Bol. Invest. Mar. Cost.	44 (2)	281-290	ISSN 0122-9761	Santa Marta, Colombia, 2015

DISMINUCIÓN DEL CONTENIDO DE COBRE EN PINTURAS "ANTIFOULING" DE MATRIZ SOLUBLE, USO DEL EUGENOL COMO ADITIVO

Miriam Pérez[1, 2], Mónica García[1], Mirta Stupak[1] y Guillermo Blustein[1, 3]

1 *Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT), Av. 52 e/ 121 y 122 (1900) La Plata, Argentina.*
2 *Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Av. 60 y 122 (1900) La Plata, Argentina*
3 *Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Av. 60 y 119 (1900) La Plata, Argentina. antifouling@cidepint.gov.ar*

RESUMEN

El "biofouling" lleva al deterioro de cualquier material sumergido. El método más difundido para su control es la aplicación de pinturas "antifouling" con óxido cuproso de reconocida toxicidad. Por ello se buscan productos de origen natural que puedan combinarse con cantidades reducidas de cobre disminuyendo su aporte al medio ambiente. El objetivo de este trabajo es reducir el contenido de cobre en las pinturas "antifouling" empleando al eugenol como aditivo. Se prepararon tres pinturas "antifouling", una conteniendo 16% v/v de cobre, otra con 1.6% de cobre y una tercera con 1.6% de cobre + 2% de eugenol. Luego de 12 meses de inmersión en el puerto de Mar del Plata las pinturas con cobre+eugenol y la de cobre 16% fueron las más efectivas. Si bien estas pinturas presentan una "performance" equivalente, la formulación que combina cobre+eugenol contiene 90% menos cobre que una pintura tradicional, lo cual satisface el objetivo propuesto.

PALABRAS CLAVES: Pinturas "antifouling", Eugenol, Cobre, Actividad "antifouling", "Booster biocide".

ABSTRACT

Diminution of the copper concentration in antifouling paints of soluble matrix, eugenol use as additive. Biofouling leads to deterioration of any submerged material. The most widespread method for control is the application of cuprous oxide antifouling paints which are toxic. For this reason non-toxic natural products could be combined with small amounts of copper to diminish the contribution to the environment. The aim of this work was to reduce the amount of copper in antifouling paints employing eugenol as an additive. Three antifouling paints were prepared, one containing 16% v/v copper, another with 1.6% copper and a third with 1.6% copper + 2% eugenol. After 12 months of immersion in Mar del Plata harbour paints containing 1.6% copper + eugenol and 16% copper were the most effective. Although these formulations shown a similar performance, copper+eugenol based paint contains 90% less copper than a traditional copper based formulation. Therefore, the objective of this work was reached.

KEY WORDS: Antifouling paints, Eugenol, Copper, Antifouling activity, Booster biocide.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de pinturas "antifouling" es el método más empleado para controlar el "biofouling" marino. Estas pinturas contienen sustancias tóxicas tales como tributilo de estaño (TBT) y óxido cuproso que son altamente contaminantes del agua, los sedimentos y la biota. Si bien el uso del TBT ha sido prohibido debido al daño que ocasiona en el ecosistema marino (Chambers *et al*., 2006), no ha sucedido lo mismo con el óxido cuproso. En este contexto se buscan productos de origen natural y de disponibilidad suficiente que permitan reducir el contenido de cobre de las formulaciones y de este modo disminuir su aporte al medio ambiente.

Los aceites esenciales extraídos de plantas tienen aplicaciones en la medicina étnica y preservación de alimentos así como en la industria cosmética y farmacéutica (Pascual *et al*., 2001; Burt, 2004; Edris, 2007; Kamatou *et al*., 2012). Si bien estos compuestos son de origen natural, muchos de ellos se obtienen por síntesis en laboratorio lo que representa una ventaja desde el punto de vista de su disponibilidad en el mercado. En este sentido se eligió al eugenol a fin de evaluar su actividad "antifouling" en laboratorio y en el mar. Este compuesto se extrae de ciertos aceites esenciales, especialmente del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), la nuez moscada (*Myristica argentea*) y la canela (*Cinnamomum verum*) (Mallavarapu *et al*., 1995; Bhuiyan *et al*., 2010) (Figura 1). Es un líquido oleoso de color amarillo pálido poco soluble en agua y soluble en solventes orgánicos. Es usado como saborizante, antiséptico, anestésico local en odontología, agente antimicrobiano y en perfumería (Kamatou *et al*., 2012). Otras ventajas que presenta el eugenol son su alta disponibilidad y bajo costo. Es importante destacar que el eugenol puede ser degradado en el medioambiente mediante fotólisis y biodegradación (Tadasa, 1977; Rabenhorst, 1996; Isman, 2000; Overhage *et al*., 2002; Amat *et al*., 2005; Kadakol y Kamanavalli, 2010).

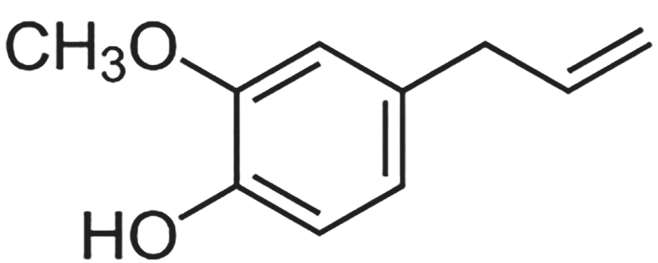

Figura 1. Estructura del eugenol.

En estudios previos, se obtuvieron buenos resultados con pinturas "antifouling" con base en pigmentos con bajo contenido de cobre. El pigmento propuesto para disminuir el contenido de cobre de las formulaciones fue tiocianato cuproso, preparado y caracterizado en laboratorio, y cuyo poder "antifouling" fue estudiado en solución e incluido en una pintura. Asimismo, se estudió el comportamiento de pigmentos elaborados con una estructura "core-shell", es decir, formados por un núcleo inerte inorgánico recubierto por una delgada capa de tiocianato cuproso y del tanato cúprico, producto obtenido por síntesis en laboratorio en el que se combina un producto de origen natural con pequeñas cantidades de cobre (Vetere *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 2003, 2006).

La hipótesis que se plantea es que, dada la naturaleza antimicrobiana del eugenol, podría actuar como inhibidor del proceso inicial de asentamiento del "biofouling" marino, es decir, la fijación del "microfouling" y, consecuentemente, evitar la fijación posterior del "macrofouling". Los objetivos de este trabajo son por un lado evaluar la potencial actividad "antifouling" del eugenol en el laboratorio y por otro reducir el contenido de cobre en las pinturas "antifouling" usándolo como aditivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bioensayos

Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Incrustaciones Biológicas del CIDEPINT utilizando larvas nauplii y cypris de *Balanus amphitrite*, organismo cosmopolita provisto de un exoesqueleto calcáreo y considerado entre los más perjudiciales de la comunidad incrustante. Se realizaron tests de toxicidad exponiendo 30 nauplii II de *B. amphitrite* a las siguientes concentraciones: 0.015, 0.03, 0.06, 0.15 y 1.15µM, durante 24 horas. Los parámetros estudiados para evaluar el efecto de los compuestos fueron los movimientos de natación y el fototactismo determinándose la concentración letal para el 50% de la población (LC_{50}) (Dahms y Hellio, 2009).

Por otra parte se realizaron bioensayos de asentamiento utilizando 20 larvas cypris que fueron mantenidas a 6°C durante cuatro días previos al ensayo (Rittschof *et al*., 1992). Las cypris fueron expuestas a las mismas concentraciones usadas para las nauplii y se determinó la concentración efectiva para inhibir el asentamiento del 50% de la población (EC_{50}). Las larvas no nadadoras, con apéndices extendidos o con sus valvas cerradas fueron consideradas como inactivas (Dahms y Hellio, 2009). La observación se realizó bajo estereomicroscopio y se registraron los porcentajes de larvas nadadoras, inactivas y fijadas; los valores de LC_{50} y EC_{50} fueron determinados gráficamente.

Asimismo, se estimó el índice terapéutico (TR), calculado como LC_{50}/EC_{50} que es una forma de expresar la eficacia de un compuesto en relación con su toxicidad. Se calcula para determinar si la inhibición del asentamiento es debida a la acción tóxica o mediante un mecanismo no tóxico (Vitalina *et al*, 1991; Rittschof *et al.*, 1994). Desde la perspectiva del potencial para uso en una pintura "antifouling", el TR deseado debe ser mayor que 1.0 (Rittschof *et al*., 2003).

En todos los casos para completar los estudios se llevaron a cabo pruebas de recuperación trasladando los organismos a agua limpia. Las experiencias se realizaron a 22 ± 2°C, por triplicado y con sus respectivos controles.

Ensayos con pinturas en el mar

Se prepararon tres pinturas "antifouling", una conteniendo 16% v/v de cobre (PCI, control positivo), otra con 1.6% de cobre (PCII) y una tercera con 1.6% de cobre + 2% de eugenol (PCIII) (Tabla 1). El óxido cuproso fue donado por Revesta SRL y el eugenol fue provisto por Sigma-Aldrich Argentina. El vehículo de la pintura (resina + solvente) se preparó en una dispersora de alta velocidad agregando lentamente la resina colofonia a la mezcla de solventes. Luego, las pinturas se prepararon en un molino de bolas de 1 L de capacidad dispersando los pigmentos y los demás componentes en el vehículo durante 24 horas. Las pinturas fueron aplicadas con pincel hasta un espesor final de película seca de 100 ± 5 µm, sobre paneles de acrílico (8 x 12 cm) previamente arenados y desengrasados con tolueno. Los paneles pintados y los controles sin pintura se colocaron sobre bastidores de aluminio y se expusieron en el Club de Motonáutica del puerto de Mar del Plata (38º 08'S- 57º31'W) a 50 cm por debajo de la superficie del agua.

Tabla 1. Composición de las pinturas expresadas en porcentaje en volumen. PCI: 16% Cu; PCII: 1.6% Cu; PCIII: 1.6% Cu+ 2% eugenol.

Componentes	PCI	PCII	PCIII
Óxido cuproso	16.0	1.6	1.6
Tiza	11.0	25.4	23.4
Eugenol	----	----	2,0
Colofonia	27.0	27.0	27.0
Ácido oleico	6.0	6.0	6.0
Solvente: xileno/aguarrás mineral (4:1)	40.0	40.0	40.0

Luego de 12 meses de inmersión los paneles se retiraron y se evaluó la actividad "antifouling" de las pinturas por medio de la estimación de los porcentajes de cobertura para cada especie de micro y "macrofouling" por observación bajo

lupa binocular y microscopio óptico. La estimación de la fijación de organismos sobre paneles expuestos con o sin formulaciones de pinturas en el mar se evaluó por medio de una grilla donde se eligieron 25 puntos al azar (generados por un software) y se registró la abundancia para cada especie del micro y del "macrofouling". Para estimar el "microfouling" se tomaron tres muestras de cada celda y se observaron bajo microscopio óptico. Las experiencias se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Se aplicaron tests estadísticos evaluándose los resultados con ANOVA y test de contraste Tukey con un intervalo de confianza de 95%. Previamente, se aplicó el test de Shapiro-Wilks para contrastar la normalidad de los datos y la prueba de Levene para verificar la homogeneidad de varianzas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayos

Los ensayos de toxicidad realizados con nauplii de *B. amphitrite* en el laboratorio demostraron un marcado efecto inhibitorio del eugenol con un LC_{50} de 0.094 μM para las 24 horas de exposición (Figura 2). Todos los organismos expuestos a las distintas concentraciones de eugenol recuperaron su actividad normal cuando fueron transferidos a agua limpia, por lo que se infiere que el efecto inhibidor es temporal.

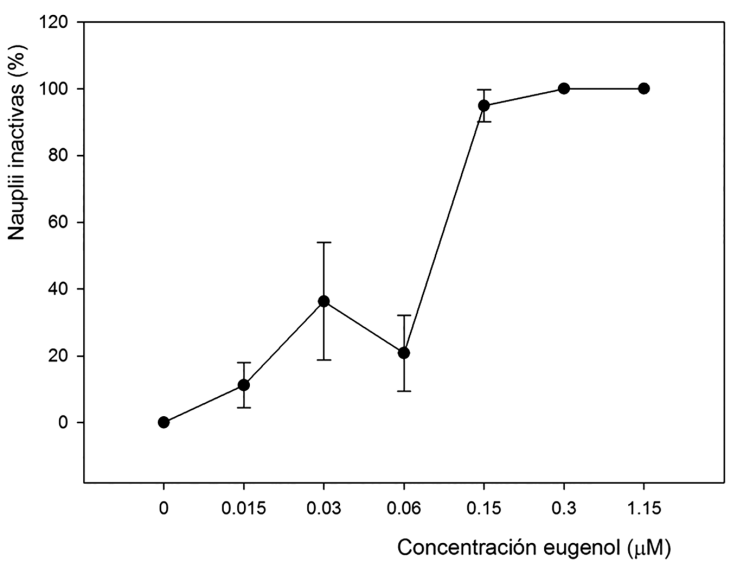

Figura 2. Ensayo de toxicidad de 24 horas para *Balanus amphitrite* en soluciones de eugenol. Barras de error=media ±SE.

En cuanto al ensayo de asentamiento, el test de ANOVA indica que hay diferencias significativas en los porcentajes de fijación de las cypris frente a las distintas concentraciones ensayadas, el eugenol presenta efecto "antifouling" significativo a partir de 0.015 µM ($p< 0.05$). Por otra parte, la concentración inhibitoria para el 50% de la población de cypris (EC_{50}) fue de 0.023 µM (Figura 3).

El eugenol es de particular interés porque muestra una buena actividad inhibitoria del asentamiento a concentraciones que no son tóxicas para las larvas de cirripedios, con un TR = 4.09. Además, el efecto se puede revertir cuando las larvas son traspasadas a agua de mar fresca (sin eugenol), lo que demuestra la potencialidad del compuesto como inhibidor no tóxico de la fijación de organismos incrustantes.

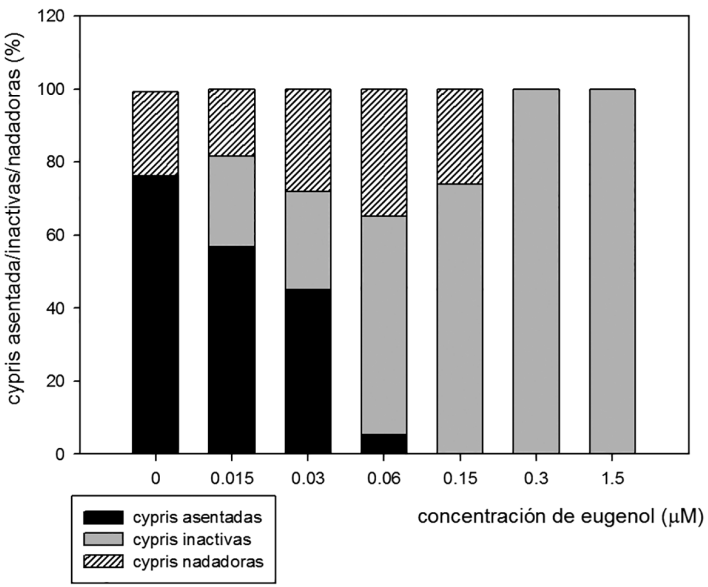

Figura 3. Test de asentamiento de 24 horas para larvas cypris de *Balanus amphitrite* en soluciones de eugenol.

Ensayos con pinturas en el mar

Como puede observarse en la Figura 4 las pinturas con cobre + eugenol (PCIII) fueron las más efectivas dado que presentaron diferencias significativas en la cobertura total respecto a la pintura de cobre 1.6% (PCII) y a los controles de acrílico ($p<0.05$). No se registraron diferencias significativas en los porcentajes de cobertura entre las formulaciones con cobre 1.6%+eugenol (PCIII) y la pintura control con cobre 16% (PCI) ($p>0.05$). Esto es, la efectividad de las pinturas formuladas con 1.6% de cobre + eugenol (PCIII) fue similar a las pinturas que contenían 16% de cobre como pigmento "antifouling" (PCI). Es de destacar que si bien presentan un desempeño equivalente,

la primera tiene un contenido de cobre 90% menor, con lo cual se logra el objetivo propuesto de reducir la cantidad de cobre manteniendo la actividad "antifouling".

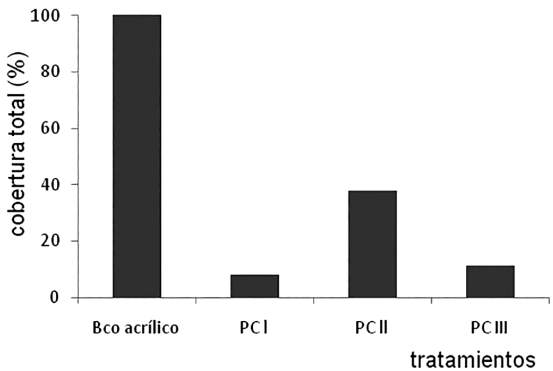

Figura 4. Cobertura porcentual de organismos incrustantes en los diferentes tratamientos. Paneles expuestos en el puerto de Mar del Plata, 12 meses de inmersión. PCI: 16% v/v de cobre; PCII: 1.6% de cobre; PCIII: Cu+eugenol.

La utilización de óxido cuproso en las formulaciones "antifouling" asegura una adecuada solubilidad en agua de mar, alta efectividad y bajo costo (Brooks y Waldock, 2009). Sin embargo, el óxido cuproso no logra inhibir la fijación de todos los organismos. Desde que la Organización Marítima Internacional (OMI) prohibió el uso del TBT en las pinturas "antifouling" (OMI, 2007) se han desarrollado numerosos biocidas alternativos de origen orgánico ("booster biocides") entre los que se encuentran Irgarol 1051, diuron, Sea-Nine, clorotalonil, zinc piritiona, tolilfluanid y diclofluanid para reforzar su acción (Thomas, 2009). Estos productos que aparecieron en los mercados resultaron muy efectivos aunque fueron fuertemente cuestionados por el riesgo ambiental que provocan (Voulvoulis *et al*., 2002; Yebra *et al*., 2004; Chambers *et al*., 2006; Sapozhnikova *et al*., 2013; Tsunemasa y Yamazaki 2014). Diversos estudios llevados a cabo en puertos del mundo confirman que estos compuestos se acumulan en las aguas costeras y los sedimentos a niveles que son dañinos para los organismos marinos (Omae, 2003; Konstantinou y Albanis, 2004; Bellas, 2006; Thomas y Brooks, 2010).

El proceso de cambio hacia la formulación de pinturas "antifouling" libres de cobre demandará un tiempo importante dado que requiere el desarrollo de la formulación, la evaluación del impacto ambiental, la producción a escala industrial y la inclusión en el mercado (Rittschof, 2000; Hellio *et al.*, 2002). En los últimos años una gran variedad de enfoques se han comprometido a sustituir las sustancias tóxicas que contienen las pinturas "antifouling" y una de las alternativas se centra en

la reducción del contenido de cobre mediante la incorporación de aditivos que deben mantener un buen rendimiento "antifouling", bajo costo y baja toxicidad para el medio ambiente. En este contexto la utilización de tiocianato cuproso representa un hallazgo en cuanto a efectividad "antifouling" y posibilidad de posterior coloración dado que es un pigmento blanco. Las pinturas formuladas con este compuesto presentan una reducción de 3.5 veces por unidad de volumen en el contenido de cobre respecto del óxido cuproso, en tanto que los pigmentos "core-shell" diseñados con una delgada capa de tiocianato y un corazón de material inerte, contienen 10 veces menos cobre, es decir la reducción alcanza 35 veces respecto de las pinturas tradicionales (Vetere *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 2003). Asimismo, estudios posteriores combinando productos de origen natural como los taninos con bajos contenidos de cobre demostraron altos rendimientos "antifouling" con una disminución de 40 veces (Pérez *et al*., 2006). Si bien en estos casos la reducción del contenido de cobre es muy importante, el proceso industrial para preparar estos pigmentos "antifouling" implica una importante inversión económica y tiempo para su transferencia a la industria.

Un objetivo es concentrar concentrar los esfuerzos en obtener nuevas formulaciones de pinturas "antifouling" que involucren el uso de materias primas baratas y disponibles en el mercado. En este estudio, la utilización de eugenol combinado con un bajo contenido de cobre resultó tan efectiva como las pinturas tradicionales con base en óxido cuproso presentes en el mercado. La drástica disminución del 90% en volumen en el contenido de cobre ofrece una alternativa viable a la tecnología de pinturas "antifouling" y apunta claramente hacia formulaciones amigables con el medio ambiente.

CONCLUSIONES

Los resultados de laboratorio indican que el eugenol es un potente inhibidor de las larvas nauplii y cypris de *B. amphitrite* a partir de concentraciones tan bajas como 0.015 μM y mediante un mecanismo no tóxico. Es importante remarcar que la eficacia de las pinturas formuladas con 1.6% cobre + 2% eugenol fue similar a las pinturas que contienen 16% de cobre. Sin embargo, el uso de eugenol como aditivo "antifouling" permite reducir el contenido de cobre en el orden de 10 veces en comparación con pinturas tradicionales a base de óxido cuproso (16%). Los resultados sugieren que el eugenol es un aditivo adecuado para reducir la cantidad de cobre en las pinturas "antifouling" y representa una alternativa "amigable con el medio ambiente".

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA), al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas

y Técnicas (CONICET) y a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) por el aporte económico. Un agradecimiento muy especial al personal del Club de Motonáutica de Mar del Plata por cedernos gentilmente las marinas para la realización de los ensayos.

BIBLIOGRAFÍA

Amat, A., A. Arques, F. López y M. Miranda. 2005. Solar photo-catalysis to remove paper mill wastewater pollutants. Solar Energy, 79: 393-401.

Bellas, J. 2006. Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates. Sci. Total Environ., 367: 573-585.

Bhuiyan, N., J. Begum, N. Nandi y F. Akter. 2010. Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (*Syzigium caryophyllatum* (L.) Alston). Afr. J. Plant Sci., 4: 451-454.

Brooks, S. y M. Waldock. 2009. The use of copper as a biocide in marine antifouling paints. 492-521. Hellio, C. y Yebra, D. (Eds.). Advances in marine antifouling coatings and technologies Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra. 764 p.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int. J. Food Microbiol, 94: 223-253.

Chambers, L., K. Stokes, F. Walsh y R. Wood. 2006. Modern approaches to marine antifouling coatings. Surf. Coat. Technol., 201: 3642-3652.

Dahms, H. y C. Hellio. 2009. Laboratory bioassay for screening marine antifouling compounds. 275-307. Hellio, C. y Yebra, D. (Eds.). Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies; Woodhead Publishing: Cambridge, Inglaterra. 764 p.

Edris, A. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. Phytother. Res. 21: 308-323.

Hellio, C., J. Berge, C. Beaupoil, Y. Le Gal y N. Bourgougnon. 2002. Screening of marine algal extracts for anti-settlement activities against microalgae and macroalgae. Biofouling, 18: 205-215.

Isman, M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 19: 603-608.

Kadakol, J. y C. Kamanavalli. 2010. Biodegradation of eugenol by *Bacillus cereus* Strain PN24. E-J. of Chem., 7: 474-480.

Kamatou, G., I. Vermaak y A. Viljoen. 2012. Eugenol-from the remote Maluku Islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. Molecules, 17: 6953-6981.

Konstantinou, I. y T. Albanis. 2004. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. Environ. Internat., 30: 235-248.

Mallavarapu, G., S. Ramesh, R. Chandrasekhara, B. Rajeswara, P. Kaul y A. Bhattacharya. 1995. Investigation of the essential oil of cinnamon leaf grown at Bangalore and Hyderabad. Flavour Fragr. J., 10: 239-242.

Omae, I. 2003. Organotin antifouling paints and their alternatives. Appl. Organomet. Chem., 17: 81-105.

OMI. 2007. International convention on the control of harmful anti-fouling systems on ships. http:// www.imo.org/ includes/blastDataOnly.asp/data_id%3D20019/14.pdf.

Overhage, J., A. Steinbüchel y H. Priefert. 2002. Biotransformation of eugenol to ferulic acid by a recombinant strain of *Ralstonia eutropha* H16. Appl. Environ. Microbiol., 9: 4315-4321.

Pascual, M., K. Slowing, E. Carretero, D. Sánchez Mata y A. Villar. 2001. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. J. Ethnopharmacol., 76: 201-214.

Pérez, M., M. García, B. del Amo, G. Blustein y M. Stupak. 2003. Core-shell pigments in antifouling paints. Surf. Coat. Int. Part B, Coatings Transact., 86: 259-262.

Pérez, M., G. Blustein, M. García, B. del Amo y M. Stupak. 2006. Cupric tannate: a low copper content antifouling pigment. Prog. Org. Coat., 55: 311-315.

Rabenhorst, J. 1996. Production of methoxyphenol-type natural aroma chemicals by biotransformation of eugenol with a new *Pseudomonas* sp. Appl. Microbiol. Biotechnol., 46: 470-474.

Rittschof, D. 2000. Natural products antifoulants: one perspective on the challenges related to coating development. Biofouling, 15: 119-127.

Rittschof, D., A. Clare, D. Gerhart, M. Avelin y J. Bonaventura. 1992. Barnacle in vitro assays for biologically active substances: toxicity and settlement assays using mass cultured *Balanus amphitrite* Darwin. Biofouling, 6: 115-122.

Rittschof, D., N. Sasikumar, D. Murlless, A. Clare, C. Gerhart y J. Bonaventura. 1994. Mixture interactions of lactones and furans and a commercial biocide: toxicity and antibarnacle settlement activity. 269-274. Thompson, M-F., R. Nagabhushanam, R. Sarojini and M. Fingerman (Eds.). Recent developments in biofouling control. Balkema AA, Rotterdam. 449 p.

Rittschof, D., C. Ali, L. Kok y S. Teo. 2003. Pharmaceuticals as antifoulants: concept and principles. Biofouling, 19: 207-212.

Sapozhnikova, Y., E. Wirth, K. Schiff y M. Fulton. 2013. Antifouling biocides in water and sediments from California marinas. Mar. Pollut. Bull., 15, 69(1-2):189-94.

Tadasa, K. 1977. Degradation of eugenol by microorganisms. Agric. Biol. Chem., 41: 925-929.

Thomas, K. 2009. The use of broad-spectrum organic biocides in marine antifouling paints. 522-553. Hellio, C. and Yebra, D. (Eds.). Advances in Marine Antifouling Coatings and Technologies Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra, 764 p.

Thomas, K. y S. Brooks, 2010. The environmental fate and effects of antifouling paint biocides. Biofouling, 26: 73-88.

Tsunemasa, N. y H. Yamazaki. 2014. Concentration of antifouling biocides and metals in sediment core samples in the northern part of Hiroshima Bay. Int. J. Mol. Sci. 15(6): 9991–10004.

Vetere, V., M. Pérez, R. Romagnoli, M. Stupak y B. del Amo. 1997. Solubility and toxic effect of the cuprous thiocyanate antifouling pigment on barnacle larvae. J. Coat. Technol., 69: 39-45.

Vitalina, S., S. Avelin, D. Rittschof, R. Sarojini, y R. Nagabhushanam. 1991. Bioactive compounds from marine organisms. Oxford and IBH Publishing Co. Nueva Delhi. 410 p.

Voulvoulis, N., M. Scrimshaw y J. Lester. 2002. Comparative environmental assessment of biocides used in antifouling paints. Chemosphere, 47: 789-795.

Yebra, D.M., S. Kiil y K. Dam-Johansen. 2004. Antifouling technology-past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. Prog. Org. Coat., 50, 75-104.

RECIBIDO: 10/04/2014 ACEPTADO: 23/11/2014