

3.3. RESULTATS

3.3.1. CARACTERÍSTIQUES I COMPORTAMENT AMBIENTAL (DQO, DBO₅ I BIODEGRADACIÓ)

Els paràmetres estudiats per a la caracterització dels suavitzants catiónics han estat: la demanda química d'oxigen (DQO), la demanda biològica d'oxigen (DBO₅) i la biodegradació.

3.3.1.1. Demanda Química d'Oxigen (DQO) (AFNOR T 90-101, 1971)

Els valors mitjans de DQO (s'han realitzat quatre repeticions per cada suavitzant) obtinguts per les emulsions i les microemulsions dels 5 suavitzants estudiats estan representats en la TAULA IX. Els valors que s'obtenen s'expressen com miligramms d'oxigen necessaris per a oxidar un kilo de mostra, en aquest cas, de cada un dels suavitzants emulsionats (0,23 g/l) i microemulsionats (de concentració diferent segons el suavitzant) analitzats.

TAULA IX. Valors de la demanda química d'oxigen (DQO) pels cinc suavitzants utilitzats emulsionats (0,23 g/l) i microemulsionats (entre 34,0 i 40,8 g/l segons suavitzant), les seves mitjanes i desviació estàndar (*sd*).

	EMULSIÓ mitjana (<i>sd</i>) (IC 95%) (mg O ₂ /Kg)	MICROEMULSIÓ mitjana (<i>sd</i>) (IC 95%) (mg O ₂ /Kg)
DSDMAC	532 (11,5)	307.250 (15.130)
DSEMAMS	790 (11,4)	357.250 (24.310)
DSCEEMAMS	428 (8,7)	282.750 (9.215)
DSAEMIMS	504 (10,5)	322.750 (19.515)
DAAIMS	627 (9,0)	290.500 (14.250)

La DQO mitjana dels agents microemulsionats utilitzats per a la elaboració de les microemulsions és de 98.600 mg O₂/Kg (*sd*: 8.884).

3.3.1.2. Demanda Biològica d'Oxigen (DBO₅) (AFNOR T 90-103, 1971)

Els resultats per a la DBO₅ estan representats en la TAULA X. Aquests valors representen la quantitat d'oxigen utilitzat, expressat en mg/l, durant la degradació microbiana del contingut orgànic de la mostra, en un període de temps de 5 dies.

TAULA X: Valors de la demanda biològica d'oxigen (DBO₅) pels cinc suavitzants utilitzats emulsionats (0,23 g/l) i microemulsionats (entre 34,0 i 40,8 g/l segons suavitzant).

	EMULSIÓ mitjana ± SD (IC 95%) mg O ₂ /Kg	MICROEMULSIÓ mitjana ± SD (IC 95%) mg O ₂ /Kg
DSDMAC	116,6 (7,5)	127.025 (8.225)
DSEMAMS	111,7 (7,0)	132.150 (3.510)
DSCEEMAM S	146,9 (8,0)	131.700 (3.765)
DSAEMIMS	32,65 (2,63)	84.150 (7,850)
DAAIMS	23,71 (2,28)	84.000 (6.365)

El valor de DBO₅ dels agents microemulsionants, utilitzant el mateix factor de dilució que l'empreat per a la determinació de la DBO₅ dels suavitzants microemulsionats, va ser com el d'un blanc.

3.3.1.3. Biodegradació

Per a determinar la biodegradació dels suavitzants catiónics es van seguir dos mètodes: el 302B OCDE de Biodegradabilitat inherent, Test de Zahn-Wellens modificat, i el 301E OCDE de Biodegradabilitat ràpida, Test de Screening modificat.

En la FIGURA 7 estan representades les corbes de biodegradació de cadascuna de les emulsions pels dos mètodes utilitzats. En la FIGURA 8 es representen les corbes obtingudes a partir de les microemulsions.

Amb el mètode de Biodegradabilitat inherent (302B OCDE) els percentatges de degradació per a les emulsions és superior al 70 % a les poques hores (3 hores) d'haver començat l'assaig, i

superior al 90 % als pocs dies (1-3 dies), assolint el 100% al 7è-9è dia. Per a les microemulsions, els valors obtinguts a les poques hores d'haver començat l'assaig varien entre el 30-50 % de degradació, encara que als pocs dies també assoleixen valors superiors al 90 %. Tanmateix, els suavitzants del tipus metilsulfat d'amoni quaternari (DSEMAMS i DSCEEMAMS) no arriben al 100 % de degradació fins el 20è dia.

Amb el mètode de Biodegradabilitat ràpida (301E OCDE), s'observa que els diferents suavitzants no es degradaven de la mateixa manera, tanmateix, la forma emulsionada i la microemulsionada d'un mateix suavitzant assoleixen un percentatge de degradació similar.

El DSDMAC, un clorur d'amoni quaternari, tant emulsionat com microemulsionat, té una degradació molt baixa (20-30 %). Entre els suavitzants metilsulfats d'amoni quaternari s'observa que el DSEMAMS emulsionat i microemulsionat té una degradació entre el 70 i el 80 %; l'altre metilsulfat d'amoni quaternari, el DSCEEMAMS, assoleix valors de degradació superiors al 80 % tant emulsionat com microemulsionat.

Les dues imidazolines quaternàries (DSAEMIMS i DAAIMS) assoleixen valors superiors al 90 % tant en forma emulsionada com microemulsionada. Tanmateix DSAEMIMS microemulsionat assoleix aquest percentatge de degradació més lentament que en la forma emulsionada.

La diferència de velocitat de degradació entre els 2 mètodes (302B OCDE i 301E OCDE) sembla deguda al tipus d'inòcul que s'ha utilitzat en cada un d'ells. En la biodegradació inherent (302B OCDE) s'emprea com a inòcul fangs activats, amb una concentració relativament elevada (1 g de matèria seca/ litre), mentre que en la biodegradació ràpida (301E OCDE), l'inòcul és una suspensió bacteriana relativament petita (0,5 ml/litre d'una suspensió (100 g terra/litre)).

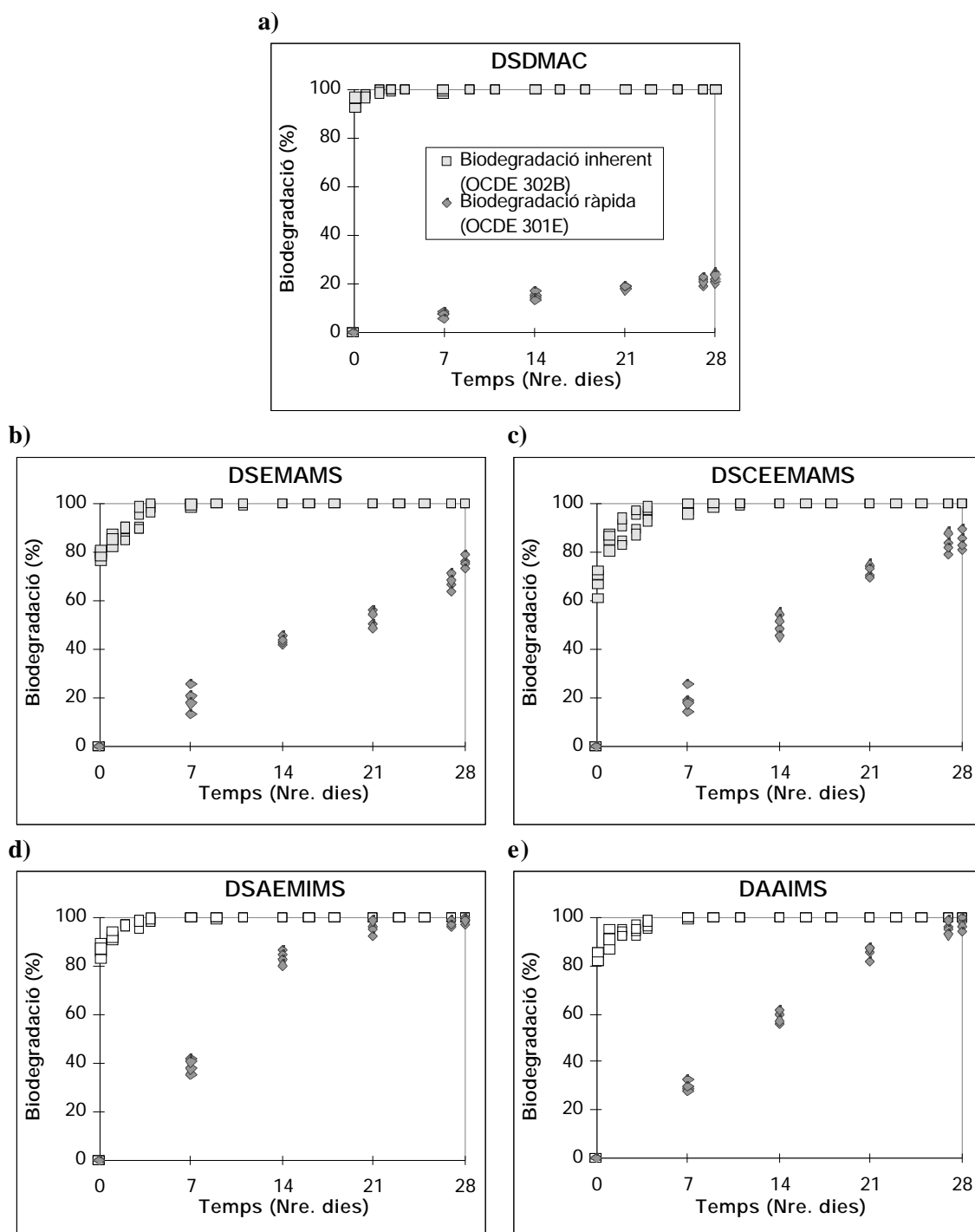


FIGURA 7: Representació gràfica de la Biodegradació ràpida (301E OCDE) i de la Biodegradació inherent (302B OCDE) per cada un dels suavitzants emulsionats (a-e).

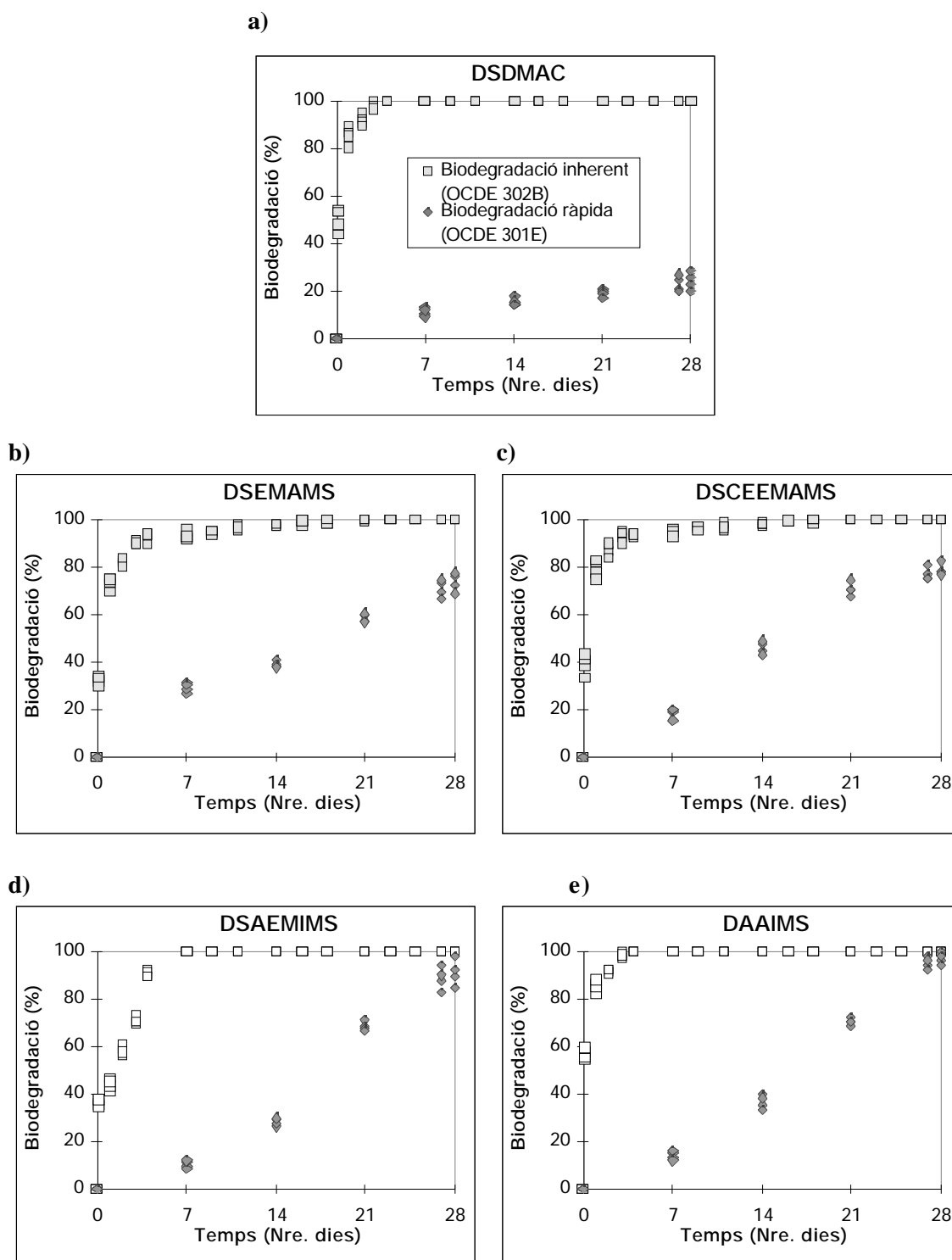


FIGURA 8: Representació gràfica de la Biodegradació ràpida (301E OCDE) i de la Biodegradació inherent (302B OCDE) per a cada un dels suavitzants microemulsionats (a-e).

3.3.2. BIODEGRADACIÓ/TOXICITAT EN BACTERIS LLUMINISCENTS

S'ha fet el seguiment conjunt de la biodegradabilitat (segons mètode 302-B OCDE) i de la toxicitat en bacteris (*Photobacterium phosphoreum*) (AFNOR T 90-320) dels 5 suavitzants en estudi, tant emulsionats com microemulsionats, per a determinar si hi ha una relació entre els dos paràmetres.

Els resultats obtinguts per a les emulsions i les microemulsions estan representats en les FIGURES 9 i 10 respectivament (Veure Annex Resultats TAULES I i II). Aquests resultats indiquen que la toxicitat per *Photobacterium phosphoreum* comença a disminuir just quan s'inicia la biodegradació.

En les emulsions es pot apreciar que a les 3 hores d'haver començat l'assaig el percentatge de biodegradació és molt elevat per tots els tensioactius (FIGURA 9). Al mateix temps, la toxicitat disminueix ostensiblement en tots ells. En el cas del suavitzant DSDMAC es pot dir que a les 3 hores, en que ha assolit un percentatge de biodegradació del 93,1 %, la seva toxicitat és inapreciable, amb un percentatge d'inhibició del 0,5 %. Pels altres suavitzants el percentatge d'inhibició a les 3 hores oscil·la entre el 10 i el 20 % (percentatge de biodegradació 70 - 88 %), i als pocs dies, la seva toxicitat és inapreciable.

En les microemulsions, la biodegradació és més lenta que en les emulsions (FIGURA 10). A les tres hores d'haver començat l'assaig, DSDMAC i DAAIMS són els que s'han degradat més, amb uns percentatges del 53,6 i 57,4 %, respectivament. Aquests dos suavitzants també són els que assoleixen abans el 100 % de degradació, al quart dia d'assaig. La toxicitat dels cinc suavitzants també disminueix més lentament que en el cas de les emulsions; no obstant això, els valors són baixos, per sota del 10 % d'inhibició en tots ells.

Per comprovar si el tensioactiu persistia en el medi a les poques hores d'haver posat els suavitzants en contacte amb els fangs es va realitzar una valoració de tensioactius catiònics segons el mètode proposat pel Comité Internacional d'Anàlisi de la Detergència: per a la Determinació de Detergents Aniònics i Catiònics. Els resultats obtinguts mostraren que la concentració de tots els tensioactius, tant en emulsió com microemulsió, disminueix entre un 80 - 85 % a les 3 hores d'haver començat l'assaig, i al 100 % en el primer dia d'assaig.

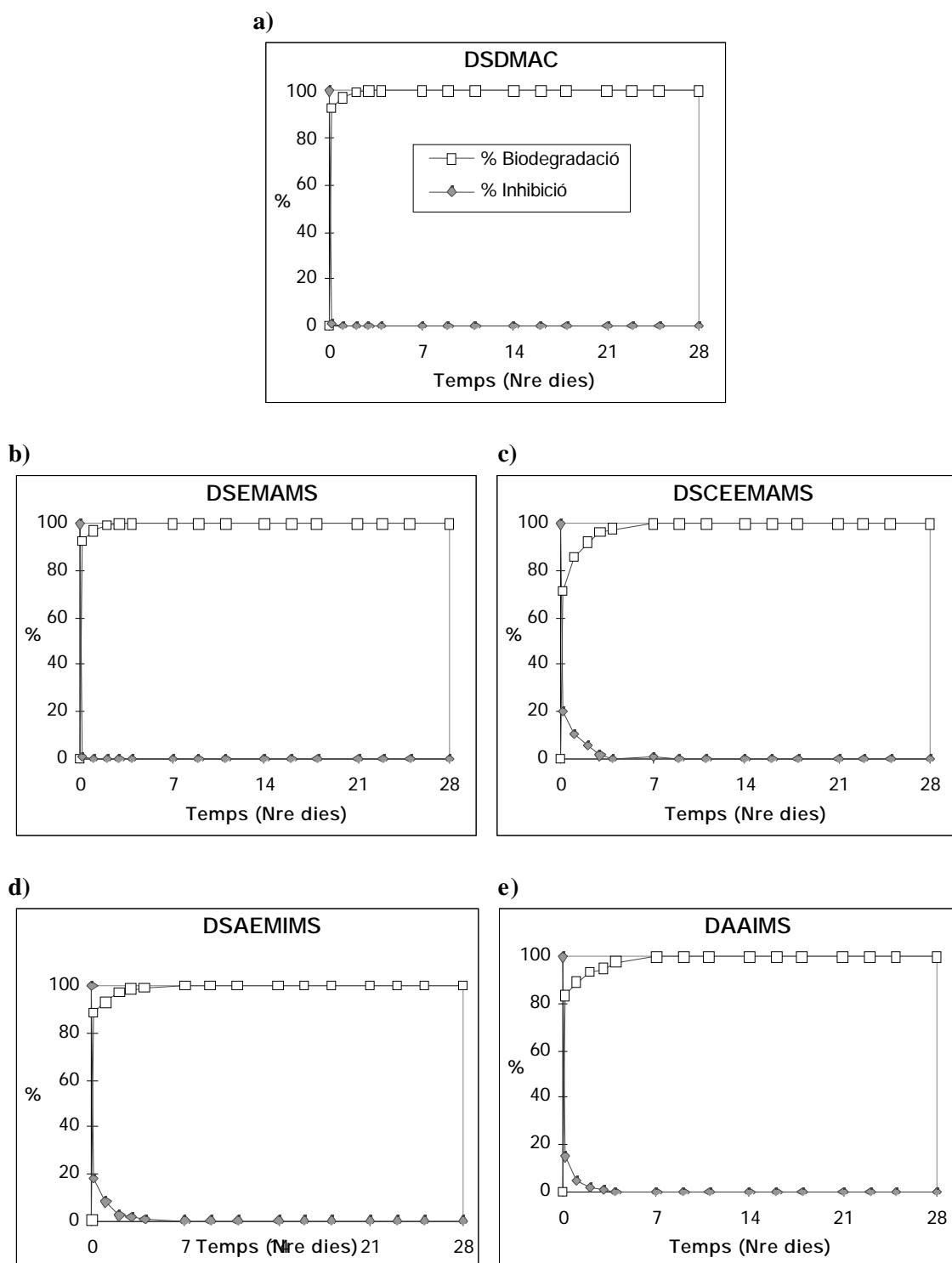


FIGURA 9: Representació gràfica de la Biodegradació inherent (302B OCDE) i de la toxicitat en *Photobacterium phosphoreum* per a cada un dels suavitzants emulsionats (a-e).

a)

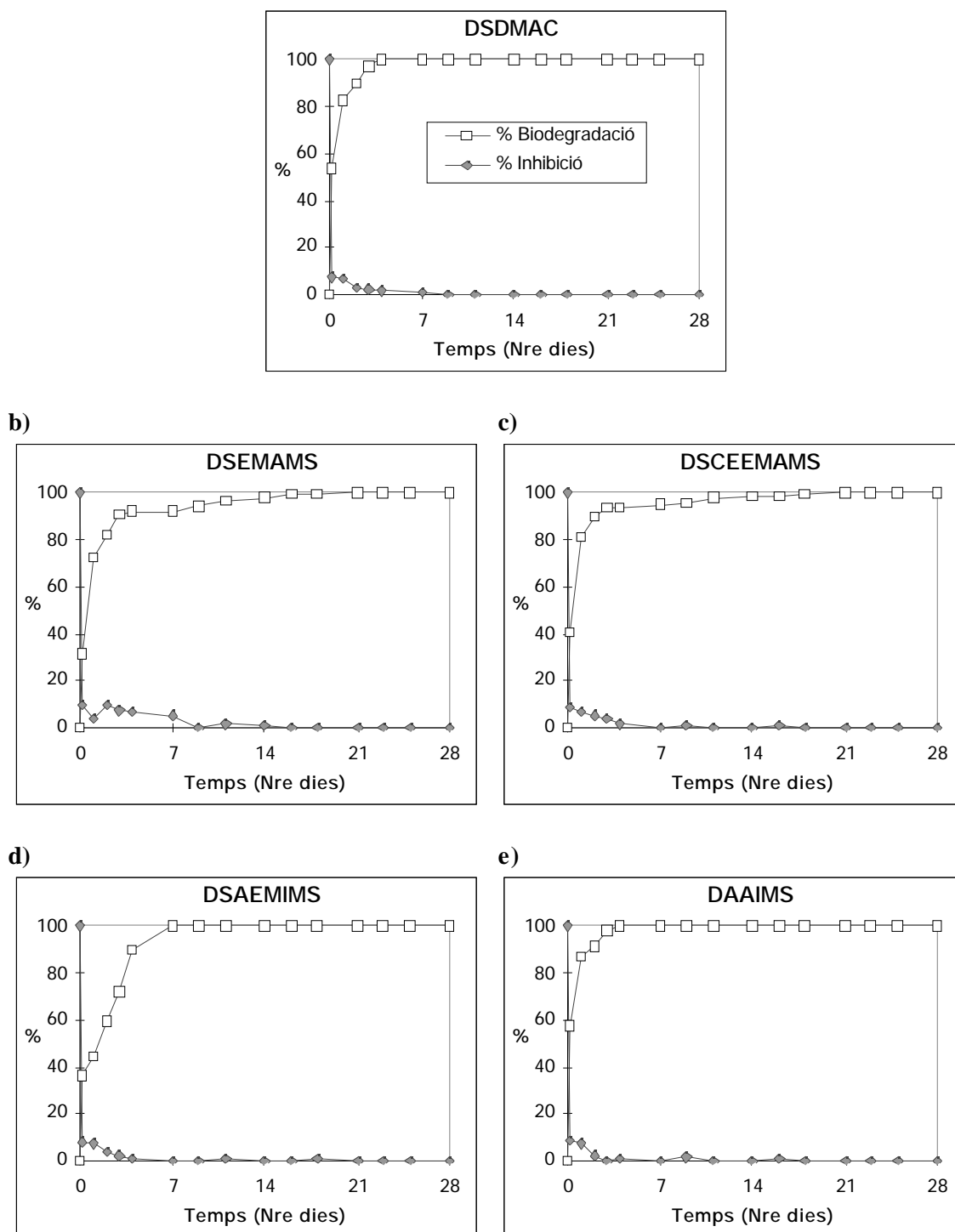


FIGURA 10: Representació gràfica de la Biodegradació inherent (OCDE 302B) i de la toxicitat en *Photobacterium phosphoreum* per a cada un dels suavitzants microemulsionats (a-e).

3.3.3. TOXICITATS AGUDES

S'ha determinat la toxicitat aguda per totes les emulsions i microemulsions. A més a més, també s'ha determinat la toxicitat de la barreja dels agents microemulsionats utilitzada per a l'elaboració de les microemulsions.

3.3.3.1. Toxicitat aguda en bacteris luminescents (*Photobacterium phosphoreum*) (AFNOR T 90-320)

Els resultats de toxicitat aguda obtinguts per *Photobacterium phosphoreum* després d'una exposició de 15 minuts als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats es presenten en les TAULES III (a-e) de l'Annex Resultats. Els valors de toxicitat estan representats mitjançant la funció Gamma, que representa la relació entre la intensitat de llum perduda (disminució de llum) i la intensitat de llum rematent.

Les rectes de regressió estimades a partir dels valors de la funció Gamma dels suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats per a *Photobacterium phosphoreum* estan representades en les FIGURES 11 (a-e) i 12 (a-e) respectivament. En l'eix d'ordenades (y) es troben representats els logaritmes de la funció Gamma, i en l'eix d'abcises (x) el logaritme de les concentracions. Les CE_{50} s'han obtingut a partir del mètode logit. En la TAULA XI estan exposats el valor mitjà de CE_{50} (15 min) per a cadascun dels suavitzants (emulsionants i microemulsionats), els seus intervals i equació de la recta, obtinguts a partir de quatre repeticions.

TAULA XI.- *Photobacterium phosphoreum*. Relació de les CE_{50} als 15 minuts (mg/l) dels suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats obtingudes. També s'especifiquen els intervals 95 % de cadascun i les seves rectes logit.

	EMULSIÓ				MICROEMULSIÓ			
	CE_{50} (15min)	Intèrval 95%	$\pm se$	$\pm se$	CE_{50} (15min)	Intèrval 95%	$\pm se$	$\pm se$
DSDMAC	29,2	27,6- 30,9	5,51±0,34	-1,63±0,10	7,3	6,4-8,2	2,84±0,14	-1,42±0,05
DSEMAMS	52,4	49,6- 55,6	7,81±0,43	-1,97±0,11	9,4	8,5-10,5	2,11±0,12	-0,94±0,05
DSCEEMAMS	58,3	55,7- 61,4	9,35±0,47	-2,30±0,12	7,0	6,3-7,7	2,63±0,13	-1,35±0,06
DSAEMIMS	49,0	46,4- 52,0	9,07±0,45	-2,33±0,12	5,6	5,2-6,1	2,48±0,13	-1,44±0,06
DAAIMS	68,7	65,3- 72,7	9,43±0,46	-2,23±0,12	6,1	5,5-6,6	2,32±0,13	-1,29±0,06

L'anàlisi de la variància de dos factors fixes (A: emulsió/microemulsió i B: suavitzant) per a *Photobacterium phosphoreum* ens assenyala que hi ha diferències significatives tant entre la

toxicitat de les emulsions i de les microemulsions ($p < 0,00001$), com es pot veure en la TAULA XI de resultats de CE_{50} ens indica que els suavitzants microemulsionats presenten una toxicitat més elevada, així com entre els diferents suavitzants ($p < 0,00001$) (TAULA XII). Per a poder comparar l'efecte dels suavitzants, s'ha realitzat un anàlisi de comparació múltiple de mitjanes (TAULA XIII), separatament per als suavitzants emulsionats i els microemulsionats.

TAULA XII: Anàlisi de la Variància de dos factors (A: Emulsió/Microemulsió; B: Suavitant) del $\log(CE_{50} 15\text{min})$ per a *Photobacterium phosphoreum*.

Font de variació	Suma de quadrats	g.ll.	Quadrats mitjans	F	Nivell sign.
EFFECTES PRINCIPALS	7,52	1	7,52	13683,5	0,0000
A: Emulsió/Microemulsió	0,18	4	0,04	81,8	0,0000
B: Suavitant					

En el gràfic (FIGURA 13a) es pot veure que la resposta relativa de cada suavitzant no és la mateixa en emulsió que en microemulsió ja que, mentre DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats són els suavitzants menys tòxics, quan estan en microemulsió són, pel contrari, els més tòxics.

En quant a les emulsions, es pot veure tant a la TAULA XI com en el gràfic dels intervals de confiança 0,95 dels $\log(CE_{50})$ per als diferents nivells de cada factor (FIGURA 13b), que el suavitzant menys tòxic és el metilsulfat d'imidazolina quaternària DAAIMS (68,7 mg/l) i, a continuació, el metilsulfat d'amoni quaternari DSCEEMAMS (58,3 mg/l). L'altre metilsulfat d'amoni quaternari (DSEMAMS) i l'altre metilsulfat d'imidazolina (DSAEMIMS) presenten una toxicitat similar (52,4 i 49,0 mg/l respectivament); segons el test de comparació múltiple de mitjanes (TAULA XIII) aquests dos suavitzants formen un subgrup homogeni ja que els seus intervals se solapen i per tant tenen una resposta semblant (FIGURA 13b) El clorur d'amoni quaternari DSDMAC és el suavitzant emulsionat més tòxic (29,2 mg/l).

Respecte les microemulsions, el suavitzant menys tòxic és DSEMAMS (9,4 mg/l), seguit per DSDMAC i DSCEEMAMS (7,3 i 7,0 mg/l respectivament), els quals formen un subgrup

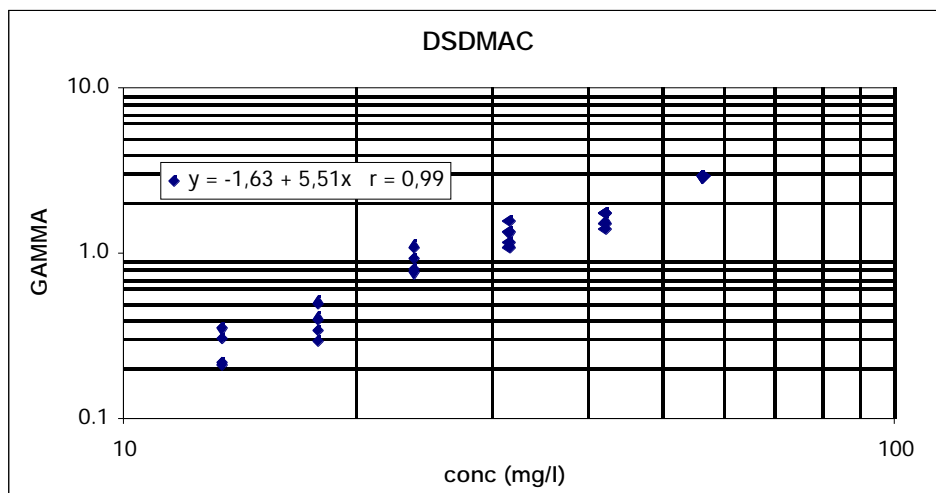
homogeni (TAULA XIII i FIGURA 13c). Els més tòxics són DSAEMIMS i DAAIMS (5,6 i 6,1 mg/l respectivament), que també formen un subgrup homogeni (TAULA XIII i FIGURA 13c).

TAULA XIII: Anàlisi de comparació múltiple de mitjanes del $\log(CE_{50}15\text{min})$ dels suavitzants emulsionats i microemulsionats per separat per a *Photobacterium phosphoreum*

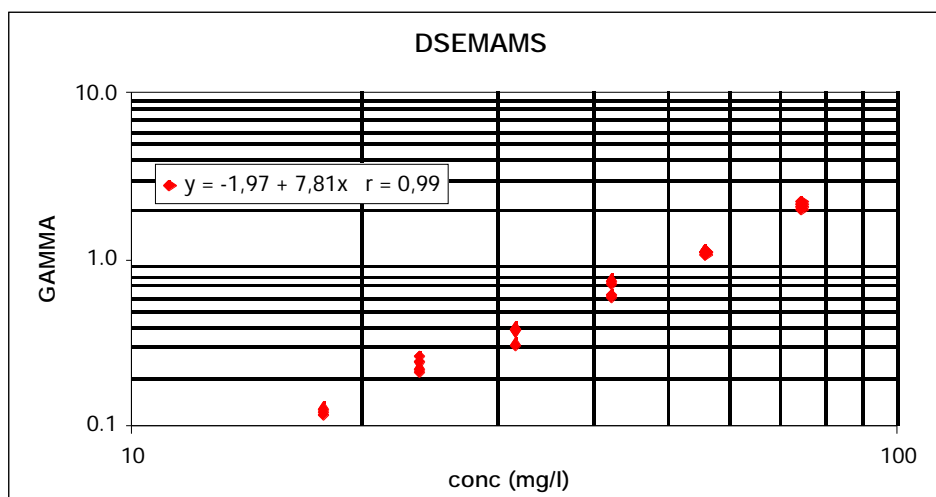
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>EMULSIÓ</u>	DSDMAC	4	3,37	X
	DSEMAMS	4	3,95	X
	DSCEEMAMS	4	4,07	X
	DSAEMIMS	4	3,90	X
	DAAIMS	4	4,24	X
Contrast (95%)		diferències	limits	Dif. Sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-0,58009	0,06478	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-0,69454	0,06478	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-0,52391	0,06478	*
DSDMAC-DAAIMS		-0,86645	0,06478	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		-0,11445	0,06478	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,05619	0,06478	
DSEMAMS-DAAIMS		-0,28635	0,06478	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,17064	0,06478	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,17191	0,06478	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,34254	0,06478	*
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>MICROEMULSIÓ</u>	DSDMAC	4	1,94	X
	DSEMAMS	4	2,20	X
	DSCEEMAMS	4	1,91	X
	DSAEMIMS	4	1,71	X
	DAAIMS	4	1,78	X
Contrast (95%)		diferències	limits	Dif. Sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-0,25861	0,09511	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		0,02931	0,09511	
DSDMAC-DSAEMIMS		0,22849	0,09511	*
DSDMAC-DAAIMS		0,15926	0,09511	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,28792	0,09511	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,48710	0,09511	*
DSEMAMS-DAAIMS		0,41788	0,09511	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,19919	0,09511	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		0,12996	0,09511	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,06923	0,09511	

* indica diferències estadísticament significatives

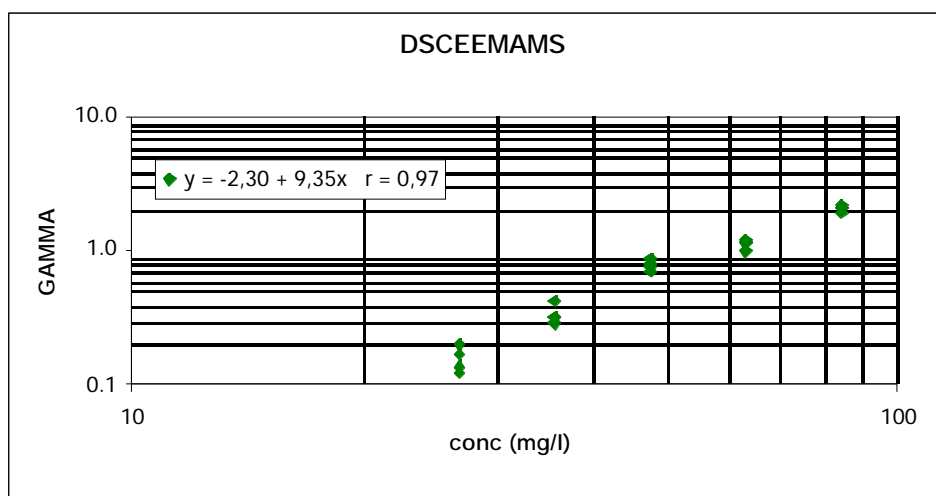
a)



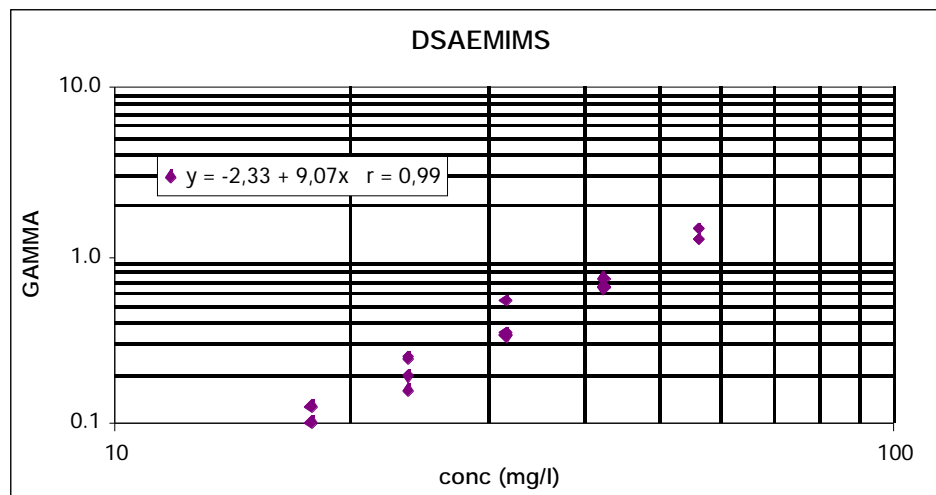
b)



c)



d)



e)

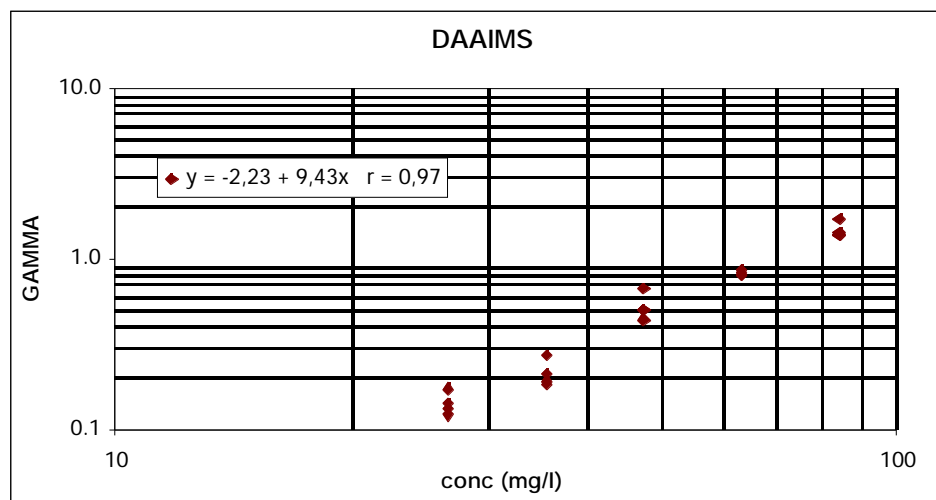
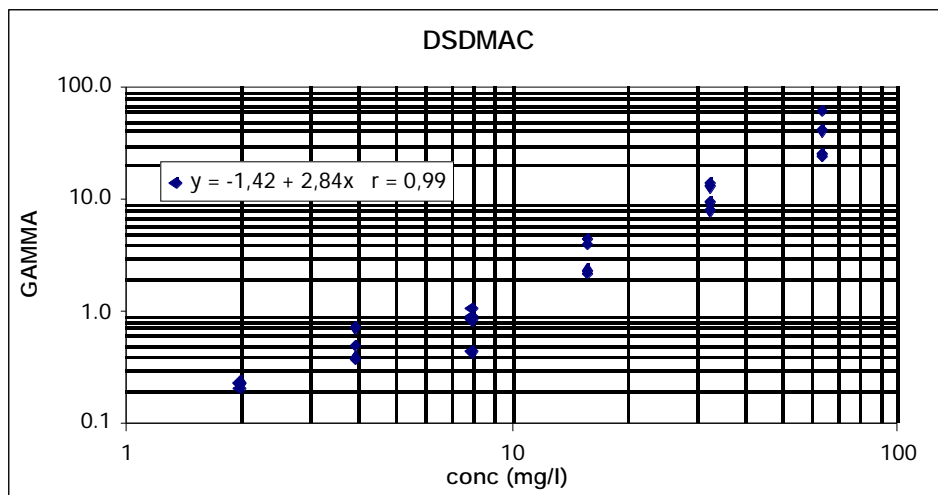
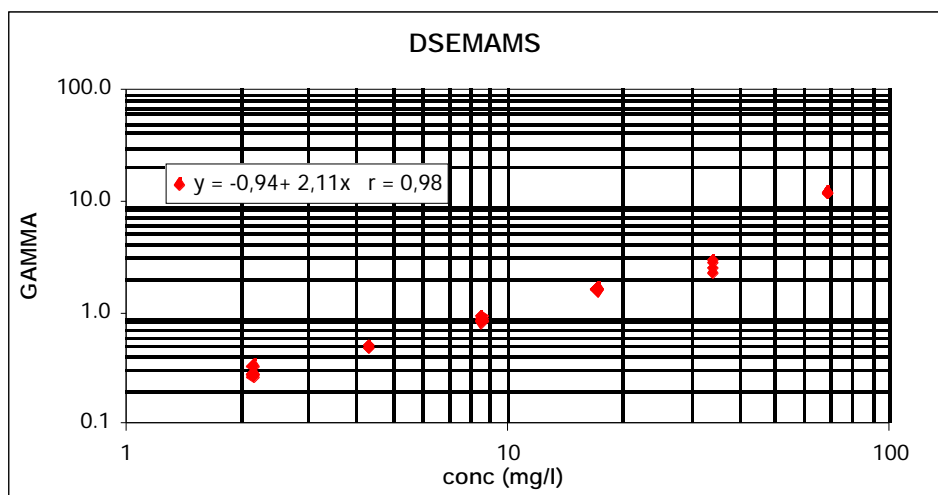


FIGURA 11: Representació gràfica de la recta obtinguda en els assaigs de toxicitat aguda en *Photobacterium phosphoreum* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats (a-e).

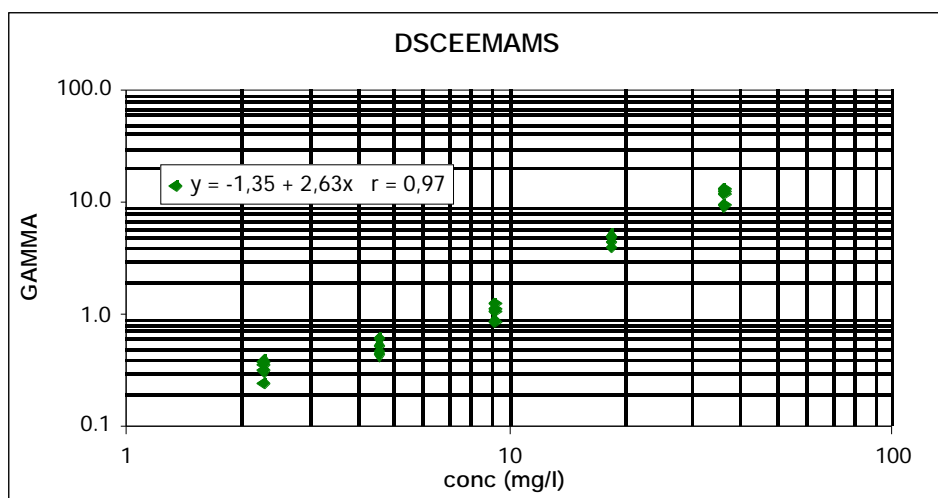
a)



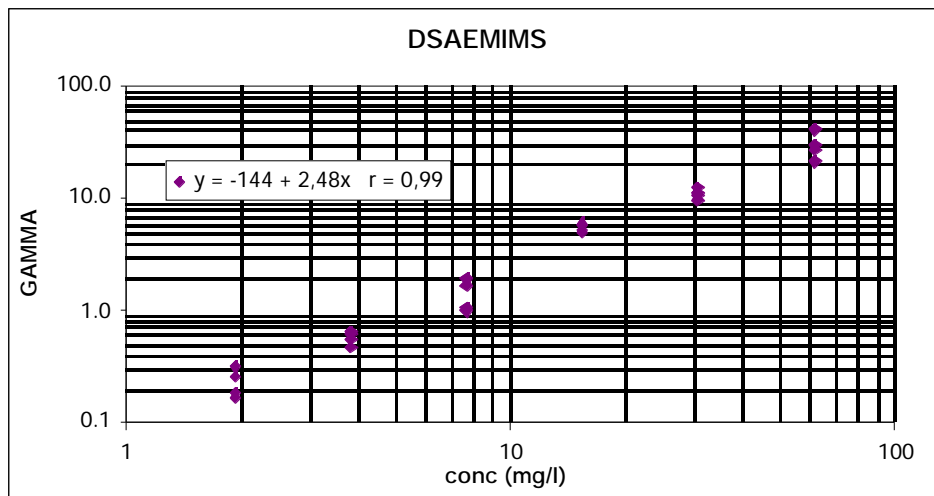
b)



c)



d)



e)

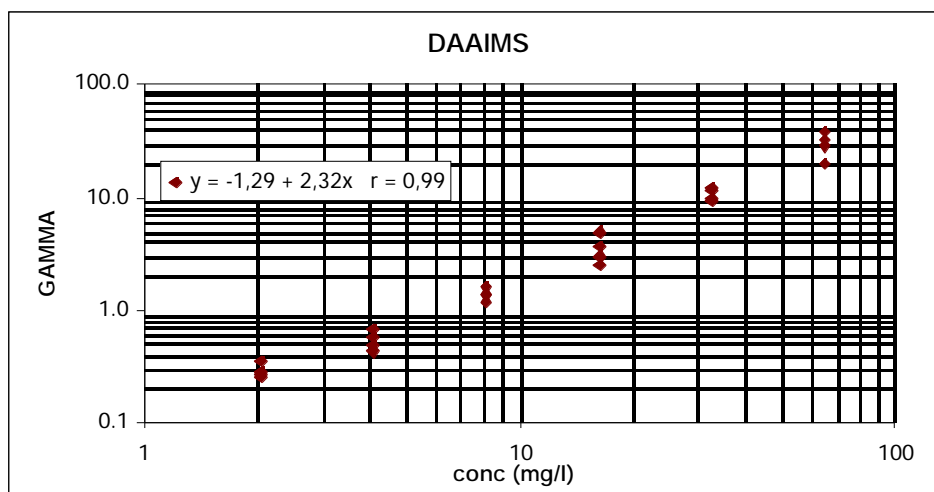


FIGURA 12: Representació gràfica de la recta obtinguda en els assaigs de toxicitat en *Photobacterium phosphoreum* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS microemulsionats (a-e).

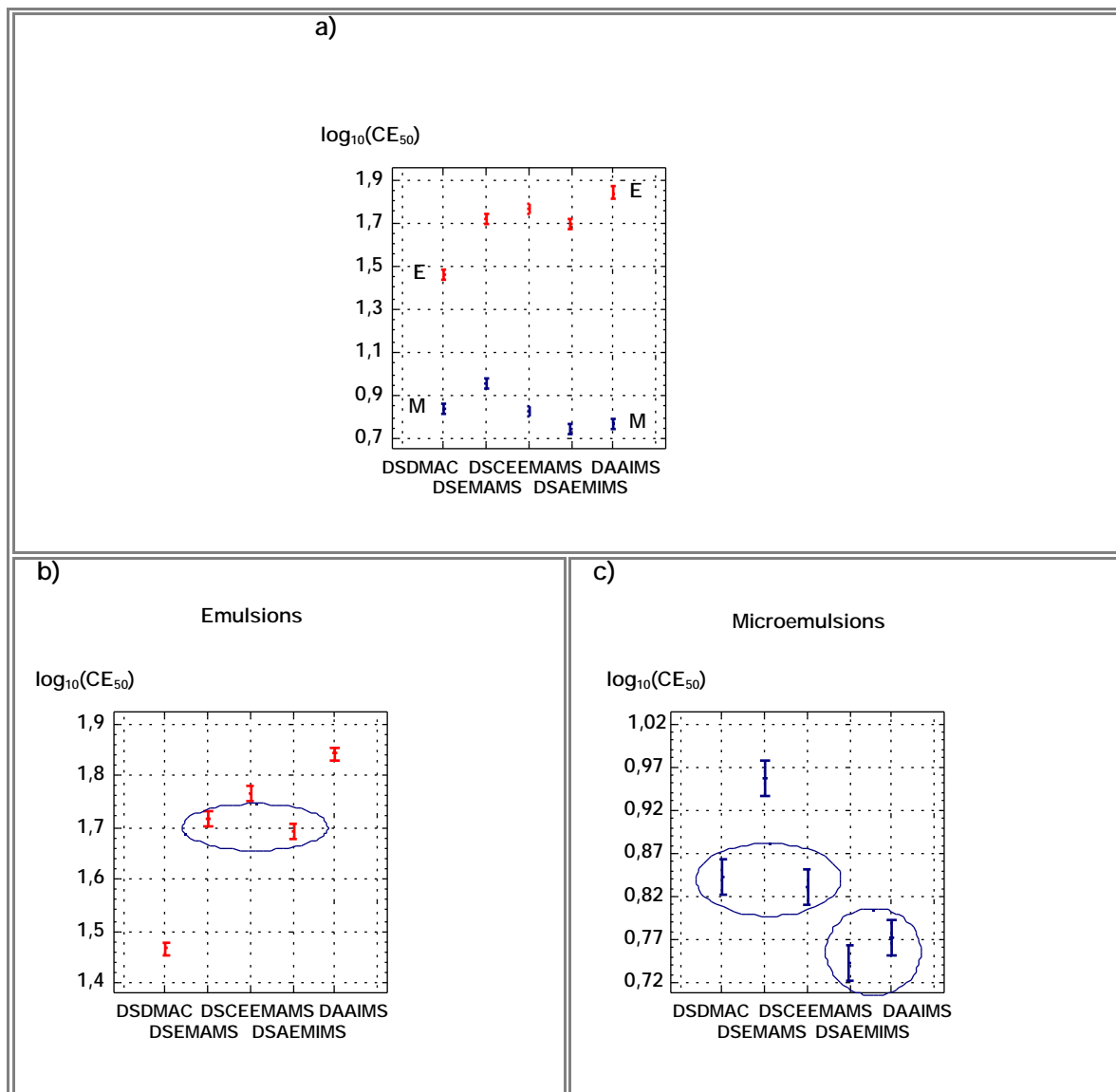


FIGURA 13: Representació gràfica dels intervals emulsió/microemulsió i suavitzants (a), i dels intervals de confiança 0,95 dels suavitzants emulsionats (b) i dels suavitzants microemulsionats (c) en *Photobacterium phosphoreum*. Els intervals que estan encerclats formen subgrups homogenis.

3.3.3.2 Toxicitat aguda en microalgues (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* i *Selenastrum capricornutum*) (OCDE 201 , 1984)

Els resultats obtinguts, en percentatge d'inhibició del creixement per cada una de les concentracions assajades, per *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* i *Selenastrum capricornutum* després d'una exposició de 72 hores als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats es presenten en les TAULES IV, V i VI respectivament de l'annex de resultats. Aquests valors corresponen a les quatre repeticions efectuades per a cada un dels suavitzants.

Les rectes de regressió obtingudes a partir dels valors d'inhibició del creixement per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats estan representades en les FIGURES 14 i 15 per *Chlorella vulgaris*, FIGURES 16 i 17 per a *Scenedesmus subspicatus* i FIGURES 18 i 19 per a *Selenastrum capricornutum* respectivament. En l'eix d'ordenades (y) es troben representats els valors de percentatge d'inhibició del creixement, i en l'eix d'abcises (x) el logaritme de les concentracions utilitzades. Per al seu càlcul s'han utilitzat els valors d'inhibició de creixement que estan compresos entre el 10 i el 90 %, com ho indica la norma 201 OCDE, Test de inhibició del creixement algal (1984). Les equacions de la recta i les CI_{50} (72h) s'han obtingut a partir del mètode logit. En les TAULES XIVa, b i c estan els valors de CI_{50} (72h) de cada suavitzant (emulsionant i microemulsionat) per a cadascuna de les microalgues, els seus intervals i equació de la recta obtinguts a partir de les quatre repeticions.

TAULA XIV.- *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus*, *Selenastrum capricornutum*. Relació de les CI_{50} a les 72 hores (mg/l) dels suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats. També s'especifiquen els intervals 95% de cada un i les seves rectes logit.

a) *Chlorella vulgaris*

	EMULSIÓ				MICROEMULSIÓ			
	CI_{50} (72h)	Intèrval 95%	$\pm se$	$\pm se$	CI_{50} (72h)	Intèrval 95%	$\pm se$	$\pm se$
DSDMAC	7,7	7,2-8,3	5,15±0,32	-2,52±0,16	1,69	1,54-1,87	0,79±0,08	-1,51±0,10
DSEMAMS	33,3	30,2-36,7	4,90±0,32	-1,40±0,09	5,8	5,4-6,4	2,88±0,16	-1,64±0,10
DSCEEMAMS	39,5	36,9-42,5	8,54±0,48	-2,32±0,13	3,2	2,9-3,6	1,31±0,08	-1,11±0,06
DSAEMIMS	26,2	24,5-28,0	7,82±0,39	-2,39±0,12	5,5	5,0-6,0	2,39±0,14	-1,40±0,07
DAAIMS	64,0	58,6-69,9	6,90±0,43	-1,66±0,10	4,8	4,3-5,4	1,39±0,08	-0,89±0,04

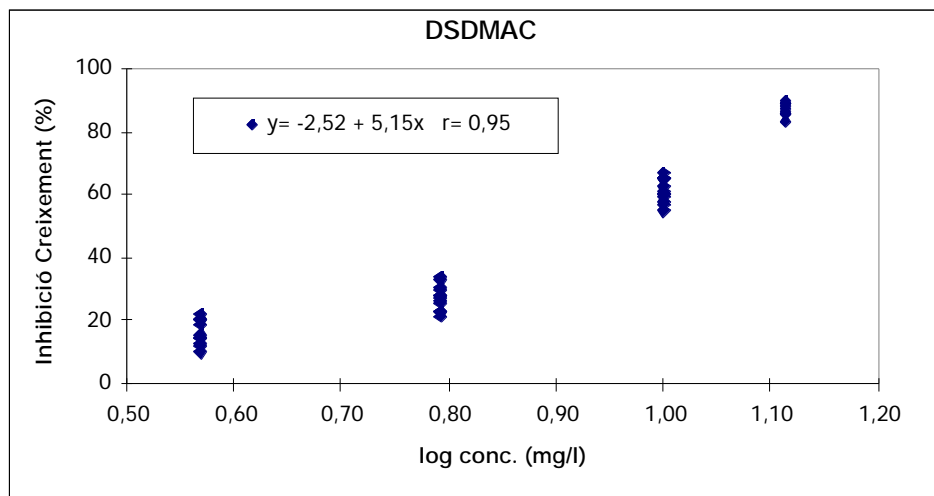
b) *Scenedesmus subspicatus*

	EMULSIÓ				MICROEMULSIÓ			
	CI ₅₀ (72h)	Intèrval 95%	±se	±se	CI ₅₀ (72h)	Intèrval 95%	±se	±se
DSDMAC	6,9	6,1-7,9	1,59±0,10	-0,82±0,04	1,76	1,63- 1,90	1,00±0,09	-1,77±0,08
DSEMAMS	85,2	78,3-92,9	7,06±0,37	-1,59±0,08	7,1	6,6-7,6	4,16±0,28	-2,13±0,13
DSCEEMAMS	52,6	44,4-61,8	2,45±0,17	-0,62±0,04	5,1	4,6-5,7	1,83±0,13	-1,12±0,07
DSAEMIMS	44,5	39,4-51,0	3,82±0,23	-1,01±0,06	4,5	4,0-4,9	1,97±0,13	-1,32±0,07
DAAIMS	109,4	96,4- 124,7	3,75±0,19	-0,80±0,04	17,9	16,1- 19,8	3,23±0,18	-1,12±0,06

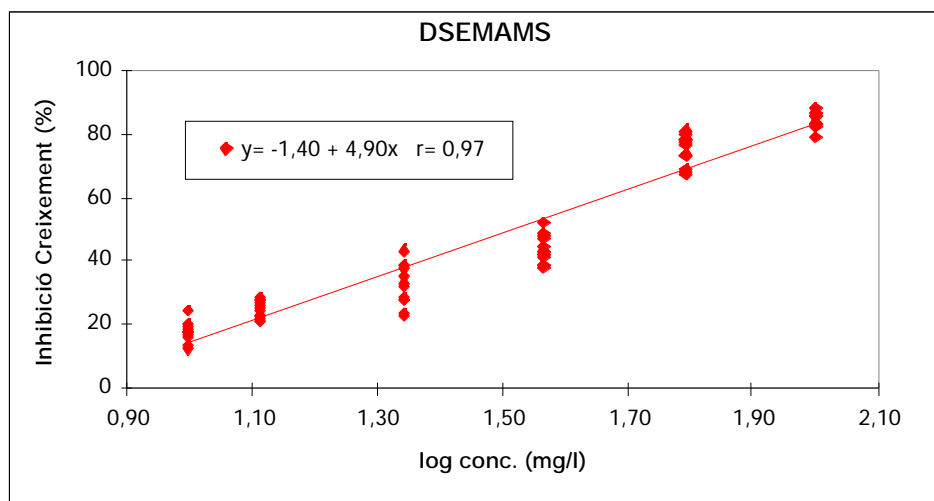
c) *Selenastrum capricornutum*

	EMULSIÓ				MICROEMULSIÓ			
	CI ₅₀ (72h)	Intèrval 95%	±se	±se	CI ₅₀ (72h)	Intèrval 95%	±se	±se
DSDMAC	8,6	8,0-9,2	4,77±0,31	-2,22±0,13	1,47	1,37- 1,60	0,78±0,08	-2,00±0,12
DSEMAMS	81,4	73,9- 89,9	5,23±0,26	-1,19±0,06	11,6	10,8- 12,3	6,53±0,37	-2,67±0,5
DSCEEMAMS	57,4	51,1- 64,5	3,67±0,19	-0,91±0,04	11,4	10,4- 12,6	3,26±0,17	-1,34±0,07
DSAEMIMS	41,9	37,9- 42,3	4,04±0,19	-1,08±0,05	7,5	7,0-8,1	4,20±0,26	-2,08±0,12
DAAIMS	83,7	75,3- 93,1	4,44±0,20	-1,00±0,05	8,1	7,3-8,9	2,78±0,15	-1,33±0,07

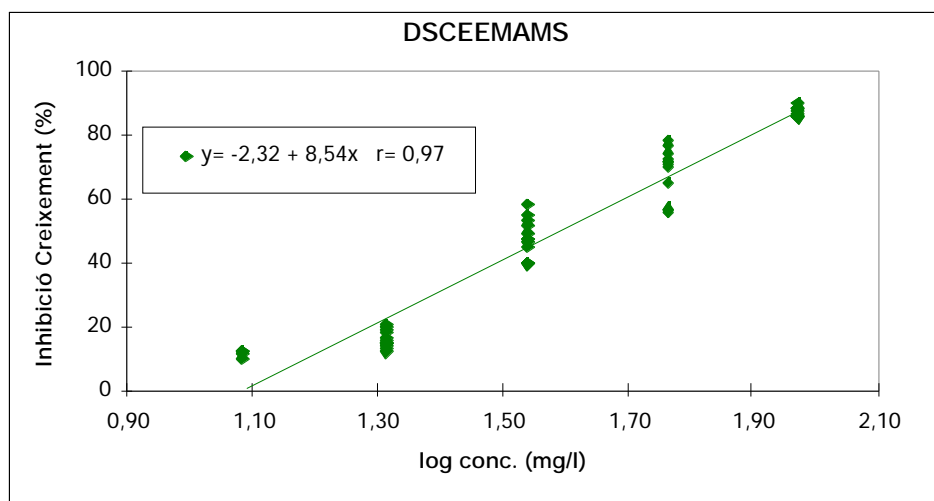
a)



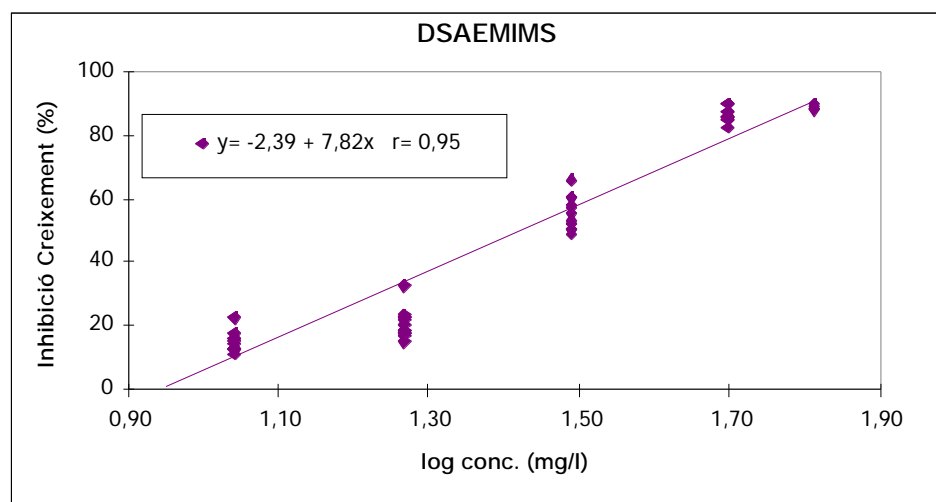
b)



c)



d)



e)

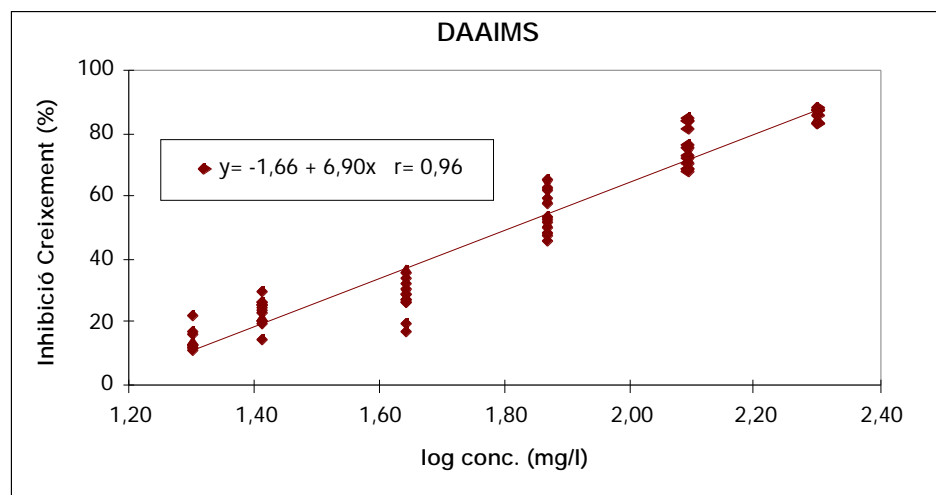
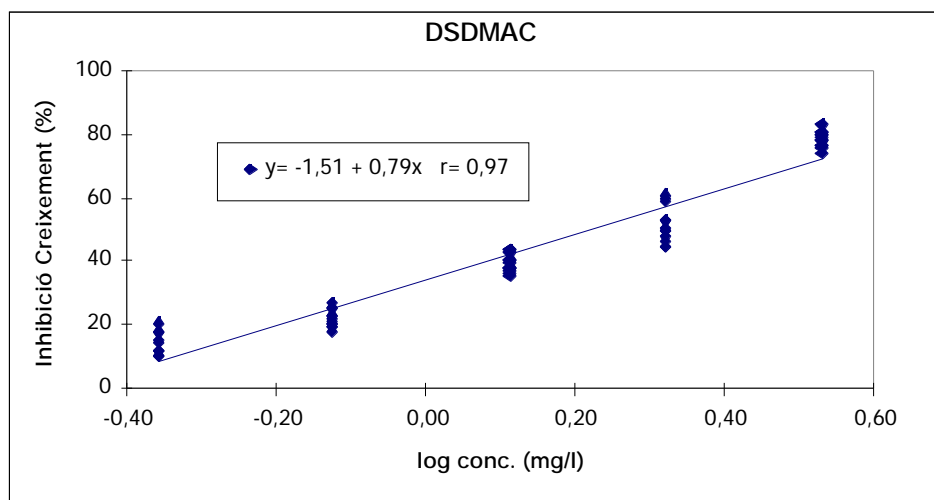
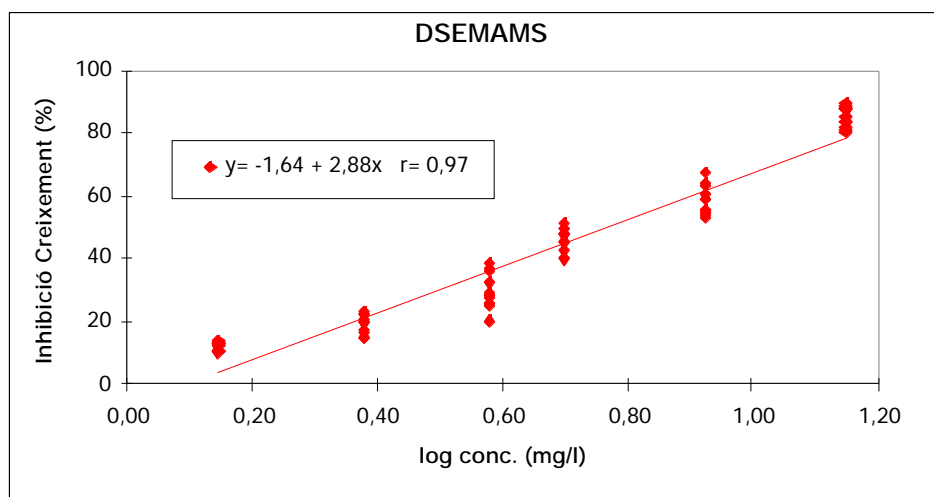


FIGURA 14: Representació gràfica de la recta obtinguda en els assaigs de toxicitat aguda en *Chlorella vulgaris* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats (a-e).

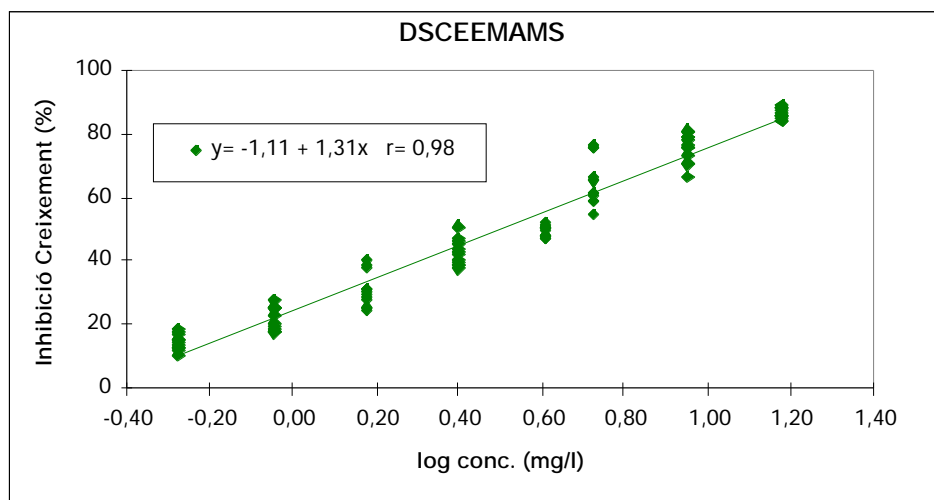
a)



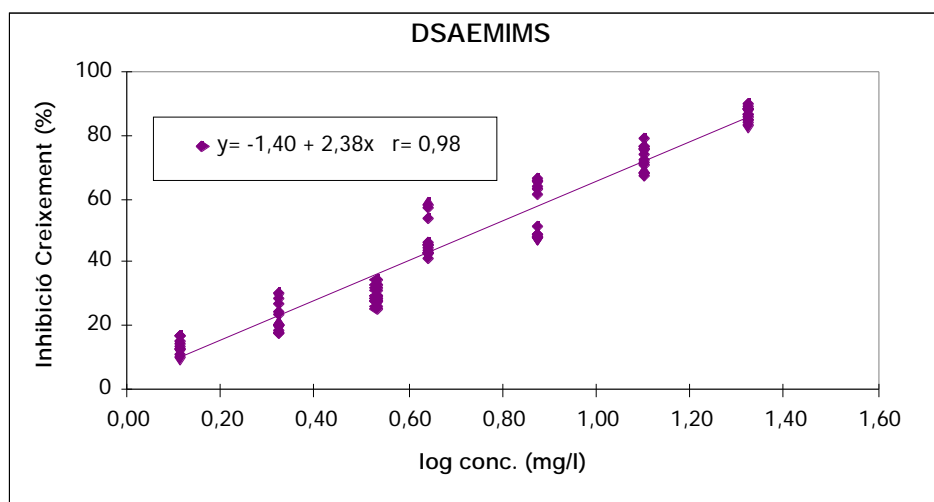
b)



c)



d)



e)

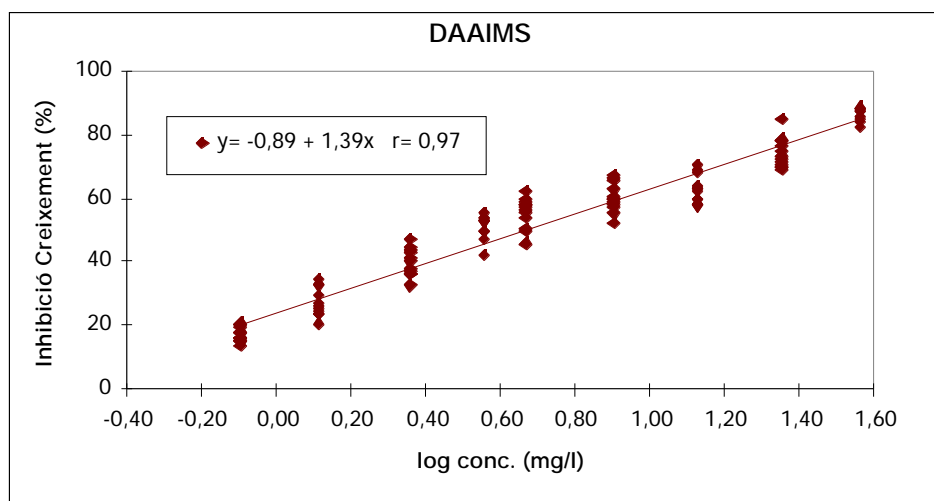
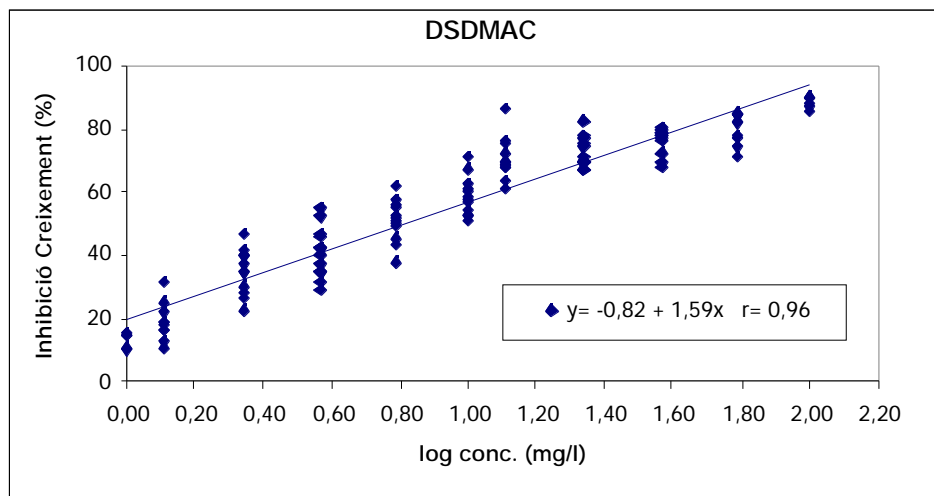
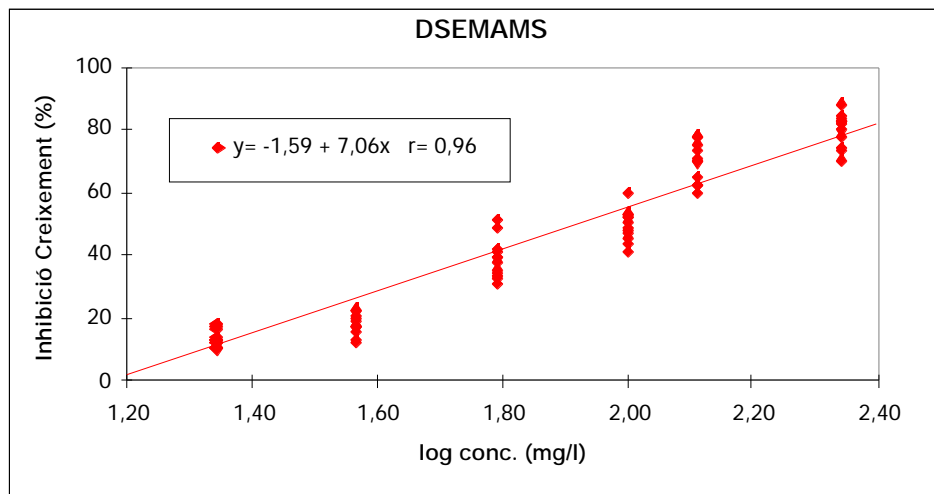


FIGURA 15: Representació gràfica de les rectes obtingudes en els assaigs de toxicitat aguda en *Chlorella vulgaris* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS microemulsionats (a-e).

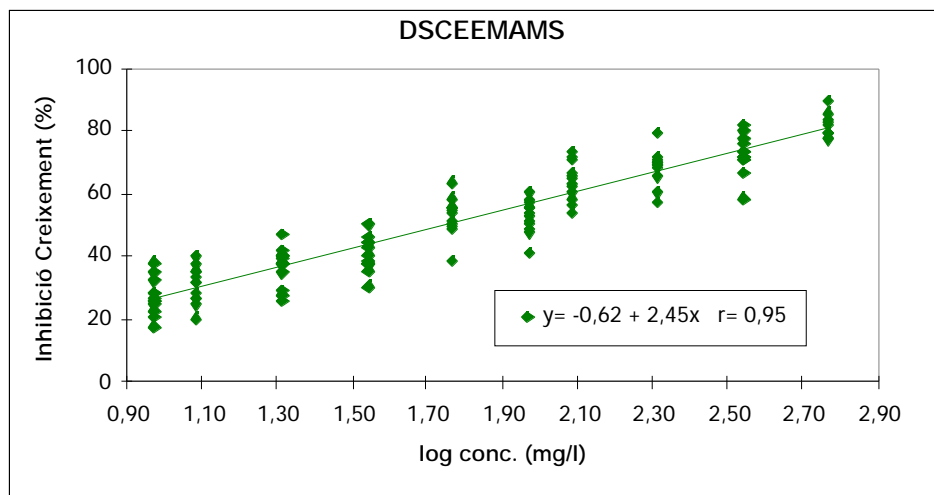
a)



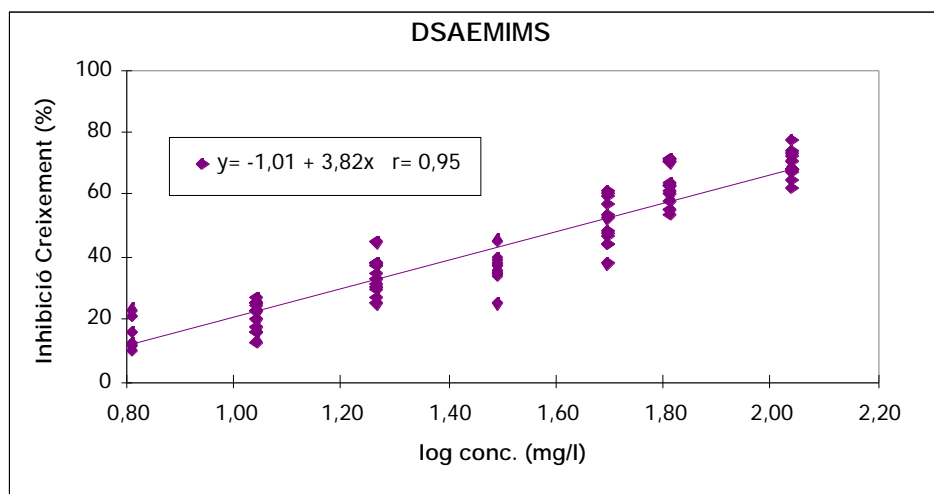
b)



c)



d)



e)

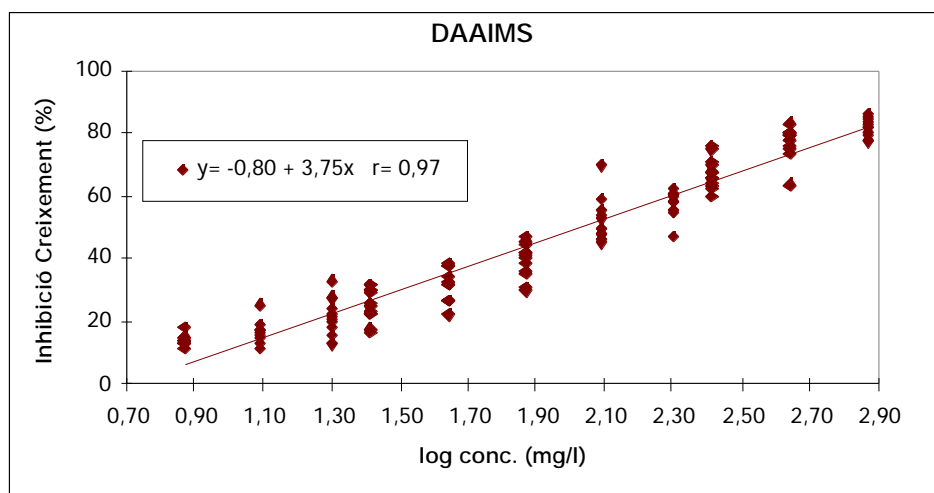
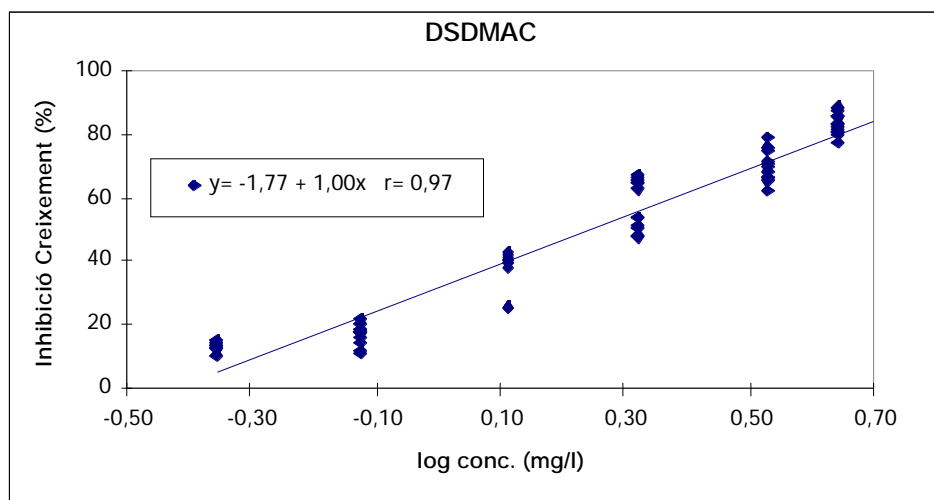
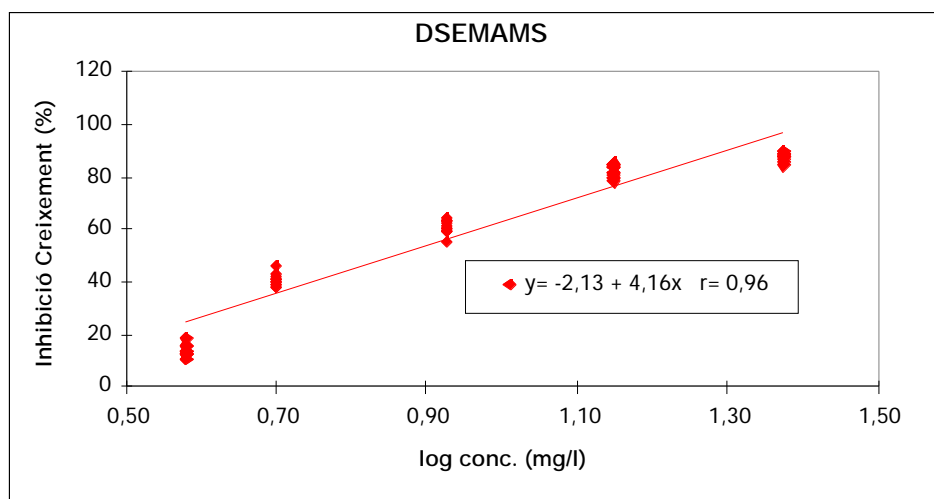


FIGURA 16: Representació gràfica de la recta obtinguda en els assaigs de toxicitat aguda en *Scenedesmus subspicatus* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats (a-e).

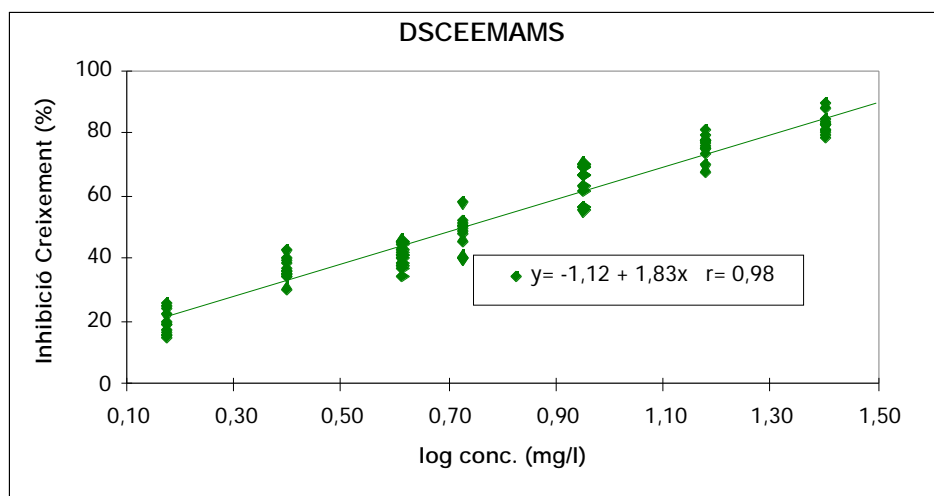
a)



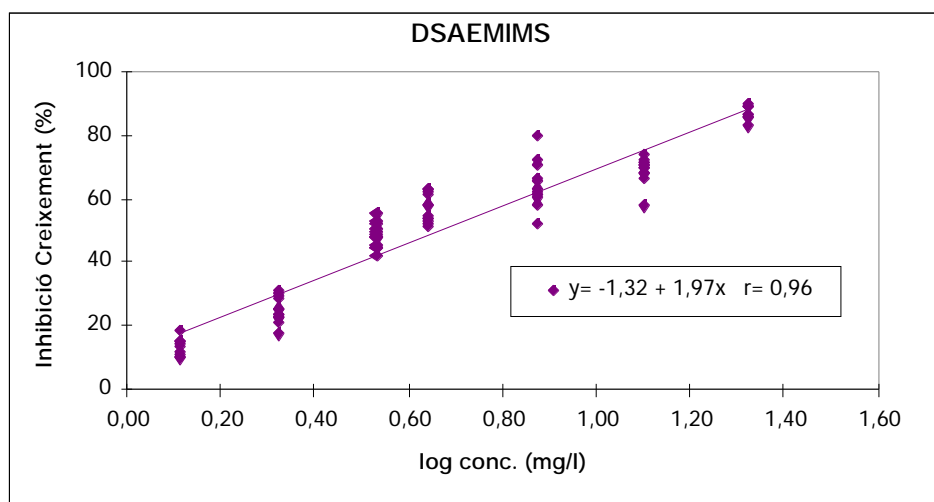
b)



c)



d)



e)

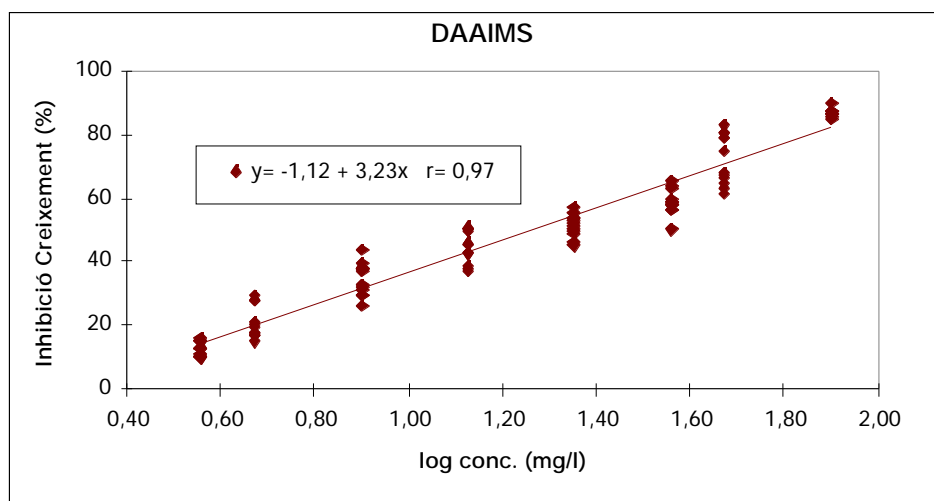
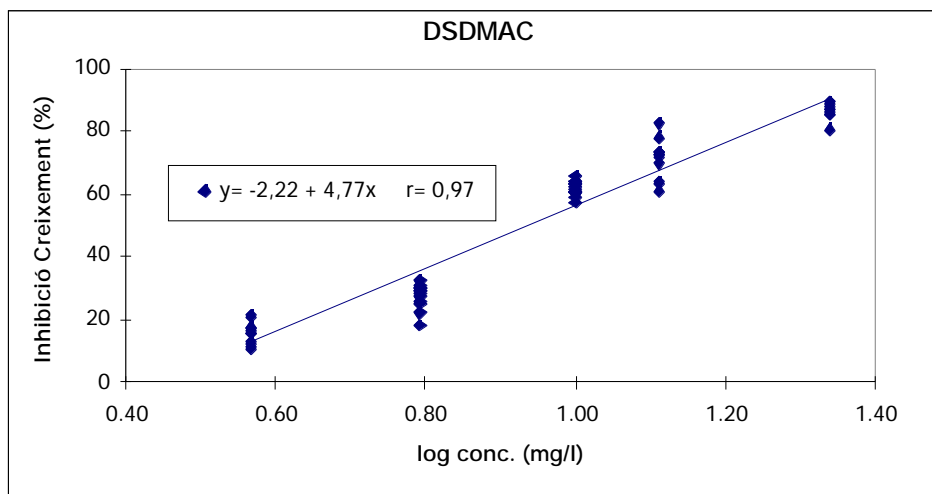
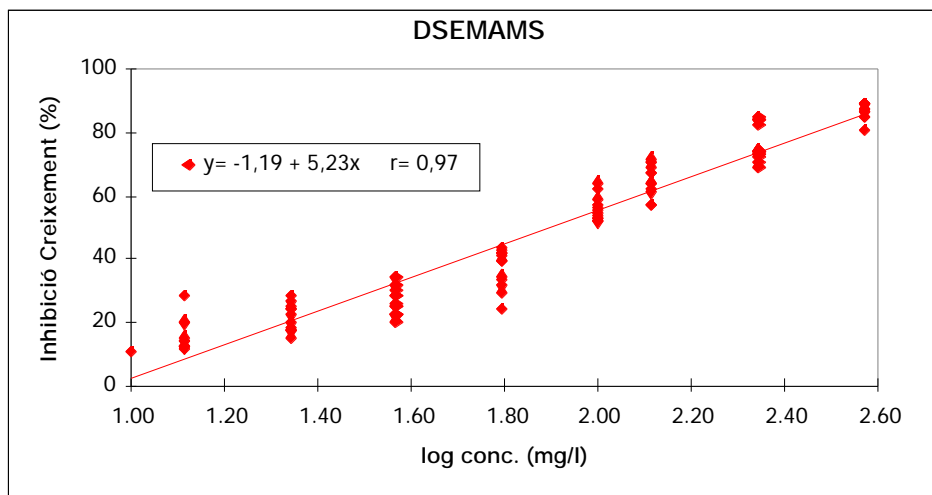


FIGURA 17: Representació gràfica de les rectes obtingudes en els assaigs de toxicitat aguda en *Scenedesmus subspicatus* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS microemulsionats (a-e).

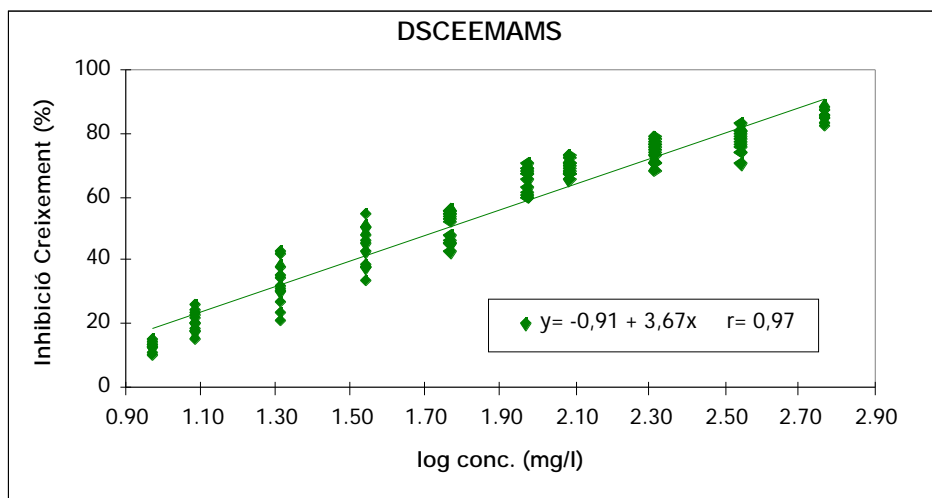
a)



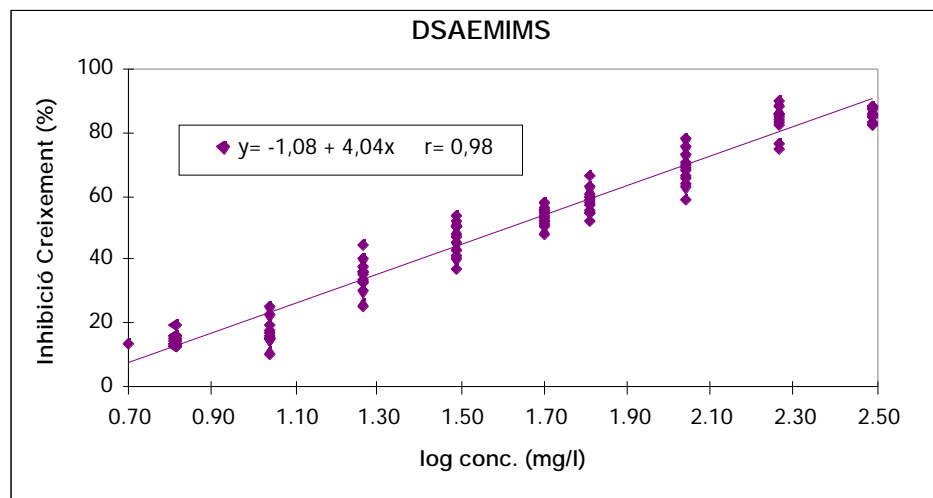
b)



c)



d)



e)

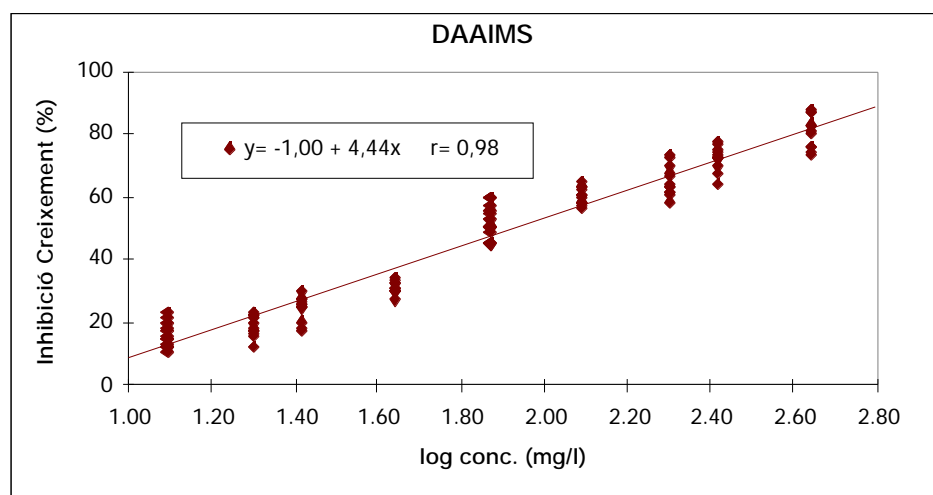
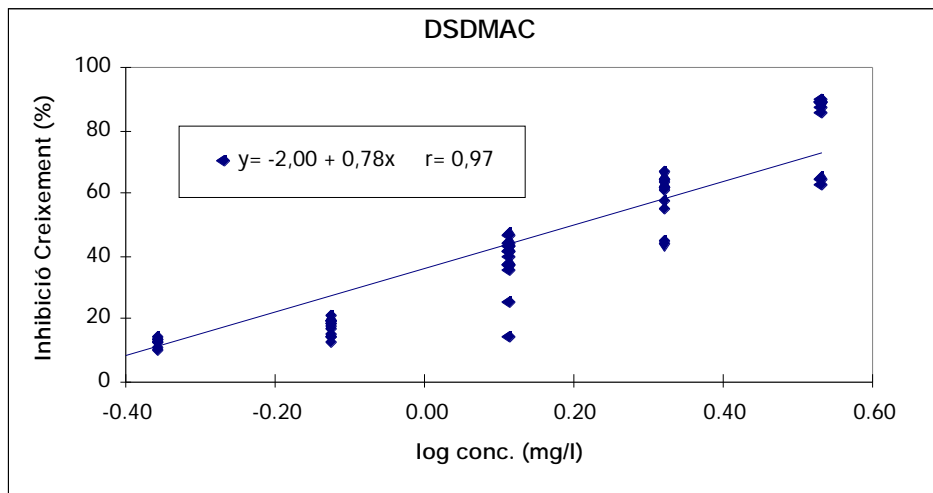
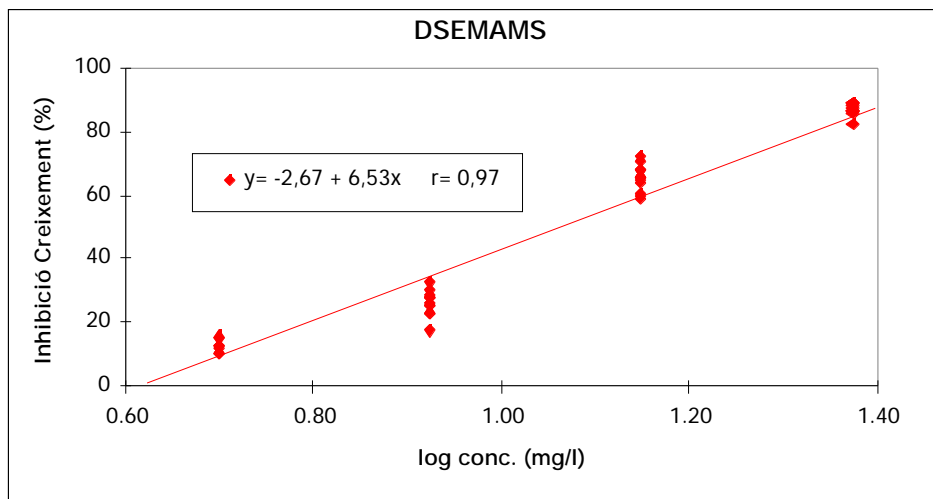


FIGURA 18: Representació gràfica de la recta obtinguda en els assaigs de toxicitat aguda en *Selenastrum capricornutum* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats (a-e).

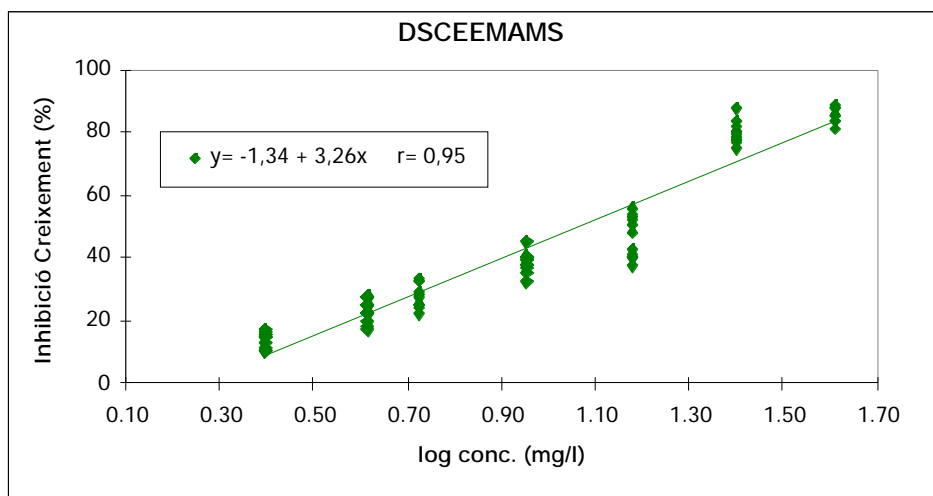
a)



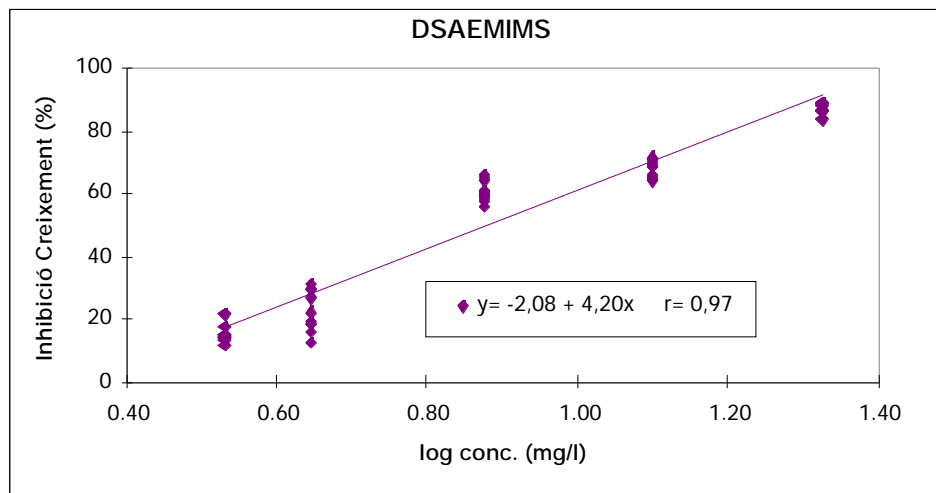
b)



c)



d)



e)

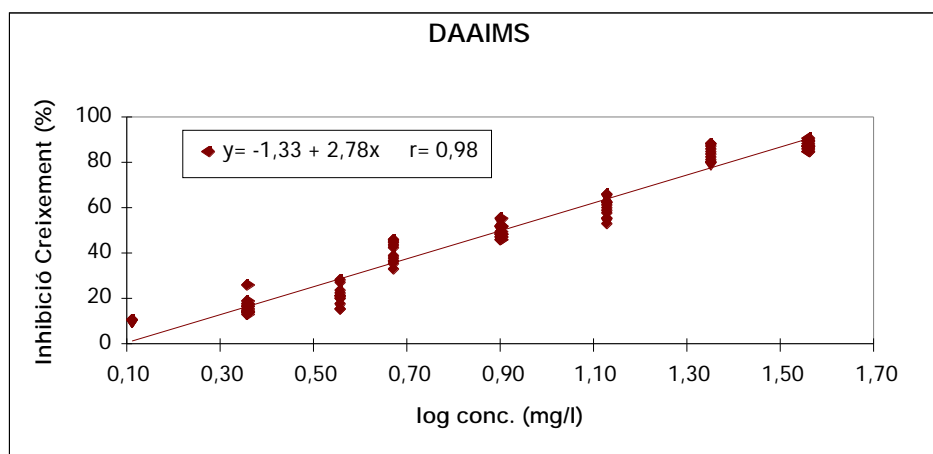


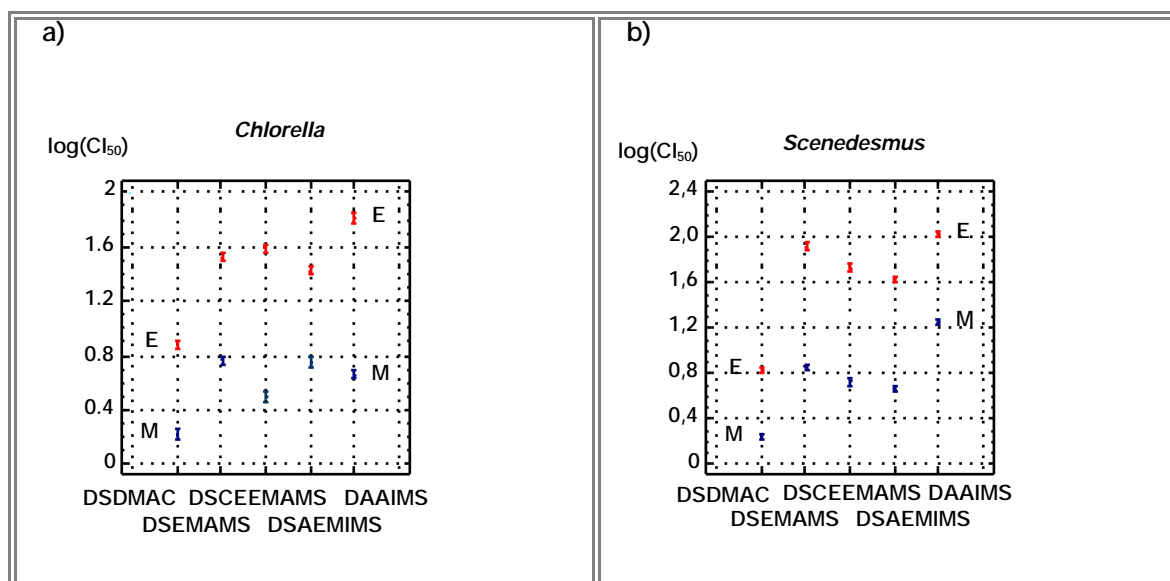
FIGURA 19: Representació gràfica de les rectes obtingudes en els assaigs de toxicitat aigua en *Selenastrum capricornutum* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS microemulsionats (a-e).

L'anàlisi de la variància de dos factors fixes (A: emulsió/microemulsió i B: suavitzant) (TAULA XV) per a *Chlorella*, *Scenedesmus* i *Selenastrum* indiquen que hi ha diferències significatives en la toxicitat de les emulsions i de les microemulsions ($p < 0,00001$) i també entre els suavitzants ($p < 0,00001$).

TAULA XV: Anàlisi de la Variància de dos factors (A: Emulsió/Microemulsió; B: Suavitzant) del $\log(CI_{50} 72h)$ per a *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* i *Selenastrum capricornutum*.

	Font de variació	Suma de quadrats	g.ll.	Quadrats mitjans	F	Nivell Sign
<i>Chlorella vulgaris</i>	EFACTES PRINCIPALS					
	A: Emulsió/Microemulsió	7,56	1	7,56	7393,1	0,0000
	B: Suavitzant	2,27	4	0,57	555,6	0,0000
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EFACTES PRINCIPALS					
	A: Emulsió/Microemulsió	7,73	1	7,73	11944,2	0,0000
	B: Suavitzant	5,47	4	1,37	2112,3	0,0000
<i>Selenastrum capricornutum</i>	EFACTES PRINCIPALS					
	A: Emulsió/Microemulsió	6,51	1	6,51	12223,1	0,0000
	B: Suavitzant	4,67	4	1,17	2194,2	0,0000

En la FIGURA 20 (a-c) podem observar que les emulsions són menys tòxiques que les microemulsions en totes les espècies.



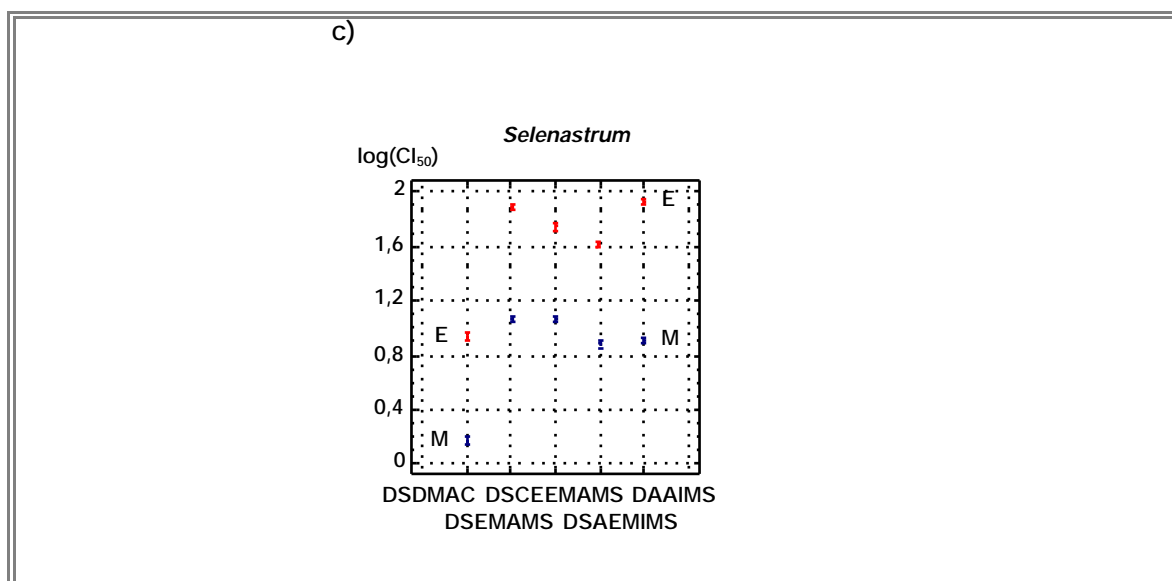


FIGURA 20 : Representació gràfica dels intervals emulsió (vermell)/microemulsió (blau) i suavitzants en (a) *Chlorella vulgaris*, (b) *Scenedesmus subspicatus* i (c) *Selenastrum capricornutum*.

Per a poder comparar l'efecte dels suavitzants, tant emulsionats com microemulsionats, en cada una de les espècies de microalgues, s'ha realitzat un anàlisi de comparació múltiple de mitjanes de $\log(CI_{50})$ (TAULA XVI), separatament per als suavitzants emulsionats i els microemulsionats.

Per a *Chlorella*, podem observar, tant en les FIGURES 21a i 21b com en la TAULA XVIa, que DSCEEMAMS i DAAIMS per una banda i DSEMAMS i DSAEMIMS per una altra, tenen un comportament diferent en emulsió que en microemulsió; els primers quan estan emulsionats són els suavitzants menys tòxics, mentre que quan estan microemulsionats són uns dels més tòxics; els segons, són a l'inversa, i a més, quan estan en microemulsió formen un subgrup homogeni ja que la diferència entre les seves mitjanes no són significatives i per tant podem dir que tenen una toxicitat similar.

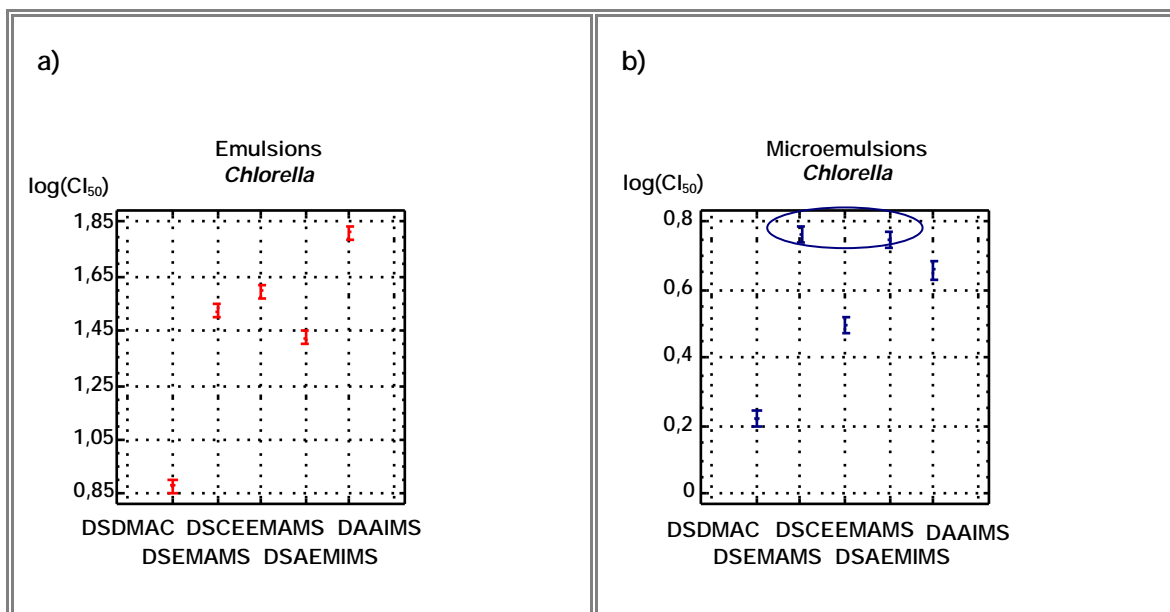


FIGURA 21: Representació gràfica dels intervals de confiança 0,95 dels suavitzants (a) emulsionats i (b) microemulsionats per a *Chlorella vulgaris*.

Per a *Scenedesmus* (FIGURA 22a i 22b) i TAULA XVIIb els suavitzants semblen tenir una pauta comportament similar en emulsió i en microemulsió, i cap d'ells presenta una toxicitat similar a cap altre.

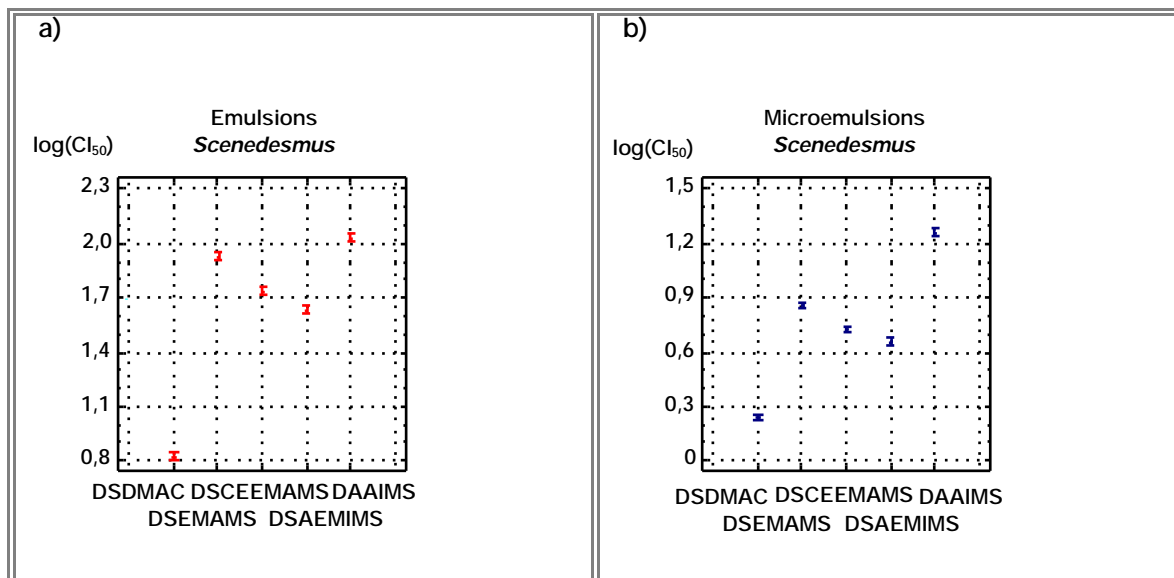


FIGURA 22: Representació gràfica dels intervals de confiança 0,95 dels suavitzants (a) emulsionats i (b) microemulsionats per a *Scenedesmus subspicatus*.

En *Selenastrum* (FIGURA 23a i 23b, i TAULA XVIc) DSCEEMAMS i DAAIMS semblen tenir un comportament diferent en emulsió i en microemulsió; DSCEEMAMS microemulsionat és el menys tòxic dels suavitzants juntament amb DSEMAMS, amb el qual formen un subgrup homogeni (no presenten diferències significatives les seves toxicitats), mentre que en emulsió és més tòxic que DSEMAMS; d'altra banda, DAAIMS és el suavitzant menys tòxic en emulsió, mentre que en microemulsió té una toxicitat similar a DSAEMIMS, i formen un subgrup homogeni (no presenten diferències significatives les seves toxicitats).

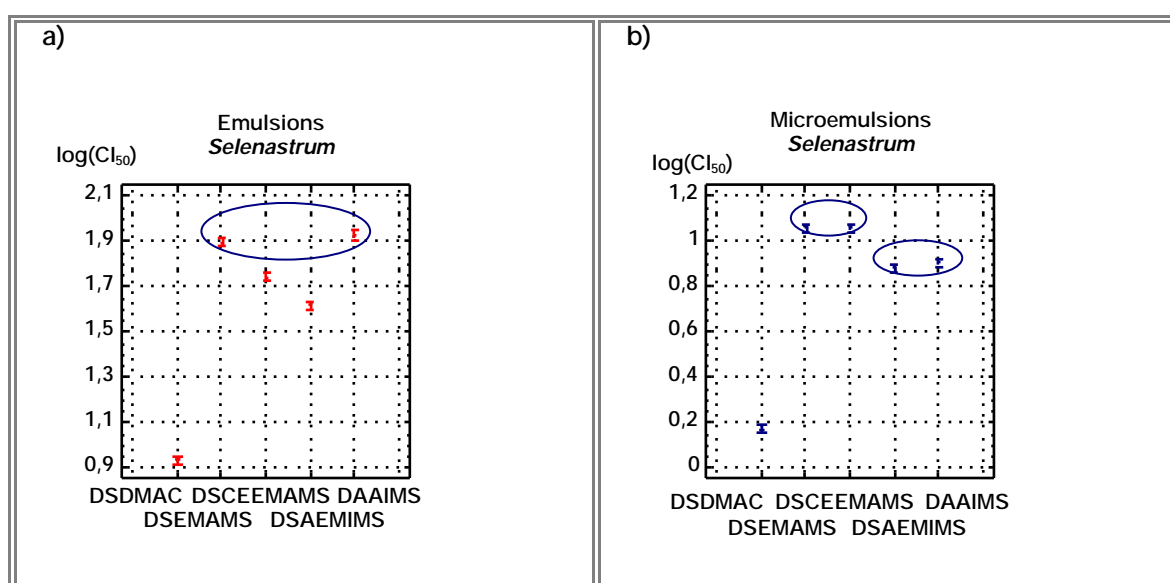


FIGURA 23: Representació gràfica dels intervals de confiança 0,95 dels suavitzants (a) emulsionats i (b) microemulsionats per a *Selenastrum capricornutum*.

TAULA XVI: Anàlisi de comparació múltiple de mitjanes del $\log(CI_{50}72h)$ dels suavitzants emulsionats i microemulsionats per separat per a (a) *Chlorella vulgaris*, (b) *Scenedesmus subspicatus* i (c) *Selenastrum capricornutum*.

a) *Chlorella vulgaris*

	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
EMULSIÓ	DSDMAC	4	2,03	X
	DSEMAMS	4	3,50	X
	DSCEEMAMS	4	3,70	X
	DSAEMIMS	4	3,28	X
	DAAIMS	4	4,17	X
Contrast (95%)		diferències	limits	Def. Sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-1,47175	0,10934	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-1,63722	0,10934	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,24473	0,10934	*
DSDMAC-DAAIMS		-2,13458	0,10934	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		-0,16548	0,10934	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,22702	0,10934	*
DSEMAMS-DAAIMS		-0,66283	0,10934	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,39249	0,10934	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,49736	0,10934	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,88985	0,10934	*
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
MICROEMULSIÓ	DSDMAC	4	0,51	X
	DSEMAMS	4	1,75	X
	DSCEEMAMS	4	1,14	X
	DSAEMIMS	4	1,72	X
	DAAIMS	4	1,51	X
Contrast (95%)		diferències	limits	Def. Sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-1,24214	0,11260	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-0,63201	0,11260	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,21305	0,11260	*
DSDMAC-DAAIMS		-1,00463	0,11260	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,61014	0,11260	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,02910	0,11260	*
DSEMAMS-DAAIMS		0,23752	0,11260	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,58104	0,11260	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,37262	0,11260	*
DSAEMIMS-DAAIMS		0,20842	0,11260	*

*: indica diferències estadísticament significatives

b) *Scenedesmus subspicatus*

	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis	
<u>EMULSIÓ</u>	DSDMAC	4	1.90	X	
	DSEMAMS	4	4.43		X
	DSCEEMAMS	4	4.00		X
	DSAEMIMS	4	3.76	X	
	DAAIMS	4	4.67		X
Contrast (95%)		diferències	limits	Dif. Sign.	
DSDMAC-DSEMAMS		-2,53064	0,10161	*	
DSDMAC-DSCEEMAMS		-2,09793	0,10161	*	
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,86347	0,10161	*	
DSDMAC-DAAIMS		-2,76979	0,10161	*	
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,43271	0,10161	*	
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,66717	0,10161	*	
DSEMAMS-DAAIMS		-0,23915	0,10161	*	
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,23446	0,10161	*	
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,67186	0,10161	*	
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,90632	0,10161	*	
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis	
<u>MICROEMULSIÓ</u>	DSDMAC	4	0,55	X	
	DSEMAMS	4	1,99		X
	DSCEEMAMS	4	1,67		X
	DSAEMIMS	4	1,52	X	
	DAAIMS	4	2,90		X
Contrast (95%)		diferències	limits	Dif. Sign.	
DSDMAC-DSEMAMS		-1,43273	0,07259	*	
DSDMAC-DSCEEMAMS		-1,11628	0,07259	*	
DSDMAC-DSAEMIMS		-0,96245	0,07259	*	
DSDMAC-DAAIMS		-2,34950	0,07259	*	
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,31645	0,07259	*	
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,47028	0,07259	*	
DSEMAMS-DAAIMS		-0,91677	0,07259	*	
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,15383	0,07259	*	
DSCEEMAMS-DAAIMS		-1,23322	0,07259	*	
DSAEMIMS-DAAIMS		-1,38704	0,07259	*	

*: indica diferències estadísticament significatives

c) *Selenastrum capricornutum*

	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>EMULSIÓ</u>	DSDMAC	4	2,15	X
	DSEMAMS	4	4,36	X
	DSCEEMAMS	4	4,01	X
	DSAEMIMS	4	3,73	X
	DAAIMS	4	4,44	X
Contrast (95%)		diferències	limits	dif. sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-2,20941	0,08306	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-1,86303	0,08306	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,58017	0,08306	*
DSDMAC-DAAIMS		-2,28814	0,08306	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,34638	0,08306	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,62924	0,08306	*
DSEMAMS-DAAIMS		-0,07873	0,08306	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,28286	0,08306	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,42511	0,08306	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,70797	0,08306	*
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>MICROEMULSIÓ</u>	DSDMAC	4	0,40	X
	DSEMAMS	4	2,44	X
	DSCEEMAMS	4	2,44	X
	DSAEMIMS	4	2,03	X
	DAAIMS	4	2,09	X
Contrast (95%)		diferències	limits	dif. sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-2,04212	0,07699	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-2,04773	0,07699	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,63529	0,07699	*
DSDMAC-DAAIMS		-1,69568	0,07699	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		-0,00561	0,07699	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,40683	0,07699	*
DSEMAMS-DAAIMS		0,34645	0,07699	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,41244	0,07699	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		0,35206	0,07699	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,06038	0,07699	*

*: indica diferències estadísticament significatives

L'anàlisi de la variància de tres factors fixes (A: emulsió/microemulsió, B: suavitzant i C: espècie) de les tres espècies de microalgues mostra que hi ha diferències significatives en el seu comportament, en la toxicitat de les emulsions i microemulsions, i per cadascun dels suavitzants ($p < 0,00001$) (TAULA XVII).

TAULA XVII: Anàlisi de la Variància de tres factors (A: Emulsió/Microemulsió; B: Suavitant; C: Espècie) del $\log(CI_{50})$ per a les tres espècies de microalgues en estudi: *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* i *Selenastrum capricornutum*,

Font de variació	Suma de quadrats	g,ll,	Quadrats mitjans	F	Nivell Sign
EFFECTES PRINCIPALS					
A: Emulsió/Microemulsió	21,76	1	21,76	29653,3	0,0000
B: Suavitant	11,64	4	2,91	3964,3	0,0000
C: Espècie	1,01	2	0,51	689,6	0,0000

En el gràfic de les emulsions (FIGURA 24a) s'observa que el clorur d'amoni quaternari DSDMAC es comporta de forma diferent que els altres quatre suavitzants davant les tres espècies. Si bé aquest suavitzant mostra un valor de toxicitat similar en les tres espècies (amb $CI_{50}(72h)$ de entre 6,9 i 8,6 mg/l), *Scenedesmus* sembla ser més sensible que les altres dues. Els altres suavitzants presenten un comportament bastant similar en front les tres espècies; per tots ells *Chlorella* és l'espècie més sensible.

En el gràfic de les microemulsions (FIGURA 24b) s'observa que el comportament de cada suavitzant no segueix la mateixa pauta en cada una de les espècies. Per a el clorur d'amoni quaternari DSDMAC no hi ha moltes diferències en la forma d'actuar en front les tres espècies, mostrant valors similars. Per una altra banda, per als dos metilsulfats d'amoni quaternari DSEMAMS i DSCEEMAMS són més tòxics per a *Chlorella* i menys tòxics per a *Selenastrum*, tanmateix DSEMAMS és menys tòxic que DSCEEMAMS en *Chlorella* i *Scenedesmus*, mentre que per a *Selenastrum* presenten valors similars. I en referència als dos metilsulfat d'imidazolina DSAEMIMS i DAAIMS s'observa que per a *Chlorella*, DAAIMS és lleugerament més tòxic que DSAEMIMS, per a *Scenedesmus* DAAIMS és molt menys tòxic que DSAEMIMS, i que per a *Selenastrum* presenten valors similars.

No obstant això, si bé s'han trobat diferències significatives, excepte en el cas de DSDMAC, la majoria dels suavitzants presenten valors similar, fent que a la pràctica aquestes desigualtats siguin mínimes.

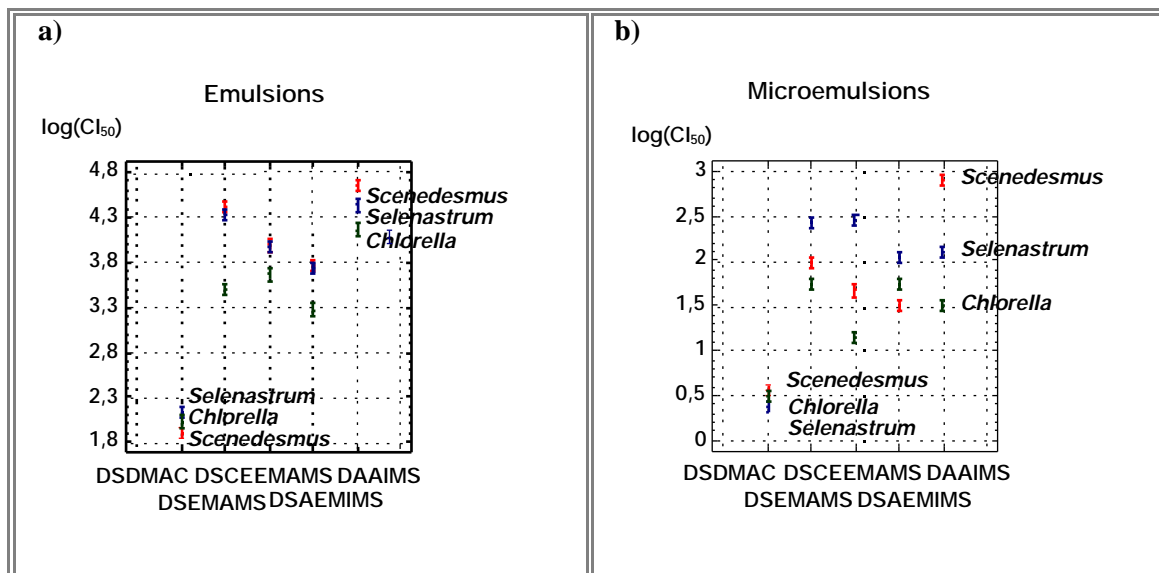


FIGURA 24: Representació gràfica dels intervals (a) suavitzant emulsionat-espècie i (b) suavitzant microemulsionat-espècie.

3.3.3.3. Toxicitat aguda en *Daphnia magna* (OCDE 202, 1984)

Els resultats obtinguts, en percentatge d'inhibició la motilitat per cada una de les concentracions assajades, per a *Daphnia magna* després d'una exposició de 24 hores als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSEAMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats es presenten en la TAULA VII (a-e) de l'annex de resultats. Els valors corresponen a les quatre repeticions efectuades per cada un dels suavitzants.

Les rectes de regressió estimades a partir d'aquests valors estan representades en les FIGURES 25 i 26 per la forma emulsionada i microemulsionada respectivament. En l'eix d'ordenades (y) es troben representats els valors de percentatge d'inhibició de la mobilitat, i en l'eix d'abcises (x) el logaritme de les concentracions utilitzades. Pel seu càlcul s'han utilitzat els valors d'inhibició compresos entre el 10 i el 90 %, com ho indica la norma OCDE 202, Test d'immobilització aguda en dàfnies (1984). Les CE_{50} (24h) s'han obtingut a partir del mètode logit. En la TAULA XVIII estan exposats el valor mitjà de CE_{50} (24 hores) per a cadascun dels suavitzants (emulsionants i microemulsionats), els seus intervals i equació de la recta logit, obtinguts a partir de quatre repeticions.

TAULA XVIII.- *Daphnia magna*. Relació de les CE_{50} a les 24 hores (mg/l) dels suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats obtingudes a per cada una de les repeticions fetes i la total. També s'especifiquen els intervals 95% de cada un i les seves rectes logit.

	EMULSIÓ				MICROEMULSIÓ			
	CE_{50} (24h)	Intèrval 95%	$\pm se$	$\pm se$	CE_{50} (24h)	Intèrval 95%	$\pm se$	$\pm se$
DSDMAC	1,46	1,36- 1,56	1,23±0,16	-3,24±0,26	0,82	0,77- 0,89	0,63±0,14	-3,21±0,30
DSEMAMS	27,5	25,9- 29,1	11,95±0,83	-3,61±0,25	9,7	9,1-10,2	9,72±0,77	-4,28±0,34
DSCEEMAMS	16,1	15,2- 17,0	12,69±1,22	-4,57±0,41	8,3	7,9-8,8	10,26±0,89	-4,84±0,42
DSAEMIMS	38,0	35,9- 40,2	16,02±0,40	-4,40±0,38	7,0	6,6-7,4	7,85±0,59	-3,90±0,30
DAAIMS	44,1	41,8- 46,5	18,10±1,52	-4,78±0,40	7,5	7,0-8,0	6,76±0,61	-3,36±0,30

L'anàlisi de la variància de dos factors fixes (A: emulsió/microemulsió i B: suavitzant) per a *Daphnia magna* (TAULA XIX) indica que hi ha diferències significatives en la forma d'actuar de les emulsions i de les microemulsions ($p < 0,00001$), i també entre els diferents suavitzants ($p < 0,00001$).

TAULA XIX: Anàlisi de la Variància de dos factors (A: Emulsió/Microemulsió; B: Suavitzant) del $\log(CE_{50} \text{ 24h})$ per a *Daphnia magna*

Font de variació	Suma de quadrats	g.ll.	Quadrats mitjans	F	Nivell Sign.
EFFECTES PRINCIPALS					
A: Emulsió/Microemulsió	2,58	1	2,58	22442,9	0,0000
B: Suavitzant	8,56	4	2,14	613,5	0,0000

Per a poder comparar l'efecte dels suavitzants, s'ha realitzat un anàlisi de comparació múltiple de mitjanes (TAULA XX), separatament per als suavitzants emulsionats i els microemulsionats.

TAULA XX: Anàlisi de comparació múltiple de mitjanes del $\log(CE_{50} \text{ 24hores})$ dels suavitzants emulsionats i microemulsionats per separat per a *Daphnia magna*

	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
EMULSIÓ	DSDMAC	4	0,40	X
	DSEMAMS	4	3,33	X
	DSCEEMAMS	4	2,75	X
	DSAEMIMS	4	3,65	X
	DAAIMS	4	3,80	X
Contrast (95%)		diferències	limits	dif. sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-2,93569	0,03983	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-2,35651	0,03983	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-3,25503	0,03983	*
DSDMAC-DAAIMS		-3,40278	0,03983	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,57918	0,03983	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		-0,31935	0,03983	*
DSEMAMS-DAAIMS		-0,46710	0,03983	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		-0,89852	0,03983	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-1,04627	0,03983	*

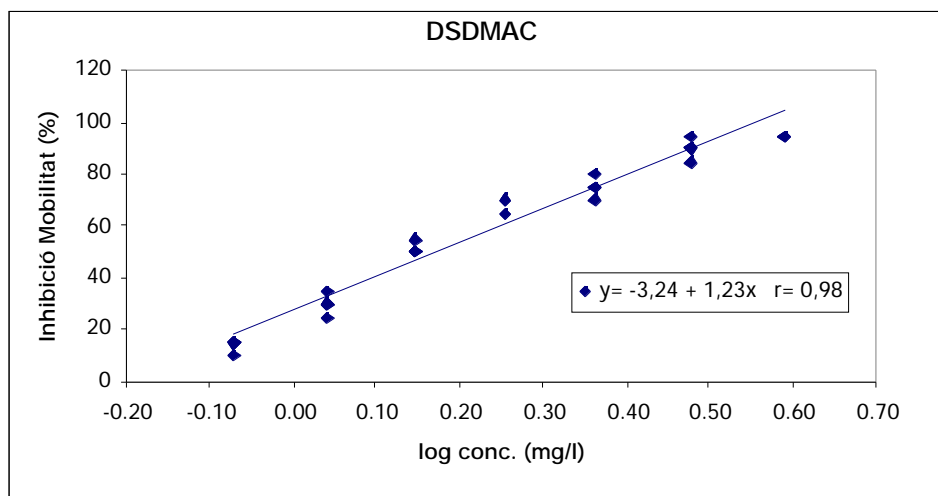
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,14775	0,03983	*
Nivell		Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
MICROEMULSIÓ	DSDMAC	4	-0,21	X
	DSEMAMS	4	2,26	X
	DSCEEMAMS	4	2,10	X
	DSAEMIMS	4	1,93	X
	DAAIMS	4	1,99	X
Contrast (95%)		diferències	limits	dif. sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-2,47160	0,03443	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-2,31262	0,03443	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-2,14204	0,03443	*
DSDMAC-DAAIMS		-2,19529	0,03443	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,15898	0,03443	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,32956	0,03443	*
DSEMAMS-DAAIMS		0,27632	0,03443	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,17058	0,03443	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		0,11733	0,03443	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,05324	0,03443	*

* indica diferències estadísticament significatives

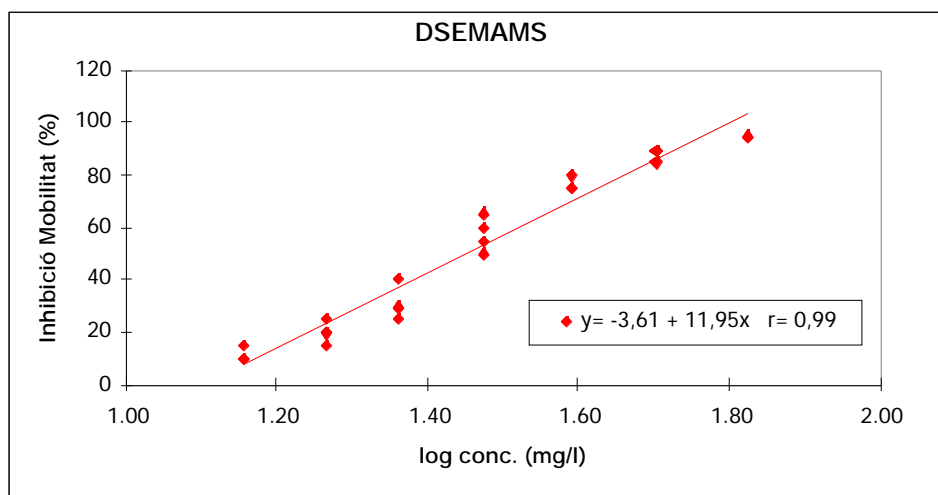
En el gràfic (FIGURA 27a) es pot observar que el comportament dels metilsulfats d'amoni quaternari en forma emulsionada i microemulsionada és diferent. Pel que fa als dos metilsulfats d'imidazolina (DSAEMIMS i DAAIMS) el seu comportament respecte un de l'altre en emulsió i microemulsió és similar. En aquesta figura es pot observar que, i de manera similar a *Photobacterium phosphoreum* i en les tres espècies de microalgues, els suavitzants microemulsionats són els més tòxics.

En els gràfics dels intervals de confiança 0,95 del $\log(CE_{50})$, tant en les emulsions com en les microemulsions (FIGURA 27b i 27c), es pot veure que el suavitzant més tòxic és el clorur d'amoni quaternari DSDMAC; en ambdós casos els valors de toxicitat són molt més baixos que els dels altres suavitzants (amb CE_{50} (24h) de 1,46 i 0,82 mg/l respectivament). Entre les emulsions, són els dos metilsulfats d'imidazolina (DSAEMIMS i DAAIMS) els menys tòxics (amb CE_{50} (24h) de 38,0 i 44,1 mg/l respectivament), mentre que per les microemulsions, pel contrari, són els dos metilsulfats d'amoni quaternari (DSEMAMS i DSCEEMAMS) (amb CE_{50} (24h) de 9,7 i 8,3 mg/l respectivament). Tanmateix, encara que les diferències entre els metilsulfats d'amoni quaternari i els d'imidazolina quaternària, sobretot els microemulsionats, són estadísticament significatives (TAULA XX), a la pràctica aquests valors estan compresos en un estret marge (amb CE_{50} (24h) de entre 7,0 i 9,7 mg/l).

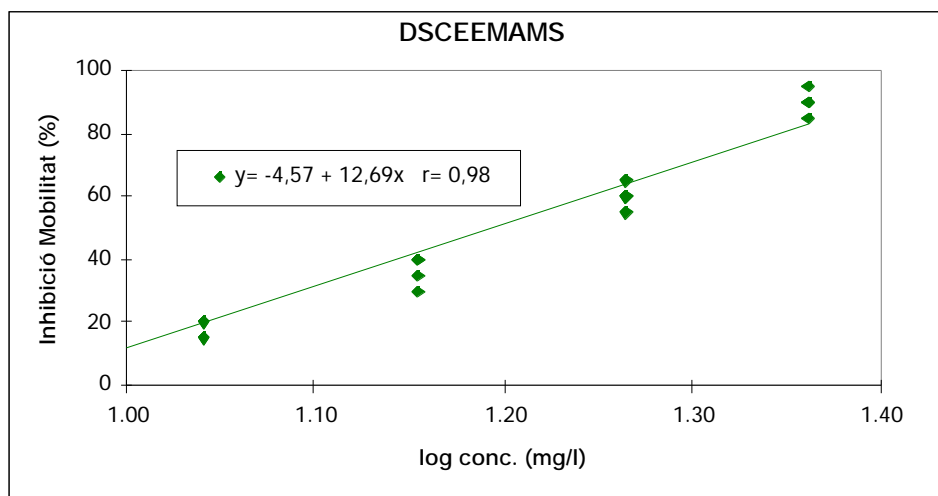
a)



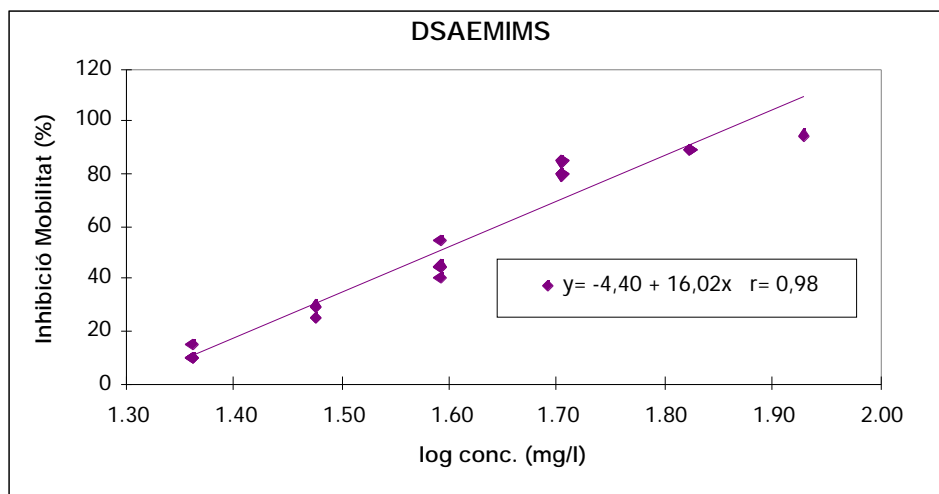
b)



c)



d)



e)

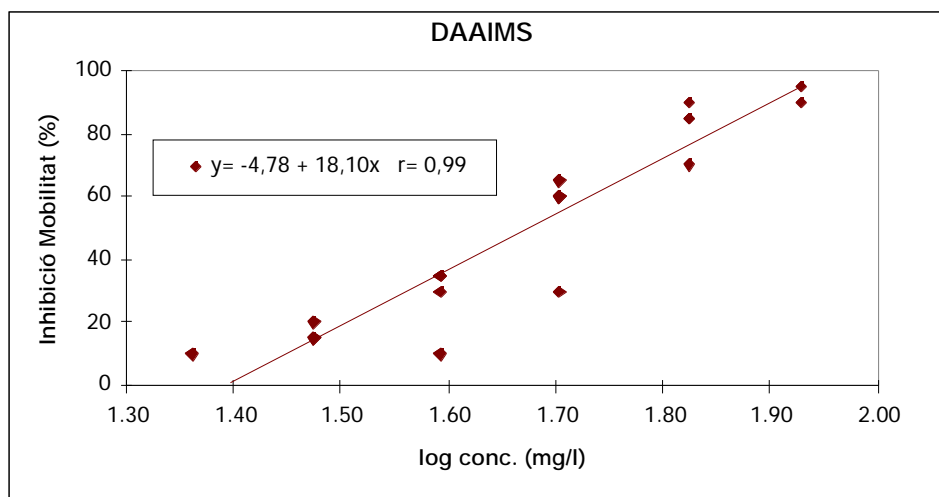
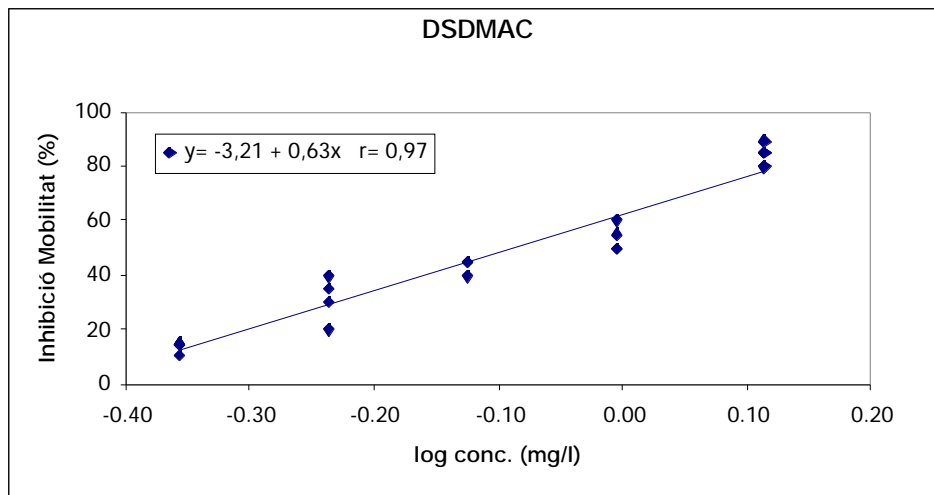
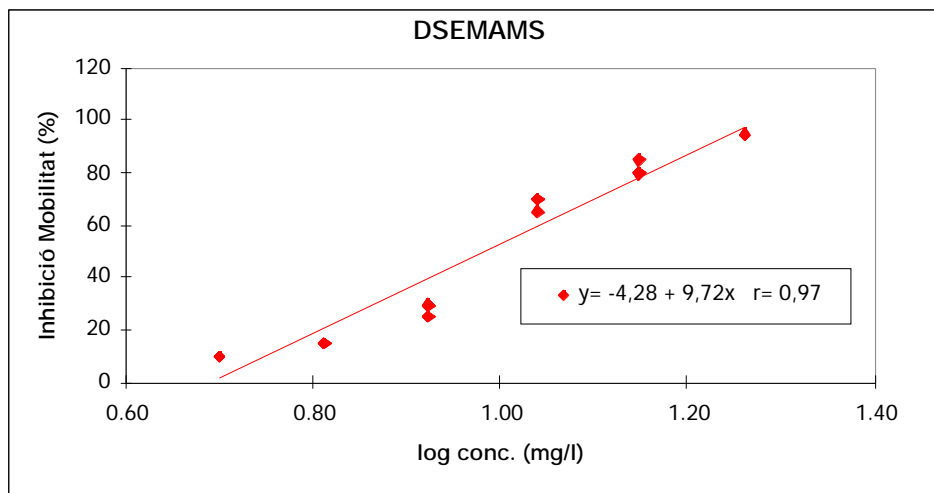


FIGURA 25: Representació gràfica de les rectes obtingudes en els assaigs de toxicitat aguda en *Daphnia magna* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats (a-e).

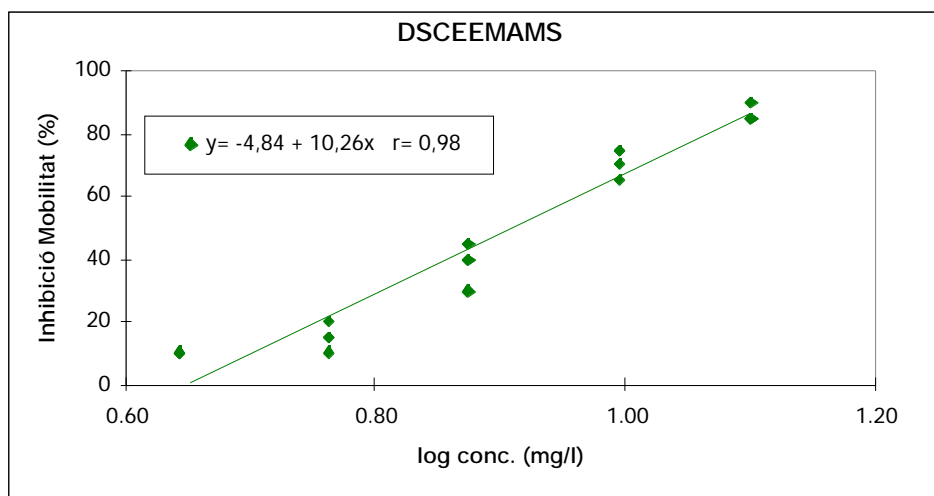
a)



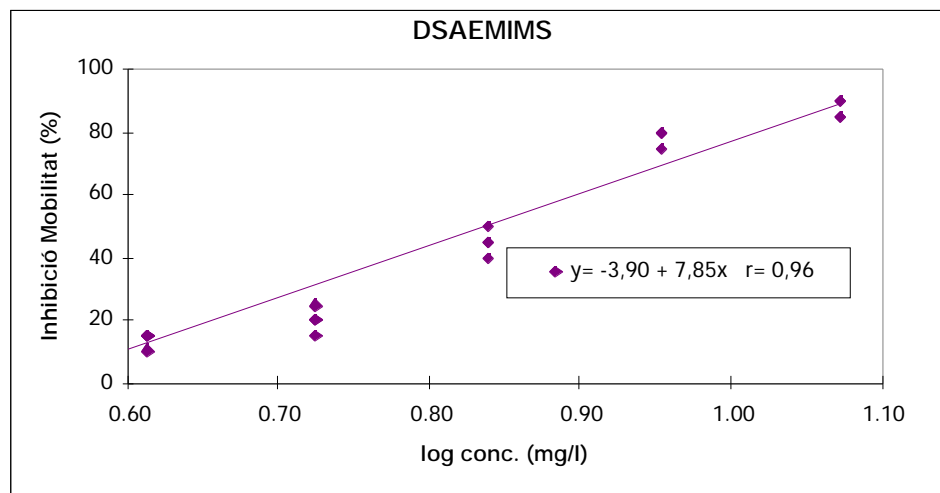
b)



c)



d)



e)

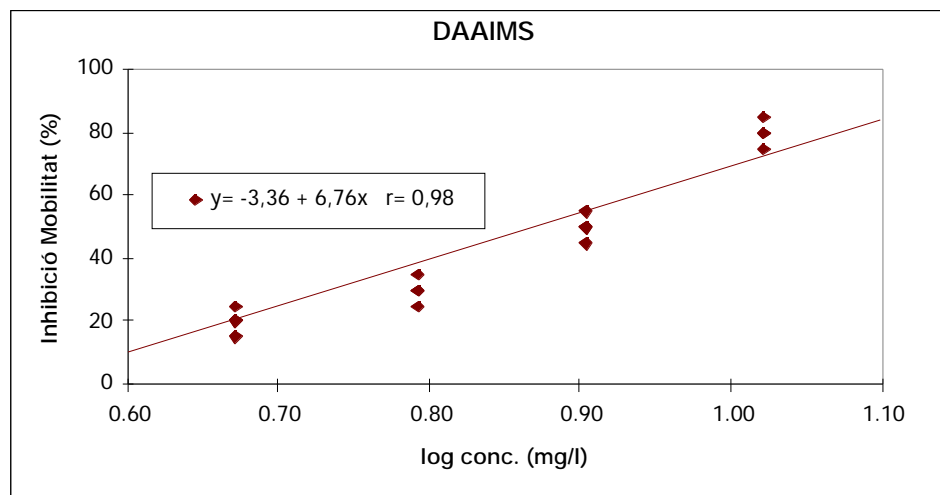


FIGURA 26: Representació gràfica de les rectes obtingudes en els assaigs de toxicitat aguda en *Daphnia magna* per als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS microemulsionats (a-e).

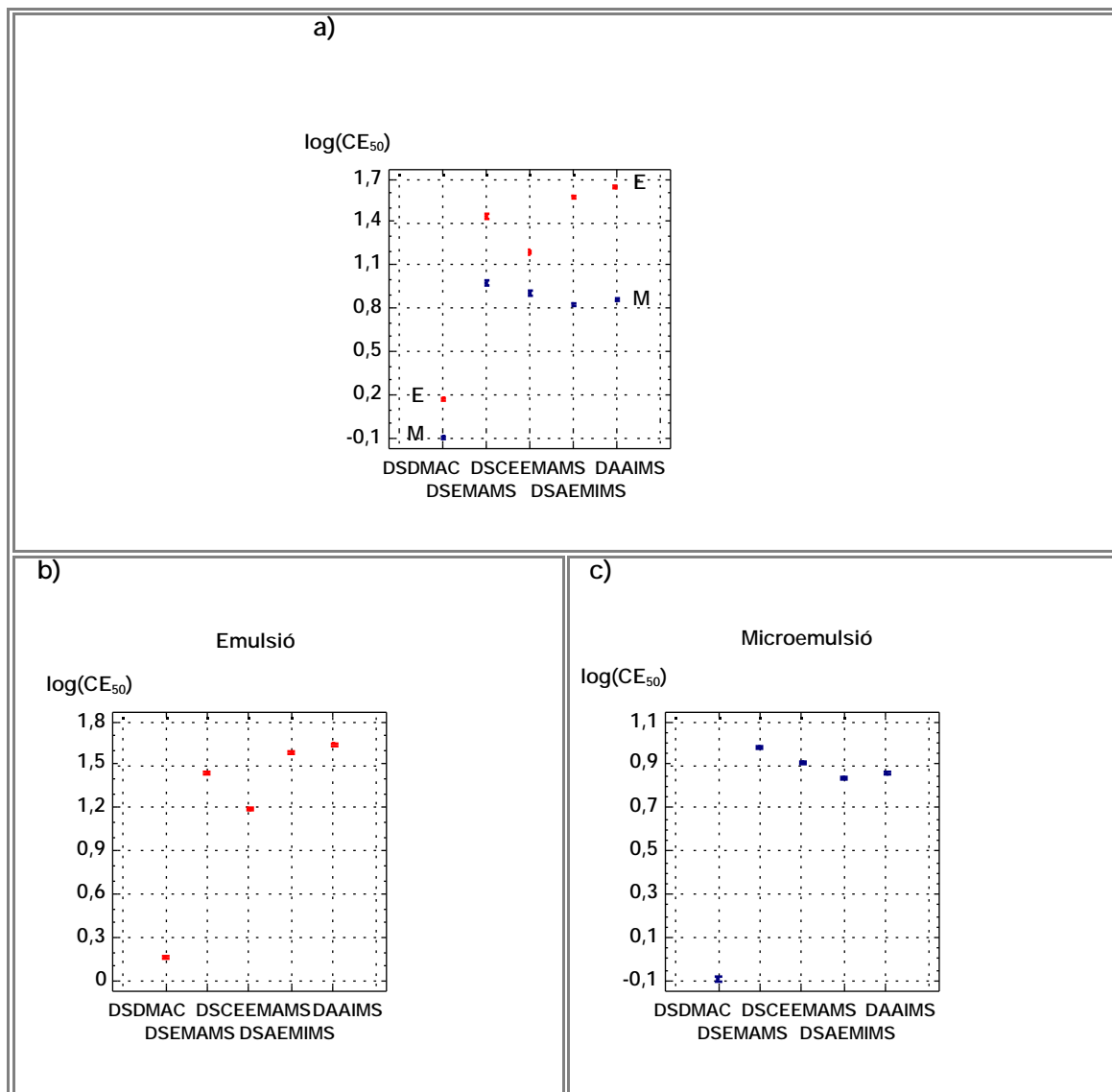


FIGURA 27: Representació gràfica (a) dels intervals emulsió/microemulsió i suavitzants, i (b) dels intervals de confiança 0,95 dels suavitzants emulsionats i (c) dels suavitzants microemulsionats en *Daphnia magna*.

3.3.3.4. Toxicitat aguda en peixos (*Oncorhynchus mykiss*) (OCDE 203, 1992)

Els resultats de toxicitat aguda obtinguts per a *Oncorhynchus mykiss* després d'una exposició de 96 hores als suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats es presenten en la TAULA XXI (a-e) En ella està especificada la mortalitat acumulada cada 24 hores durant el període d'assaig. Es pot observar que es dona la mortalitat principal entre les 24 i 48 primeres hores.

La CL_{50} (96h) de cada suavitzant va ser calculada mitjançant el mètode logit. En la TAULA XXII estan especificades la CL_{50} , els seus intervals i l'equació de la recta de cada un dels suavitzants, emulsionats i microemulsionats.

La recta de regressió per a DSDMAC emulsionat, per al qual s'han obtingut suficients punts, està representada en la FIGURA 28.

Com ja s'ha assenyalat en la secció de Material i mètodes, l'assaig de toxicitat aguda en *Oncorhynchus mykiss* es va realitzar una vegada, i, al no disposar de repeticions per a cada un dels assaigs, no es va poder fer l'anàlisi de la variància de dos factors per aquesta espècie.

Com es pot observar en la FIGURA 29c, també són els suavitzants microemulsionats els que presenten una toxicitat més elevada, encara que els valors per les emulsions i les microemulsions no difereixen tant com en el cas de les altres espècies.

Es pot veure en les FIGURES 29a i 29b que DSDMAC és el suavitzant més tòxic; els altres suavitzants presenten valors molt similars, tant en emulsió com en microemulsió.

TAULA XXI. - Percentatges de mortalitat acumulada en *Oncorhynchus mykiss* corresponents a les concentracions utilitzades per a DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats.

a) DSDMAC

EMULSIÓ					MICROEMULSIÓ				
Conc (mg/l)	Mortalitat (%)				Conc (mg/l)	Mortalitat (%)			
	24 h	48 h	72 h	96 h		24 h	48 h	72 h	96 h
0,5	0	0	0	0	0,25	0	0	0	0
1	0	0	10	10	0,5	0	0	0	0
2	10	20	30	30	1	50	60	60	60
3	60	70	70	70	2	80	100	100	100
4	80	80	90	90	3	100	100	100	100
5	100	100	100	100					

b) DSEMAMS

EMULSIÓ					MICROEMULSIÓ				
Conc (mg/l)	Mortalitat (%)				Conc (mg/l)	Mortalitat (%)			
	24 h	48 h	72 h	96 h		24 h	48 h	72 h	96 h
10	0	0	0	0	5	0	0	0	0
12,5	0	0	0	0	7	0	0	0	0
15	20	30	40	40	10	60	70	70	70
17,5	60	70	70	70	15	90	90	90	90
20	100	100	100	100	20	100	100	100	100

c) DSCEEMAMS

EMULSIÓ					MICROEMULSIÓ				
Conc (mg/l)	Mortalitat (%)				Conc (mg/l)	Mortalitat (%)			
	24 h	48 h	72 h	96 h		24 h	48 h	72 h	96 h
7	0	0	0	0	5	0	0	0	0
9	0	0	0	0	7,5	0	0	10	10
10	10	10	10	10	10	20	30	60	60
11	20	30	30	30	12,5	40	50	80	90
12,5	80	90	90	90	15	70	80	100	100
15	100	100	100	100					

d) DSAEMIMS

EMULSIÓ					MICROEMULSIÓ				
Conc (mg/l)	Mortalitat (%)				Conc (mg/l)	Mortalitat (%)			
	24 h	48 h	72 h	96 h		24 h	48 h	72 h	96 h
10	0	0	0	0	5	0	0	0	0
12,5	10	20	30	30	6,5	0	0	0	0
15	60	60	60	70	7,5	40	50	60	60
17,5	90	90	90	90	8,5	100	100	100	100
20	100	100	100	100	10	100	100	100	100

e) DAAIMS

EMULSIÓ					MICROEMULSIÓ				
Conc (mg/l)	Mortalitat (%)				Conc (mg/l)	Mortalitat (%)			
	24 h	48 h	72 h	96 h		24 h	48 h	72 h	96 h
10	0	0	0	0	5	0	0	0	0
11	0	0	0	0	6,5	0	0	0	0
13	0	20	20	20	7,5	10	30	30	30
15	100	100	100	100	8,5	40	40	60	60
					10	80	80	80	90
					12,5	100	100	100	100

TAULA XXII.- *Oncorhynchus mykiss*. Relació de les CL₅₀ a les 96 hores (mg/l) dels suavitzants DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS emulsionats i microemulsionats. També s'especifiquen els intervals 95% de cada un i les seves rectes logit.

	EMULSIÓ				MICROEMULSIÓ			
	CL ₅₀ (96h)	Intèrval 95%	$\alpha \pm se$	$\beta \pm se$	CL ₅₀ (96h)	Intèrval 95%	$\alpha \pm se$	$\beta \pm se$
DSDMAC	2,3	1,7-2,8	3,13±1,02	-3,78±0,98	0,95	-	-0,44±0,64	-8,42±5,64
DSEMAMS	15,9	14,6- 17,1	40,19±11,5	14,53±4,15	9,7	8,3-11,5	18,38±7,76	8,09±2,53
DSCEEMAMS	11,3	10,8- 12,1	52,08±15,1	21,45±6,25	9,6	8,3-10,7	21,15±6,18	-9,36±2,68
DSAEMIMS	13,8	12,5- 15,1	29,34±7,9	11,17±2,97	7,4	-	75,92±42,4	37,89±21,1
DAAIMS	13,4	12,8- 15,0	81,41±33,8	31,35±13,1	8,2	7,6-8,9	27,76±7,64	13,17±3,62

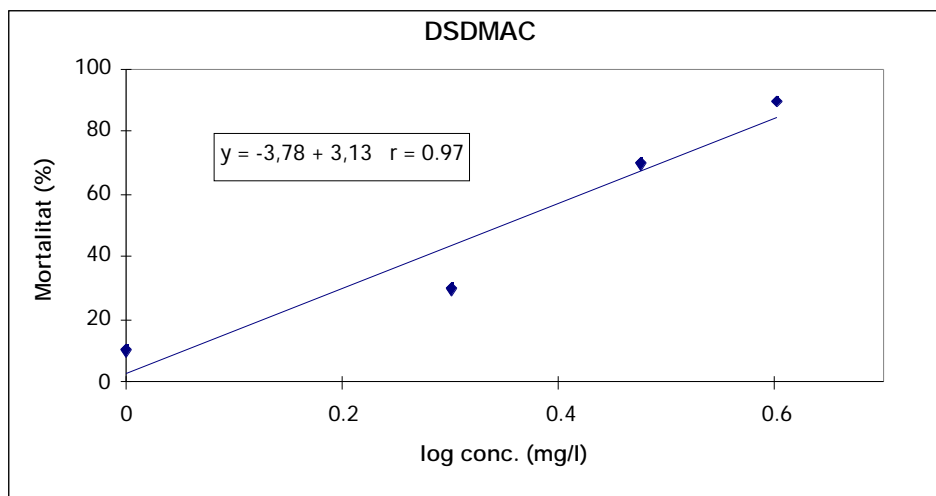


FIGURA 28: Representació gràfica de la recta obtinguda en l'assaigs de toxicitat aguda en *Oncorhynchus mykiss* per al suavitzant DSDMAC emulsionat.

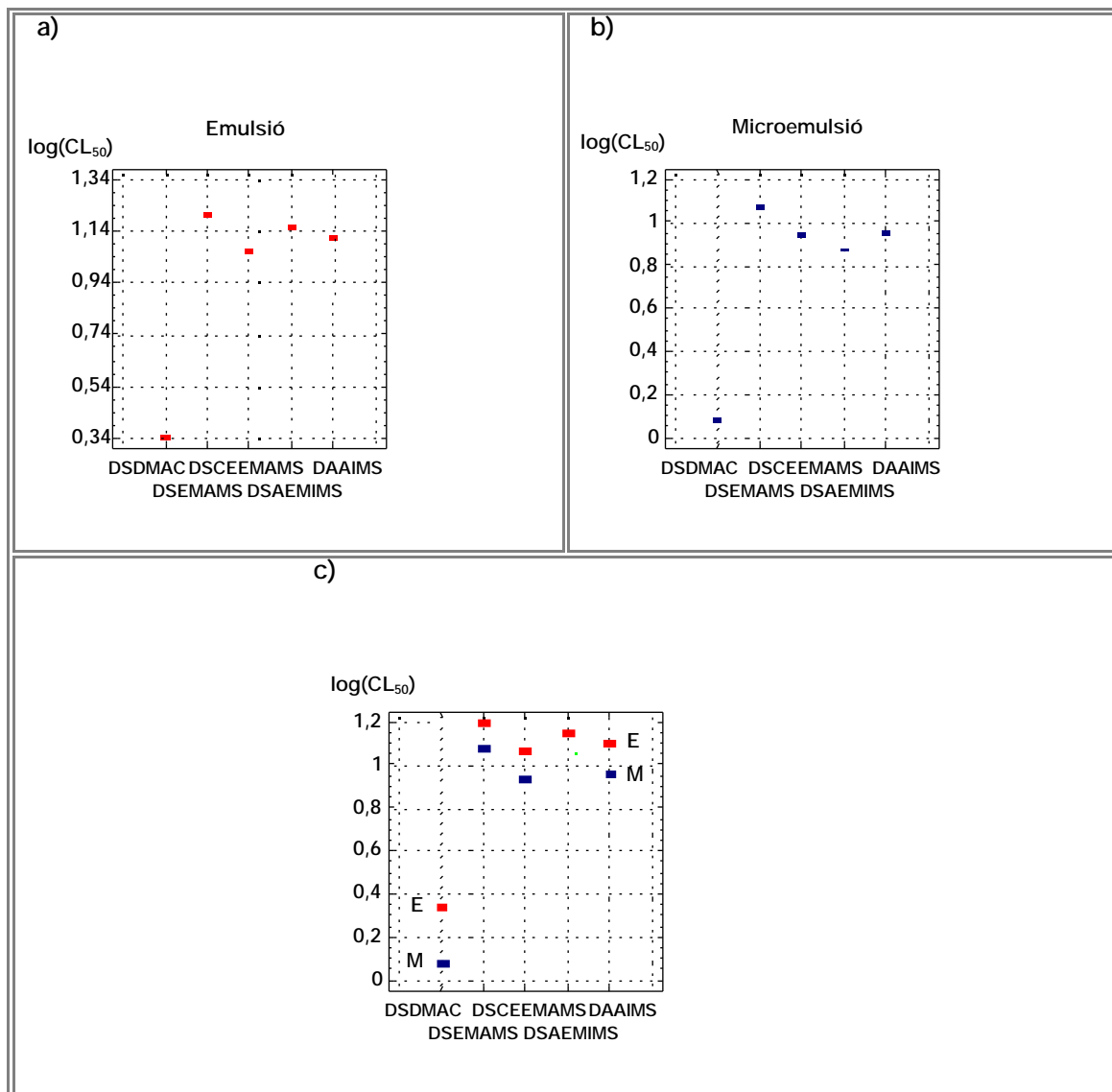


FIGURA 29: Representació gràfica dels valors de CL₅₀(96h) per als suavitzants emulsionats (a) i microemulsionats (b) en *Oncorhynchus mykiss*. (c) comparació entre les dues formes dels suavitzants.

3.3.3.5. Toxicitat aguda dels agents microemulsionants

Es va determinar la toxicitat aguda dels agents microemulsionants utilitzats per a l'elaboració de les microemulsions en varies de les espècies anteriors. Les proves es van fer sobre una barreja dels agents microemulsionants en les mateixes proporcions que les utilitzades per a l'elaboració de les microemulsions de cada suavitzant.

Els resultats obtinguts es presenten a la TAULA XXIII. D'aquests resultats es desprèn que la toxicitat d'aquests agents sense suavitzant és inferior en totes les espècies a la que presentaven els suavitzants microemulsionats davant de la mateixa espècie.

TAULA XXIII: Relació de les CE_{50} , CI_{50} i CL_{50} aproximades de la barreja dels agents microemulsionants donats en mg/l de concentració de la barreja

Espècie	Toxicitat aguda agents microemulsionants	Toxicitat aguda suavitzants microemulsionats
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	CE_{50} 15min = 250-300 mg/l	CE_{50} 15min = 5,6 - 9,4 mg/l
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	CI_{50} 72h = 103 mg/l	CI_{50} 72h = 1,76 - 17,9 mg/l
<i>Selenastrum capricornutum</i>	CI_{50} 72h = 139 mg/l	CI_{50} 72h = 1,47 - 11,6 mg/l
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	CL_{50} 96h > 100 mg/l	CL_{50} 96h = 0,95 - 8,2 mg/l

3.3.3.6. Anàlisi de comportament múltiple entre totes les espècies

S'ha realitzat l'anàlisi de la variància de tres factors fixes (A: emulsió/microemulsió, B: suavitzant i C: espècie) per a poder comparar el comportament de cada una de les espècies en front de les emulsions i microemulsions i de cada un dels suavitzants en estudi. Com es pot veure en la TAULA XXIV hi ha diferències significatives per cada un d'aquests factors ($p < 0,00001$).

TAULA XXIV: Anàlisi de la Variància amb tres factors (A: Emulsió/Microemulsió; B: Suavitzant; C: Espècie) del $\log(CE_{50})$ per a les cinc espècies en estudi: *Photobacterium phosphoreum*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus*, *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia magna* i *Oncorhynchus mykiss*.

Font de variació	Suma de quadrats	g.l.	Mitjana quadràtica	F	Nivell Sign.
EFFECTES PRINCIPALS					
A: Emulsió/Microemulsió	18,65	1	18,65	2416,93	0,0000
B: Suavitzant	12,86	4	3,21	416,57	0,0000
C: Espècie	3,67	5	73,43	95,18	0,0000

Com ja s'ha vist al tractar cada una de les espècies per separat, el conjunt de les microemulsions és més tòxic que el de les emulsions. D'altra banda, la toxicitat de cada un dels suavitzants amb relació a la dels altres, és diferent si estan emulsionats que si estan microemulsionats. El suavitzant més tòxic en totes les espècies, excepte *Photobacterium*, és DSDMAC, tant en emulsió com en microemulsió, i els menys tòxics DSEMAMS i DAAIMS. DSCEEMAMS i DSAEMIMS presenten una toxicitat intermitja.

En quant a les espècies (TAULA XXV i FIGURES 30a i 31a), el seu comportament difereix davant de les emulsions i les microemulsions. *Oncorhynchus* sembla ser, en termes generals, l'espècie més sensible per a les emulsions, mentre que per a les microemulsions ho és *Chlorella*; tanmateix *Oncorhynchus* és una de les més resistent per a les microemulsions. *Photobacterium* i *Selenastrum* semblen ser les espècies més resistents tant als suavitzants emulsionats com als microemulsionats. *Daphnia* mostra una de les resistències més baixa, mentre que *Scenedesmus* es comporta de forma bastant similar a *Selenastrum* per a les emulsions, mentre que per a les microemulsions *Scenedesmus* sembla ser més sensible que *Selenastrum* per a DSEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS, mentre que per a DSDMAC i DSCEEMAMS és més resistent.

A partir del gràfic suavitzant vs espècie per a les emulsions (FIGURA 30a) s'adverteix que

Photobacterium no presenta grans diferències en el seu comportament davant els cinc suavitzants; de les tres espècies de microalgues, *Chlorella* és més sensible que *Scenedesmus* i *Selenastrum*, i aquestes dues últimes tenen un comportament similar; pel que fa a *Oncorhynchus* i a *Daphnia*, semblen ser les espècies més sensibles

El comportament d'aquestes espècies difereix davant de les microemulsions (FIGURA 31a). *Photobacterium* segueix sent l'espècie que menys diferències presenta en front cada suavitzant; tanmateix, entre les altres espècies, s'observa que *Scenedesmus* i *Chlorella* semblen ser les espècies més sensibles (no obstant *Scenedesmus* és la més resistent per a DAAIMS), mentre que *Daphnia* i *Oncorhynchus*, juntament amb *Selenastrum*, les més resistents.

En quant als suavitzants (TAULA XXVI i FIGURES 30b i 31b) es pot observar que la conducta de DSDMAC davant totes les espècies és completament diferent al dels altres suavitzants emulsionats i microemulsionats.

Per aquest suavitzant emulsionat (FIGURA 30b) l'espècie més resistent és *Photobacterium*, i les més sensibles *Daphnia* i *Oncorhynchus*. Les tres espècies de microalgues semblen tenir una sensibilitat similar a aquest suavitzant. Els dos suavitzants metil sulfats d'amoni quaternari, DSEMAMS i DSCEEMAMS, semblen tenir un comportament bastant similar, sent DSEMAMS lleugerament menys tòxic que DSCEEMAMS en totes les espècies excepte per a *Chlorella*. Dels dos suavitzants metil sulfats d'imidazolina, DSAEMIMS i DAAIMS, aquest últim sembla ser menys tòxic que DSAEMIMS en les tres espècies de microalgues, mentre que en *Photobacterium* DAAIMS és més tòxic que DSAEMIMS; per a *Daphnia* i *Oncorhynchus* les toxicitats d'aquests dos suavitzants són similars, solapant-se els seus intervals.

Per als suavitzants microemulsionats (FIGURA 31b), DSDMAC també és el suavitzant més tòxic per a totes les espècies excepte *Photobacterium*; les tres espècies de microalgues presenten una sensibilitat similar a aquest suavitzant, i *Daphnia* és l'espècie més sensible.

Respecte a la toxicitat dels dos suavitzants metil sulfats d'amoni quaternari, DSEMAMS és lleugerament menys tòxic que DSCEEMAMS en totes les espècies, excepte per a *Selenastrum*, en la qual els dos suavitzants tenen una toxicitat similar. Els dos suavitzants metilsulfats d'imidazolina tenen toxicitats semblants en totes les espècies, sent DAAIMS algo menys tòxic en totes les espècies, excepte per a *Scenedesmus*, per a la qual DAAIMS és molt menys tòxica que DSAEMIMS i per a *Chlorella*, per a la qual DSAEMIMS és menys tòxica que DAAIMS.

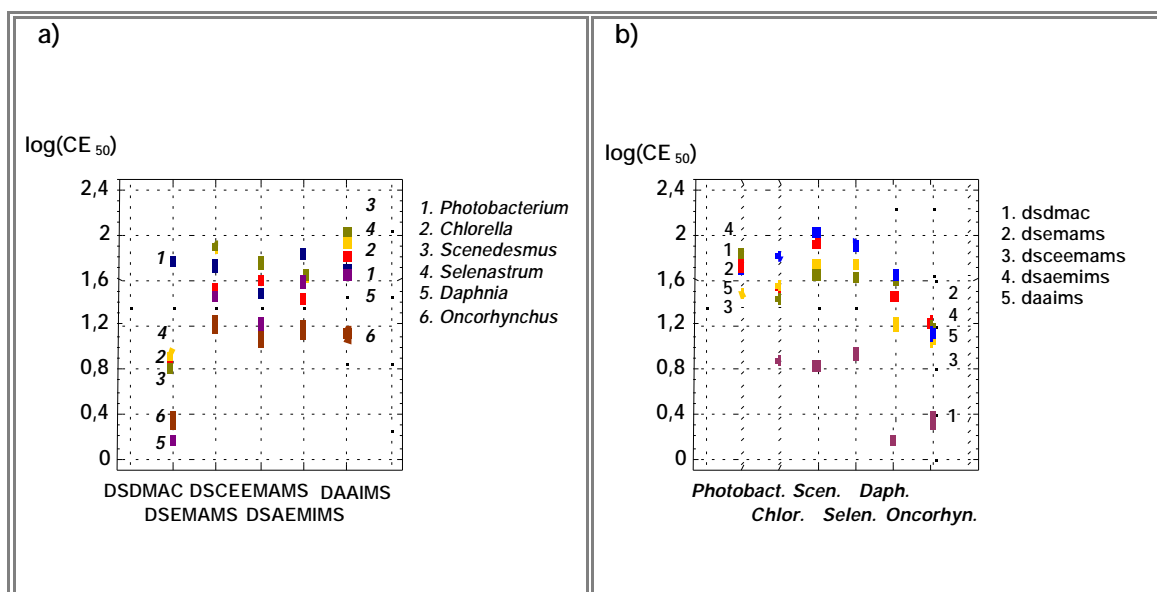


FIGURA 30: Representació gràfica dels (a) intervals de confiança 0,95 suavitzant emulsionat *versus* espècie i (b) espècie *versus* suavitzant emulsionat.

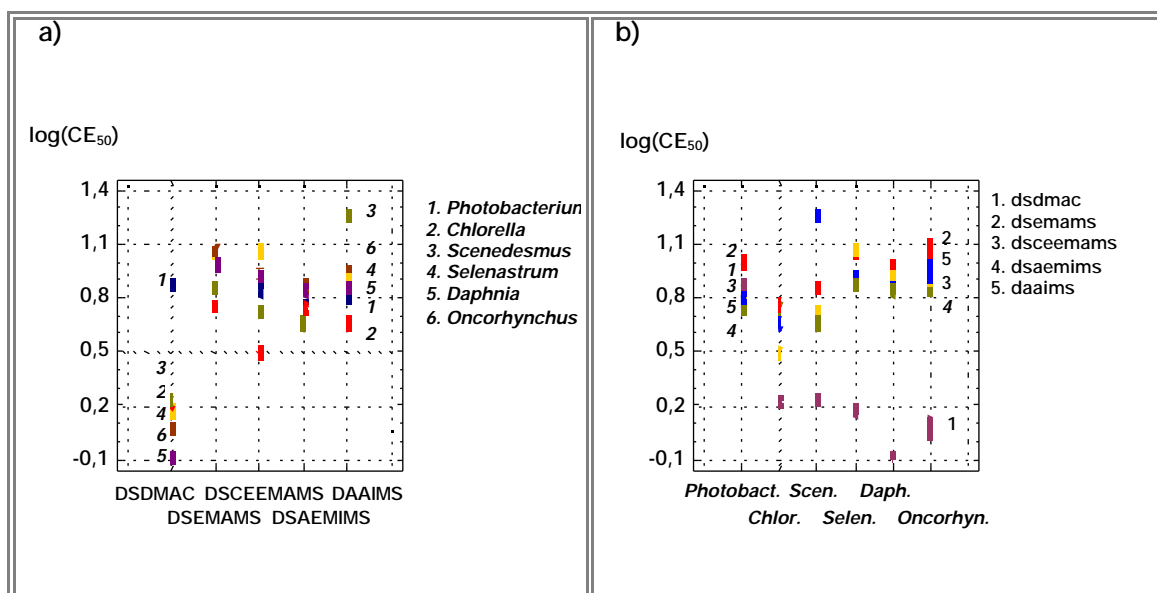


FIGURA 31: Representació gràfica dels (a) intervals de confiança 0,95 suavitzant microemulsionat *versus* espècie i (b) espècie *versus* suavitzant microemulsionat.

TAULA XXV: Anàlisi de comparació múltiple de mitjanes del log(CE₅₀) dels suavitzants emulsionats i microemulsionats per separat per a les diferents espècies en estudi.

	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>EMULSIÓ</u>	<i>Photobacterium</i>	20	3,90	X
	<i>Chlorella</i>	20	3,33	X
	<i>Scenedesmus</i>	20	3,74	X
	<i>Selenastrum</i>	20	3,75	X
	<i>Daphnia</i>	20	2,79	X
	<i>Oncorhynchus</i>	5	2,24	X
Contrast (95%)		diferencies	limits	dif. sign.
<i>Photobacterium-Chlorella</i>		0,57646	0,03497	*
<i>Photobacterium-Scenedesmus</i>		0,15429	0,03497	*
<i>Photobacterium-Selenastrum</i>		0,16714	0,03497	*
<i>Photobacterium-Daphnia</i>		1,11834	0,03497	*
<i>Photobacterium-Oncorhynchus</i>		1,66304	0,05530	*
<i>Chlorella-Scenedesmus</i>		-0,42035	0,03497	*
<i>Chlorella-Selenastrum</i>		-0,40750	0,03497	*
<i>Chlorella-Daphnia</i>		0,54370	0,03497	*
<i>Chlorella-Oncorhynchus</i>		1,08840	0,05530	*
<i>Scenedesmus-Selenastrum</i>		0,01285	0,03497	*
<i>Scenedesmus-Daphnia</i>		0,96405	0,03497	*
<i>Scenedesmus-Oncorhynchus</i>		1,50875	0,05530	*
<i>Selenastrum-Daphnia</i>		0,95120	0,03497	*
<i>Selenastrum-Oncorhynchus</i>		1,49591	0,05530	*
<i>Daphnia-Oncorhynchus</i>		0,54470	0,05530	*
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>MICROEMULSIÓ</u>	<i>Photobacterium</i>	20	1,96	X
	<i>Chlorella</i>	20	1,33	X
	<i>Scenedesmus</i>	20	1,73	X
	<i>Selenastrum</i>	20	1,88	X
	<i>Daphnia</i>	20	1,62	X
	<i>Oncorhynchus</i>	5	1,80	X
Contrast (95%)		diferencies	limits	dif. sign.
<i>Photobacterium-Chlorella</i>		0,63503	0,3787	*
<i>Photobacterium-Scenedesmus</i>		0,23722	0,3787	*
<i>Photobacterium-Selenastrum</i>		0,08310	0,3787	*
<i>Photobacterium-Daphnia</i>		0,34699	0,3787	*
<i>Photobacterium-Oncorhynchus</i>		0,16039	0,5988	*
<i>Chlorella-Scenedesmus</i>		-0,39781	0,3787	*
<i>Chlorella-Selenastrum</i>		-0,55193	0,3787	*
<i>Chlorella-Daphnia</i>		-0,28804	0,3787	*
<i>Chlorella-Oncorhynchus</i>		-0,47464	0,5988	*
<i>Scenedesmus-Selenastrum</i>		-0,15412	0,3787	*
<i>Scenedesmus-Daphnia</i>		0,10977	0,3787	*
<i>Scenedesmus-Oncorhynchus</i>		-0,07683	0,5988	*
<i>Selenastrum-Daphnia</i>		0,26389	0,3787	*
<i>Selenastrum-Oncorhynchus</i>		0,07729	0,5988	*
<i>Daphnia-Oncorhynchus</i>		-0,18660	0,5988	*

* indica diferències estadísticament significatives

TAULA XXVI: Anàlisi de comparació múltiple de mitjanes del $\log(CE_{50})$ dels cinc suavitzants en estudi, emulsionats i microemulsionats,

	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>EMULSIÓ</u>	DSDMAC	21	1,89	X
	DSEMAMS	21	3,72	X
	DSCEEMAMS	21	3,38	X
	DSAEMIMS	21	3,55	X
	DAAIMS	21	3,92	X
Contrast (95%)		diferències	limits	dif. sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-1,83942	0,03910	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-1,48746	0,03910	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,66145	0,03910	*
DSDMAC-DAAIMS		-2,03025	0,03910	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,34747	0,03910	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,17348	0,03910	*
DSEMAMS-DAAIMS		-0,19533	0,03910	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		-0,17399	0,03910	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,54279	0,03910	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,36880	0,03910	*
	Nivell	Quantitat	Mitjana	Grups Homogenis
<u>MICROEMULSIÓ</u>	DSDMAC	21	0,58	X
	DSEMAMS	21	2,20	X
	DSCEEMAMS	21	1,91	X
	DSAEMIMS	21	1,82	X
	DAAIMS	21	2,09	X
Contrast (95%)		diferències	limits	dif. sign.
DSDMAC-DSEMAMS		-1,62600	0,04234	*
DSDMAC-DSCEEMAMS		-1,33360	0,04234	*
DSDMAC-DSAEMIMS		-1,24429	0,04234	*
DSDMAC-DAAIMS		-1,51369	0,04234	*
DSEMAMS-DSCEEMAMS		0,29240	0,04234	*
DSEMAMS-DSAEMIMS		0,38171	0,04234	*
DSEMAMS-DAAIMS		0,11231	0,04234	*
DSCEEMAMS-DSAEMIMS		0,08930	0,04234	*
DSCEEMAMS-DAAIMS		-0,18010	0,04234	*
DSAEMIMS-DAAIMS		-0,26940	0,04234	*

* indica diferències estadísticament significatives

3.4. DISCUSSIÓ

3.4.1. PARÀMETRES AMBIENTALS:

3.4.1.1. Demanda biològica d'oxigen (DBO₅) i demanda química d'oxigen (DQO)

En les últimes dècades s'han desenvolupat diferents assaigs per poder determinar el contingut orgànic en les aigües residuals. En general, les proves que s'utilitzen poden estar orientades a mesurar concentracions de matèria orgànica de l'ordre de 1 mg/l i superiors, o bé per determinar concentracions de l'ordre de 10^{-2} - 10^{-3} mg/l. Entre els mètodes més comuns per a la mesura de matèria orgànica en aigües, en concentracions superiors a 1 mg/l, es poden citar la demanda biològica d'oxigen (DBO₅), demanda química d'oxigen (DQO) i el carboni orgànic total (COT). Un paràmetre complementari a aquests seria la demanda teòrica d'oxigen, la qual es determina a partir de la fórmula química de la matèria orgànica. Aquests mètodes també s'utilitzen per a caracteritzar ecotoxicològicament substàncies o compostos, sòlids i líquids, de cara a la seva comercialització (Real Decret 363/1995, BOE 133/1995).

Quan s'analitzen aigües residuals, en les quals es troba una barreja de diferents contaminants, tant orgànics com inorgànics, en concentracions relativament baixes, els valors de demanda química d'oxigen (DQO) generalment són més alts que els de demanda biològica d'oxigen (DBO₅) (Metcalf i Eddy, 1991). Això és degut a que la major part dels contaminants són més fàcils d'oxidar químicament que biològicament. Aquest fenomen també va ser observat per Riva i altres (1993) en efluents del procés tèxtil de rentat de diferents tipus de llana. L'índex entre els valors de la DBO i de la DQO és indicatiu de la biodegradabilitat de la matèria contaminant present en les aigües residuals (Rigola, 1989). Quan l'índex DBO₅/DQO és superior a 0,5 es pot considerar que aquell efluent és biodegradable (Directiva 92/32/CEE). No obstant això, quan les anàlisis de DBO₅ i DQO es realitzen sobre compostos (com els suavitzants emulsionats i microemulsionats que s'han utilitzat en aquest treball) en comptes d'efluents, aquesta relació no sempre s'acompleix, i per tant l'índex DBO₅/DQO per a establir si és degradable no és sempre aplicable, ja que una mostra d'aigua residual (on hi ha una barreja de contaminants i d'altres components, en quantitats relativament petites) i la dilució d'un compost no són comparables.

El valor de DBO₅ per un compost pur depèn de varis factors: de si és volàtil o adsorbible, de la naturalesa de les seves cadenes alquíliques, de la seva toxicitat, i de si al estar amb d'altres compostos aquesta varia (Rand i altres, 1995).

El valor de DBO₅ representa la quantitat d'oxigen que consumeixen els microorganismes per a poder degradar la matèria orgànica present en el medi. Quan més alt sigui aquest valor, més contaminant i menys biodegradable és el compost, ja que els microorganismes necessiten una

quantitat d'oxigen molt elevada per a poder oxidar les molècules orgàniques, i poden arribar a esgotar l'oxigen present en el medi.

Els valors de la demanda biològica d'oxigen (DBO_5) per als suavitzants emulsionats oscil·len entre 23,7 mg O_2 /Kg per al DAAIMS i 147 mg O_2 /Kg per al DSCEEMAMS; mentre que per a les microemulsions, els valors obtinguts es troben entre els 84.000 mg O_2 /l per al DAAIMS i els 132.000 mg/l per al DSEMAMS (TAULA X). D'una banda, la diferència que observem entre els amonis quaternaris i les imidazolines pot ser deguda a que aquestes últimes presenten un anell en la seva estructura química, fet que pot dificultar la seva descomposició per part dels microorganismes. D'altra banda, la diferència en la DBO_5 entre els suavitzants emulsionats i microemulsionats, pot estar relacionada amb la concentració de suavitzant utilitzada en cada cas, ja que les microemulsions estan fetes amb una concentració de suavitzant 150 vegades més gran. Tanmateix, cal destacar que, en el cas de les microemulsions, la DBO_5 dels agents microemulsionants no interfereix amb el resultat obtingut, ja que a les concentracions a les que es van fer les valoracions, els agents donen una lectura similar a la del blanc.

Els valors de demanda química d'oxigen (DQO) oscil·len entre 500 i 800 mg O_2 /Kg en els suavitzants emulsionats, mentre que per als microemulsionats es troben entre 280.000 i 360.000 mg O_2 /Kg de producte (TAULA IX). Aquesta diferència vindria donada, igual que en la DBO_5 , per la major concentració de suavitzant amb la que han estat elaborades les microemulsions. També s'ha de tenir en compte que en aquest cas els agents microemulsionants (l'n-octà, l'isopropílic i el tensioactiu no iònic), ja tenen per ells mateixos una DQO elevada (98.600 mg O_2 /Kg).

En quant a la biodegradació, els resultats obtinguts per altres autors indiquen que els tensioactius catiónics del tipus amoni quaternari són biodegradables depenent de la seva concentració (Kreminski i altres, 1973; Huber, 1982, 1984; Games i altres, 1982; Gerike, 1982; Sullivan, 1983; Janosz-Rajczyk, 1992). A concentracions altes (50-333 mg/l en 10 minuts de contacte en *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*) posseeixen una elevada toxicitat, que permet que siguin utilitzats com a potents bactericides (Sexton, 1963; Lawrence, 1970; Cooper, 1988; Lin i altres, 1991; Volkering i altres, 1997; Willumsen i Karlson, 1998).

Al aplicar l'índex DBO_5 /DQO (TAULA XXVII) a cada un dels suavitzants, s'obté una relació inferior a 0,5 i que ens indicaria una biodegradabilitat petita o nul·la. En els cas de les microemulsions l'índex DBO_5 /DQO és més alt que a les emulsions. Això podria ser degut a que la mida de partícula en les microemulsions és més petita i per tant, encara que es necessiti més quantitat d'oxigen per a degradar les molècules, la major superfície exposada facilita la degradació per part dels microorganismes.

En el nostre cas, la informació que aporta l'índex DBO₅/DQO no ens indica la biodegradabilitat dels compostos estudiats, ja que aquest coeficient s'obté a partir de valors molt superiors de DBO i DQO en les microemulsions, i per tant els seus resultats no són conclouents

TAULA XXVII: Índex DBO₅/DQO per als suavitzants emulsionants i microemulsionats.

	Índex DBO ₅ /DQO	
	Emulsions	Microemulsions
DSDMAC	0,22	0,41
DSEMAMS	0,14	0,38
DSCEEMAMS	0,34	0,47
DSAEMIMS	0,06	0,26
DAAIMS	0,04	0,29

3.4.1.2. Biodegradació

El mètode emprat per al seguiment de la biodegradació de les mostres en els dos assaigs (Biodegradabilitat ràpida (OCDE 301E) i Biodegradabilitat inherent (OCDE 302B)) ha estat el de la determinació del carboni orgànic total (COT) dissolt. Aquest mètode indica la taxa d'eliminació de la matèria orgànica del medi líquid, mesurant la quantitat de carboni orgànic que resta dissolt en el medi aquós, però no pot diferenciar si aquesta matèria orgànica ha estat biodegradada pels microorganismes, o bé ha estat eliminada per altres processos, com pot ser l'adsorció pels fangs.

Les dades bibliogràfiques de varis autors (Kreminski i altres, 1973; Gerike, 1982; Topping i Waters, 1982; Sullivan, 1983; Janosz-Rajczyk, 1992; Versteeg i altres, 1992; Giolando i altres, 1995; Perez i altres, 1996) afirmen que els compostos d'amoni quaternari, tot i que han estat establerts com a potents germicides, són degradats biològicament, sempre i quan les seves concentracions estiguin per sota dels seus nivells tòxics. Concretament, Kreminski i altres (1973) van observar el despreniment de CO₂ marcat durant la biodegradació de compostos d'amoni quaternari que havien estat marcats amb ¹⁴C en el grup metil dels substituents del benzil. Janosz-Rajczyk (1992) va observar que el nitrogen de l'amoni dels compostos d'amoni quaternari podia ser oxidat a nitrat, trencant-se els enllaços entre el nitrogen i les cadenes hidrocarbonades i altres substituents. En el treball dut a terme per Giolando i altres (1995), el suavitzant DEEDMAC, similar al DSDMAC, va assolir una

degradació del 99%.

Dels dos mètodes, el de la biodegradació inherent (OCDE 302B) es caracteritza per donar una relació més realista sobre l'índex concentració del compost/biomassa, i utilitzar un nivell d'inòcul procedent de fangs activats semblant al que pot haver-hi en una planta de tractament d'aigües (De Henau, 1993). Els resultats obtinguts en la biodegradació inherent ens indiquen que els percentatges de biodegradació dels cinc suavitzants, tant emulsionats com microemulsionats, és molt alt (> 70 %), fins i tot a les poques hores d'haver començat l'assaig (FIGURES 7 i 8). Aquests valors elevats podrien ser explicats per la capacitat dels tensioactius catiónics de ser adsorbits per diferents superfícies. És un fet conegut que els tensioactius catiónics, a causa de la seva naturalesa electroquímica, es concentren en superfícies carregades negativament per processos de quimioadsorció. Aquests tensioactius mostren una afinitat alta pels teixits (cotó, fibres de cel lulosa) (White, 1970; Täuber i May, 1982; Berenbold, 1990; Jang i Yeh, 1993), però també per superfícies minerals i biològiques (Ginn, 1970a, 1970b; Games i altres, 1982; Huber, 1982, 1984; Täuber i May, 1982; Weis, 1982; White, 1995; Volkerling i altres, 1997). De fet, són particularment fortes les interaccions que s'estableixen amb fangs minerals, col·loïds del sòl, substàncies húmiques i altres tipus de sediments aquàtics (Huber, 1982, 1984; Topping i Waters, 1982). Els estudis realitzats sobre l'associació de tensioactius aniònics i catiónics, amb substàncies húmiques dissoltes indiquen que aquestes poden jugar un paper molt important en l'eliminació dels tensioactius en aigües superficials (Hayworth i Burris, 1996; Traina i altres, 1996). Tot i que aquest tipus de test, d'acord amb les especificacions de l'OCDE, té el problema bàsic que no permet distingir entre eliminació a través de processos d'adsorció, de naturalesa fisico-química, i la degradació bioquímica (Huber, 1982, 1984), Games i altres (1982), en proves de laboratori i utilitzant dos compostos d'amoni quaternari, el clorur de trimetil octadecil amoni (OTAC) i el clorur de dimetil dioctadecil amoni (DODAC), van diferenciar quan tenien lloc els dos processos, i van observar que aquests tensioactius eren adsorbits durant els primers 30 minuts, i que eren objecte de degradació primària a les 2 hores 30 minuts. La degradació última tenia lloc al cap de 28 a 40 hores, amb la mineralització del carboni i del nitrogen.

Els resultats obtinguts en les proves de biodegradació, indiquen una eliminació ràpida dels suavitzants a les poques hores d'haver començat l'assaig. Probablement, aquesta fase d'eliminació ràpida correspondria a processos d'adsorció dels fangs. De fet, els resultats obtinguts per altres autors (May i Neufahrt, 1976; Janicke i Hilger, 1979; Tooping i Waters, 1982; Sullivan, 1983; Schöberl i altres, 1988; Berenbold, 1990, Versteeg i altres, 1992; Waters i altres, 2000) sobre biodegradació de DSDMAC, un dels suavitzants del nostre estudi, indiquen que el 95 % del suavitzant és eliminat per adsorció per fangs a les poques hores, i que en els fangs es biodegradava entre un 80 (Janicke i Hilger, 1979) i un 94 % (Schöberl i altres, 1988).

Respecte al coeficient d'adsorció, aquest és més alt en fangs activats que en aigües residuals no depurades (White, 1995). Això és degut a que els sòlids presents en fangs activats són de tipus biològic, mentre que en aigües residuals no depurades hi ha una barreja de sòlids orgànics i inorgànics i els tensioactius no són tan accessibles als microorganismes. L'adsorció per sòlids biològics és més forta, i és més fàcil que els tensioactius adsorbits siguin degradats. Així, Kreminski i altres (1973) van observar que la biodegradació d'una sal d'alquil dimetilbenzil amoni era més lenta quan aquesta era adsorbida per sòlids inorgànics que per biològics. Això explicaria les diferències observades en els tests de biodegradació inherent i biodegradació ràpida.

D'altra banda, els sòlids inorgànics es caracteritzen per tenir energies superficials elevades i presentar una naturalesa hidròfila i polar, fet que els constitueix en superfícies idònies per a què els tensioactius s'hi adhereixin. Els tensioactius s'uneixen sobre tot a minerals de tipus silicat com poden ser la montmorilonita, la coalinita i la illita (Ginn, 1970a; Weis, 1982; Huber, 1984). L'enllaç catiònic no solament s'estableix amb la superfície externa del mineral sinó també amb el reixat intern d'aquest. Al mateix temps, el tensioactiu disposat en aquest enreixat proporciona a aquests espais un marcat caràcter organòfil, de manera que els tensioactius també poden formar complexos amb d'altres compostos polars orgànics. Els tensioactius catiònics incorporats en aquest enreixat no són tant accessibles a l'atac biològic per part dels microorganismes (Weis, 1982; Huber, 1984; Lewis, 1992; Kloppersans i altres, 1996; Traina i altres, 1996; Willumsen i altres, 1998), i conseqüentment, la seva biodegradació disminueix.

A efectes pràctics, i per tot el que ha estat exposat anteriorment, la biodegradabilitat del compost també dependrà de les condicions en que s'efectua l'abocament. La capacitat dels tensioactius catiònics per unir-se a materials carregats negativament pot afectar, en la planta de tractament d'aigües residuals, a d'altres contaminants presents. Així, la presència de tensioactius aniònics en el medi fa que el coeficient d'adsorció dels tensioactius catiònics disminueixi, i també la seva toxicitat. La degradabilitat de les sals neutres formades per la complexió de sulfonat d'alquilbenzè lineal (LAS) i del clorur de trimetil octadecil amoni (OTAC) és més elevada que la degradabilitat de l'OTAC pur (Games i altres, 1982; Huber, 1984), a causa de que la toxicitat del complex és menor.

La presència conjunta de contaminants hidrocarbonats, com derivats del petroli, i de tensioactius tant en aigües com en sòls, pot fer disminuir la toxicitat d'ambdós contaminants (Poremba, 1993; Jahan i altres, 1997; Volkerling i altres, 1997). Pel contrari, la presència de tensioactius catiònics pot afectar a l'adsorció de metalls pesants, amb els quals entren en competència. Els fangs activats tenen una capacitat molt elevada d'eliminar metalls pesants, però la presència de tensioactius catiònics, amb més afinitat que ells per unir-se a les superfícies bacterianes i formar enllaços més estables, fa disminuir aquesta capacitat (Huber,

1982).

La realització de l'assaig de biodegradació ràpida (OCDE 301E) ha estat complementari al de la biodegradació inherent, ja que en aquest assaig l'única font energètica emprada pels microorganismes han estat els tensioactius; i per tant es va pensar que seria un sistema útil per a valorar la biodegradabilitat d'aquests compostos. En aquest cas, on la quantitat d'inòcul va ser relativament petita, i els resultats obtinguts no són comparables amb els de l'assaig de biodegradació inherent (OCDE 302B). Amb aquest mètode ha estat eliminat l'efecte d'adsorció que presentava l'inòcul (fangs activats), per la qual cosa també es mesura de manera exclusiva la degradació de les molècules de tensioactiu per part dels microorganismes. També s'assoleixen nivells alts de biodegradació (superiors a 70 %) per a tots els suavitzants emulsionats i microemulsionats, excepte els DSDMAC, pels quals la degradació és inferior al 40 %, la seva dinàmica de degradació en els dos assaigs no és la mateixa. També observem diferències entre els suavitzants: les dues imidazolines quaternàries (DSAEMIMS i DAAIMS) assolixen nivells de degradació superiors al 90 %, els dos metilsulfats d'amoni quaternari (DSEMAMS i DSCEEMAMS) arriben al 70 – 80 %, i el clorur d'amoni quaternari (DSDMAC) únicament al 40%. Aquestes diferències estarien relacionades, com s'ha comentat anteriorment, amb la complexitat estructural del compost i amb la seva toxicitat.

Per últim, cal esmentar que en condicions d'utilització de suavitzant en els rentats, tant de tipus industrial com domèstics, s'han de tenir en compte els diversos factors que fan variar el seu nivell de degradació. Primerament, cal considerar que la quantitat de suavitzant que va a parar al clavegueram és molt més baixa que la quantitat assajada donada la petita dosi que s'afegeix en el procés de rentat (0,5 – 1 g de suavitzant / kg de teixit sec), i que la major part d'ell queda absorbit en els teixits (May i Neufahrt, 1976; Berenbold, 1990; Versteeg i altres, 1992), per la qual cosa la concentració final que arriba a les aigües residuals és molt baixa. En segon lloc, la biodegradació no depèn sols de la concentració sinó també de les condicions en les que s'efectua l'abocament. Com ja s'ha dit abans, la capacitat dels tensioactius catiònics d'unir-se amb els aniònics, tant durant el procés de rentat com en les aigües residuals, per a la formació de sals neutres, té una gran importància per a reduir la seva toxicitat, i per tant, fer-los més accessibles als microorganismes que han d'actuar sobre ells (Schöberl i altres, 1988; Berenbold, 1990).

3.4.1.3. Biodegradació/Toxicitat en bacteris luminescents:

El control dels assaigs de biodegradabilitat es fa per paràmetres químics (determinació del COT o DQO), però aquests no permeten conèixer l'evolució de la toxicitat dels compostos en procés de degradació; si aquests es van fent més tòxics o bé, si la seva toxicitat disminueix

a mesura que es va degradant el compost. Tot i així, en alguns casos s'ha pogut relacionar la disminució de la toxicitat amb la desaparició del suavitzant del medi utilitzant algun paràmetre quantitatiu com el COT o la DQO (Moreno i altres, 1991; Tatarazako, 1998). El seguiment de la toxicitat d'un producte durant un assaig de biodegradació ens pot aportar informació sobre la toxicitat dels compostos resultants.

Els resultats obtinguts pels diferents suavitzants, emulsionats i microemulsionats, ens revelen que, el percentatge de biodegradació, determinat per COT, està correlacionat positivament amb la disminució de toxicitat observada en l'assaig de toxicitat amb *Photobacterium phosphoreum*.

S'han realitzat varis treballs que duen a terme estudis paral·lels de biodegradació i toxicitat en *Daphnia magna*, bacteris o microalgues (Morero i Ferrer, 1991; Vives-Rego i altres, 1991; Dorn i altres, 1993; Ginkel i altres, 1993; Taeger, 1994; Kolbener i altres, 1995) en els que s'observa que durant el procés de biodegradació dels tensioactius hi ha disminució de la seva toxicitat. Alguns d'aquests estudis relacionen l'estructura del tensioactiu amb la biodegradació; Vives-Rego i altres (1991), comparant dos tensioactius aniònics similars que difereixen en que un és lineal i l'altre ramificat (LAS i BABS respectivament) van veure que el primer, encara que era inicialment més tòxic, també es degradava més fàcilment degut a que, al presentar una estructura més simple, una cadena lineal, era més accessible als microorganismes. Kolbener i altres (1995) també van observar que LAS era fàcilment degradat a pesar de la seva alta toxicitat inicial, i que al final del procés de degradació el sobrenadant no era tòxic ni per microalgues ni per dàfnies.

La baixa toxicitat d'un tensioactiu poc biodegradable, comparada amb la d'un altament biodegradable, pot explicar-se en termes de la seva incorporació cel·lular. Un tensioactiu pot exercir la seva toxicitat de dues maneres: 1) per trencament de l'embolcall cel·lular; o 2) per les alteracions metabòliques que provoca després de la seva incorporació a la cèl·lula (Vives-Rego i altres, 1991).

Encara que la toxicitat dels suavitzants disminueix bruscament a les poques hores de posar-los en contacte amb els fangs activats, aquesta disminució, com ja s'ha comentat en l'apartat de Biodegradació dels suavitzants, podria estar relacionada amb l'adsorció dels tensioactius pels fangs, sense que hagi tingut lloc una biodegradació. Per aquest motiu es va fer una determinació de la concentració de tensioactiu catiònic en les primeres preses de mostra de l'assaig, observant-se una reducció del 80 % de la seva concentració inicial. Aquesta dada ens suggereix que el tensioactiu ha desaparegut del medi líquid de l'assaig; no obstant això, no podem diferenciar si aquesta desaparició és deguda a l'adsorció pels fangs o per superfícies, o si realment han estat degradats. Games i altres (1982) van observar que el procés d'adsorció dels tensioactius tenia lloc en els primers 30 minuts de presa de contacte tensioactiu-fangs. Això

confirmaria el fet que la baixada de la toxicitat durant la biodegradació està causada per l'adsorció dels suavitzants per part dels fangs.

Per una altra banda, els treballs realitzats en el medi natural, on els tensioactius estan dissolts en aigües superficials, en contacte amb diferents components orgànics i inorgànics, la concentració d'aquests disminueix (Huber, 1982; 1984; Kappeler, 1982; Waters, 1982; Versteeg i altres, 1992; Dorn i altres, 1993); la presència de components orgànics i minerals en el medi fan desaparèixer per adsorció, conjuntament amb la degradació, una gran proporció de tensioactiu, d'aquesta manera la seva disponibilitat biològica disminueix. Estudis realitzats sobre DTDMAC han trobat que la concentració d'aquest tensioactiu en el medi natural està per sota del seu nivell tòxic (Versteeg i altres, 1992).

La biodegradació primària, entesa com les modificacions químiques que es produeixen en les molècules i els hi altera les seves característiques fisico-químiques, pot estar en certs casos relacionada amb l'eliminació de la toxicitat (De Heanu, 1993).

Podem suggerir doncs, que aquests suavitzants són eliminats del medi i que aquest fet fa que disminueixi ràpidament la seva toxicitat després de l'abocament. Aquesta eliminació del medi sembla ser deguda a la capacitat d'adsorció a superfícies carregades negativament dels tensioactius, i per tant al estar en contacte amb fangs, aquests són eliminats del medi d'assaig per adsorció. No obstant, ens caldria demostrar si un cop adsorbits pels fangs els tensioactius són realment degradats; tanmateix hi ha estudis que asseguren que en els fangs sí que hi ha degradació bacteriana (Kreminski i altres, 1973; Huber, 1982; Gerike, 1982; Sullivan, 1983; Huber, 1984; Janosz-Rajczyk, 1992; Versteeg i altres, 1992; Giolando i altres, 1995; Perez i altres, 1996). Aquesta consideració per si sola ja suposa un important objectiu, i un motiu per a continuar la recerca en aquest camp en un futur immediat.

3.4.2. TOXICITATS AGUDES (SISTEMA MULTIESPÈCIES)

Alguns autors proposen la utilització de varis components de l'ecosistema per tal de proporcionar una resposta integrada que permeti una protecció adequada dels sistemes naturals (Frithsen i altres, 1989; Cairns i altres, 1990; Dorn i altres, 1993; Keller, 1993; Pratt i altres, 1994; Cooney, 1995; Osbild i altres, 1995; Rand i altres, 1995; Tisler i Zagorc-Koncan, 1995; Ahtiainen i altres, 1996; Akolkar i Trivedi, 1996; Rodgers i altres, 1996; Servos i altres, 1996; Verta i altres, 1996; Leal i altres, 1997; Sherry i altres, 1997; Sweet i Meier, 1997; Sweet i altres, 1997; Fisher i altres, 1998; Sandbacka i altres, 2000). Mentre els assaigs amb una única espècie permeten avaluar la magnitud i persistència de la toxicitat, els assaigs amb diverses espècies permeten, a més a més, valorar l'efecte tòxic sobre la riquesa de les

comunitats i d'altres paràmetres sensibles (Cairns i Pratt, 1987; Frithsen i altres, 1989; Amblard i altres 1990; Paller i altres, 1996; Sherry i altres, 1997; Fisher i altres, 1998). L'elecció de varies espècies (*Photobacterium phosphoreum*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus*, *Selenastrum capricornutum*, *Daphnia magna* i *Oncorhynchus mykiss*) per avaluar la toxicitat d'aquests compostos, es va considerar per tant de gran interès.

Els efectes tòxics dels tensioactius sobre organismes aquàtics han estat objecte de varis treballs i recopilacions (Abel, 1974; Margaritis i Creese, 1979; Ernst i altres, 1983; Gibert i Pettigrew, 1984; Röderer, 1987; Nyberg, 1988; Lewis, 1990; 1991; Boethling i Lynch, 1992; Fendinger i altres, 1994; Pantani i altres, 1995a, 1995b). La majoria d'estudis s'han dut a terme sobre tensioactius de tipus aniònic i no iònic (Abel, 1974; Ernst i altres, 1983; Gibert i Pettigrew, 1984; Yamane i altres, 1984; Sueishi i altres, 1988; Kimerle, 1989; Marin i altres, 1991; Dorn i altres, 1993; Fendinger i altres, 1994; Verge i Moreno, 1996; Whinting i altres, 1996; Wong i altres, 1997a), i encara que són poc nombrosos els realitzats amb els suavitzants de tipus catiònic. La major part de la investigació sobre aquests últims s'ha centrat en el grup de compostos d'amoni quaternari, els quals estan considerats com a molt tòxics (Huber, 1982, 1984; Kappeler, 1982; Röderer, 1987; Lewis, 1990; Versteeg i altres, 1992; Pantani i altres, 1995a, 1995b).

Dels cinc suavitzants emulsionats considerats al nostre estudi el més tòxic és DSDMAC, ja que presenta els valors de CE_{50} més baixos en totes les espècies estudiades, excepte en *Photobacterium phosphoreum* (TAULA XI). Aquests valors estan compresos entre 1,46 mg/l per *Daphnia magna* (TAULA XVIII) i 7,7 mg/l per *Chlorella vulgaris* (TAULA XIVa), mentre que per a *Photobacterium phosphoreum* presenta una toxicitat menor, de 29,2 mg/l (TAULA XI). El suavitzant emulsionat que mostra una menor toxicitat és la imidazolina quaternària DAAIMS, i és en l'espècie de microalga *Scenedesmus subspicatus* on manifesta la toxicitat més baixa, amb una CI_{50} de 109,4 mg/l (TAULA XIVb). Per una altra banda, l'espècie que, pel conjunt de tots els suavitzants, s'ha mostrat més sensible a les emulsions és la truita irisada *Oncorhynchus mykiss* (TAULA XXII).

Dels tensioactius en forma microemulsionada, DSDMAC també és el més tòxic, amb valors de CE_{50} que van des de 0,8 a 1,8 mg/l per a totes les espècies, excepte per *Photobacterium phosphoreum* (7,3 mg/l) (TAULA XI). Per a la resta de suavitzants els valors de toxicitat són similars, exceptuant DAAIMS en *Scenedesmus subspicatus* el qual presenta una menor toxicitat (TAULA XIVb).

En *Photobacterium phosphoreum*, l'anàlisi de la variància de les dades de toxicitat, ens indica que hi ha diferències significatives entre els suavitzants emulsionats i microemulsionats (TAULA XII) sent els microemulsionats més tòxics. Mentre que en emulsió s'observen tres nivells de toxicitat (el més tòxic que inclou DSDMAC, el següent pel subgrup homogeni

format per DSEMAMS, DSCEEMAMS i DSAEMIMS, i per últim el menys tòxic que inclou DAAIMS) (FIGURA 13b), en microemulsió s'adverteix que tots ells manifesten una toxicitat similar (entre 5,6 i 9,4 mg/l) (FIGURA 13c) i, encara que estadísticament s'hagi detectat diferències significatives ($p < 0,00001$), aquesta espècie presenta una sensibilitat similar per als cinc suavitzants microemulsionats.

Sherrard i altres (1996) van utilitzar el mètode de Microtox® per a determinar la toxicitat aguda de varis tensioactius no iònics. Van trobar limitacions en la utilització d'aquest mètode quan es treballava per sobre d'una concentració determinada, que ells van anomenar concentració de toxicitat crítica (CTC), ja que al requerir dilucions per a dur a terme l'assaig es perdia la linealitat, els resultats no eren extrapolables per al càlcul de la CE_{50} de la mostra original. Van relacionar aquest fenomen amb processos biològics com la necessitat d'una tensió superficial mínima de la membrana cel·lular dels bacteris o amb altres propietats físiques dels tensioactius, com són la seva tendència a unir-se a interfases i superfícies i la seva tendència a forma micel·les.

En els resultats de toxicitat de les emulsions obtinguts amb les tres espècies de microalgues, únicament DSDMAC presenta uns valors de $CI_{50}72h$ (*Chlorella*: 7,7 mg/l; *Scenedesmus*: 6,9 mg/l; *Selenastrum*: 8,6 mg/l) (TAULA XIV), que es poden incloure en el marge trobat per altres autors (0,1-50 mg/l) (Kappeler, 1982; Tubbing i Admiraal, 1991; Hennes-Morgan i de Oude, 1994). La resta, presenten valors de toxicitat aguda ($CI_{50}72h$) superiors al d'aquest suavitzant, sent el menys tòxic de tots la imidazolina quaternària DAAIMS (des de 64 mg/l en *Chlorella vulgaris* a 109,4 mg/l en *Scenedesmus subspicatus*). Totes les microemulsions són més tòxiques que les emulsions, i la major part d'elles presenten valors de $CI_{50}72h$ compresos entre 1,7 i 17,9 mg/l.

El valor obtingut per a DSDMAC emulsionat en *Daphnia magna* (1,46 mg/l) també està dins de l'interval trobat per altres autors en aquesta espècie ($CE_{50}24h = 0,1-1,5$ mg/l) (Kappeler, 1982; Waters, 1982; Schöeberl i altres, 1988; Ribosa i altres, 1991; Hennes-Morgan i de Oude, 1994) (TAULA XVIII). Els valors de $CE_{50}24h$ de les dues imidazolines provades van ser de 38 i 44 mg/l, valors situats dins l'interval trobat per a d'altres imidazolines (4-100 mg/l) (Schöeberl i altres, 1988). No obstant, Schut (1982) va trobar valors més baixos, donant resultats de $CE_{50}48h$ de 0,3-0,5 mg/l, possiblement degut a que el tipus de imidazolina era un altre i a la major durada de l'assaig (48 hores).

Per *Daphnia magna*, a l'igual que per les espècies anteriorment estudiades, també són les microemulsions ($CE_{50}24h = 0,82-9,7$ mg/l) més tòxiques que les emulsions ($CE_{50}24h = 1,46 - 44,1$ mg/l). En microemulsió la toxicitat augmenta proporcionalment molt més en aquells suavitzants que en emulsió són menys tòxics, com és el cas de DSDMAC. Aquest comportament, ens fa pensar que una part de l'increment de toxicitat de les formes

microemulsionades podria ser causat pels agents microemulsionants presents, encara que d'altres característiques, com la mida de partícula, també hi poden contribuir.

Els valors de toxicitat aguda ($CL_{50}96h$) (TAULA XXII) obtinguts per *Oncorhynchus mykiss* per les emulsions estan compresos entre 2,3 i 15,9 mg/l, i per les microemulsions entre 0,95 i 9,6 mg/l. El valor de CL_{50} per a DSDMAC és similar al que han trobat altres autors (Kappeler 1982; Huber 1984; Cooper, 1988; Schöeberl i altres, 1988; Hennes-Morgan i de Oude, 1994) i coincideix en que és un dels tensioactius catiònics d'amoni quaternari més tòxic (0,6 – 3 mg/l).

Tant en forma emulsionada com microemulsionada, els intervals obtinguts per les rectes logit per a la resta de suavitzants, ens indiquen que tot i que la seva dispersió és menor, s'observen diferències en la seva toxicitat. Dels suavitzants emulsionats, els dos metilsulfats d'amoni quaternari, DSCEEMAMS i DSEMAMS, són el més i menys tòxics respectivament (DSCEEMAMS: $CL_{50}96h = 11,3$ mg/l, i DSEMAMS : $CL_{50}96h = 15,9$ mg/l), i les dues imidazolines quaternàries, DSEAMIMS i DAAIMS, tenen el mateix comportament (DSAEMIMS: $CL_{50}96h = 13,8$ mg/l, i DAAIMS: $CL_{50}96h = 13,4$ mg/l). En la forma microemulsionada, el comportament dels quatre és més homogeni (DSEMAMS: $CL_{50}96h = 9,7$ mg/l; DSCEEMAS: $CL_{50}96h = 9,6$ mg/l; DSAEMIMS: $CL_{50}96h = 7,4$ mg/l; DAAIMS: $CL_{50}96h = 8,2$ mg/l). Tanmateix estan dins o pròxims dels límits per a considerar-los coma a molt tòxics ($CL_{50}96h = 1-10$ mg/l) (Cooper, 1988; Svobodová i altres 1993) o moderadament tòxics segons la classificació de Niosh (1976) i Riva (1991).

Els estudis realitzats amb imidazolines quaternàries són pocs, i per tant resulta difícil establir comparacions amb les nostres dades. Schut (1982) va trobar que la $CL_{50}96h$ per una imidazolina quaternària en peixos estava entre 1,0-2,5 mg/l, però no especifica la imidazolina ni l'espècie sobre les quals es va dur a terme l'estudi. Schoeberl i altres (1988) estableixen un interval de $CL_{50}96h$ per a varies imidazolines quaternàries de 1,5-40 mg/l per varies espècies de peixos.

En l'estudi de toxicitat aguda s'han utilitzat espècies aquàtiques de diferents nivells tròfics (bacteris, microalgues, microcrustacis i peixos) dels quals s'han avaluat diferent tipus de resposta (emissió de llum, inhibició del creixement, mobilitat i letalitat). La utilització de varies espècies pot proporcionar una informació més global sobre els efectes de diferents agents contaminants sobre un ecosistema (Frithsen i altres, 1989; Cairns i altres, 1990; Dorn i altres, 1993; Keller, 1993; Pratt i altres, 1994; Cooney, 1995; Osbild i altres, 1995; Rand i altres, 1995; Tisler i Zagorc-Koncan, 1995; Ahtiainen i altres, 1996; Akolkar i Trivedi, 1996; Rodgers i altres, 1996; Servos i altres, 1996; Verta i altres, 1996; Leal i altres, 1997; Sherry i altres, 1997; Sweet i Meier, 1997; Sweet i altres, 1997; Versteeg i altres, 1997; Fisher i altres, 1998; Sandbacka i altres, 2000).

Els estudis sobre la sensibilitat a diferents tensioactius que s'han dut a terme amb diverses espècies per tal de establir diferències entre elles, mostren resultats molt heterogenis que no permeten extreure'n cap conclusió.

Mentre que hi ha autors que estableixen les microalgues com els organismes més sensibles als tensioactius (Lewis, 1990), d'altres diuen que són les dàfnies i/o els peixos. Així, Lewis i Hamm (1986), al comparar la toxicitat d'un tensioactiu no iònic en 3 espècies de microalgues va trobar valors de $CE_{50}96h$ entre 0,09 i 0,6 mg/l, mentre que Maki, (1979) va trobar que el valor de NOEC (concentració en la qual no s'observen efectes) per un peix (*Pimephales promelas*) i un crustaci (*Daphnia magna*) eren de 0,18 i 0,24 mg/l respectivament.

Altres autors han establert *Daphnia magna* com una de les espècies d'invertebrats més sensibles en assaigs de toxicitat aguda (Woltering i altres 1987; Boethling i altres 1994; Versteeg, i altres, 1997). No obstant això, es disposen de dades contradictòries al comparar la sensibilitat de *Daphnia* i de teleostis; Kappeler (1982) va trobar que *Daphnia magna* ($CE_{50}24h = 0,16-1,06$ mg/l) era més sensible que *Lepomis macrochirus* ($CE_{50}24h = 0,62-2,17$ mg/l) per el DSDMAC, mentre que Gilbert i Pettigrew (1984) van trobar que per varis tensioactius aniònics era la truita irisada *Oncorhynchus mykiss* la més sensible. Dorn i altres (1993) van trobar que els peixos (*Pimephales promelas*) eren més sensibles als tensioactius aniònics que *Daphnia* i *Photobacterium*. Mark i Solbe (1998) també van trobar contradiccions al comparar la sensibilitat de la dàfnia amb la de peixos utilitzant altres tipus de contaminants; mentre que per alguns pesticides els peixos eren més sensibles que les dàfnies, aquestes últimes ho eren més que els peixos per als metalls pesants i algun tensioactiu catiònic.

Demkowicz-Dobrzanski i altres (1993), al comparar la toxicitat de varis hidrocarburs clorats, també van observar que *Daphnia magna* presentava uns valors més baixos que *Chlorella*, suggerint que la seva utilització donaria una resposta més sensible. Rodgers i altres (1996), comparen la toxicitat d'efluents en *Daphnia*, *Oncorhynchus* i *Photobacterium* i observen que *Daphnia* és més sensible que *Oncorhynchus*, però que els resultats de *Daphnia* i *Photobacterium* no estan correlacionats i per tant, no es podrà utilitzar qualsevol espècie indiferentment.

Els resultats obtinguts en el present estudi mostren que la sensibilitat de cada espècie varia segons el suavitzant (FIGURES 30 i 31). Així *Daphnia* és menys sensible als suavitzants emulsionats que *Oncorhynchus*, però davant els suavitzants microemulsionats la seva sensibilitat és similar. Tanmateix, s'observa que *Daphnia* és més sensible als suavitzants emulsionats que les tres espècies de microalgues, (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* i *Selenastrum capricornutum*); mentre que davant els suavitzants microemulsionats, les seves sensibilitats són del mateix ordre.

Entre les tres espècies de microalgues també s'observa que hi ha diferències en el seu grau de sensibilitat, sent *Chlorella* l'espècie més sensible, tant per a les emulsions com per a les microemulsions, mentre que *Scenedesmus* i *Selenastrum* presenten una sensibilitat similar per les emulsions, però per a les microemulsions la sensibilitat de *Scenedesmus* és més gran. Les diferències de sensibilitat observades entre diferents espècies de microalgues pels diferents compostos d'amoni quaternari, podrien ser degudes a l'especificitat de la composició de la paret cel·lular (Ukeles, 1965; Röderer, 1987; Nyberg, 1988).

Recordant el que ja s'ha indicat en l'apartat de la introducció, les propietats fisico-químiques dels compostos tensioactius tenen una influència decisiva sobre la seva activitat biològica. Una de les més significatives és la seva capacitat de formar agregacions o micel·les en solucions aquoses (Singer i altres, 1995). I així, l'efecte destructiu dels tensioactius sobre les membranes cel·lulars dependrà en gran mesura de la seva concentració micel·lar crítica (CMC) (Helenius i Simons, 1975).

El procés destructiu en les membranes cel·lulars, la seva solubilització, té lloc a concentracions superiors a la concentració micel·lar crítica (Arnold i Johnson, 1982; Willumse i altres, 1998). Per sota de la CMC, els efectes dels tensioactius sobre les cèl·lules són provocats principalment per la capacitat d'aquests d'unir-se a les proteïnes i als lípids de les membranes, alterant-ne les seves funcions (Helenius i Simons, 1975; Singer i altres, 1995). La part polar dels amoni quaternari s'uniria a la càrrega negativa del fòsfor dels fosfolípids, mentre que la part no polar de la molècula penetraria en la part hidrofòbica interna de la membrana cel·lular. Willumsen i altres (1998) van trobar que per sobre la CMC els tensioactius causaven la permeabilització de la paret cel·lular, i que la toxicitat era deguda a les interaccions micel·les-membrana cel·lular.

Com s'ha esmentat abans la part polar dels tensioactius interacciona amb els fosfolípids de les membranes i la cadena alquílica amb la zona hidrofòbica. La hidrofobicitat d'una molècula de tensioactiu incrementa en augmentar la longitud de la seva cadena alquílica, però la seva activitat tòxica disminueix. Nyberg (1988) va observar que els tensioactius amb cadenes hidrocarbonades llargues, i especialment aquelles amb anells aromàtics i ramificacions, tenien més dificultat en travessar la paret cel·lular de les microalgues. No obstant això, alguns autors troben que per a tensioactius no iònics, la longitud de les cadenes alquíliques i el nombre de d'òxid d'etilè que presenten, fa augmentar la toxicitat d'aquests (Delmaza i Parra, 1996; Wong i altres, 1997b).

Hi ha varis factors que poden intervenir en la interacció amb una membrana cel·lular: la distribució de lípids en la membrana, el tipus de lípid i estat físic d'aquests, el tipus de proteïna, les interaccions electrostàtiques i hidrofòbiques entre lípids i proteïnes, la presència de glicocàlix (carbohidrats) (Helenius i Simons, 1975). Isomaa i altres (1979), al estudiar les

interaccions entre el CTAB, un tensioactiu catiònic, amb les membranes cel·lulars, van postular que els enllaços entre el tensioactiu i els grups carregats negativament de les glicoproteïnes no eren deguts a interaccions electrostàtiques, sinó que més aviat era degut a forces hidrofòbiques, i que les proteïnes de membrana no jugaven un paper important en el procés lític cel·lular.

D'altra banda, Röderer (1987) va atribuir a diferències en l'estructura química dels tensioactius el fet que alguns desnaturalitzaven les membranes cel·lulars i d'altres proteïnes mentre que altres preservaven l'estructura molecular i l'activitat enzimàtica. Aquests autors van utilitzar dos tensioactius, un aniònic i l'altre catiònic, amb la mateixa cadena alquílica, diferenciant-se únicament per el seu grup polar, i va observar que no tenien el mateix efecte tòxic sobre el fitoflagelat *Poterochromonas malhamensis*; aquest fet va recolzar la teoria que no solament intervenen interaccions hidrofòbiques degudes a les cadenes alquíliques, sinó també interaccions iòniques degudes als grups polars.

Prat i Giraud (1964) creien que la tensió superficial que exercien els tensioactius sobre les membranes cel·lulars solament provocaven efectes físics sobre aquestes, però no van tenir en compte les alteracions que provocaven sobre les proteïnes i els lípids de la membrana. No obstant això, Calamari i Marchetti (1973) van arribar a la conclusió que l'acció física sobre la permeabilitat cel·lular era menys important que l'acció química que aquests compostos exercien, directe o indirectament, en la cèl·lula.

Varis autors (Argese i altres, 1994; Oakes i Pollak, 1999) han trobat que els tensioactius interfereixen en la respiració mitocondrial, a nivell de la transferència d'electrons inversa, la qual està induïda per l'ATP i el succinat en el primer nivell de la cadena respiratòria, reduint el NAD a NADH.

Segons Kralova i Sersen (1994) el tensioactiu incorporat a la part lipídica de la membrana cel·lular crea un cert volum lliure sota les seves cadenes alquíliques. Suggereixen que els grups polars dels tensioactius interaccionen amb els grups polars lipídics, i les seves cadenes alquíliques s'orienten paral·lelament a les cadenes hidrocarbonades lipídiques. En aquesta localització, la densitat d'empaquetament de les regions hidrofòbiques internes estaran influenciades per l'expansió lateral de la bicapa i per la formació d'un volum lliure a les proximitats dels extrems de les cadenes amfifíliques (Balgav_ i Devínsky, 1996). El volum lliure resultant pot ser ocupat per cadenes de lípids veïns, provocant l'alteració de la membrana. L'abast d'aquesta alteració dependrà de la mida del volum lliure creat, del nombre de molècules de tensioactiu que hi hagi a la membrana i del coeficient de partició de la fase aquosa-bicapa dels tensioactius ja que aquest augmenta en augmentar la longitud de la cadena amfifílica. Quan les cadenes hidrocarbonades dels amfifílics siguin curtes, el volum lliure serà gran, però el coeficient de partició serà petit (és a dir, hi haurà poc tensioactiu que penetri

dintre de la membrana cel·lular) i farà que el volum lliure total en la membrana sigui petit; quan la longitud de la cadena sigui comparable a la dels lípids, el coeficient de partició augmentarà (és a dir, el tensioactiu penetrarà dins la membrana, no havent-hi dues fases) però el volum lliure total disminuirà a zero. L'alteració més gran en la membrana es produirà amb tensioactius amb longitud de cadenes alquíliques mitjanes, assegurant un volum lliure suficientment gran, així com una concentració de tensioactiu suficientment alta en la membrana (Balgav_ i Devínsky, 1996). Knocke i altres (1992) també van trobar que els tensioactius amb cadenes alquíliques de longitud mitjana eren més tòxics que aquells que presentaven cadenes curtes o més llargues.

Els compostos d'amoni quaternari tenen un efecte inhibidor enzimàtic, a concentracions al voltant de 0,001-10 mg/l (Röderer, 1987; Nyberg, 1988). En algues, la mort cel·lular sembla deguda a la destrucció dels cloroplasts; les concentracions subletals s'ha observat que afecten la mida, la forma i l'organització interna de la cèl·lula i dels cloroplasts (Walker i Evans, 1978). Kralova i Sersen (1994) i Parshykova i altres (1994) van observar que l'efecte inhibidor provocat pels amoni quaternaris sobre les algues està relacionat amb la inhibició de la fotosíntesi en els cloroplasts, interrompent el flux d'electrons des del Fotosistema II (PFII) al Fotosistema I (PFI). Lipitskaya i Parshykova (1992; 1993) van establir que la interrupció del flux d'electrons es devia a l'efecte dels tensioactius sobre la força d'enllaç dels complexos clorofil·la-proteïna, situats en els tilacoïdes del cloroplast; un d'aquests complexos és el P700-clorofil·la a-proteïna relacionat amb el Fotosistema I (Barceló i altres, 1983). Rieß i Grimme (1993) estudiant els efectes tòxics d'un tensioactiu catiònic i un no iònic en *Chlorella fusca* també van suggerir una interacció amb la funció fotosintètica de la cèl·lula, principalment amb la respiració la qual es veu afectada des del començament del tractament; i van observar que el tensioactiu catiònic interferia en la reproducció. Chawla i altres (1986) i Kakkar i altres (1989) utilitzant tensioactius aniònics també atribueixen els efectes inhibidors d'aquests en *Scenedesmus quadricauda* a la seva interferència amb l'activitat fotosintètica i la síntesi de clorofil·la i a l'alteració de l'estructura del cloroplast.

El bacteri *Photobacterium phosphoreum* emet llum com a mecanisme d'alliberament d'energia en el curs del seu metabolisme normal. Quan aquests microorganismes estan sotmesos a un compost tòxic, l'emissió de llum disminueix de forma proporcional a la toxicitat de la mostra. La inhibició de la luminiscència pot ser deguda a la interacció del compost amb el mecanisme de bioluminiscència o amb qualsevol altra funció metabòlica de la cèl·lula que provoqui la seva mort. (Ribó, 1992).

En peixos, els resultats obtinguts de toxicitat aguda de les emulsions i les microemulsions no difereixen gaire, fet que suggereix que la mortalitat podria ser deguda a un efecte directe sobre les membranes cel·lulars de l'epiteli branquial, en contacte amb l'exterior, més que a un efecte d'enverinament intern causat per l'absorció en el tracte digestiu (Hennes-Morgan i de Oude,

1994). Com ja s'ha dit abans, els tensioactius catiónics tenen afinitat per les superfícies carregades negativament, i el primer òrgan amb el qual entren en contacte són les brànquies. Això també vindria confirmat pels resultats obtinguts i indicats en l'altre apartat d'aquest treball que fa referència a les alteracions histopatològiques en brànquia i fetge.

S'ha establert que la causa immediata de la mort del peix en un enverinament agut per tensioactius, és l'asfíxia o la pèrdua d'estabilitat osmòtica o iònica de l'epiteli branquial, i no pas altres lesions internes que s'hagin pogut produir en les brànquies (Abel, 1974). Skidmore (1970), en un estudi de toxicitat aguda per exposició a Zn en truites, també va establir que la causa de la mort era l'asfíxia i la pèrdua d'equilibri en la osmoregulació. En estudis de toxicitat aguda amb anguiles exposades a tensioactius no iònics s'ha observat, a nivell histològic, una desorganització i destrucció de l'epiteli branquial (Miossec i Bocquene, 1984). Wester i Roghair (1992), fent l'examen histopatològic després d'una exposició subletal a DTDMAC, van observar que les brànquies estaven alterades, presentant hiperplàsia de l'epiteli, incloent-hi les cèl·lules de clorur.

A concentracions elevades, com és el cas dels assaigs de toxicitat aguda, els tensioactius es presenten en forma de micel les ja que estan per sobre de la CMC, i tenen la propietat de desorganitzar les membranes cel·lulars de les cèl·lules epitelials branquials (Abel, 1974).

Agents microemulsionants:

La fabricació de suavitzants microemulsionats és un gran avanç per a la indústria tèxtil pel fet d'obtenir micropartícules de suavitzants (aproximadament 10 nm), cosa que els fa ser més eficaços en el moment de la seva utilització en els processos de tractament de teixits. També presenten característiques físico-químiques que els fa termodinàmicament més estables (Carrión, 1994).

En totes les espècies estudiades els resultats de toxicitat ens han donat que els suavitzants microemulsionats són significativament més tòxics que els emulsionats.

Per a conèixer la causa d'aquesta toxicitat es va realitzar un assaig de control de la barreja dels agents microemulsionants en les mateixes concentracions que les usades en els assaigs de toxicitat aguda però sense incorporar el suavitzant, utilitzant varies de les espècies provades en aquest estudi. En tots els casos ens va sortir que la toxicitat de la barreja dels agents microemulsionants era inferior que la dels cinc suavitzants microemulsionats.

Aquest resultat ens fa descartar que sigui la presència d'aquests agents microemulsionants els causants de la major toxicitat dels suavitzants microemulsionats.

Tanmateix, la utilització de microemulsions està molt estesa dins la indústria farmacèutica i

cosmètica, ja que aquestes afavoreixen una ràpida absorció de medicaments i altres compostos (Carlfors i altres, 1991; Osborne i altres, 1991; Lattes i Ricolattes, 1994; Keown, 1997; Voncorswant i Soderman, 1998; Nakamura i altres, 1999; Tenjarla, 1999; Voncorswant i Thoren, 1999) gràcies a les seves propietats fisico-químiques (termodinàmicament estables, baixa toxicitat).

Aixó també està corroborat pel fet que en la indústria farmacèutica utilitzin microemulsions com a sistemes de transport de medicaments per a la seva administració (Carlfors i altres, 1991; Osborne i altres, 1991; Lattes i Ricolattes, 1994; Keown, 1997; Voncorswant i Soderman, 1998; Nakamura i altres, 1999; Tenjarla, 1999; Voncorswant i Thoren, 1999).

Així doncs, la major toxicitat de les microemulsions podria estar relacionada amb una mida de partícula més petita i per tant els suavitzants tinguin més possibilitats d'unir-se a les membranes cel·lulars i danyar-les. Això també ho va suggerir Willumsen i altres (1998), els quals van relacionar la mida de les micelles de les microemulsions amb les lesions en les membranes cel·lulars.

Indicència mediambiental:

Si els valors de CE_{50} , CI_{50} i CL_{50} obtinguts en el present treball els referim a la TAULA VII de la introducció (pag 36) ens permetrà poder classificar als tensioactius, ja que s'ha considerat que si una substància no arriba a ser letal segons el test, a una concentració màxima de 1000 mg/l, no suposarà cap perill per la vida aquàtica a curt termini.

Segons NIOSH (1976), per efectuar aquesta classificació de marges de toxicitat, s'han considerat les dades dels assaigs ($CL_{50}96h$) amb organismes joves i/o adults, normalment dels nivells superiors de la cadena alimentària, tot i que admet que els estadis de larva i ou puguin ser més susceptibles que els organismes assajats.

Els nostres compostos, DSDMAC, DSEMAMS, DSCEEMAMS, DSAEMIMS i DAAIMS, emulsionats i microemulsionats, presenten unes $CL_{50}96h$ per peixos resumits en la següent taula:

TAULA XXVIII: $CL_{50}96h$ obtinguts per *Oncorhynchus mykiss*

	Emulsions	Microemulsions
	CL_{50} (mg/l)	CL_{50} (mg/l)
DSDMAC	2,3	0,95
DSEMAMS	15,9	9,7
DSCEEMAMS	11,3	9,6
DSAEMIMS	13,8	7,4
DAAIMS	13,4	8,2

Si es consideren aquests valors, i en base a la classificació presentada per NIOSH, els suavitzants emulsionats es poden considerar com lleugerament tòxics excepte DSDMAC que seria moderadament tòxic, i els microemulsionats moderadament tòxics excepte DSDMAC que seria altament tòxic.

També, si tinguéssim en compte els valors trobats de CE_0 , CI_0 i CL_0 , és a dir, les concentracions que en un temps concret no produeixen cap mortalitat i al mateix temps li apliquem un factor de seguretat, possiblement estaríem en millors condicions de poder fer la predicció del que fora més convenient pel medi aquàtic receptor.

El coneixement o aproximació del valor NOEC (concentració de suavitzant que no produeix cap efecte tòxic observable) i/o del valor MATC (màxima concentració admissible de tòxic) també seria una altra manera de saber com controlar les condicions en que s'hauria de realitzar un abocament per tal d'evitar un possible efecte crònic en els organismes. El valor NOEC és equiparable a la CE_0 en un temps concret.

TAULA XXIX: CE_0 calculada a per *Oncorhynchus mykiss*

	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	
	Emulsió CE_0	Microemulsió CE_0
DSDMAC	0,68	0,55
DSEMAMS	11,6	5,5
DSCEEMAMS	9,2	5,9
DSAEMIMS	9,2	6,6
DAAIMS	11,6	5,8

La relació d'aquests paràmetres i la CE_{50} ens donaria un factor d'aplicació AF, que és un nombre que pot ser del 0,05 a 1, i ens indicaria com afectaria el tòxic en les espècies considerades.

$$AF = \frac{MATC}{CL_{50}} = \frac{NOEC/LOEC}{CL_{50}} \quad 0,05 - 1$$

Si ens fixem en els valors de CE_0 i CE_{50} assolits per a peixos (*O. mykiss*) (TAULA XXVIII i TAULA XXIX) podem obtenir per als nostres suavitzants factors d'aplicació que van des de 0,29 a 0,9. És a dir, que el AF indica la proximitat entre el nivell de concentració que no produeix cap efecte en un temps concret i el nivell de concentració que causa mortalitat o letalitat a la meitat de la població.

L'interès d'aquesta consideració està en que ens permetria d'evitar en alguns casos algun efecte tòxic a llarg termini, i d'evitar-nos de realitzar assaigs crònics de toxicitat degut a l'elevat cost dels mateixos.

La utilització d'aquest factor, segons alguns autors (Vives-Rego, 1997) resulta molt útil i apropiat per a prediccions dels possibles efectes tòxics en humans, per tant seria considerat com un factor de seguretat mediambiental.

Per tant, mantenir els nivells de suavitzants en valors de l'ordre de 10 a 100 vegades menys dels nivells indicats ens permetrà assegurar que no incidiran en el medi aquàtic de forma important, o bé que la seva presència tindrà una baixa o nul la incidència.

Des del punt de vista pràctic, sabem que el comportament dels tensioactius catiònics pot ser variat en funció del seu destí final. El suavitzant de la roba a les rentadores patirà un comportament d'adsorció del seu component catiònic sobre les fibres tèxtils, i en relació al comportament en el medi, es produirà una desactivació al formar sals neutres amb els tensioactius aniònics (podent reduir la seva toxicitat unes 100 vegades) (Berenbold, 1990; Waters i altres, 2000).

En el cas de que el suavitzant catiònic arribi a la depuradora biològica, es produirà una adsorció de les sals neutres en els fangs biològics podent-se donar una eliminació superior al 95 %, una descomposició primària entre 80-94 % i una descomposició total en laboratori del 80-100 % i en depuradora del 30-60 %, tal com s'indica a la TAULA XXX.

TAULA XXX: Comportament dels suavitzants (Berenbold, 1990).

On va el suavitzant	Comportament del component catiònic	Comportament en medi ambient del component catiònic
Esbandit de la roba a les rentadores	Adsorció sobre les fibres tèxtils; amorosiment dels teixits	Desactivació dels tensioactius catiònics per la formació de sals neutres amb els tensioactius aniònics. La toxicitat es redueix 100 vegades
Depuració de les aigües de rentat en les depuradores biològiques	Adsorció de les sals neutres en els fangs biològics de la depuradora	Depuradora: - Eliminació > 95 % de l'aigua - Descomposició primària 80-94% - Descomposició total: Laboratori: 80-100 % Depuradora: 30-60 %
	- Descomposició - Adsorció Fangs Incineració o camps de cultiu	Camps de cultiu: - Quantitats 10-20 mg/l - no acumulació - no perjudica a la germinació o al creixement de les plantes - no influeix sobre la permeabilitat del sòl

Càlculs realitzats en diferents països relacionant la concentració mitjana de suavitzant que s'utilitza per rentat, el nombre d'habitants i el consum d'aigua per persona, dona que la concentració de suavitzant en aigües residuals és de 4,5 – 5 mg/l (Kappeler, 1982; Huber, 1982; 1984; Berenbold, 1990; Waters i altres, 2000). En base a que en les plantes depuradores d'aigües residuals s'arriben a eliminar més del 90 % (Kreminski i altres, 1973; Gerike, 1982; Sullivan, 1983; Janosz-Rajczyk, 1992; Versteeg i altres, 1992; Giolando i altres, 1995; Pérez i altres, 1996) i que existeixen uns factors mitjos de dispersió en rius de 10, la concentració de tensioactius catiònics en aigües superficials assolirien valors de 0,005 a 0,045 mg/l.

Aquests valors estan molt per sota de les concentracions efectives que no produeixen cap efecte (CE_0) i les que ocasionen efectes (CE_{50}) trobades per les diferents espècies utilitzades en aquest estudi (TAULA XXVIII I TAULA XXIX), però si considerem els marges trobats derivats dels assaigs realitzats i apliquem el factor de seguretat comprès entre 10 – 100 vegades, podríem dir que ens hi acostem bastant més, i finalment, si també tenim en compte els factors mitjos de dispersió en rius (aproximadament de 10), la concentració que es pot assolir en aigües superficials o en abocament seria del mateix ordre que l'indicat per altres autors; és a dir, 0,0068 – 0,0116 mg/l per emulsions, i 0,0055 – 0,058 mg/l per a microemulsions.

També s'ha de tenir en compte que tot i que la concentració de tensioactius catiònics en aigües residuals és baixa, aquests, a més a més, no es troben sols; conjuntament amb els suavitzants també s'utilitzen detergents de tipus aniònic, amb els quals formen sals neutres que no són tòxiques.

Evidentment, diversos factors poden afectar la toxicitat. L'ecotoxicitat es pot considerar com el resultat d'una triple interacció entre el tòxic, l'organisme i l'ecotop. Precisament donat que les condicions ambientals (ecotop) són variables en l'espai i a lo llarg de les estacions de l'any, l'ecotoxicitat final d'un abocament varia en funció dels canvis ambientals. Els factors ambientals (abiòtics) de major transcendència són la temperatura, l'oxigen, el pH, les sals dissoltes i els sòlids en suspensió.

En els abocaments controlats queda minimitzada l'acció que els factors abiòtics poden exercir en els tòxics potencials.

Tot això ens fa pensar que, tot i que són un perill potencial, els suavitzants catiònics no constitueixen un perill real en unes condicions d'abocament adequades.

L'eliminació dels tensioactius diferirà segons estiguin presents en aigües residuals urbanes o industrials, encara que en alguns països de la UE, com per exemple Itàlia, se solen barrejar els efluents urbans i tèxtils.

El tractament de les aigües residuals urbanes o industrials té, evidentment, un cost important. El cost de l'aigua a l'indústria tèxtil és molt variable. Segons indica Crespi (1999) el cost total per a una indústria de tints i acabats a Catalunya pot oscil·lar entre 130 i 300 pts/m³. En el cost de la depuració dels efluents del sector indicat influïrien fonamentalment tres factors: el tipus de tractament (físicoquímic o biològic), els costos financers d'amortització de la planta, i l'evacuació dels fangs a un abocador controlat, compostatge, assecat, etc.

Si es té en compte que en algunes fàbriques el consum diari d'aigua és de més de 500 m³/dia, el preu del tractament de l'aigua del procés és clarament elevat.

Les tendències per a un futur immediat en relació a l'abocament d'efluents tèxtils és que l'aplicació de les noves directives comunitàries i la conscienciació de la societat en temes ambientals fan preveure l'aplicació de límits d'abocament cada vegada més estrictes en relació a diversos tipus de contaminants, com poden ser AOX, DQO, tensioactius, pesticides, etc.

Tot i el baix perill que sens dubte suposa l'abocament dels tensioactius pel medi ambient, si es tenen en compte les premisses indicades, no s'ha de menysprear els elevats costos que suposa el tractament de les aigües de cara a l'eliminació dels contaminants i la seva posterior reutilització per tal de col·laborar al manteniment de l'equilibri mediambiental.