

**Comparación de la pérdida de peso, la liberación de metales y la toxicidad del lixiviado entre Coppercoat y dos recubrimientos autopulimentables convencionales, sometidos a limpieza estandarizada y lavado a presión.**

Informe final: Versión 1.2



**Referencia: PMA 1705**

**Cliente: Jayson Kenny, Aquarius  
Marine Coatings Ltd.**

**Fecha: marzo de 2022**

**Elaborado por: Dr. Dimitrios Kaloudis**

*Este informe no podrá reproducirse salvo en su totalidad y con la autorización de PML Applications Ltd.*

**PML Applications Ltd**  
**Prospect Place**  
**The Hoe**  
**Plymouth**  
**Devon**  
**PL1 3DH**  
Reino Unido

PML Applications le ofrece acceso directo a los avances más innovadores en investigación marina, pensados para impulsar su negocio, especialmente en la gestión del agua de lastre, el control de incrustaciones, estudios marinos y la teledetección por satélite.

Gracias a nuestro grupo matriz, Plymouth Marine Laboratory (una organización internacionalmente reconocida en investigación marina con más de 500 socios en todo el mundo), PML Applications dispone de tecnología puntera y conocimientos de vanguardia, lo que permite a nuestros especialistas ofrecerle asesoramiento, evaluaciones, inspecciones y pruebas independientes y objetivas.

Trabajar en un entorno tan complejo y, a menudo, extremo, conlleva numerosos retos que pueden suponer un alto coste tanto para los operadores como para el medio ambiente. Ofrecemos servicios, experiencia y orientación a una amplia variedad de clientes comerciales y, gracias a un mayor conocimiento del entorno marino, es posible ahorrar tiempo y recursos.

Especialidades

Incrustaciones biológicas, Agua de lastre, Sistemas de tratamiento de agua de lastre, Inspecciones marinas, Evaluación ambiental marina, Teledetección, Observación de la Tierra, Floraciones nocivas de algas

|                                   |                                                                                                                               |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Coordinador del proyecto:</b>  | Dr. Tom Vance                                                                                                                 |
| <b>Correo electrónico:</b>        | thva@pml.ac.uk                                                                                                                |
| <b>Teléfono:</b>                  | +44(0)1752 633412                                                                                                             |
| <b>Móvil:</b>                     | +44(0)7867 525 735                                                                                                            |
| <b>Fax:</b>                       | +44(0)1752 633101                                                                                                             |
| <b>Web:</b>                       | <a href="http://www.pml.ac.uk">www.pml.ac.uk</a> y <a href="http://www.pml-applications.co.uk">www.pml-applications.co.uk</a> |
| <b>LinkedIn PML Applications:</b> | <a href="http://linkd.in/1LZzywt">http://linkd.in/1LZzywt</a>                                                                 |

**Aprobación del documento**

| <b>Función</b>      | <b>Responsabilidad</b>                                                           | <b>Nombre y dirección</b>                                                                         | <b>Firma</b>                                                                        |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Autor</b>        | Redacción,<br>interpretación de<br>datos, opiniones<br>y puntos de vista         | Dr. Dimitrios Kaloudis<br>PML Applications Ltd<br>Prospect Place West Hoe<br>Plymouth Reino Unido |  |
| <b>Revisado por</b> | Revisión de<br>formato,<br>corrección de<br>estilo y<br>verificación de<br>datos | Maria Igoshina PML<br>Applications Ltd Prospect<br>Place West Hoe Plymouth<br>Reino Unido         |  |
| <b>Aprobado por</b> | Edición final y<br>validación                                                    | Dr. Tom Vance PML<br>Applications Ltd Prospect<br>Place West Hoe Plymouth<br>Reino Unido          |  |

La información facilitada por PML Applications Ltd en este informe está destinada exclusivamente al uso dentro del contexto de este documento. Queda prohibida la reproducción o reutilización, total o parcial, de cualquier parte de este material sin el consentimiento previo y explícito de PML Applications Ltd. PML Applications Ltd no se responsabiliza de las pérdidas derivadas de la reproducción, reutilización o uso indebido de la información contenida en este informe.

# Índice

|                                                                                                                                                   |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 Figuras y Tablas.....</b>                                                                                                                    | <b>5</b>  |
| <b>2 Resumen ejecutivo.....</b>                                                                                                                   | <b>7</b>  |
| <b>3 Antecedentes y Alcance .....</b>                                                                                                             | <b>8</b>  |
| <b>4 Resumen de la Metodología.....</b>                                                                                                           | <b>9</b>  |
| 4.1 Recubrimientos Evaluados .....                                                                                                                | 9         |
| 4.2 Resumen de Pruebas.....                                                                                                                       | 9         |
| 4.3 Preparación e Inmersión de Paneles en Millbay Marina .....                                                                                    | 9         |
| 4.4 Puntos de Medición .....                                                                                                                      | 10        |
| 4.5 Recuperación de Paneles y Tiempos de Secado .....                                                                                             | 11        |
| 4.6 Fregado Estandarizado .....                                                                                                                   | 11        |
| 4.6.1 Descripción del equipo.....                                                                                                                 | 11        |
| 4.6.2 Procedimiento de ensayo.....                                                                                                                | 13        |
| 4.7 Limpieza a presión estandarizada.....                                                                                                         | 14        |
| 4.7.1 Descripción del equipo.....                                                                                                                 | 14        |
| 4.7.2 Procedimiento de ensayo.....                                                                                                                | 15        |
| 4.8 Gestión y almacenamiento tras el muestreo.....                                                                                                | 16        |
| 4.9 ICP-MS para detección de metales.....                                                                                                         | 16        |
| 4.10 Ensayo de toxicidad.....                                                                                                                     | 16        |
| 4.10.1 Organismos de ensayo y condiciones de cultivo.....                                                                                         | 16        |
| 4.10.2 Preparación de medios a partir del agua de enjuague.....                                                                                   | 16        |
| 4.10.3 Montaje del ensayo de toxicidad.....                                                                                                       | 17        |
| 4.10.4 Configuración del lector de placas y adquisición de datos.....                                                                             | 17        |
| 4.11 Medición de la pérdida total de peso.....                                                                                                    | 18        |
| 4.12 Análisis estadístico.....                                                                                                                    | 18        |
| 4.12.1 Contenido metálico del agua de enjuague.....                                                                                               | 18        |
| 4.12.2 Procesamiento de datos de crecimiento algal.....                                                                                           | 18        |
| <b>5 Resultados .....</b>                                                                                                                         | <b>19</b> |
| 5.1 Lixiviación de metales y efectos del tiempo de secado .....                                                                                   | 19        |
| 5.1.1 Primer punto de medición (inmersión durante 2 meses) .....                                                                                  | 19        |
| 5.1.2 Segundo punto de medición (inmersión durante 4,5 meses) .....                                                                               | 22        |
| 5.1.3 Tercer punto de medición (inmersión durante 6,5 meses) .....                                                                                | 25        |
| 5.2 Prueba de toxicidad aguda.....                                                                                                                | 32        |
| 5.2.1 Primer punto de medición (inmersión durante 2 meses) .....                                                                                  | 32        |
| 5.2.2 Segundo punto de medición (inmersión durante 4,5 meses) .....                                                                               | 34        |
| 5.2.3 Tercer punto de medición (inmersión durante 6,5 meses) .....                                                                                | 35        |
| 5.3 Pérdida de peso de los paneles.....                                                                                                           | 36        |
| <b>6 Discusión y consideraciones finales .....</b>                                                                                                | <b>37</b> |
| 6.1.1 Conclusiones generales.....                                                                                                                 | 37        |
| 6.1.2 Utilidad de <i>Phaeodactylum tricornutum</i> como organismo de prueba y extrapolación de la toxicidad<br>resultados a otros organismos..... | 37        |
| 6.1.3 Efecto del tiempo de secado sobre la lixiviación de metales y la toxicidad .....                                                            | 37        |
| <b>7 Referencias .....</b>                                                                                                                        | <b>38</b> |

# 1 Figuras y Tablas

## Figuras

Figura 1: Pérdida de peso en paneles con diferentes recubrimientos tras tres rondas de limpieza estandarizada y lavado a presión.....7

Figura 2: Lámina de soporte con cuatro paneles replicados de cada uno de los tres recubrimientos de prueba: Cruiser 250 (azul), Coppercoat (cobre/marrón) y Micron 350 (rojo). .....10

Figura 3: Equipo de prueba de limpieza: A, agitador, marco y placa superior; B, detalle de la placa superior con almohadillas de limpieza fijadas; C, detalle de la placa inferior mostrando la zona de limpieza tras una prueba. ....12

Figura 4: Bolsas con cierre hermético y almohadillas de fregado tras exprimir los recubrimientos absorbidos durante la prueba de limpieza.....13

Figura 5: Huella del lavado a presión en un panel de prueba recubierto con Micron 350. El contraste de la imagen ha sido aumentado para mayor claridad.....14

Figura 6: Carcasa estandarizada para lavado a presión. A, cuerpo principal y manguera de salida; B, soporte para paneles; C, tapa con cierre giratorio que alberga la boquilla del lavador a presión.....15

Figura 7: Botellas de muestra que contienen el residuo del lavado a presión y del fregado (punto de muestreo T3 – enero de 2022).....16

Figura 8: Ejemplo de placa de microcubetas para el ensayo de toxicidad tras 48 horas de incubación.....17

Figura 9: Imagen representativa de una lámina de soporte y paneles tras el fregado estandarizado, lavado a presión y el reensamblaje posterior a las pruebas.....19

Figura 10: Contenido de cobre y zinc en el agua residual tras el fregado y lavado a presión estandarizados.....20

Figura 11: Comparación del efecto de secado sobre el contenido de cobre (A) y zinc (B) en el agua residual tras el fregado y lavado a presión estandarizados en Coppercoat y dos recubrimientos AF autopulimentantes.....21

Figura 12: Imagen representativa de lámina de soporte y paneles tras el fregado, lavado a presión estandarizados y el reensamblaje posterior a la segunda ronda de pruebas.....23

Figura 13: Contenido de cobre y zinc en el agua residual tras el fregado y lavado a presión estandarizados.....24

Figura 14: Comparativa en T2 del efecto del secado sobre el contenido de cobre (A) y zinc (B) en el agua de lavado tras el frotado y enjuague a presión estandarizados en Coppercoat y dos pinturas antifouling auto-pulidoras.....25

Figura 15: Imagen representativa de la lámina de soporte y los paneles tras el frotado y lavado a presión estandarizados, junto con el montaje posterior al ensayo, después del tercer punto de muestreo.....27

Figura 16: Imagen representativa en primer plano de un panel Cruiser 250 tras tres procesos simulados de limpieza (frotado y lavado a presión).....28

Figura 17: Imagen representativa en primer plano de un panel Micron 350 tras tres procesos simulados de limpieza (frotado y lavado a presión).....29

Figura 18: Imagen representativa en primer plano de un panel Coppercoat tras tres procesos simulados de limpieza (frotado y lavado a presión).....30

Figura 19: Contenido de cobre y zinc en el agua de lavado tras frotado y lavado a presión estandarizados durante el tercer punto de muestreo.....31

Figura 20: Comparativa en T3 del efecto del secado sobre el contenido de cobre (A) y zinc (B) en el agua de lavado tras el frotado y enjuague a presión estandarizados en Coppercoat y dos pinturas antifouling auto-pulidoras.....32

Figura 21: Tasa de crecimiento de *Phaeodactylum tricornutum*, basada en la fluorescencia de clorofila, tras 48 horas de incubación en medio f/2 ASW con lavados de paneles recubiertos con diferentes pinturas, después de 2 meses de inmersión en campo. ....33

Figura 22: Tasa de crecimiento de *Phaeodactylum tricornutum*, basada en la fluorescencia de clorofila, tras 48 horas de incubación en medio f/2 ASW con lavados de paneles recubiertos con diferentes pinturas, después de 4,5 meses de inmersión en campo. T. ....34

Figura 23: Tasa de crecimiento de *Phaeodactylum tricornutum*, basada en la fluorescencia de clorofila, tras 48 horas de incubación en medio f/2 ASW con lavados de paneles recubiertos con diferentes pinturas, después de 6,5 meses (T3) de inmersión en campo. ....35

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 24: Pérdida de peso de los paneles según distintos recubrimientos tras tres ciclos de limpieza estandarizada y lavado a presión..... | 36 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## Tablas

|                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1: Resumen de los resultados de ICP-MS para la concentración de cobre y zinc en diferentes recubrimientos y control de proceso.....                           | 20 |
| Tabla 2: Resumen de los resultados ICP-MS del punto temporal 2 (T2) sobre la concentración de cobre y zinc para diferentes recubrimientos y control de proceso..... | 23 |
| Tabla 3: Resumen de los resultados ICP-MS del punto temporal 3 (T3) sobre la concentración de cobre y zinc para diferentes recubrimientos y control de proceso..... | 26 |

## 2 Resumen ejecutivo

Se evaluó el efecto de la limpieza simulada del casco sobre paneles experimentales recubiertos con Coppercoat y dos pinturas autolimpiantes convencionales (SPC), denominadas Cruiser 250 y Micron 350. Para simular la limpieza se emplearon frotados estandarizados (30 segundos) y lavado a presión estandarizado (3 segundos).

Se utilizaron ocho paneles para cada recubrimiento. En cuatro de los paneles, la limpieza simulada se realizó inmediatamente después de sacarlos del agua. En los otros cuatro, la limpieza se llevó a cabo tras dejar secar los paneles durante cuatro horas a temperatura ambiente.

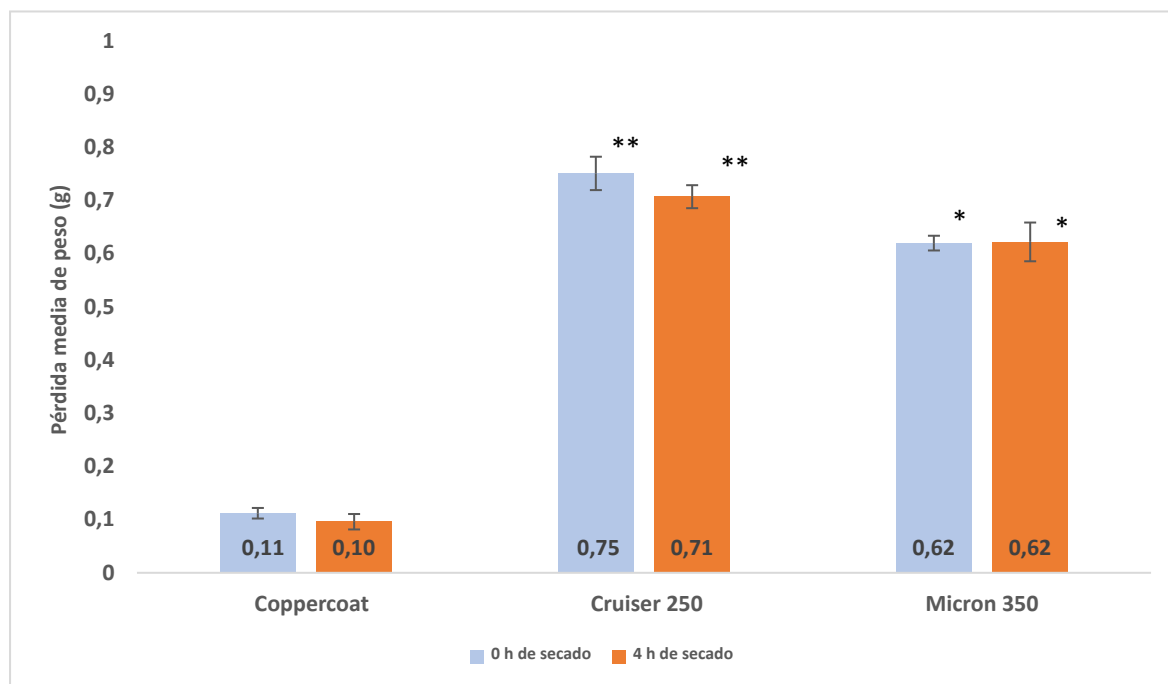
La concentración de metales lixiviados en el agua de lavado y su toxicidad se analizaron en tres momentos: a los 2, 4,5 y 6,5 meses después de la inmersión. La pérdida de peso total se evaluó al final del ensayo (6,5 meses).

Coppercoat presentó una menor concentración de cobre en el agua de lavado (reducción del 59 al 88 %) en comparación con los otros recubrimientos. En la mayoría del estudio, Coppercoat no liberó zinc por encima de los niveles de referencia.

Coppercoat no mostró toxicidad aguda para la microalga *Phaeodactylum tricornutum* tras 48 horas, mientras que ambos SPC analizados evidenciaron toxicidad significativa, manifestada en una reducción de la tasa de crecimiento.

Por último, Coppercoat tuvo una pérdida de peso considerablemente menor (82-86 %) frente a los dos SPC evaluados.

Las ligeras pérdidas de cobre y de peso total durante la limpieza simulada del Coppercoat, en comparación con los dos SPC, reflejan la diferencia fundamental en la naturaleza de estos recubrimientos. Coppercoat es una pintura dura antifouling diseñada para mantener su material, mientras que Cruiser 250 y Micron 350 son autolimpiantes y están pensadas para erosionarse lentamente en el agua.



**Figura 1: Pérdida de peso de los paneles con diferentes recubrimientos tras tres ciclos de fregado y lavado a presión estandarizados. La altura de las barras muestra la media (n=4) y las líneas de error representan  $\pm 1$  desviación estándar. Los asteriscos indican los grupos de significación; es decir, las barras con distinto número de asteriscos reflejan medias significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).**

### 3 Antecedentes y Alcance

- El cliente, Aquarius Marine Coatings Ltd., fabrica Coppercoat, un recubrimiento antifouling duro a base de resina epoxi e impregnado con polvo de cobre puro, que actúa como biocida y le confiere sus propiedades antifouling.
- El cliente encargó a PML Applications Ltd. la realización de ensayos para comparar la liberación de metales de Coppercoat con la de dos recubrimientos antifouling autolimpiantes (blandos) bajo un régimen de limpieza simulado.
- El cliente proporcionó paneles pintados con los tres recubrimientos, que se sumergieron en el centro de pruebas de PML Applications en Millbay Marina (Plymouth, Reino Unido) durante periodos de dos y tres meses antes de someterlos a distintos ensayos.
- Para simular las limpiezas, se eligieron tratamientos estandarizados de fregado y lavado a presión.
- El agua resultante de la limpieza se recogió para analizar metales (cobre y zinc) y realizar pruebas de toxicidad.



## 4 Resumen de la Metodología

### 4.1 Recubrimientos Evaluados

El principal recubrimiento evaluado en este ensayo es Coppercoat, un revestimiento duro de base epoxi que, una vez curado, contiene un 82 % p/p de polvo fino de Cu. Al entrar en contacto con el agua de mar, el Cu reacciona formando  $\text{Cu}_2\text{O}$ , lo que aporta propiedades antifouling al recubrimiento.

Para comparar resultados de forma adecuada, se evaluaron dos recubrimientos comerciales autopulimentables junto a Coppercoat, con el fin de analizar la tasa de liberación de metales: Cruiser 250 (paneles de color azul) y Micron 350 (paneles rojos). Ambos recubrimientos son fabricados por Akzo Nobel (International Paint) y pertenecen a la categoría de copolímeros autopulimentables (SPC). Sus componentes activos son óxido de dicobre ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) y óxido de zinc ( $\text{ZnO}$ ).

Todos los recubrimientos fueron seleccionados, adquiridos y aplicados por el Cliente. Los paneles recubiertos fueron entregados por el Cliente a PML Applications Ltd. para su evaluación.

### 4.2 Resumen del Ensayo

Los pasos principales del procedimiento experimental fueron los siguientes:

Al recibir los paneles:

- Recepción de los paneles
- Perforación de los paneles; retirada de escamas sueltas
- Peso de los paneles; registro de los valores (balanza con sensibilidad de 0,001 g)

Procedimiento de limpieza simulado (en tres intervalos de 2 meses):

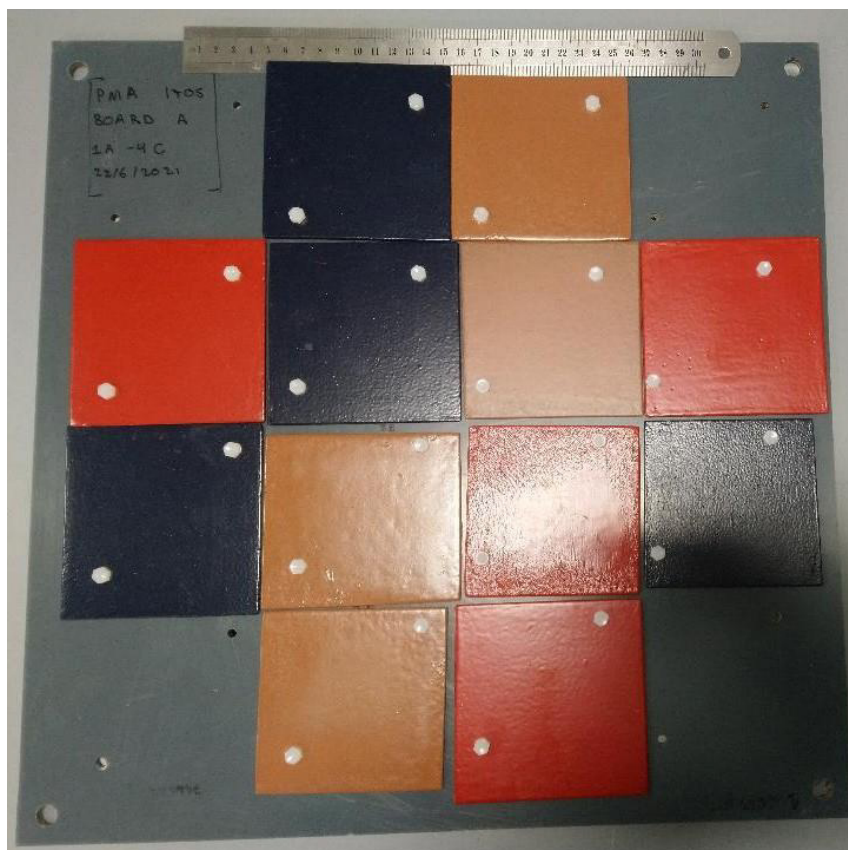
- Fijar los paneles a una lámina de soporte
- Sumergir los paneles en la marina de Millbay durante 2 meses
- Retirar los paneles del agua
- Los paneles “sin secado” se retiran de la lámina de soporte y se colocan en bolsas individuales con cierre hermético, junto con 20 mL de agua de mar filtrada
- Los paneles con “secado de 4 horas” permanecen en la lámina de soporte y se dejan secar al aire a temperatura ambiente durante cuatro horas antes del siguiente paso
- Los paneles se someten a un tratamiento de fregado estandarizado
- Los paneles se someten a lavado a presión estandarizado; se recoge el agua de lavado
- Los paneles se vuelven a fijar a la lámina de soporte y se sumergen nuevamente en la marina de Millbay
- El agua de enjuague se dividió en dos partes: 50 mL para pruebas de toxicidad y el resto (~250 mL) para el análisis de metales
- Una parte del agua de enjuague se destinó al análisis de metales (Cu y Zn)
- Una parte del agua de enjuague se utilizó para pruebas de toxicidad

Cálculo final de la pérdida de peso:

- Limpie suavemente los paneles con agua y una esponja para eliminar toda la biopelícula y el sedimento
- Seque durante 48 h a 50 °C.
- Pese los paneles tras el secado
- Permita que los paneles reabsorban la humedad ambiental
- Vuelva a pesar (peso final)
- Almacene

### 4.3 Preparación de los paneles e inmersión en el puerto deportivo de Millbay

Aquarius Marine Coatings Ltd. entregó paneles de plástico recubiertos con dimensiones aproximadas de 100 x 100 mm (rango 90-120 mm). Se suministraron diez paneles de cada uno de los tres recubrimientos a comparar (ver sección 4.1). Ocho de estos paneles se prepararon para las pruebas y dos se reservaron como repuesto. Cada panel recibió un código identificativo único escrito en la parte posterior con un rotulador permanente e impermeable. Posteriormente, se perforaron dos esquinas de cada panel con una broca de 5 mm para fijarlos a la lámina base. Las partículas de pintura y plástico que no estaban bien adheridas se retiraron cuidadosamente y los agujeros se suavizaron con una lima redonda. Finalmente, cada panel se pesó en una balanza de precisión Ohaus PR series (sensibilidad de 1 mg) y se registró el peso inicial.



**Figura 2: Lámina base con cuatro paneles replicados de cada uno de los tres recubrimientos de prueba: Cruiser 250 (azul), Coppercoat (cobre/marrón) y Micron 350 (rojo).**

Tras el pesaje, los paneles se fijaron a una lámina base de PVC con agujeros previamente perforados. Se utilizaron tuercas y tornillos de plástico (5 mm) para la sujeción. Dos láminas base se equiparon con 12 paneles cada una, es decir, cuatro réplicas de cada recubrimiento de prueba ( $n=4$ ) (ver Figura 2). Estas dos láminas servirían como tratamientos diferentes, permitiendo distintos tiempos de secado antes de las pruebas (ver sección 4.5).

Las láminas base se sumergieron posteriormente en el centro de pruebas de PML Applications, en el puerto deportivo de Millbay, el 23 de junio de 2021. Las láminas se colocaron en posición horizontal con los paneles de prueba orientados hacia abajo, a una profundidad de 1,5 m.

#### 4.4 Puntos de control de las pruebas

Se establecieron tres momentos para realizar las pruebas:

- 2 meses de inmersión (23 de agosto de 2021),
- 4,5 meses de inmersión (8 de noviembre de 2021), y
- 6,5 meses de inmersión (11 de enero de 2022)

## 4.5 Recuperación de paneles y tiempos de secado

Tras los periodos de inmersión previamente establecidos, se retiraron las láminas de soporte de la marina para su análisis. Los paneles de cada una de las dos láminas recibieron tratamientos distintos. Los paneles de la lámina A (n=4) no se dejaron secar antes de la prueba. Para ello, se retiraron inmediatamente tras la recogida y se introdujeron en bolsas herméticas identificadas, cada una con 20 mL de agua de mar filtrada.

Los paneles de la lámina de soporte B (n=4) se dejaron secar durante 4 horas a temperatura ambiente ( $18 \pm 2$  °C), en una sala con temperatura controlada. El motivo de este tratamiento era simular una situación en la que no es posible limpiar una embarcación de inmediato para eliminar incrustaciones, dejándola secar unas horas entre mareas antes del lavado a presión o el fregado.

## 4.6 Fregado estandarizado

Después de la recuperación, los paneles se sometieron en primer lugar a una prueba de fregado estandarizada.

### 4.6.1 Descripción del equipo

El equipo de fregado estandarizado se construyó a partir de un agitador orbital adaptado con un marco externo y una placa superior rígida de aluminio (véase Figura 3).

Concretamente, el agitador orbital y la placa inferior servían de soporte para los paneles, los cuales se mantenían fijos con cinta adhesiva de doble cara. Se fabricó un marco externo para encajar alrededor del agitador y la placa inferior, con cuatro varillas verticales que permitían insertar la placa superior en su lugar.

La placa superior (Figura 3B) se fabricó con una lámina rígida de aluminio, perforada con 12 cavidades (20 mm de diámetro, 5 mm de profundidad) para alojar las almohadillas de fregado. En cada cavidad se pegaron fijaciones de velcro para mantener las almohadillas en su sitio durante la prueba. El peso de la placa superior era de 3,71 kg. Como la placa superior reposaba sobre la inferior por gravedad, ese peso ejercía la presión de fregado, la cual podía incrementarse añadiendo más peso sobre la placa superior. Sin embargo, en este caso no se añadió peso adicional.

Las almohadillas de fregado se cortaron en discos de 20 mm de diámetro y 7 mm de grosor, a partir de una lámina mayor (RS Components, UK, N° de Stock: 898-8286) usando un sacabocados afilado.

El diámetro de rotación del agitador era de 20 mm. Combinado con las almohadillas de 20 mm, esto creaba una zona de fregado circular de 40 mm de diámetro (véase Figura 3C).

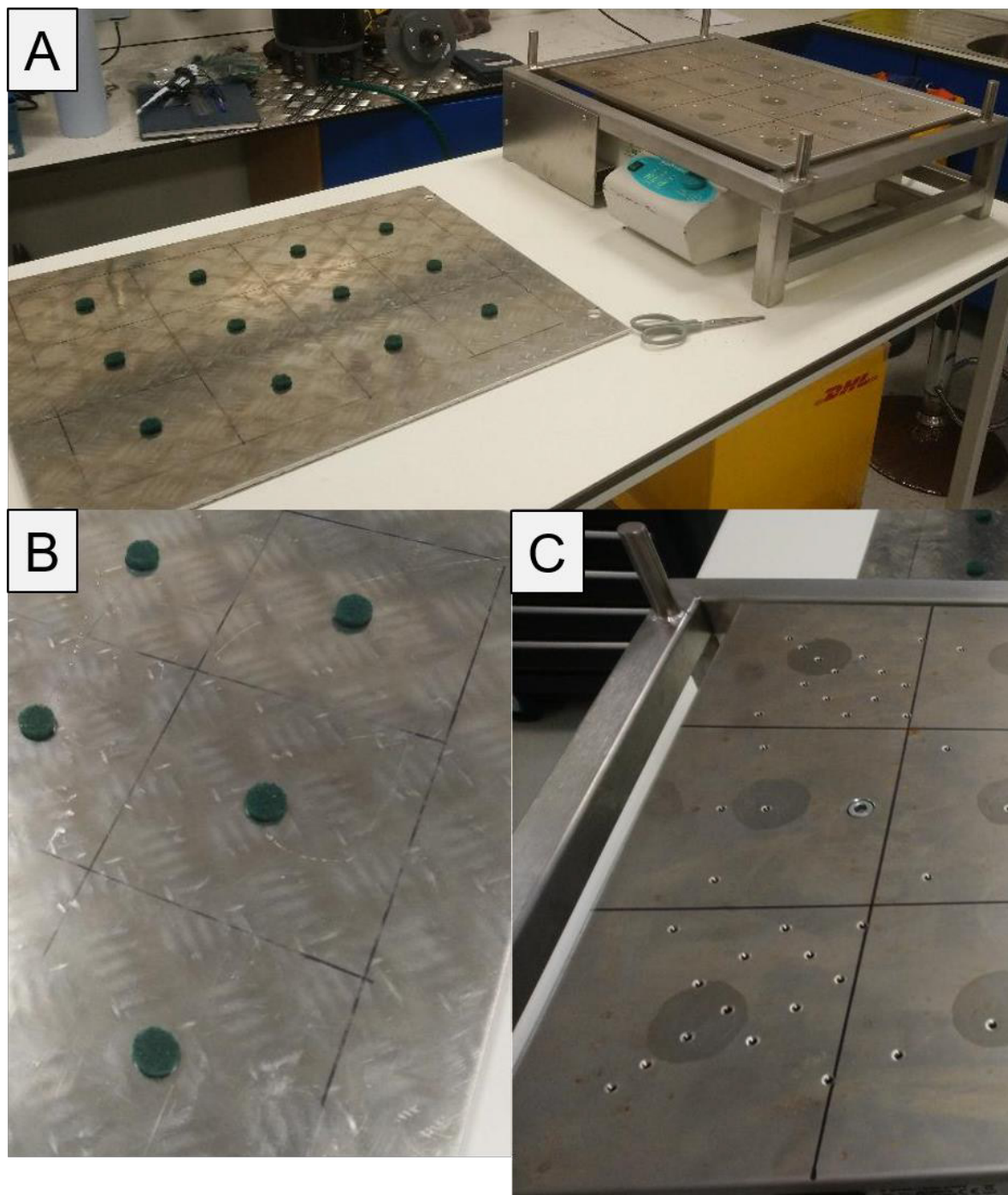


Figura 3: Dispositivo de prueba de fregado: A, agitador, estructura y placa superior; B, detalle de la placa superior con las almohadillas de fregado colocadas; C, detalle de la placa inferior mostrando la zona de fregado tras la prueba.

#### 4.6.2 Procedimiento de ensayo

- Se colocaron los paneles sobre la placa inferior y se añadió 1 mL de agua de mar filtrada en el centro de cada panel.
- Antes de colocar la placa superior sobre los paneles, se introdujeron almohadillas de fregado nuevas en los bolsillos de velcro.
- El fregado se realizó a 100 rpm durante 30 segundos.
- Tras el fregado, todas las almohadillas se retiraron y se colocaron en bolsas con cierre hermético identificadas, junto con 20 mL de agua de mar filtrada utilizada previamente para transportar los paneles desde el puerto deportivo al laboratorio.
- Una vez dentro de las bolsas, las almohadillas se apretaron diez veces para liberar cualquier recubrimiento y metales absorbidos durante la limpieza (Figura 4), luego se retiraron de las bolsas y se desecharon.



**Figura 4:** Bolsas con cierre hermético y almohadillas de fregado tras exprimir los recubrimientos absorbidos durante la prueba de limpieza.



## 4.7 Limpieza a presión estandarizada

Tras el cepillado, los paneles se sometieron a pruebas con lavado a presión.

### 4.7.1 Descripción del equipo

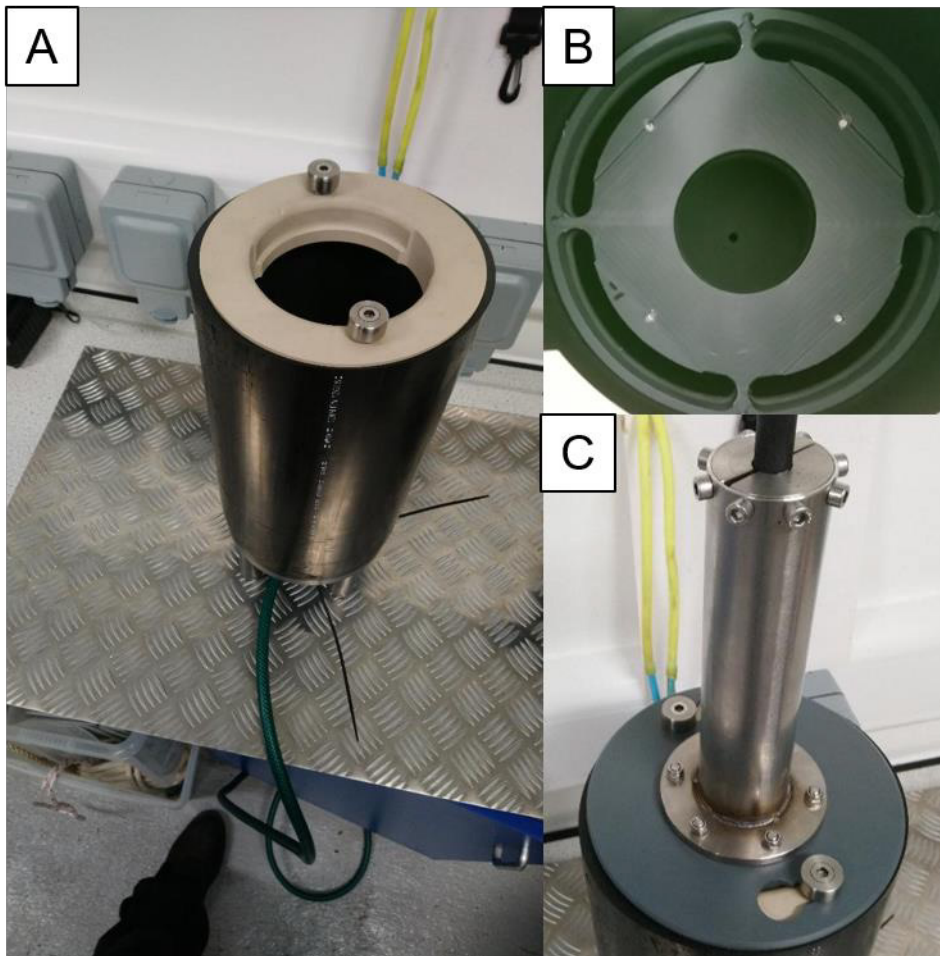
#### 4.7.1.1 Hidrolimpiadora

- Para esta prueba se utilizó una hidrolimpiadora Kärcher K4 Full Control.
- La hidrolimpiadora se empleó a su presión máxima (130 Bar nominal) junto con el accesorio de chorro de potencia. Esto generó un chorro de agua en forma de abanico, creando una franja de limpieza por presión en el panel (como se muestra en la Figura 5).
- La hidrolimpiadora estaba conectada a una toma de agua corriente, y el caudal con los ajustes utilizados fue de 90 mL s<sup>-1</sup> (±10 mL).



**Figura 5: Rastro de la limpieza por presión en un panel de prueba recubierto con Micron 350. El contraste de la imagen ha sido mejorado para mayor claridad.**

#### 4.7.1.2 Alojamiento



**Figura 6: Carcasa estándar para lavado a presión. A, cuerpo principal y manguera de salida; B, soporte para paneles; C, tapa con cierre giratorio que contiene la boquilla del lavador a presión.**

La carcasa del lavador a presión se compone de tres partes principales, como se muestra en la Figura 6. Estas son: el cuerpo principal (Figura 6A), que incluye el cilindro de la carcasa, una base de aluminio y la manguera de salida; el soporte para paneles (Figura 6B), que cuenta con una hendidura cuadrada de 120x120 mm para fijar los paneles de prueba; y la tapa (Figura 6), donde se encuentra la boquilla del lavador y el mecanismo de cierre giratorio.

Tanto el soporte para paneles como la tapa garantizan que el lavado a presión se realice con un ángulo de impacto fijo (90°) y a una distancia constante (150 mm), mientras que el cuerpo principal y el mecanismo de cierre giratorio permiten recoger y analizar toda el agua de lavado sin pérdida de muestras.

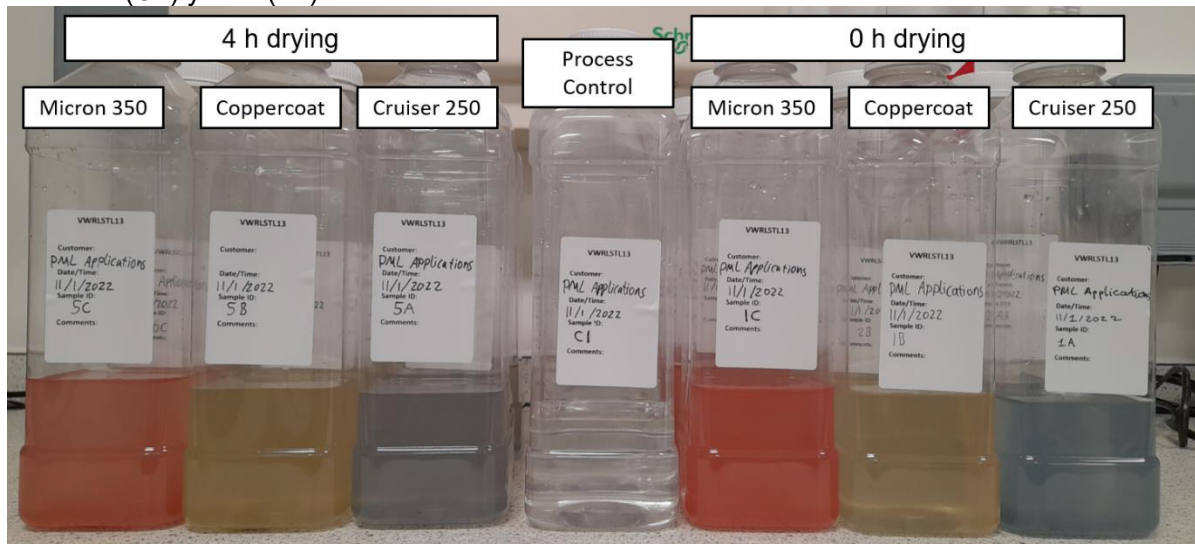
#### 4.7.2 Procedimiento de ensayo

- Tras la limpieza estandarizada, los paneles se colocaron en el soporte del lavador a presión y la tapa se cerró girándola.
- Cada panel fue sometido a limpieza a presión durante 3 segundos, cronometrados, y el agua desprendida se recogió en botellas PET de 1 L previamente etiquetadas.
- Después, los paneles se retiraron y se volvieron a fijar a la hoja de soporte.

Entre muestras, la carcasa se lavó a presión “vacía” durante 5 segundos y el agua se recogió en un cubo de residuos para garantizar la independencia entre muestras. Una vez finalizado el proceso con todas las muestras, se realizaron seis controles de proceso, lavando la carcasa sin paneles en su interior.

#### 4.8 Manejo y almacenamiento tras el muestreo

Una vez finalizada la limpieza a presión, los 20 mL de agua de mar filtrada y los residuos de las almohadillas de fregado (véase la sección 4.6.2) se añadieron a los frascos de muestra (Figura 7). Los frascos se agitaron cuidadosamente y se extrajeron 50 mL para realizar pruebas de toxicidad, almacenándolos a 4°C. El volumen restante (~270 mL) se envió para análisis ICP-MS de cobre (Cu) y zinc (Zn).



**Figura 7: Frascos de muestra que contienen el agua residual tanto de la limpieza a presión como del fregado (punto de muestreo T3 – enero 2022).**

#### 4.9 ICP-MS para detección de metales

El análisis ICP-MS fue realizado por un subcontratista, ALS Environmental Ltd. La matriz utilizada fue agua de proceso y el método empleado fue WAS076. Según el principio del método: “Los metales se determinan mediante ICP-MS tras una disolución calentada en presencia de ácido nítrico. El pretratamiento de digestión garantiza que cualquier forma suspendida o coloidal se convierta en formas solubles.”

([https://www.alsenvironmental.co.uk/media-uk/method\\_statements/coventry/waste-water-inorganics/method-statement-was076.pdf](https://www.alsenvironmental.co.uk/media-uk/method_statements/coventry/waste-water-inorganics/method-statement-was076.pdf)).

#### 4.10 Prueba de toxicidad

##### 4.10.1 Organismos de ensayo y condiciones de cultivo

El organismo empleado en el ensayo fue la microalga ubicua *Phaeodactylum tricornutum* cepa CCAP1055/15, aislada en Blackpool, Reino Unido. Se seleccionó esta especie por su distribución global, su crecimiento vigoroso y su uso frecuente en este tipo de ensayos (Cid et al., 1995; International Organisation for Standardisation, 2016; Tovar-Sanchez et al., 2019; Wei et al., 2014).

Las cepas se mantuvieron en agua de mar filtrada enriquecida con medio f/2 (FSW-f/2) (Guillard y Ryther, 1962). Tanto el mantenimiento de los cultivos como las pruebas de toxicidad se realizaron en una sala de crecimiento a temperatura controlada de 21 °C, con un ciclo de luz:oscuridad de 16:8 horas. El nivel de luz se mantuvo en 20 (±5)  $\mu\text{mol}$  fotones PAR  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

##### 4.10.2 Preparación del medio a partir del agua de enjuague



El “Washoff f/2” se preparó añadiendo 20 g/L de sales tropicales para acuarios a las muestras de 50 mL destinadas a las pruebas de toxicidad, disolviéndolas mediante vórtex antes de incorporar 50 µL de una mezcla de nutrientes f/2, metales traza y vitaminas, concentrada 1000x y filtrada de manera estéril. El Wash-off f/2 se almacenó en frigorífico a 4 °C.

#### 4.10.3 Preparación de la prueba de toxicidad

Las pruebas de toxicidad se realizaron en placas de 24 pocillos (Figura 8). En total, se prepararon cuatro placas. Cada placa se inoculó con el medio de lavado de un panel de cada recubrimiento y de cada tiempo de secado, en triplicado, formando seis columnas para los distintos paneles y tres filas para las réplicas técnicas de cada panel. La fila inferior se inoculó por duplicado con los tres medios de lavado de control de proceso.

El volumen funcional de cada pocillo era de 2 mL. A cada pocillo se añadieron 1,8 mL de medio de lavado y 0,2 mL de cultivo de algas.

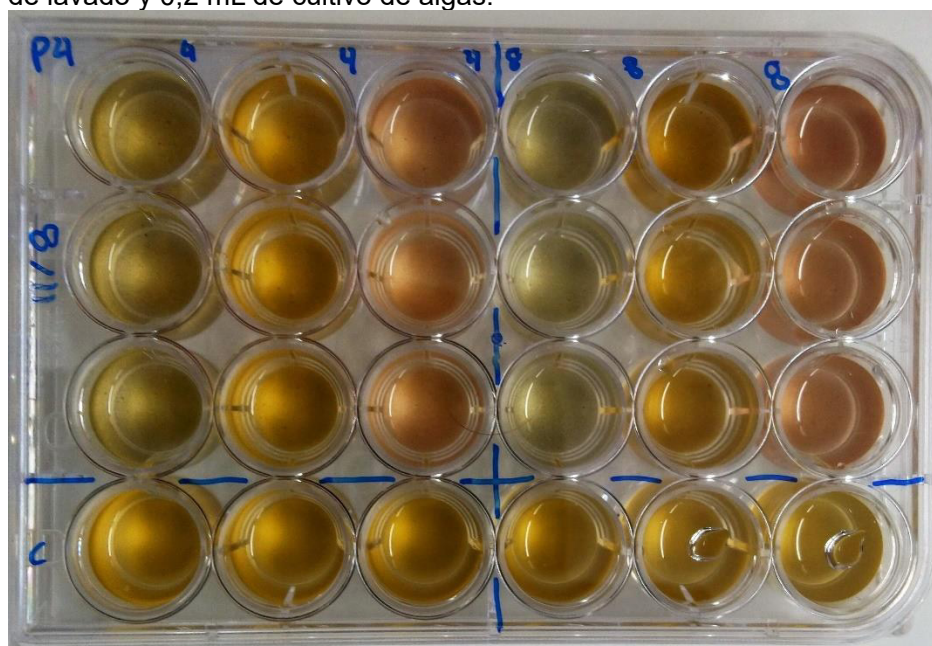


Figura 8: Ejemplo de placa de micropocillos para el ensayo de toxicidad tras 48 horas de incubación. La placa se divide en cuatro compartimentos: arriba a la izquierda – 0 horas de secado, arriba a la derecha – 4 horas de secado, abajo a la izquierda – controles 1-3, abajo a la derecha – controles 1-3 réplica. Las columnas de izquierda a derecha representan Cruiser 250, Coppercoat y Micron 350 respectivamente para cada uno de los dos tiempos de secado. Las tres filas superiores corresponden a réplicas técnicas diferentes para cada recubrimiento. La fila inferior representa las réplicas de control de proceso.

Todas las placas de microhuecos se incubaron en una sala de crecimiento con temperatura controlada (véase la sección 4.10.1) durante 48 horas, registrando la fluorescencia de la clorofila en los tiempos 0, 24 y 48 horas. Se eligió la fluorescencia de la clorofila como indicador de toxicidad, ya que varía tanto con el crecimiento como con el estado de salud relativo de las microalgas. Además, gracias a su espectro de fluorescencia único, se pueden recopilar los datos sin interferencias de otros materiales presentes en el lavado, como partículas de pintura o metal.

#### 4.10.4 Configuración del lector de placas y adquisición de datos

La fluorescencia de la clorofila se registró con un lector de placas ClarioStar. La longitud de onda de excitación fue de 480 nm y la de emisión de 680 nm. El nivel de ganancia se ajustó a 1740 y la profundidad focal se estableció en 9,6 mm.

La fluorescencia de la clorofila se midió a las 0, 24 y 48 horas. Antes de tomar las lecturas, las algas se resuspendieron mezclando cada pocillo con una pipeta.

#### 4.11 Medición de la pérdida total de peso

Una vez realizados los tres puntos de análisis, se limpiaron cuidadosamente todos los paneles para eliminar cualquier incrustación y sedimentos, antes de secarlos a 50 °C durante 48 horas. Tras el secado, los paneles se pesaron de inmediato y nuevamente después de permitir que se equilibraran con la humedad ambiental durante varias semanas.

El proceso de equilibrio de humedad fue imprescindible, ya que los paneles no se habían secado antes del primer pesaje, por lo que la humedad atmosférica se incluyó en las mediciones iniciales. Permitir el equilibrio con el aire ambiental antes del pesaje final garantizó la máxima precisión en la estimación de la pérdida de peso.

Los pesos finales se anotaron utilizando una balanza de precisión Ohaus PR series (sensibilidad de 1 mg).

#### 4.12 Análisis estadístico

##### 4.12.1 Contenido metálico en el agua de enjuague

Las concentraciones de metales obtenidas mediante el análisis ICP-MS se promediaron a partir de los cuatro paneles replicados de cada recubrimiento y se representaron en gráficos de barras. Las barras de error reflejaron la desviación estándar. Las diferencias significativas se evaluaron con un nivel de confianza del 95 % ( $\alpha=0,05$ ). Para comparar diferencias y obtener los valores p se emplearon pruebas t de dos colas asumiendo varianzas desiguales.

##### 4.12.2 Procesamiento de datos de crecimiento algal

Las tasas de crecimiento del alga se calcularon a partir de los datos de fluorescencia de clorofila registrados entre  $t=24$  horas y  $t=48$  horas. La tasa de crecimiento y el tiempo de duplicación se determinaron utilizando las ecuaciones 1 y 2 siguientes:

Ecuación para la tasa de crecimiento (1):

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{X_2}{X_1}\right)}{t_2 - t_1}$$

Donde  $\mu$  representa la tasa de crecimiento,  $X_2$  y  $X_1$  corresponden a la fluorescencia de clorofila a las 48 h y 24 h respectivamente, y  $t_2$  y  $t_1$  indican los tiempos correspondientes en horas.

Ecuación para el tiempo de duplicación (2):

$$T_d = \frac{\ln(2)}{\mu}$$

$T_d$  indica el tiempo de duplicación y  $\mu$  corresponde a la tasa de crecimiento.



## 5 resultados

### 5.1 Lixiviación de metales y efectos del tiempo de secado

#### 5.1.1 Primer punto temporal (inmersión durante 2 meses)

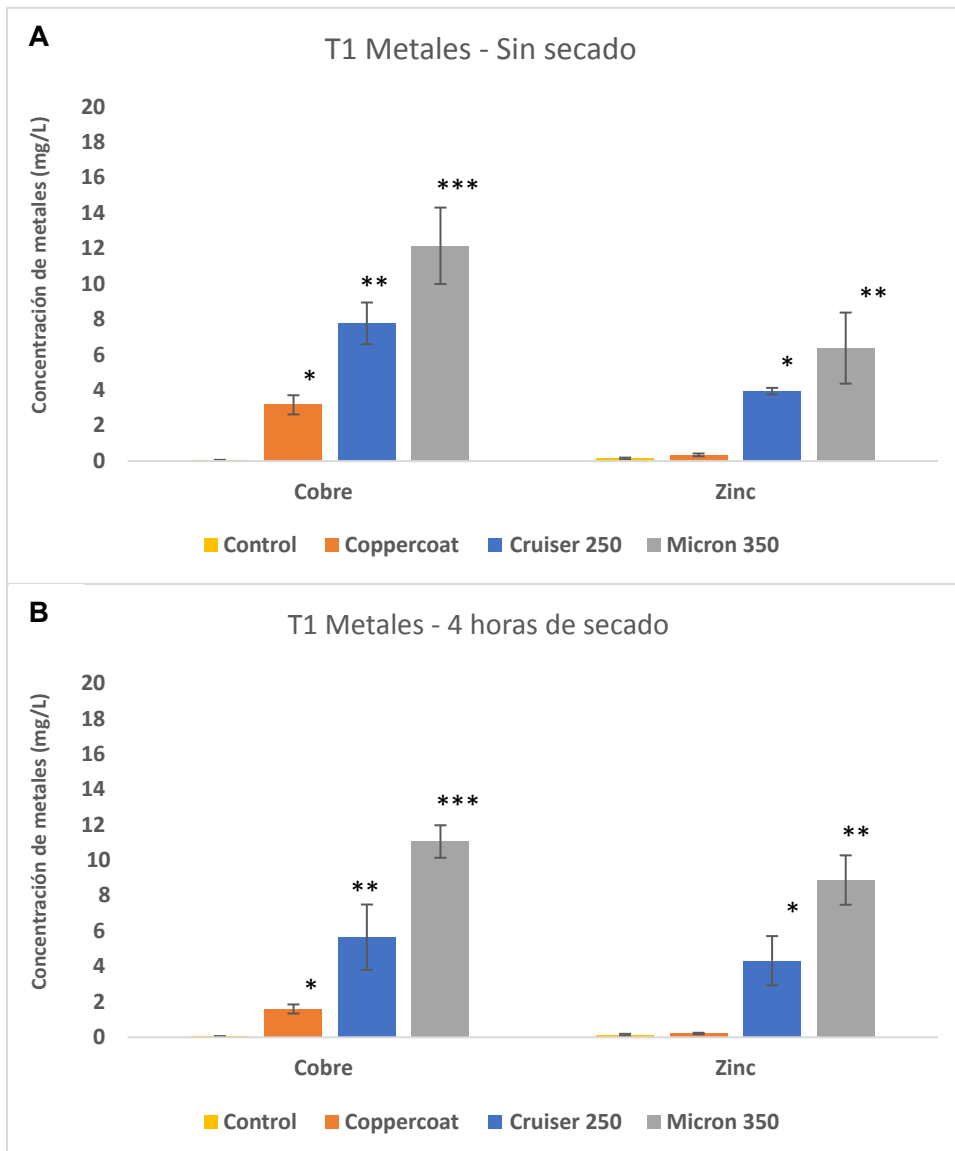
Se compararon paneles recubiertos con dos pinturas autopulimentables (Cruiser 250, Micron 350 de Akzo Nobel) con el recubrimiento epoxi duro AF del cliente, Coppercoat (Aquarius Marine Coatings). Cuatro paneles replicados de cada recubrimiento fueron sometidos a una limpieza estandarizada y posteriormente lavados a presión, recogiendo el agua de lavado para analizar la presencia de metales (Cu y Zn). La Figura 9 muestra los paneles tras las pruebas, mientras que el contenido de metales en el agua de lavado se resume en la Tabla 1, Figura 10 y Figura 11.



**Figura 9:** Imagen representativa de una lámina base y los paneles tras el fregado estandarizado, lavado a presión y reensamblaje después de las pruebas. Los paneles azules corresponden a Cruiser 250, los marrones/cobrizos a Coppercoat y los rojos a Micron 350. Se observan marcas circulares de fregado y marcas lineales del lavado a presión. Además, en todos los casos, los tratamientos fueron lo suficientemente eficaces para eliminar toda la suciedad de las áreas tratadas.

**Tabla 1: Resumen de los resultados ICP-MS de la concentración de cobre y zinc para distintos recubrimientos y control de proceso.**

|                    | Cobre (mg/L) |            | Zinc (mg/L) |            |
|--------------------|--------------|------------|-------------|------------|
|                    | No secado    | 4 h secado | No secado   | 4 h secado |
| Control de proceso | 0.037        | 0.037      | 0,140       | 0,140      |
| Coppercoat         | 3.175        | 1.600      | 0,350       | 0,215      |
| Cruiser 250        | 7.775        | 5.650      | 3,950       | 4,325      |
| Micron 350         | 12,150       | 11.050     | 6,375       | 8,875      |



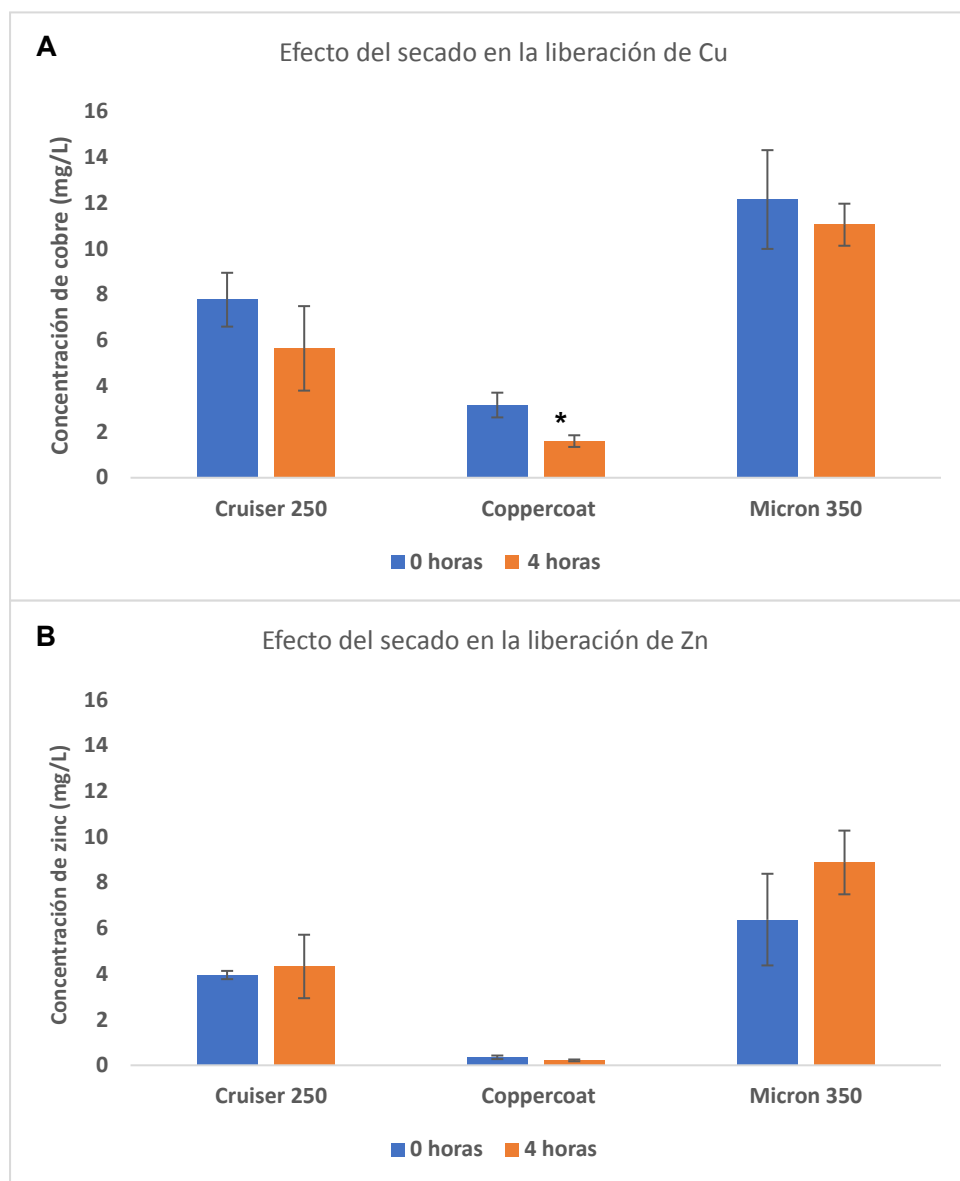
**Figura 10: Contenido de cobre y zinc en el agua resultante tras el lavado estandarizado y la limpieza a presión. A, paneles procesados de inmediato, sin secado previo; B, paneles secados durante 4 horas. Las barras de error muestran la desviación estándar  $\pm 1$  de cuatro paneles replicados ( $n=4$ ). Los asteriscos indican diferencias significativas en la concentración de metales entre los recubrimientos para un metal y tiempo de secado determinados ( $p>0,05$ ).**

En ambos tratamientos (con cero y cuatro horas de secado) y para ambos metales (Cu y Zn), Coppercoat presentó siempre un contenido metálico significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que tanto Cruiser 250 como Micron 350 (véase Figura 10).

Tras recibir el mismo tratamiento, Coppercoat mostró entre un 59,2 % y un 73,9 % menos de lixiviación de cobre en el agua de aclarado que Cruiser 250 y Micron 350, respectivamente (0 h secado), y entre un 71,7 % y un 85,5 % menos de lixiviación de cobre respecto a Cruiser 250 y Micron 350 (4 h secado).

En cuanto al zinc, Coppercoat no mostró liberación de zinc por encima de los niveles del control del proceso ( $p > 0,05$ ). Esto se debe principalmente a que Coppercoat no incluye zinc como ingrediente activo en su composición, a diferencia de los otros dos recubrimientos comparados.

Los efectos del tiempo de secado en la liberación de metales tras el fregado y aclarado a presión estandarizados se resumen en la Figura 11.



**Figura 11:** Comparativa del efecto del secado sobre el contenido de cobre (A) y zinc (B) en el agua de aclarado tras el fregado y lavado a presión estandarizados en Coppercoat y dos recubrimientos autopulimentables. Las barras de error indican  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro paneles replicados ( $n=4$ ). Los asteriscos indican diferencias significativas en la concentración de metales entre tiempos de secado para cada metal y recubrimiento ( $p > 0,05$ ).

Las tres pinturas presentaron una disminución en la concentración media de cobre en el agua de lavado tras dejarse secar cuatro horas (véase la Figura 11). Sin embargo, únicamente Coppercoat mostró una reducción estadísticamente significativa ( $p < 0,011$ ) en el contenido de cobre después del secado, mientras que las demás se mantuvieron dentro del margen de error del ensayo.

Por el contrario, los niveles de zinc aumentaron ligeramente sin ser significativos tras cuatro horas de secado en los dos recubrimientos autopulimentables, y disminuyeron levemente en Coppercoat. Es posible que existan pequeñas incertidumbres en las mediciones de zinc debido a su uso frecuente en laboratorios y envíos (Kim et al., 2015). No obstante, todas estas variaciones se encuentran dentro del margen de error experimental, por lo que no se pueden extraer conclusiones sobre un efecto real del tiempo de secado en este caso.

### 5.1.2 Segundo punto de medición (inmersión de 4,5 meses)

La prueba y el análisis del segundo punto temporal se realizaron tras 4,5 meses de inmersión total de los paneles recubiertos. Por petición del cliente, en esta ronda de pruebas el área de fregado se trasladó a la esquina superior izquierda de cada panel, evitando la superposición con el área de lavado a presión (ver Figura 12). Los resultados obtenidos reflejaron patrones muy similares a los observados en las pruebas del primer punto temporal (resumidos en la Tabla 2).

En concreto:

- Coppercoat liberó una cantidad notablemente menor de cobre en comparación con ambos SPCs evaluados (ver Figura 13)
- La diferencia fue considerable, ya que Coppercoat emitió entre un 79% y un 88% menos de cobre que los SPCs analizados
- Coppercoat no liberó más zinc que el control del proceso, mientras que ambos SPCs sí desprendieron cantidades significativas de zinc (Figura 13)
- El tiempo de secado no tuvo un efecto estadísticamente significativo en la liberación de metales en la mayoría de los casos (Figura 14)



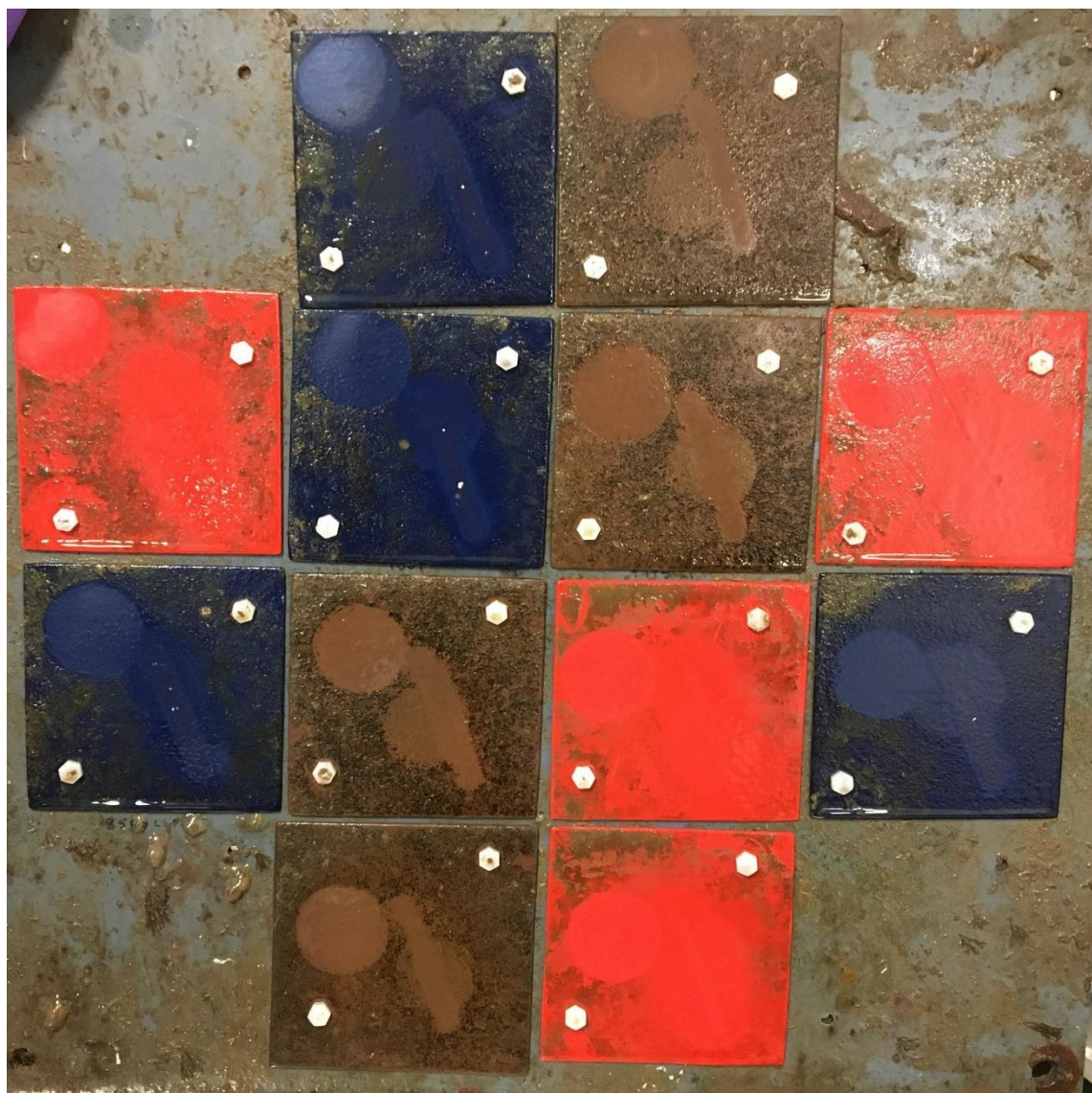
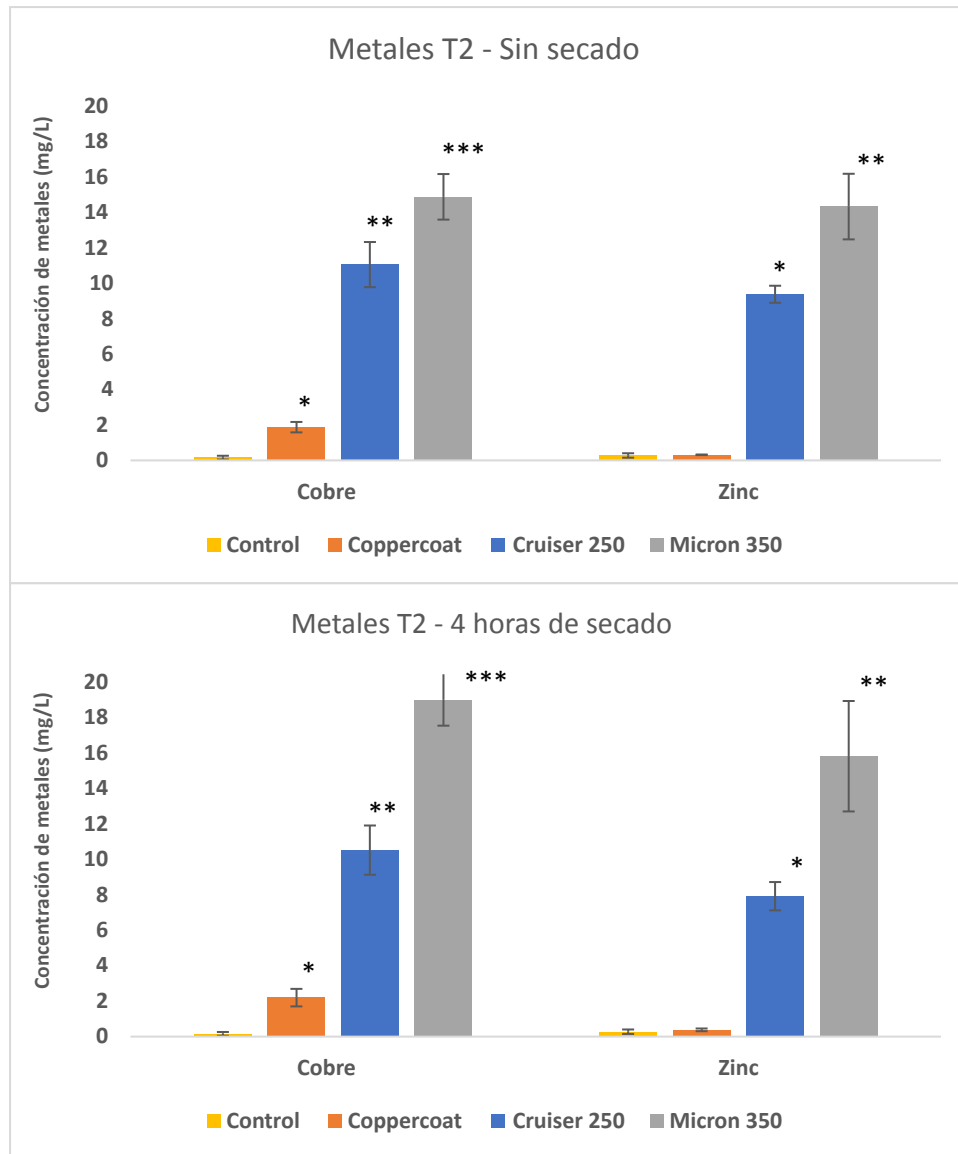


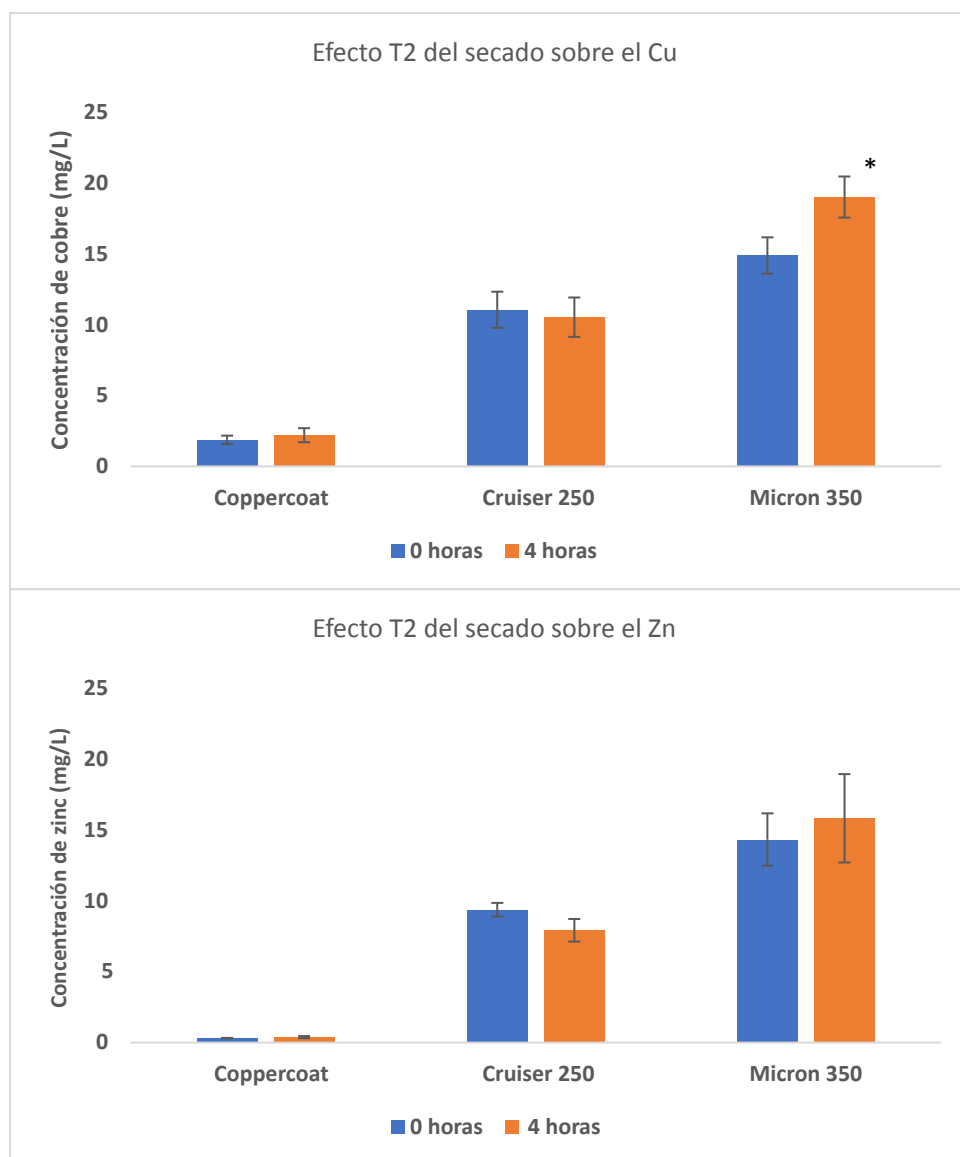
Figura 12: Imagen representativa de la lámina de soporte y los paneles tras el fregado estandarizado, lavado a presión y posterior montaje, tras el segundo punto de ensayo. Los paneles azules corresponden a Cruiser 250, los paneles marrones/cobrizos a Coppercoat y los paneles rojos a Micron 350. Se observa la zona de fregado, que en la segunda medición se desplazó para no coincidir con la zona de lavado a presión.

Tabla 2: Resumen del segundo punto de control (T2), resultados de ICP-MS para la concentración de cobre y zinc en los diferentes recubrimientos y control de proceso.

|                    | Cobre (mg/L) |               | Zinc (mg/L)  |               |
|--------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
|                    | No<br>secado | 4 h<br>secado | No<br>secado | 4 h<br>secado |
| Control de proceso | 0,157        | 0,157         | 0,277        | 0,28          |
| Coppercoat         | 1,88         | 2,20          | 0,31         | 0,38          |
| Cruiser 250        | 11,05        | 10,53         | 9,38         | 7,93          |
| Micron 350         | 14,88        | 19            | 14,33        | 15,82         |



**Figura 13: Contenido de cobre y zinc en el agua de lavado tras frotado y limpieza a presión estandarizados. A, paneles procesados de inmediato sin dejar secar; B, paneles secados durante 4 horas antes del proceso. Las barras de error indican  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro paneles replicados ( $n=4$ ). Los asteriscos señalan diferencias significativas entre los recubrimientos para un metal y tiempo de secado determinados ( $p>0,05$ ).**



**Figura 14: Comparativa T2 del impacto del secado sobre el contenido de cobre (A) y zinc (B) en el agua de lavado tras la limpieza estandarizada y el uso de hidrolavadora en Coppercoat y dos recubrimientos autopolishantes AF. Las barras de error muestran  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro paneles replicados ( $n=4$ ). Los asteriscos indican diferencias significativas en las concentraciones de metales según los tiempos de secado para cada metal y recubrimiento ( $p>0,05$ ).**

### 5.1.3 Tercer punto de medición (inmersión durante 6,5 meses)

El tercer y último ciclo de pruebas se realizó tras 6,5 meses de inmersión total de los paneles recubiertos. Los resultados obtenidos siguieron en parte los patrones observados en los dos primeros ensayos, aunque se detectaron algunas diferencias relevantes en esta última medición.

Se observaron comportamientos similares de los recubrimientos en relación a:

- Coppercoat liberó considerablemente menos cobre que ambos SPC analizados (véase la Figura 19), a excepción de un único caso, debido a una muestra con bajo contenido metálico de Micron 350 (que se comentará más adelante).
- La diferencia fue notable, ya que Coppercoat emitió entre un 66% y un 70% menos de cobre que los SPC evaluados.

- Coppercoat no liberó más zinc que el control del proceso, mientras que ambos SPC liberaron cantidades significativas de zinc (Figura 19). 26/40
- En la mayoría de los casos, el tiempo de secado no tuvo un efecto estadísticamente significativo en la liberación de metales (Figura 20).

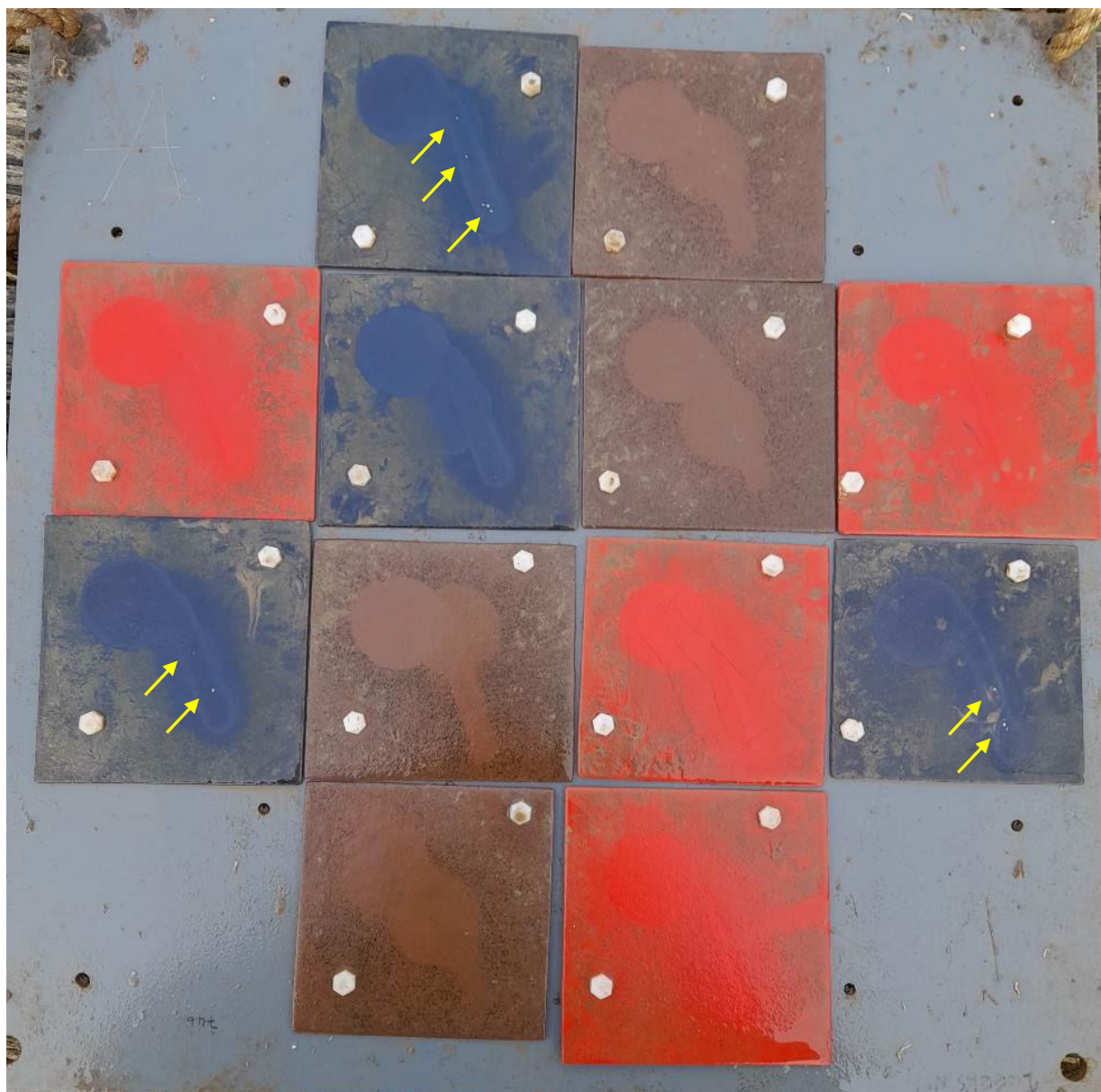
Sin embargo, también se apreciaron algunas diferencias notables en comparación con los otros dos momentos de medición. En concreto:

- Tres de los cuatro paneles Cruiser 250 mostraron zonas de desgaste en el recubrimiento tras la última medición, donde era visible el sustrato blanco bajo la capa azul (ver flechas, Figura 15).
- Las medias de lixiviación de metales (Tabla 3) fueron generalmente inferiores a las observadas en los dos primeros momentos de medición (Tabla 1 y Tabla 2). Esto podría indicar una disminución en el rendimiento antifouling de ambos SPC tras varias pruebas, aunque no se comprobó específicamente.
- Una de las réplicas de Micron 350 (8C – 4 horas de secado) generó datos atípicos inesperados, con valores de metales similares al control, lo que también podría señalar desgaste del recubrimiento.

**Tabla 3: Resumen del tercer momento de medición (T3), resultados ICP-MS de concentración de cobre y zinc para los distintos recubrimientos y el control del proceso.**

|                    | Cobre (mg/L)     |                   | Zinc (mg/L)      |                   |
|--------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
|                    | No<br>sin secado | 4 h<br>sin secado | No<br>sin secado | 4 h<br>sin secado |
| <b>Proceso</b>     |                  |                   |                  |                   |
| <b>Control</b>     | 0.079            | 0.079             | 0,383            | 0,383             |
| <b>Cruiser 250</b> | 3.975            | 3.450             | 6,125            | 4,900             |
| <b>Coppercoat</b>  | 1.250            | 1.055             | 0,495            | 0,428             |
| <b>Micron 350</b>  | 4,225            | 3,140             | 9,175            | 4,075             |



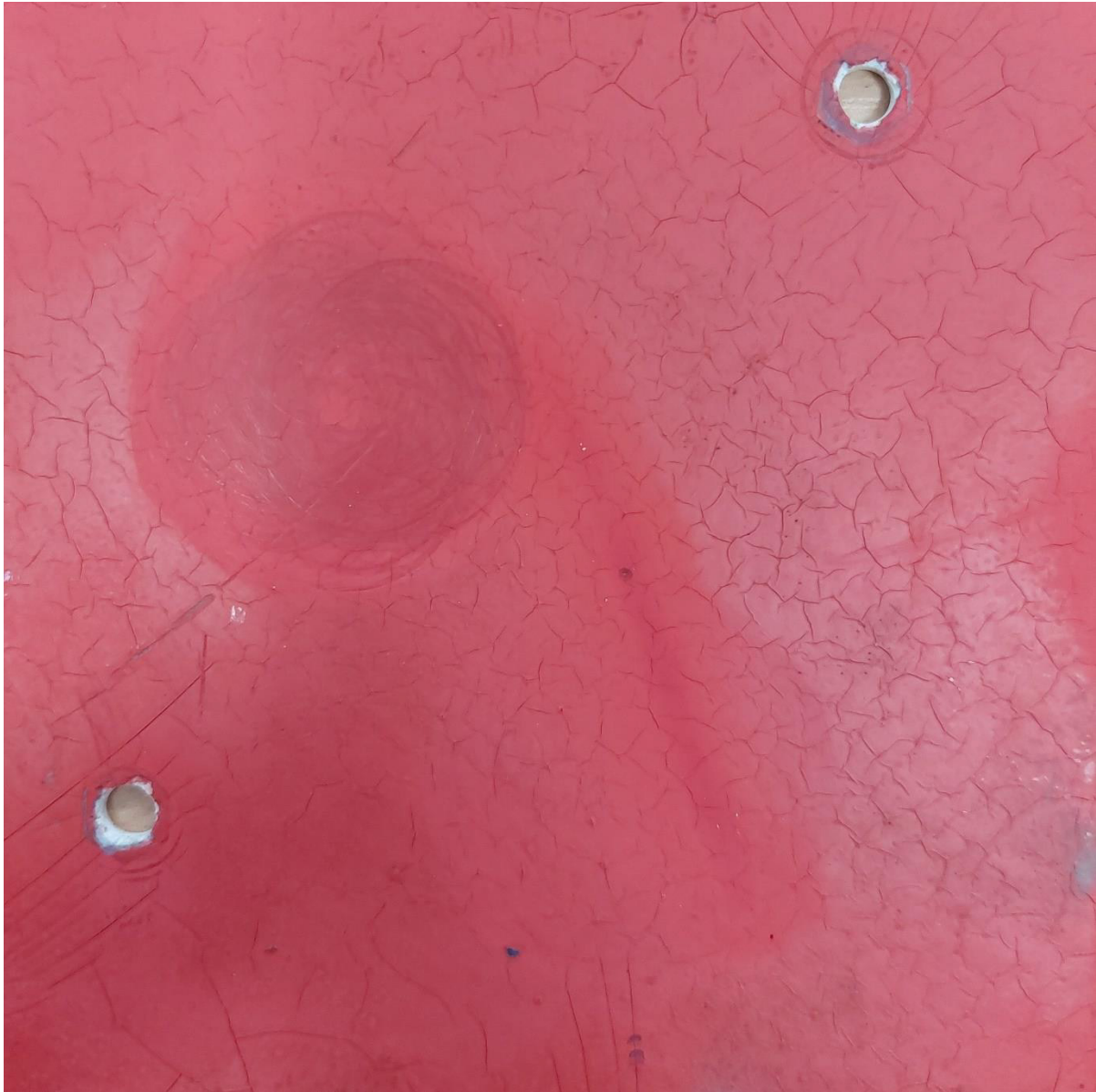


**Figura 15: Imagen representativa de la lámina soporte y los paneles tras el fregado estandarizado, limpieza a presión y posterior montaje tras la tercera fase de pruebas. Los paneles azules corresponden a Cruiser 250, los marrones/cobrizos a Coppercoat y los rojos a Micron 350. Las flechas amarillas señalan zonas donde ha disminuido el recubrimiento en los paneles Cruiser 250, es decir, áreas donde se aprecia el sustrato.**

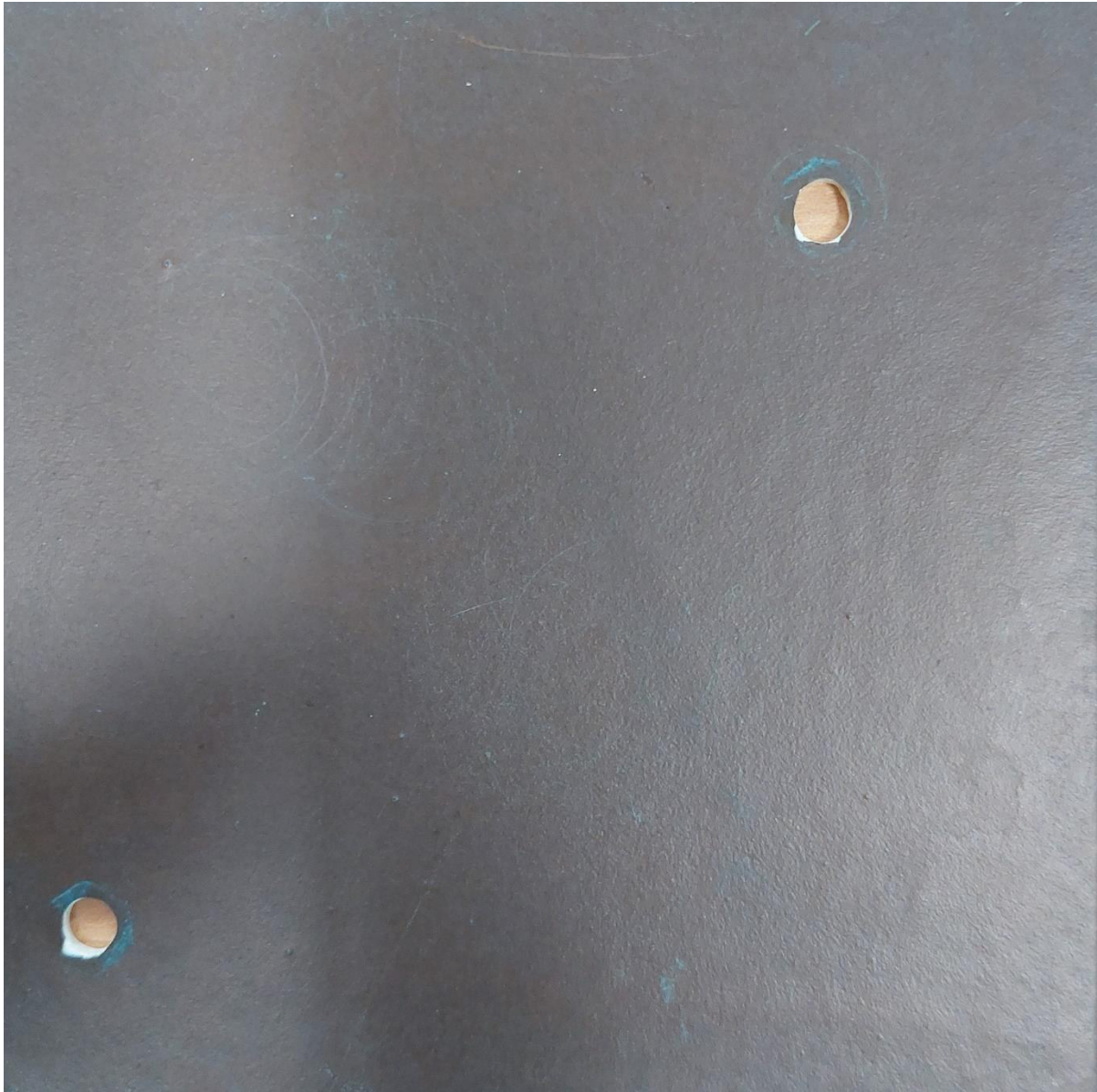


**Figura 16:** Imagen representativa en primer plano de un panel Cruiser 250 tras tres limpiezas simuladas (fregado y lavado a presión), limpieza final de bioincrustaciones y secado. Se observa una marca redonda de fregado estandarizado en la parte superior izquierda del panel y una marca lineal de lavado a presión estandarizado desde el centro hacia la parte inferior derecha. Además, la capa fue eliminada lo suficiente con el lavado a presión como para que el sustrato empezara a ser visible tras el tercer ciclo (manchas blancas en la zona lavada a presión).

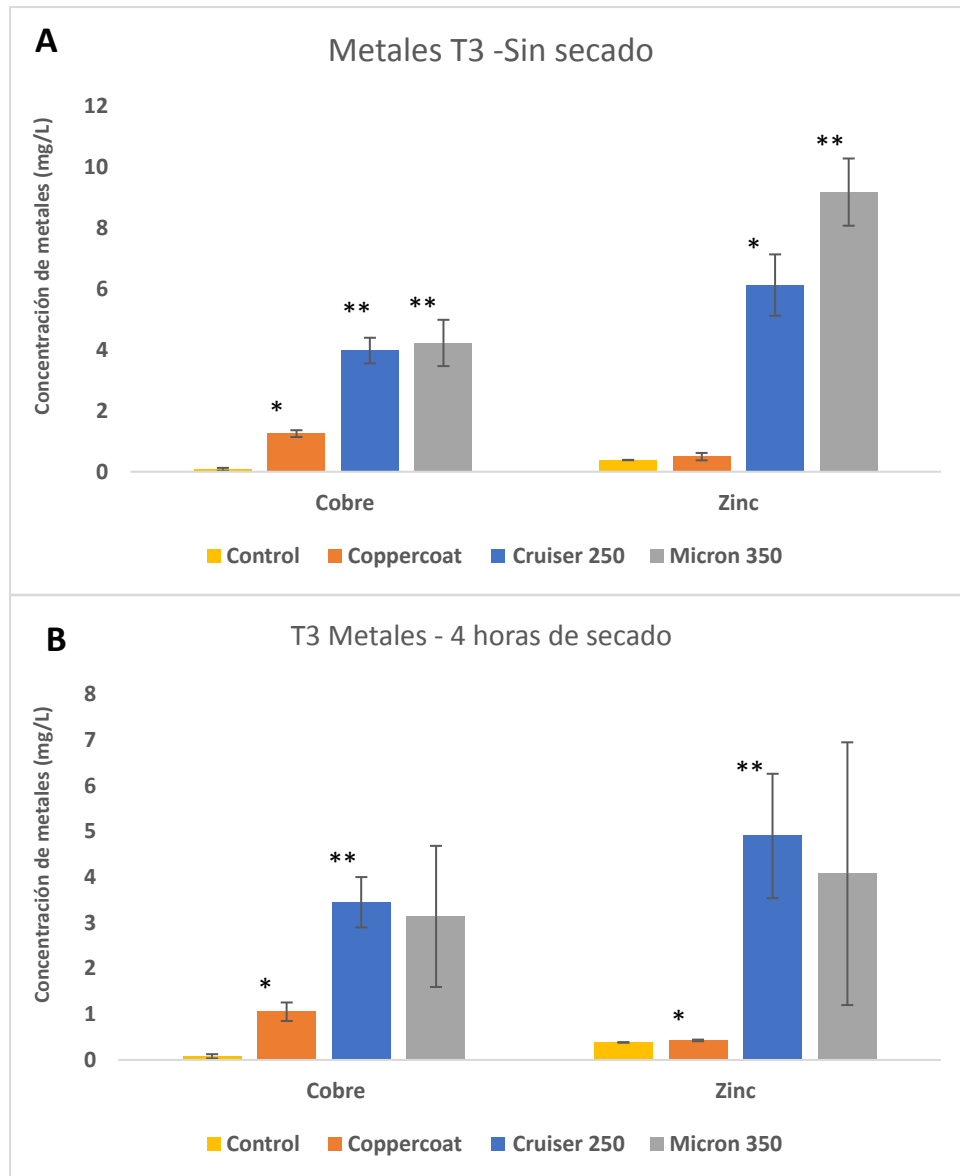




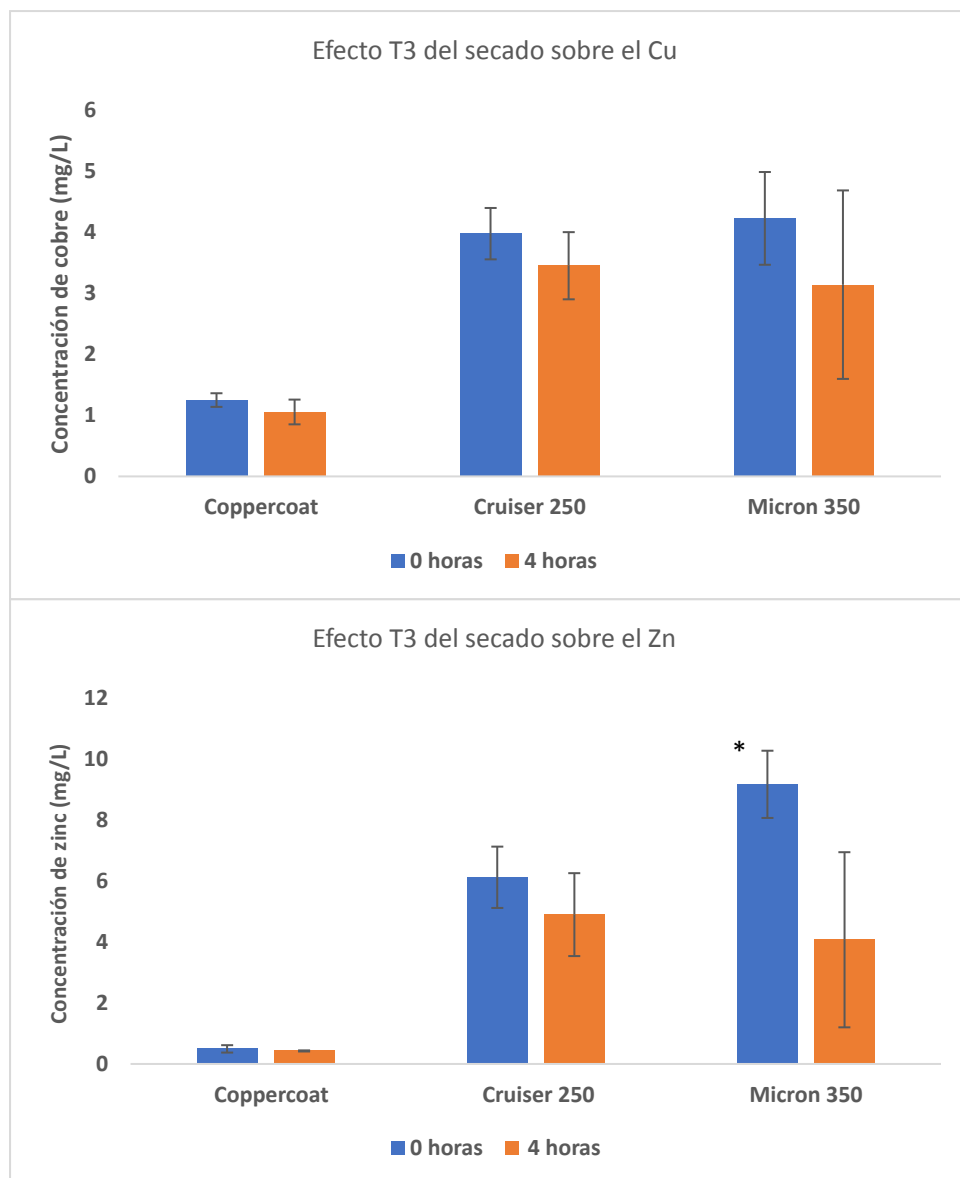
**Figura 17: Imagen representativa en primer plano de un panel Micron 350 tras tres limpiezas simuladas (fregado y lavado a presión), limpieza final de incrustaciones y secado. Obsérvese la marca circular de fregado estandarizado en la parte superior izquierda del panel y la marca lineal de lavado a presión estandarizado en la parte media a inferior derecha del panel.**



**Figura 18:** Imagen detallada representativa de un panel Coppercoat tras tres procesos simulados de limpieza (fregado y lavado a presión), limpieza final de incrustaciones biológicas y secado. Se observa una leve marca circular de fregado estandarizado en la parte superior izquierda del panel y no se aprecia ninguna marca de lavado a presión, a diferencia de los recubrimientos SPC evaluados.



**Figura 19:** Contenido de cobre y zinc en el agua de enjuague tras el fregado y lavado a presión estandarizados en el tercer punto de muestreo. A, paneles procesados inmediatamente sin dejar secar; y B, paneles secados durante 4 horas. Las barras de error muestran  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro paneles replicados ( $n=4$ ). Los asteriscos señalan grupos con diferencias significativas en la concentración de metales entre recubrimientos para un metal y tiempo de secado determinados ( $p>0,05$ ). Cabe destacar que tras 4 horas de secado (B), Micron 350 no mostró diferencias significativas respecto a los demás tratamientos, debido a que una de las cuatro réplicas presentó un contenido de metales muy bajo.



**Figura 20: Comparativa T3 del efecto del secado sobre el contenido de cobre (A) y zinc (B) en el agua de enjuague tras el fregado y lavado a presión estandarizados en Coppercoat y dos recubrimientos autopulimentantes. Las barras de error indican  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro paneles replicados ( $n=4$ ). Los asteriscos señalan grupos con diferencias significativas en la concentración de metales según el tiempo de secado para cada metal y recubrimiento ( $p>0,05$ ).**

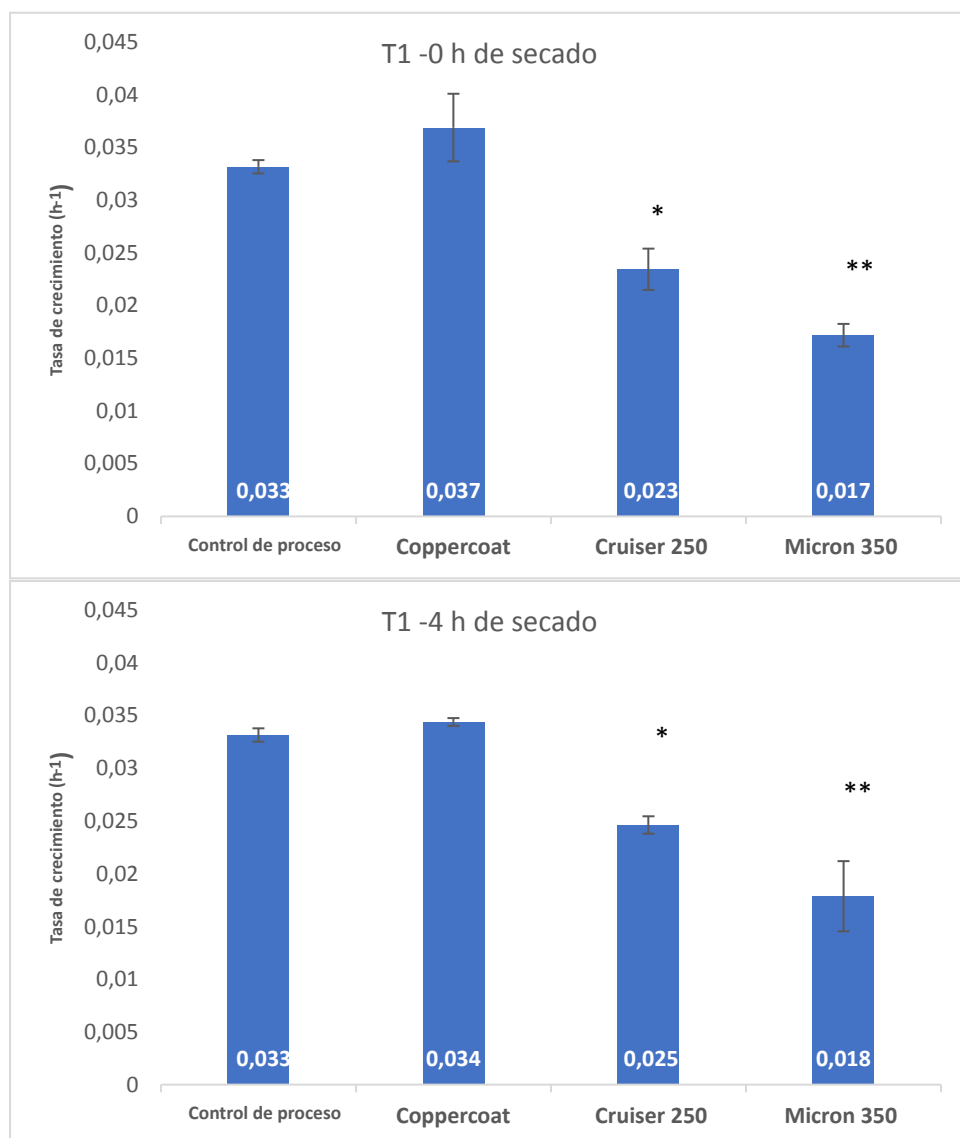
## 5.2 Ensayo de toxicidad aguda

Se realizaron ensayos de toxicidad aguda con la especie modelo de microalgas *Phaeodactylum tricornutum*. Se utilizó la fluorescencia de clorofila como indicador del crecimiento, ya que su cantidad refleja tanto el desarrollo como el estado de salud. La toxicidad puede evidenciarse como una reducción de la tasa de crecimiento (tasa de crecimiento  $> 0$  pero significativamente menor que el control), inhibición del crecimiento (tasa de crecimiento  $\sim 0$ ) o mortalidad del organismo (tasa de crecimiento  $< 0$ ).

### 5.2.1 Primer punto de muestreo (2 meses de inmersión)

Los resultados del ensayo de toxicidad tras la limpieza simulada de los paneles después de dos meses de inmersión se resumen en la Figura 21. En resumen, los enjuagues provenientes de los paneles Coppercoat no mostraron

la toxicidad medible con este método, en comparación con el control de proceso, mientras que los otros dos recubrimientos probados mostraron una reducción significativa en las tasas de crecimiento (Figura 21). Sin embargo, existía una diferencia notable entre ambos recubrimientos: Micron 350 siempre producía tasas de crecimiento inferiores a Cruiser 250. Esto concuerda con el contenido de metales en el agua de lavado (sección 5.1.1), donde generalmente Micron 350 mostraba una mayor liberación de metales que los paneles de Cruiser 250 (Figura 10).



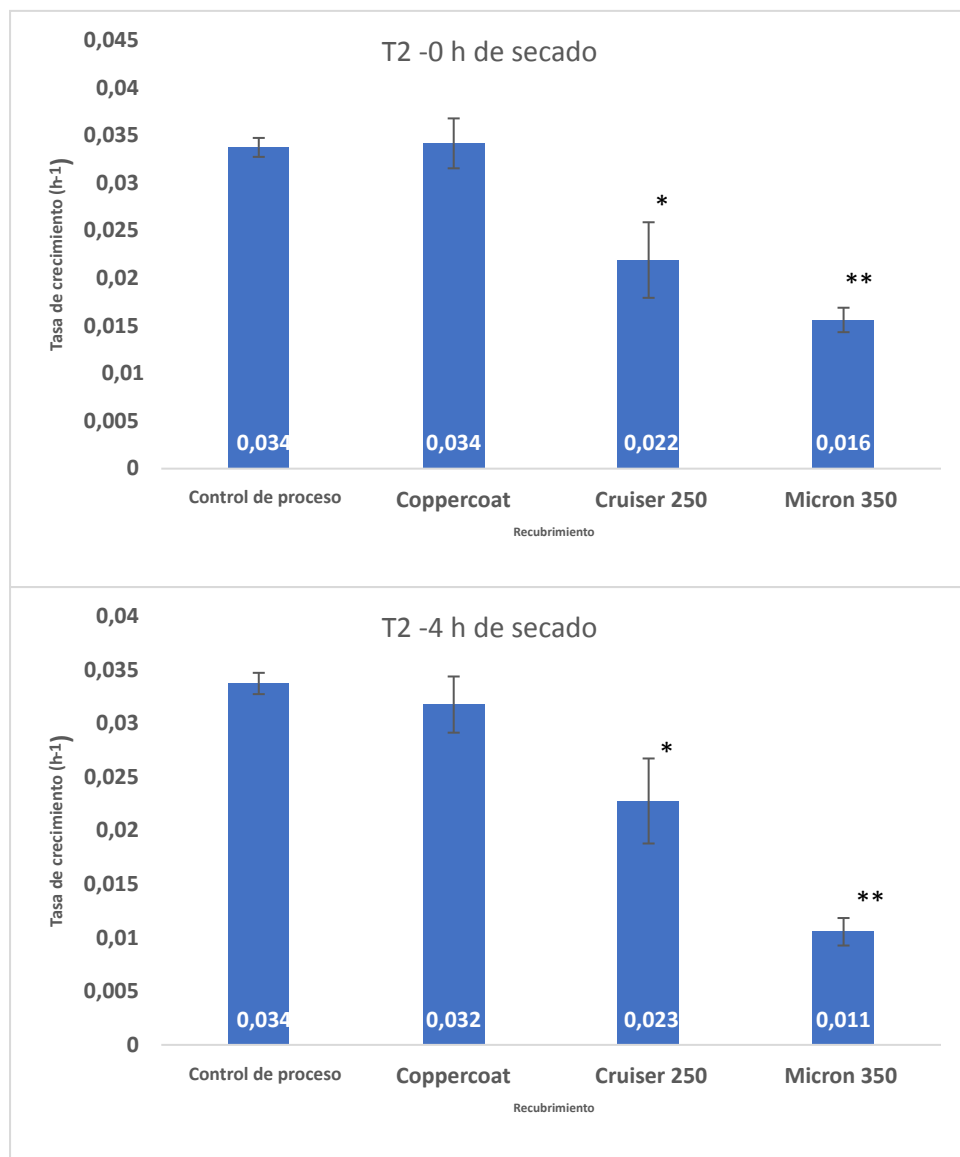
**Figura 21:** Tasa de crecimiento de *Phaeodactylum tricornutum*, basada en la fluorescencia de clorofila, tras 48 h de incubación en medio f/2 ASW procedente de lavados estandarizados por frotado y limpieza a presión de paneles cubiertos con diferentes recubrimientos, después de 2 meses sumergidos en el campo. Arriba: paneles tratados inmediatamente (0 horas de secado); abajo: paneles que se dejaron secar 4 horas antes de la limpieza simulada. La altura de las barras y el número en la base de cada barra representan valores promedio. Las barras de error reflejan  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro réplicas ( $n=4$ ) para los paneles con recubrimiento y tres réplicas ( $n=3$ ) para los controles de proceso. Los asteriscos señalan grupos con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre recubrimientos para cada tratamiento de secado.

El tiempo de secado no tuvo efecto sobre la toxicidad de los lavados, en ninguno de los recubrimientos probados, ya que las diferencias en las tasas de crecimiento entre sin secado y cuatro horas de secado estuvieron dentro del margen de error de este ensayo ( $p > 0,05$ ).



### 5.2.2 Segundo punto temporal (inmersión durante 4,5 meses)

Los resultados del test de toxicidad tras 4,5 meses de inmersión reflejaron de manera muy similar los resultados obtenidos a los 2 meses, tanto en las tasas de crecimiento absolutas como en las diferencias entre recubrimientos y tiempos de secado. El resumen del segundo test de toxicidad se muestra en la Figura 22.



**Figura 22:** Tasa de crecimiento de *Phaeodactylum tricornutum*, basada en la fluorescencia de clorofila, tras 48 horas de incubación en medio f/2 ASW proveniente de lavados estandarizados y limpiezas a presión de paneles recubiertos con distintos materiales, después de 4,5 meses de inmersión en campo. Arriba: paneles procesados inmediatamente (0 horas de secado) y abajo: paneles secados durante 4 horas antes de la limpieza simulada. La altura de las barras y el número en la base de cada barra representan los valores medios. Las barras de error muestran  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro réplicas (n=4) para los paneles recubiertos y tres réplicas (n=3) para los controles de proceso. Los asteriscos indican grupos con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre recubrimientos para cada tratamiento de secado.

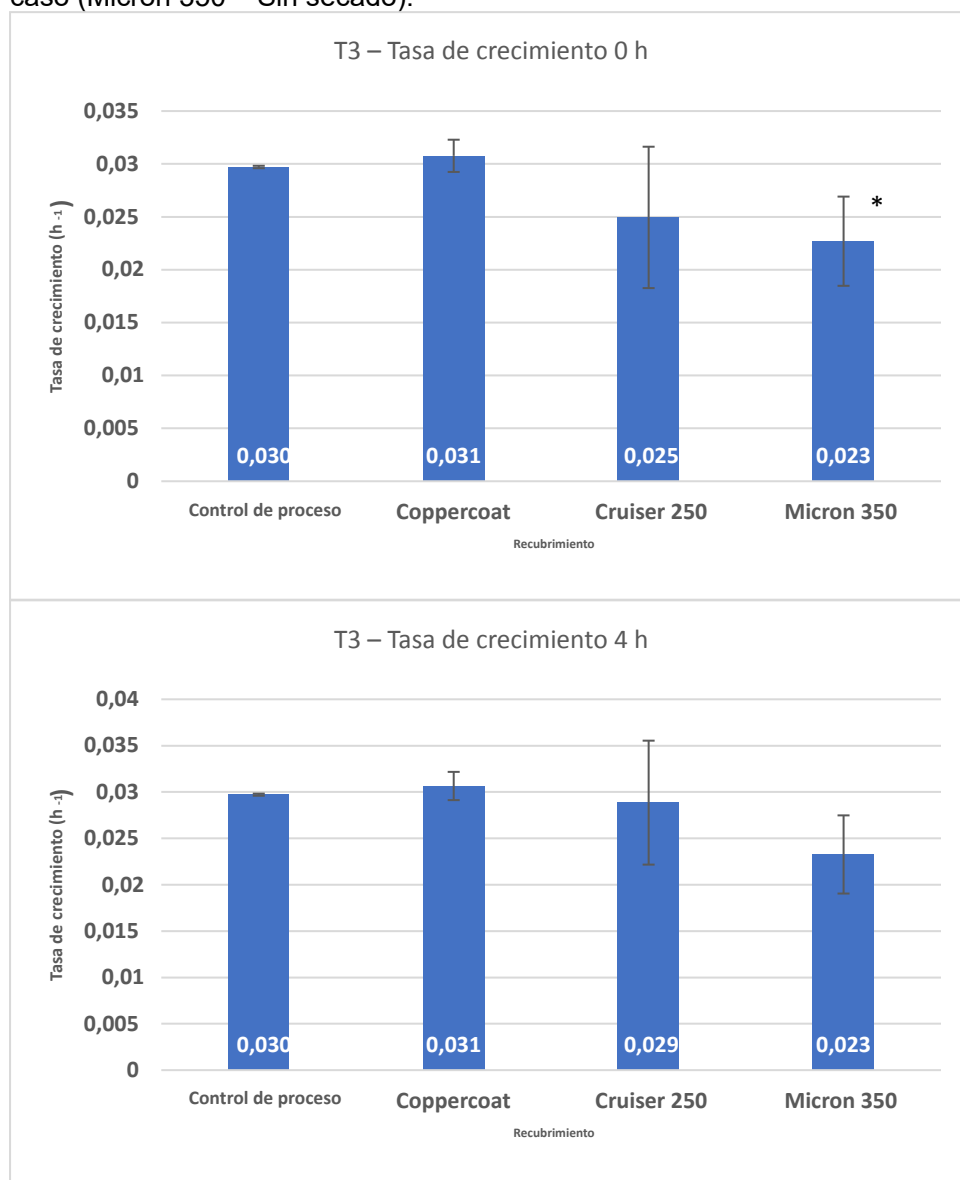
En resumen, los lavados de Coppercoat dieron tasas de crecimiento que no fueron significativamente distintas del control de proceso, demostrando así ausencia de toxicidad para el organismo de prueba según los métodos descritos aquí. Los lavados de Cruiser 250 y Micron 350 arrojaron tasas de crecimiento significativamente menores que el control y Coppercoat. Además, el lavado de Micron 350 resultó en tasas de crecimiento inferiores a las de Cruiser 250.

Como en la primera prueba de toxicidad, no se observó ninguna diferencia significativa entre 0 horas y 4 horas de secado para ninguno de los recubrimientos evaluados en este ensayo.

### 5.2.3 Tercer punto temporal (6,5 meses de inmersión)

Las pruebas de toxicidad realizadas sobre los lavados T3 reflejaron los niveles reducidos de metales en los dos SPC probados en paralelo con Coppercoat (ver Sección 5.1.3). Los resultados de este ensayo se resumen en la Figura 23.

Aunque las tasas de crecimiento para Cruiser 250 y Micron 350 disminuyeron en comparación con el control de proceso y Coppercoat, estas diferencias no fueron tan pronunciadas como en los dos primeros puntos temporales, y la reducción solo fue estadísticamente significativa en un caso (Micron 350 – Sin secado).



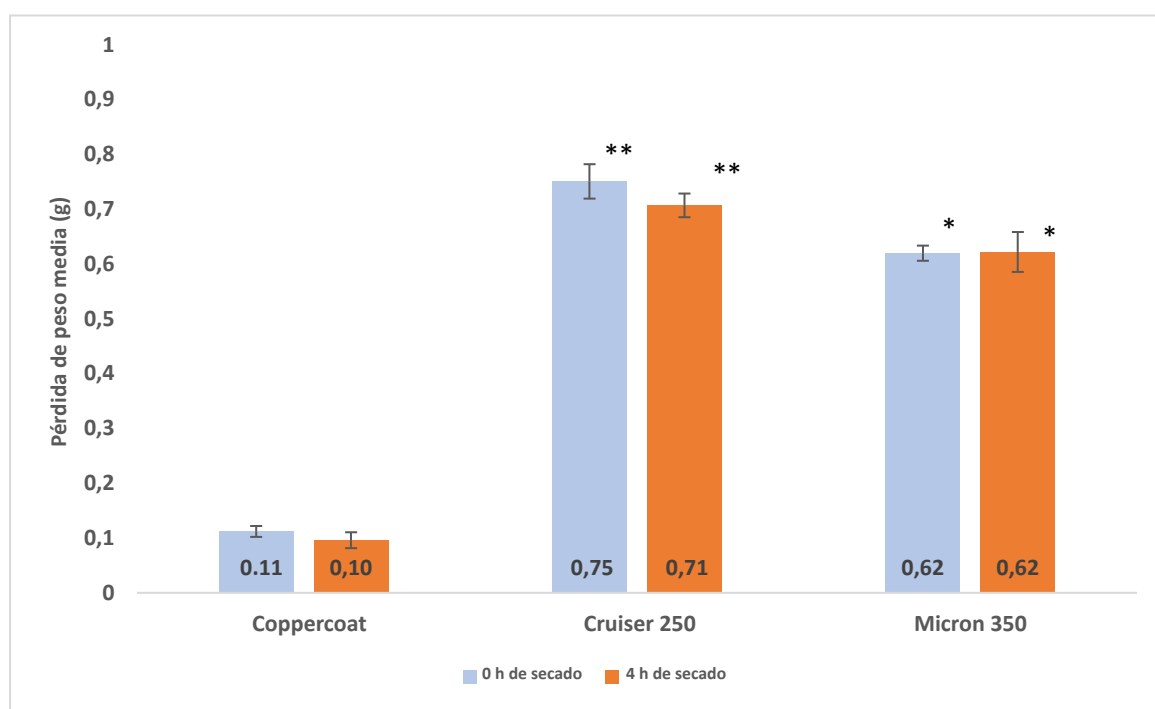
**Figura 23:** Tasa de crecimiento de *Phaeodactylum tricornutum*, basada en la fluorescencia de clorofila, tras 48 horas de incubación en medio f/2 ASW a partir de lavados estandarizados por fregado y lavado a presión de paneles recubiertos con diferentes pinturas, después de 6,5 meses (T3) de inmersión en campo. Arriba: paneles procesados inmediatamente (0 horas de secado); abajo: paneles secados durante 4 horas antes de la limpieza simulada. La altura y el valor al pie de cada barra representan los valores promedio. Las barras de error indican  $\pm 1$  desviación estándar de cuatro réplicas ( $n=4$ ) para los paneles recubiertos y tres réplicas ( $n=3$ ) para los controles de proceso. Los asteriscos señalan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre recubrimientos para cada tratamiento de secado.

### 5.3 Pérdida de peso del panel

Se registraron los pesos de los paneles al inicio y al final del ensayo. En la Figura 24 se muestra la pérdida de peso para distintos recubrimientos y tiempos de secado. La pérdida de peso es un buen indicador de la “suavidad” general del recubrimiento; un cambio menor de peso indica una capa más dura, con menos material (compuestos activos, biocidas, partículas de pintura, etc.) transferido al agua de lavado.

En resumen, Coppercoat presentó una pérdida de peso notablemente inferior en comparación con los dos SPC probados. Esta menor pérdida fue considerable, mostrando Coppercoat entre un 82% y un 86% menos pérdida de peso. Esto es similar a la reducción en la lixiviación de cobre observada durante el ensayo (59% - 88%, consultar la Sección 5.1).

El secado provocó una menor pérdida de peso en todos los casos, siendo estadísticamente significativa en dos de ellos (Coppercoat y Cruiser 250).



**Figura 24: Pérdida de peso en los paneles con diferentes recubrimientos después de tres rondas de limpieza y lavado a presión estandarizados. La altura de las barras representa el promedio (n=4) y las líneas de error indican  $\pm 1$  desviación estándar. Los asteriscos señalan grupos de significancia; es decir, barras con distinto número de asteriscos muestran medias significativamente diferentes entre sí ( $p < 0.05$ ).**

## 6 Debate y Conclusiones Finales

### 6.1.1 Conclusiones generales

En este estudio quedó claro que Coppercoat es un recubrimiento duro y que responde de manera muy diferente a la limpieza simulada en comparación con los recubrimientos autopulimentables.

Coppercoat liberó menos cobre, menos zinc y mostró una pérdida de peso general menor cuando se sometió al mismo régimen de limpieza simulada que los dos recubrimientos autopulimentables.

El agua de enjuague de Coppercoat tampoco mostró toxicidad aguda hacia la microalga *Phaeodactylum tricornutum*, mientras que los otros dos SPC sí presentaron indicios de toxicidad, evidenciados por una notable reducción en la tasa de crecimiento.

Los dos SPC analizados mostraron ciertos signos de fallo en la integridad del recubrimiento hacia el final del ensayo, manifestados en una menor lixiviación de metales y la aparición de zonas con descamación. Sin embargo, este ensayo no fue diseñado para evaluar la durabilidad o longevidad general de los recubrimientos probados.

Es fundamental considerar los resultados de este ensayo como una comparación entre recubrimientos sometidos a los mismos tratamientos estandarizados, y no como resultados independientes.

Por lo tanto, este informe no tiene como objetivo realizar afirmaciones sobre el impacto ambiental global de ninguno de los recubrimientos evaluados.

### 6.1.2 Utilidad de *Phaeodactylum tricornutum* como organismo de prueba y extrapolación de los resultados de toxicidad a otras especies

El agua de enjuague de Coppercoat resultó ser menos tóxica que la de los dos recubrimientos autopulimentantes analizados. Este resultado era previsible, dada la notable diferencia en la concentración de metales entre los residuos de limpieza de estos recubrimientos.

No obstante, el agua de enjuague de Coppercoat tampoco pareció ejercer un efecto tóxico sobre el crecimiento de *Phaeodactylum*. Este hecho fue inesperado, ya que los niveles de cobre detectados en el agua de Coppercoat deberían haber provocado una reducción medible en la tasa de crecimiento o incluso una inhibición total (Cid et al., 1995; Reiriz et al., 1994; Wei et al., 2014).

De hecho, ninguno de los residuos de limpieza alcanzó un nivel de toxicidad suficiente como para causar la muerte o inhibir por completo el crecimiento del organismo de ensayo. Aunque estos valores de toxicidad son mucho menores que los reflejados en parte de la bibliografía (ej. Cid et al., 1995), ya se habían registrado toxicidades igualmente bajas para el cobre (Wei et al., 2014). Esto probablemente se deba a que el agua generada en este ensayo presenta de forma natural un alto contenido de carbono orgánico proveniente del biofouling existente en los paneles, así como de los polímeros orgánicos presentes en los recubrimientos, lo que puede reducir la biodisponibilidad del cobre (Wei et al., 2014). Aunque los efectos tóxicos relativamente bajos observados en los tres recubrimientos resultan interesantes, profundizar en este aspecto quedaba fuera del alcance de este estudio.

### 6.1.3 Efecto del tiempo de secado en la liberación de metales y la toxicidad

En este estudio, el tiempo de secado, en la mayoría de los casos, no tuvo un impacto significativo ni en la liberación de metales ni en la toxicidad del agua de enjuague. Es decir, aplicando el mismo esfuerzo sobre los recubrimientos, la cantidad de metal desprendida fue aproximadamente igual. Esta tendencia se observó tanto en Coppercoat como en los dos recubrimientos autopulimentantes. Las condiciones de secado representaban el clima típico del Reino Unido (18 °C), por lo que no pueden extrapolarse necesariamente a zonas tropicales, donde cuatro horas de secado podrían influir mucho más en el comportamiento del recubrimiento. Además, en una situación realista, al secarse la suciedad, podría resultar más complicado retirarla, por lo que el esfuerzo de limpieza después de un periodo de secado sería mayor que en una limpieza inmediata tras sacar la embarcación del agua. Así pues, aunque aplicar exactamente el mismo esfuerzo en ambos tratamientos resulta útil para comparar el comportamiento de los recubrimientos, no constituye una simulación de limpieza completamente realista.

## 7 Referencias

- Cid, A., Herrero, C., Torres, E., Abalde, J., 1995. Toxicidad del cobre en la microalga marina *Phaeodactylum tricornutum*: efectos sobre la fotosíntesis y parámetros relacionados. *Aquatic Toxicology* 31, 165–174. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00071-W](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00071-W)
- Guillard, R.R.L., Ryther, J.H., 1962. Investigaciones sobre diatomeas planctónicas marinas. I. *Cyclotella nana* Hustedt y *Detonula confervacea* (Cleve). *Gran. Can. J. Microbiol.* 8, 229–239.
- International Organisation for Standardisation, 2016. ISO 10253:2016(E) Calidad del agua — Ensayo de inhibición del crecimiento de algas marinas con *Skeletonema* sp. y *Phaeodactylum tricornutum*. Ginebra.
- Kim, T., Obata, H., Gamo, T., Nishioka, J., 2015. Métodos de muestreo y análisis a bordo para determinar concentraciones subnanomolares de zinc en agua de mar. *Limnology and Oceanography: Methods*. <https://doi.org/10.1002/lom3.10004>
- Reiriz, S., Cid, A., Torres, E., Abalde, J., Herrero, C., 1994. Respuestas variadas del diatomea marina *Phaeodactylum tricornutum* ante la toxicidad del cobre. *Microbiología* (Madrid, España) 10, 263–272.
- Tovar-Sanchez, A., Twining, B., Lopez, J.S., Biogeoquímica, M., Lee, L., Mackey, K.R.M., 2019. La toxicidad del cobre en *Crocospheera watsonii* y otros fitoplancton marinos: una revisión sistemática. *Frontiers in Marine Science* | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org) 1, 511. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00511>
- Wei, Y., Zhu, N., Lavoie, M., Wang, J., Qian, H., Fu, Z., 2014. Toxicidad del cobre en *Phaeodactylum tricornutum*: un análisis sobre la sensibilidad de diferentes parámetros de toxicidad a nivel fisiológico, bioquímico, molecular y estructural. *Biometales* 27, 527–537. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9727-6>

Fin del informe







Registered Office:  
Prospect Place  
The Hoe, Plymouth  
PL1 3DH, UK

T +44 (0)1752 633412  
E [forinfo@pml-applications.co.uk](mailto:forinfo@pml-applications.co.uk)  
W [www.pml-applications.co.uk](http://www.pml-applications.co.uk)  
@PlymouthMarine

PML Applications Ltd is a  
company limited by share,  
registered in England & Wales,  
company number 4232750