sup> ocupado por un determinado factor.

La Figura 7.6 recoge el estudio realizado para la mezcla 8wt% AOT + 1 wt% ceramida. En ella se muestra la imagen óptica (Figura 7.6.A) obtenida para la muestra estudiada, que permite observar la morfología microscópica que adquiere la muestra tras la evaporación del disolvente. Sería esperable que la aparición de microdominios en la imagen óptica fuese indicativa de la existencia de segregación entre los componentes. En particular, para el sistema estudiado, la aparición de dominios en la morfología observada en la imagen óptica incita a pensar que la ceramida ha difundido al exterior de la estructura autoensamblada. Para profundizar en dicha fenomenología se realizaron mapas Raman en distintas zonas de la muestra tal y como se indica en la Figura 7.6.A. Los espectros Raman mostrados en la Figura 7.6.B, extraídos de los puntos marcados en la Figura 7.6.A, no evidencian diferencias significativas entre ellos, lo que parece indicar que los microdominios observados en la imagen óptica no son el resultado de un exceso de ninguno de los

<sup>3</sup> % área:  $(n \cdot n_T^{-1}) \cdot 100$ , donde  $n$  es el número de puntos del mapa que tienen un mismo factor (dentro del espaciado fijado de 0.01) y  $n_T$  el número total de puntos del mapa.

componentes. El análisis cualitativo de los espectros (Figura 7.6.B) indica una mezcla de ambos componentes donde se observan bandas que corresponden a ambos componentes. Prestando atención a las bandas que aparecen en el intervalo de desplazamientos Raman  $1600-1800\text{ cm}^{-1}$ , se observa claramente una contribución mayoritaria del AOT en concordancia con su concentración 8 veces superior, lo que es señal de una distribución homogénea de ambos componentes a lo largo de toda la muestra.

Analizando en detalle los mapas Raman obtenidos en las distintas zonas se observa que, para las imágenes generadas para cada componente en el mapa 1 (Figura 7.6.C), la distribución de ceramida y AOT es prácticamente homogénea a lo largo de todo el mapa ya que no existen variaciones significativas en la gradación del color asignado a cada componente. La imagen *mezcla*, generada con el factor del componente que contribuye mayoritariamente al espectro en cada uno de los puntos del mapa (Figura 7.6.D), muestra un color azul sobre toda la muestra evidenciando la contribución mayoritaria del AOT. La homogeneidad de la distribución de ambos componentes y su proporción relativa sobre la muestra estudiada quedan más claras si se observan los perfiles de factores mostrados en la Figura 7.6.D. Dichos perfiles no muestran variaciones significativas en los valores de los factores de la ceramida y el AOT a lo largo de la muestra, adquiriendo valores entorno a 0.2 y 0.8, respectivamente. Similar conclusión es extraída del análisis del histograma obtenido (Figura 7.6.E), donde se observa la aparición de dos distribuciones factor-área simétricas, separadas y relativamente estrechas con los máximos coincidentes con los valores medios de los factores de cada componente. De nuevo el hecho de que los histogramas de los dos componentes estén completamente separados evidencia que la composición en la zona estudiada es homogénea, permitiendo descartar la segregación de los componentes. El análisis del mapa 2 (Figura 7.6.F-G-H) presenta un comportamiento equivalente al encontrado para el mapa 1. En el caso del mapa 3 (Figura 7.6.I-J-K), aunque la información obtenida es cualitativamente análoga a la obtenida del análisis de los mapas 1 (Figura 7.6.C-D-E) y 2 (Figura 7.6.F-G-H), el menor tiempo de exposición (ver Tabla 7.6) utilizado para la adquisición de dicho espectro conduce a una peor relación señal/ruido, resultando en la subestimación de la contribución de cada componente al espectro. Es importante reseñar que a pesar de dicha subestimación, la relación entre la contribución de los dos componentes no se ve prácticamente modificada, manteniéndose próxima a un valor de 4.

El aumento del contenido en ceramida provoca modificaciones en el comportamiento de las mezclas. En la Figura 7.7 se recoge el estudio realizado para la mezcla 8 wt% AOT + 2 wt% ceramida. Las imágenes ópticas mostradas en la Figura 7.7.A exhiben diferencias significativas en los microdominios observados con relación a las imágenes obtenidas cuando el contenido en ceramida era del 1 wt%. El aumento del contenido en ceramida provoca una distribución más heterogénea de los microdominios a lo largo de la muestra, presentando estos un mayor tamaño. De nuevo, sobre la imagen óptica se muestran los mapas Raman obtenidos en dos zonas distintas de la muestra. En este caso, los mapas Raman se realizaron en zonas donde se observaba claramente la heterogeneidad de la muestra, la cual queda evidenciada por la aparición de microdominios en la imagen óptica (Figura 7.7.A). De igual manera que para los mapas mostrados en la Figura 7.6.A, la Figura 7.7.B recoge los espectros Raman extraídos de los puntos marcados en la imagen óptica (Figura 7.7.A). Los tres espectros mostrados en la Figura 7.7.B evidencian claramente la heterogeneidad composicional de la muestra objeto de estudio. Mientras que en los espectros correspondientes a las zonas 1 y 3 se ve claramente la coexistencia de ceramida y AOT, en la zona 2 el espectro coincide en gran medida con la ceramida pura



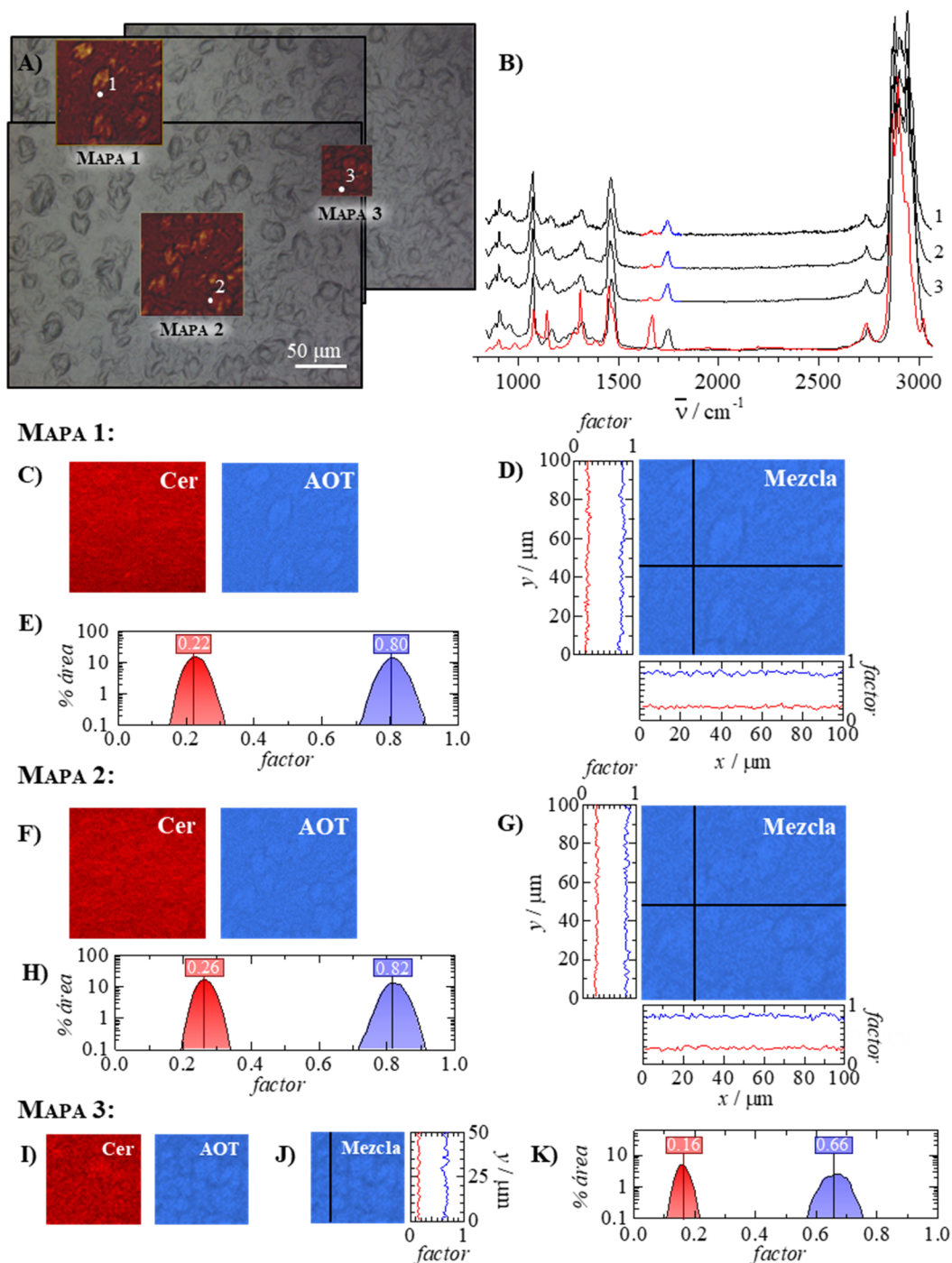
El análisis de las imágenes generadas a partir del mapa 1 para cada componente (Figura 7.7.C) muestran que en la mayor parte de la superficie de la muestra, la cantidad de ceramida es relativamente reducida (color rojo oscuro) mientras que el AOT se encuentra en mayor proporción (color azul). Sin embargo, en la región del mapa correspondiente con la presencia de un microdominio aparece un aumento de la intensidad del color rojo asignado a la ceramida, lo que evidencia un aumento en su contribución. El efecto contrario es observado en la imagen correspondiente al AOT donde se observa una zona de mínima intensidad. Esto queda más claro del análisis de la imagen *mezcla* (Figura 7.7.D), donde se observa claramente que en el microdominio la ceramida se convierte en el componente mayoritario, siendo minoritario en el resto del mapa. Es importante volver a remarcar que el hecho de que un componente sea mayoritario en un determinado punto no excluye la presencia del otro componente en dicho punto, tal y como se puede observar en el perfil horizontal de factores (Figura 7.7.D). Del perfil de factores se puede extraer la conclusión de que la presencia de un microdominio implica el aumento de la contribución de la ceramida. El efecto observado es incluso más acusado al analizar el mapa 2 (Figura 7.7.F-G-H).

Los histogramas obtenidos para la muestra con 2 wt% de ceramida (Figura 7.7.E y Figura 7.7.H) no se asemejan a los histogramas mostrados para la mezcla con 1 wt% de ceramida (Figura 7.6.E, H y K). En este caso las distribuciones pierden la simetría por la aparición de colas (hacia la derecha para la ceramida y hacia la izquierda para el AOT), lo que evidencia que en pequeñas zonas del mapa, coincidentes con la existencia de microdominios, la ceramida se convierte en el componente mayoritario en la mezcla. No obstante, en el resto del mapa el AOT es el componente mayoritario, por lo que el máximo de la distribución está en factores entorno a 0.5 para el AOT y para la ceramida en 0.2. De estos resultados es posible asumir que el aumento de la concentración de ceramida provoca la formación de zonas de acumulación de dicho componente, generando una gran heterogeneidad composicional en la muestra.

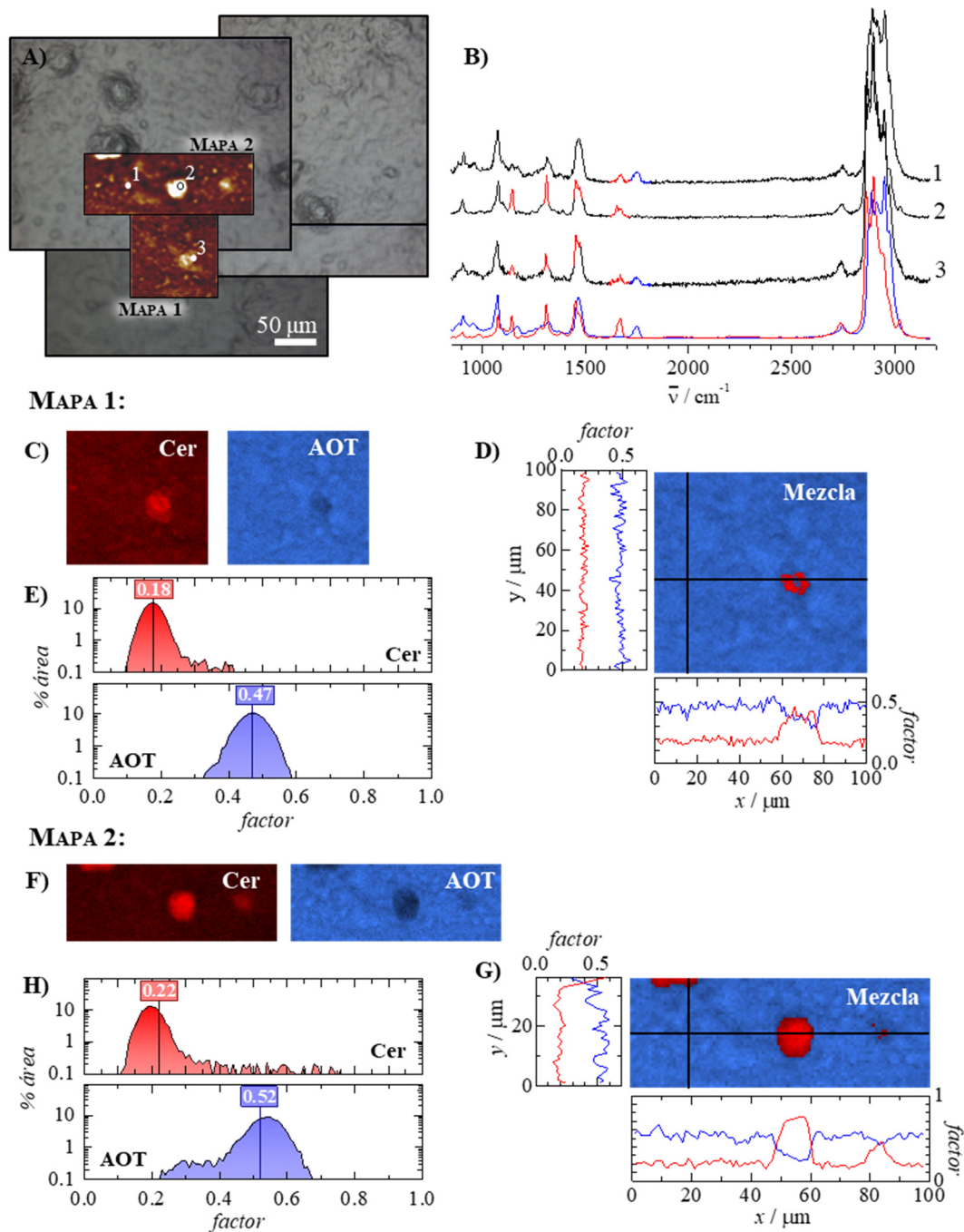
Resultados análogos a los obtenidos con un 2 wt% de ceramida fueron encontrados cuando se redujo la cantidad a un 1.5 wt%, lo que permite concluir que la máxima cantidad de ceramida que es posible solubilizar para esta concentración de tensioactivo es inferior al 1.5 wt%.

En el apéndice de este capítulo (sección 7.4.) se muestran los resultados obtenidos para un estudio análogo al discutido anteriormente usando una concentración de AOT del 12 wt%, y diferentes cantidades de ceramida en el intervalo 1-1.5 wt%, como quedaba reflejado en la Tabla 7.6. Los resultados obtenidos son semejantes a los discutidos para el sistema 8 wt% AOT + 1 wt% ceramida. Teniendo esto en cuenta, es posible concluir que para una concentración de AOT del 12 wt% es posible aumentar ligeramente la cantidad de ceramida solubilizada hasta al menos el 1.5 wt%.

Finalmente, se debe mencionar que tras nueve meses de envejecimiento de las muestras, se encontró que para el sistema 8 wt% AOT + 1 wt% ceramida aparecían evidencias de pérdida de homogeneidad de la muestra, mientras que cuando la concentración de AOT se aumentó hasta el 12 wt% de AOT, la muestra con la misma cantidad de ceramida se mantuvo estable. Esto puede tener sus implicaciones para la industria cosmética dado que es conocida la necesidad de que los productos cosméticos permanezcan estables durante el periodo de almacenamiento (hasta dos años), por lo que el sistema con 12 wt% de AOT se convierte en el mejor candidato tanto por su estabilidad como por la cantidad de ceramida solubilizada.



**Figura 7.6.** Estudio Raman de la mezcla 8 wt% AOT + 1 wt% ceramida. A) Imagen óptica indicando los mapas Raman que se han realizado. B) Espectros de los puntos indicados en la imagen óptica. C-F-I) Imágenes generadas con los factores de cada componente. D-G-J) Imagen generada con los factores del componente que contribuye mayoritariamente al espectro y perfiles de factor. E-H-K) Histograma normalizado que representa el número de puntos que tiene un factor determinado.



**Figura 7.7.** Estudio Raman de una mezcla que contiene 8 wt% AOT + 2 wt% cerámica. A) Imagen óptica indicando los mapas Raman que se han realizado. B) Espectros de los puntos indicados en la imagen óptica. C-F) Imágenes generadas con los factores de cada componente. D-G) Imagen generada con los factores del componente que contribuye mayoritariamente al espectro y perfiles de factor. E-I) Histograma normalizado que representa el número de puntos que tiene un factor determinado.

## 7.2. SISTEMAS TIPO B: *nanoemulsiones y microemulsiones*

En esta tesis se han estudiado unas emulsiones que lejos quedan de parecerse a las emulsiones convencionales. Estas últimas, además de requerir alta energía para su formación, sufren procesos de desestabilización tales como sedimentación o cremado, floculación, Ostwald ripening (desproporción), coalescencia e inversión de fases [40], mientras que las emulsiones aquí estudiadas se forman espontáneamente y no sufren ese tipo de desestabilización, ya que si bien las microemulsiones son termodinámicamente estables, la gran estabilidad con el tiempo de las nanoemulsiones las hacen únicas y a veces se hace referencia a ellas como una “aproximación a la estabilidad termodinámica” [41].

### 7.2.1. NANOEMULSIONES

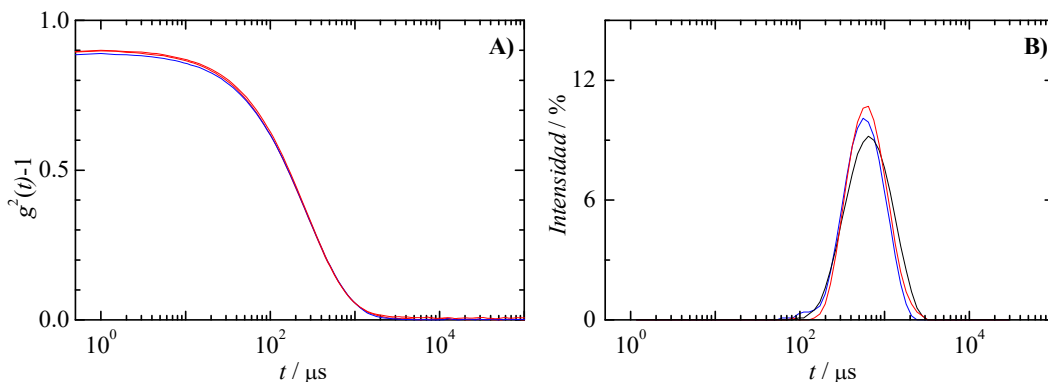
Las nanoemulsiones cosméticas de tipo O/W generalmente se preparan a partir de una fase oleosa por adición de una fase acuosa que contenga el agente emulsificante. La emulsión original es de tipo W/O que evoluciona lentamente en una emulsión O/W/O por adición de una pequeña cantidad de agua (10-20%) y agitación suave durante varias horas, hasta alcanzar una emulsión normal tipo O/W tras la dilución final hasta la composición deseada con agua a temperatura elevada [42]. Este método de preparación se conoce como “inversión de fase por temperatura” (PIT) ya que la transición W/O a O/W se realiza a temperaturas elevadas y una vez alcanzada la inversión de fase se realiza el enfriamiento. Se trata de un proceso de preparación lento, pero la ventaja que presenta es que no requiere la aplicación de energías mecánicas elevadas para la obtención de las emulsiones finales. Es importante que la incorporación de la ceramida a la formulación se realice en la fase inicial, es decir, se debe disolver en el aceite para posteriormente realizar la PIT.

Los tensioactivos etoxilados son buenos candidatos para este tipo de emulsiones por su sensibilidad a la temperatura, ya que su carácter hidrofóbico se ve disminuido con el aumento de la temperatura [43]. Por ello, el emulsificante utilizado en los estudios realizados en este capítulo es el tensioactivo Tween 80 que contiene veinte óxidos de etileno en su estructura y se utiliza frecuentemente como aditivo alimentario (E-433). Por otro lado, como fase oleosa se ha empleado ácido oleico (AO) ya que es uno de los ácidos grasos del estrato córneo [44] y puede favorecer la penetración de las gotas de emulsión con principios activos solubilizados a través de la piel.

Previamente a la encapsulación de los principios activos, se realizó un estudio de las nanoemulsiones modificando el contenido en agua y emulsificante manteniendo siempre fija la relación Tween 80:AO en 1:1. Tras este estudio se llevó a cabo el proceso de encapsulación de ambos principios activos: la ceramida y el minoxidil.

#### 7.2.1.1. CARACTERIZACIÓN

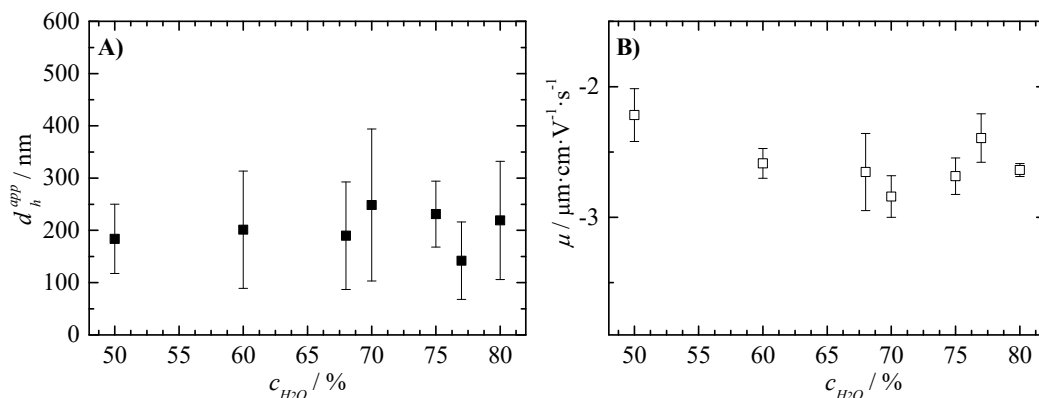
La Figura 7.8 recoge las funciones de autocorrelación de intensidades obtenidas por DLS, y las respectivas distribuciones de intensidades obtenidas de su análisis, para tres nanoemulsiones con distinto contenido de agua. En ella se puede observar que las funciones de autocorrelación decaen a tiempos largos y son similares para los tres casos representados. Por su parte, las distribuciones de intensidades son considerablemente



**Figura 7.8.** Estudio por DLS de distintas nanoemulsiones preparadas: A) Funciones de autocorrelación de intensidades. B) Distribuciones de intensidades. — 50 % H<sub>2</sub>O — 60 % H<sub>2</sub>O — 70 % H<sub>2</sub>O.

anchas y semejantes, lo que indica que las gotas son bastante polidispersas, pero que el contenido en agua no es un factor relevante en el tamaño de las gotas obtenidas. Esto es debido a que a pesar de tener concentraciones distintas de agua, tensioactivo y fase oleosa, la relación entre tensioactivo:aceite es constante y por tanto no se modifica significativamente el empaquetamiento de las gotas pero sí la cantidad de estas.

Un análisis más detallado de estas nanoemulsiones se recoge en la Figura 7.9, donde se muestra el diámetro hidrodinámico aparente, calculado a partir del coeficiente de difusión obtenido por DLS, con su correspondiente anchura a media altura de la distribución de tamaños (Figura 7.9.A), así como la movilidad electroforética (Figura 7.9.B). En ella se observa que tanto el diámetro hidrodinámico aparente como la movilidad electroforética se mantienen constantes en todo el intervalo de concentraciones de agua. Los resultados indican que las gotas son considerablemente grandes ( $200 \pm 100$  nm) y que por su tamaño parece que se encuentran en el límite del *término nanoemulsión*. Además, atendiendo a los



**Figura 7.9.** Nanoemulsiones Tween 80:AO (1:1). A) Dependencia del diámetro hidrodinámico aparente  $d_h^{app}$ , calculado por el análisis CONTIN de los datos, con la concentración de agua en la nanoemulsión. B) Dependencia de la movilidad electroforética con la concentración de agua en la nanoemulsión, equivalente a  $\zeta = -30 \pm 2$  mV.

valores de movilidad electroforética, estas presentan carga neta negativa equivalente a un potencial zeta de  $-30 \pm 2$  mV. Dado que el tensioactivo es no iónico, esa carga negativa puede proceder del desequilibrio interfacial producido por los iones del agua, donde se induce la adsorción preferencial de iones  $\text{OH}^-$  en la interfase [45, 46], o también podría ser debida a la colocación de las cabezas del ácido oleico disociado en la interfase como consecuencia de la repulsión hidrofílica entre las cabezas del tensioactivo.

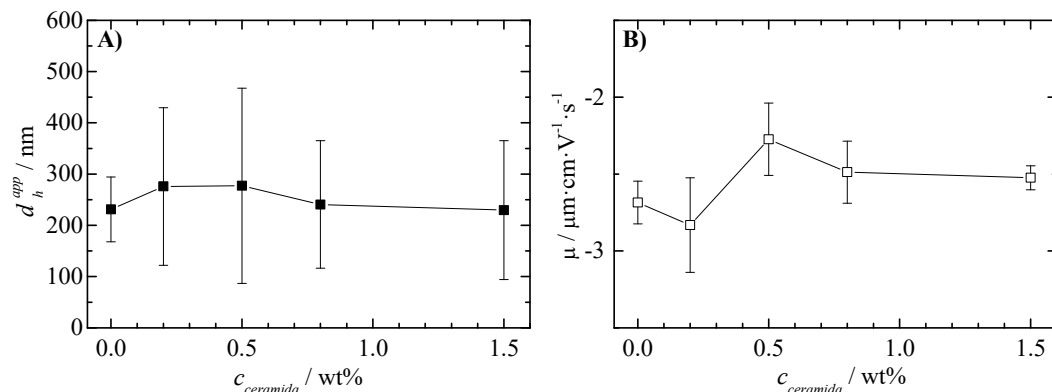
#### 7.2.1.1.1. Nanoemulsiones con ceramida

La Tabla 7.7 recoge la relación de composiciones de las nanoemulsiones estudiadas para la encapsulación de la ceramida. En un principio, se prepararon nanoemulsiones con un contenido de agua del 75 % realizando aumentos progresivos de la concentración de ceramida en la formulación, hasta alcanzar un máximo de solubilización en 1.5 wt%. Una vez obtenida esta referencia se realizaron pruebas con otros contenidos de agua pudiéndose obtener dos afirmaciones: i) cuando se reduce el contenido de agua, es posible incrementar la cantidad de ceramida solubilizada ya que hay mayor cantidad de fase oleosa disponible para la encapsulación; ii) a partir del 75 % en agua, la máxima cantidad de ceramida que se puede llegar a solubilizar es un 1.5 wt%.

**Tabla 7.7.** Relación de concentraciones de las nanoemulsiones con ceramida.

$C_{\text{H}_2\text{O}}$ / %	$C_{\text{ceramida}}$		$C_{\text{Tween 80:AO (1:1)}}$ / Wt%
	wt%	$c / 10^{-3}$ mol%	
75	0.2	0.85	24.8
75	0.5	2.12	24.5
75	0.8	3.39	24.2
75	1.5	6.35	23.5
70	2	8.47	28
77	1.5	6.35	21.5
80	1.5	6.35	18.5

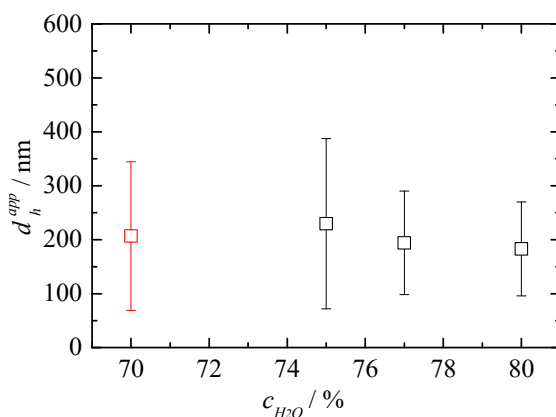
De nuevo, la caracterización de las emulsiones recogidas en la tabla anterior se ha llevado a cabo realizando medidas de movilidad electroforética, para determinar la carga efectiva y la estabilidad de las gotas, y medidas de DLS, para la estimación del tamaño de las mismas. La Figura 7.10.A evidencia que la incorporación de la ceramida a la formulación conduce a un ensanchamiento de la distribución de tamaños, dando lugar a un aumento de polidispersidad de las gotas en relación a las de las nanoemulsiones sin el principio activo. No obstante, no se observa una dependencia del tamaño de las gotas con la concentración de ceramida solubilizada. Por otro lado, los valores de movilidad electroforética (Figura 7.10.B) permanecen prácticamente constantes en las condiciones estudiadas.



**Figura 7.10.** Caracterización de las nanoemulsiones con un contenido en agua del 75 % y concentraciones crecientes de ceramida. A.) Dependencia del diámetro hidrodinámico aparente  $d_h^{app}$ , calculado por el análisis CONTIN de los datos, con la concentración de ceramida. B) Dependencia de la movilidad electroforética con la concentración de ceramida.

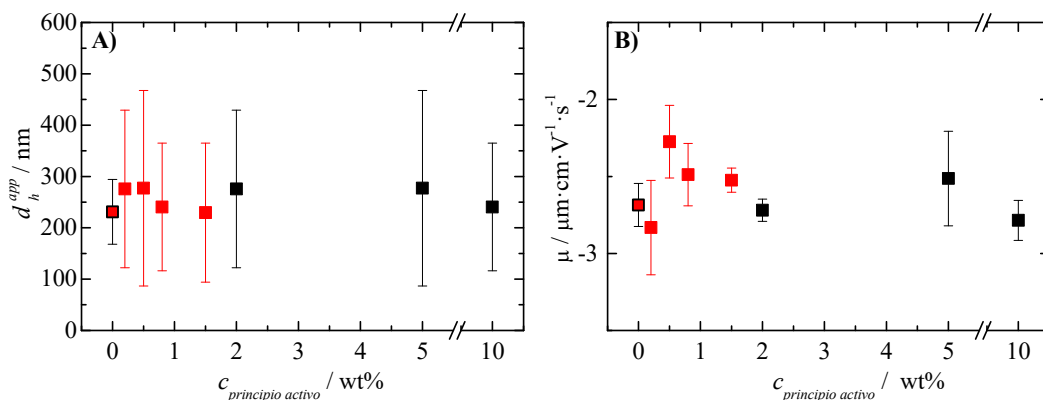
Por último, para determinar si el comportamiento es igual en todos los casos, la Figura 7.11 muestra la dependencia del tamaño de distintas nanoemulsiones con ceramida en función del contenido de agua de la formulación, pudiéndose concluir la no dependencia del tamaño de las gotas con la concentración de ceramida introducida.

Siguiendo un procedimiento análogo al desarrollado para la ceramida, se ha explorado la encapsulación del minoxidil, manteniendo constante el contenido de agua al 75 % y la relación Tween 80:OA (1:1). La Figura 7.12 recoge una comparación de la dependencia del tamaño de las gotas de la nanoemulsión con la concentración de ambos principios activos, así como la movilidad electroforética de dichas gotas. Como se puede observar, la máxima cantidad de minoxidil encapsulado es 6.6 veces superior a la cantidad de ceramida, pero el tamaño de las gotas no se ve modificado significativamente, ni tampoco la movilidad electroforética. De nuevo se puede confirmar que no existe una dependencia del tamaño de



**Figura 7.11.** Dependencia del diámetro hidrodinámico aparente  $d_h^{app}$ , calculado por el análisis CONTIN de los datos, con el contenido en agua  $\square$  nanoemulsiones con 1.5 wt% de ceramida  $\square$  nanoemulsiones con 2 wt% de ceramida

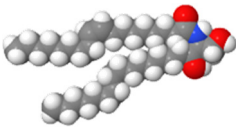
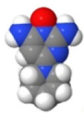
las gotas con la cantidad de principio activo encapsulado, puesto que la anchura a media altura de la distribución de tamaños, representada por las barras de error, es equivalente en todos los casos.



**Figura 7.12.** Caracterización de las nanoemulsiones con un contenido en agua del 75 % (m/m) y concentraciones crecientes de principio activo. ■ Nanoemulsiones sin principio activo ■ Nanoemulsiones con ceramida ■ Nanoemulsiones con minoxidil A) Dependencia del diámetro hidrodinámico aparente  $d_h^{\text{app}}$ , calculado por el análisis CONTIN de los datos, con la concentración de principio activo. B) Dependencia de la movilidad electroforética con la concentración de principio activo.

La gran diferencia existente en la concentración encapsulada de ambos principios activos, obliga a plantearse qué está ocurriendo en la nanoemulsión. Por ello, en la Tabla 7.8 se recoge una comparación de las características de ambos principios activos a nivel molecular, así como la cantidad de moléculas que se han conseguido solubilizar en la nanoemulsión y el volumen total que estas ocupan. Como se puede comprobar, el número de moléculas de minoxidil encapsuladas es 18 veces mayor que el número de moléculas de ceramida, pero sólo ocupan un volumen 4.18 veces superior al volumen total ocupado por la ceramida. Si se estimara la concentración de minoxidil equivalente al volumen ocupado por las moléculas de ceramida, esta se reduciría a un 2.40 wt%, que está lejos de la cantidad que se ha conseguido solubilizar. Es por ello que el hecho de que se encapsulen mayor número de moléculas de minoxidil es un indicativo de que, además del volumen molecular, están interviniendo factores estéricos y de solubilidad. Por un lado, el minoxidil, por su estructura, se puede colocar más fácilmente dentro de la gota mientras que la ceramida

**Tabla 7.8.** Características moleculares de la ceramida y minoxidil. Cantidad máxima de moléculas que se han conseguido solubilizar en la nanoemulsión y el volumen total que ocupan.

	<u>CERAMIDA</u>	<u>MINOXIDIL</u>	
	$M_w$ : 565.95 g·mol <sup>-1</sup>	$M_w$ : 209.251 g·mol <sup>-1</sup>	
	$V_{\text{molecular}}$ : 663.45 Å <sup>3</sup>	$V_{\text{molecular}}$ : 153.91 Å <sup>3</sup>	
<hr/>		<hr/>	
	<i>Moléculas encapsuladas</i> : $1.596 \cdot 10^{20}$	<i>Moléculas encapsuladas</i> : $2.878 \cdot 10^{21}$	
	$V_{\text{total moléculas}}$ : $1.06 \cdot 10^{23}$ Å <sup>3</sup>	$V_{\text{total moléculas}}$ : $4.43 \cdot 10^{23}$ Å <sup>3</sup>	



presenta un gran impedimento estérico tanto por su longitud de cadena como por la insaturación que presenta en su estructura.

### 7.2.2. MICROEMULSIONES

En el apartado 7.1 se ha podido comprobar que el papel del IPA es fundamental en la encapsulación de la ceramida. Es por ello que se ha escogido este alcohol como co-tensioactivo para la preparación de las microemulsiones ya que por un lado cumple los requisitos de co-tensioactivo al tratarse de un alcohol de cadena corta, y por otro va a ayudar a predisolver la ceramida tal y como ocurría en las micelas y las fases lamelares. De esta manera, el agente estabilizante o emulsificante va a ser la mezcla tensioactivo:IPA, donde el tensioactivo es el AKYPO. Como fase oleosa se han utilizado dos aceites distintos, el ácido oleico y el aceite de soja, con el objeto de comprobar cuál de ellos favorece más la formación de las microemulsiones y la incorporación de mayores cantidades de ceramida. Uno de los motivos por los que se pretende utilizar el aceite de soja como fase oleosa reside en su habilidad tanto para penetrar en la primera capa del estrato corneo [47] como para mejorar la elasticidad e hidratación de la piel [48].

Para poder identificar la región de microemulsión, ha sido necesario barrer distintas zonas del diagrama de fases *pseudo-ternario*. Cabe mencionar que a pesar de tratarse de una formulación de cuatro componentes, se define como diagrama pseudo-ternario ya que se considera la mezcla AKYPO:IPA como un único componente. Dicho esto, en una primera aproximación se fijó la cantidad de aceite en un 3 wt% y la relación AKYPO:IPA en 3:1, ya que en la literatura se han encontrado microemulsiones para estas condiciones empleando otro tensioactivo [49, 50]. Tras esto se fue variando la concentración de la mezcla AKYPO:IPA hasta llegar a la región de microemulsión, la cual quedaba acotada entre 40-48 wt% para ambos aceites. Una vez localizada esta región, se realizaron modificaciones en la relación AKYPO:IPA (2:1 y 1:2) en ese mismo intervalo para explorar el papel desempeñado por esta mezcla en la aparición de la microemulsión. En relación a la preparación de las microemulsiones es importante reseñar que el orden de adición de los componentes es clave de cara a la futura incorporación de la ceramida a la formulación. Dada la experiencia adquirida en los sistemas estudiados con anterioridad, el primer componente que se debe adicionar es el IPA seguido del aceite. Tras la homogeneización mediante agitación manual de estos dos componentes, se debe añadir el tensioactivo y por último el agua a temperatura ambiente. Finalmente, se agitan con un agitador magnético durante 5 minutos a una velocidad de 300 rpm y se dejan estabilizar durante 24h para asegurar que no se produce la separación de fases. Cuando se incorpora el principio activo a la microemulsión, el protocolo de preparación es el mismo, con la salvedad de que se debe presolubilizar la ceramida en IPA antes de añadir el resto de componentes.

La relación entre las características físico-químicas de una determinada mezcla y su composición se suelen analizar en términos de diagrama de fases. Sin embargo, en los sistemas estudiados se va a analizar un corte del diagrama de fases a temperatura (25°C) y concentración de aceite (3 wt%) constantes. En la Tabla 7.9, se resume la región de microemulsión obtenida para las distintas mezclas estudiadas. Como ya se ha mencionado, para la relación 3:1 de AKYPO:IPA, es posible la obtención de microemulsiones con ambos aceites. En concreto, en el intervalo de concentración total de la mezcla AKYPO:IPA comprendido entre 40-48 wt%, ya que si se reduce la concentración de emulsificante por debajo del 40 wt%, el sistema sale de la región de microemulsión y si se supera el 48 wt%, este se convierte en el componente mayoritario y no tendría sentido definirlo como agente

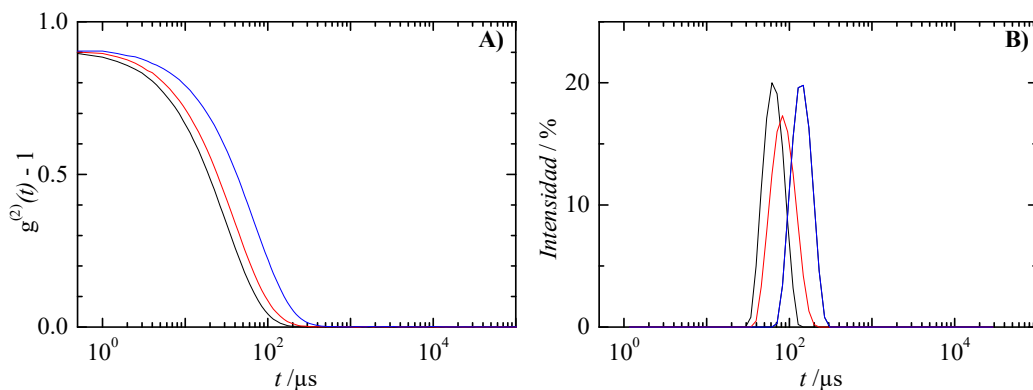
emulsificante. Sin embargo, los resultados muestran que, independientemente del aceite utilizado, para la relación 2:1 de AKYPO:IPA no se ha conseguido localizar la región de microemulsión, lo que implica que con esa relación tensioactivo: co-tensioactivo no se reduce lo suficiente la tensión interfacial  $\gamma_{12}$  para favorecer la formación de microemulsiones. Por otro lado, se puede observar que un aumento significativo de la cantidad de IPA en relación a la de AKYPO (1:2) conduce a la formación de microemulsiones con ácido oleico en un intervalo de concentraciones más elevado que en la relación 3:1, mientras que con aceite de soja se produce la separación de fases. Esto puede implicar que la incorporación del aceite a la región interfacial tiene gran impacto en la estabilización de las gotas. De este modo, el ácido oleico, que presenta un tamaño molecular similar a un tensioactivo convencional, podría ejercer un papel de tensioactivo en la interfase contribuyendo a la estabilización de las microemulsiones. En cambio, el gran tamaño de las moléculas del triglicérido que constituye el aceite de soja dificulta su incorporación a la superficie de la gota entre las moléculas de tensioactivo.

**Tabla 7.9.** Región de microemulsión de los sistemas estudiados.

<i>Fase oleosa</i> (3 wt%)	AKYPO:IPA		Aspecto
	<i>Relación</i>	<i>c / wt%</i>	
Ácido oleico	3:1	40-48	Microemulsión
Aceite de soja	3:1	40-48	Microemulsión
Ácido oleico	2:1	<48	Separación de fases
Aceite de soja	2:1	<48	Separación de fases
Ácido oleico	1:2	38-48	Microemulsión
Aceite de soja	1:2	<48	Separación de fases

La caracterización de las microemulsiones recogidas en la tabla anterior, se ha realizado por DLS para estimar el tamaño de las gotas. A modo de ejemplo, la Figura 7.13 muestra las funciones de autocorrelación de intensidades, y sus correspondientes distribuciones de intensidades, de tres microemulsiones distintas donde se compara el efecto de la concentración de emulsificante.

Como se puede observar, las gotas presentan una función de autocorrelación monomodal que decae a tiempos más cortos que las nanoemulsiones estudiadas en la sección anterior. Además, este tiempo de decaimiento es menor cuanto mayor es el contenido de emulsificante, lo que evidencia un menor tamaño de gota que es asociado a una mayor estabilidad. Este hecho queda más claro si se observan las distribuciones de intensidad, que a su vez demuestran que las gotas presentan un carácter bastante monodisperso. Dado este carácter monodisperso de las gotas, de aquí en adelante se va a realizar la discusión en términos del valor promedio del diámetro hidrodinámico aparente, haciendo referencia a él como tamaño.



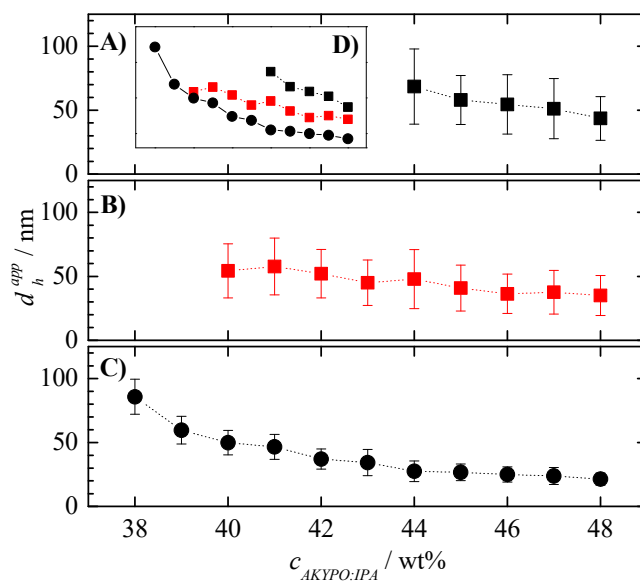
**Figura 7.13.** Comparación por DLS de las microemulsiones de ácido oleico con una relación (1:2) de AKYPO:IPA, siendo distinta la concentración total de emulsificante — 48 wt% — 44 wt% — 41 wt% A) Función de autocorrelación B) Distribución de intensidades de tamaño.

La Figura 7.14 ilustra la variación del tamaño de las gotas de las microemulsiones recogidas en la Tabla 7.9 con la concentración de emulsificante. Los resultados muestran que el tamaño de las gotas oscila entre 20-90 nm, siendo este más pequeño a medida que aumenta la concentración del agente emulsificante (AKYPO:IPA). Esto puede explicarse considerando que uno de los factores más influyentes en el tamaño de las gotas es la densidad de empaquetamiento de las moléculas de tensioactivo en la película interfacial: el aumento de la densidad de empaquetamiento de la película interfacial provoca, por un lado, una mayor reducción de la tensión interfacial, y por otro lado aumenta la rigidez de la monocapa, lo que conduce tanto a un menor tamaño de la gota. Dichos efectos favorecen claramente la reducción de la energía libre de Gibbs y por consiguiente aumenta la estabilidad de las microemulsiones. Además, cabe destacar la importancia de la temperatura y de la naturaleza de las cadenas alquílicas del tensioactivo y del aceite utilizados para determinar el tamaño de gota [51, 52]. Volviendo a la teoría termodinámica, y teniendo en cuenta que la cantidad de fase oleosa es la misma en todos los sistemas aquí estudiados, cuanto menor es el tamaño de gota mayor es el número de gotas, lo que hace que aumente la entropía del sistema y por consiguiente también lo haga la estabilidad de la microemulsión. Además el hecho de que la tensión interfacial tienda a cero minimiza el papel desfavorable asociado con el trabajo debido a la creación de una gran cantidad de superficie.

En el caso de las microemulsiones con una relación 3:1 AKYPO:IPA, la elevada cantidad de AKYPO conduce a la existencia de interacciones cohesivas de tipo van der Waals entre sus cadenas produciendo una gran estabilidad en la emulsión. En las microemulsiones con una relación 1:2 AKYPO:IPA con ácido oleico como fase oleosa, también se dan este tipo de interacciones cohesivas, pero en este caso no están favorecidas por la elevada cantidad de AKYPO, sino por el menor impedimento estérico existente gracias a la presencia mayoritaria del IPA en la formulación. A pesar de que la cantidad de tensioactivo en dichas mezclas es relativamente reducida, la aparición de interacciones tipo Van der Waals en la región interfacial tiene lugar, en este caso, entre el ácido oleico y la cola hidrofóbica del AKYPO confiriéndole así una alta estabilidad a las microemulsiones obtenidas. La importancia del impedimento estérico queda de manifiesto en la imposibilidad de obtener microemulsiones cuando se considera la relación 1:2

(AKYPO:IPA) en sistemas que contienen aceite de soja. El gran tamaño de las moléculas de aceite soja limita la posibilidad de colocarse en la región interfacial con la configuración adecuada para interactuar con las moléculas de AKYPO en la interfase. Tal y como se observa en la Figura 7.14, la combinación entre la disminución del impedimento estérico y la aparición de fuerzas cohesivas entre el tensioactivo y el ácido oleico, origina la formación de gotas más pequeñas que en los sistemas con relación 3:1. En base a esto, la imposibilidad de estabilizar microemulsiones usando una relación 2:1 de AKYPO:IPA quedaría justificada teniendo que cuenta que ni la concentración de tensioactivo es lo suficientemente elevada como para formar películas rígidas, ni tampoco lo es la cantidad de IPA como para disminuir el impedimento estérico que favorece la interacción cohesiva entre el tensioactivo y el aceite.

Por último, respecto a las microemulsiones con una relación 3:1 de AKYPO:IPA, el tamaño correspondiente a las gotas formadas con ácido oleico son relativamente más grandes que las correspondientes con aceite de soja y, por consiguiente, menos estables. La estabilidad en este contexto generalmente se refiere a la susceptibilidad a la coalescencia. La coalescencia es la fusión de dos gotas de diámetro pequeño que dan lugar a gotas de mayor tamaño, lo que conduce a la separación de fases y a la ruptura de la emulsión [51, 53]. Este fenómeno depende de las características de la película interfacial que rodea las gotas individuales, de la viscosidad del medio y de la rigidez, o flexibilidad, de dicha película. Teniendo en cuenta que la rigidez de la película interfacial de ambos sistemas es idéntica dado (presentan la misma proporción de AKYPO:IPA), lo único que distingue a estos dos sistemas es el aceite empleado. El ácido oleico aporta menos viscosidad al medio ( $\eta_{\text{ácido oleico}} = 0.6 \cdot \eta_{\text{aceite de soja}}$ ), lo que conlleva una difusión más rápida de las gotas dando lugar a un fenómeno de coalescencia que genera así un tamaño de gota más grande (ver ec.



**Figura 7.14.** Dependencia del diámetro hidrodinámico aparente con la concentración de emulsificante. A) (■) Microemulsiones con una relación 3:1 de AKYPO:IPA y fase oleosa ácido oleico. B) (■) Microemulsiones con una relación 3:1 de AKYPO:IPA y fase oleosa aceite de soja. C) (●) Microemulsiones con una relación 1:2 de AKYPO:IPA y fase oleosa ácido oleico. D) Tendencia de los datos.

(2.41)). Por consiguiente, la viscosidad se convierte en otro factor determinante para la estabilización de emulsiones. Este hecho explica el aspecto gel, producido por la percolación de gotas, de las microemulsiones conteniendo una concentración de emulsificante del 40-43 wt% para el sistema con una relación 3:1 (AKYPO:IPA) usando ácido oleico como fase oleosa. Es decir, a esa concentración de emulsificante debe estar formando una red de gotas percoladas, sin llegar a fusionarse, que impiden su caracterización por DLS debido a su baja movilidad.

### 7.2.2.1. INCORPORACIÓN DE LA CERAMIDA EN LAS MICROEMULSIONES

Una vez establecida la posibilidad de preparación de microemulsiones tipo O/W estabilizadas por distintas mezclas AKYPO:IPA se procedió a su aplicación como plataformas para la encapsulación de ceramida. Cabe reseñar que la incorporación de un principio activo puede modificar la región de microemulsión en el diagrama de fases ya que se realiza una variación composicional de la misma, lo cual pone de manifiesto la importancia de la adecuada determinación de la región de microemulsión.

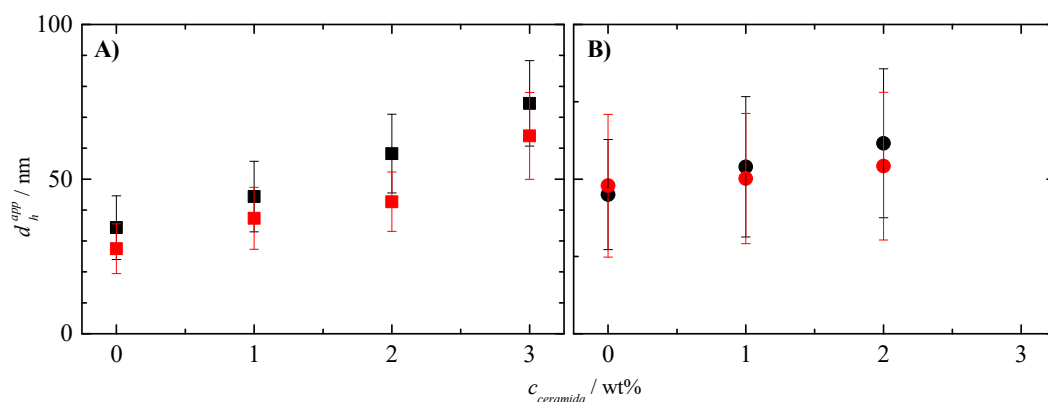
Tomando como referencia las microemulsiones sin principio activo se eligieron como plataformas para la encapsulación de la ceramida distintas microemulsiones con diferentes relaciones AKYPO:IPA. Dichas microemulsiones presentan una concentración total de la mezcla tensioactivo:co-tensioactivo del 43-44 wt% de modo que el sistema no se encuentre muy cercano al límite de la región de microemulsión. El uso de estas concentraciones minimiza el efecto que pudiera tener la incorporación del activo en la estabilidad del sistema. La Tabla 7.10 recoge un resumen de la composición de las microemulsiones con ceramida, donde se puede observar que cuando mayor es la estabilidad de las microemulsiones, mayor es el contenido de ceramida que se consigue solubilizar.

Llegado este punto, surgen dos hipótesis no excluyentes de cómo la ceramida se puede incluir en la microemulsión: esta podría incorporarse en la fase oleosa, o bien, dada su naturaleza anfifílica, en la película interfacial. El análisis del aspecto de las microemulsiones recogidas en la Tabla 7.10 permite obtener una idea preliminar sobre la incorporación de este principio activo. Las microemulsiones de menor estabilidad, es decir, las microemulsiones AKYPO:IPA (3:1) con ácido oleico, presentan un aspecto de gel cuando se ha encapsulado la ceramida. Este comportamiento parece estar relacionado con una mayor tendencia de las gotas a coalescer, por lo que parecería razonable pensar que la ceramida se incorpora en la fase oleosa, ya que el aumento del volumen de la fase dispersa requiere mayor número de moléculas de emulsificante para estabilizarlas y, por consiguiente, conduce a la formación gotas de mayor tamaño. Para profundizar en el proceso de encapsulación se realizaron experimentos de DLS para estimar el tamaño de las gotas. La Figura 7.15 recoge la comparación del diámetro hidrodinámico aparente de las microemulsiones con ceramida y sin ceramida. Los resultados muestran claramente que para todos los sistemas estudiados se produce un aumento del tamaño de las gotas con la concentración de ceramida, lo que confirma de nuevo la hipótesis de la incorporación de esta última en el aceite.

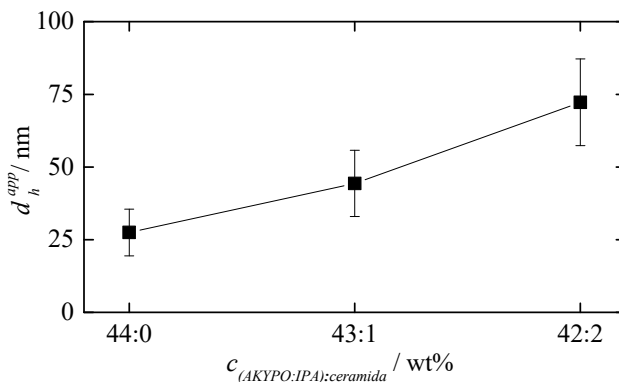
**Tabla 7.10.** Composición de las microemulsiones con ceramida

Fase oleosa (3 wt%)	AKYPO:IPA		$c_{ceramida}$		Aspecto (T=25°C)
	Relación	$c$ / wt%	wt%	$10^{-3}$ mol %	
Ácido oleico	3:1	43	1	4.2	gel
Aceite de soja	3:1	43	$\leq 2$	$\leq 8.5$	líquido
Ácido oleico	1:2	43	$\leq 3$	$\leq 12.6$	líquido
Ácido oleico	3:1	44	$\leq 2$	$\leq 8.4$	gel
Aceite de soja	3:1	44	$\leq 2$	$\leq 8.5$	líquido
Ácido oleico	1:2	44	$\leq 3$	$\leq 12.6$	líquido

Para dar una confirmación definitiva del escenario planteado se estudiaron mezclas en las que la ceramida es considerada como un componente de la película interfacial, es decir como un segundo co-tensioactivo. Para ello se prepararon microemulsiones en las cuales se fijó la cantidad del *supuesto emulsificante* en un 44 wt% (AKYPO:IPA:ceramida) donde la relación AKYPO:IPA era 1:2 y la fase oleosa el ácido oleico. Si la ceramida formara parte de la película interfacial, el tamaño de las gotas no debería verse modificado significativamente ya que el contenido de emulsificante sería el mismo y, por consiguiente, la película interfacial sería muy semejante. Sin embargo, como ilustra la Figura 7.16, el diámetro hidrodinámico aumenta con el contenido de ceramida confirmando de nuevo la inclusión de la ceramida en la fase oleosa.



**Figura 7.15.** Dependencia del diámetro hidrodinámico aparente con la concentración de ceramida solubilizada en las microemulsiones. A) Microemulsiones con ácido oleico como fase oleosa y concentración total de AKYPO:IPA (1:2) de ■ 43 wt% y ■ 44 wt%. B) Microemulsiones con aceite de soja como fase oleosa y concentración total de AKYPO:IPA (3:1) ● 43 wt% y ● 44 wt%.



**Figura 7.16.** Variación del diámetro hidrodinámico aparente considerando la ceramida como componente de la película interfacial. Microemulsiones con contenido de 44 wt% de AKYPO:IPA:ceramida siendo la relación AKYPO:IPA (1:2) y la fase oleosa ácido oleico.

### 7.3. CONCLUSIONES

En este capítulo se han desarrollado diferentes plataformas para la encapsulación de principios activos. Más específicamente, se ha centrado el interés en la encapsulación de una ceramida sintética, la (Cer(d18:0/18:1(9Z))). Los resultados de encapsulación se recogen en la Tabla 7.1, donde se puede observar la evolución de este proceso de encapsulación.

**Tabla 7.11.** Tabla resumen de la cantidad de ceramida que se ha conseguido solubilizar en las plataformas de encapsulación que se han diseñado.

$C_{CER}$	Micelas esféricas	Vesículas	Micelas cilíndricas	Fases lamelares	Nano-emulsiones	Micro-emulsiones
/ wt%	0.032	0.05	0.41	1.5	2.5	3
/ $10^{-3}$ mol%	1.05	1.53	13.5	55	8.47	12.6

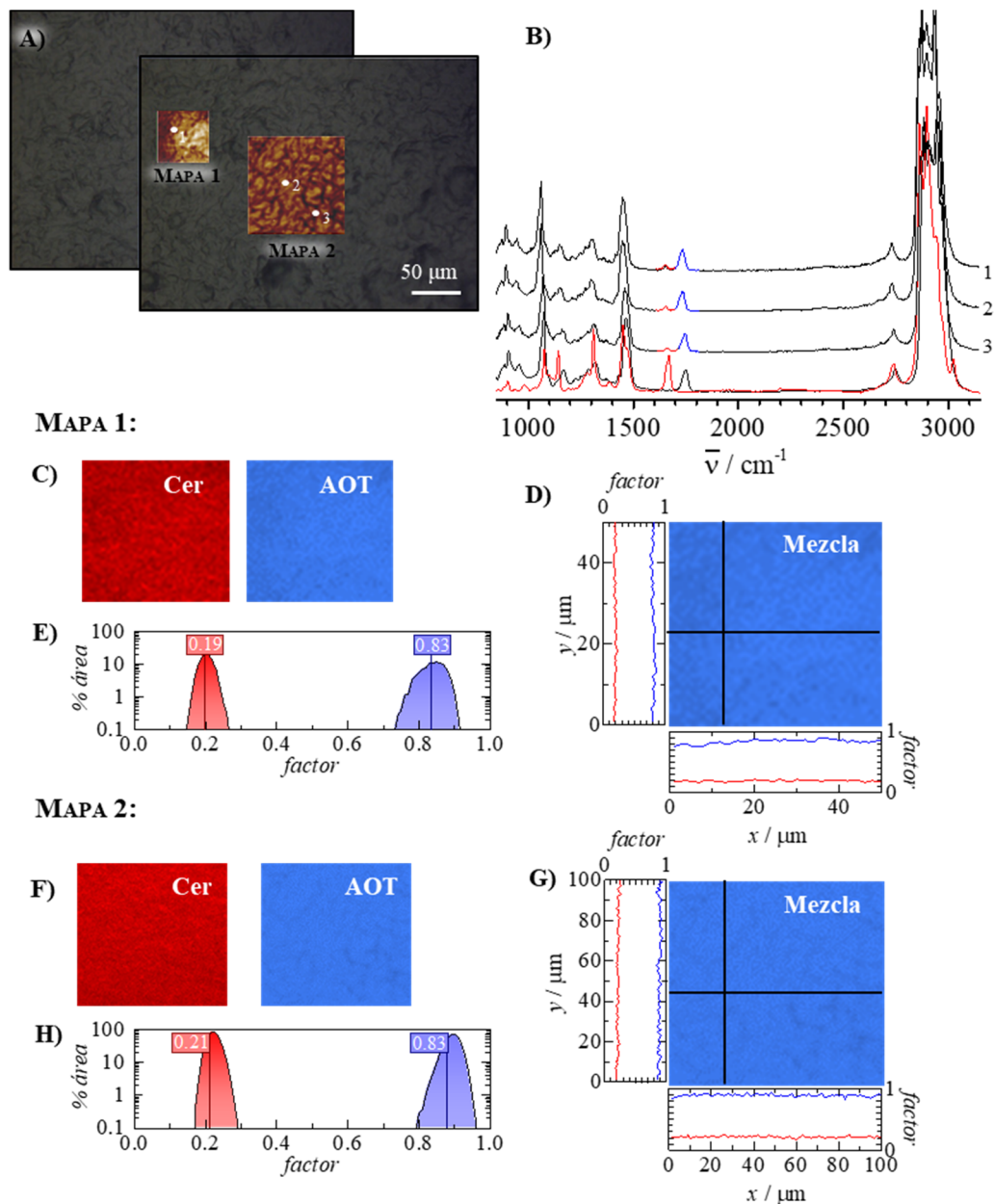
A la vista de los resultados, si el objetivo de las formulaciones es incrementar el contenido de la ceramida en la formulación, independientemente de la concentración de tensioactivo empleada, las microemulsiones se convierten en el mejor candidato para la encapsulación de este principio activo. Además, este tipo de plataformas presentan la ventaja de ser termodinámicamente estables, lo que supone un beneficio de cara al almacenamiento de la formulación durante largos periodos de tiempo. No obstante, si se analizan los resultados en términos de mol %, las fases lamelares adquieren el resultado más satisfactorio. Estas estructuras autoensambladas desempeñan un papel muy importante en el desarrollo de nuevas formulaciones en cuanto a biodegradabilidad se refiere, ya que el tensioactivo utilizado se emplea en la industria alimentaria.

Dentro de las plataformas más sencillas, las micelas cilíndricas también aportan resultados satisfactorios. Sin embargo, si se pretendiera emplear esta estructura autoensamblada para la encapsulación de principios activos se debería realizar el estudio con un tensioactivo permitido por REACH [28].

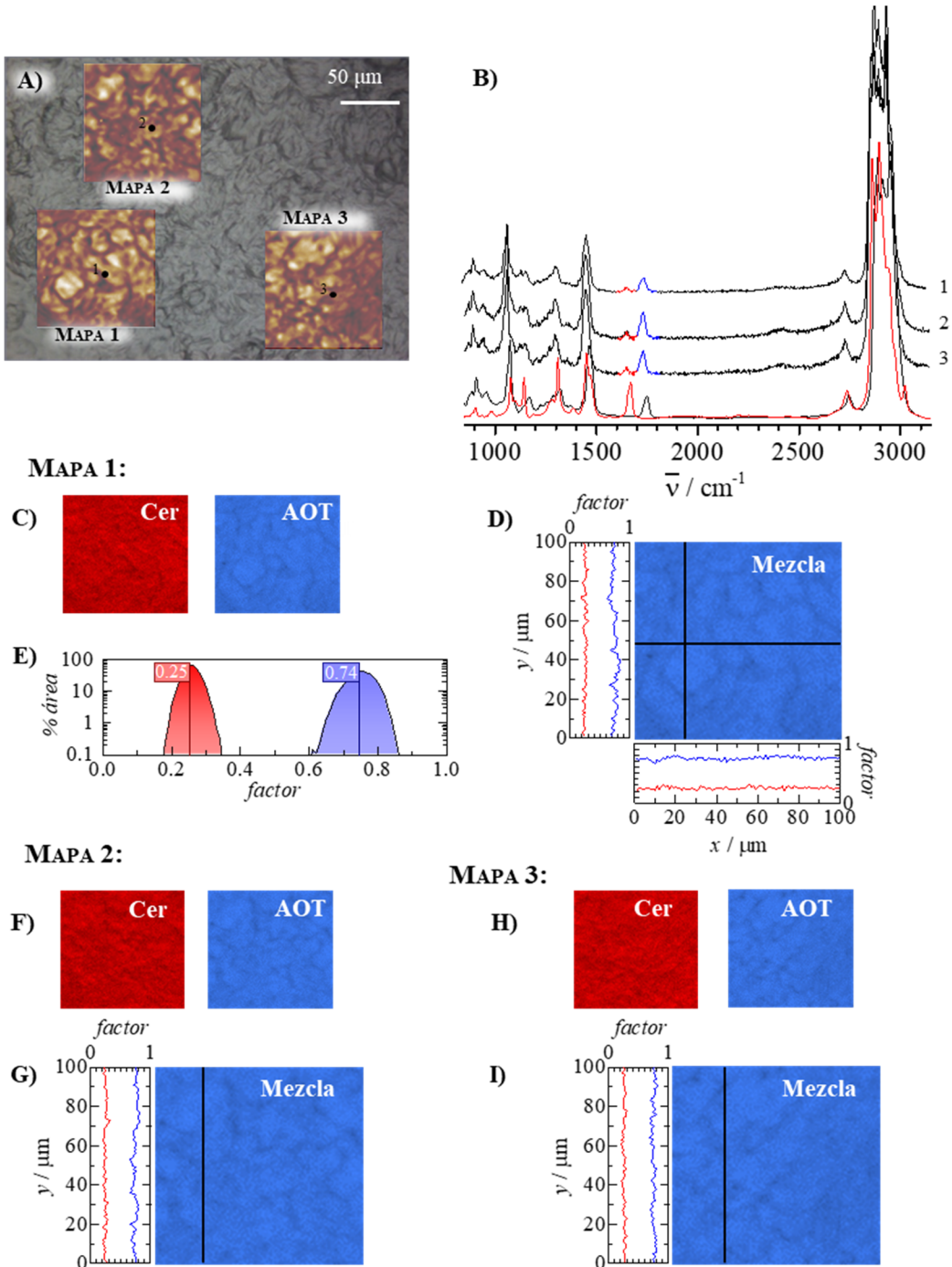
Por último, como se mencionó al principio del capítulo, la alteración de los metabolitos de las ceramidas produce numerosas patologías como la alopecia. En este capítulo se ha llevado a cabo la encapsulación de un principio activo, el minoxidil, empleando como plataforma las nanoemulsiones para solventar este tipo de problemas dérmicos. De esta investigación se puede concluir que se ha logrado alcanzar el objetivo marcado, que consistía en mejorar las formulaciones que se encuentran en el mercado tanto a nivel de irritabilidad como a nivel de concentración.



## 7.4. APÉNDICE



**Figura 7.17.** Estudio Raman de la mezcla 12 wt% AOT + 1 wt% cerámica. A) Imagen óptica indicando los mapas Raman que se han realizado. B) Espectros de los puntos indicados en la imagen óptica. C-F) Imágenes generadas con los factores de cada componente. D-G) Imagen generada con los factores del componente que contribuye mayoritariamente al espectro y perfiles de factor. E-H) Histograma normalizado que representa el número de puntos que tiene un factor determinado.



**Figura 7.18.** Estudio Raman de la mezcla 12 wt% AOT + 1.5 wt% ceramida. A) Imagen óptica indicando los mapas Raman que se han realizado. B) Espectros de los puntos indicados en la imagen óptica. C-F-H) Imágenes generadas con los factores de cada componente. D-G-I) Imagen generada con los factores del componente que contribuye mayoritariamente al espectro y perfiles de factor. E) Histograma normalizado que representa el número de puntos que tiene un factor determinado.

## 7.5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Chen KH, Guo BZ, Luo JW. Quaternized carboxymethyl chitosan/organic montmorillonite nanocomposite as a novel cosmetic ingredient against skin aging. *Carbohydr Polym.* 2017;173:100-6.
- [2] Surber C, Kottner J. Skin care products: What do they promise, what do they deliver. *J Tissue Viability.* 2017;26:29-36.
- [3] Tessema EN, Gebre-Mariam T, Paulos G, Wohlrab J, Neubert RHH. Delivery of oat-derived phytoceramides into the stratum corneum of the skin using nanocarriers: Formulation, characterization and in vitro and ex-vivo penetration studies. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018;127:260-9.
- [4] Mojumdar EH, Kariman Z, van Kerckhove L, Gooris GS, Bouwstra JA. The role of ceramide chain length distribution on the barrier properties of the skin lipid membranes. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2014;1838:2473-83.
- [5] Ryabova NY, Kiselev MA, Balagurov AM. Transition Processes in Stratum Corneum Model Lipid Membranes with a Mixture of Free Fatty Acids. *Biophysics.* 2009;54:598–606.
- [6] Tessema EN, Gebre-Mariam T, Neubert RHH, Wohlrab J. Potential Applications of Phyto-Derived Ceramides in Improving Epidermal Barrier Function. *Skin Pharmacol Physiol.* 2017;30:115-38.
- [7] Moore DJ, Rawlings AV. The chemistry, function & (patho) physiology of stratum corneum barrier ceramides. *Int J Cosmet Sci.* 2017;39:366-72.
- [8] Sahle FF, Gebre-Mariam T, Dobner B, Wohlrab J, Neubert RHH. Skin Diseases Associated with the Depletion of Stratum Corneum Lipids and Stratum Corneum Lipid Substitution Therapy. *Skin Pharmacol Physiol.* 2015;28:42-55.
- [9] Holleran WM, Takagi Y, Uchida Y. Epidermal sphingolipids: Metabolism, function, and roles in skin disorders. *Febs Lett.* 2006;580:5456-66.
- [10] Mendez S, Manich AM, Marti M, Parra JL, Coderch L. Damaged hair retrieval with ceramide-rich liposomes. *J Cosmet Sci.* 2011;62:565-77.
- [11] Robbins CR. Chemical and physical behavior of human hair. Berlin, Germany: Springer; 2012.
- [12] Masukawa Y, Narita H, Imokawa G. Characterization of the lipid composition at the proximal root regions of human hair. *J Cosmet Sci.* 2005;56:1-16.
- [13] Meeusen JW, Donato LJ, Bryant SC, Baudhuin LM, Berger PB, Jaffe AS. Plasma Ceramides. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38:1933-9.
- [14] Alonso A, Goni FM. The Physical Properties of Ceramides in Membranes. *Annu Rev Biophys.* 2018;47:633-54.
- [15] Grassme H, Riethmuller J, Gulbins E. Biological aspects of ceramide-enriched membrane domains. *Prog Lipid Res.* 2007;46:161-70.

- [16] Ebel P, Imgrund S, Vom Dorp K, Hofmann K, Maier H, Drake H, et al. Ceramide synthase 4 deficiency in mice causes lipid alterations in sebum and results in alopecia. *Biochem J*. 2014;461:147-58.
- [17] Peters F, Vorhagen S, Brodesser S, Jakobshagen K, Bruning JC, Niessen CM, et al. Ceramide Synthase 4 Regulates Stem Cell Homeostasis and Hair Follicle Cycling. *J Investig Dermatol*. 2015;135:1501-9.
- [18] Lin CL, Xu RJ, Yi JK, Li F, Chen J, Jones EC, et al. Alkaline Ceramidase 1 Protects Mice from Premature Hair Loss by Maintaining the Homeostasis of Hair Follicle Stem Cells. *Stem Cell Reports*. 2017;9:1488-500.
- [19] Bouhanna P, Bouhanna E. *The Alopecias: Diagnosis and Treatments*. 1st ed. Boca Raton, United States of America: CRC Press 2015 p. 249.
- [20] Nguyen KH, Marks JG. Pseudoacromegaly induced by the long-term use of minoxidil. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48:962-5.
- [21] Walsh DS, Dunn CL, James WD. Improvement in androgenetic alopecia (stage V) using topical minoxidil in a retinoid vehicle and oral finasteride. *Arch Dermatol*. 1995;131:1373-5.
- [22] Friedman ES, Friedman PM, Cohen DE, Washenik K. Allergic contact dermatitis to topical minoxidil solution: Etiology and treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46:309-12.
- [23] Tricarico D, Maqoud F, Curci A, Camerino G, Zizzo N, Denora N, et al. Characterization of minoxidil/hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex in aqueous alginate gel useful for alopecia management: Efficacy evaluation in male rat. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;122:146-57.
- [24] Goren A, Naccarato T, Situm M, Kovacevic M, Lotti T, McCoy J. Mechanism of action of minoxidil in the treatment of androgenetic alopecia is likely mediated by mitochondrial adenosine triphosphate synthase-induced stem cell differentiation. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2017;31:1049-53.
- [25] Tata S, Flynn GL, Weiner ND. Penetration of minoxidil from ethanol/propylene glycol solutions: effect of application volume and occlusion. *J Pharm Sci*. 1995;84:688-91.
- [26] Israelachvili JN, Marčelja S, G. Q. Horn R. *Physical principles of membrane organization*. *Q Rev Biophys*. 1980;13:121-200.
- [27] Israelachvili J. *Intermolecular and Surface Forces*. Cambridge, United States of America: Academic Press; 2010.
- [28] Fisk P. *Chemical risk assessment: a manual for REACH*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [29] Futerman AH. *Ceramide Signaling*. First ed. New York, United States of America: Springer; 2002. p. XXVI, 162.
- [30] Bangham AD, Standish MM, Watkins JC. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *J Mol Biol*. 1965;13:238-IN27.
- [31] Nayar R, Hope MJ, Cullis PR. Generation of large unilamellar vesicles from long-chain saturated phosphatidylcholines by extrusion technique. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 1989;986:200-6.

- [32] Holmberg K, Jönsson B, Kronberg B, Lindman B. *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2002.
- [33] Auffret Y, Roux DC, El Kissi N, Caton F, Pignot-Paintrand I, Dunstan DE, et al. Aging and yielding in a sheared AOT/iso-octane/water lyotropic lamellar phase. *Eur Phys J E Soft Matter*. 2009;29:51-60.
- [34] Rogers J, Winsor PA. The nature of the striated textures encountered with the middle (M1) and inverse middle (M2) liquid crystalline phases. Relationships between the M1 phase of amphiphiles and the ordered solution phase of tobacco mosaic virus. *J Colloid and Interface Sci*. 1969;30:500-10.
- [35] D. Moran P, A. Bowmaker G, Cooney R, R. Bartlett J, L. Woolfrey J. Vibrational spectra of metal salts of bis(2-ethylhexyl)sulfosuccinate (AOT). *J Mater Chem*. 1995;5:295-302.
- [36] Tfayli A, Guillard E, Manfait M, Baillet-Guffroy A. Molecular interactions of penetration enhancers within ceramides organization: a Raman spectroscopy approach. *Analyst*. 2012;137:5002-10.
- [37] Wang X, Chen ZY, Shen WG. The volumetric properties of water/AOT/isooctane microemulsions with larger-size droplets. *J Chem Thermodyn*. 2019;130:129-39.
- [38] Banerjee S, Li D. Interpreting Multicomponent Infrared Spectra by Derivative Minimization. *Applied Spectroscopy*. 1991;45:1047-9.
- [39] Brent R. *Algorithms For Minimization Without Derivatives*. New York, United States of America: Dover; 2002.
- [40] Tadros TF. *Emulsion science and technology: a general introduction*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH 2009.
- [41] Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv Colloid Interface Sci*. 2004;108-109:303-18.
- [42] Sjöblom J. *Emulsions and emulsion stability: Surfactant science series*. Boca Ratón, United States of America: CRC Press; 2005.
- [43] Miller DJ, Henning T, Grunbein W. Phase inversion of W/O emulsions by adding hydrophilic surfactant - a technique for making cosmetics products. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2001;183:681-8.
- [44] Lin TK, Zhong LL, Santiago JL. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *Int J Mol Sci*. 2018;19:21.
- [45] Exerowa D, Zacharieva M, Cohen R, Platikanov D. Dependence of the equilibrium thickness and double layer potential of foam films on the surfactant concentration. *Colloid Polym Sci*. 1979;257:1089-98.
- [46] Roldan-Cruz C, Vernon-Carter EJ, Alvarez-Ramirez J. Assessing the stability of Tween 80-based O/W emulsions with cyclic voltammetry and electrical impedance spectroscopy. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2016;511:145-52.
- [47] Patzelt A, Lademann J, Richter H, Darvin ME, Schanzer S, Thiede G, et al. In vivo investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier. *Skin Res Technol*. 2012;18:364-9.

- [48] Khan Hm, Naveed A, Rasul A, U. Rashid S, Mustafa R, Khan B, et al. In vivo Evaluation of a Cosmetic Emulsion Containing Soybean Extract for Anti-Aging. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2014;13:1401-6.
- [49] Sabale V, Vora S. Formulation and evaluation of microemulsion-based hydrogel for topical delivery. *Int J Pharm Investig*. 2012;2:140-9.
- [50] Malakar J, Sen SO, Nayak AK, Sen KK. Development and evaluation of microemulsions for transdermal delivery of insulin. *ISRN Pharm*. 2011;2011:780150-.
- [51] Callender SP, Mathews JA, Kobernyk K, Wettig SD. Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. *Int J Pharm*. 2017;526:425-42.
- [52] Tadros TF. *Applied surfactants: principles and applications*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2006.
- [53] Rosen MJ, Kunjappu JT. *Surfactants and interfacial phenomena*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2012.



## 8. CONCLUSIONES

---

El objetivo de esta tesis ha sido el estudio y diseño de formulaciones cosméticas para el cuidado del cabello y la piel, de manera que estas se ajusten a las limitaciones impuestas por el reglamento REACH, pero que además mantengan o mejoren la eficacia de las formulaciones actuales. Para ello se ha realizado un estudio sistemático de dos tipos de sistemas: (i) mezclas de componentes de formulaciones cosméticas para el acondicionamiento capilar, y (ii) sistemas de encapsulación de moléculas hidrofóbicas con interés en el cuidado de la piel. Las conclusiones que se van a presentar a continuación se dividen en dos bloques relacionados con los aspectos anteriormente reseñados.

Para el desarrollo de los estudios comprendidos en el primer bloque de esta tesis ha sido necesario realizar estudios que han permitido obtener información acerca del comportamiento en disolución de los sistemas de interés y de su interacción sobre superficies sólidas cargadas. Los resultados obtenidos del último tipo de estudios son de particular importancia para el desarrollo de productos cosméticos para el acondicionamiento y reparación capilar en los que es necesario maximizar la cantidad de material depositado sobre la fibra dañada, de modo que se mejore la apariencia y la manejabilidad del cabello. Por otro lado, para el desarrollo del segundo bloque se ha seguido una aproximación más simplista en la búsqueda de la maximización de la encapsulación de compuestos de naturaleza hidrofóbica en plataformas coloidales de complejidad creciente. Es esperable que la mejora de la disponibilidad de las correspondientes moléculas activas tenga un efecto beneficioso en el desarrollo de formulaciones destinadas al cuidado y reparación de la piel.

De los resultados obtenidos ha sido posible obtener información sobre las bases físico-químicas que gobiernan el mecanismo de acción de distintas formulaciones cosméticas para la reparación del cabello y de la piel, permitiendo extraer las siguientes conclusiones:

### *Bloque i: Estudio de formulaciones con interés en cosmética capilar*

- Existe una importante correlación entre el comportamiento en disolución de mezclas polímero-tensioactivo y su deposición sobre superficies sólidas con carga negativa. Esto queda reflejado en la maximización de la adsorción observada en todos los sistemas estudiados en las proximidades de la región de separación fases. La aparición de dicha región viene condicionada por la naturaleza de los polímeros y tensioactivos implicados en la formulación. Es importante reseñar que este tipo de deposición mejorada por precipitación puede darse tanto por la dilución de mezclas concentradas como por aumento del ratio



entre el número de moléculas de tensioactivo en disolución y el número de monómeros cargados presentes.

- Aunque la entrada en la región de separación de fases es generalmente atribuida a la formación complejos eléctricamente neutros, es posible entrar en la separación de fases lejos del punto de neutralización. Esto es el resultado de la existencia de gradientes de concentración durante el proceso de mezclado de los componentes. Este hecho puede ser favorable de cara al diseño de formulaciones cosméticas en las que se reduzca el contenido de tensioactivo.
- Se ha puesto de manifiesto que muchos de los compuestos sintéticos tradicionalmente usados en la preparación de formulaciones para la reparación y acondicionamiento capilar pueden ser reemplazados de manera exitosa por otros compuestos que respetan las limitaciones impuestas por REACH.
- Se ha demostrado que las formulaciones acondicionadoras del cabello desencadenan su mecanismo de acción básicamente sobre la superficie de la fibra capilar, existiendo una limitada difusión de la formulación hacia las regiones internas de la fibra. Esto permite dar una mayor validez a los estudios realizados utilizando superficies modelo.

*Bloque ii: Encapsulación de principios activos hidrofóbicos con interés en cosmética*

- Es posible maximizar la encapsulación de moléculas hidrofóbicas con interés para el cuidado de la piel creando un entorno adecuado para la solubilización de dichas moléculas. La mejora de la eficacia del proceso de encapsulación viene condicionada por la similitud entre el entorno químico usado para la solubilización y las características estructurales de las moléculas de interés.

# RESUMEN

---

## ESTUDIO FÍSICO-QUÍMICO DE FLUIDOS COMPLEJOS DE USO COSMÉTICO

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el interés por el conocimiento y la comprensión del comportamiento de los *fluidos complejos* ha experimentado una gran evolución debido a su participación en distintos campos, incluyendo la cosmética, farmacia y tecnología de los alimentos [1-3]. En particular, el interés por estos sistemas viene desencadenado por su comportamiento en las proximidades de interfases y su capacidad para formar estructuras autoensambladas que permiten la encapsulación de principios activos. De este modo, la aplicación de los fluidos complejos en cosmética ha permitido dar un carácter más funcional a los productos para el cuidado personal.

El termino fluidos complejos engloba los distintos sistemas estudiados en esta tesis: mezclas formadas por polielectrolitos y tensioactivos, disoluciones poliméricas, estructuras autoensambladas y emulsiones. En relación a las disoluciones poliméricas y los sistemas polielectrolito-tensioactivo, la comprensión de su comportamiento en disolución es relevante para establecer una descripción de sus procesos de adsorción en interfases [4-6]. Esto tiene una gran implicación en el mecanismo de acción de las formulaciones cosméticas para el cuidado capilar, dado que el proceso de acondicionamiento conlleva la deposición de diferentes compuestos químicos sobre la fibra capilar. De este modo, es posible considerar que los tratamientos para el cuidado capilar implican una adsorción sobre una superficie sólida, generalmente con carga negativa. Esto hace necesario profundizar en los mecanismos de interacción entre los componentes de las formulaciones cosméticas y superficies sólidas que imitan la carga del cabello dañado como primer paso para comprender las bases físico-químicas que subyacen en el proceso de acondicionamiento, y así poder diseñar nuevas mezclas con eficacia mejorada.

Por otro lado, como ya se ha mencionado, las propiedades de los fluidos complejos permiten su uso en la encapsulación de compuestos con interés tecnológico, lo cual presenta interés en multitud de aplicaciones en las que se requiere aumentar la disponibilidad de compuestos poco solubles en agua. Ejemplo de lo anterior es el diseño de formulaciones para el cuidado de la piel. Considerando que la piel es una estructura formada mayoritariamente por lípidos, sus procesos de deterioro se encuentran asociados a la

alteración de la matriz lipídica. De este modo, sería esperable que cualquier proceso de reparación de la piel precise la sustitución de la estructura degradada a través de la incorporación exógena de nuevas moléculas lipídicas análogas a los lípidos que conforman la barrera protectora de la piel. Lo anterior precisa de formulaciones que permitan maximizar la cantidad de moléculas hidrofóbicas solubilizadas, siendo necesario para ello crear un entorno químico adecuado.

Cabe reseñar que la optimización de nuevas formulaciones cosméticas desde una perspectiva físico-química es un proceso de elevada complejidad que requiere una evaluación detallada de las distintas interacciones que ocurren en el sistema de interés con el objetivo de maximizar su eficacia. Es importante considerar que toda nueva formulación debe ajustarse a las cada vez más restrictivas legislaciones de salud e higiene sin comprometer la percepción del consumidor.

## OBJETIVOS

La entrada en vigor en la Unión Europea del Reglamento (CE) nº 1907/2006 o REACH (*Registration, Evaluation, and Authorization of CHemicals*) [7], que limita el número de ingredientes disponibles para la industria cosmética, obliga a sustituir numerosos productos que actualmente se encuentran en el mercado. Esto hace necesario innovar en el diseño de nuevos productos cosméticos que se adecúen a las necesidades del consumidor, pero que además sean respetuosos con el medio ambiente y con la salud pública. Teniendo en cuenta el marco impuesto por la nueva legislación, esta tesis pretende resolver dos problemas principales:

- Optimización de formulaciones cosméticas para la reparación y acondicionamiento capilar en las que se reemplazan las moléculas tradicionalmente usadas por otras más adecuadas para cumplir con las restricciones de REACH.
- Diseño de plataformas para la encapsulación de moléculas hidrofóbicas con interés cosmético, las cuales permitan maximizar la disponibilidad de los principios activos.

Los objetivos anteriores persiguen el diseño de nuevas formulaciones que sean más eficientes que las actuales y que cumplan los requerimientos legislativos, así como la comprensión de las bases físico-químicas que subyacen bajo el comportamiento de estas formulaciones.

## RESULTADOS

En esta tesis se han seguido dos líneas de investigación relacionadas con las formulaciones cosméticas. La primera, enfocada en el estudio de sistemas polielectrolito-tensioactivo y polielectrolito-polielectrolito, recoge un estudio sistemático del comportamiento en disolución y adsorción de este tipo de mezclas sobre superficies sólidas con carga negativa que imitan al cabello dañado (*Capítulo 3-6*). La segunda línea se ha enfocado en el diseño de plataformas para la encapsulación de principios activos de interés cosmético (*Capítulo 7*).

El relación a los sistemas polielectrolito-tensioactivo y a las disoluciones poliméricas se ha estudiado el comportamiento en disolución realizando medidas de movilidad

electroforética, dispersión de luz dinámica (DLS), viscosidad y/o turbidez. El estudio de adsorción se ha llevado a cabo empleando dos técnicas complementarias, la elipsometría y la microbalanza de cristal de cuarzo (QCM-D), cuya combinación permite obtener el espesor de las capas adsorbidas y el grado de hidratación de las mismas. Para estos últimos experimentos se han empleado superficies con carga negativa con el objeto de simular la carga de la cutícula dañada. Por otro lado, se ha analizado la topografía de las capas adsorbidas sobre sustratos sólidos mediante microscopía de fuerza atómica (AFM) y sobre la fibra capilar por microscopía electrónica de barrido (SEM). Para estos estudios se han empleado tanto tensioactivos de origen natural (ramnolípidos) como tensioactivos sintéticos. Como polímeros se han estudiado tanto policationes sintéticos como polisacáridos con carga positiva.

En el *Capítulo 3* se ha llevado a cabo un estudio detallado del comportamiento en disolución de dos polímeros y de sus mezclas, así como de la adsorción de dichos sistemas sobre superficies cargadas negativamente. Dicho estudio ha mostrado que a pesar de las diferencias estructurales de los polímeros estudiados, uno puramente catiónico y el otro un copolímero con monómeros positivos, negativos y neutros, su comportamiento en disolución es análogo. Sin embargo, la presencia de ambos en disolución provoca la aparición de diferencias significativas en el comportamiento frente a los polímeros puros, lo cual se refleja en la adsorción de dichas mezclas sobre superficies sólidas, encontrándose composiciones para las cuales aparece un fuerte efecto sinérgico con respecto a la adsorción en relación a los componentes puros. Dicho efecto sinérgico puede presentar interés en la optimización de formulaciones cosméticas para el acondicionamiento capilar.

En el *Capítulo 4*, se ha llevado a cabo un estudio de mezclas poli (cloruro de dialildimetil amonio) (PDADMAC)-ramnolípidos donde se ha realizado un progresivo aumento del ratio entre el número de moléculas de tensioactivo en disolución y el número de monómeros cargados presentes. El estudio de las diferentes mezclas PDADMAC-ramnolípidos, donde se ha modificado la longitud de cadena y número de anillos azúcar del tensioactivo, ha demostrado que todos los sistemas presentan un comportamiento cualitativamente análogo en relación a su comportamiento en disolución y adsorción sobre superficies sólidas cargadas negativamente, mostrando todas una adsorción mucho más elevada que el sistema de referencia en cosmética. Además se ha propuesto una alternativa de sustitución, que cumpliría los requisitos de efectividad en la formulación cumpliendo las limitaciones impuestas por REACH.

En el *Capítulo 5* se ha pretendido dar un paso adelante hacia el avance en la comprensión de los fundamentos físico-químicos de la aplicación de las formulaciones cosméticas para el tratamiento capilar. Para esto se ha realizado un estudio de la adsorción de mezclas de interés para el acondicionamiento capilar en condiciones que se asemejan a las condiciones que ocurren durante el proceso de aplicación real de un champú. Este fenómeno es conocido como deposición mejorada por precipitación inducida por dilución o *efecto Lochhead* [8, 9]. En este estudio se ha analizado el comportamiento de una formulación optimizada ( $FO_1$ ), similar a la utilizada en la actualidad en productos comerciales, y se ha propuesto una modificación en dicha formulación para así poder simplificarla, reducir el contenido de tensioactivo en la misma y convertirla en una formulación más *verde* ( $FO_2$ ), lo que sería compatible con la legislación actual. Además, se han estudiado mezclas binarias (polímero-tensioactivo) y ternarias (polímero 1-polímero 2-tensioactivo) con concentraciones de los componentes similares a las de las formulaciones optimizadas con la idea de que la combinación de los estudios de sistemas simplificados permita avanzar en la comprensión del comportamiento de la formulación optimizada.

En el *Capítulo 6* se ha realizado un estudio análogo al del Capítulo 5, proponiendo como novedad el reemplazo de los policationes sintéticos usados en las formulaciones convencionales por dos polisacáridos con carga. En este estudio se ha comprobado que el comportamiento de las mezclas viene determinado por el tensioactivo utilizado, siendo el efecto del cambio del polímero poco significativo. Además se ha podido concluir que el uso de polisacáridos no conduce a una mejora significativa de la eficacia de las formulaciones.

En el *Capítulo 7* se abandona la temática seguida en los capítulos anteriores, centrandose sus esfuerzos en el diseño de diversas plataformas coloidales (micelas, vesículas, fases lamelares, nanoemulsiones y microemulsiones) para su uso en la encapsulación de moléculas hidrofóbicas de interés cosmético. Se ha demostrado que si se pretende maximizar la encapsulación de principio activo encapsulado es preciso diseñar entornos químicos afines a las características moleculares de la molécula de interés.

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en esta tesis ha sido posible extraer las siguientes conclusiones:

### *Bloque i: Estudio de formulaciones con interés en cosmética capilar*

- Correlación entre el comportamiento en disolución de mezclas polímero-tensioactivo y su deposición sobre superficies sólidas con carga negativa, como queda reflejado en la maximización de la adsorción en las proximidades de la región de separación fases.
- Es posible reemplazar muchos de los compuestos sintéticos tradicionalmente usados en la preparación de formulaciones para la reparación y acondicionamiento capilar por compuestos que se adecúan a las limitaciones de la legislación actual.
- Las formulaciones para el acondicionamiento capilar actúan básicamente sobre la superficie de la fibra capilar, lo que permite validar los estudios realizados utilizando superficies modelo.

### *Bloque ii: Encapsulación de principios activos hidrofóbicos con interés en cosmética*

- La encapsulación de moléculas hidrofóbicas con interés para el cuidado de la piel puede maximizarse creando un entorno adecuado para la solubilización de dichas moléculas.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Goddard ED, Ananthapadmanabhan KP. Application of Polymer-Surfactant Systems. Surfactant Science. New York, United States of America: Marcel Dekker, Inc.; 1998.
- [2] Szczepanowicz K, Bazylińska U, Pietkiewicz J, Szyk-Warszyska L, Wilk KA, Warszynski P. Biocompatible long-sustained release oil-core polyelectrolyte nanocarriers: From controlling physical state and stability to biological impact. Adv Colloid Interface Sci. 2015;222:678-91.

- [3] Llamas S, Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of Polyelectrolytes and Polyelectrolytes-Surfactant Mixtures at Surfaces: A Physico-chemical Approach to a Cosmetic Challenge. *Adv Colloid Interface Sci* 2015;222:461-87.
- [4] Gradzielski M, Hoffmann I. Polyelectrolyte-surfactant complexes (PESCs) composed of oppositely charged components. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 2018;35:124-41.
- [5] Varga I, Campbell RA. General Physical Description of the Behavior of Oppositely Charged Polyelectrolyte/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir*. 2017;33:5915-24.
- [6] Guzmán E, Llamas S, Maestro A, Fernández-Peña L, Akanno A, Miller R, et al. Polymer-surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2016;233:38-64.
- [7] Fisk P. *Chemical risk assessment: a manual for REACH*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [8] Goddard ED, Phillips TS, Hannan RB. Water Soluble Polymer-Surfactant Interaction—Part I. *J Soc Cosmetic Chem*. 1975;26:461-75.
- [9] Lochhead RY. Shampoo and conditioner science. In: Evans T, Wickett RR, editors. *Practical Modern Hair Science*. Carol Stream, United States of America: Allured Pub Corp.; 2012. p. 75-115.



# SUMMARY

---

## PHYSICO-CHEMICAL STUDY OF COMPLEX FLUIDS WITH COSMETIC APPLICATION

### INTRODUCTION

In recent years, the interest for the study of the physico-chemical behavior of complex fluids has undergone a noticeable evolution as result of its extended use in several technological fields including cosmetic, pharmacy and food technology [1-3]. In particular, this interest has been triggered by the behavior of complex fluids close to interfaces and, its ability to form self-assembled structures enabling for the encapsulation of active compounds. Hence, the use of complex fluids in cosmetics has driven the design and fabrication of personal care products which presents a multifunctional character.

The term complex fluids includes the different systems studied in the present thesis: mixtures of polyelectrolytes and surfactants, polymer solutions, self-assembled structures and emulsions. Regarding to polymer solutions and polyelectrolyte-surfactant systems, the understanding of its bulk behaviour is relevant on the stablishment of framework for describing its adsorption processes at interfaces [4-6]. This presents a significant involvement in the performance of hair care formulations because the conditioning process is associated to the the deposition of different chemical compounds onto the hair fibers. Therefore, it can be assumed that most of cosmetic treatments for hair care involve an adsorption process of molecules onto negatively charged solid surfaces. Thus, the understanding of the physico-chemical bases underlying the conditioning process is a first step on the design of new formulations with enhanced efficacy. This makes mandatory to deepen on the interaction mechanisms occurring between the different components of cosmetic formulations and solid surfaces mimicking the charge of damaged hair fibers.

On the other side, the properties of complex fluids allow its use on the fabrication of encapsulation platforms for molecules with technological interest. These systems present a broad interest in different applications, especially in those cases in which it is necessary to increase the availability of poor water-soluble compounds, the design of products for skin care being an example of this application. Taking into consideration that the skin is a complex structure composed mostly by lipids, and that its degenerative processes are associated with the disruption of such lipid matrix, it could be expected that any skin repairing process requires an exogen incorporation within the skin of lipid molecules,



which presents similar nature to those forming the stratum corneum lipids. This makes it necessary to create a suitable chemical environment that enables for maximizing the encapsulation yield of hydrophobic molecules into the formulations.

The optimization of new cosmetic formulations from a physical-chemical perspective should be considered as a process with high complexity which requires a detailed analysis of the different interactions occurring in the systems to maximize their effectiveness. It is worth considering that the introduction of any new formulation makes necessary to adapt its characteristics to the restrictive legislation for health and hygiene protection without worsening the consumer perception.

## AIMS

The application of the new European *Regulation* on Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) [7] which limits the number of ingredients available for the manufacturing of new formulations in the cosmetic industry, has forced the replacement of many products that are currently on the market. This makes it necessary the innovation in the design of new cosmetic products fulfilling the consumer requirements, respecting environmental and human health. Taking into account the constrains imposed by the new legislations, this thesis is focused on the study of two main topics:

- Optimization of cosmetic formulations for hair conditioning and repairing, substituting molecules commonly used in commercial formulations for new molecules fulfilling the constrains associated with the application of REACH.
- Design of platforms for the encapsulation of hydrophobic molecules with cosmetic interest in order to enhance the availability of active compounds

The previous aims try to contribute on the design of new formulations which presents a enhanced efficiency in relation to the currently used and that simultaneously fulfill the legislative constrains, as well as the understanding of the physico-chemical bases underlying the performance of such formulations.

## RESULTS

The studies contained in this thesis paid attention to two main research lines which are related to the physico-chemical evaluation of the performance of cosmetic formulations. The first one is focused on the study of polyelectrolyte-surfactant and polyelectrolyte-polyelectrolyte systems, including a systematic evaluation of the bulk behaviour and adsorption of this type of mixtures onto negatively charged solid surfaces mimicking the surface charge of damaged hair fiber (*Chapter 3-6*). On the other side, the second interest of this thesis has been the design of platforms for the encapsulation of active ingredients with cosmetic interest (*Chapter 7*).

The physico-chemical behaviour of solutions of polyelectrolyte-surfactant systems and polymer have been studied using electrophoretic mobility, dynamic light scattering, viscosity and turbidity measurements. On the other side, studies on the adsorption of the above mentioned systems onto solid surfaces has been carried out using two complementary techniques (ellipsometry and dissipative quartz crystal microbalance, QCM-D), which has allowed obtaining the thicknesses of the adsorbed layer and their hydration degree. For the

latter experiments, negatively charged solid surfaces have been chosen as substrate in order to simulate the surface charge of the damaged hair cuticle. Furthermore, the topography of the adsorbed layers onto solid substrates has been analyzed by atomic force microscopy technique (AFM). Scanning electron microscopy (SEM) has been also used for qualitative evaluation of the adsorption onto real hair fibers.

*Chapter 3* includes a comprehensive study of the bulk behavior and the adsorption onto negatively charged of two polymers and different mixtures involving both polymers. This study has pointed that the bulk behaviour of the two polymers are similar independently of the specific characteristics of the considered polymers. However, the bulk behaviour of mixtures containing both polymers is noticeably different in relation to behaviour found for the pure polymers. These differences are reflected on the adsorption of such mixtures onto solid surfaces, appearing a range of compositions in which strong synergetic effects in the adsorption in relation to that of the pure polymers are found. This synergetic effects might present a big interest in the optimization of cosmetic formulations for hair conditioning purposes.

In *Chapter 4*, an study involved several mixtures containing poly(diallyldimethylammonium chloride) (PDADMAC) and different sugar-based surfactants is performed. Here, polymer-surfactant mixtures in which the ratio between the number of bulk surfactant molecules and the number of charged monomers has been progressively increase. The surfactant used present a broad range of degree of hydrophobicity which has been obtained by changing the length alkyl chain of the surfactants and the number of sugar rings forming the hydrophilic head, this allows one tuning the interactions of the surfactant with polymer and consequently its performance. The obtained results shows that the different explored systems present a qualitatively similar bulk behaviour, with the adsorption of such mixtures onto solid surfaces being also similar. This latter aspect is important because the use of these new mixtures present an strong improvement in the performance of cosmetic formulation in relation to that found traditional systems. Therefore, they can be considered as alternative in the design of new products.

The *Chapter 5* can be considered a step toward the understanding of the physico-chemical bases governing the performance of cosmetic formulations. For this purpose, an study of the adsorption of several mixtures with cosmetic interest have been performed, following in this case for the study a procedure similar to that occurring during the application of real cosmetic formulations under the shower, i.e. the so-called deposition enhanced by precipitation induced by dilution or *Lochhead effect* [8, 9]. This study has explored the behaviour of an optimized formulation (FO1), presenting similarities with that currently used in commercial products. Furthermore, the obtained results have allowed proposing a modification in the aforementioned formulation aimed to its simplification. For this purpose, the concentrations of the surfactants and the number of the chemicals involved in the formulation was reduced, turning it into a greener formulation. In addition, several pseudo-binary (polymer-surfactant mixtures) and pseudo-ternary (mixtures composed by two polymers and a surfactant) mixtures have been studied to shed light into the bases governing behaviour of the optimized formulation.

The *Chapter 6* shows a study similar to that included *Chapter 5*, proposing in this case the replacement of the synthetic polymers studied in the previous chapter, and currently used in commercial formulations, by charged polysaccharides. In this study, it has been found that the behaviour of the mixtures is determined by the type of surfactant used, with the nature of the used polysaccharide presenting a negligible effect in the behaviour of the

formation. The results have allowed us to conclude that the use of polysaccharides does not lead to a significant improvement in the efficacy of the formulations in relation to the currently used.

The *Chapter 7* presents a change in the topic in relation to the previous chapter, focussing its efforts on the design of different colloidal platforms (micelles, vesicles, lamellar phases, nanoemulsions and microemulsions) enabling for the encapsulation of hydrophobic molecules with cosmetic interest. The results have evidenced that it is necessary to design encapsulation platforms presenting chemical environments with similarities to the molecular characteristics of the active of interest, maximizing under this conditions the amount of encapsulated substance.

## CONCLUSIONS

On the bases of the studied described along this PhD thesis, it has been possible to draw the following conclusions:

### *Research topic i: Study of formulations with interest in hair care cosmetic*

- There are strong correlations between the bulk behaviour of polymer-surfactant solutions, and the deposition of such mixtures onto negatively charged surfaces. This is evidenced from the maximum adsorption found in the vicinity of the phase separation region.
- It is possible to replace many of the synthetic compounds currently used in the fabrication of formulation for hair repairing and conditioning for other compounds which fulfill the constrain associated with the current legislation.
- The formulations for hair conditioning work mainly onto the capillary fiber surface. This provides a validation of the studies performed using model surfaces.

### *Research topic ii: Encapsulation of hydrophobic active molecules with cosmetic interest*

- The encapsulation of hydrophobic molecules with interest in skin care cosmetic can be enhanced creating an adequate chemical environment to the solubilization of such molecules.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Goddard ED, Ananthapadmanabhan KP. Application of Polymer-Surfactant Systems. Surfactant Science. New York, United States of America: Marcel Dekker, Inc.; 1998.
- [2] Szczepanowicz K, Bazylińska U, Pietkiewicz J, Szyk-Warszyska L, Wilk KA, Warszynski P. Biocompatible long-sustained release oil-core polyelectrolyte nanocarriers: From controlling physical state and stability to biological impact. *Adv Colloid Interface Sci.* 2015;222:678-91.
- [3] Llamas S, Guzmán E, Ortega F, Baghdadli N, Cazeneuve C, Rubio RG, et al. Adsorption of Polyelectrolytes and Polyelectrolytes-Surfactant Mixtures at Surfaces: A Physico-chemical Approach to a Cosmetic Challenge. *Adv Colloid Interface Sci* 2015;222:461-87.

- [4] Gradzielski M, Hoffmann I. Polyelectrolyte-surfactant complexes (PESCs) composed of oppositely charged components. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2018;35:124-41.
- [5] Varga I, Campbell RA. General Physical Description of the Behavior of Oppositely Charged Polyelectrolyte/Surfactant Mixtures at the Air/Water Interface. *Langmuir.* 2017;33:5915-24.
- [6] Guzmán E, Llamas S, Maestro A, Fernández-Peña L, Akanno A, Miller R, et al. Polymer–surfactant systems in bulk and at fluid interfaces. *Advances in Colloid and Interface Science.* 2016;233:38-64.
- [7] Fisk P. Chemical risk assessment: a manual for REACH. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons; 2013.
- [8] Goddard ED, Phillips TS, Hannan RB. Water Soluble Polymer-Surfactant Interaction—Part I. *J Soc Cosmetic Chem.* 1975;26:461-75.
- [9] Lochhead RY. Shampoo and conditioner science. In: Evans T, Wickett RR, editors. *Practical Modern Hair Science.* Carol Stream, United States of America: Allured Pub Corp.; 2012. p. 75-115.

