Софийски университет „Св. Климент Охридски“
Факултет по химия и фармация
Катедра „Инженерна химия и фармацевтично инженерство“

Татяна Генчева Славова

Комплексни мицеларни фази: Емулгиращи и солюбилизиращи свойства и приложение

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация, представена за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“

4.2. Химически науки (Физикохимия – макрокинетика)

Научни ръководители: чл. кор. проф. дмн Красимир Д. Данов

проф. д-р Кръстанка Г. Маринова

София, 2026

Дисертационният труд съдържа 101 страници, 41 фигури, 7 таблици и 5 уравнения. Цитирани са 151 литературни източника

Номерата на разделите, фигурите, таблиците и уравненията в автореферата съвпадат с тези в дисертацията. Списъкът с цитираните литературни източници може да се намери в дисертацията.

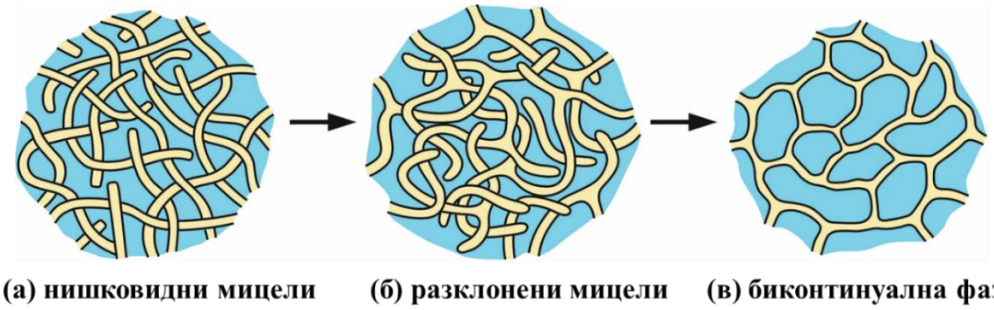
Съдържание на автореферата

Глава 1. Увод	**1**
1.1. Разглеждани проблеми	1
1.2. Цел, задачи и структура на дисертацията	2
Глава 2. Използвани материали и методи	**4**
2.1. Материали	4
2.2. Експериментални методи	5
Глава 3. Комплексни мицеларни фази	**8**
3.1. Увод	8
3.2. Образуване на комплексни мицеларни фази	8
3.3. Ефект на добавени едно- и двувалентни соли на реологичното поведение	12
3.4. Емулгиращи и солюбилизиращи свойства	14
3.5. Заключения	18
Глава 4. Физикохимично охарактеризиране отделянето на маслени замърсявания от изкуствена кожа	**19**
4.1. Увод	19
4.2. Изкуствена кожа Vitroskin®	19
4.3. Охарактеризиране на използваните ПАВ	19
4.4. Почистващи свойства на ПАВ и смеси от ПАВ	20
4.6. Заключения	26
Глава 5. Почистващи свойства на биконтинуални мицеларни фази	**27**
5.1. Увод	27
5.3. Приготвяне на биконтинуални мицеларни фази	27
5.4. Оптични наблюдения на отделянето на маслени замърсявания	28
5.5. Ръчно почистване на грим формулировки от изкуствена кожа	29
5.6. Заключения	31
Основни приноси на дисертацията	**32**
Публикации по дисертацията	**33**

Глава 1. Увод

1.1. Разглеждани проблеми

Биконтинуалната мицеларна фаза се образува в последния етап на структурното трансформиране на агрегатите от повърхностно активни вещества (ПАВ) при повишаване концентрацията на сол (Фиг. 3): нишковидни мицели → разклонени мицели → биконтинуална фаза (Drye *et al.* 1992; Candau *et al.* 1993; Khatory *et al.* 1993; Lequeux *et al.* 1994; Magid 1998; Cates & Fielding 2006). Образуването на разклонени мицеларни агрегати и мицеларни мрежи се наблюдава не само за йонни сърфактанти при високи концентрации на сол, но и при нейонни ПАВ, като полиоксиетилен алкил етери с повишаване на температурата (близо до температурата на помътняване, Cloud point), виж Kato *et al.* 1994 и Kato 1996, алкил глюкозиди с увеличаване на концентрацията на ПАВ (Nilsson *et al.* 1998), и др.



Фигура 3. Илюстрация на преминаването на (а) нишковидни мицели в (б) разклонени мицели, след което в (в) биконтинуална структура (многосвързана мицеларна фаза).

Свързването на разклонените мицели до образуване на многосвързана мицеларна фаза (ММФ) води до фазово разделяне (Porte *et al.* 1986; Drye & Cates 1992; Koehler *et al.* 2000; Nettesheim *et al.* 2007; Zana & Kaler 2007; Rogers *et al.* 2014; Mitrinova *et al.* 2022). В изследване на Georgiev *et al.* 2020 са получени биконтинуални фази от смесени мицеларни разтвори на натриев лаурил етер сулфат с 1 етилен оксидна група (SLES-1EO) и кокамидопропил бетаин (CAPB) в присъствието на двувалентни соли ($MgCl_2$, $CaCl_2$ и $ZnCl_2$). Отделената мицеларна фаза е бистра с лека опалесценция и вискозитет в интервала между 0.3 и 0.6 Pa·s. Поставена в контакт с ароматни молекули (лимонен, линалоол, цитронелол, бензил салицилат), биконтинуалната фаза ги „поглъща“ и при разреждане с вода спонтанно се получават наноемулсии с размер на капките около 130 nm. Енергията необходима за образуването на наноемулсии е значително по-малка сравнено с конвенционалните методи, които изискват механично разбъркване. Малкият

размер на капките е индикация, че мицеларните мрежи могат да намерят приложение във фармацията като носители на лекарства (Szczepanowicz *et al.* 2014; Patel *et al.* 2017; Nguyen *et al.* 2017; Chircov & Grumezescu 2019; Choudhury *et al.* 2019).

Всяка нова козметична формулировка трябва да бъде тествана за безопасност и ефективност преди да бъде допусната на пазара (Sakamoto *et al.* 2017; Ananthapadmanabhan 2019; Regulation No 1223/2009). В практиката няма утвърдени количествени методи, с които ефективно да се изследват почистващите свойства и съвместимостта на формулировките върху коса и кожа. Пазарното проучване показва, че производителите на козметични продукти или не предоставят ясни доказателства за претенциите на продуктите, или използват хетерогенни и несравними тестови методи (Spoo *et al.* 2002; Terhaer *et al.* 2010; Sonsmann *et al.* 2014a). В литературата основно се откриват различни стандартизирани процедура, предимно *in vivo*, и много малко *in vitro*.

Скъпите изследвания *in vivo* налагат разработването на *in vitro* процедури, които значително ускоряват процеса на тестване, намаляват цената и повишават възпроизводимостта и надеждността на получените резултати (Flaten *et al.* 2015; Schmidt *et al.* 2020). *In vitro* изследвания за тестване на кожни раздразнения са проведени върху триизмерен модел (3D) на човешка кожа (Förster *et al.* 2000) или върху клетъчни култури от човешка кожа (Ponec 1992; Perkins *et al.* 1999; Walters *et al.* 2016; Schmidt *et al.* 2020), които са полезни за елиминиране на необходимостта от кожни тестове върху хора и животни. Сравнение на основните 3D модели на кожа по отношение на приложимост, надеждност, цена и сложност е направено от Klicks *et al.* 2017. Morris *et al.* 2019 използват човешка кожа *ex vivo* за да измерят електропроводимостта и преминаването на вода през човешката кожа с увеличаване времето ѝ на контакт с повърхностно активните вещества. Кожата от свинско ухо също се използва за *in vitro* тестване на почистващи продукти (Schwarz *et al.* 2012). Синтетичната кожа Vitroskin® успешно се включва в множество проучвания, в които са разработени най-различни *in vitro* протоколи (виж Част 4.1).

1.2. Цел, задачи и структура на дисертацията

Целите на настоящата дисертация са:

1) Получаване и отделяне на комплексни мицеларни фази на базата на различни анионни и цвитерйонни ПАВ в присъствието на неорганични соли;

2) Включване на лимонен и витамин Е в изолираните фази и определяне способността им за спонтанно образуване на наноемулсии при разреждане;

3) Разработване на *in vitro* метод за характеризиране на почистващите свойства на разтвори от ПАВ, мицеларни фази и моделни формулировки на козметични продукти.

Конкретните основни задачи са:

1) Получаване и отделяне на многосвързани мицеларни фази (ММФ) в случай на смеси от анионно (3 най-често използвани) и цвитерйонно (2 най-често използвани) ПАВ в присъствието на едно- или двувалентни соли (NaCl; $MgCl_2$, $CaCl_2$ или $ZnCl_2$). Изследване реологичното поведение на мицеларните разтвори и отделените биконтинуални фази и доказване на наличието на биконтинуална мицеларна структура;

2) Включване на лимонен и витамин Е в структурата на мицеларната мрежа за оптималните формулировки и количествено определяне на капацитета им. Формиране на наноемулсии и измерване на размера на получените наноемулсионни капки;

3) Изследване на почистващите свойства на мицеларни разтвори от повърхностно активни вещества и охарактеризиране на процесите на отделяне на маслени замърсявания от повърхността на изкуствена кожа;

4) Разработване на *in vitro* метод, който да бъде прилаган при сравняване на почистващите свойства на различни мицеларни разтвори и козметични формулировки върху изкуствена кожа.

Структурата на дисертацията е както следва:

В Глава 2 са описани използваните материали и експериментални методи.

Глава 3 представя изследването и получаването на комплексните мицеларни фази, тяхното реологично поведение и емулгиращи свойства – спонтанно получаване на наноемулсии с витамин Е и лимонен.

Глава 4 е посветена на физикохимичното охарактеризиране на отделяне на маслени замърсявания от изкуствена кожа. Експериментално е определена повърхностната енергия на използваната изкуствена кожа. Охарактеризирани са повърхностно активни вещества – измерени са повърхностно и междуфазово напрежение, pH и проводимост. Изследвани са почистващите свойства на ПАВ и смеси от ПАВ, като са проведени експерименти с измерване на трифазните контактни ъгли върху изкуствена кожа.

В Глава 5 са охарактеризирани почистващите свойства на биконтинуална фаза по две процедури: (i) пряко наблюдение на отделянето на маслени замърсявания от изкуствена кожа (количествено определяне на трифазните контактни ъгли); (ii) ръчно почистване на грим формулировки от изкуствена кожа.

В края на дисертацията са сумирани основните резултати и заключения, както и основните приноси, и е приведен списък на използваната литература.

Глава 2. Използвани материали и методи

2.1. Използвани материали

Материали използвани в Глава 3

За получаване на многосвързаните мицеларни фази използвахме два типа повърхностно активни вещества: анионни и цвитерйонни. Използваните анионни сърфактанти са: (i) натриев додецил сулфат (SDS); (ii) натриев лаурил етер сулфат с 1 етилен оксидна група (SLES1-EO); натриев лаурил етер сулфат с 3 етилен оксидни групи (SLES-3EO). Избраните цвитерйонни ПАВ са: (i) N,N-диметилдодециламин N-оксид (DDAO); (ii) кокамидопропил бетаин (CAPB). Използваният CAPB е смес от цвитерйонни ПАВ, които се различават по броя на въглеродните атоми във веригата (от C8 до C16, от които 48% са C12), и NaCl. Чрез измерване на електропроводимостта определихме, че в 100 mM CAPB се съдържат 118 mM NaCl (Yavrukova *et al.* 2020a). С цел да проверим ефекта от добавената неорганична сол към мицеларните разтвори, използвахме NaCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$ и $ZnCl_2$. В настоящата дисертация, отношението между анионното и цвитерйонното ПАВ е фиксирано на 1:1.

Маслените субстанции за включване в структурата на биконтинуалните фази до получаването на наноемулсии са DL-α-tocopherol и (R)-(+)-Limonene. Витамин Е има широко приложение в козметичните продукти като силен антиоксидант.

За визуализация на свойствата на различните фази използвахме две багрила (липофилно и хидрофилно). Липофилните багрила са BODIPY и Sudan III. Използваното хидрофилно багрило е метиленово синьо.

Материали използвани в Глава 4

За физикохимичното охарактеризиране на отделянето на маслените замърсявания от изкуствена кожа използвахме три анионни, едно катионно и едно нейонно ПАВ. Анионните ПАВ са: (i) натриев лаурил етер сулфат с 2 етилен оксидни групи (SLES-2EO); (ii) динатриев лаурет сулфосуксинат (DSLSS); (iii) натриев додецил сулфат (SDS). Представител на катионните ПАВ е додецил триметил амониев бромид (DTAB). Използваното нейонно ПАВ е коко глюкозид (CG). За част от разтворите се използва твърда вода (150 ppm), която е приготвена по процедура на US Environmental Protection Agency. Използваните соли са $CaCl_2$, $MgCl_2$ и $NaHCO_3$.

Моделните замърсявания, които избрахме, са себум и диметикон. Моделният себум приготвихме със следния състав (Walters & Roberts 2002; Lu *et al.* 2009): 15% Squalene, 25% Wax esters, 2% Cholesteryl esters, 42% Triglycerides, 15% Fatty acids, 1% Cholesterol.

Избрахме диметикон като моделно замърсяване, понеже е ключова съставка в декоративната козметика – в продукти като червила, гланцове и т.н. (Mitsui 1997; Baki & Alexander 2015; Abe *et al.* 2017).

За изкуствена кожа избрахме Vitroskin®, закупена от IMS, Bunnell, FL, USA. Vitroskin® е синтетичен материал под формата на тънък лист, който ефективно имитира повърхностните свойства на човешката кожа (DeMarco *et al.* 2016). Изрязаните парчета кожа (1x2 см или 3.5x3.5 см), използвахме сухи или хидратирани, както е по процедура от производителя (Douguet *et al.* 2017): хидратиране на кожата за 16-20 часа в кутия над пари от разтвор на глицерин и вода, 52 g глицерин в 298 g вода.

За приготвяне на моделните почистващи формулировки използвахме: глицерин като овлажнител (хумектант); неорганична сол NaCl като сгъстител; Na Benzoate като консервант; парфюмна композиция, ПК. За нагласяне на pH на формулировките използвахме лимонена киселина (citric acid).

Материали използвани в Глава 5

За тестване на почистващите свойства на биконтинуалната структура, първо изолирахме биконтинуална фаза от SLES-2EO и CAPB с добавен $MgCl_2$. Моделните замърсявания, които нанасяхме на изкуствената кожа (Vitroskin®) са себум и диметикон. При тестовете с ръчно почистване използвахме две грим формулировки: фон дьо тен (Revlon® Colorstay Foundation, 520 Mocha); течно червило (Essence Stay 8h Matte 08).

Всички водни разтвори в настоящата дисертация са приготвени с дейонизирана вода от Millipore system, Burlington, MA, USA, (Milli-Q purification system).

2.2. Експериментални методи

Получаване на многосвързана мицеларна фаза (ММФ)

Първо приготвяме воден разтвор на двете ПАВ с обща концентрация 8 wt% и отношение 1:1, след което добавяме нужното количество сол и разбъркваме сместа при 70 °C на магнитна бъркалка. Готовият разтвор оставяме за една нощ в делителна фуния, за да отделим по-лесно получената биконтинуална фаза. Важно е да се отбележи, че нагряването на разтвора не е задължително – ММФ се получава и без нагряването на разтвора до 70 °C, но отделянето на фазите една от друга (биконтинуална фаза и водна фаза) става значително по-бавно, ако сместа не е била нагрята. Всички последващи експерименти за охарактеризиране на биконтинуалните фази са проведени при 25 °C.

Оптична микроскопия

За провеждане на оптичните наблюдения използвахме микроскоп AxioImager M2m (Zeiss, Oberkochen, Germany) оборудван с флуоресцентен филтър. Липофилното багрило

BODIPY оцветява само мицеларната (биконтинуалната) фаза в жълто-зелен цвят. Метиленовото синьо оцветява само водната фаза в син цвят.

Крио-трансмисионна електронна микроскопия (Cryo-TEM)

Образците за cryo-TEM бяха приготвяни с автоматизирана система Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific) при 25 °C и 100% относителна влажност, при сила на попиване (blot force) −25 (a.u.) и време на попиване 2 s. Витрифицираните образци се прехвърляха и съхраняваха в течен азот при -196 °C до момента на измерването. Cryo-TEM изображенията се регистрираха на трансмисионен електронен микроскоп JEOL JEM-2100, оборудван с крио-държател Gatan Orius 1000 CCD camera (JEOL, Akishima, Japan), който поддържа образците при температура около -173 °C.

Рентгеново разсейване при малки ъгли (Small-angle X-ray scattering, SAXS)

Използвахме система Xeuss 3.0 (SAXS/WAXS System, Xenocs, Grenoble, France) с рентгенов източник CuKa X-ray (λ = 0.154 nm, Xeuss 3.0 UHR Dual Source Mo/Cu, Xenocs, Sassanage, France) и детектор Eiger2 4 M (Dectris Ltd., Baden Deattwil, Switzerland). Разстоянието от пробата до детектора (1000 mm и 3000 mm) позволява да се достигне диапазон от 0.01-0.5 $Å^{-1}$, като измерването продължава 30 минути. Пробите бяха поставени във вакуумно запечатани, тънки, боросиликатни капиляри с външен диаметър 1 mm и дебелина 10 μm. Измерванията проведохме при 25 °C.

Реологични измервания

Всички реологични експерименти са проведени на реометър Bohlin Gemini (Malvern Instruments, UK) оборудван с елементи CP 2/60 и CP 4/40 за измерване на реологичното поведение на мицеларните разтвори. Измервахме привидния вискозитет като функция от скоростта на деформация в диапазона от 0.001 до 1000 s^{-1}. Температурата контролирахме с помощта на елемент на Пелтие, като за всички експерименти тя беше 25 °C. Изпарението на пробата потискахме чрез използването на термостатиращ кожух.

Динамично лазерно светоразсейване (DLS)

За да получим разпределенията по размер на емулсионните капки в наноемулсиите и тези на набъбналите мицели, използвахме метода на динамично лазерно светоразсейване (dynamic light scattering, DLS) с апарат LS Spectrometer™ от LS Instruments AG, Fribourg, Switzerland.

Повърхностно и междуфазово напрежение, pH и проводимост

Измерихме статичното повърхностното напрежение на разтвори на използваните ПАВ при 30 °C с пръстен на du Noüy на апарат K100 (Krüess GmbH, Hamburg, Germany).

Динамичното повърхностно напрежение измерихме по метода на максималното налягане в мехурче с апарат BP100 (Krüess GmbH, Hamburg, Germany) при 30 °C.

По метода на висящата капка измерихме междуфазовото напрежение на маслата (себум и диметикон) с подбрани разтвори на ПАВ, с помощта на апарат Drop Shape Analyzer DSA100E (Krüess GmbH, Hamburg, Germany) при 30 °C.

Измерихме pH и електропроводимост на всички разтвори на ПАВ с апарат Fisherbrand™ accumet™ AB200 benchtop pH/conductivity meter при 30 °C.

Пряко наблюдение на отделяне на маслени замърсявания от изкуствена кожа

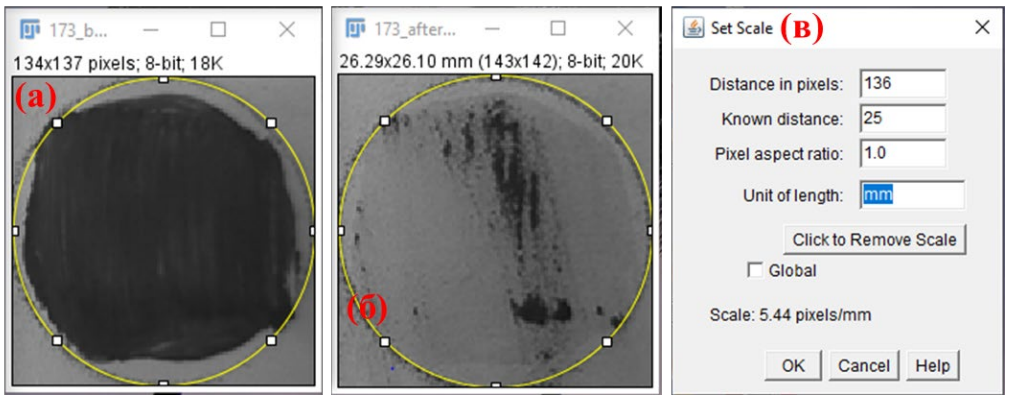
Експериментите проведохме на апарат Drop Shape Analyzer DSA10 (Krüess GmbH, Hamburg, Germany), като метода и експерименталната установка адаптирахме от Yavrukova *et al.* 2020b.

Ръчно почистване на изкуствена кожа

Процедурата за ръчно почистване на изкуствена кожа с разтвори на ПАВ, адаптирахме от публикацията на DeMarco *et al.* 2016.

Разработихме и приложихме метод със софтуерен анализ на изображения с цел да оценим по-добре почистването върху цялата тестова зона (25 mm диаметър, Фиг. 9). За целта правим снимки и осредняваме интензитета на цвета преди нанасяне на замърсяването (I_{HS}), и интензитета след почистване на кожата (I_{HCS}), като отношението между двата интензитета ни дава Почистване (%):

$$\text{Почистване (\%)} = \frac{I_{HCS}}{I_{HS}} \times 100 \qquad (4)$$



Фигура 9. Софтуерен анализ на изображения (Image J): (а) интензитет на хидратирана кожа, $I_{HS;}$ (б) интензитет на хидратирана почистена кожа, I_{HCS} (цялата тестова зона); (в) зададена скала в програмата спрямо диаметъра на тестовата зона, 25 mm. Определеното Почистване(%) на Фиг. 9, използвайки уравнение (4), е 71%.

Глава 3. Комплексни мицеларни фази

3.1. Увод

В настоящата глава е описано получаването на многосвързани мицеларни фази (ММФ), използвайки по-голям набор от анионни и цвитерйонни повърхностно активни вещества, в присъствието на неорганични соли. Всички избрани ПАВ имат широко приложение в продуктите за лична грижа (Nicolas-Morgantini *et al.* 2007). Цвитерйонното повърхностно активно вещество DDAO има антимикробна активност срещу Staphylococcus aureus и Escherichia coli (Birnie *et al.* 2000), нисък потенциал за биоакумулация във водни организми и биоконцентрация в сухоземни организми.

3.2. Образуване на комплексни мицеларни фази

С цел да се провери ефектът от броя на етилен оксидните групи (EO) в йонните ПАВ при формирането на биконтинуалните фази, бяха изследвани смеси от цвитерйонно (DDAO и CAPB) и анионно (SDS, SLES-1EO и SLES-3EO) повърхностно активни вещества с добавяне на едно- (NaCl) и двувалентни ($CaCl_2$, $MgCl_2$, $ZnCl_2$) соли.

При добавянето на $MgCl_2$ към сместа 1:1 SDS+DDAO (пълна концентрация, c_{tot} = 8 wt%) се получават бистри разтвори до 40 mM добавена сол, а изсолването на ПАВ се наблюдава над 50 mM $MgCl_2$ (Фиг. 10а). Изсолването в случая с $CaCl_2$ е по-ясно изразено, понеже при всички разтвори има кристали над концентрация на добавена сол от 20 mM $CaCl_2$ (Фиг. 10б). За разлика от това, при замяна на анионното SDS със SLES-3EO, всички разтвори са бистри с до 350 mM добавен $MgCl_2$ – не се образува ММФ (Фиг. 10в). От друга страна, добавянето на повече от 10 mM $CaCl_2$ към същата смес от ПАВ води до получаването на мътни разтвори с преципитати (Фиг. 10г).

При замяна на SLES-3EO със SLES-1EO, т.е. 1:1 SLES-1EO+DDAO, при добавянето на двувалентна сол ($CaCl_2$ или $MgCl_2$) се получават концентрационни интервали, при които се образува многосвързана мицеларна фаза (ММФ) (Фиг. 11а и 11б). За всички изследвани системи, добавянето на $ZnCl_2$ води до получаването на мътни разтвори без образуването на ММФ. Очертават се три концентрационни области: (i) бистри разтвори; (ii) отделяне на биконтинуална фаза; (iii) изсолване на повърхностно активните вещества (ПАВ). Разтворите са бистри до 40 mM добавен $MgCl_2$, като вискозитетът на разтворите преминава през максимум.

С цел да се обясни ефектът от структурата на добавеното анионно ПАВ към DDAO (Таблица 1), се проведоха експерименти, при които към 4 wt% ПАВ (SDS, SLES-1EO, SLES-3EO, DDAO) се добавят различни концентрации на двувалентна сол. Добавянето

на до 120 mM $MgCl_2$ или $CaCl_2$ към 4 wt% разтвор на индивидуалните повърхностно активни вещества води до получаването само на бистри разтвори, с изключение на SDS – наблюдават се мътни разтвори още при добавени 50 mM $MgCl_2$ или $CaCl_2$. Енергията на свързване на противойоните (Mg^{2+} и Ca^{2+}) към главите на ПАВ се понижава с увеличаването на броя на етилен оксидните групи. Поради тази причина, по-ниската енергия на свързване със SLES-3EO води до образуването на смесени нишковидни мицели и монотонно нарастване на вискозитета на разтворите при добавен до 350 mM $MgCl_2$ за двете системи: SLES-3EO+DDAO и SLES-3EO+CAPB. По-високата енергия на свързване на противойните със SDS води до изсолването на повърхностно активното вещество при по-ниска концентрация на добавените двувалентни соли. Следователно, увеличаването на броя на етилен оксидните групи на йонните ПАВ пречи на прехода от разклонени мицели в биконтинуална фаза в присъствието на двувалентни соли.

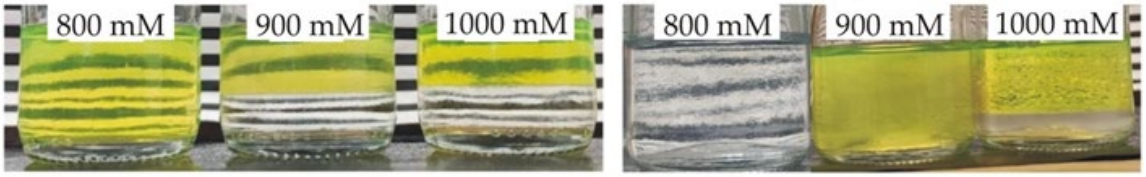
Таблица 1. Характерни концентрации за системата: 8 wt% 1:1 йонно+цвитерйонно повърхностно активни вещества в присъствието на двувалентна сол.

	Концентрация на сол (mM), при която вискозитетът има максимална стойност		Концентрационен интервал (mM), при който се формира ММФ		Концентрация (mM), при която се наблюдава изсолване	
Система	$MgCl_2$	$CaCl_2$	$MgCl_2$	$CaCl_2$	$MgCl_2$	$CaCl_2$
SDS +CAPB	20	15	60–90	40–70	> 90	> 70
SDS +DDAO	20	20	Не се образува	Не се образува	> 25 (кристали)	> 25 (кристали)
SLES-1EO +CAPB	30	20	60–170	50–70	> 170	> 70
SLES-1EO +DDAO	20	30	50–70	60–80	> 70	> 80

За системата 8 wt% 1:1 SLES-3EO+CAPB, добавената концентрация на двувалентна сол ($CaCl_2$ и $MgCl_2$) варира от 0 до 450 mM. Всички разтвори са с висок вискозитет и са бистри без образуване на биконтинуални фази. Ако броя на етилен оксидните (EO) групи е по-малък, т.е. SLES-1EO+CAPB, се наблюдава формирането на ММФ при добавянето на двувалентни соли (Фиг. 11в и 11г). Експерименталните резултати за системата 8 wt%

1:1 SDS+CAPB в присъствието на двувалентни соли показват образуването на ММФ в концентрационните интервали от 60 до 90 mM за $MgCl_2$ и от 40 до 70 mM $CaCl_2$.

Поведението на системата 8 wt% 1:1 SLES-1EO+CAPB в присъствието на $MgCl_2$ и $CaCl_2$ (Фиг. 11в и 11г) е аналогично на това илюстрирано на Фиг. 11а и 11б. Основната разлика е в концентрационният интервал, в който се образува биконтинуална фаза: (i) от 60 mM до 160 mM добавен $MgCl_2$ и (ii) от 50 mM до 70 mM добавен $CaCl_2$, т.е. типа на цвитерйонния сърфактант е от значение за образуването на ММФ.



(а) SLES-1EO+DDAO + NaCl (б) SLES-1EO+CAPB + NaCl

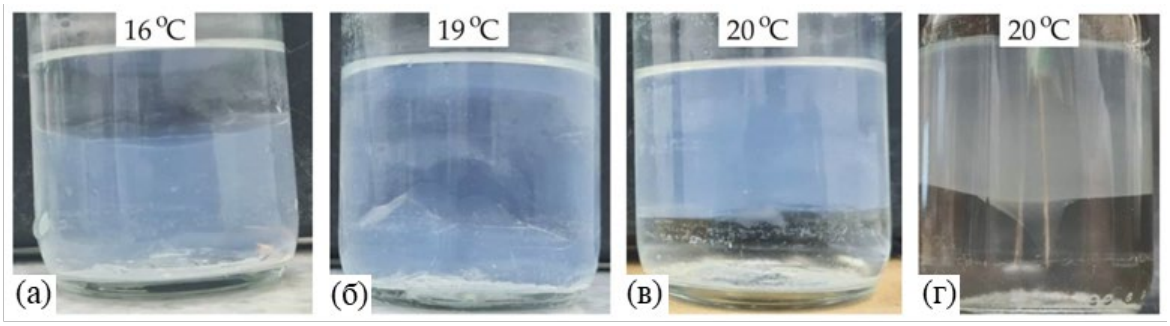
Фигура 12. Снимки на 8 wt% 1:1 SLES-1EO + цвитерйонен сърфактант, илюстриращи ефекта от добавен NaCl: (а) в присъствието на DDAO; (б) в присъствието на CAPB. Концентрацията на добавената сол е изписана на всяка проба.

Освен с двувалентни соли, многосвързана мицеларна фаза се получава и в присъствието на едновалентната сол – NaCl. Концентрацията на NaCl, която е нужна за получаване на ММФ, е 900 mM (Фиг. 12а) в случай на DDAO и 1 M (Фиг. 12б) за системата с CAPB. Това означава, че едновалентната сол също може да се използва за получаването на биконтинуална фаза, въпреки че при други отношения между йонните и цвитерйонните сърфактанти може и да не се образува (Mitrinova *et al*. 2022). Следователно, формулировките базирани на ММФ могат да съдържат значително по-малко количество сол, ако внимателно се подбере вида на солта.

Образуваната биконтинуална фаза от SLES-1EO+CAPB + сол седиментира на дъното на съда при стайна температура (Georgiev *et al.* 2020; Stancheva *et al.* 2022), виж Фиг. 11в и 11г. При замяната на CAPB с DDAO, биконтинуалната фаза се отделя като горна фаза (виж Фиг. 11а и 11б). Обяснението за този ефект е, че разликата в плътностите на двете фази е много малка, а зависимостта на плътностите от температурата е различна.

Границата между двете фази (Фиг. 13) се характеризира с ултра ниско междуфазово напрежение и добре изразена еластичност. Тя се държи като еластична мембрана, която е лесно податлива на огъване (ниско междуфазово напрежение). Измерванията на междуфазовото напрежение бяха невъзможни с метода на висящата капка или с метода

на въртящата се капка, понеже отделената ММФ образува струя и тече в бистрата фаза (с по-ниска концентрация на ПАВ) без да се формира капка.



Фигура 13. Зависимост на плътността на двете фази от температурата: (а) при 16 °C; (б) при 19 °C; (в) при 20 °C; (г) илюстрация на ултра ниското междуфазово напрежение.

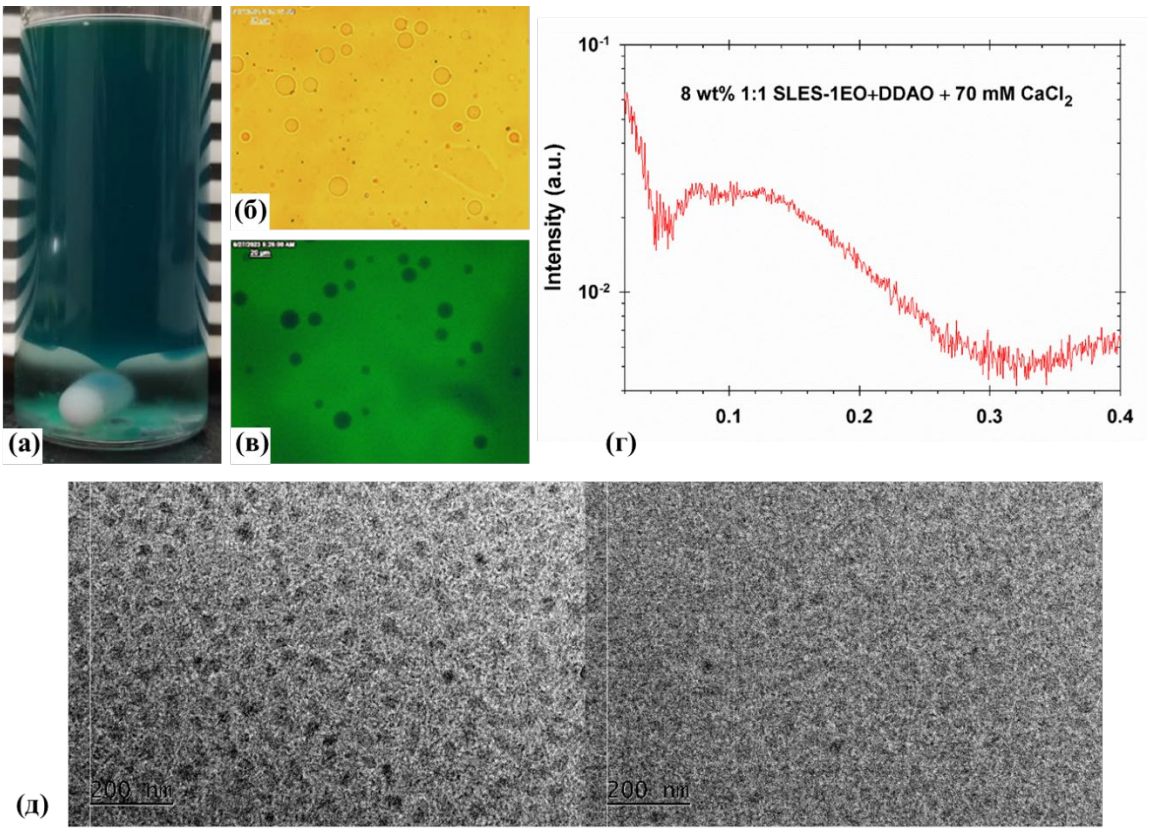
Доказване на наличието на биконтинуална структура

За потвърждение наличието на биконтинуалната структура в мицеларната мрежа са използвани три независими подхода. Първият подход е използването на две багрила: BODIPY и водоразтворимото багрило метиленово синьо. Снимките на пробите съдържащи 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$ показват, че двете багрила (липофилното и хидрофилното) оцветяват горната фаза (Фиг. 15а). Долната фаза е слабо оцветена с нисък интензитет на синия цвят. Това означава, че горната фаза съдържа достатъчно вода за да разтвори метиленовото синьо и цветът да стане синьо-зелен. При диспергиране на водната фаза в тъмносинята фаза, отново се виждат „капки“ в преминала светлина (Фиг. 15б). Във флуоресцентен режим, същите „капки“ са тъмни, докато фона е в зелен цвят (Фиг. 15в).

Вторият подход е използване на Small-angle X-ray scattering (SAXS). На Фиг. 15г е показана формата на получения дифракционен спектър. Спектърът не съответства на нито една от известните подредени течно-кристални фази. В литературата (Barauskas 2005; Valldeperas *et al.* 2016; Bhattacharya *et al.* 2020; Tartaro *et al.* 2023; Gilbert *et al.* 2023), аналогични (по форма) спектри също са наблюдавани и авторите единодушно приписват тази форма на наличието на биконтинуални (многосвързани, гъбести) мицеларни фази.

Третият подход е използване на крио-трансмисионна електронна микроскопия (Cryo-TEM) (Фиг. 15д). От микроскопските снимки се забелязва, че има тъмни участъци на по-светъл фон. Тъмните участъци са пори (водни канали, които минават през биконтинуалната мрежа от молекули на ПАВ), докато светлите участъци – биконтинуална мрежа от молекули на ПАВ. В изследване (Hao *et al.* 2024), авторите са приложили иновативна 3D крио-електронна микроскопска томография и са доказали

пространствената структура на подобна биконтинуална мицеларна мрежа, като получените крио-електронни образи са сходни на тези дадени на Фиг. 15д.



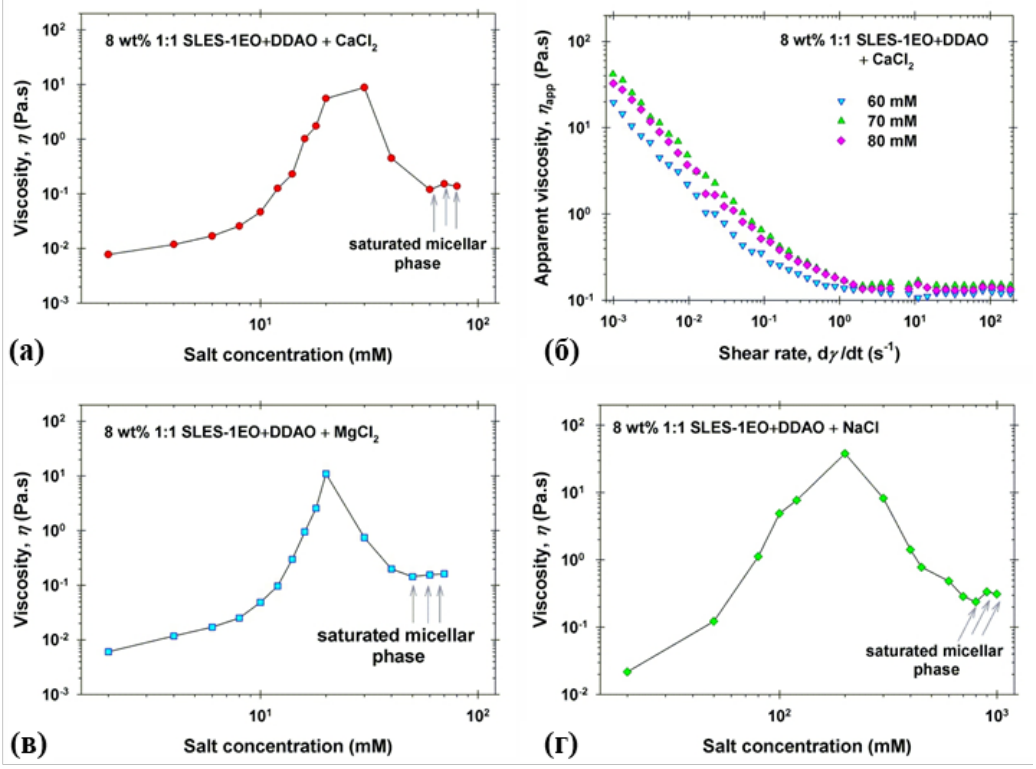
Фигура 15. Потвърждение за наличието на биконтинуална природа в образуваната мицеларна мрежа за системата 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$. Към системата са добавени липофилно и хидрофилно багрило (BODIPY и метиленово синьо), (а) снимка на пробата. Микроскопски снимки на пробата след разклащане: (б) в преминала светлина; (в) във флуоресцентен режим. (г) SAXS спектър и (д) Cryo-TEM снимки на биконтинуалната фаза без добавени багрила.

3.3. Ефект на добавени едно- и двувалентни соли на реологичното поведение

Реологичното поведение на сместа SLES-1EO+CAPB е изследвано в литературата (Stancheva *et al.* 2022). В дисертацията са обобщени получените експериментални резултати за SLES-1EO+DDAO и SLES-1EO+CAPB в присъствието на соли.

Фиг. 17а и 17в показват зависимостта на вискозитетите при нулева деформация от концентрацията на добавената сол ($CaCl_2$ и $MgCl_2$) за системата SLES-1EO+DDAO. Тези зависимости имат вида на типични солеви криви с максимум във вискозитета (Nicolas-Morgantini *et al.* 2007; Parker *et al.* 2013; Yavrukova *et al.* 2020a). Максималните стойности, които достига вискозитета са 8.8 Pa·s при добавени 30 mM $CaCl_2$ и 11 Pa·s при 20 mM $MgCl_2$. След което, при дадена концентрация на добавената двувалентна сол, се

наблюдава фазово разделяне. Интерпретацията на такива криви е добре известна от литературата (Drye & Cates 1992; Candau *et al.* 1993; Khatory *et al.* 1993; Lequeux & Candau 1994; Cates & Fielding 2006; Yavrukova *et al.* 2020). Теорията на Кейтс (Drye & Cates 1992; Candau *et al.* 1993; Cates *et al.* 2006), включваща реакцията на обратимо скъсване и рекомбинация на нишковидните мицели („живи полимери“), описва връзките между размер, форма и самоорганизация на мицелите и реологично поведение на разтворите.

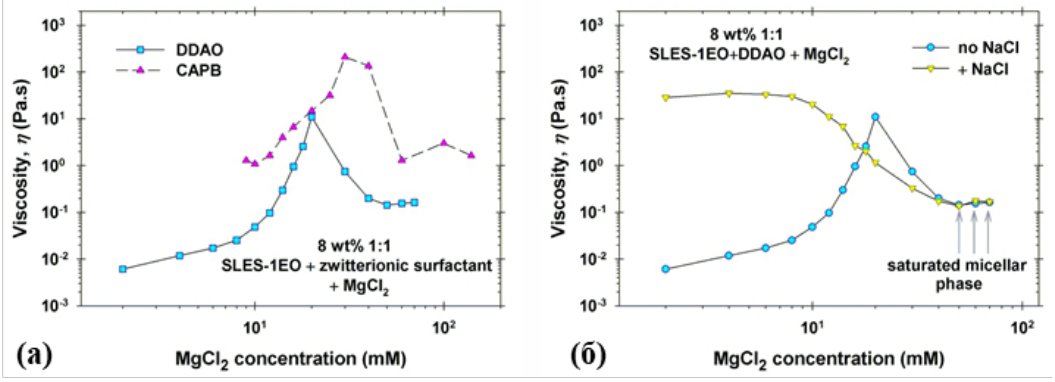


Фигура 17. Реологичното поведение на системата 8 wt% SLES-1EO+DDAO в присъствието на различни соли: (а) солева крива при добавен $CaCl_2$, където последните точки са измереният вискозитет на отделената ММФ; (б) привидният вискозитет като функция от скоростта на деформация за отделените ММФ с $CaCl_2$; (в) солева крива при добавен $MgCl_2$; (г) солева крива при добавен NaCl.

Изследвано е и реологичното поведение на отделената биконтинуалната фаза (Фиг. 17б) за да се покаже, че кривите не се различават особено и не зависят от концентрацията на добавената сол ($CaCl_2$). Последните три експериментални точки на Фиг. 17а съответстват на Нютонов вискозитет на изолираната ММФ, който се наблюдава при високите скорости на деформация.

На Фиг. 17г е илюстриран ефектът от добавянето на едновалентната сол NaCl към SLES-1EO+DDAO. Солевата крива не се различава особено от тези с добавена двувалентна сол. Разлика се наблюдава в максималните стойности на вискозитета (28

Pa·s) при добавена значително по-висока концентрация на NaCl (200 mM), като Нютоновият вискозитет на отделената биконтинуална фаза е 0.3 Pa·s. Стойностите на вискозитета са два пъти по-високи от получените в присъствието на двувалентните соли.



Фигура 18. (а) Сравнение на солевите криви (вискозитета като функция от добавената концентрация на $MgCl_2$) получени за сместа 8 wt% 1:1 SLES-1EO+цвитерйонно ПАВ (DDAO или CAPB). (б) Ефект от добавянето на NaCl (същото моларно отношение, както в проба от CAPB) към сместа SLES-1EO+DDAO + $MgCl_2$. Последните три експериментални точки на графиките съответстват на изолираната биконтинуална фаза.

Ефектът от използвания цвитерйонен сърфактант с добавен $MgCl_2$ е показан на Фиг. 18а. Солевите криви имат подобна форма със значителна разлика в стойността и позицията на максималния вискозитет: (i) 11 Pa·s при добавени 20 mM $MgCl_2$ за DDAO; (ii) 210 Pa·s при 30 mM $MgCl_2$ за CAPB. Измереният вискозитет на отделените биконтинуални фази с CAPB е около 10 пъти по-висок от този на ММФ с DDAO.

3.4. Емулгиращи и солюбилизиращи свойства

Течни въглеводороди със сравнително малки молекули (като лимонен, линалоол, цитронелол и бензил салицилат) могат да бъдат включени в структурата на многосвързаната мицеларна фаза (Georgiev *et al.* 2020). Установен е възможният механизъм (Фиг. 19) на наноемулгиране, който се състои от взаимодействието на маслените молекули с мицеларната мрежа, включващо: (1) формирането на нано-маслени капки във възлите на мрежата; (2) след което, структурата на ММФ се разрушава при разреждане с вода; (3) нано-капките се отделят и се образува права наноемулсия.

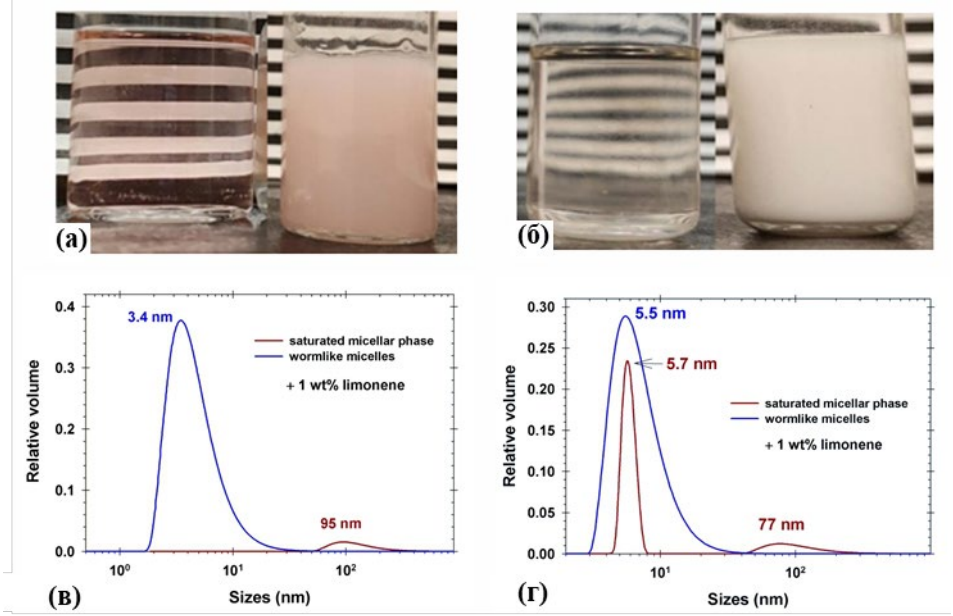
Наноемулгиране на лимонен и витамин Е

Процедурата за наноемулгиране на лимонен, с помощта на биконтинуална фаза, е следната: към изолираната ММФ, от 8 wt% SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$, се добавя 1 wt% лимонен, след което се разбърква за 1 час на магнитна бъркалка при стайна температура. За да бъде определена общата концентрация на повърхностно активни

вещества в отделената биконтинуална фаза от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO, проба от фазата бе изсушена до постоянно тегло в сушилня при 50 °C. Полученият резултат показва, че общата концентрация на ПАВ в отделената ММФ е 12 wt% (442 mM).

Аналогични експерименти за наноемулгиране на лимонен бяха проведени и с мицеларен разтвор на ПАВ с концентрация 12 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO, но без добавена сол, в който не се образува ММФ, а само нишковидни мицели. За да бъдат различени нишковидните мицели от изолираната биконтинуална фаза и да се локализира мястото на лимонена, в маслото е добавено маслоразтворимо багрило.

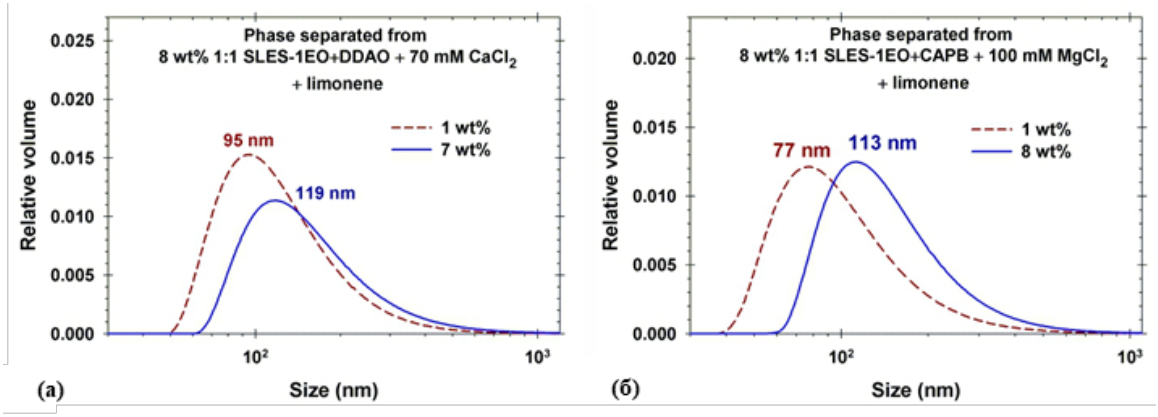
Получените резултати са показани на Фиг. 20а – разтворът с нишковидните мицели (снимката отляво на Фиг. 20а) е бистър и не се образува емулсия в присъствието на лимонен (добавеният лимонен е солюбилизиран в мицелите). Това се доказва от хомогенния бледо розов цвят на разтвора. В случай на изолираната ММФ (снимката отдясно на Фиг. 20а), добавеният лимонен се диспергира под формата на капки и разтвора е мътен. Мътността на разтвора се обяснява със солюбилизирания лимонен във възлите на мицеларната мрежа (виж Фиг. 19).



Фигура 20. Добавен 1 wt% лимонен към мицеларен разтвор съдържащ (а) SLES-1EO+DDAO: лявата снимка съответства на същата концентрация на ПАВ, но без добавена сол, а дясната – при наличие на биконтинуална фаза отделена от SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$; (б) SLES-1EO+CAPB: лявата снимка – смес от ПАВ без добавена сол, дясната – биконтинуална фаза от SLES-1EO+DDAO + 100 mM $MgCl_2$. (в) Резултати от динамично лазерно светоразсейване (DLS) на пробите от (а) след разреждане с вода. (г) DLS резултати на пробите от (б) след разреждане с вода.

Проведени са и измервания с динамично лазерно светоразсейване за да се определи разпределението по размер на емулсионните капки. За целта се използва малка проба от емулсията, която се разрежда 100 пъти с вода. На Фиг. 20в са показани резултатите за двете дисперсии съдържащи SLES-1EO и DDAO. След разреждането на пробите с вода, пълната концентрацията на ПАВ в двата разтвора е 4.4 mM. В случай на 12 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO (без добавена сол), мицелите са с логнормално разпределение по обем и среден размер 3.4 nm – не се наблюдават емулсионни капки. При разреждането с вода на ММФ + 1% лимонен, се наблюдава наноемулсия със среден размер на капките 95 nm.

На Фиг. 20 е илюстриран и ефектът от смяната на DDAO с CAPB. Резултатите са аналогични на тези получени с другото цвитерйонно ПАВ (DDAO, Фиг. 20а) – разтворът с нишковидните мицели е бистър, този с ММФ е мътен. Резултатите с разпределението по размер от измерванията на DLS са обобщени на Фиг. 20г.



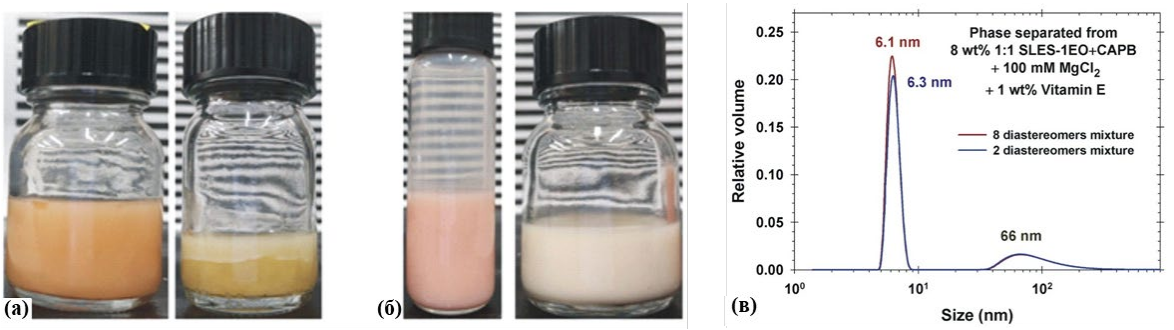
Фигура 22. Разпределение по размер на наноемулсионните капки от изолирана биконтинуална фаза получена от: (а) 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$ в присъствието на 1 wt% и 7 wt% лимонен; (б) от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+CAPB + 100 mM $MgCl_2$ в присъствието на 1 wt% и 8 wt% лимонен.

За определяне на капацитета на наноемулгиране на лимонен в биконтинуалната фаза, към отделената фаза се добавят различни количества от оцветения лимонен. Пробите се разбъркват на магнитна бъркалка за 1 час при стайна температура, след което се оставят за поне една седмица, снимките на пробите са показани на Фиг. 21 в дисертацията. Резултатите показват, че фазата с DDAO поема до 8 wt% лимонен, а тази с CAPB има по-голям капацитет – до 10 wt% лимонен. Измерванията на DLS на пробите с DDAO (Фиг. 22а) показват, че увеличаването на тегловната част на лимонен води до слабо увеличаване на размера на емулсионните капки.

Втората субстанция, която беше избрана за наноемулгиране с помощта на ММФ, е витамин Е, а резултатите са илюстрирани на Фиг. 23а и 23б. Първо, към изолираната

ММФ от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$ е добавен 1 wt% витамин Е (Фиг. 23а), като в пробата отляво, използваният витамин Е е смес от 8 диастереомера, докато в пробата отдясно, е смес от 2 диастереомера. И двата вида проби на витамин Е (1 wt%) не могат да бъдат напълно диспергирани във фаза изолирана от 1:1 SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$.

За разлика от фазата с DDAO, изолираната биконтинуална фаза от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+CAPB + 100 mM $MgCl_2$ напълно поглъща и двата вида витамин Е (2-диастереомер и 8-диастереомер). В двата случая, добре се илюстрира хомогенното диспергиране на маслената субстанция като не се наблюдават недиспергирани капки от витамин Е и/или фазово разделяне 2 месеца след приготвяне на пробите. На Фиг. 23в са показани резултатите от динамично лазерно светоразсейване (DLS) – разпределенията по обем на емулсионните капки след разреждане с вода за системата с CAPB. От получените резултати, може да се направи изводът, че CAPB-съдържащата биконтинуална фаза има различни свойства от тази с DDAO по отношение на възможността да бъде използвана за спонтанно наноемулгиране на витамин Е. В случай с наноемулгиране на лимонен, двете цвитерйонни ПАВ имат подобни свойства (виж Фиг. 22).



Фигура 23. Снимки на изолирана биконтинуална фаза с диспергиран 1 wt% витамин Е: (а) фаза отделена от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO + 70 mM $CaCl_2$; (б) фаза отделена от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+CAPB + 100 mM $MgCl_2$; (в) разпределение по размер на емулсионните капки от витамин Е в изолираната фаза от (б).

От литературата (Georgiev *et al.* 2020) е известно, че капацитетът на наноемулгиране на фазата със SLES-1EO+CAPB намалява с увеличаване на ван дер Ваалсовият обем на маслената молекула, като не корелира с липофилността ѝ, която се характеризира с log*P* (Georgiev *et al.* 2020). В нашия случай (с DDAO), ван дер Ваалсовият обем за лимонен е 154.7 $Å^3$, а определеният за витамин Е е от порядъка на 430 $Å^3$ (Khallouki *et al.* 2016). Това може да обясни по-ниския капацитет на наноемулгиране, който се наблюдава с витамин Е.

Всички изолирани биконтинуални фази и получените с тях наноемулсии са стабилни. Не се наблюдава фазово разделяне, отделяне на маслени лещи или промяна в размера на капките за три месеца престой при стайна температура.

3.5. Заключения

Проведено беше системно изследване на свойствата на ММФ с по-голям брой повърхностно активни вещества – смеси от йонни (SDS, SLES-1EO, SLES-3EO) и цвитерйонни (CAPB и DDAO) ПАВ в присъствието на двувалентни соли ($MgCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$) и NaCl. Основното заключение е, че увеличаването на броя на етилен оксидните групи в йонните ПАВ, възпрепятства преминаването на разклонените мицели в многосвързана мицеларна фаза – смеси със SLES-3EO не формират биконтинуална структура. SDS може да се използва за получаването на такъв тип фази, но само с добре подбрано цвитерйонно ПАВ (с CAPB се получават ММФ, но с DDAO не се образуват). Оптималният избор е да се използва SLES-1EO в комбинация с CAPB или DDAO.

Многосвързаната мицеларна фаза се формира в тесен диапазон на добавена двувалентна сол ($MgCl_2$ и $CaCl_2$) с концентрации от 40-50 mM до 70-80 mM и, също така, в присъствието на значително по-високи концентрации на NaCl – от 0.9 M до 1.0 M. Следователно, биконтинуална фаза може да се образува и в присъствие на едновалентни соли, но при висока концентрация на електролит в мицеларния разтвор.

Биконтинуалната структура се доказва с използването на липофилно и хидрофилно багрило, cryo-TEM и SAXS експерименти. Междуфазовата граница между мицеларната мрежа и богатата на вода фаза се държи като еластична мембрана, която е лесно податлива на огъване (ниско междуфазово напрежение). Реологичните свойства на изолираната фаза: (i) не зависят от концентрацията на началния разтвор, от който е отделена фазата; (ii) показват shear-thinning поведение; (iii) имат Нютоново поведение при високи скорости на деформация, с вискозитети в диапазона от 0.3 Pa·s до 0.8 Pa·s.

Основното предимство на отделените ММФ е способността им да поглъщат малки ароматни молекули и витамин Е, които хомогенно се диспергират във възлите на мицеларната мрежа. При разреждане с вода, мицеларната мрежа се разрушава и спонтанно се образува наноемулсия. Капацитетът на мицеларната мрежа изолирана от 8 wt% 1:1 SLES-1EO+DDAO и 8 wt% 1:1 SLES-1EO+CAPB в присъствието на двувалентни соли е 8 wt % и 10 wt% лимонен, съответно. Способността на наноемулгиране, в случай с витамин Е, зависи от типа на цвитерйонния ПАВ.

Глава 4. Физикохимично охарактеризиране на отделяне на маслени замърсявания от изкуствена кожа

4.1. Увод

Целта на настоящата глава е да се демонстрира, че моделните експерименти с изкуствена кожа могат да бъдат приложени за изследване на физикохимичните механизми за отделяне на маслени замърсявания и за разграничаване на ефектите на различните видове повърхностно активни вещества (ПАВ) в почистващи формулировки. За целта е използвана изкуствена кожа Vitroskin®, на която е определена повърхностната енергия (*in vitro*) и е сравнена с наличните данни за човешка кожа *in vivo*. За да бъдат разграничени ефектите на различните видове сърфактанти, в настоящата глава, са използвани следните ПАВ: анионните натриев лаурет сулфат (SLES), натриев лаурет сулфосуксинат (DSLSS) и натриев додецил сулфат (SDS); катионното додецил триметил амониев бромид (DTAB); нейонното коко глюкозид (CG). Проведени са експерименти с две замърсявания: моделен себум (смес от въглеводороди, мастни киселини, естери и др., виж Част 2.1) и диметикон (полидиметил силоксан, PDMS). Освен това, са получени резултати и с по-сложни почистващи формулировки, които показват ползата от моделните експерименти при разработването на реални козметични продукти.

4.2. Изкуствена кожа Vitroskin®

Vitroskin® представлява колагенова подложка съдържаща протеини и липиди, която ефективно имитира повърхностните свойства на човешката кожа. Въпреки широкото използване на Vitroskin®, в литературата почти не се откриват данни за стойността на нейната повърхностната енергия (Eudier *et al.* 2019).

Експериментално определихме повърхностната енергия на хидратирана и на суха изкуствена кожа Vitroskin®: 37.1 mN/m и 35.43 mN/m, съответно. Тези стойности са много близки до измерените от Eudier *et al.* 2019 (35.8 mN/m), както и до тези измерени *in vivo* в литературата за човешка кожа (Elkhyat *et al.* 1996; Tsujii 2017). Това доказва, че изкуствената кожа Vitroskin® е подходяща за имитиране на човешка кожа при процеси, в които повърхностната енергия и процесите на омокряне и отмокряне са определящи са поведението, като например при ползване на козметични и лекарствени формулировки.

4.3. Охарактеризиране на използваните ПАВ

С всички използвани сърфактанти (ПАВ) са получени изотерми на повърхностно и на междуфазово напрежение на границата вода/диметикон при 30 °C, с цел доближаване до температурата на водата, която се използва при почистване на кожата. Сравнението

на получените стойности за ККМ от двата вида изотерми (Таблица 4) показва значителни разлики за някои от използваните ПАВ, което най-вероятно е свързано с масло-разтворими нейонни примеси в съответните вещества.

Таблица 4. Критичните концентрации на мицелообразуване (ККМ) определени от изотермите на Фиг. 24 за границата въздух/разтвор и диметикон/разтвор. Последната колона в таблицата показва диапазон от pH, който съответства на разтворите на ПАВ.

ПАВ	ККМ, wt%		Диапазон на pH
	Въздух/Вода	Диметикон/Вода	
CG	0.0037	0.0054	6.7–10.8
DSLSS	0.0012	> 0.1	7.0–5.0
SLES	0.079	> 0.1	7.0–6.0
DTAB	0.49	0.49	6.5–5.7

Сравнението в Таблица 4 показва, че динатриевият лаурет сулфосуксинат (DSLSS) е най-повърхностно активен, докато катионното ПАВ (DTAB) е най-малко повърхностно активно и има най-висока стойност на ККМ.

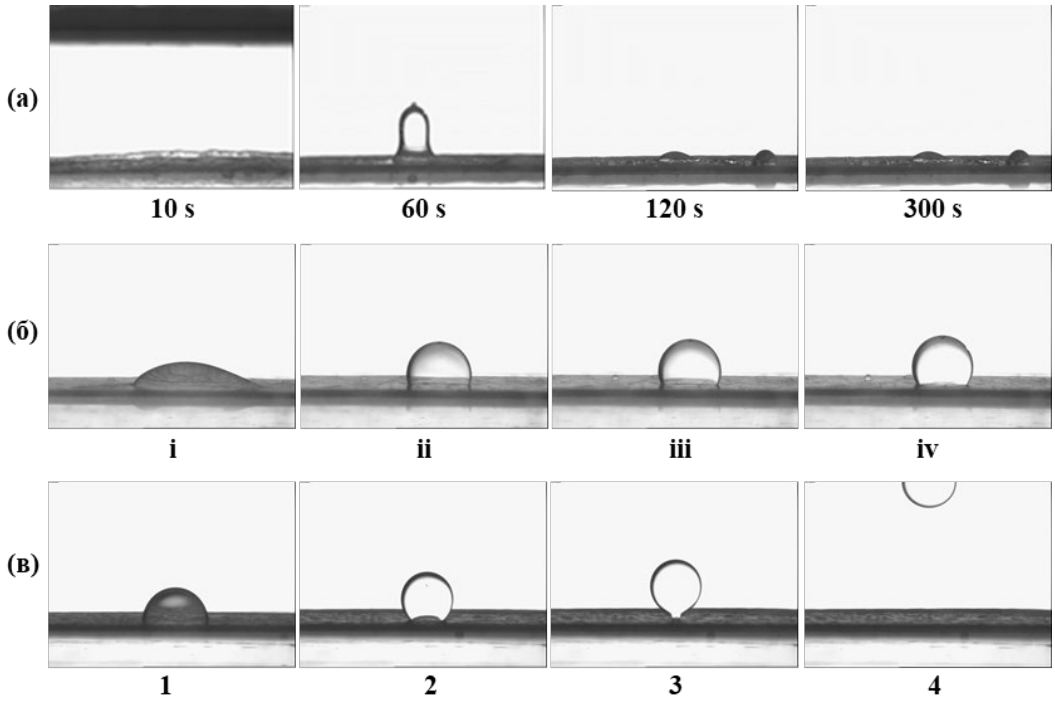
4.4. Почистващи свойства на ПАВ и смеси от ПАВ

Проведени бяха експерименти с две различни замърсявания – моделен себум и диметикон. Процедурата, по която са проведени експериментите за оптично наблюдение на процесите, и за измерване на контактни ъгли, е адаптирана от Yavrukova *et al.* 2020b.

Оптичните наблюдения са проведени с двете маслени замърсявания върху Vitroskin® в разтвори на отделните сърфактанти – SLES, DSLSS, CG, и DTAB. Наблюдаваните механизми за отстраняване на маслени замърсявания са: емулгиране на себум след контакт с някои от разтворите на ПАВ (Фиг. 26а), свиване на капката (roll-up, Фиг. 26б и 26в) и евентуално отделяне на замърсяването от повърхността в случая с диметикон (Фиг. 26в). Не е установено емулгиране на капките диметикон върху кожата, за разлика от наблюденията със себум.

Механизмът, наблюдаван при системите с диметикон (roll-up), позволява лесно сравнение на ефективността на различните повърхностно активни вещества (Dillan *et al.* 1979). Поради тази причина, бяха проведени системни наблюдения на капки от диметикон върху Vitroskin® в разтвори на индивидуални ПАВ, при които се варира концентрацията от поне 10 пъти под ККМ до 10 пъти над ККМ.

Отстраняването на маслени замърсявания с изменение на трифазния контактен ъгъл се обяснява с промените в повърхностната енергия и междуфазовото напрежение, което води до едновременни промени в трифазния контактен ъгъл и диаметъра на трифазната контактна линия на капката (Dillan *et al.* 1979; Kolev *et al.* 2003; Rhein *et al.* 2007; Tsujii *et al.* 2017). При равновесие, контактният ъгъл, измерен през водата фаза, е свързан с междуфазовото напрежение на границата подложка/вода (γ_{SW}), подложка/масло (γ_{SO}) и вода/масло (γ_{WO}) чрез уравнението на Юнг-Лаплас: $\gamma_{SO} = \gamma_{SW} + \gamma_{WO}\cos\theta$. Графиката на $\cos\theta$ като функция от γ_{WO} добре илюстрира разликите между използваните ПАВ и процесите на омокряне и отмокряне (Krawczyk 2015).

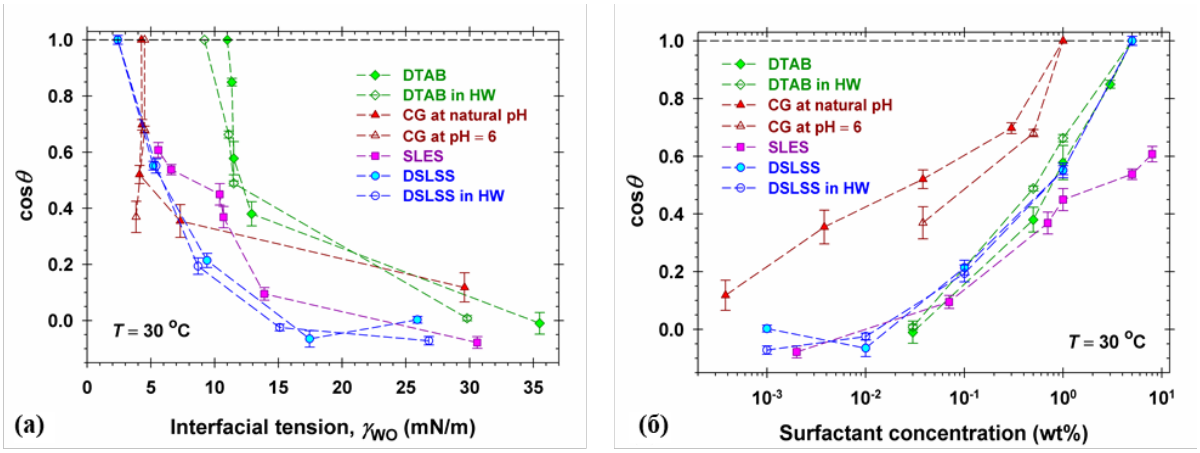


Фигура 26. Снимки на (а) себум при различни времена, които са изписани под снимките, след заливане с разтвор на 0.07 wt% SLES; (б) капка от диметикон след добавянето на разтвор на 1 wt% SLES, като номерата под всяка снимка (i-iv) съответстват на тези от Фиг. 27; (в) капка от диметикон след заливане с разтвор на 1 wt% 1:3 SLES+CG, като номерата под снимките (1-4) съответстват на същите от Фиг. 27.

На Фиг. 28 са обобщени всички експериментални резултати с капки диметикон върху изкуствена кожа във водни разтвори на ПАВ. Използвани са стойностите на $\cos\theta$ при 300 s за всяка система. За удобство, пълното отделяне на капката се означава като $\cos\theta = 1$. Всички експерименти са проведени при статични условия, без допълнителни механични сили или разбъркване.

Получената зависимост на $\cos\theta$ от γ_{WO} (Фиг. 28а) ясно показва очакваното увеличаване на $\cos\theta$ с намаляването на междуфазовото напрежение. За пълното отделяне на масленото замърсяване в разтвор на анионното DSLSS или нейонното CG, е необходимо γ_{WO} със стойност под 5 mN/m. Междуфазовото напрежение на всички разтвори със SLES е по-високо от 5 mN/m и не се наблюдава отделяне на диметикон.

Зависимостта на $\cos\theta$ от концентрацията на сърфактант (Фиг. 28б) показва, че нейонното CG води до отделяне на капките диметикон при най-ниската концентрация на ПАВ в сравнение с останалите ПАВ (йонните SLES, DSLSS и DTAB). Най-добрата ефективност на CG е свързано с най-високата му междуфазова активност (Фиг. 24б) – CG намалява междуфазовото напрежение, γ_{WO}, под 5 mN/m при най-ниската концентрация на ПАВ. Ефикасността на DTAB и DSLSS (както в дейонизирана, така и в твърда вода), по отношение на концентрацията на ПАВ, е сходна – капките диметикон се отделят напълно от изкуствената кожа при 5 wt% концентрация на ПАВ. С анионния сърфактант SLES не се наблюдава отделяне на масленото замърсяване дори при най-високата концентрация от 8 wt%.



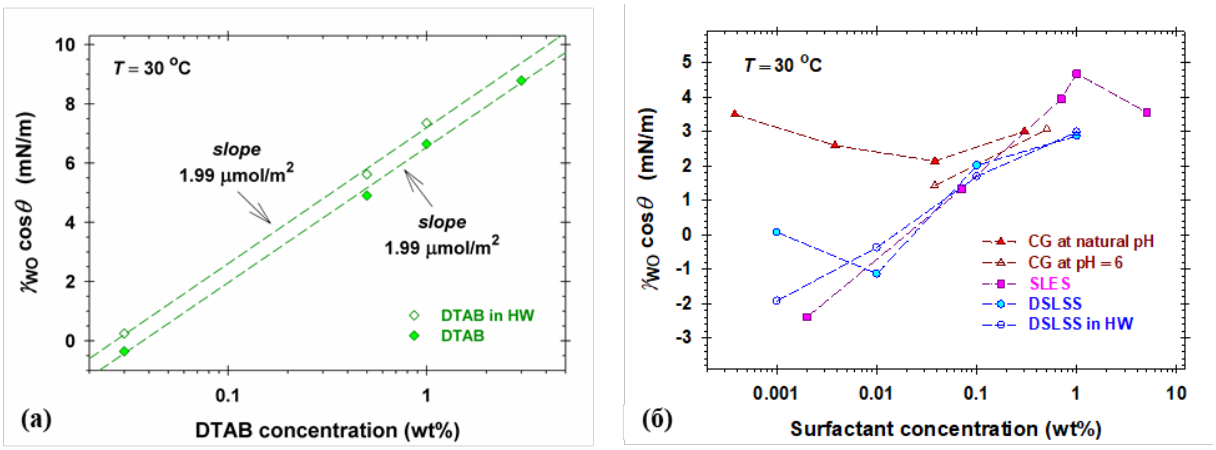
Фигура 28. Косинус от трифазният контактен ъгъл, $\cos\theta$, измерен през водната фаза, за диметикон/изкуствена кожа/воден разтвор на ПАВ, като функция от (а) междуфазовото напрежение и (б) концентрацията на ПАВ във водния разтвор. Всички разтвори са приготвени с дейонизирана вода, като две от сериите (DSLSS и DTAB) са приготвени в 150 ppm твърда вода (hard water, HW). Добавени са и резултати за разтворите на CG при контролирано pH = 6. Всички експерименти са проведени при 30 °C.

Отделянето на маслените капки от диметикон в разтвор на катионното повърхностно активно вещество, DTAB, се случва при значително по-високи стойности на междуфазово напрежение (около 11 mN/m) както в твърда, така и в дейонизирана

вода. Катионните ПАВ и полимери са широко използвани в балсамите за кожа и коса (Baki & Alexander 2015; Abe *et al.* 2017; Fernández-Peña & Guzmán 2020) поради предпочитаната им адсорбция върху отрицателно заредени повърхности. За очакване е, адсорбцията на DTAB върху изкуствената кожа да намали повърхностната енергия, γ_{SW}, в резултат на което капките диметикон да се отделят от повърхността на кожата при по-високи стойности на междуфазовото напрежение, γ_{WO}, виж уравнение (3). Резултатите от измерената електропроводимост на DTAB показват, че веществото е относително чисто и няма повърхностно активни примеси. Това означава, че повърхностната енергия, γ_{SO}, не зависи от концентрацията на DTAB. Адсорбционното уравнение на Гибс може да бъде представено в следната форма:

$$d(\gamma_{WO}\cos\theta) = d(\gamma_{SO} - \gamma_{SW}) = -d\gamma_{SW} = k_B T \Gamma d\ln C \qquad (5)$$

където, k_B е Болцмановата константа, а Γ е адсорбцията (повърхностния излишък) на границата разтвор на ПАВ/изкуствена кожа.

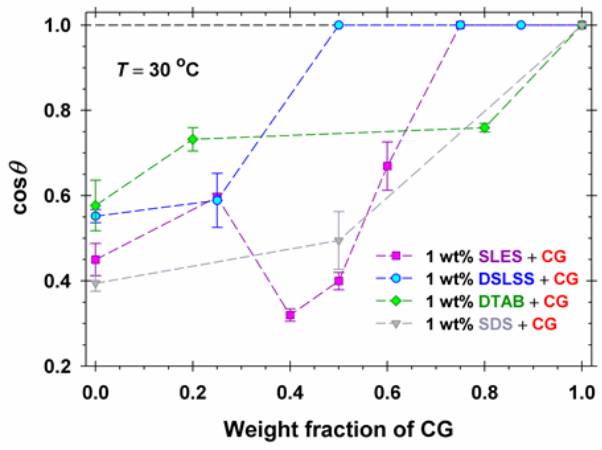


Фигура 29. Зависимост на $\gamma_{WO}\cos\theta$ от концентрацията, C, на повърхностно активно вещество за водните разтвори на: (а) DTAB в дейонизирана и твърда вода (HW); (б) CG, SLES и DSLSS. Прекъснатите линии на (а) показват най-добрите прави линии прекарани през експерименталните точки, чиито наклони дават адсорбциите, Γ, отбелязани на графиката.

Получената адсорбция (Фиг. 29), Γ = 1.99 ± 0.05 µmol/m^2 е сравнима със стойностите определени върху други твърди повърхности (Zhang & Somasundaran 2006). Адсорбцията е достатъчна за да намали значително повърхностната енергия на кожата, γ_{SW}, и да доведе до отделяне на замърсяването при високо междуфазово напрежение, γ_{WO} (виж Фиг. 28а). Важно е да се обърне внимание, че точките за същата зависимост ($\gamma_{WO}\cos\theta$ от концентрацията C) при останалите ПАВ (CG, SLES и DSLSS, Фиг. 28б) са

разпръснати и не мога да бъдат описани с уравнение (5). Най-вероятната причина за това е наличието на разтворими в маслото (диметикон) примеси в използваните сърфактанти, които влияят на стойностите на повърхностната енергия, γ_{SO}.

В практиката се срещат различни видове замърсявания (Lai *et al.* 2005; Rhein *et al.* 2007; Baki & Alexander 2015; Lochhead *et al.* 2017), и обикновено се използват смеси от ПАВ, така че да се осигури оптимална почистваща ефективност. Поради тази причина са проведени системни наблюдения със смеси на нейонното повърхностно активно вещество CG с трите йонни повърхностно активни вещества (SLES, DSLSS, DTAB) при натурално pH, с цел да се провери влиянието на йонните ПАВ върху ефективността на разтворите на CG.



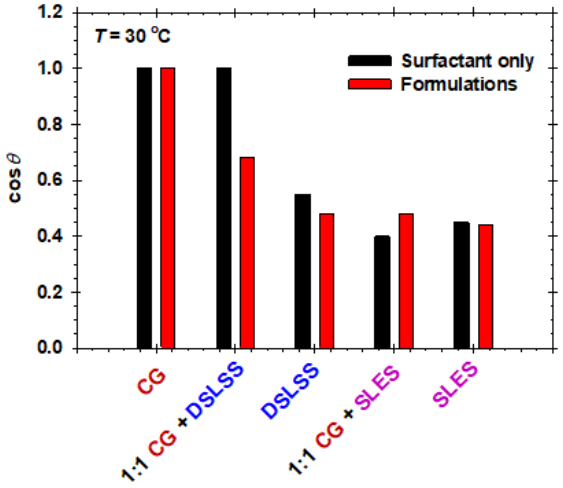
Фигура 33. Косинус от трифазният контактен ъгъл, $\cos\theta$, измерен през водната фаза, за диметикон/изкуствена кожа/воден разтвор на повърхностно активни вещества, като функция от тегловната част на CG в смесените мицеларни разтвори (CG в смес с йонни ПАВ) при 1 wt% обща концентрация и $T = 30$ °C.

За да бъде пряко сравнено влиянието на различните йонни ПАВ върху ефективността на CG, на Фиг. 33 е представен $\cos\theta$ като функция от тегловната част на нейонното ПАВ при 1 wt% обща концентрация на ПАВ. Добавянето на йонните сърфактанти води до влошаване на ефективността на CG. Не се наблюдава отделяне на диметикон в нито един от разтворите с катионното ПАВ (DTAB). Най-добри резултати се получават със сместа от DSLSS+CG, която е ефективна дори при отношение 1:1.

Сулфатните повърхностно активни вещества, SDS и SLES, имат по-различно поведение, спрямо останалите ПАВ, относно отстраняването на диметикон от изкуствена кожа: най-лошите резултати са получени при тегловни отношения от 50 до 60 wt% сулфатни ПАВ в смесите с CG. За разлика от това, SLES показва най-добри резултати при отделяне на моделен себум (чрез емулгиране) при относително ниски концентрации на сърфактант. Именно тези резултати ясно показват важността на етапа на оптимизация при формулирането на почистващи смеси от ПАВ.

Почистващите продукти за лице на пазара съдържат не само повърхностно активни вещества, но и: овлажнител (хумектант), който се влага за да се избегне изсушаване на кожата; консерванти за да се гарантира безопасността на потребителите; парфюмна композиция (ПК) за приятен аромат (Mitsui 1997; Lai *et al.* 2005; Regulation No 1223/2009; Baki & Alexander 2015; Abe *et al.* 2017). Всички тези добавки могат да взаимодействат с повърхностно активните вещества във формулировката, което може да доведе до промяна в качеството на продукта и в неговата ефикасност (Mitsui 1997; Hall *et al.* 2018).

С цел да се докаже приложимостта на разработената процедура към реални рецептури за разработване на продукти, бяха проведени наблюдения на отделяне на маслено замърсяване от изкуствена кожа в моделни формулировки за почистване на лице. Основата на формулировките бе подбрана на база на получените резултати за индивидуалните ПАВ и техните смеси: F-G съдържа CG, F-ES съдържа SLES, F-SS съдържа DSLSS, F-G+ES съдържа смес 1:1 GG+SLES, и F-G+SS съдържа смес 1:1 CG+DSLSS. Всяка формулировка съдържа общо 12 wt% ПАВ, 3 wt% глицерин, 1 wt% натриев бензоат, 0.05 wt% парфюмна композиция, и 1 wt% NaCl. С помощта на лимонена киселина бе регулирано pH на формулировките в диапазона на pH от 5 до 5.5. За провеждане на експериментите с пряко наблюдение на отделянето на маслени замърсявания, формулировката бе разредена до обща концентрация 1 wt% на ПАВ.



Фигура 35. Обобщени резултати за косинус от трифазният контактен ъгъл, $\cos\theta$, на всички системи от Таблица 6. В черен цвят са резултатите за индивидуалните ПАВ, а в червен цвят са с моделните почистващи формулировки.

Част от получените резултати са илюстрирани на Фиг. 35. Ясно се вижда много добрата корелация между ефективността на индивидуалните ПАВ и на приготвените с тях моделни почистващи формулировки, с едно изключение – сместа DSLSS+CG. По-големите стойности на контактните ъгли във формулировките с DSLSS, при сравнение с водните разтвори на DSLSS, може да се дължи на недоброто взаимодействие между съставките, наблюдавано като мътност на формулировките (виж Фиг. 34).

Наблюденията на отделяне на маслено замърсяване (диметикон) от повърхността на изкуствена кожа потвърждават отличното почистващо действие на CG, който е и ПАВ с най-добра междуфазова активност. Негативното въздействие на някои съставки върху почистващите свойства е показано при моделните формулировки с DSLSS.

4.6. Заключения

Проведено е системно експериментално изследване на механизмите на почистване на изкуствена кожа (Vitroskin®) с разтвори на повърхностно активни вещества, които са широко използвани в козметиката. Системното охарактеризиране на отделянето на себум и диметикон от изкуствена кожа показа наличието на два основни механизма: емулгиране и откъсване след промяна на трифазния контактен ъгъл (roll-up).

Механизмът на емулгиране се наблюдава при системи с много ниско междуфазово напрежение (под 1 mN/m) – себум в разтвори на SLES. Диметикон се отстранява единствено с roll-up механизма, при който от определящо значение е междуфазовата активност на ПАВ и адсорбцията на ПАВ на твърдата повърхност. Съществената адсорбция на DTAB на повърхността на кожата води до отделянето на диметикон при сравнително високи стойности на междуфазовото напрежение (11 mN/m). Използваният DTAB не съдържа маслоразтворими компоненти, както се вижда от измерванията на проводимостта, повърхностното и междуфазовото напрежение, които позволиха определянето на неговата адсорбция върху изкуствена кожа Vitroskin®, $\Gamma = 1.99$ μmol/m^2.

Анионните и нейонните ПАВ по-слабо се адсорбират на повърхността на изкуствената кожа, в резултат на което, за отделянето на капки диметикон е нужно междуфазово напрежение под 5 mN/m. При нейонното ПАВ, CG, отделянето на диметикон се осъществява при по-ниски концентрации в сравнение с йонните ПАВ. Комбинирането на CG с йонни ПАВ води до подобряване на почистването.

С разработеният *in vitro* метод са изследвани и почистващите свойства на смеси от ПАВ, моделиращи опростени стандартни почистващи формулировки, които съдържат овлажнител (хумектант), сол, консервант, и парфюмна композиция. Получените резултати за формулировките отлично съответстват на свойствата на изследваните смеси от ПАВ и тяхната междуфазова активност. Резултатите показват, че моделните експерименти с изкуствена кожа могат да бъдат използвани за изследване на механизмите на отстраняване на замърсявания и за разграничаване на ефектите на различните видове ПАВ в почистващите състави. Разработеният метод би могъл да се приложи към практически формули, което да ускори процеса на разработване на продукти и да позволи бърза оценка на приложимостта на нови суровини.

Глава 5. Почистващи свойства на биконтинуални мицеларни фази

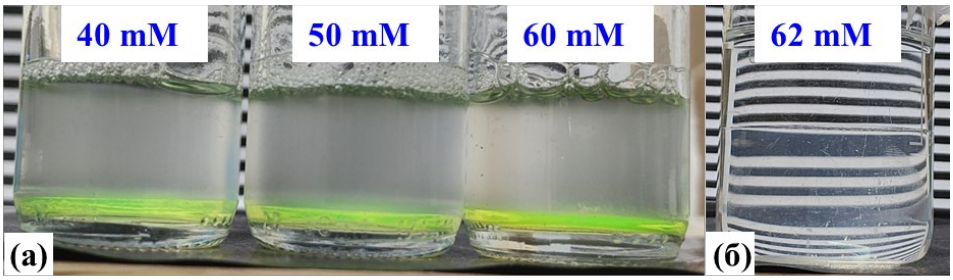
5.1. Увод

Смесите от натриев лаурил етер сулфат (SLES) и кокамидопропил бетаин (CAPB) са основните компоненти в широка гама от продукти за лична хигиена – шампоани, душ гелове и други (Nicolas-Morgantini *et al.* 2007). Физикохимичните свойства на смесените мицеларни разтвори от SLES+CAPB са добре изследвани в литературата (Tzocheva *et al.* 2012; Mitrinova *et al.* 2013; Tzocheva *et al.* 2015; Stancheva *et al.* 2022). Също така, в присъствието на едно- и двувалентни соли, сместа от двете ПАВ може да образува многосвързана мицеларна фаза (ММФ) (Georgiev *et al.* 2020; Stancheva *et al.* 2022). Но, до колкото ни е известно, в литературата няма публикувани изследвания върху почистващата способност на биконтинуалната фаза, която съдържа SLES+CAPB.

В настоящата глава са изследвани почистващите свойства на многосвързаните мицеларни фази (ММФ), съдържащи SLES+CAPB върху изкуствена кожа (Vitroskin®). Използвана е разработената процедура, описана в Глава 4, в комбинация с експерименти на забърсване (ръчно почистване), които са адаптирани от DeMarco *et al.* 2016.

5.3. Приготвяне на биконтинуални мицеларни фази

За получаването на многосвързаната мицеларна мрежа е използван SLES-2EO и CAPB в присъствието на двувалентната сол $MgCl_2$. Биконтинуалната фаза се утаява на дъното на съда, като за да се потвърди наличието на гъбестата структура, е добавено липофилно багрило BODIPY, което оцветява отделената фаза в зелен цвят (Фиг. 37а).



Фигура 37. Снимки на: (а) 1 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + $MgCl_2$ в присъствието на липофилното багрило BODIPY; (б) 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + $MgCl_2$. Концентрацията на добавената сол е изписана над всяка проба.

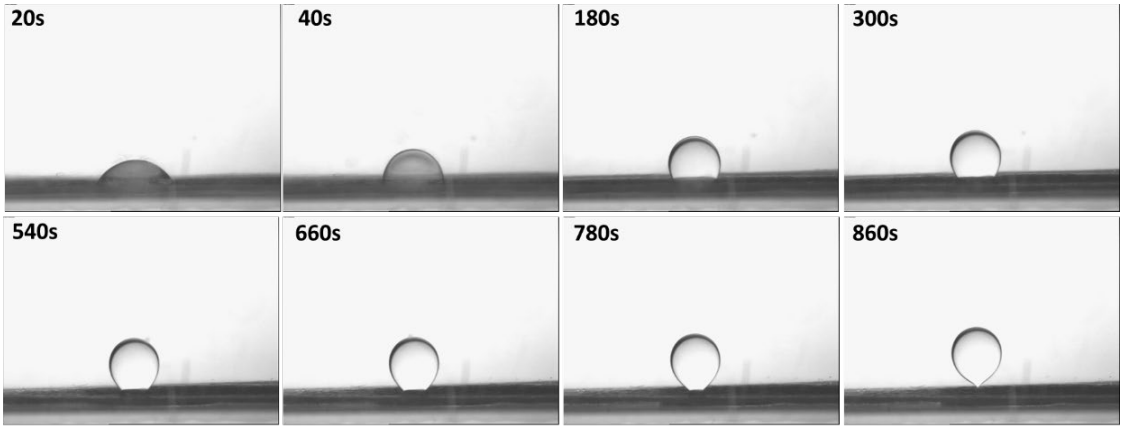
За да бъде получено по-голямо количество от биконтинуалната фаза, бе увеличена общата концентрация на ПАВ от 1 до 3 wt%, виж Фиг. 37б. Отделената фаза от Фиг. 37б е използвана за всички експерименти с почистване на изкуствена кожа. Общата

концентрация на ПАВ в отделената биконтинуална фаза от 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + 62 mM $MgCl_2$ (Фиг. 37б), е определена на 6.75 wt%.

5.4. Оптични наблюдения на отделянето на маслени замърсявания

Отделяне на капки диметикон от изкуствена кожа с помощта на ММФ

При експериментите с диметикон (полидиметилсилоксан, PDMS), след добавяне на почистващият разтвор (ММФ) в кюветата, диаметърът на контактната линия между капката и изкуствената кожа бавно намалява (Фиг. 38а), а трифазният контактен ъгъл значително се променя в първите 300 s. През следващите 560 s, контактният ъгъл бавно намалява, а диаметърът на трифазната контактна линия се свива значително до пълното отделяне на масленото замърсяване след 860 s. Аналогични резултати са получени с мицеларни разтвори на ПАВ, с разликата, че времето за отделяне на замърсяването (860 s с ММФ и 200-250 s с мицеларен разтвор от Част 4.4) е значително променено. Причината за тази разлика е в различните вискозитети на двете системи – изолираната биконтинуална фаза е с по-висок вискозитет, спрямо мицеларните разтвори от Част 4.4. Наблюдаваният механизъм (roll-up) се обяснява с промяната на междуфазовото напрежение и повърхностната енергия, поради адсорбцията на повърхностно активните вещества, което води до изменение на трифазния контактен ъгъл и контактната площ между капката и повърхността на изкуствената кожа.

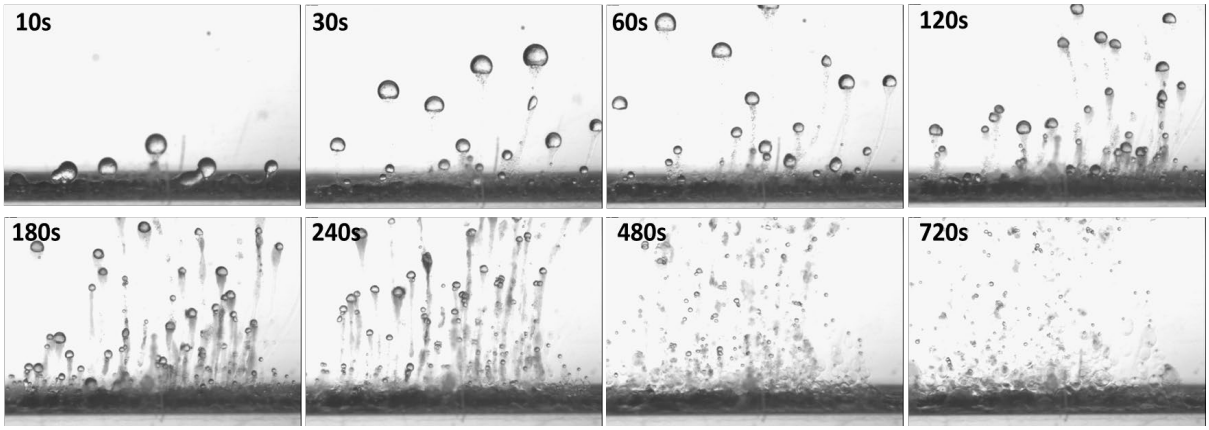


Фигура 38. (а) Снимки на капка диметикон при различни времена, които са изписани на снимките, след заливане с биконтинуална фаза изолирана от 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + 62 $MgCl_2$. Експериментът е проведен при 30 °C.

Отделяне на моделен себум от изкуствена кожа с помощта на ММФ

Механизмът на отделяне на себум от изкуствена кожа, в присъствието на биконтинуална фаза, е емулгиране, виж Фиг. 39. Веднага след заливането с

биконтинуална фаза, се наблюдава спонтанно отделяне на капки себум от повърхността на изкуствената кожа (виж Фиг. 39). Вижда се, че с времето, размерът на капките намалява и процесът на отделянето на капки себум става все по-интензивен. В Част 4.4, този механизъм се наблюдава само за системите с моделен себум и конвенционалните ПАВ, където междуфазовото напрежение е много ниско.



Фигура 39. Снимки на себум при различни времена, които са изписани на снимките, след заливане с биконтинуална фаза изолирана от 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + 62 $MgCl_2$. Експеримента е проведен при 30 °C.

Прякото наблюдение на отделяне на маслени замърсявания от изкуствена кожа показва, че и с двете замърсявания (диметикон и моделен себум), биконтинуалната фаза успешно премахва замърсяванията от повърхността на изкуствената кожа и би могла да има потенциално приложение в дизайна на продукти за лична хигиена.

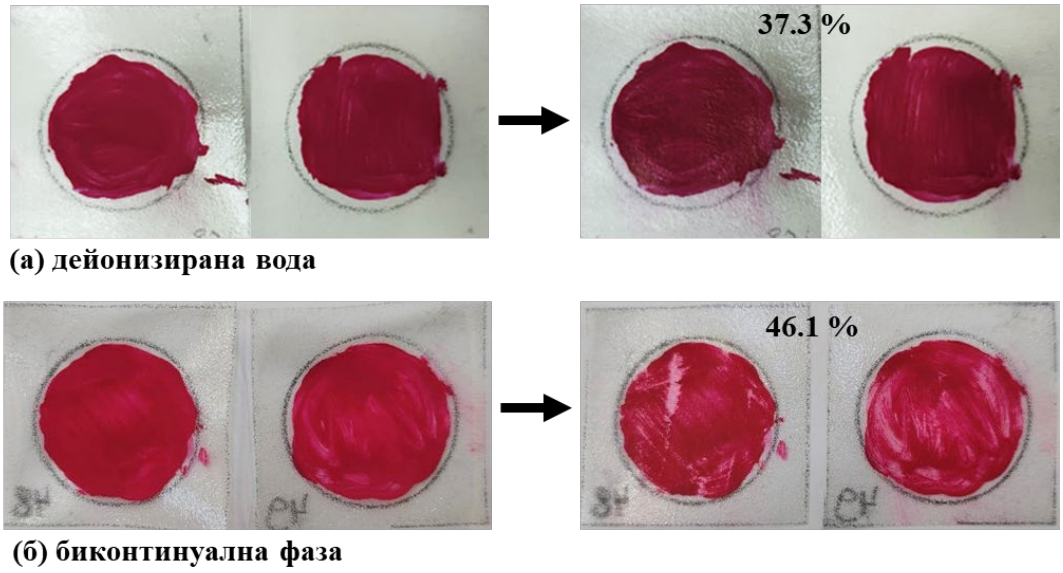
Наблюдаваната разлика в механизмите на отделяне на диметикон и на моделен себум, както с мицеларни разтвори (виж Част 4.4), така и с биконтинуални мицеларни фази, най-вероятно се дължи на състава на двете замърсявания. Мастните киселини, които се съдържат в себума, вероятно се смесват с повърхностно активните вещества, като образуват комплексни амфифилни структури, които ефективно намаляват междуфазовото напрежение.

5.5. Ръчно почистване на грим формулировки от изкуствена кожа

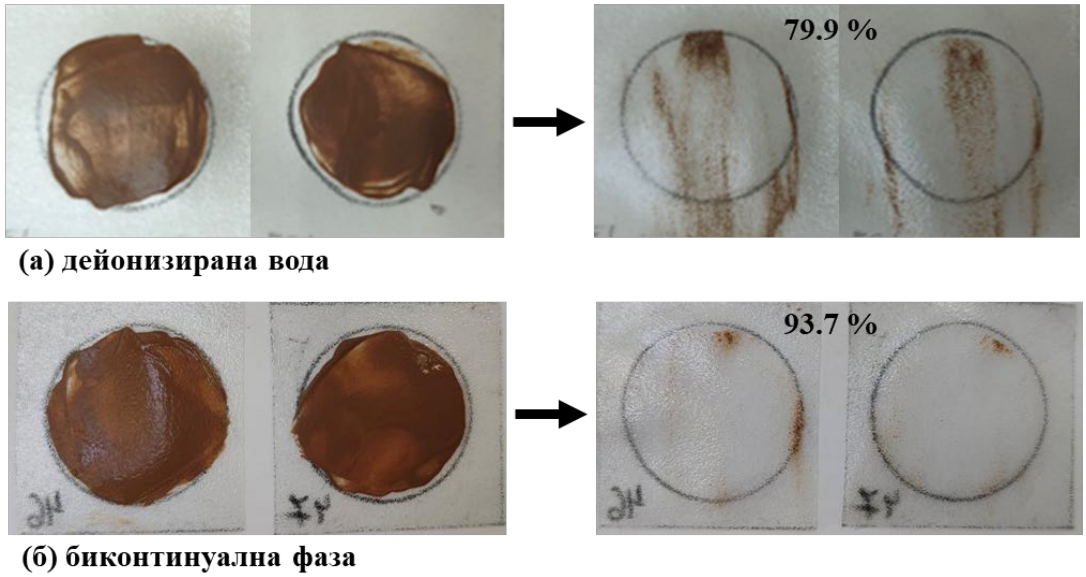
Друг *in vitro* метод за тестване на почистващите свойства на ПАВ е ръчното почистване, което максимално се доближава до реален процес на премахване на грим.

В патент на DeMarco *et al.* 2016, в който е описано почистване на фон дьо тен от изкуствена кожа Vitroskin®, за изчисляване на Почистване (%), с колориметър е измерван цвета на нанесеното замърсяване преди и след почистване. С цел да се увеличи точността и да се получи информация за цялата тестова зона (25 mm диаметър при нашите

експерименти), в настоящата дисертация е разработен алтернативен метод – софтуерен анализ на изображения, като Почистване (%) се изчислява по уравнение (4). Като замърсяване са използвани течно червило и фон дьо тен.



Фигура 40. Снимки преди (отляво) и след (отдясно) почистване на течно червило с помощта на памучен тампон напоен с (а) дейонизирана вода и (б) биконтинуална фаза изолирана от 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + 62 mM $MgCl_2$. Изчисленото средно Почистване (%) е изписано на снимките. Експериментите са проведени при 30 °C.



Фигура 41. Снимки преди (отляво) и след (отдясно) почистване на фон дьо тен с помощта на памучен тампон напоен с (а) дейонизирана вода и (б) биконтинуална фаза изолирана от 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + 62 mM $MgCl_2$. Изчисленото средно Почистване (%) е изписано на снимките. Експериментите са проведени при 30 °C.

При почистване на течно червило с дейонизирана вода, определеното Почистване (%) е 37.3±0.2%, виж. Фиг. 40а. Почистването с биконтинуална фаза води до по-високи стойности на Почистване (%): 46.1±0.2% (Фиг. 40б). Определеното Почистване (%) с дейонизирана вода за фон дьо тен е 79.9±0.8% (Фиг. 41а). При почистване с биконтинуална фаза се получават 93.7±0.5% за фон дьо тен (Фиг. 41б). Вижда се, че течното червило се почиства по-трудно, в сравнение с фон дьо тена, вероятно поради разликата в състава на двете замърсявания: повече восъци и пигменти в червилото в сравнение с фон дьо тена.

5.6. Заключения

Изследвани са почистващите свойства на изолирана многосвързана мицеларна фаза за замърсяване с диметикон, моделен себум и две грим формулировки (течно червило и фон дьо тен) върху изкуствена кожа. Биконтинуалната фаза е с обща концентрацията на повърхностно активни вещества 6.75%, като е изолирана от 3 wt% 1:1 SLES-2EO+CAPB + 62 mM $MgCl_2$. Получените резултати ясно показват ефективността на отстраняване на изследваните замърсявания от изкуствена кожа с помощта на биконтинуална фаза по два различни механизма.

Прякото наблюдение на отделяне на маслени замърсявания от изкуствена кожа показва два механизма: а) roll-up (отделяне на капки диметикон поради свиването на контактната площ на капката спрямо изкуствената кожа и намаляването на трифазния контактен ъгъл); б) спонтанно емулгиране (с моделен себум, поради смесването на мастните киселини, присъстващи в себума, с повърхностно активните вещества от водната фаза). И в двата случая биконтинуалната фаза показва добра почистваща способност. Получените резултати биха могли да бъдат от интерес при разработването на нови формулировки, които са базирани на биконтинуални фази за почистване на меки и твърди повърхности.

Методът *in vitro*, комбиниран с ръчно почистване на грим формулировки (течно червило и фон дьо тен), демонстрира възможността на биконтинуалната фаза ефективно да почиства фон дьо тен. Разработеният нов подход за изчисляване на Почистване (%), базиран на софтуерен анализ на изображение (чрез Image J), дава количествена информация за ефикасността на разтворите на повърхностно активни вещества, отчитайки цялата тестова зона.

Основни приноси на дисертацията

1. Изследвана е възможността за получаване на многосвързани мицеларни фази (ММФ) от смесени разтвори на анионно (3 вещества) и цвитерйонно (2 вещества) повърхностно активни вещества (ПАВ) в присъствие на двувалентна сол ($MgCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$) или на NaCl. Намерена е оптималната конфигурация: натриев лаурил етер сулфат с 1 етилен оксидна група (SLES1-EO) в комбинация с кокамидопропил бетаин (CAPB) или N,N-диметилдодециламин N-оксид (DDAO) в присъствие на $MgCl_2$ или $CaCl_2$. Гъбестата структура на ММФ е доказана по 3 независими експериментални метода – чрез използване на хидрофилно и липофилно багрило, с помощта на cryo-TEM и SAXS експерименти.
2. Доказано е, че реологичните свойства на изолираните ММФ: не зависят от концентрацията на началния разтвор; имат квази-Нютоново поведение до високи скорости на деформация с вискозитети от 0.3 Pa·s до 0.8 Pa·s; междуфазовите граници ММФ/разтвор се характеризират с много ниско междуфазово напрежение и висока еластичност. Експериментално са получени: капацитетите на включване на лимонен и витамин Е в структурите на ММФ; наноемулсии с размери на капките от 60 nm до 120 nm при разреждане с вода. Определено е, че CAPB-съдържащата ММФ има по-висок капацитет в сравнение с DDAO-съдържащата.
3. Разработени са две *in vitro* процедури за количествено характеризиране на почистващите свойства на разтвори от ПАВ (с 4 вида ПАВ и техни смеси), ММФ и формулировки на козметични продукти: пряко наблюдение на отделяне на маслени замърсявания от изкуствена кожа; и сравнение на почистването на грим формулировки с разработен нов подход базиран на софтуерен анализ на изображението от цялата тестова зона на изкуствената кожа.
4. Прякото наблюдение на отделянето на маслени замърсявания от изкуствена кожа потвърждава известните физикохимични механизми за твърди повърхности: емулгиране (за себум) при системи с много ниско междуфазово напрежение (под 1 mN/m); промяна на трифазния контактен ъгъл и свиване на трифазната контактна линия (за диметикон), при който определящи са междуфазовата активност и адсорбцията на ПАВ на повърхността на изкуствената кожа.
5. При ръчно почистване на грим формулировки (течно червило и фон дьо тен) е доказана ефикасността на ММФ да почиства фон дьо тен.

Публикации по дисертацията

Списък на публикациите по дисертацията (4 на брой)

1. Marinova, K., Slavova, T., Stanimirova, R. & Danov, K. 2023 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *In Proceedings of the 33rd IFSCC Congress, Barcelona, Spain, 4–7 September 2023*.
2. Slavova, T.G., Radulova, G.M. & Danov, K.D. 2024 Saturated micellar networks: phase separation and nanoemulsification capacity. *Colloids and Interfaces* **8**, 11.
3. Slavova, T., Stanimirova, R., Marinova, K. & Danov, K. 2025 Cleansing mechanisms and efficacy on artificial skin. *Molecules* **30**, 1813.
4. Slavova, T., Marinova, K. & Danov, K. 2025 Multiconnected micellar phases for cleaning applications. Proc. Int. Sci. Conf. "Mechatronics, eco- and energy saving systems and technologies", *Univ. publ. house "V. Aprilov"*, 17-22, ISSN: 2815-4924.

Други публикации, които не са включени в дисертацията (5 на брой)

1. Radulova, G.M., Slavova, T.G., Kralchevsky, P.A., Basheva, E.S., Marinova, K.G. & Danov, K.D. 2018 Encapsulation of oils and fragrances by core-in-shell structures from silica particles, polymers and surfactants: The brick-and-mortar concept. *Colloids Surf. A* **559**, 351-364.

Брой цитати (с изключение на автоцитати): 24

2. Slavova, T.G., Radulova, G.M., Kralchevsky, K.G. & Danov, K.D. 2020 Encapsulation of fragrances and oils by core-shell structures from silica nanoparticles, surfactant and polymer: Effect of particle size. *Colloids Surf. A* **606**, 125558.

Брой цитати (с изключение на автоцитати): 16

3. Danov, K.D., Stanimirova, R.D., Kralchevsky, P.A., Slavova, T.G., Yavrukova, V.I., Ung, Y.W., Tan E., Xu H. & Petkov, J. T. 2021 Solubility of ionic surfactants below their Krafft point in mixed micellar solutions: Phase diagrams for methyl ester sulfonates and nonionic cosurfactants. *J. Colloid Interface Sci.* **601**, 474-485.

Брой цитати (с изключение на автоцитати): 12

4. Tan, E.H., Danov, K.D., Stanimirova, R.D., Kralchevsky, P.A., Slavova, T.G., Yavrukova, V.I., Ung, Y.W., Xu, H., Petkov, J.T. & Cheong, A.M. 2022 Clear and transparent methyl ester sulphonate micellar systems for mild hair shampoo applications. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **99**, 195-195.

5. Yavrukova, V., Danov, K., Slavova, T., Stanimirova, R., Ung, Y., Suan, A., Xu, H. & Petkov, J. 2024 Enhanced solubility of methyl ester sulfonates below their Krafft points in mixed micellar solutions. *J. Colloid Interface Sci.* **660**, 896-906.

Брой цитати (с изключение на автоцитати): 5

Общ брой цитати (с изключение на автоцитати): 57

Списък на научните доклади и постери по темата на дисертацията

1. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2023 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *XXI edition of the annual National conference for students*, May 17-19, Sofia, Bulgaria – устен доклад.
2. Slavova, T., Radulova, G., Georgiev, M. & Danov, K. 2023 Investigation of giant micellar structures in mixed surfactant solutions: emulsification properties and rheology. *UK-Colloids*, July 17-19, Liverpool, England – устен доклад.
3. Marinova, K., Slavova, T., Stanimirova, R. & Danov, K. 2023 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *33rd International Federation of Societies of Cosmetic Chemists (IFSCC) Congress*, September 4-7, Barcelona, Spain – постер.
4. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2023 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *12th Chemistry Conference*, October 13-14, Plovdiv, Bulgaria – устен доклад.
5. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2023 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *Satellite Scientific Symposium "Medicinal and Aromatic Plants for Innovative Bioactive Products"*, November 1, Sofia, Bulgaria – устен доклад.
6. Stanimirova, R., Slavova, T., Marinova, K., & Danov, K. 2023 Surfactant cleansing mixtures optimization by an in vitro method with artificial skin. *Satellite Scientific Symposium "Medicinal and Aromatic Plants for Innovative Bioactive Products"*, November 1, Sofia, Bulgaria – постер.
7. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2023 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *International scientific conference "Kliment's days"*, November 20-21, Sofia, Bulgaria – постер.
8. Stanimirova, R., Slavova, T., Marinova, K., & Danov, K. 2023 Surfactant cleansing mixtures optimization by an in vitro method with artificial skin. *International scientific conference "Kliment's days"*, November 20-21, Sofia, Bulgaria – постер.

9. Slavova, T., Radulova, G. & Danov, K. 2024 Saturated Micellar Networks:Phase Separation and Nanoemulsification Capacity. *XXII edition of the annual National conference for students*, May 15-17, Sofia, Bulgaria – устен доклад.
10. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2024 Artificial skin characterization for cleansing observation and quantification. *II edition of National conference for students "PharmaNova", Medical University*, June 14, Sofia, Bulgaria – устен доклад.
11. Slavova, T., Radulova, G. & Danov, K. 2024 Saturated Micellar Networks: Phase Separation and Nanoemulsification Capacity. *19th European Student Colloid (ESC) Conference*, June 24-27, Bordeaux, France – устен доклад.
12. Slavova, T., Radulova, G. & Danov, K. 2024 Saturated Micellar Networks: Phase Separation and Nanoemulsification Capacity. *International scientific conference "Kliment's days"*, November 20-21, Sofia, Bulgaria – постер.
13. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2025 Cleansing Mechanisms and Efficacy on Artificial Skin. *XXIII edition of the annual National conference for students*, May 14-16, Sofia, Bulgaria – устен доклад.
14. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2025 Cleansing Mechanisms and Efficacy on Artificial Skin. *Formula XII, Strategies for innovation and performance prediction*, June 16-18, Sofia, Bulgaria – постер.
15. Slavova, T., Marinova, K., Stanimirova, R. & Danov, K. 2025 Cleansing Mechanisms and Efficacy on Artificial Skin. *UK Colloids 39th European Colloids and Interface Society (ECIS) Conference*, September 7-12, Bristol, UK – устен доклад.
16. Stanimirova, R., Slavova, T., Marinova, K., & Danov, K. 2025 Cleansing mechanisms and efficacy on artificial skin. *Sepawa Congress*, October 15-17, Berlin, Germany – устен доклад.
17. Slavova, T., Marinova, K., & Danov, K. 2025 Multiconnected micellar phases for cleaning applications. *ISC "Kliment's days"*, November 17-19, Sofia, Bulgaria – постер.

Общо 6 устни доклада на Национални форуми, 6 от които са докладвани от докторанта.

Общо 5 постерни доклада на Национални форуми, 4 от които са докладвани от докторанта.

Общо 4 устни доклада на Международни форуми, 3 от които са докладвани от докторанта.

Общо 2 постерни доклада на Международни форуми, 1 от които е докладван от докторанта.