

UN POLÍMERO ANFIFÍLICO CON PROPIEDADES DE COLECTOR DE DERRAMES DE PETRÓLEO

J.L. Rodríguez^{1,2}, A.E Ciolino², O.I Pieroni², B.M. Vuano², P.C Schulz^{1,2*}, R. M. Minardi².

1. Escuela de Oficiales de la Armada, Instituto Universitario Naval (INUN), Base Naval Puerto Belgrano, Argentina.
2. Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. E-mail: pschulz@criba.edu.ar

RESUMEN

Se sintetizó un anfifílico polimérico mediante la adición de grupos fosfonato a los dobles enlaces terminales de polibutadieno obteniéndose ácidos fosfónicos insaturados α , β . Este anfifílico polimérico fue caracterizado por RMN y FT-IR. La síntesis produce una emulsión compleja de aspecto blanco cremoso que contiene simultáneamente agua y benceno o tolueno. Cuando esta emulsión es desparramada sobre una mancha de petróleo crudo sobre agua, la mancha de petróleo se contrae y es absorbida por la emulsión cremosa. El producto resultante puede ser manipulado más fácilmente que el petróleo original para extraerlo de la superficie acuosa. Se estudiaron sus posibilidades de captura de hidrocarburos aromáticos y alifáticos, la posibilidad de usar el polímero seco y el efecto de su envejecimiento.

Palabras clave: Anfifílico polimérico; colector de petróleo; ácido fosfónico; polibutadieno fosfonado; emulsión.

ABSTRACT

A polymeric surfactant was synthesised by addition of phosphonate groups to asymmetric terminal double bonds of polybutadiene giving α , β -unsaturated phosphonic acids. The polymeric surfactant was characterized by NMR and FT-IR. The synthesis produces a complex, white cream-like emulsion containing simultaneously water and benzene or toluene. When this emulsion is spread on a crude petroleum overflow on water, the oil stain shrinks and is absorbed by the cream-like emulsion. The resulting product can be manipulated more easily than the original oil to extract it from the water surface. Their possibilities in the

capture of aromatic and aliphatic hydrocarbons, the use of the dry polymer and the effects of their ageing were also studied.

INTRODUCCIÓN

La intensa actividad de la industria del petróleo en el mar es el origen de accidentes que producen derrames de petróleo. Varias técnicas tales como barreras flotantes que encierran la mancha fueron desarrolladas para recuperar el petróleo. Sin embargo, en muchas situaciones tales como corrientes marinas rápidas o tormentas, no es posible recuperar todo el petróleo derramado. En tales casos, generalmente las manchitas de petróleo resultantes son emulsificadas para facilitar el ataque de las bacterias. Los agentes emulsificantes son generalmente surfactantes de baja toxicidad. Sin embargo, la falta de toxicidad de esos agentes emulsificantes es un tema sujeto a fuerte controversia. Los surfactantes catiónicos tienen una intensa toxicidad microbiana [1]. Aún algunos tensioactivos no iónicos pueden modificar el comportamiento y la integridad de bacterias y virus [2-8]. La presencia de algunos surfactantes puede incrementar la sensibilidad de organismos superiores a infecciones [9]. Estas sustancias también irritan la piel y las mucosas [10-13], lo que facilita la absorción de otros agentes dañinos [14, 15]. La presencia de emulsificantes causa varios problemas a la fauna acuática, incluyendo su muerte [16]. Las branquias de los peces pueden ser severamente dañadas [17, 18], causando muerte por asfixia, aún en agua saturada de oxígeno [18, 19]. Los surfactantes pueden también alterar el metabolismo de las plantas [18-23].

Otro método para atacar manchas aisladas de petróleo sobre agua es usar barreras químicas o colectores que circunscriben pequeños derrames y contrarrestan la tendencia del petróleo a extenderse. De esta forma el derrame puede ser controlado fácilmente. Hemos observado que el polibutadieno fosfonado actúa como colector de petróleo. Puesto que el material permanece sobre la superficie del agua, es de suponer que el daño a los microorganismos acuáticos, animales y plantas será mucho menor que el producido por el empleo de emulsificantes que se disuelvan en agua.

El agregado de pentacloruro de fósforo (PCl_5) a dobles enlaces terminales asimétricos seguido por la hidrólisis o alcohólisis del producto de adición lleva a la síntesis de ácidos fosfónicos α , β insaturados o sus derivados [24]. Las sustancias obtenidas poseen propiedades interesantes como anticorrosivos o surfactantes específicos [25, 26]. La adición de derivados

de fósforo a polímeros (como aditivos separados o como constituyentes de la estructura del polímero) produce sustancias con resistencia térmica y que son ignífugos [27].

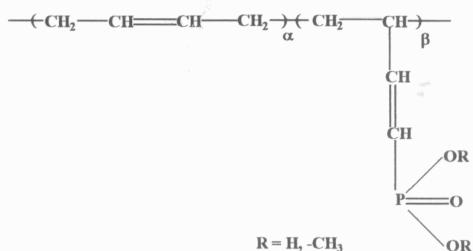


Figura 1. Estructura del polibutadieno fosfonado.

El butadieno fosfonado (PBF) tiene la estructura química básica mostrada en la Figura 1. La intención original para sintetizar el PBF fue estudiar sus propiedades y aplicaciones. En el curso de esos estudios encontramos que el PBF forma una fase cremosa que captura hidrocarburos y flota sobre el agua. Cuando se aplica a una mancha de petróleo sobre agua, la mancha se encoge y el petróleo es absorbido por la emulsión cremosa.

DETALLES EXPERIMENTALES

Reactivos. Se usó polibutadieno comercial contenido 10% de grupos vinilo, de Pecom de Argentina S.A., y PC_l de Merck. Los espectros IR fueron obtenidos en el modo de espectroscopia de reflectancia difusa infrarroja con transformada de Fourier (DRIFTS) usando una copa de micromuestra de un accesorio de reflectancia difusa Avatar (1,50 mg de muestra seca en 150 mg de KBr anhidro) contra un blanco de KBr en un espectrómetro Nicolet – Nexus 470 FT-IR (detector DTGS y fuente de Nicrome, y divisor de haz de KBr) con un total de 64 lecturas.

Los espectros de RMN del material polimérico (como éster metilfosfonato) se determinaron en un espectrómetro Bruker 300 (300 MHz para ¹H y 75,5 MHz para ¹³C) en solución en cloroformo deuterado (1 % en peso) a 300 K con tetrametilsilano como referencia externa.

Síntesis y caracterización. La síntesis del butadieno fosfonado (PBF) fue hecha disolviendo 1 g de polibutadieno y 10 g de PC_l en 50 mL de tolueno. La mezcla fue dejada a temperatura ambiente por 12 horas y con agitación. El producto fue hidrolizado, y se obtuvo un material blanco, blando y esponjoso. Todos los intentos de extraer el producto usando

solventes orgánicos convencionales (cloruro de metileno, cloroformo, acetato de etilo, n-hexano, éter de petróleo, etc.) condujeron a la formación de una emulsión cremosa que fue extremadamente estable. La crema retuvo grandes cantidades de ambos solventes (hidrocarburo y agua).

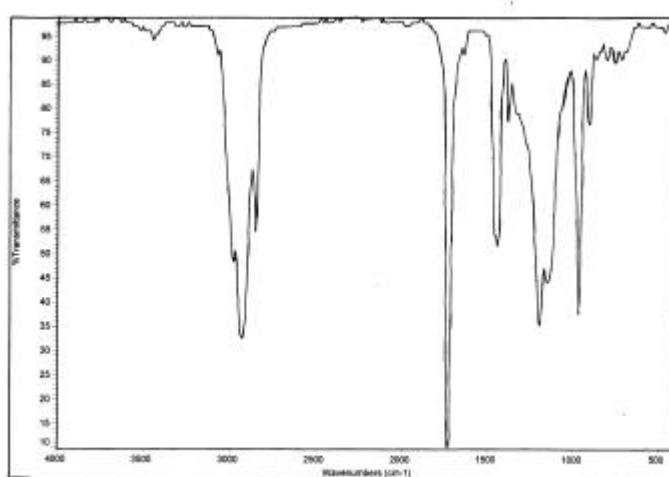


Figura 2. Espectro FT-IR de polibutadieno antes del tratamiento, película capilar.

Para el estudio de la estructura del polímero, una muestra del producto de reacción fue alcoholizada obteniendo un material blando, gomoso color caramelo que fue soluble en acetato de etilo. Esta sustancia puede ser aislada y el espectro FT-IR mostró tres fuertes bandas a 1050 y 1120-1180 cm^{-1} correspondiente a los enlaces P=O y P-O-C, respectivamente.

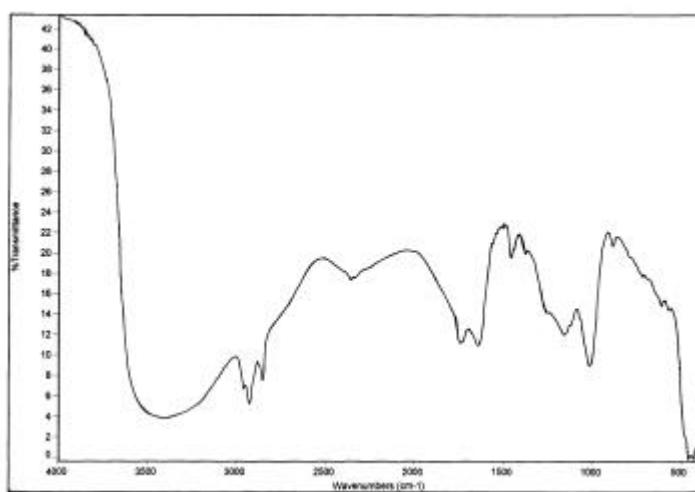


Figura 3. Espectro FT-IR del producto de reacción antes de la hidrólisis / alcohólisis, película capilar.

La Figura 2 muestra el espectro FT-IR del polibutadieno no tratado, la Figura 3 muestra el del producto de reacción, y la Figura 4 la del PBF sólido, obtenido por desecación bajo atmósfera de nitrógeno. El PBF muestra típicos picos de grupos fosfónicos ($\text{-PO}_3\text{H}_2$). Las vibraciones de los dobles enlaces no pueden verse porque son débiles, estando entre 1000 y 900 cm^{-1} , superpuestas a las bandas de la tensión de enlaces fósforo-oxígeno.

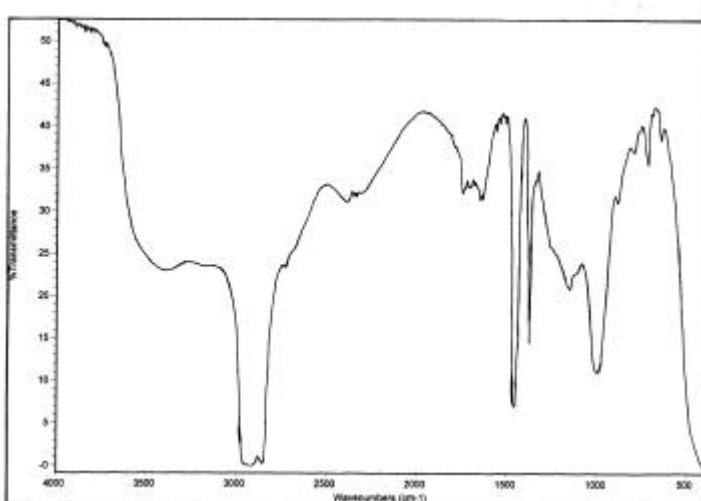


Figura 4. Espectro FT-IR del PBF, obtenido por desecación bajo nitrógeno, pastilla de KBr.

El espectro RMN de ^{13}C -DEPT 135 del éster metílico mostró la falta de la señal negativa a 113,20 ppm que corresponde al metíleno vinílico, y la presencia de dos señales positivas a 64,55 y 65,50 ppm, que corresponden a dos grupos metoxilo unidos a átomos de fósforo en el doble enlace. El grupo $\text{P(O)(OCH}_3)_2$ causa un efecto de desprotección en los protones olefínicos terminales, dando lugar a un desplazamiento químico de la señal a valores menores de campo en el espectro RMN de ^1H (7,10 - 7,20 ppm).

Todos los datos anteriores confirman la estructura mostrada en la Figura 1.

Para determinar la proporción de grupos fosfónicos en el PBF, la determinación del polímero en la crema fue medida por eliminación del disolvente. Otra muestra de la misma crema conteniendo 1,51 g de PBF fue titulado conductimétricamente con NaOH acuoso 0,1 M (Figura 5). Se encontraron cuatro líneas rectas. La primera línea representa la titulación del HCl remanente formado durante la síntesis, la segunda la titulación del primer protón del grupo $\text{-PO}_3\text{H}_2$, la tercera la titulación del segundo protón, y la cuarta línea es el exceso de NaOH.

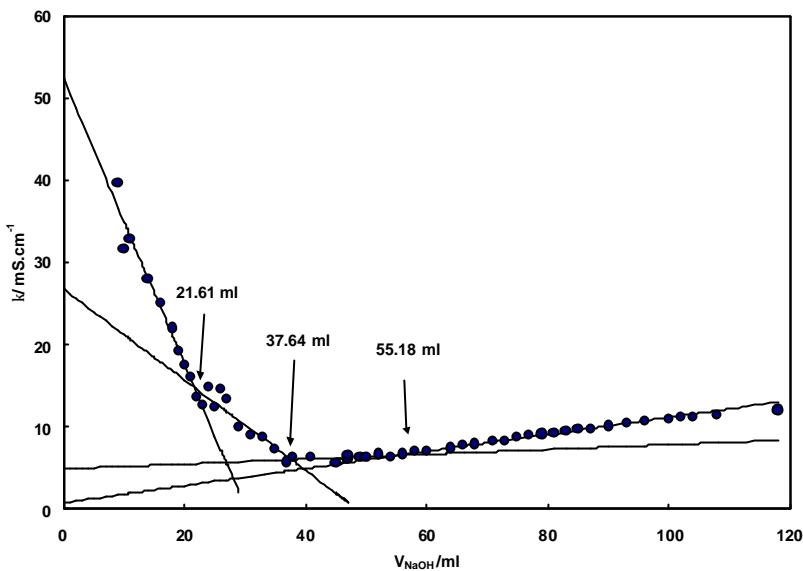


Figura 5: Titulación conductimétrica de la emulsión cremosa conteniendo 1,51 g de PBF con una solución acuosa de NaOH 0,1 M. Se marcan los puntos de equivalencia.

El volumen promedio de NaOH usadas para titulación de la primera y segunda ionizaciones fue $16,8 \pm 0,7$ mL, dando $0,00168 \pm 0,00007$ moles de grupos fosfónicos, es decir, el peso equivalente es de 899 ± 18 g/mol. Esto significa que hay un grupo fosfónico cada $15,1 \pm 0,3$ monómeros de butadieno.

Una muestra del producto cremoso de síntesis fue completamente secada a 50°C y baja presión, obteniéndose un polvo blanco que fue insoluble tanto en agua como en éter de petróleo, pero fue soluble en tolueno o benceno dando una solución incolora transparente. Cuando se agregó agua a esta solución, se obtuvo una gran cantidad de la emulsión compleja. Puesto que todo el ácido clorhídrico producido durante la síntesis fue eliminado durante el secado, la emulsión resultante de este proceso tiene una muy baja acidez causada por la baja ionización de los grupos fosfónicos. La solución en tolueno puede ser una útil y fácil manera de desparilar el polímero sobre manchas de petróleo.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE EMULSIFICACIÓN

Para determinar la capacidad de emulsificación del surfactante polimérico se prepararon dos sistemas modelo (sistemas A y B).

El sistema A contenía 60 cm^3 de agua, 20 cm^3 del producto cremoso de síntesis y 20 cm^3 de éter de petróleo fracción 60-80 °C. El sistema B contenía 60 cm^3 de agua, 20 cm^3 del producto cremoso de síntesis y 20 cm^3 de tolueno. En una primera corrida se usó agua

destilada. En un segundo ensayo se usó agua de mar de la Ría de Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina). En cada corrida, ambos sistemas fueron agitados vigorosamente y dejados luego descansar una semana en recipientes cerrados herméticamente. En todos los casos la emulsión permaneció entre la capa de agua y la de hidrocarburo. En el sistema B el volumen de la crema fue mucho mayor que en el sistema A. Luego, el agua y el hidrocarburo remanentes fueron removidos y la emulsión cremosa fue colocada en un frasco pesado previamente. Entonces, el frasco fue nuevamente pesado y colocado en un dispositivo de destilación a presión atmosférica, siendo calentado con un calefactor eléctrico con control de temperatura a fin de separar los dos líquidos y determinar la composición del sistema. La emulsión se rompió a alrededor de 80 °C (sistema A) y 110 °C (sistema B). La mezcla de agua y tolueno destila normalmente a 85 °C como un azeótropo de 79,8% de tolueno y 20,2% de agua. Sin embargo, el sistema B no destiló aún a 120 a 140 °C destiló una pequeña cantidad de disolvente, pero un calentamiento hasta 170 °C no produjo posterior destilación. El sistema A no destiló aún a 140 °C. En consecuencia, se cambió la estrategia para determinar la composición de la emulsión. Una cantidad de la emulsión cremosa fue puesta en un frasco pesado luego de la equilibración con agua e hidrocarburo. Luego la emulsión fue rota por calentamiento con un tapón y refrigerante de reflujo a fin de evitar pérdida de disolvente, y entonces mantenida a 120 °C por quince minutos. El sistema fue entonces enfriado y fueron determinados el volumen de agua y de hidrocarburo. Entonces, el sistema fue regresado al frasco tarado y evaporado a 60 °C y con un vacío de 20 mm de mercurio sobre CaCl₂. La evaporación fue muy lenta, y luego de 90 horas de este tratamiento la muestra fue desecada sobre P₂O₅ y al vacío por 114 horas. El frasco fue luego pesado para determinar la cantidad de polímero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una muestra del producto cremoso fue estable por un año en un recipiente cerrado herméticamente, sin separación de agua o hidrocarburo. Esto asegura que puede ser guardado por períodos largos sin pérdida de sus propiedades. No obstante, una muestra de 14 meses guardada en un recipiente no totalmente hermético sufrió cierta degradación. Sin romperse la emulsión, perdió algo de disolvente y la capa externa adquirió una consistencia cerosa, perdiendo la capacidad de aglutinar petróleo.

La emulsión cremosa es continua en agua (Figura 6) pero flota sobre agua pura y no se dispersa en ella. La estructura es mantenida cuando se seca (Figura 7) mostrando que es una red tridimensional que incluye agua y tolueno (o éter de petróleo) en dominios hidrofílicos e hidrófobos. Esto es lo que da cohesión a la emulsión cremosa evitando su disolución tanto en agua como en hidrocarburo. Cuando se observa al microscopio entre polaroides cruzados no se observa birrefringencia. Entonces, todo el sistema es amorfo, tanto en emulsión como desecado.

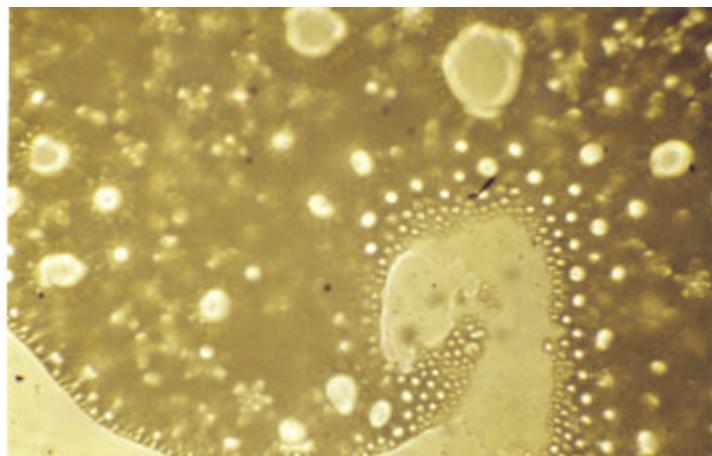


Figura 6. Microfotografía de la emulsión cremosa X 250, vista con luz no polarizada. Las zonas claras son gotículas de tolueno, las zonas oscuras continuas son dominios acuosos coloreados con colorantes solubles en agua.

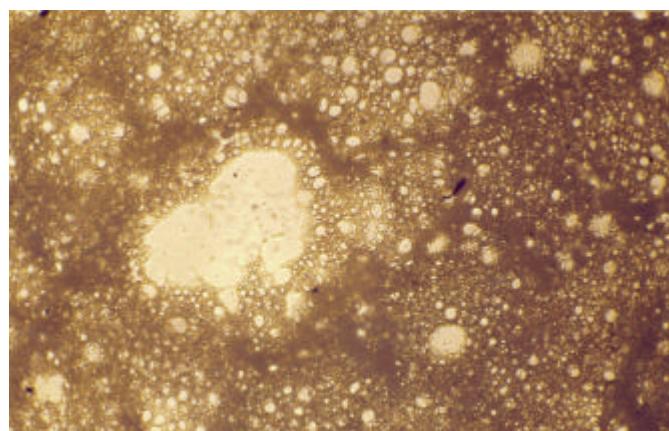


Figura 7. Microfotografía de la emulsión cremosa desecada entre porta y cubreobjetos, X 250, luz no polarizada.

En el sistema A (agua + éter de petróleo + emulsión) 4,6465 g de emulsión dieron 3,4 cm³ de agua y 0,6 cm³ de éter de petróleo, que fueron emulsificados con 0,062 g de polímero. Entonces, la capacidad de emulsificación del PBF es de 54,8 cm³ de agua y 9,69 cm³ de éter

de petróleo por gramo de PBF. Cuando se usó agua de mar, la capacidad emulsificadora del PBF fue de $25,3 \text{ cm}^3$ de agua y $2,25 \text{ cm}^3$ de éter de petróleo por gramo de polímero.

En el sistema B (agua + tolueno + emulsión), 30,315 g de emulsión dieron 26 cm^3 de agua y 4 cm^3 de tolueno, que fueron emulsificados por 0,1431 g de polímero, dando una capacidad de emulsificación de $181,7 \text{ cm}^3$ de agua y $28,0 \text{ cm}^3$ de tolueno por gramo de PBF. Cuando se usó agua de mar, la capacidad emulsificante del PBF fue de $26,6 \text{ cm}^3$ de agua y $1,70 \text{ cm}^3$ de tolueno por gramo de PBF.

Los resultados de arriba muestran que pequeñas cantidades de PBF pueden crear grandes volúmenes de la emulsión cremosa compleja tanto con hidrocarburos aromáticos como alifáticos. Sin embargo, la capacidad emulsificadora con tolueno es alrededor de tres veces mayor que para éter de petróleo. También, la sustitución del agua dulce por agua de mar produce una fuerte reducción de la capacidad emulsificante del polímero.

La capacidad de inmovilizar petróleo dispersado sobre agua es ilustrada en la secuencia de fotografías de las Figuras 8 a 10. En esta secuencia, la mancha de petróleo sobre agua dulce en una cápsula de Petri fue tratada con el producto cremoso sin agitar. El polímero lentamente aglutinó al petróleo y en 24 horas se formó una crema semisólida, y no se pudo ver petróleo libre.



Figura 8. Izquierda: 15 cm^3 de petróleo crudo desparramado sobre agua en una cápsula de Petri. Derecha: 15 cm^3 de petróleo crudo mas 10 cm^3 de emulsión cremosa sobre agua en una cápsula de Petri, sin agitación, situación inicial.



Figura 9. La muestra anterior, luego de tres minutos con agitación leve.



Figura 10. La muestra de la figura 8, luego de 24 horas sin agitación.

La Figura 9 muestra el efecto de agitación leve. La mancha de petróleo fue aglutinada luego de 30 segundos. Esto significa que en espejos de agua naturales las olas superficiales incrementarán la velocidad de aglutinación.

La adición de una pequeña cantidad de solución Aerosol OT acrecentó la velocidad de aglomeración del petróleo. La figura 11 muestra el efecto de la adición del surfactante. La adición de 5 gotas de solución aproximadamente 1% en peso de Aerosol OT claramente mejora la velocidad de aglutinación. La adición de Brij 35 no fue efectiva.

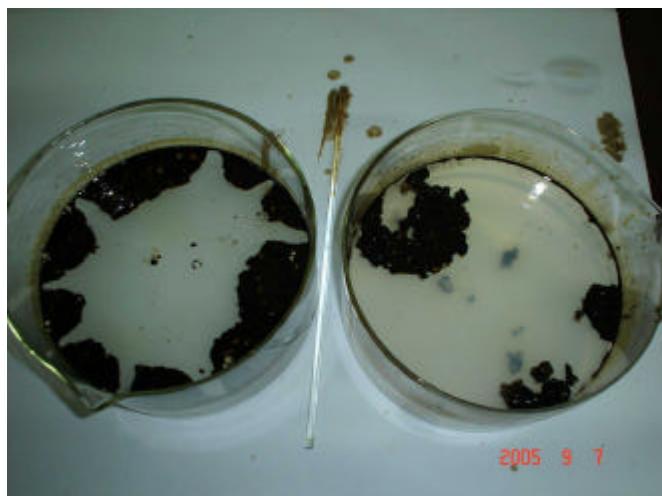


Figura 11. Efecto del agregado de surfactante. Derecha: la mancha de petróleo sin la emulsión de PBF, derecha: petróleo con emulsión agregada.

El petróleo aglutinado puede ser fácilmente removido de la superficie del agua usando una cuchara sin causar redispersión. En una escala completa, podrían utilizarse palas o coladeras para eliminar el aglomerado de la superficie del agua.

El material recién sintetizado con tolueno y neutralizado a pH 7 con solución de NaOH actuó sobre las manchas de petróleo igual que el material que conservaba el medio ácido original, lo que desde el punto de vista de su posible uso en sistemas naturales es una fuerte ventaja.

Emulsión envejecida en un recipiente no hermético. Como se expresó anteriormente, la emulsión guardada durante 14 meses en un frasco que no fue totalmente hermético produjo una separación de hidrocarburo, agua y una masa blanca formada por una cáscara de material de consistencia de cera, en la cara expuesta al aire, y una masa inferior cremosa de consistencia mayor que la del material recién fabricado o guardado en un recipiente perfectamente hermético. La Figura 12 muestra una imagen al microscopio a baja amplificación del material de la cáscara, donde se ve que ya no es una emulsión perfecta sino material con cierta cantidad de agua e hidrocarburo dispersos pero no en contacto directo.

La emulsión envejecida de 14 meses en un recipiente no hermético no tuvo el mismo efecto sobre las manchas de petróleo en cristalizador. Una vez agregado a la mancha y con agitación leve, hubo que esperar el doble de tiempo, de 5 a 6 minutos para que se formen islotes, y éstos eran mucho menos compactos, y no se aglomeró todo el petróleo.

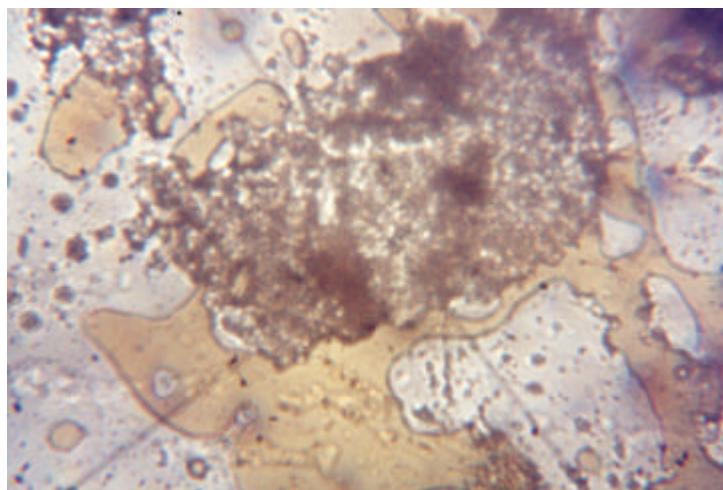


Figura 12. Emulsión envejecida, capa superior de consistencia cerosa. Observar la gran diferencia con la fotografía de la Figura 6. Ya no es una emulsión directa. X63.

En probetas de 100 mL se colocaron 40 cm³ de agua, 30 cm³ de éter de petróleo y 25 cm³ de emulsión envejecida, (en una de las probetas material de la cáscara externa de consistencia cerosa y en la otra la emulsión menos modificada de abajo), se agitó el contenido vigorosamente y luego se las dejó durante 10 días en reposo para que la emulsión se equilibrara con el hidrocarburo y el agua. Luego se separó la emulsión, que tenía aspecto solidiforme, muy diferente de la emulsión recién sintetizada. Se desecó el material durante una semana en estufa al vacío y se obtuvieron los espectros FT-IR, que no mostraron diferencias notables con las del material desecado proveniente de la emulsión fresca, excepto un cambio en la intensidad relativa de algunos picos. Tomando como base la absorbancia del pico de metilenos de 2929 cm⁻¹, la absorbancia relativa del pico de 1285 cm⁻¹ (P=O asociado) fue de 0,659 para el polibutadieno fosfonado nuevo, 0,984 para el material envejecido de la cáscara cerosa y 1,20 para el material envejecido. Para la banda de 1028 cm⁻¹ (P-O) las intensidades relativas son 0,565, 1,05 y 1,31 respectivamente. Puesto que es sumamente improbable que aumente el contenido de fósforo del polímero, la explicación es que ocurre un cambio conformacional con acercamiento de los grupos fosfónicos y un aumento del grado de asociación de los mismos (lo que aumenta la intensidad de los picos involucrados) y produce una contracción del material disminuyendo su capacidad de absorber líquidos.

En la muestra envejecida externa 0,5705 g de polímero contenían 0,4631 g de líquido, es decir, 0,8117 g de líquido por gramo de polímetro. La muestra inferior de emulsión envejecida 0,07776 g de polímero contenían 0,7656 g de líquido, es decir, 9,853 g de líquido

por gramo de polímero. Como comparación, la emulsión fresca contuvo 64,59 g de líquido (agua + éter de petróleo) por gramo de polímero.

Uso del polímero desecado. Se realizó una prueba con polímero desecado de su solución en tolueno, luego de la síntesis, a fin de verificar si puede ser guardado en forma sólida y redissuelto antes del uso. Para ello se eliminó por evaporación al vacío el tolueno y se obtuvo un polvillo color amarronado. El 0,0265 g del polvillo se disolvieron en 20 cm³ de tolueno. La solución se sonicó en un baño de ultrasonidos por 15 minutos, y luego se dejó reposar durante 72 horas a temperatura ambiente.

Esta solución se agregó en forma escalonada a una mancha de petróleo sobre agua dulce con agitación leve. El agregado de 1 cm³ produjo una aglomeración parcial en pequeños islotes. Con el sucesivo agregado (3, 3, 3 y 19 cm³), se intensificó la formación de pequeños islotes de aglomerado, pero la velocidad de formación de los aglomerados fue significativamente menor que en el caso de la espuma relativamente nueva, e incluso los islotes formados estaban mucho más dispersos que en el caso de esta última. En consecuencia, la eficiencia del polímero desecado es mucho menor que en el caso del empleo de la emulsión compleja tal como se sintetiza.

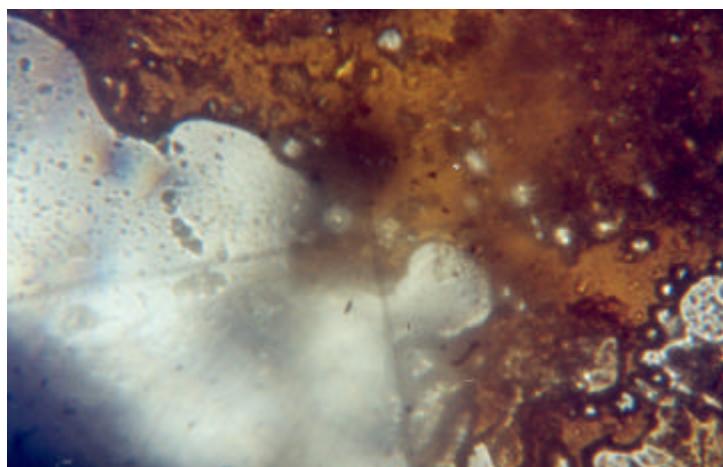


Figura 13. Emulsión producida con petróleo sobre agua dulce, tratado con polímero redissuelto en tolueno y dejada reposar una semana. Observar que la fase continua es de petróleo.

La Figura 13 muestra una imagen de la emulsión obtenida con petróleo y el polibutadieno fosfonado redissuelto en tolueno. La principal diferencia con la Figura 6 es que en este caso, la emulsión parece ser continua en hidrocarburo, es decir, el tipo de emulsión es el inverso que en el caso del empleo de la emulsión original.

CONCLUSIONES

- El producto es estable en el almacenamiento por largos períodos sin pérdida de sus propiedades, si el recipiente es hermético. Produce una emulsión de aceite en agua que flota sobre el agua sin dispersarse, y emulsiona petróleo dando una crema semisólida que puede ser fácilmente eliminada de la superficie del agua usando palas o coladeras. La velocidad de aglutinación puede ser mejorada por adición de algunos surfactantes y mediante agitación.
- Guardado por mucho tiempo en recipientes no herméticos el material sufre una modificación, posiblemente conformacional, que lo hace menos efectivo para absorber hidrocarburos y agua.
- La perspectiva de uso del PBF para eliminar pequeñas manchas de petróleo sobre agua parece ser promisoria. Esta puede ser una técnica complementaria de los métodos para combatir grandes derrames, tales como barreras flotantes.
- Pequeñas cantidades de PBF pueden crear grandes volúmenes de la emulsión cremosa con hidrocarburos aromáticos y alifáticos. Sin embargo, la capacidad emulsificadora para tolueno es aproximadamente tres veces mayor que para éter de petróleo.
- Las soluciones de polímero en tolueno pueden facilitar la dispersión sobre los derrames de petróleo, pero su eficiencia es menor.
- Estamos trabajando en mejorar la capacidad y velocidad de emulsificar hidrocarburos del PBF, especialmente hidrocarburos alifáticos, y de reducir el efecto de reemplazar el agua dulce por agua de mar. También estamos estudiando los efectos del PBF sobre manchas de petróleo en condiciones que pueden encontrarse en medios naturales.
- Estamos también estudiando la causa de la fuerte reducción en la evaporación de tanto el agua como el hidrocarburo por la presencia del PBF, aún cuando la emulsión se haya roto.

Agradecimientos. Este trabajo fue parcialmente financiado por un subsidio del Instituto Universitario Naval, Unidad Académica Escuela de Oficiales de la Armada, y parcialmente por un subsidio de la Universidad Nacional del Sur.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rieger M.M., *Cosmetics & Toiletries*, **101**, 23 (1986).
2. Helenius A., Söderlund H., *Biochim. Biophys. Acta*, **307**, 278 (1973)
3. Ward R.L., Ashley C.S., *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 314 (1979)
4. Ward R.L., Ashley C.S., *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 1148 (1980)
5. Ahkong Q.F., Howell J.I., Tampion W., Lucy J.A., *FEBS Lett.* **41**, 206 (1974)
6. Steinhardt J., Scott J.R., Birdi K.S., *Biochem.*, **16**, 718 (1977)
7. Hart C.A., Ahkong Q.F., Fisher D., Goodall A.H., Hallina T., Lucy J.A. *Biochem. Soc. Trans.*, **3**, 733 (1975)
8. Ahkong Q.F., Fisher D., Tampion W., Lucy J.A., *Biochem. J.*, **136**, 147 (1973)
9. Lee S.H.S., Rozee K.R., Safe S.H., Croker J.F.S., *Chemosphere*, **7**, 573 (1978)
10. Scheuplein R.J., Ross L., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **21**, 853 (1970)
11. Gangolli S.D., Grasso P., Goldberg L., *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **5**, 601 (1967)
12. Grasso P., Goldberg L., *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **4**, 269 (1966)
13. Domínguez J.C., Parra J.L., Infante M.R., Pelejero C.M., Dalaguer F., Sastre T., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **28**, 165 (1977)
14. Dobbs H.E., Dawes R.I.F., Whittle B.A., *N.Z.J. Med.*, **76**, 213 (1972)
15. Godfrey H., *J. Amer. Med. Assoc.*, **215**, 643 (1971)
16. Ramade F. "Ecotoxicologie", Colection d'Ecotoxicologie, Masson, Paris (1979).
17. Shell internal report (Project N° 63626 Rep. n° 40-66) "Toxicity of Surfactants to Fishes".
18. Swedemark M., *Marine Biology* **9**, 183 (1971).
19. Wildish D.J., *Water Research*, **6**, 759 (1972).
20. Nethery A.A., *Cytologia*, **32**, 321 (1967)
21. Jackson W.T., *Plant Physiol.*, **37**, 513 (1962)
22. Haapala E., *Physiol. Plant.*, **23**, 187 (1970)
23. Parr J.F., Norman A.G., *Bot. Gaz.*, **126**, 86 (1965)
24. Kosolapoff GM, *Organic Reactions* **VI**, 273 (1951)
25. Stefenel M.M., Vuano B.M., Mayer C.E., *Corrosion*, **57**, 898 (2001)
26. Schulz P.C., Fernández Band B., Vuano B.M., Palomeque M., Allan A.L., *Colloid Polym. Sci.*, **274**, 741 (1996)
27. Azuma C., Sansui K., Koshiishi K., Ogata N., *J Polym Sci., Polym. Chem. Ed.*, **17**, 287 (1979)