

UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN QUÍMICA



TESIS DOCTORAL

**RECUBRIMIENTO DE HORMIGONES POROSOS
CON MATERIALES DE CARBÓN PARA SU USO
EN DESCONTAMINACIÓN AMBIENTAL**

David Espinosa Iglesias

Granada, Diciembre 2014

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: David Espinosa Iglesias
ISBN: 978-84-9125-038-8
URI: <http://hdl.handle.net/10481/39832>

RECUBRIMIENTO DE HORMIGONES POROSOS CON MATERIALES DE CARBÓN PARA SU USO EN DESCONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Memoria de Tesis Doctoral presentada por David Espinosa Iglesias
para aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de Granada

Fdo.: David Espinosa Iglesias
Licenciado en Química

Los Directores de la Tesis

Dr. Agustín F. Pérez Cadenas
Prof. Titular del Departamento de
Química Inorgánica de la
Universidad de Granada

Dra. M^a Isidora Bautista Toledo
Prof.a. Titular del Departamento de
Química Inorgánica de la
Universidad de Granada

Dra. M^a Aranzazu Díaz Bautista
Jefe de Proyectos I+D+i en Grupo
Cementos Portland Valderrivas,
Madrid

El doctorando DAVID ESPINOSA IGLESIAS y los directores de la tesis MARÍA ISIDORA BAUTISTA TOLEDO, AGUSTÍN FRANCISCO PÉREZ CADENAS y MARÍA ARANZAZU DÍAZ BAUTISTA. Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, Diciembre 2014

Directores de la Tesis:

María Isidora Bautista Toledo

Agustín Francisco Pérez Cadenas

María Aranzazu Díaz Bautista

Doctorando:

David Espinosa Iglesias

Agradecimientos:

Mi más sincero agradecimiento por su apoyo, dedicación y por brindarme la posibilidad de realizar esta tesis a los que han sido mis directores, Dr. Agustín Francisco Pérez Cadenas, Dra. Maria Isidora Bautista Toledo y Dra. María Aranzazu Díaz Bautista.

Quiero agradecer al Prof. Dr Francisco Carrasco Marín todo lo que me ha enseñado, tanto dentro como fuera del laboratorio y al Prof. Dr Francisco José Maldonado Hódar por sus sabios consejos, sin olvidarme del resto de miembros del Grupo de Materiales de Carbón de la Universidad de Granada.

A mis compañeros de laboratorio: Hakim, Esther, Mari, José, Carmen, Abdallah, Zula y Adrián de los que he aprendido muchísimo. Un gran grupo investigador pero sin duda, un gran grupo humano con una importante frase de optimismo como lema, "Todo va a salir bien". No me quiero olvidar a los que estuvieron de estancia por el laboratorio y que dejaron su huella: Sylwia, Camilo, Norberto.

Quiero agradecer también al grupo de carbones de la Universidad de Jaén: Vicky, Miguel Ángel, María y Paco por su ayuda y amistad.

Parte de mi trabajo experimental lo desarrollé en el laboratorio de Química General, en el cual también encontré gente estupenda dispuesta a aportarme sus conocimientos y amistad (Mahmoud, Raúl, Valente, Jacob, Iván, Alegría, Antoñico, Marta, Elena, Inma y David), sin olvidarme del resto de compañeros

becarios del departamento de Química Inorgánica (Manuel, Fernando, Fran y Víctor) y de otros compañeros de otros departamentos (Antonio y Fran Castillo).

Agradezco enormemente a mi familia, tanto los que están como los que se quedaron en el camino, por la ayuda y los valores aportados tan importantes en la consecución de esta Tesis. Una mención especial para la persona que tanto me ha apoyado en los buenos y malos momentos: Anabel. También a un grupo selecto de amigos: Esteban, Josele, Mery, Lidia, Susana y Salva, con los que he vivido grandes momentos y con los que he aprendido que las cosas con esfuerzo se pueden conseguir.

Quiero agradecer también al equipo técnico del centro de instrumentación científica por el gran trabajo que realizan, especialmente al encargado del laboratorio de preparación de muestras minerales (José Damián) por su precisión en el corte y su profesionalidad.

Por otra parte, quiero expresar mi agradecimiento al Grupo Cementos Portland Valderrivas por habernos suministrado los hormigones porosos utilizados en esta Tesis, y por la colaboración establecida en el marco del proyecto de investigación y desarrollo en Cooperación con título "HORMIGONES POROSOS DE ALTA RESISTENCIA COMO MATRIZ PARA LA FABRICACIÓN DE HORMIGONES POLIFUNCIONALES" (IDI-20111005), financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI), Entidad Pública Empresarial, dependiente del Ministerio de Economía y Competitividad.

**A mi familia,
amigos y a
ti Anabel**

"La única lucha que se pierde es la que se abandona"
Ernesto Che Guevara

ÍNDICE

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN, METODOLOGÍA Y OBJETIVOS DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL.....	1
1.1. HORMIGÓN CONVENCIONAL.....	3
1.2. HORMIGÓN POROSO	5
1.3. XEROGELES DE CARBÓN	12
1.4. DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS CONTAMINADAS.....	16
1.5. BACTERIAS SOPORTADAS SOBRE MATERIALES DE CARBÓN	23
1.6. <i>E. coli</i> SOPORTADA SOBRE MATERIALES DE CARBÓN PARA LA DESNITRIFICACIÓN DE AGUAS	25
1.7. OBJETIVOS.....	27
1.8. BIBLIOGRAFÍA	30
CAPÍTULO II: PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES.....	43
2.1. FABRICACIÓN DE HORMIGONES POROSOS	45
2.2. PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE CARBÓN	48
2.3. RECUBRIMIENTO DE CARBÓN DE LOS HORMIGONES POROSOS.....	52

2.4. PREPARACIÓN DE LA BIO-PELÍCULA Y REACCIÓN DE DESNITRIFICACIÓN	54
2.5. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN	56
2.5.1. Resistencia a compresión	58
2.5.2. Permeabilidad	60
2.5.3. Determinación de densidades y volúmenes accesibles al agua y mercurio	61
2.5.3.1. <i>Densidad geométrica</i>	<i>61</i>
2.5.3.2. <i>Picnometrías con agua y mercurio.....</i>	<i>63</i>
2.5.4. Porosimetría de mercurio.....	66
2.5.5. Adsorción física de gases	68
2.5.6. Análisis superficial de imágenes.....	69
2.5.7. Lixiviación de metales	71
2.5.8. Caracterización química de los materiales de carbón.....	75
2.5.8.1. <i>Análisis elemental</i>	<i>75</i>
2.5.8.2. <i>pH del punto cero de carga.....</i>	<i>75</i>
2.5.8.3. <i>Espectroscopía infrarroja</i>	<i>76</i>
2.5.8.4. <i>Espectroscopía Raman.....</i>	<i>76</i>
2.5.8.5. <i>Resonancia Magnética Nuclear ¹³C.....</i>	<i>76</i>
2.5.8.6. <i>Espectroscopía de fotoemisión de rayos X (XPS)</i>	<i>77</i>
2.6. BIBLIOGRAFÍA	77

**CAPÍTULO III: PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE CARBÓN
COMO SOPORTES DE *E.coli* PARA LA DESNITRIFICACIÓN
DE AGUAS 81****3.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE CARBÓN 84****3.1.1. Caracterización textural 84****3.1.2. Caracterización química 88****3.2. ELIMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA POR BACTERIAS *E.coli*
SOPORTADAS 95****3.3. CONCLUSIONES 100****3.4. BIBLIOGRAFÍA 101****CAPÍTULO IV: HORMIGONES POROSOS Y HORMIGONES
RECUBIEROS DE CARBÓN DE LA SERIE PC PARA LA
DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS 105****4.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS HORMIGONES DE LA SERIE PC
..... 107****4.1.1. Caracterización mecánica y de la textura porosa 108****4.1.2. Caracterización química 116****4.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS HORMIGONES RECUBIERTOS DE
CARBÓN DE LA SERIE PC 119**

4.2.1. Caracterización mecánica y de la textura porosa	120
4.2.2. Caracterización química.....	124
4.3. ELIMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA POR BACTERIAS SOPORTADAS.....	125
4.3.1. Eliminación de nitratos por bacterias soportadas sobre los hormigones de la serie PC	125
4.3.2. Eliminación de nitratos por bacterias soportadas sobre hormigones recubiertos de carbón PC1C y PC2C	128
4.4. CONCLUSIONES	131
4.5. BIBLIOGRAFÍA	133
CAPÍTULO V: HORMIGONES DE ALTA POROSIDAD DE LA SERIE HPC, Y RECUBIERTOS DE CARBÓN, COMO SOPORTES DE <i>E. coli</i> PARA LA DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS.....	137
5.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS HORMIGONES DE LAS SERIE HPC, HPCC Y HPCF.....	140
5.1.1. Caracterización mecánica y de la textura porosa	140
5.1.2. Caracterización química.....	145
5.2. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE DIFERENTES PARÁMETROS EXPERIMENTALES SOBRE LA CAPACIDAD DESNITRIFICANTE DE LA <i>E. coli</i> SOPORTADA.....	146

5.2.1. Fuente de carbono	146
5.2.2. Temperatura de desnitrificación.....	149
5.2.3. Presencia de iones metálicos: Cr(VI) y Zn(II)	151
5.3. ELIMINACIÓN DE NITRATOS POR BACTERIAS SOPORTADAS SOBRE LOS HORMIGONES DE LAS SERIES HPC, HPCC Y HPCF	153
.....	
5.3.1. Hormigones de la serie HPC	153
5.3.2. Hormigones de la serie HPC recubiertos de carbón.....	156
5.4. ELIMINACIÓN DE NITRATOS POR BACTERIAS SOPORTADAS SOBRE OTROS MATERIALES DE CONSTRUCCIÓN	160
5.5. CONCLUSIONES	164
5.6. BIBLIOGRAFÍA	167
CAPÍTULO VI: HORMIGÓN POROSO COMO SOPORTE PARA CRECIMIENTO DE ALGAS	173
6.1. INTRODUCCIÓN	175
6.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	179
6.3. CONCLUSIONES	189
6.4. BIBLIOGRAFÍA	190

ANEXO I: COMUNICACIONES A CONGRESOS Y PUBLICACIONES	193
RESUMEN DE LA TESIS DOCTORAL.....	197

CAPÍTULO I:

INTRODUCCIÓN, METODOLOGÍA Y OBJETIVOS DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

1.1. HORMIGÓN CONVENCIONAL

El hormigón es uno de los materiales más importantes en la industria de la construcción actual. Su empleo va desde pequeñas reparaciones hasta las grandes obras civiles que empezaron a construirse de hormigón a principios del siglo XX, con el comienzo de la fabricación industrial del Cemento Portland [1].

Se calcula que en el mundo se consumen al año alrededor de 4,5 billones de toneladas de hormigón. Esto es debido a su gran versatilidad en formas, elevada durabilidad frente a ambientes agresivos, fácil disponibilidad y bajo costo relativo [2]. Las estructuras de hormigón en general, constituyen una parte significativa e importante de la infraestructura nacional española [3].

El hormigón, se conoce en la actualidad como un material de construcción constituido básicamente por rocas o áridos, de tamaño máximo limitado, que cumplen ciertas condiciones en cuanto a sus características mecánicas, químicas y granulométricas, unidas por una pasta aglomerante formada por un conglomerante (cemento) y agua [4].

En la fabricación del hormigón la unión de los áridos se logra por medio de cementos que generalmente son cementos tipo Portland; estos pertenecen a la familia de los conglomerantes hidráulicos, y están formados por materiales pulverulentos artificiales de naturaleza inorgánica que reaccionan con el agua dando lugar a un producto sólido resistente y estable, tanto al aire como en el agua [5].

Este material se ha impuesto de tal forma que hoy es difícil encontrar una construcción en la que no esté presente en alguna parte de la misma. El hormigón continuará siendo el principal material que satisfaga las necesidades de la vivienda a nivel global y la infraestructura moderna.

El avance tecnológico de estos últimos años ha supuesto una importante mejora de los hormigones que se ha traducido en una mayor apertura hacia nuevas aplicaciones. Así, hoy en día no se concibe la fabricación del hormigón, sin el empleo de aditivos químicos que confieren algunos beneficios, como aceleración, retardado, entrada de huecos, reducción de agua, plasticidad, etc. La razón del gran crecimiento en el uso de aditivos es debido a que son capaces de dar beneficios físicos y económicos con respecto al hormigón sin aditivos. Estos beneficios incluyen el uso de estos hormigones en situaciones y aplicaciones donde antes no se podían utilizar [6], como el hormigonado en tiempo frío y caluroso, o aplicaciones tales como el hormigón autocompactante, etc; estos aditivos deben añadirse en cantidades que no superen más del 5 % de la masa de cemento según establece la instrucción actual EHE-08 [7], mejorando por ejemplo las aplicaciones de construcción de dovelas de túneles y arcos de puentes [8].

Existen también una gran cantidad de estudios referentes a distintos aditivos incorporados a la estructura del hormigón para modificar su porosidad [9-13], entre los cuales destaca los aireantes, que permiten incorporar durante el amasado del hormigón, una cantidad determinada de burbujas de aire, que permanecen después del endurecimiento. Se emplea para la fabricación de hormigón celular, cuya principal característica es la de ser un material con una baja densidad y con

propiedades aislantes, gracias a la red porosa no conectada. En esta línea se plantea el estudio en esta Tesis, de un material denominado hormigón poroso o permeable, donde a diferencia del celular, su red porosa está interconectada confiriéndole unas prestaciones especiales a diferencia del hormigón convencional, como una elevada tasa de drenabilidad y una baja densidad. Este material es idóneo para la mitigación de algunos problemas medioambientales como por ejemplo reducir la escorrentía superficial y favorecer la reducción del efecto de isla térmica, o dar servicio por su porosidad en arquitectura bioclimática mejorando la ventilación y reduciendo el ruido en pavimentos [14].

1.2. HORMIGÓN POROSO

El hormigón poroso es también referido como hormigón sin agregados finos o hormigón con graduación de huecos. Es una mezcla compuesta de cemento, cantidades controladas de agua, árido grueso, poco o nada de árido fino, y algunas veces otros aditivos [15].

El hormigón poroso ha sido empleado en varias ciudades europeas desde el siglo XIX [16]. Se han empleado también en caminos, como estructuras de muros de carga, paneles prefabricados y bloques curados con vapor [17].

Los pavimentos de hormigón poroso han sido utilizados durante los últimos 30 años en Inglaterra y Estados Unidos. Estos pavimentos son también ampliamente usados en Europa y Japón para aplicarlos en carreteras como capa de rodadura para mejorar la resistencia al deslizamiento y reducir el ruido del tráfico [18-20].

En la Tabla 1.1 se recoge a título de ejemplo la dosificación de materiales empleada en los hormigones porosos de distintas construcciones.

Tabla 1.1.- Dosificación empleada (por m³) para hormigones porosos en distintas obras.

Obra	Arido		Cemento (Kg)	Agua (L)	Polímero (L)	Húmo sílice (Kg)
	Grueso (Kg)	Fino (Kg)				
Variante de despeñaperros (N-IV)	5/20 1620	0/5 540	PUZ II-350 150	90	-	-
Autopista A1 Francia	5/20 20/40 675 675	0/5 300	CLK 150	70	-	-
California	5-25 1500	0/5 250	165	60	-	-
Aeropuerto de París	6,3/20 1350	0/5 250	CPJ 45 200	85	-	-
Japón (tránsito reducido)	0/13,2 1520	-	260		110	-

En cuanto al aspecto macroscópico de este material, la Figura 1.1 muestra gráficamente la diferencia entre un hormigón convencional con agregado fino y un hormigón poroso sin este tipo de agregado.

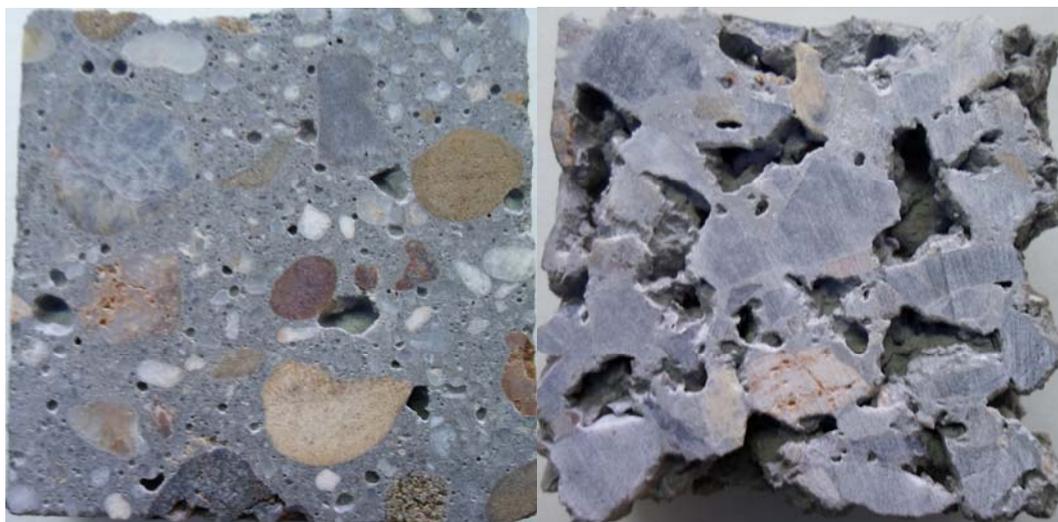


Figura 1.1.- Fotografías de probetas de hormigón convencional (izquierda) y hormigón poroso (derecha).

Así, se ha establecido que una gradación de árido grueso uniforme en combinación con bajo contenido en agua, y por tanto relaciones agua/cemento entre un rango de 0,25 a 0,35 dan lugar generalmente a hormigones con contenidos en huecos que pueden oscilar entre el 11 % y el 35 % [21,22]. Estos poros proporcionan una serie de características al hormigón muy interesantes como son: baja densidad del material, alta permeabilidad al agua y capacidad de drenaje, o capacidad como aislante acústico [23-25]. Sin embargo, en contraposición la resistencia a compresión, tracción, y flexión de mezclas de hormigón poroso tienden a ser menores que el hormigón convencional debido a la alta proporción de huecos y la falta de agregado fino [26]. Precisamente debido al mínimo contenido de agregados finos, la resistencia depende principalmente de la interacción entre la pasta de cemento y el agregado grueso, aunque la adición de materiales como humo de sílice y plastificantes también contribuyen a la mejora de esta. El hormigón poroso para ser aplicado con garantía como pavimento

necesita normalmente una resistencia a compresión entre 3000 psi (20,5 MPa) y 4000 psi (28 MPa) [27], sin embargo, los hormigones porosos preparados hasta ahora no suelen superar los 20 MPa de resistencia a compresión [22].

Entre los principales factores que contribuyen a la obtención de un hormigón poroso se encuentran: la relación agua/cemento, características de la pasta de cemento, proporción en volumen de árido grueso y el tamaño de áridos [28]. En general, mayor contenido en agua conduce a una mayor densidad, menor porosidad, mayor resistencia a la compresión y reducción de la conductividad hidráulica del material poroso [29]. Con el fin de lograr la estructura deseada del poro, la dosificación de hormigones porosos suele realizarse utilizando áridos gruesos clasificados brecha y poco o nada de áridos finos. El rango de porosidad que suele utilizarse está aproximadamente entre 15-30 % [30,31], y obviamente, todo esto también depende del método de compactación adoptado.

Tabla 1.2.- Aplicaciones del hormigón poroso.

Pavimentos de bajo volumen	Estabilizadores de taludes
Zonas residenciales, paseos y calzadas	Patios
Estacionamientos	Alcorque en aceras
Sumideros en bordillos	Suelos para invernaderos, piscifactorías, centros acuáticos y zoos
Cruces bajo el agua	Estructuras hidráulicas
Pistas de tenis y pádel	Espigones y rompeolas
Arrecifes artificiales	Pantallas acústicas

La Tabla 1.2 recoge algunas aplicaciones en las que actualmente se puede encontrar el hormigón poroso principalmente como pavimento. En la actualidad,

la mayoría de aplicaciones de los hormigones porosos en nuestro país se reducen a su empleo en pistas deportivas. La principal ventaja que ofrece el hormigón poroso como material permeable es su capacidad para transportar grandes volúmenes de agua a través de su estructura, reduciendo o eliminando los problemas asociados con la escorrentía de aguas pluviales [32]. El pavimento de hormigón poroso posee unas ventajas importantes que pueden mejorar la calidad de vida de las ciudades como son [33]:

(i) El agua de lluvia puede filtrar rápidamente en el suelo, por lo que los recursos de agua subterránea pueden renovarse en el tiempo. (ii) Debido a la permeabilidad tanto al aire como al agua, el subsuelo puede mantenerse húmedo. Esto mejora el ambiente en la superficie de la carretera. (iii) Puede absorber el ruido de los vehículos, lo que crea un ambiente tranquilo y confortable. En los días de lluvia, el pavimento no produce salpicaduras y no deslumbra por la noche. Esto mejora el confort y la seguridad de los conductores. (iv) Debido a su color, almacena menos calor que el hormigón convencional o asfalto, lo que contribuye a reducir el efecto isla de calor (menor índice de reflectancia). Además, los huecos permiten que el agua almacenada en el suelo se evapore en un clima cálido, evitando un aumento de la temperatura. El efecto isla de calor es una situación urbana que se presenta por la acumulación de calor producida por la gran cantidad de construcciones de hormigón y demás materiales absorbentes de calor. El aumento de las temperaturas urbanas tienen un efecto negativo sobre el medio ambiente natural y humano mediante la producción de un mayor uso de la energía y la formación de smog [34].

Este comportamiento depende de una superficie porosa con elevado número de huecos interconectados. Por ejemplo, un 15-25 % de huecos interconectados favorece el drenaje del agua en exceso para flujos de agua con valores comprendidos entre 0,2 cm/s (120 L/m²/min) y 0,54 cm/s (320 L/m²/min) [35], este valor varía en función del tamaño del agregado y de la densidad de la mezcla.

Pero además existen otras aplicaciones potenciales para el hormigón poroso [36], tales como aislante acústico, aislante térmico, o como capa base para vegetación u organismos vivos [37].

Respecto a la aplicación del hormigón poroso, para el aislamiento térmico y/o acústico [38], puede ser una solución muy competitiva para cumplir los requisitos de la Directiva de Eficiencia Energética de los Edificios (EPBD), cuyo objetivo es la reducción del consumo energético europeo. Las políticas medioambientales apuestan firmemente por la edificación energética, como uno de los principales medios para alcanzar el objetivo de la emisión de un 50-85 % menos de CO₂ para el año 2050, así como la reducción del consumo de energía en los edificios [39]. La principal ventaja energética derivada del uso del hormigón poroso es su elevada inercia térmica, con el consiguiente ahorro energético y la mejora de la calidad ambiental interior para los usuarios de los edificios. Por otro lado, el hormigón poroso no solo mejora la absorción acústica de edificios, sino que también es ampliamente utilizado en pavimentos para reducir considerablemente el ruido producido por el tráfico [23,40].

Sin embargo, una de las aplicaciones potenciales más llamativa del hormigón poroso es como pavimento “verde”, el cual posee desde el punto de vista medioambiental un impacto mínimo, humedecen el ambiente favoreciendo retención y drenaje del agua hacia el terreno. No obstante, la mayoría de los estudios de crecimiento biológico sobre este tipo de materiales va ligado al empleo conjunto con una capa de sustrato. El hormigón poroso puede tener características de auto-adaptación (grado de alcalinidad y grado de humedad deseado para que la planta crezca) y auto-alimentación (nutrientes necesarios) que junto con el sustrato puede dar lugar al crecimiento de plantas [37]. Para producir este tipo de materiales con la base de hormigón poroso se emplean diferentes agregados.

Por otro lado, en los últimos años se ha realizado una cantidad importante de estudios acerca de la utilización de hormigón poroso como material filtrante de aguas contaminadas [41-43]. También, se ha desarrollado un hormigón poroso que junto con materia mineral y el crecimiento de hierba actúa como sistema filtrante para purificación de aguas. Con este sistema se han conseguido tasas de eliminación del 87 %, 70 % y 90 % para contaminantes orgánicos, nitrógeno total y fósforo total respectivamente [43].

1.3. XEROGELES DE CARBÓN

Los materiales de carbón se utilizan ampliamente en procesos de adsorción y catálisis debido a sus excelentes propiedades texturales (porosidad y superficie específica) y químicas superficiales [44,45]. Además, es relativamente fácil modificar dichas propiedades a través de diversos procesos físico-químicos para adecuarlos a aplicaciones específicas.

Algunas de las ventajas más importantes de los materiales de carbón son una elevada área superficial, su estructura porosa es estable, incluso a altas temperaturas en ausencia de oxígeno. Esta estructura porosa puede ejercer una influencia muy importante sobre la selectividad en procesos de adsorción o catálisis. Por otra parte, la porosidad de los materiales de carbón puede ser modificada para obtener una distribución de tamaños de poros más idónea para el proceso de aplicación. El principal problema de los materiales de carbón es que poseen una resistencia mecánica baja [46], y por tanto son sensibles a la abrasión.

Uno de los tipos de materiales de carbón que más atención está despertando en los últimos años son los geles de carbón: aerogeles y xerogeles. Junto a las ventajas de los materiales de carbón clásicos, los geles de carbón también presentan una alta porosidad, que se puede ajustar a escala nanométrica mediante un control exhaustivo de las condiciones de síntesis, y además obtenerse materiales con una composición química muy concreta y perfectamente conocida. En particular, sus propiedades texturales derivan de su microestructura, formada por partículas primarias interconectadas con diámetros característicos entre 3 y 25 nm, dejando

un retículo poroso (alrededor del 80 % del volumen) altamente interconectado, elevada área superficial, bajas densidades, presentan además baja conductividad térmica y acústica, y cierta conductividad eléctrica. Estas propiedades los hacen especialmente interesantes para aplicaciones como aislantes térmicos y acústicos, fabricación de electrodos, condensadores, células de combustible, soporte de catalizadores, adsorbentes, etc [47-54].

Los geles de carbón se obtienen mediante carbonización de geles orgánicos. Estos materiales fueron originalmente desarrollados por *Pekala y col* [55] mediante la polimerización de resorcinol (R) y formaldehído (F) en disolución acuosa (W), en la que también suele intervenir un catalizador (C). La síntesis de estos materiales implica cuatro etapas fundamentales: preparación de mezclas, gelación y curado, secado y carbonización.

En primer lugar se disuelven los reactivos y el catalizador en las proporciones adecuadas, y estas soluciones se vierte en moldes especialmente diseñados según la forma deseada del gel, que se sellan, y posteriormente se someten a un programa de temperaturas adecuado, tanto para obtener un gel estable como para proceder con una etapa de curado. Una vez que se ha completado el proceso de curado, el hidrogel obtenido debe de ser secado como paso previo a la carbonización. Si el hidrogel es secado mediante el empleo de fluidos supercríticos (como el CO₂), al final del proceso se obtendrá un **aerogel** de carbón. Por otro lado, si para el secado del hidrogel se emplean procesos térmicos en condiciones subcríticas que provoquen la evaporación del disolvente, al final

del proceso se obtendrá un **xerogel** de carbón. En la Figura 1.2 se presenta un esquema del proceso de preparación de un gel de carbón.

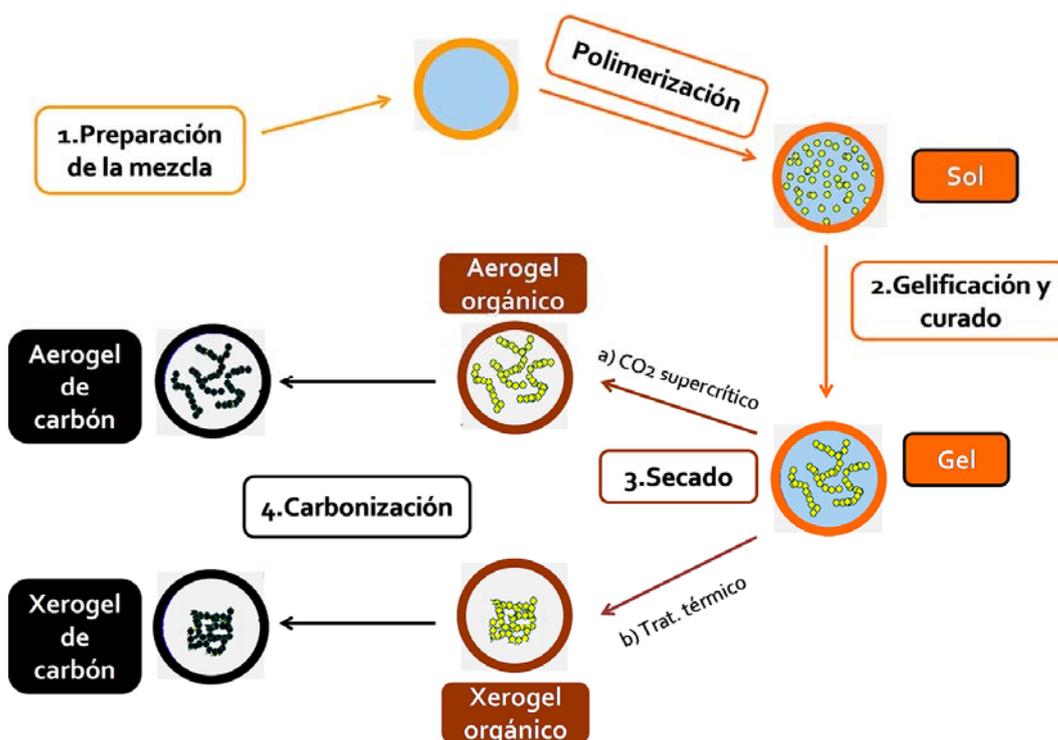


Figura 1.2.- Esquema del proceso de preparación de geles de carbón.

La estructura de gel de carbón consiste en una red tridimensional altamente porosa constituida por partículas esféricas más o menos interconectadas. La macro-mesoporosidad se define durante el proceso de gelificación, y corresponde a los huecos formados entre las partículas de gel y que son ocupados inicialmente por el disolvente [56]. El tamaño de partícula primaria y el grado de solapamiento definen el carácter macro-meso del gel, por lo tanto, se determina por los parámetros de síntesis que influyen en la polimerización y las condiciones de

curado (preparación de la mezcla, agitación, temperatura, pH, etc). La porosidad del gel formado debe ser preservada después del secado. Claramente, el método de secado supercrítico es el más adecuado para preservar la porosidad del hidrogel, evitando en gran medida (aunque no totalmente) el colapso de la estructura porosa provocada por las fuerzas de tensión entre el disolvente y las paredes de los poros durante el proceso de secado [57,58].

Se ha investigado ampliamente sobre los factores que afectan en las diferentes etapas de la preparación de los geles de carbón, y su efecto posterior sobre las características físico-químicas del material, concretamente en el Grupo de Investigación en Materiales de Carbón de la Universidad de Granada se ha innovado ampliamente en el empleo de nuevas mezclas poliméricas [59-65], en la aplicación de nuevos procesos de secado y su efecto sobre las propiedades finales del material [63], siendo también pioneros en la obtención de geles de carbón dopados con metales [63,66,67]. Sin embargo, un aspecto que ha despertado poco interés hasta la fecha ha sido el empleo de otros métodos de carbonización no convencionales. En este sentido, el empleo de microondas como fuente térmica para el proceso de carbonización se considera un aspecto altamente innovador [68,69], ya que, no se ha encontrado hasta la fecha ninguna referencia bibliográfica sobre geles de carbón obtenidos mediante carbonización asistida por microondas.

Otro aspecto muy importante y particular que tienen los geles de carbón, es que pueden ser preparados con diversos formatos o morfologías: pellets, polvo, barras, o películas. Además, recientemente se ha demostrado su aplicación como

recubrimiento de estructuras cerámicas con fines catalíticos [70,71], lo que hace de estos materiales unos candidatos muy versátiles como soporte de catalizadores en procesos heterogéneos y/o bio-catalíticos.

Por otro lado, la preparación de materiales cerámicos recubiertos de carbón en general, o de xerogel de carbón en particular, permite obtener un material funcional con características singulares y únicas. La estructura cerámica proporciona las propiedades geométricas y mecánicas, mientras que la capa de carbón proporciona las características adecuadas para favorecer los procesos de adsorción y/o catálisis, ajustando sus propiedades químicas superficiales [72-74].

Los materiales se pueden recubrir de carbón mediante diferentes métodos: método de fusión [75], deposición química del vapor (CVD) [76,77] o mediante mojado [72] dependiendo del tipo de soporte y de la aplicación concreta del material. No obstante, para el recubrimiento con xerogel de carbón de un material cerámico o un hormigón, el método de mojado es el más adecuado.

1.4. DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS CONTAMINADAS

El nitrógeno suele encontrarse en el agua formando parte de diversas especies químicas, como los compuestos orgánicos, el amoníaco, o en forma iónica como los nitratos y nitritos, siendo todos ellos indeseables en el agua potable. Los nitratos (NO_3^-) son iones que pueden interactuar con compuestos orgánicos e inorgánicos, forman parte del ciclo del nitrógeno que se produce en el medio ambiente, pudiendo transformarse en nitritos (NO_2^-), y viceversa. Todas estas

especies pueden encontrarse en el suelo, alimentos y en agua. Los nitratos son muy solubles en agua y por tanto, pueden llegar al agua de consumo humano fácilmente, sin conferirle sabor, color ni olor.

Las fuentes principales de donde proceden los nitratos y nitritos fundamentalmente son los fertilizantes, estiércol y los desechos orgánicos urbanos e industriales, además de producirse en la descomposición natural de las proteínas de las plantas o animales por medio de microorganismos que dan lugar al catión amonio (NH_4^+), el cual se oxidaría a nitrito y finalmente a nitrato. El exceso de abonado de los suelos agrícolas suele ser la principal causa de la presencia de nitratos en los acuíferos. Además, una alta concentración de estos iones en el agua favorece una superpoblación de algunas plantas, ya que disponen de mucho nitrógeno para la síntesis de sus proteínas. Esta superpoblación vegetal en el agua deriva en la eutrofización de ríos y lagos, donde también proliferan microalgas nocivas [78,79]. Así, se produce un fenómeno de enturbiamiento del agua, que dificulta el paso de la luz solar impidiendo la fotosíntesis en el fondo de estos ecosistemas, los cuales, finalmente se convierten en un medio anóxico, debido a que la superpoblación de algas consume una gran cantidad de oxígeno.

La toxicidad primaria de los nitratos en el agua de consumo es baja, pero los efectos secundarios y terciarios debidos a la reducción a nitritos y formación de nitrosamidas son mayores. Los efectos de las nitrosamidas están ampliamente estudiados, siendo muy perjudiciales para la salud humana y animal debido a que poseen la característica de ser cancerígenos, sobre todo producen cáncer en el aparato digestivo y enfermedades como la metahemoglobinemia, según la O.M.S.

[80]. Según el comité conjunto de la FAO/OMS (JEFCA) en el año 2002 estableció que los valores de Ingesta Diaria Admisible (IDA) para nitratos son inferiores a 3,7 mg/Kg de peso corporal y para nitritos inferiores a 0,07 mg/Kg de peso corporal. Para el agua de consumo humano los municipios son los responsables de asegurar que el agua suministrada sea apta para el consumo perteneciendo a la Consejería de Sanidad autonómica el asegurar que se cumple el R.D. 140/2003. El Real Decreto 140/2003 de 7 de febrero que establece los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, estableciendo los máximos permitidos de nitratos y nitritos cuyas concentraciones máximas son 50 y 0,5 mg/L respectivamente, para el consumo humano, siendo este un amplio margen de seguridad debido a que los niños menores de 4 meses son los más vulnerables debido a que pueden adquirir la enfermedad de la metahemoglobinemia [81].

En la actualidad existen varias técnicas para la eliminación de los nitratos en las aguas basadas en diferentes tratamientos físico-químicos, biológicos y catalíticos [82]. Estas se pueden clasificar en dos grupos:

A) Las técnicas de separación, como su nombre indica, pretenden separar los nitratos de la corriente de agua a depurar, concentrándolos en un segundo desecho (la salmuera) que habría que tratar o almacenar en un depósito. Estas técnicas son: la electrodiálisis, la ósmosis inversa y las resinas aniónicas. Éstas son las más utilizadas en la actualidad para el tratamiento de aguas naturales contaminadas por nitratos y aunque dan muy buenos resultados son caras, y no transforman el nitrato en un compuesto inofensivo, sino que generan una salmuera

concentrada en nitratos, sin ningún valor económico y que hay que tratar o almacenar adecuadamente.

B) Las técnicas de transformación pretenden transformar los nitratos en otros compuestos químicos inocuos por medio de vías biológicas o catalíticas. Los procesos biológicos se suelen utilizar actualmente en el tratamiento de las aguas residuales e industriales y se incorporan a muchas depuradoras, dando resultados muy satisfactorios. El proceso de desnitrificación biológica puede llevarse a cabo mediante bacterias heterótrofas o autótrofas.

Algunas bacterias heterótrofas bajo condiciones anaeróbicas usan los iones nitratos y nitritos que contienen las aguas contaminadas para respirar. El oxígeno unido químicamente en estos iones actúa como el aceptor final de electrones, y el producto de reacción final es nitrógeno gaseoso. En este proceso las bacterias transforman los nitratos en nitrógeno molecular que pasa del agua a la atmósfera, en un medio anóxico, consumiendo materia orgánica. Las principales bacterias capaces de desnitrificar el agua mediante este mecanismo son [83]: *Pseudomonas*, *Paraccocus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Alcalibacter*, *Flavobaterium*, o *Spirillum*. La mayoría de los estudios sobre la desnitrificación por bacterias heterótrofas desnitrificantes han demostrado que los cultivos requieren la presencia de carbono como donador de electrones para la reducción de nitrato y nitrito, el cual debe ser añadido al agua que está siendo tratada, este carbono puede proceder de diferentes fuentes como puede ser etanol o ácido acético [84].

Por otro lado la desnitrificación también puede llevarse a cabo mediante algunas bacterias desnitrificantes quimiolitioautótrofas que pueden oxidar compuestos inorgánicos de azufre (sulfhídrico, azufre elemental, tiosulfato o sulfito) anaeróbicamente mediante la reducción del nitrato. Únicamente las bacterias *Thiobacillus denitrificans* y *Thiomicrospira denitrificans* crecen a pH neutro y hacen este proceso [85].

Los microorganismos son ampliamente utilizados para la eliminación de una gran variedad de sustancias, haciendo un repaso a la bibliografía existente podemos encontrar numerosos ejemplos. Entre estos microorganismos encontramos que las bacterias son muy versátiles en cuanto a la cantidad y tipo de sustancias que pueden transformar y degradar. Aprovechando estas características de las bacterias, se han inmovilizado en diferentes materiales, a continuación se describen algunos ejemplos.

La cianobacteria termófila *Phormidium laminosum* es capaz de eliminar iones nitrato y fosfato del agua, al ser termófila pueden soportar temperaturas altas, por lo que puede actuar en fotobiorreactores a temperaturas en torno a los 43 °C. Así [78], *P. laminosum* fue fijada en fibras huecas de celulosa, y estas fibras están unidas a tubos transparentes de PVC (Policloruro de vinilo) para fijarlos al fotobiorreactor. Una de las grandes ventajas que tienen estas bacterias es que pueden trabajar en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, y pueden llegar a crecer más que las plantas acuáticas, siendo positivo frente a la eutrofización de lagos y ríos.

En las aguas subterráneas también encontramos nitritos y nitratos, para llevar a cabo la desnitrificación, se ha probado preparando biopelículas con la microbiota presente en estas aguas, pero este es un proceso demasiado lento. Sin embargo, soportando previamente la bacteria *Hydrogenophaga pseudoflava* en películas de metacrilato [86] se ha comprobado que la desnitrificación transcurre mejor.

Otra bacteria con capacidad para desnitrificar el agua en medio anaeróbico es *Pseudomonas sp.*, en concreto la cepa 2nII. Esta cepa fue incorporada a un biorreactor con diferentes fuentes de carbono sólidas creando biopelículas donde quedaron fijadas las bacterias sobre diferentes polímeros que son usados como fuente de carbono. Como polímeros se utilizaron ácido poli-3-hidroxi-butirato, poli-3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-valerato y ácido poli-3-hidroxi-valérico [87].

Además de las bacterias existen otra serie de microorganismos capaces de biocatalizar la descomposición de moléculas difícilmente degradables o moléculas contaminantes como son los hongos [88]. Podemos encontrar hongos como *Phanerochaete chrysosporium* que es capaz de degradar lignina, *Phanerochaete laevis* degrada hidrocarburos aromáticos policíclicos, o *Phanerochaete sordida* que degrada dioxina, todos ellos fijados sobre diferentes superficies.

También cabe mencionar que existen, además de los materiales de carbón, otros materiales que puedan ser también empleados como soportes de bacterias, como puede ser el PVC (cloruro de polivinilo), LDPE (polietileno de baja densidad) y HDPE (polietileno de alta densidad) entre otros soportes plásticos [89] o el propio hormigón poroso.

Este hormigón poroso proporciona un entorno adecuado para el crecimiento microbiano y bacteriano. Estas bacterias (incluyendo bacterias aeróbicas tales como nitrobacterias, metanobacterias y desnitrificantes o algunas anaeróbicas) dan lugar a la formación de una bio-película que pueden contribuir a la purificación de aguas [90]. Así hay autores que han estudiado la desnitrificación del agua utilizando un hormigón que se ha sumergido en el agua de un río para formar la biopelícula para, posteriormente, sumergirlo en un agua contaminada con nitratos [91].

En las aguas contaminadas de una central nuclear por elementos radiactivos, se lleva a cabo un proceso de separación para concentrar estos elementos llamado PUREX (Plutonium-Uranium Extraction) para su posterior almacenamiento adsorbidos en una matriz bituminosa dentro de unos tanques de hormigón. En este proceso se le agrega diferentes sales, entre ellas nitratos, para precipitar los radionúclidos. La presencia de nitratos puede originar unas condiciones favorables para un ambiente oxidante lo que daría lugar a la movilidad de una serie de radionúclidos. La presencia de sustancias reductoras en estos tanques de almacenamiento pueden restablecer las condiciones favorables para la seguridad de estos almacenamientos.

Recientemente se ha llevado a cabo la reducción de nitratos utilizando como bacteria modelo la *Halomonas desiderata* en presencia de hormigón y la matriz bituminosa en condiciones parecidas al almacenamiento de las aguas residuales radiactivas [92]. Se ha comprobado que el proceso de desnitrificación era más rápido en presencia del hormigón que en el de la matriz bituminosa, observándose

por SEM una colonización del hormigón por la bacteria, hecho que no se daba en el otro material.

1.5. BACTERIAS SOPORTADAS SOBRE MATERIALES DE CARBÓN

La inmovilización de cepas bacterianas sobre materiales de carbón se usa generalmente para la descontaminación de aguas, existiendo investigaciones científicas que corroboran este hecho. El material de carbón se usa en diversos formatos y de diferentes tipos de carbón.

En los procesos de adsorción sobre los carbones activados granulados (CAG) que se llevan a cabo para la purificación del agua se puede producir la colonización por bacterias. Los microorganismos adsorbidos por el carbón convierten los compuestos orgánicos biodegradables en biomasa y dióxido de carbono antes de que estos ocupen sitios en la superficie del carbón, por otra parte, la biocapa formada incrementa la carga negativa superficial lo que favorece la adsorción de especies contaminantes cargadas positivamente como son los metales pesados. Estas consideraciones indican que el proceso de adsorción de bacterias en CAG es importante en tratamientos de aguas.

Los pellet de carbón, microporosos, han sido usados para la inmovilización de cinco tipos de microorganismo encontrados en ríos, entre los que se encuentran bacterias como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas balearica*. Este material ha sido llamado filtros biomejorados (BEAC) y es usado para descontaminar el agua de los propios ríos donde se hallaron estos microorganismos, eliminando sustancias

como: alcanos, hidrocarburos halogenados, parafinas, cetonas, aldehídos, alcoholes, esteres, o clorobencenos [93,94]. También se han aislado bacterias de lodos y junto con las aisladas en ríos han sido fijadas en filtros de carbón activo para descontaminar agua [95].

Por otro lado, *Pseudomonas sp.* HS-N62 es capaz de descontaminar el agua contaminada con nitratos, nitritos y amonio, para lo cual fue inmovilizada en pellets de carbón activo [96].

Para aguas residuales con productos xenobióticos, de diferentes industrias, también son usados filtros de carbón activo con soporte biológico. Se ha usado *Bacillus sp.* y *Synechocystis sp.* para eliminar compuestos de las aguas residuales de la industria de la tenería, siendo degradados los compuestos por estos microorganismos y no adsorbidos por el carbón activo usado [97].

Existen bacterias foto-fermentativas como *Rhodopseudomonas faecalis* RLD-53, que son capaces de producir H₂, haciendo uso de la luz solar. El hidrógeno molecular es usado como fuente de energía, por lo que tiene en la actualidad gran importancia, de ahí que han sido fijadas estas bacterias sobre fibras de carbón activo para usarlo como biomaterial, con el fin de obtener energía a través de la producción de H₂ [98].

Las fibras de carbón activo también pueden ser combinadas con otros materiales para usarlas como soporte de microorganismos. Ha sido creada una matriz de

fibras de carbón activo impregnadas con alginato de calcio para la inmovilización de *Pseudomonas oleovorans* DT4 para la biodegradación de tetrahidrofurano [99].

Los poros de los carbones además de poder soportar microorganismos pueden soportar otra serie de compuestos para funcionalizar este carbón activo. Se ha conseguido funcionalizar carbones activos mesoporosos mediante la adhesión de lipasa ácida, esta ha sido fijada en los mesoporos por la acción de *Pseudomonas gessardii*. Con este carbón activado modificado se hidrolizaron residuos de aceite [100].

Finalmente cabe destacar las altas prestaciones que presentan los materiales de carbón como soporte de microorganismos, siendo materiales a este nivel completamente biocompatibles, pudiendo los microorganismos ser inmovilizados y empleados extensamente en diferentes bio-procesos.

1.6. *E. coli* SOPORTADA SOBRE MATERIALES DE CARBÓN PARA LA DESNITRIFICACIÓN DE AGUAS

Estudios previos [101], han puesto de manifiesto que el carbón activado es un buen soporte para fijar *Escherichia coli*. Así, se estudió el proceso de adsorción de la bacteria en distintos carbones activados comerciales y en diferentes condiciones experimentales, para establecer que parámetros determinan dicha adsorción. Las muestras de carbón se caracterizaron determinando su área superficial, distribución del tamaño de poros, análisis elemental y el pH del punto cero de carga (PZC). Se determinó que la capacidad de adsorción de la bacteria *E. coli* en

estos carbones aumenta con la hidrofobicidad y el volumen de macroporos que presentan estos, estando también favorecida con el aumento de la fuerza iónica (Fe^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}) presente en el medio, debido a la reducción de la energía libre electrostática. La adsorción de bacterias se vio fuertemente influenciada por el pH del medio, el cual afecta a la carga superficial tanto de la bacteria como del carbón, y por lo tanto, a la atracción electrostática. Cuando el pH de la disolución es intermedio entre el valor del pH del punto cero de carga del carbón y la bacteria, el número de bacterias adsorbidas aumentan debido a la interacción atractiva entre el carbón y las bacterias.

Por otra parte, la adsorción de las bacterias produce un aumento en la carga negativa superficial, que como se ha comentado en el apartado anterior, incrementa su capacidad para adsorber especies metálicas en disolución. La adsorción de metales pesados y compuestos organometálicos también se ve reforzada por el metabolismo de los microorganismos y por la formación de complejos entre los metales y los ligandos presentes en la superficie de la célula, tales como polisacáridos extracelulares. Este tipo de proceso de bioadsorción puede ocurrir tanto en las células vivas y muertas.

La biopelícula, de *E. coli* sobre carbón activado, hace que aumente la adsorción de metales tales como Pb(II) y Cd(II) en el carbón. La adsorción de las especies anteriores se llevaron a cabo tanto en régimen estático como dinámico y en presencia y en ausencia de bacterias. En cambio, hay una reducción en la cantidad de Cr(VI) adsorbido en las mismas condiciones debido a su carácter aniónico. El estudio del efecto de electrolitos sobre la bioadsorción muestra, en general, una

reducción de la efectividad de las columnas de carbón, mayoritariamente los divalentes. Ello es debido a la competición que se establece entre los cationes Pb(II) y Cd(II), y los cationes de los electrolitos, por los grupos funcionales negativos de las sustancias poliméricas extracelulares.

También se ha evaluado [101-103] el proceso de desnitrificación biológica utilizando diferentes carbones activados, bien comerciales o bien desarrollados en el laboratorio a partir de subproductos agrícolas, como hueso de aceituna y cáscara de almendra sobre los que se soportó la bacteria *E. coli*, y se estudió el proceso de desnitrificación, relacionándolo con las características de los carbones que favorecen la adsorción de bacterias. Se determinó que el carbón procedente de cáscara de almendra activada, era el más efectivo en el proceso de desnitrificación, debido a su macroporosidad, pH del punto cero de carga y su hidrofobicidad (bajo contenido en oxígeno).

Finalmente, hay que mencionar que tras una exhaustiva búsqueda bibliográfica, no se ha encontrado ningún estudio donde se hayan recubierto hormigones porosos con xerogeles de carbón, ni donde se hayan empleado xerogeles de carbón como soportes de bacterias para procesos de descontaminación biológica. Por lo tanto, el presente trabajo de investigación incluido en esta Tesis Doctoral es completamente novedoso.

1.7. OBJETIVOS

El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral será estudiar la capacidad de desnitrificación de bacterias *E. coli* soportadas sobre hormigones altamente porosos recubiertos de carbón. Para ello, se llevará a cabo por un lado la preparación y caracterización de películas de xerogel de carbón originales obtenidas con diferente grado de carbonización. A continuación, se recubrirán una serie de hormigones altamente porosos de una fina película de xerogel de carbón, y también con una fina capa de carbonizado obtenido a partir de alcohol polifurfurílico, procesos que implicarán el desarrollo de un nuevo método de carbonización asistido por microondas, apto para ser usado sobre hormigones sin perjuicio de sus propiedades mecánicas. Sobre todos estos materiales se soportarán bacterias *E. coli*, y se evaluará su capacidad para la desnitrificación de disoluciones acuosas, relacionando estos resultados con las características físico-químicas del hormigón y del carbón. Finalmente, también se estudiará el crecimiento de algas sobre los hormigones porosos originales y recubiertos de carbón.

La presente Memoria se desarrollará de acuerdo con la siguiente distribución de Capítulos:

El Capítulo II de esta Memoria recoge la preparación de películas aisladas de xerogel de carbón con diferentes grados de carbonización, la preparación de los hormigones porosos recubiertos, la descripción de todas las técnicas de caracterización utilizadas, la descripción de la preparación de las bio-películas de *E. coli* soportadas, y la descripción y condiciones del proceso de desnitrificación y análisis de productos.

El Capítulo III recoge la caracterización físico-química completa de las películas de xerogel de carbón, y el estudio de la capacidad de desnitrificación de las bacterias *E. coli* soportadas sobre ellas. Los resultados obtenidos se relacionarán con las características porosas y químicas de los materiales.

El Capítulo IV recoge la caracterización físico-química completa de los hormigones porosos de la serie PC, así como de los hormigones porosos recubiertos de xerogel de carbón (serie PCC), y el estudio de la capacidad de desnitrificación de las bacterias *E. coli* soportadas sobre todos los materiales anteriores. Los resultados obtenidos se relacionarán con las características porosas y químicas de los materiales.

El Capítulo V recoge una caracterización físico-química de los hormigones altamente porosos de la serie HPC, así como de los hormigones porosos recubiertos de xerogel de carbón (serie HPCC), y recubiertos de un carbonizado obtenido a partir de alcohol polifurfurílico (serie HPCF). También se estudiará la capacidad de desnitrificación de las bacterias *E. coli* soportadas sobre todos los materiales anteriores comparando el tipo de recubrimiento carbonoso. Los resultados obtenidos se relacionarán también con las características porosas y químicas de los materiales. Además, para el proceso de desnitrificación y utilizando el hormigón HPC1, se estudiará el empleo de diferentes fuentes de carbono para el crecimiento de las bacterias, diferentes temperaturas del bio-reactor, así como el efecto de la presencia de los metales Cr(VI) y Zn(II) sobre la capacidad de desnitrificación de las bacterias *E. coli* soportadas.

El Capítulo VI recoge el estudio de crecimiento algas sobre diferentes hormigones porosos y recubiertos de carbón. Los resultados obtenidos se relacionarán con las características porosas de los materiales.

1.8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] C.C. Stanley. Highlights in the History of Concrete. Cement and Concrete Association. United Kingdom (1982).
- [2] P.K. Mehta. Concrete structure, properties and materials. Prentice Hall, Incorporated. USA (1986).
- [3] M.A. Safwat. Influencia en la composición de distintos hormigones en los mecanismos de transporte de iones agresivos procedentes de medios marinos, Universidad Politécnica de Madrid, (2010).
- [4] ASTM C-125. Standard terminology relating to concrete and concrete aggregates, (2007).
- [5] M. Fernández-Cánovas. Hormigón. Colegio de Ingenieros de Caminos. Madrid (1991).
- [6] V.S. Ramachandran. Concrete Admixtures Handbook: Properties, Science and Technology. Noyes Publ. New Jersey, USA (1984).
- [7] A.M. Neville. Properties of Concrete - An Overview. Concrete International, 8:53-57, (1986).
- [8] S.P. Fadón Martínez, J.E. Herrero Beneítez, J.J. Sánchez Ramírez, P. Gonzalez Torijano. Projects with high strength and high performance concrete. Carreteras, 4:42-51, (2006).
- [9] M. Valcuende, C. Parra, E. Marco, A. Garrido, E. Martínez, J. Cánoves. Influence of limestone filler and viscosity-modifying admixture on the

- porous structure of self-compacting concrete. *Construction and Building Materials*, 28:122-128, (2012).
- [10] M. Ba, C. Qian. Evolution of capillary porous structure in steam curing concrete with mineral admixtures. *Advanced Materials Research*, 450-451:3-7, (2012).
- [11] F. Xu, M. Zhou, W. Shen, B. Li. Influence of mineral admixtures on the performance of polymer modified porous concrete. *Advanced Materials Research*, 87-88:92-97, (2010).
- [12] E. Eickschen, C. Müller. Interactions of air-entraining agents and plasticizers in concrete. *Cement International*, 11:88-101, (2013).
- [13] N.G. Ndjountché, J. Ambroise, M.J. Péra. Influence of chemical admixture on the properties of porous and draining cement concrete. *Materials and Structures/Materiaux Et Constructions*, 33:647-654, (2000).
- [14] M. Bhutta, K. Tsuruta, J. Mirza. Evaluation of high-performance porous concrete properties. *Construction and Building Materials*, 31:67-73, (2012).
- [15] B.J. Putman, A.I. Neptune. Comparison of test specimen preparation techniques for pervious concrete pavements. *Construction and Building Materials*, 25:3480-3485, (2011).
- [16] V.R. Patil, A.K. Gupta, D.B. Desai. Use Of Pervious Concrete In Construction Of Pavement For Improving Their Performance. *Mechanical and Civil Engineering*, 52-54, (2014).
- [17] A. Bashir, J. Mohammad, A. Qasair, A. Naveed, I. Muhammad. Mechanical properties of no-fines bloated slate aggregate concrete for construction application, experimental study. *International Journal of Civil and Estructural Engineering*, 3:302-312, (2012).
- [18] D.P. Maynard. A fine no-fines road. *Concrete Construction*, 15:116-117, (1970).

- [19] A. Beeldens. Behavior of porous PCC under freeze-thaw cycling. The Tenth International Congress on Polymers in Concrete, 12-12, (2001).
- [20] H. Fujiwara, R. Tomita, T. Okamoto. Properties of high-strength porous concrete. American Concrete Institute. 179-11, (2001).
- [21] V.R. Schaefer, K. Wang. Mix Design Development for pervious concrete in cold weather climates. Final report, National Concrete Pavement Technology Center, Iowa State University, (2006).
- [22] P.D. Tennis, M.L. Leming, D.J. Akers. Pervious concrete pavements. Portland Cement Association. Illinois, (2004).
- [23] J. Olek, W. Jason. Development of quiet and durable porous portland cement concrete paving materials. SQDH 2003 - 5, School of Civil Engineering, Purdue University, Indiana, (2003).
- [24] T.E. Hoerner, K.D. Smith, R.M. Larson, M.E. Swanlund. Current Practice of Portland Cement Concrete Pavement Texturing. Transportation Research Record, 178-186, (2003).
- [25] A. Josa, C. Jofré, A. Aguado, E. Eickschen, E. Onstenk. Experimental study and structural analysis of the use of porous concrete for wearing courses in concrete pavements. Bulletin Des Laboratoires Des Ponts Et Chaussees, 0:3-15, (1997).
- [26] A. Beeldens, D. Van Gemert, C. Caestecker. Porous Concrete: Laboratory Versus Field Experience. Proceedings 9th International Symposium on Concrete Roads. Istanbul, Turkey, 2003).
- [27] S.H. Kostmatka, B. Kerkhoff, W.C. Panarese, N.F. Macleod, R.J. McGrath. Design and control of concrete mixtures. Engineering Bulletin, 101(2002).
- [28] H.K. Kim, H.K. Lee. Influence of cement flow and aggregate type on the mechanical and acoustic characteristics of porous concrete. Applied Acoustics, 71:607-615, (2010).

- [29] G.N. McCain, M.M. Dewoolkar. Porous concrete pavements: Mechanical and hydraulic properties. 2164:66-75, (2010).
- [30] L.M. Haselbach, S. Valavala, F. Montes. Permeability predictions for sand-clogged Portland cement pervious concrete pavement systems. *Journal of Environmental Management*, 81:42-49, (2006).
- [31] N. Neithalath, M.S. Sumanasooriya, O. Deo. Characterizing pore volume, sizes, and connectivity in pervious concretes for permeability prediction. *Materials Characterization*, 61:802-813, (2010).
- [32] M. Dougherty, M. Hein, C. Lebleu. Evaluation of stormwater quality through pervious concrete pavement. *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting*, 7:5353-5363, (2011).
- [33] J. Yang, G. Jiang. Experimental study on properties of pervious concrete pavement materials. *Cement and Concrete Research*, 33:381-386, (2003).
- [34] L. Haselbach, M. Boyer, J.T. Kevern, V.R. Schaefer. Cyclic heat island impacts on traditional versus pervious concrete pavement systems. 2240:107-115, (2011).
- [35] Pervious pavement. <http://www.perviouspavement.org/>. (2012).
- [36] P. Chindaprasirt, S. Hatanaka, T. Chareerat, N. Mishima, Y. Yuasa. Cement paste characteristics and porous concrete properties. *Construction and Building Materials*, 22:894-901, (2008).
- [37] H. Li, H. Sun, X. Xiao, X. Tie. Study on base body of vegetable concrete. *Advanced Materials Research*, 11-12:489-492, (2006).
- [38] S.B. Park, D.S. Seo, J. Lee. Studies on the sound absorption characteristics of porous concrete based on the content of recycled aggregate and target void ratio. *Cement and Concrete Research*, 35:1846-1854, (2005).
- [39] Directiva 2002/91/CE: Directiva Europea de Eficiencia Energética de los Edificios,(EPBD). (2002).

- [40] S. Mun. Sound absorption characteristics of porous asphalt concrete pavements. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 37:273-278, (2010).
- [41] J.K. Lan, B.J. Liu. Comparing the purification effects of sewage water treated by different kinds of porous eco-concrete. 5th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, ICBBE 2011, (2011).
- [42] Z. Chen. Technology of using eco-concrete for sewage treatment. *Jianzhu Cailiao Xuebao/Journal of Building Materials*, 4:60-64, (2001).
- [43] S. Wen-jie, F. Hong-yuan, W. Gui-yao. Study on a Kind of Eco-concrete Retaining Wall's Block with Water Purification Function. *Procedia Engineering*, 28:182-189, (2012).
- [44] T.J. Mays, D.D. Edie, M.L. Lake. *Carbon Materials for Advanced Technologies*. T.D.Burchell. (1999).
- [45] J. Wiley. *Carbon materials for catalysis*. Serp, F. and Figueredo, J. L. (2009).
- [46] K.P. Gadkaree. Carbon honeycomb structures for adsorption applications. *Carbon*, 36:981-989, (1998).
- [47] B. Fang, L. Binder. A modified activated carbon aerogel for high-energy storage in electric double layer capacitors. *Journal of Power Sources*, 163:616-622, (2006).
- [48] J. Li, X. Wang, Q. Huang, S. Gamboa, P.J. Sebastian. Studies on preparation and performances of carbon aerogel electrodes for the application of supercapacitor. *Journal of Power Sources*, 158:784-788, (2006).
- [49] W. Li, G. Reichenauer, J. Fricke. Carbon aerogels derived from cresol-resorcinol-formaldehyde for supercapacitors. *Carbon*, 40:2955-2959, (2002).
- [50] J. Marie, S. Berthon-Fabry, P. Achard, M. Chatenet, A. Pradourat, E. Chainet. Highly dispersed platinum on carbon aerogels as supported

- catalysts for PEM fuel cell-electrodes: Comparison of two different synthesis paths. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 350:88-96, (2004).
- [51] A.K. Meena, G.K. Mishra, P.K. Rai, C. Rajagopal, P.N. Nagar. Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using carbon aerogel as an adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 122:161-170, (2005).
- [52] C. Moreno-Castilla, F.J. Maldonado-Hódar. Carbon aerogels for catalysis applications: An overview. *Carbon*, 43:455-465, (2005).
- [53] D. Wu, R. Fu, S. Zhang, M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus. The preparation of carbon aerogels based upon the gelation of resorcinol-furfural in isopropanol with organic base catalyst. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 336:26-31, (2004).
- [54] J. Mrowiec-Białón, A.B. Jarzebski, A.I. Lachowski, J.J. Malinowski. Two-component aerogel adsorbents of water vapour. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 225:184-187, (1998).
- [55] R.W. Pekala. Organic aerogels from the polycondensation of resorcinol with formaldehyde. *Journal of Materials Science*, 24:3221-3227, (1989).
- [56] F.J. Maldonado-Hódar, C. Moreno-Castilla, F. Carrasco-Marín, A.F. Pérez-Cadenas. Reversible toluene adsorption on monolithic carbon aerogels. *Journal of Hazardous Materials*, 148:548-552, (2007).
- [57] C. Liang, G. Sha, S. Guo. Resorcinol and formaldehyde aerogels prepared by supercritical acetone drying. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 271:167-170, (2000).
- [58] R. Saliger, V. Bock, R. Petricevic, T. Tillotson, S. Geis, J. Fricke. Carbon aerogels from dilute catalysis of resorcinol with formaldehyde. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 221:144-150, (1997).
- [59] E. Gallegos-Suárez, A.F. Pérez-Cadenas, F.J. Maldonado-Hódar, F. Carrasco-Marín. On the micro- and mesoporosity of carbon aerogels and xerogels. The role of the drying conditions during the synthesis processes. *Chemical Engineering Journal*, 181-182:851-855, (2012).

- [60] F.J. Maldonado-Hódar, C. Moreno-Castilla, A.F. Pérez-Cadenas. Surface morphology, metal dispersion, and pore texture of transition metal-doped monolithic carbon aerogels and steam-activated derivatives. *Microporous and Mesoporous Materials*, 69:119-125, (2004).
- [61] S. Morales-Torres, F.J. Maldonado-Hódar, A.F. Pérez-Cadenas, F. Carrasco-Marín. Textural and mechanical characteristics of carbon aerogels synthesized by polymerization of resorcinol and formaldehyde using alkali carbonates as basification agents. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12:10365-10372, (2010).
- [62] S. Morales-Torres, F.J. Maldonado-Hódar, A.F. Pérez-Cadenas, F. Carrasco-Marín. Structural characterization of carbon xerogels: From film to monolith. *Microporous and Mesoporous Materials*, 153:24-29, (2012).
- [63] C. Moreno-Castilla, F.J. Maldonado-Hódar, A.F. Pérez-Cadenas. Physicochemical surface properties of Fe, Co, Ni, and Cu-doped monolithic organic aerogels. *Langmuir*, 19:5650-5655, (2003).
- [64] A.F. Pérez-Cadenas, M.M.P. Zieverink, F. Kapteijn, J.A. Moulijn. Selective hydrogenation of fatty acid methyl esters on palladium catalysts supported on carbon-coated monoliths. *Carbon*, 44:173-176, (2006).
- [65] J.H. Ramirez, F.J. Maldonado-Hódar, A.F. Pérez-Cadenas, C. Moreno-Castilla, C.A. Costa, L.M. Madeira. Azo-dye Orange II degradation by heterogeneous Fenton-like reaction using carbon-Fe catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 75:312-323, (2007).
- [66] F.J. Maldonado-Hódar, A.F. Pérez-Cadenas, C. Moreno-Castilla. Morphology of heat-treated tungsten doped monolithic carbon aerogels. *Carbon*, 41:1291-1299, (2003).
- [67] A.F. Pérez-Cadenas, F.J. Maldonado-Hódar, C. Moreno-Castilla. Molybdenum carbide formation in molybdenum-doped organic and carbon aerogels. *Langmuir*, 21:10850-10855, (2005).
- [68] E.G. Calvo, N. Ferrera-Lorenzo, J.A. Menéndez, A. Arenillas. Microwave synthesis of micro-mesoporous activated carbon xerogels for high

- performance supercapacitors. *Microporous and Mesoporous Materials*, (2012).
- [69] A.H. Moreno, A. Arenillas, E.G. Calvo, J.M. Bermúdez, J.A. Menéndez. Carbonisation of resorcinol-formaldehyde organic xerogels: Effect of temperature, particle size and heating rate on the porosity of carbon xerogels. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 100:111-116, (2013).
- [70] F.J. Maldonado-Hódar, S. Morales-Torres, F. Ribeiro, E.R. Silva, A.F. Pérez-Cadenas, F. Carrasco-Marín, F.A.C. Oliveira. Development of carbon coatings for cordierite foams: An alternative to cordierite honeycombs. *Langmuir*, 24:3267-3273, (2008).
- [71] A.F. Pérez-Cadenas, S. Morales-Torres, F. Kapteijn, F.J. Maldonado-Hódar, F. Carrasco-Marín, C. Moreno-Castilla, J.A. Moulijn. Carbon-based monolithic supports for palladium catalysts: The role of the porosity in the gas-phase total combustion of m-xylene. *Applied Catalysis B: Environmental*, 77:272-277, (2008).
- [72] C. Moreno-Castilla, A.F. Pérez-Cadenas. Carbon-based honeycomb monoliths for environmental gas-phase applications. *Materials*, 3:1203-1227, (2010).
- [73] F.J. Maldonado-Hódar, S. Morales-Torres, F. Ribeiro, E.R. Silva, A.F. Pérez-Cadenas, F. Carrasco-Marín, F.A.C. Oliveira. Development of carbon coatings for cordierite foams: An alternative to cordierite honeycombs. *Langmuir*, 24:3267-3273, (2008).
- [74] S. Morales-Torres, F.J. Maldonado-Hódar, A.F. Pérez-Cadenas, F. Carrasco-Marín. Structural characterization of carbon xerogels: From film to monolith. *Microporous and Mesoporous Materials*, 153:24-29, (2012).
- [75] D. Cazorla-Amorós, A. Linares-Solano, E. Morallón, J.L. Vázquez. Preparation of conductive carbon-ceramic composites from coal tar pitch and ceramic monoliths. *Carbon*, 36:1003-1009, (1998).

- [76] J.P.R. Vissers, F.P.M. Mercx, S.M.A.M. Bouwens, V.H.J. de Beer, R. Prins. Carbon-covered alumina as a support for sulfide catalysts. *Journal of Catalysis*, 114:291-302, (1988).
- [77] J.A. Moulijn, E.A. Cybulski, B.A. Averill. *Structured catalysts and reactors*. New York (1998).
- [78] S. Sawayama, K.K. Rao, D.O. Hall. Nitrate and phosphate ion removal from water by Phormidium laminosum immobilized on hollow fibres in a photobioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49:463-468, (1998).
- [79] G. Zayed, J. Winter. Removal of organic pollutants and of nitrate from wastewater from the dairy industry by denitrification. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49:469-474, (1998).
- [80] A.P.S. Terblanche. Health hazards of nitrate in drinking water. *Water SA*, 17:77-82, (1991).
- [81] Agencia de Protección de la Salud y Seguridad Alimentaria. Los nitratos y los nitritos y el agua de consumo, (2012).
- [82] A.E. Palomares. *Esfera del agua*. (2013).
- [83] H. Nielsen, H. Daims, H. Lemmer. *FISH handbook for biological wastewater treatment*. London (2009).
- [84] M.A. Gómez, J. González-López, E. Hontoria-García. Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter. *Journal of Hazardous Materials*, 80:69-80, (2000).
- [85] N. Fernández, R. Sierra-Alvarez, J.A. Field, R. Amils, J.L. Sanz. Microbial community dynamics in a chemolithotrophic denitrification reactor inoculated with methanogenic granular sludge. *Chemosphere*, 70:462-474, (2008).
- [86] B. Moreno, M.A. Gómez, F. Osorio, A. Ramos, E.y.M.-T.M.V. Hontoria. Estudio comparativo de la inoculación de filtros sumergidos aplicados a la desnitrificación biológica de aguas subterráneas contaminadas. (2001).

- [87] J. Biedermann, A.J. Owen, K.T. Schloe, F. Gassner, R. Süssmuth. Interaction between poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate and a denitrifying *Pseudomonas* strain. *Canadian Journal of Microbiology*, 43:561-568, (1997).
- [88] F.H. Thorndycroft, G. Butland, D.J. Richardson, N.J. Watmough. A new assay for nitric oxide reductase reveals two conserved glutamate residues form the entrance to a proton-conducting channel in the bacterial enzyme. *Biochemical Journal*, 401:111-119, (2007).
- [89] A. Cheikh, A. Yala, N. Drouiche, N. Abdi, H. Lounici, N. Mameri. Denitrification of water in packed beds using bacterial biomass immobilized on waste plastics as supports. *Ecological Engineering*, 53:329-334, (2013).
- [90] L.x. Chen Zhishan. Ecological concrete water purification mechanism and its application. *Science Technology and Engineering*, 3:371-373, (2003).
- [91] X.-W.L.Y.J. Yi-Feng Wu, Jing Shi. Water quality improvements and community characteristics in simulated rivers using porous concrete embankments. *Sustainable Environment Research*, 20:317-323, (2010).
- [92] M. Alquier, C. Kassim, A. Bertron, C. Sablayrolles. *Halomonas desiderata* as a bacterial model to predict the possible biological nitrate reduction in concrete cells of nuclear waste disposals. *Journal of Environmental Management*, 132:32-41, (2014).
- [93] Y.N. Gao, Y.N. Li, D.Y. Zhang, G.Z. Wang. Bio-enhanced activated carbon filter with immobilized microorganisms for removing organic pollutants in the Songhua River. *Water Science and Technology*, 62:2819-2828, (2010).
- [94] D.Y. Zhang, W.G. Li, H.N. Gong, L. Zhang, X.J. Gong, B.Y. Liu. Evaluation of long term stability of seeded bacteria in a bio-enhanced activated carbon filter used for treating drinking water. *International Biodeterioration Biodegradation* (in press). (2013).
- [95] Y. Hou, P. Fang, J. Zhang, Y. Zhang. Comparison of biological activated carbon filters immobilized by different-source bacteria. *5th International*

- Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, iCBBE 2011, (2011).
- [96] P. Wang, Y. Yuan, Q. Li, J. Yang, Y. Zheng, M. He, H. Geng, L. Xiong, D. Liu. Isolation and immobilization of new aerobic denitrifying bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 76:12-17, (2013).
- [97] G. Sekaran, S. Karthikeyan, C. Nagalakshmi, A.B. Mandal. Integrated *Bacillus* sp. immobilized cell reactor and *Synechocystis* sp. algal reactor for the treatment of tannery wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 20:281-291, (2013).
- [98] G.J. Xie, B.F. Liu, J. Ding, D.F. Xing, H.Y. Ren, W.Q. Guo, N.Q. Ren. Enhanced photo-H₂ production by *Rhodospseudomonas faecalis* RLD-53 immobilization on activated carbon fibers. *Biomass and Bioenergy*, 44:122-129, (2012).
- [99] D.Z. Chen, J.Y. Fang, Q. Shao, J.X. Ye, D.J. Ouyang, J.M. Chen. Biodegradation of tetrahydrofuran by *Pseudomonas oleovorans* DT4 immobilized in calcium alginate beads impregnated with activated carbon fiber: Mass transfer effect and continuous treatment. *Bioresource Technology*, 139:87-93, (2013).
- [100] K. Ramani, S. Karthikeyan, R. Boopathy, L.J. Kennedy, A.B. Mandal, G. Sekaran. Surface functionalized mesoporous activated carbon for the immobilization of acidic lipase and their application to hydrolysis of waste cooked oil: Isotherm and kinetic studies. *Process Biochemistry*, 47:435-445, (2012).
- [101] J. Rivera-Utrilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, C. Moreno-Castilla. Activated carbon surface modifications by adsorption of bacteria and their effect on aqueous lead adsorption. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76:1209-1215, (2001).
- [102] C. Moreno-Castilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, J. Rivera-Utrilla. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon*, 41:1743-1749, (2003).

- [103] J. Rivera-Utrilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, C. Moreno-Castilla. Bioadsorption of Pb(II), Cd(II), and Cr(VI) on activated carbon from aqueous solutions. *Carbon*, 41:323-330, (2003).

CAPÍTULO II:

**PREPARACIÓN Y
CARACTERIZACIÓN DE
MATERIALES**

2.1. FABRICACIÓN DE HORMIGONES POROSOS

Cementos Portland Valderrivas ha desarrollado una serie de hormigones porosos con distinto intervalo de porosidad y enmarcados en el proyecto "Hormigones Porosos de Alta Resistencia como Matriz para la Fabricación de Hormigones Polifuncionales", financiado por el CDTI.

El objetivo principal del proyecto fue conseguir una nueva gama de hormigones porosos polifuncionales de alta resistencia mecánica y drenabilidad, con mayor resistencia al desgaste superficial, mayor durabilidad y automantenimiento de su nivel de porosidad, idóneos para aplicaciones dentro del sector de la construcción como pavimentos drenantes para tráfico pesado y medio, prefabricados ligeros para rehabilitación de estructuras con prestaciones de aislamiento acústico y térmico. Los materiales utilizados para la preparación de estos hormigones porosos de alta resistencia fueron: un cemento tipo CEM I 52,5 R especial diseñado por Cementos Portland Valderrivas con prestaciones de altas resistencias a cortas edades, áridos, agua, aditivos especiales desarrollados por BASF Construction Chemicals España y otras adiciones.

A continuación se describen las muestras de hormigón poroso suministradas por Cementos Portland Valderrivas para el desarrollo de esta Tesis y la dosificación empleada para su preparación.

Dosificaciones

Se han estudiado un total de 10 muestras suministradas por Cementos Portland Valderrivas y divididas en dos series (4 muestras de la serie PC y 6 muestras de la serie HPC).

Las muestras de hormigón poroso de la serie PC se nombraron por sus siglas en inglés (Porous Concrete) seguidas de un número. Para la optimización de la dosificación de la serie de hormigones PC (Tabla 2.1) se estudiaron distintas variables de influencia en la fabricación del hormigón poroso. Se ajustó la cantidad de pasta de cemento (cemento, agua y adiciones) frente a la cantidad de áridos. El método de compactación para las muestras de esta serie se llevó a cabo por un número determinado de pasadas con un rodillo de dimensiones 50 (longitud) x 40 (diámetro) cm.

Tabla 2.1.- Dosificación empleada para las muestras de la serie PC.

Muestra	Arena (Kg)	Grava (Kg)	Cemento (Kg)	Agua (Kg)	a/c	Glenium sky (%)	Ad.BASF (%)	Pasadas Rodillo
PC1	1450	-	400	108	0,27	1,7	1	0
PC2	-	1338	420	92	0,22	1,5	-	0
PC3	-	1400	398	116	0,25	1,5	1	40
PC4	560	840	437	102	0,20	1,5	1	20

(a/c): relación agua/cemento

En la serie HPC se siguió manteniendo el criterio alcanzado en la serie anterior y se fijó la cantidad de áridos alrededor de 1400 kg/m³ disminuyendo también, el uso de arena y la relación pasta/árido, trabajando con relaciones a/c comprendidas

entre 0,23 y 0,29. En el caso de algunas de las muestras de esta serie el se incluyó un método de compactación intermedia entre las pasadas de rodillo que consistió en una pesa rectangular de 20 kg y 11,5 x 23 cm de sección. Exceptuando las muestras HPC1 y HPC2, se añadió en todos los casos un 6 % de humo de sílice. Las muestras y la dosificación empleada en este caso fue la siguiente (Tabla 2.2):

Tabla 2.2.- Dosificación empleada para las muestras de la serie HPC.

Muestra	Arena (Kg)	Grava (Kg)	Cemento (Kg)	Agua (Kg)	a/c	Glenium sky (%)	Ad.BASF (%)	Pasadas rodillo
HPC1	330	1200	355	90	0,25	1	1	30 + pesa
HPC2	330	1200	355	85	0,24	1,5	1	30
HPC3	310	1200	355	90	0,25	1	1	30 + pesa
HPC4	-	1400	338,6	97,3	0,29	1,5	0,5	30
HPC5	-	1400	325	93,4	0,29	1,5	0,5	30
HPC6	300	1300	350	92	0,26	1	1	30

En este caso el nombre de los hormigones porosos de esta serie vienen también dados por sus siglas en inglés (High Porous Concrete) seguidas de un número. La diferencia en la nomenclatura entre ambas series viene dado por la mayor porosidad de estas muestras con respecto a las muestras de la primera serie.

La dosificación mostrada en ambas tablas está referida a 1 metro cúbico de mezcla.

Para proceder a los distintos ensayos de caracterización de los hormigones en el desarrollo de esta Tesis, se adaptaron las probetas suministradas correspondientes a las diez muestras en diferentes tamaños en función del ensayo a realizar.

2.2. PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE CARBÓN

Se preparó en primer lugar, un xerogel orgánico original en forma de película empleando los siguientes reactivos: resorcinol (98 % pureza) Sigma-Aldrich, formaldehído (37 % disolución acuosa) Sigma-Aldrich, carbonato de cesio (99,9 % pureza) Sigma-Aldrich y agua destilada tipo MiliQ. En la Tabla 2.3 se recogen las proporciones y cantidades de reactivos utilizados para la síntesis del xerogel orgánico.

Tabla 2.3.- Composición de mezcla inicial y relaciones molares utilizadas en la síntesis de xerogel orgánico.

Resorcinol (g)	Formaldehído (g)	Catalizador (g)	Agua (mL)	R/F	R/C	R/W
49,28	72,64	0,06	61,00	0,50	2300	0,08

Para la síntesis de las películas de xerogel orgánico el resorcinol, el formaldehído y el catalizador (Cs_2CO_3) se disolvieron en agua, que actuó como medio de reacción, agitándose la mezcla durante unos minutos hasta obtener una disolución homogénea, de acuerdo con el método originalmente desarrollado por Pekala [1]. A continuación la disolución resultante se vertió en moldes cilíndricos, donde posteriormente solidificarían. Los moldes utilizados fueron placas de vidrio de 5 cm de diámetro y 1,5 cm de profundidad que se taparon adecuadamente para prevenir la evaporación del formaldehído de la mezcla durante la polimerización. Estos moldes sellados fueron sometidos a un programa térmico para inducir las etapas de gelación y curado. Las condiciones de dichas etapas fueron: 24 horas a temperatura ambiente, 24 horas a 50 °C y 72 horas a 80 °C.

Tras la gelificación y curado, las películas de gel orgánico húmedo se secaron térmicamente en una estufa a 110 °C y presión atmosférica. Finalmente las películas de xerogel orgánico secas (XO) se carbonizaron para obtener las películas de xerogel de carbón. Para llevar a cabo este proceso se utilizaron dos métodos de carbonización: carbonización asistida por microondas, y carbonización térmica convencional. La carbonización asistida por microondas es un proceso muy novedoso, y en este trabajo se ha pretendido hacer un estudio comparativo sobre el efecto que este tipo de carbonización produce en las películas de xerogel. Por esta razón, una parte de las películas de xerogel orgánico fue carbonizada utilizando microondas, y otra parte, a efectos comparativos se carbonizó en un horno convencional. A continuación se detalla cómo se llevaron a cabo ambos procesos pirolíticos.

Carbonización en horno microondas

Para este tratamiento se utilizó un horno microondas doméstico modelo Savoid MSG-20810-S, al que se le adaptó una entrada de gases. Así, la carbonización de las películas de xerogel orgánico se llevó a cabo con una potencia de 800 W, en corriente de argón, empleando periodos de radiación de diez minutos acumulativos. Después de cada periodo se hizo una pausa en la radiación de dos minutos también bajo corriente de argón. Durante el primer periodo de tratamiento, las películas de xerogel orgánico se situaron entre dos láminas de grafito (Figura 2.1) con objeto de inducir un mayor calentamiento sobre la superficie del xerogel; durante el segundo y posteriores periodos de tratamiento las láminas de grafito se retiraron, incidiendo las microondas directamente sobre

el xerogel. El enfriamiento del material carbonizado se llevó a cabo también en corriente de argón. De éste modo, se obtuvieron películas de xerogel de carbón con un porcentaje de pérdida de peso del 13, 17 y 28 %, para 3, 4 y 7 periodos de tratamiento, respectivamente. Las películas de xerogel de carbón obtenidas mediante carbonización asistida por microondas se han denominado XMW13, XMW17 y XMW28 indicando los dígitos el porcentaje de pérdida de peso en cada caso (serie XMW).



Figura 2.1.- Esquema del proceso de carbonización en horno microondas.

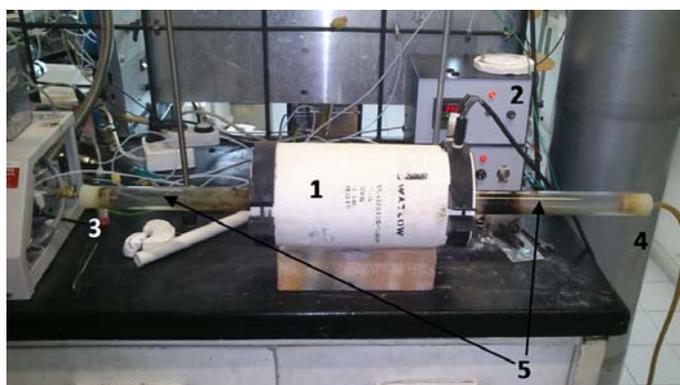
Por otro lado, también se preparó una película de carbón a partir una resina furánica compuesta principalmente de alcohol polifurfurílico (PFA), de la casa Hüttenes-Albertus Alemania, ref. 1114340. El método de preparación de esta película orgánica consistió también en la deposición sobre moldes cilíndricos de esta resina diluida en acetona, en una relación 2:1 (v/v), y con unas gotas de ácido nítrico como catalizador de polimerización. El proceso de curado fue igualmente de 24 horas a temperatura ambiente, 24 horas a 50 °C y 72 horas a 80 °C. En este

caso el proceso de carbonización asistida por microondas necesitó de 4 periodos acumulativos para alcanzar una pérdida de peso próxima al 13 %.

Carbonización convencional

Para este tratamiento se utilizó un horno convencional tubular (Figura 2.2), compuesto por un tubo de cuarzo insertado en un horno tipo Watlow, conectado a una caja de potencia y equipado con un termopar interno. Así, la carbonización de las películas de xerogel orgánico se llevó a cabo en una corriente de argón, empleando una rampa de calentamiento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta la temperatura máxima, y manteniendo esta temperatura durante 30 minutos. El enfriamiento del material carbonizado también se llevó a cabo en corriente de argón. De éste modo, y tras un estudio previo termogravimétrico, se obtuvieron películas de xerogel de carbón con porcentajes de pérdida de peso del 13, 17 y 28 %, para 340, 400 y 520 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura máxima de carbonización, respectivamente. De forma análoga a los nombres utilizados para la serie XMW, las películas de xerogel de carbón de esta serie (XF) se han denominado XF13, XF17 y XF28, indicando los dígitos la pérdida de peso correspondiente durante el proceso de carbonización.

La Tabla 2.4 recoge a modo de resumen todas las películas de carbón y las condiciones de preparación.



1. Horno convencional
2. Caja de potencia
3. Entrada de gases
4. Salida de gases
5. Tubo de cuarzo

Figura 2.2.- Esquema del proceso de carbonización convencional.

Tabla 2.4.- Films de carbón preparados en función del precursor, tipo de carbonización y del porcentaje de carbonización.

Muestra	Precursor	Tipo	Temperatura	Periodos en Carbonización	
		Carbonización	(°C)	MW	(%)
XF13	R + F	Convencional	340	-	13
XF17	R + F	Convencional	400	-	17
XF28	R + F	Convencional	520	-	28
XMW13	R + F	Microondas	-	3	13
XMW17	R + F	Microondas	-	4	17
XMW28	R + F	Microondas	-	7	28
PFA13	PFA	Microondas	-	4	13

2.3. RECUBRIMIENTO DE CARBÓN DE LOS HORMIGONES POROSOS

Dos hormigones de la serie PC y tres de la serie HPC se seleccionaron para preparar los hormigones recubiertos de carbón PC1C, PC2C (serie PCC); HPC1C, HPC3C y HPC5C (serie HPCC); HPC1F, HPC3F y HPC5F (serie HPCF).

Para la obtención de estos materiales se utilizaron piezas de hormigón de 5 x 5 x 2 cm. Todos los recubrimientos se realizaron mediante el mojado completo de las piezas correspondientes en una disolución del precursor orgánico, seguido de una etapa de soplado, curado y posterior carbonización en horno microondas.

Para la preparación de las series PCC y HPCC, se utilizó como precursor orgánico la misma mezcla polimérica de resorcinol y formaldehído descrita para la obtención de las películas, mientras que para la preparación de la serie HPCF se utilizó la resina furánica, también en las mismas condiciones experimentales anteriormente descritas.

Durante el mojado los hormigones porosos, éstos estuvieron sumergidos en el líquido polimérico durante 3 minutos en continua agitación. Transcurrido dicho tiempo el hormigón se dejó escurrir, y posteriormente se sopló utilizando aire comprimido para desalojar el resto de líquido de la estructura porosa. Posteriormente, se colocaron las piezas de hormigón en un recipiente de vidrio soportadas por los vértices, y se tapó adecuadamente para evitar una evaporación rápida. Durante las primeras horas de este proceso de secado, las piezas se cambiaron de posición varias veces para garantizar un recubrimiento homogéneo, y evitar, en la medida de lo posible una oclusión importante de la porosidad. Las condiciones experimentales de la etapa de curado de estos hormigones recubiertos, fue el mismo que se ha descrito para el caso de las películas.

Los hormigones recubiertos se carbonizaron únicamente mediante el nuevo procedimiento desarrollado en esta Tesis, asistido por microondas en atmósfera de

argón, utilizando en todos los casos cuatro periodos de radiación de 10 minutos acumulativos. Cabe destacar, que la carbonización asistida por microondas ha sido desarrollada durante esta Tesis, con el propósito de poder carbonizar el recubrimiento orgánico de los hormigones, produciendo un efecto mínimo sobre las propiedades mecánicas de la pieza durante el calentamiento. El empleo de una carbonización convencional debilita muy significativamente la resistencia mecánica de este tipo de materiales. El hecho de que la carbonización asistida por microondas de una película orgánica, pueda llevarse a cabo a tiempos más cortos de tratamiento que una carbonización convencional, evita un calentamiento excesivo interno de la pieza de hormigón preservando sus propiedades mecánicas, tal y como se mostrará en el Capítulo IV de la presente Memoria.

2.4. PREPARACIÓN DE LA BIO-PELÍCULA Y REACCIÓN DE DESNITRIFICACIÓN

La bio-película se preparó mediante la fijación de las bacterias *E. coli* sobre las películas de carbón, sobre los hormigones porosos, y sobre los hormigones porosos recubiertos de carbón. En el presente estudio se trabajó con la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli.*, cedida por el Departamento de Microbiología de la Universidad de Granada. La inmovilización de las bacterias se hizo en dos pasos, en primer lugar se obtuvo una suspensión de las bacterias, y posteriormente se fijaron sobre los distintos soportes.

La suspensión de bacterias se preparó haciendo crecer la *E. coli* en 50 mL de una disolución de Soja Triptona Agar (TSA) de la casa Panreac, a 37 °C durante 48 horas en condiciones estériles y medio aeróbico. Para fijar las bacterias sobre los

distintos soportes, se adicionó 1 mL del cultivo bacteriano obtenido anteriormente en el bioreactor, que contenía las correspondientes muestras, junto con un volumen de disolución de cultivo TSA suficiente para cubrir toda la muestra, manteniéndose en agitación a 37 °C durante 72 horas. Pasado este tiempo, y para llevar a cabo el proceso de desnitrificación, se separó el líquido de cultivo de los soportes con la bacteria ya depositada, y se procedió a ponerlas en contacto con un volumen determinado de una disolución acuosa de nitratos de 40 mg L⁻¹. A continuación, se le agregó 1,3 mL de etanol por cada 50 mL de disolución con objeto de proporcionarle la fuente de carbono necesaria para la desnitrificación, y se mantuvo el pH neutro utilizando una disolución tampón de fosfatos. Cuando los soportes fueron las películas de xerogel de carbón se empleó 0,4 g de estas y 100 ml de la disolución acuosa de nitratos, mientras que con los hormigones porosos y los hormigones porosos recubiertos de carbón, se utilizaron piezas de dimensiones 5 x 5 x 2 cm que se pusieron en contacto con 200 ml de la disolución acuosa de nitratos. Con objeto de conseguir las condiciones anaeróbicas se desalojó el oxígeno haciendo burbujear una corriente de argón en la disolución de nitratos. La reacción de desnitrificación transcurrió con agitación suave y a la temperatura de 25 °C. No obstante, algunas de estas condiciones experimentales generales se modificaron para estudiar el efecto de las mismas sobre la capacidad de desnitrificación de la *E. coli* soportada; todos estos estudios se describen en detalle en el Capítulo V.

Durante este proceso anaeróbico las bacterias *E. coli* transforman los nitratos en nitritos como consecuencia de un proceso de respiración, además estos nitritos también van siendo eliminados a N₂ como consecuencia del mencionado proceso

de respiración [2]. Para monitorizar la reacción de desnitrificación en función del tiempo se determinó la evolución de las concentraciones de nitratos y nitritos. La concentración de iones nitratos se determinó directamente en el medio de reacción utilizando un electrodo selectivo de iones nitratos (marca Mettler). Para el análisis de la concentración de iones nitrito se tomaron alícuotas del medio de reacción a diferentes tiempos, y utilizando el método de la sulfanilamida y N-(1-naftil)-etiléndiamina [3], se midió la cantidad de nitritos espectrofotométricamente a la longitud de onda de 543 nm, utilizando un equipo Hitachi modelo U 2000.

En este tipo de procesos puede aparecer amonio, por lo que se analizó mediante el método de Nessler la presencia de éste en la disolución al final del proceso de desnitrificación, en todas las experiencias realizadas. Este ensayo consiste en poner en contacto la disolución con el reactivo de Nessler (iodo-mercuriato de potasio alcalino) y ver si aparece el color naranja (o rojizo) que indique la presencia del ión amonio a través de la formación de un complejo (yoduro de dimercuramonio) [4].

2.5. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

Los hormigones porosos, las películas de carbón, y los hormigones porosos recubiertos con materiales de carbón, se han caracterizado utilizando diferentes y numerosas técnicas con el objetivo de estudiar sus propiedades mecánicas, porosidad, drenabilidad, morfología y características químicas.

Se estudiaron algunas propiedades físicas de los hormigones porosos: resistencias mecánicas a compresión, medidas de coeficientes de permeabilidad y densidades obtenidas con distintos fluidos. Se realizó un estudio comparativo de resistencias mecánicas de hormigones porosos y hormigones porosos recubiertos de carbón. La porosidad de los hormigones porosos se estudió mediante análisis superficial de imágenes, porosimetría de intrusión de mercurio, y adsorción de N₂ a -196 °C. También se determinaron los volúmenes accesibles al agua y mercurio, a presión atmosférica, mediante picnometrías con estos líquidos (H₂O y Hg).

El estudio del área superficial y la porosidad de las películas de carbón se llevó a cabo mediante adsorción física de gases (N₂ a -196 °C y CO₂ a 0 °C). Las características químicas superficiales de las películas de xerogel de carbón se estudiaron mediante: análisis elemental, medida del pH punto cero de carga (PZC), espectroscopía infrarroja (IR), resonancia magnética nuclear de ¹³C (RMN ¹³C), espectroscopía Raman y espectroscopía de fotoemisión de rayos-X (XPS).

Con todos los materiales se realizaron ensayos de lixiviación con agua destilada. En el agua de estos ensayos se determinó la concentración de diferentes metales lixiviados mediante espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo ICP-MS, y también se utilizó para realizar los ensayos de toxicidad.

El análisis morfológico de las muestras se ha realizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía óptica y fotografías de alta resolución.

A continuación se describen las técnicas mencionadas, así como el fundamento teórico de las mismas.

2.5.1. Resistencia a compresión

Se ha determinado la resistencia a compresión mecánica de las muestras de hormigón poroso aplicando diferentes normativas en función del origen del hormigón: en fresco utilizando probetas cilíndricas, y endurecido utilizando testigos extraídos de losas de hormigón. Estos ensayos se realizaron en los laboratorios de I+D+i de Cementos Portland Valderrivas.

En un principio se realizaron para las muestras de la serie PC ensayos a compresión sobre probetas cilíndricas 15 x 30 cm obtenidas a partir de moldes, y compactadas de forma convencional según la norma UNE-EN 12390-3: 2003 [5]. Con el fin de investigar el método de compactación del material más adecuado evitando la penalización de la red capilar característica del hormigón poroso, y por tanto poder evaluar las prestaciones de durabilidad de forma reproducible, en una segunda fase, se decidió la fabricación a escala industrial de hormigón poroso mediante losas de 50 (lado) x 50 (lado) x 15 (altura) cm, de las que fueron extraídas probetas testigo cilíndricas de dimensiones 10 (diámetro) x 15 (altura) cm para la determinación de resistencias a compresión siguiendo el procedimiento recogido en la norma UNE-EN 12504-1:2009 [6]. Los valores experimentales de las roturas a compresión de las probetas testigo han sido mayorados aplicando un factor de corrección del 10 % de acuerdo con lo recogido en la instrucción EHE-08 [7], debido a que durante el proceso de extracción de probetas testigo mediante

trépano provoca generalmente un cierto nivel de daño en el propio hormigón que se pretende evaluar, mediante la aparición de microfisuras que pueden tener su incidencia en los resultados obtenidos al proceder a su rotura a compresión. Aunque no se ha llegado a cuantificar, se considera que durante la extracción de un testigo de un elemento hormigonado con hormigón poroso, sufre un debilitamiento superior al esperado para un hormigón convencional debido a la porosidad de dicho elemento. La resistencia a compresión será indicada a continuación en el texto como R_C .

Por otro lado, con objeto de estudiar la posible influencia del tratamiento térmico con microondas en las propiedades mecánicas del material y compararlo con las propiedades mecánicas del material sin dicho tratamiento térmico, se confeccionaron probetas prismáticas con dimensiones 5 x 2,5 x 2 cm correspondientes a muestras de la serie PC. La Figura 2.3 muestra un esquema del ensayo de compresión realizado:



Figura 2.3.- Ensayo de resistencia a compresión sobre una muestra recubierta con xerogel de carbón (serie PC).

Este ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de la Construcción (LabIC) de la UGR con la supervisión del Profesor José Rodríguez Montero. El estudio se llevó a cabo sobre (i) muestras originales de hormigón poroso, (ii) muestras originales sometidas a un tratamiento, en horno microondas a 800W, de 4 periodos acumulativos de 10 minutos con paradas intermedias de 2 minutos, denominadas con la letra T después del número de muestra, y (iii) sobre piezas de hormigón poroso recubiertas de xerogel de carbón.

2.5.2. Permeabilidad

Cementos Portland Valderrivas optimizó el método de la medida de la permeabilidad del material siguiendo los estudios de diversas revistas especializadas [8,9], para lo cual optó por el empleo del permeámetro LCS, de acuerdo con lo indicado en la instrucción NLT-327/00 [10]. El método proporcionó información cuantitativa sobre si un hormigón es drenante o no, mediante el cálculo del coeficiente de permeabilidad, denominado K, aplicando la ley de Darcy, que además permitió comparar la capacidad drenante de los hormigones porosos en función de sus diferentes dosificaciones y métodos de compactación.

El método empleado para la utilización del permeámetro LCS se realizó en todos los casos sobre las mismas losas de 50 x 50 x 15 cm procediendo de la siguiente manera: una vez desmoldadas y paletizadas las losas (a las 24 horas), se regaron abundantemente con agua y se realizan cinco lecturas con el permeámetro, una en el centro de la losa, y cuatro más en el centro de cada cuadrado imaginario que se

obtiene al dividir cada losa en cuatro partes iguales. En cada una de las lecturas para aceptarla como válida, es necesario que no haya evacuación de agua por las superficies laterales de la losa. El valor experimental obtenido fue la media de los cinco valores anteriores. En la Figura 2.4 se muestra el permeámetro LCS sobre una losa.



Figura 2.4.- Permeámetro LCS sobre una losa de hormigón poroso en las instalaciones de Cementos Portland Valderrivas.

2.5.3. Determinación de densidades y volúmenes accesibles al agua y mercurio.

2.5.3.1. Densidad geométrica

Para la determinación de la densidad geométrica se consideró las diferentes morfologías de las muestras de hormigón poroso recibidas. Para el cálculo de esta densidad se considera como volumen del material, el volumen total de la pieza incluidos los poros. Es decir, la densidad geométrica, ρ_G , relaciona la masa de la

probeta con su volumen teniendo solo en cuenta la forma externa del material [11]. Por tanto la ecuación usada para determinar esta densidad es la siguiente:

$$\rho_G(\text{Kg}/\text{m}^3) = \frac{\text{Masa}}{\text{Volumen}} \quad (2.1.)$$

Para determinar la masa, las muestras se secaron en estufa a 80 °C hasta peso constante utilizando una balanza Mettler PM 1200.

Para calcular el volumen (V_{PC}) de las muestras de la serie PC, teniendo en cuenta que las probetas eran cilíndricas (Figura 2.5) se utilizó la Ecuación 2.2 donde r es el radio de la probeta y h su altura.

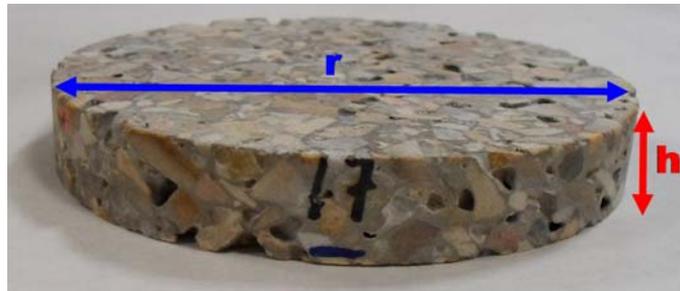


Figura 2.5.- Rodaja cilíndrica perteneciente a una muestra de la serie PC.

$$V_{PC} = \pi \cdot r^2 \cdot h \quad (2.2.)$$

Para calcular el volumen (V_{HPC}) de las muestras de la serie HPC, teniendo en cuenta que las probetas tenían forma de prisma de base cuadrada (Figura 2.6), se utilizó la Ecuación 2.3 donde a y b son los lados de la base del prisma y h su altura.

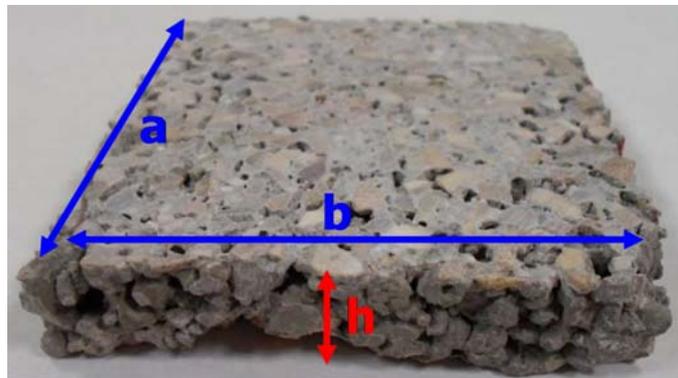


Figura 2.6.- Rodaja prismática correspondiente a una muestra de la serie HPC.

$$V_{HPC} = a \cdot b \cdot h \quad (2.3.)$$

Los valores de ρ_G obtenidas correspondieron al promedio de las medidas realizadas sobre tres probetas diferentes del mismo hormigón.

2.5.3.2. Picnometrías con agua y mercurio

Para esta determinación se utilizaron picnómetros como los que aparecen en la Figura 2.7. Así, se determinó las densidad de los hormigones empleando agua como fluido picnométrico, ρ_{H_2O} , y aplicando la norma "Determinación de la

densidad real y aparente y de la porosidad abierta y total en piedra natural" [12]. También se determinó las densidad utilizando mercurio como fluido, ρ_{Hg} , aplicando la norma "Determinación de densidad en hormigón endurecido" [13].



Figura 2.7.- Picnómetros utilizados para determinación del volumen de poros.

En ambos caso se procedió de la manera siguiente: en primer lugar se calculó el volumen del picnómetro (Ecuación 2.4) dividiendo la masa del fluido en el picnómetro hasta el enrase, entre la densidad de dicho fluido. Los volúmenes calculados necesarios para el enrase del picnómetro se denominaron, volumen de agua, V_{H_2O} , y de mercurio V_{Hg} .

$$V_{PICNÓMETRO} = \frac{M_{FLUIDO}}{\rho_{FLUIDO}} \quad (2.4.)$$

Una vez obtenido el volumen ocupado por el picnómetro se introdujeron las muestras previamente secadas en estufa a 110 °C, y pesadas ($M_{MUESTRA}$),

conectando posteriormente el picnómetro a un equipo de vacío con el objetivo de eliminar el posible aire ocluido en los poros del material. Una vez desgasificada la muestra, se añadió el líquido picnométrico, se hizo el enrase y se pesó, obteniendo así, con la densidad del líquido, el volumen de líquido ocupado ($V_{LIQUIDO}$). Al volumen del picnómetro se le restó el volumen de líquido existente con la pieza y la diferencia de ambos nos dará el volumen de la muestra ($V_{MUESTRA}$). Con la masa de la pieza calculada previamente se obtuvo la densidad de muestra ($\rho_{MUESTRA}$). Para la determinación de las densidades con los distintos fluidos se tuvo en cuenta la temperatura a la cual se llevó a cabo la medida.

$$\rho_{MUESTRA} = \frac{M_{MUESTRA}}{V_{MUESTRA}} \quad (2.5.)$$

El volumen de poros accesibles a agua y mercurio de las muestras de hormigón poroso se calculó a partir de la densidad geométrica y la densidad determinada con los fluidos (ρ_{H2O} o ρ_{Hg}), mediante la aplicación de las Ecuaciones 2.6 y 2.7:

$$V_{H2O} = \frac{1}{\rho_G} - \frac{1}{\rho_{H2O}} \quad (2.6.)$$

$$V_{Hg} = \frac{1}{\rho_G} - \frac{1}{\rho_{Hg}} \quad (2.7.)$$

En el caso del volumen accesible a mercurio, a presión atmosférica, este refleja solo el volumen de poros con diámetro superior a 15 μm .

2.5.4. Porosimetría de mercurio

La porosimetría de mercurio proporciona información sobre la macro y mesoporosidad comprendida entre 0,006 y 360 μm . En esta técnica, debido a que el mercurio no moja la superficie del sólido, se aplica una presión externa mayor a la atmosférica para que acceda a la porosidad. A medida que el poro sea más estrecho, mayor será la presión que tenemos que aplicar al mercurio para que se introduzca. Así, determinando el volumen de mercurio introducido, se puede calcular el volumen y la distribución de poros.

La distribución de porosidad se obtiene aplicando la ecuación de Washburn [14] (Ecuación 2.8); en ella se relaciona la presión externa aplicada (P) con el radio de poro (r); así, el radio de poro, supuesto cilíndrico, que se ha llenado con mercurio es inversamente proporcional a la presión aplicada.

$$r = \frac{-2\sigma \cos \theta}{P} \quad (2.8.)$$

En esta ecuación, σ es la tensión superficial del mercurio, y θ el ángulo de contacto entre el mercurio y la muestra. El mercurio tiene un ángulo de contacto con la superficie del poro comprendido entre 135° y 150° . Para la tensión superficial σ , el valor utilizado fue de $485 \text{ dinas cm}^{-1}$ y para el ángulo de contacto θ , 130° .

El equipo utilizado fue un porosímetro de mercurio Autopore IV 9500 (Figura 2.8) de la Unidad de Análisis de Sólidos Porosos de la Universidad de Málaga. El

procedimiento experimental seguido consistió en introducir en el portamuestras aforado del penetrómetro las muestras previamente cortadas, secadas en estufa a 110 °C durante 24 horas, y pesadas. A continuación, se desgasificó la muestra aplicando vacío para a continuación, llenar el penetrómetro con mercurio a medida que se restablecía la presión atmosférica. A partir de aquí, se aplicó presión en un rango comprendido entre 0,04 y 2100 bar, registrándose el volumen de mercurio introducido en los poros en función de la presión aplicada.

Las experiencias se realizaron sobre piezas de hormigón poroso y sobre piezas de hormigón poroso recubierto de carbón.



Figura 2.8.- Porosímetro de mercurio Autopore IV 9500.

Al volumen determinado mediante porosimetría de mercurio se le denominará en el texto como V_{POR} . De esta técnica se determinó también la superficie externa porosa, S_{EXT} .

2.5.5. Adsorción física de gases

Las isothermas de adsorción y desorción de N₂ a -196 °C, y adsorción de CO₂ a 0 °C se realizaron en un aparato volumétrico AUTOSORB-1C de la casa Quantachrome Instruments, el cual permite alcanzar un vacío de 10⁻¹⁰ bar mediante la acción combinada de una bomba seca y una turbomolecular con trampa fría de N₂ líquido.

En el caso de las películas de xerogel de carbón el acondicionamiento de las muestras para realizar ambas isothermas fue el siguiente: se pesó una pequeña cantidad de muestra (entre 0,02 g y 0,04 g) previamente seca en estufa a 110 °C, y antes de la adsorción se desgasificó durante 24 h en un bulbo de vidrio de 9 mm de diámetro, a 110 °C, en vacío dinámico de aproximadamente 10⁻⁹ bar. Los adsorbatos utilizados fueron nitrógeno (99,999 %) y dióxido de carbono (99,999 %) suministrados por Air Liquide.

Para las muestras de hormigón poroso el adsorbato utilizado fue únicamente nitrógeno. El proceso de desgasificación fue igual al realizado para los xerogeles de carbón. En estos casos el peso de muestra analizada estuvo entre 1 y 2 g, y el bulbo utilizado fue de 12 mm. En todos los casos se minimizó el volumen muerto mediante relleno de los bulbos con varillas de vidrio.

A partir de los datos de adsorción de N₂ a -196 °C se determinó el área superficial aparente, S_{BET}, mediante la aplicación de la ecuación de BET [15,16].

A partir de los datos de adsorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ y CO_2 a $0\text{ }^\circ\text{C}$ se determinaron el volumen de microporos, W_0 , la anchura media de microporo, L_0 , y la energía de adsorción característica, E_0 , mediante la aplicación de la ecuación de Dubinin-Radushkevich [17,18] [19], utilizando como cociente de afinidad 0,33 para el N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ [20] y 0,35 para el CO_2 a $0\text{ }^\circ\text{C}$ [21]. Los volúmenes molares utilizados para N_2 y CO_2 a las temperaturas de trabajo fueron de $34,65\text{ cm}^3/\text{mol}$ y $43,01\text{ cm}^3/\text{mol}$, respectivamente [22].

Finalmente, a partir de los datos de desorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ se determinó el volumen de mesoporos, V_{BJH} , mediante la aplicación del método de Barret, Joyner y Halenda (BJH) para el cálculo del volumen de mesoporos [23]. Este método asume poros con geometría cilíndrica, y que cuando la presión relativa inicial es cercana a la unidad, todos los poros están llenos con líquido.

2.5.6. Análisis superficial de imágenes

Con esta técnica se analizaron los poros con diámetros superiores a $0,05\text{ mm}$ presentes en la superficie de las muestras de hormigón poroso. Para este análisis primero se cortaron distintas secciones de las probetas de unos 2 cm de espesor y se escanearon usando un escáner plano Canon modelo LIDE 110, posteriormente se escogieron franjas cuadradas con un área de 50 cm^2 , descartando las zonas que presentaron efectos significativos de borde. Por último, mediante el programa de imagen GIMP [24] se marcaron los poros en blanco sobre la superficie gris y se pasó a escala de blancos y negros para distinguir la superficie porosa de la

superficie no porosa. En la Figura 2.9 se presentan los pasos seguidos para el marcado de los poros:

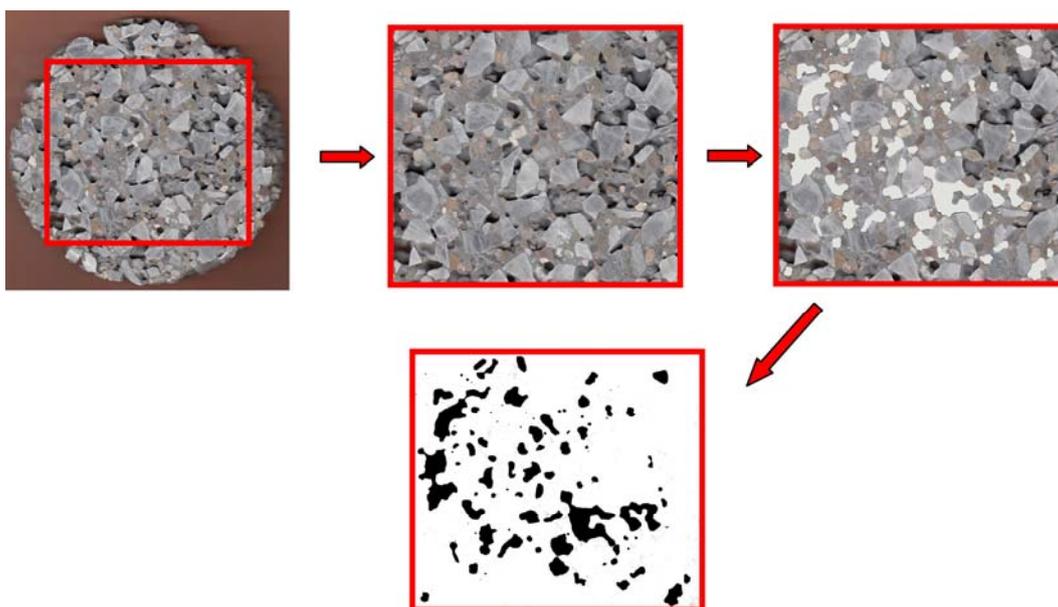


Figura 2.9.- Esquema del proceso seguido para el marcado de poros superficiales.

Una vez discriminado el área superficial porosa, denominada A_{POR-2D} , del área superficial total de la imagen, ésta se cuantificó y se realizó una distribución de diámetros de poro. Este proceso se realizó mediante el software de tratamiento de imagen ImageJ [9].

2.5.7. Lixiviación de metales

El lixiviado de las muestras se realizó utilizando agua destilada como fluido extractor y se utilizó el proceso descrito en la norma alemana DIN 38414-S4 [25] ligeramente modificada al utilizar piezas de hormigón poroso con un volumen aproximado de 50 cm³ y utilizando un volumen de agua 20 veces superior al volumen de la muestra (1000 mL). Para realizar este ensayo con las películas de carbón, se utilizó una relación de 10 ml de agua por cada 0,4 gramos de carbón.



Figura 2.10.- Proceso de lixiviación.

Con los hormigones, este proceso se llevó a cabo en un vaso de precipitado sobre el que se colocó un soporte de vidrio, especialmente diseñado para estas muestras, que permitía situar bajo él un spin para la agitación del agua. Una vez ajustada la pieza en el soporte y añadida el agua destilada se tapó el vaso con parafilm para evitar el contacto con el aire (Figura 2.10). Este proceso duraba varios días hasta obtener un valor de pH constante.

Con el agua empleada en la lixiviación se realizaron dos análisis: por un lado el análisis de concentración de los diferentes metales, mediante la técnica de ICP-MS y por otro, un ensayo de toxicidad.

Espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo

Este análisis se realizó un equipo Perkin-Elmer modelo Optima 8300 del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada. Así se analizaron las concentraciones en ppb de los siguiente metales: Be, Sc, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Y, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Ba, Tl, Pb, Bi, Th y U.

Por otro lado se realizó un ensayo cualitativo para la determinación de Ti en los lixiviados. Para ello se utilizó la técnica espectrofotométrica mediante complejación con agua oxigenada. Así, se añadió 5 ml de cada lixiviado en una placa de toque, unas gotas de ácido sulfúrico, y unas gotas de agua oxigenada y se esperó para ver si la reacción daba el color amarillo del complejo.

Ensayo de toxicidad

Para la determinación de la toxicidad de los distintos lixiviados se llevó a cabo el análisis mediante el empleo de la bacteria luminiscente *Vibrio Fischeri* LCK-480 suministrada por la casa HACH LANGE. La toxicidad se expresó como el % de inhibición de la luminiscencia de la bacteria que corresponde con la toxicidad que ejercen los distintos contaminantes.

La bacteria *Vibrio Fischeri* es una bacteria gram negativa, es decir, que se tiñe de color rosáceo para su visualización, anaerobia facultativa, que pueden vivir en presencia ó en ausencia de oxígeno. Pertenece a la familia Vibrionaceae cuya característica más representativa es la bioluminiscencia (producción de luz por parte de ciertos organismos vivos). Es importante destacar la estabilidad en la emisión de luz así como la gran sensibilidad que presenta a una amplia variedad de sustancias tóxicas.

La reacción de bioluminiscencia bacteriana está ligada al sistema de transporte de electrones en la respiración celular y es indicativa del estado metabólico de la célula, de modo que una disminución de la bioluminiscencia indica la disminución de la respiración celular. Los contaminantes físicos, químicos y biológicos afectan a la respiración celular alterando el porcentaje de síntesis de proteínas y lípidos y modificando por tanto el nivel de emisión de luminiscencia. En presencia de agentes contaminantes, la bioluminiscencia natural de *Vibrio Fischeri* disminuye [26].

El test de bioluminiscencia utilizado en este trabajo de investigación consiste en la medida de la luz emitida por las bacterias *Vibrio Fischeri* pasado un tiempo de incubación, antes y después de estar en contacto con la muestra. Es asumible que la diferencia de luminosidad observada es debida al efecto de la toxicidad de la muestra. El grado de pérdida de luz indicará el grado de toxicidad de esta.

Antes de comenzar el ensayo de toxicidad en los lixiviados se ajustó el pH de estos en un intervalo de 6-8 y se añadió NaCl en una concentración del 2 %,

condiciones necesarias para que la bacteria *Vibrio Fischeri* produzca biolumiscencia en los lixiviados.

La determinación de la toxicidad se hizo mediante Screening, en la que el resultado de la inhibición luminosa de los lixiviados se obtiene en relación a un preparado de control de la bacteria, con una disolución de NaCl al 2 % y se expresa en %. Esta determinación se llevó a cabo en un equipo LUMISTox 300 (Figura 2.11), donde a un volumen de 0,5 ml del lixiviado de muestra se le añadió 0,5 ml de la solución que contenía la bacteria, y posteriormente se obtuvieron las medidas del porcentaje de inhibición mostrado por la bacteria con el lixiviado de muestra a 15 minutos y a 30 minutos, porcentajes de inhibición denominados como I_{15} e I_{30} .



Figura 2.11.- Equipo LUMISTox 300 para determinación de toxicidad en los lixiviados.

Finalmente, comentar que en la mayoría de los estudios se suele medir el parámetro EC50. Este es un parámetro indicador de ecotoxicidad, y se define como la concentración efectiva de la disolución que causa una disminución de la luz del 50 %, y se considera que una muestra es tóxica si su lixiviado presenta un

EC50, a 15 °C y después de 15 minutos de contacto entre la disolución y la suspensión bacteriana, inferior o igual a 3000 mg/L que corresponde a una concentración del 0,3 % del lixiviado.

2.5.8. Caracterización química de los materiales de carbón

2.5.8.1. Análisis elemental

El análisis elemental de las muestras se realizó con un analizador elemental THERMO SCIENTIFIC Modelo Flash 2000 del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada, que determina el contenido de C, N, S y O, este último por diferencia con los anteriores.

2.5.8.2. pH del punto cero de carga

El pH de una suspensión acuosa de un material, al cual la superficie de éste se encuentra eléctricamente neutra, es decir, no tenga cargas netas positivas ni negativas se le denomina pH del punto cero de carga (PZC). Para determinar la medida del PZC se puso en contacto 0,4 g de xerogel de carbón con 6,4 mL agua destilada libre de CO₂ [27]. El pH de la suspensión se monitorizó hasta medida constante considerándose el pH final obtenido como PZC. Para estas medidas se utilizó un equipo Crison modelo GLP 22.

2.5.8.3. Espectroscopía Infrarroja

Para obtener los espectros IR se utilizó un espectrofotómetro marca NICOLET 20SXB FTIR. Los espectros se registraron en el intervalo de longitudes de onda comprendido entre 400 y 4000 cm^{-1} . Tanto el xerogel orgánico, como los xerogeles carbonizados fueron diluidos en una mezcla sólida con KBr para obtener las pastillas de análisis con suficiente transmitancia.

2.5.8.4. Espectroscopía Raman

Los espectros Raman se obtuvieron con un espectrómetro Micro-Raman Dispersivo JASCO NRS-5100 equipado con una fuente de luz con láser verde a 532 nm, 30 mW y refrigerado por aire. El rango espectral analizado fue de 200-3000 cm^{-1} .

2.5.8.5. Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C

Los análisis se realizaron en un instrumento Bruker Advance 500 equipado con un imán superconductor de 11,74 T de agujero estándar que opera a 125 MHz para ^{13}C . Se utilizó una sonda de dos canales de banda ancha con giro en ángulo mágico, Bruker X/H CP-TOSS, para rotores de 4 mm de diámetro. Los espectros se obtuvieron adquiriendo para cada muestra de carbón 6,276 barridos mediante la técnica de polarización cruzada, con un tiempo de contacto de 2,5 ms y giro de 6 kHz.

2.5.8.6. Espectroscopía de fotoemisión de rayos X (XPS)

El equipo utilizado para el análisis de muestras ha sido un espectrómetro ESCAPROBE P de Omicrom de la UNED (Madrid), equipado con un analizador de electrones semiesférico EA-125, con 7 canales (energía de paso de 2-200 eV) y una fuente de radiación de rayos X con ánodos de Mg y Al. El equipo posee una cámara de pre-tratamiento a atmósfera y temperatura controladas. El análisis se realizó directamente sobre las películas de xerogel de carbón sin molturar. Así, el porta muestras se introdujo en la cámara de pre-tratamiento, donde la muestra se desgasificó hasta alcanzar un vacío próximo a 10^{-4} Pa, y por último se transfirió a la cámara de análisis en donde la presión residual se mantiene por debajo de 10^{-9} Pa. El análisis se realizó con la fuente con ánodo de magnesio. Para el registro de los espectros, se utilizó un paso de energía de 20 eV, y se acumularon espectros hasta conseguir una buena relación señal/ruido, dependiendo de las intensidades de los picos. Como patrón de referencia de los desplazamientos de los picos por el efecto de carga se usó el pico correspondiente a C_{1s} (284.6 eV). El programa empleado para realizar los análisis fue el CASA XPS.

2.6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Pekala RW. Organic aerogels from the polycondensation of resorcinol with formaldehyde. *Journal of Materials Science*, 24:3221-3227, (1989).
- [2] Moreno-Castilla C, Bautista-Toledo I, Ferro-García MA, Rivera-Utrilla J. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon*, 41:1743-1749, (2003).

- [3] Kesserü P, Kiss I, Bihari Z, Polyák B. Investigation of the denitrification activity of immobilized *Pseudomonas butanovora* cells in the presence of different organic substrates. *Water Research*, 36:1565-1571, (2002).
- [4] Xu JF, Lu SL. Determination of ammoniacal nitrogen by reagent colorimetric method. *Arid Environmental Monitoring*, 246-253, (2001).
- [5] AENOR. UNE-EN 12390-3. Testing hardened concrete. Part 3: Compressive strength of test specimens, (2009).
- [6] AENOR. UNE-EN 12504-1:2009. Ensayos de hormigón en estructuras. Parte 1: Testigos. Extracción, examen y ensayo a compresión, (2009).
- [7] BOE. EHE-08. Instrucción de hormigón estructural, (2011).
- [8] Yang J, Jiang G. Experimental study on properties of pervious concrete pavement materials. *Cement and Concrete Research*, 33:381-386, (2003).
- [9] Neithalath N, Sumanasooriya MS, Deo O. Characterizing pore volume, sizes, and connectivity in pervious concretes for permeability prediction. *Materials Characterization*, 61:802-813, (2010).
- [10] BOE. INSTRUCTION NLT-327/00. Permeability in situ of drainage pavements with LCS permeameter, (2000).
- [11] AENOR (1997). UNE-EN 1062. Productos aislantes térmicos para aplicaciones en la edificación. Determinación de la densidad aparente, (1997).
- [12] AENOR. UNE-EN 1936:2006. Métodos de ensayo para piedra natural. Determinación de la densidad real y aparente y de la porosidad abierta y total, (1996).
- [13] AENOR. UNE-EN 1097-7:2000. Ensayos para determinar las propiedades mecánicas y físicas de los áridos. Parte 7: Determinación de la densidad real del filler. Método del picnómetro, (2000).
- [14] Washburn EW. Note on a method of determining the distribution of pore sizes in a porous material. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 7:115-116, (1921).

- [15] Gregg S.J., Sing K.S.W. Adsorption, Surface Area and Porosity. Academic Press. London, (1982).
- [16] Brunauer S, Emmett PH, Teller E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60:309-319, (1938).
- [17] Dubinin MM. Contemporary state of the theory of volume filling of micropores of adsorbents in the adsorption of gases and vapors on carbon adsorbents. *Russian Journal of Physical Chemistry*, 39:1305-1317, (1965).
- [18] Polanyi M. Adsorption from the point of view of the third law of thermodynamics. *Verh. Der Deutsh. Physik. Ges.*, 16:1012-1016, (1914).
- [19] Dubinin MM. Generalization of the theory of volume filling of micropores to nonhomogeneous microporous structures. *Carbon*, 23:373-380, (1985).
- [20] Dubinin MM, Zhukovskaya EG. Adsorption properties of carbon adsorbents - Communication 4. Adsorption properties of active charcoals having a developed transitional porosity. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR Division of Chemical Science*, 8:1636-1645, (1960).
- [21] Cazorla-Amorós D, Alcañiz-Monge J, Linares-Solano A. Characterization of activated carbon fibers by CO₂ adsorption. *Langmuir*, 12:2820-2824, (1996).
- [22] Cazorla-Amorós D, Alcañiz-Monge J, De La Casa-Lillo MA, Linares-Solano A. CO₂ as an adsorptive to characterize carbon molecular sieves and activated carbons. *Langmuir*, 14:4589-4596, (1998).
- [23] Barrett EP, Joyner LG, Halenda PP. The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms, 73:373-380, (1951).
- [24] Romero PA, Zheng SF, Cuitiño AM. Modeling the dynamic response of visco-elastic open-cell foams. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 56:1916-1943, (2008).
- [25] Ramiro H.T. DIN 38414-S4. Characterization of metal mining wastes and their possible use in engineered barriers, (2007).

- [26] AENOR. UNE-EN 11348-2. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminiscent bacteria test), (2009).
- [27] Leon CA, Solar JM, Calemma V, Radovic LR. Evidence for the protonation of basal plane sites on carbon. *Carbon*, 30:797-811, (1992).

CAPÍTULO III:

PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE CARBÓN COMO SOPORTES DE *E. coli* PARA LA DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS

Resumen

Este capítulo describe la preparación de películas de xerogel de carbón obtenidas con distintos porcentajes de carbonización (13, 17 y 28 %), preparados a partir de la polimerización de resorcinol y formaldehído en medio acuoso, y utilizando dos diferentes métodos de carbonización: un método térmico en horno convencional (serie XF), y uno método muy novedoso de carbonización asistido por microondas (serie XMW).

Todas las películas de carbón se han caracterizado exhaustivamente, tanto sus características físicas, texturales y químicas. Posteriormente, se soportaron bacterias *Escherichia coli* sobre las mismas, y se evaluó la capacidad de desnitrificación del agua de estos sistemas en función de sus características físico-químicas.

Este tipo de xerogeles de carbón, en forma de películas, han sido seleccionados como materiales de recubrimiento de los hormigones porosos para esta Tesis, por esta razón en este Capítulo se estudian separadamente y en profundidad.

3.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE CARBÓN

3.1.1. Caracterización textural

Las imágenes macroscópicas de las películas de xerogel orgánico XO, y carbonizado XMW28, se muestran en la Figura 3.1 a título ejemplo. Se observa claramente la diferencia de color entre ambos materiales: el material orgánico XO es naranja y el carbonizado en microondas XMW28 es negro.



Figura 3.1.- Películas de xerogel, orgánico XO (Izda), y carbonizado XMW28 (Dcha)

En la Tabla 3.1. se encuentran los resultados del área superficial obtenida mediante la aplicación del método BET, volumen (W_0) y anchura (L_0) de microporos obtenidos a partir de las correspondientes isothermas de adsorción de N_2 y CO_2 aplicando la ecuación DR, así como el volumen de mesoporos (V_{BJH}), y anchura (L_{BJH}) de mesoporos, obtenidos por la aplicación del método BJH a las correspondientes ramas de adsorción y desorción de las isothermas de N_2 a $77\text{ }^\circ\text{C}$.

Tabla 3.1.- Resultados de caracterización textural.

Muestra	$S_{\text{BET}} (\text{N}_2)$ (m^2/g)	$W_0 (\text{N}_2)$ (cm^3/g)	$W_0 (\text{CO}_2)$ (cm^3/g)	$L_0 (\text{N}_2)$ (nm)	$L_0 (\text{CO}_2)$ (nm)	V_{BJH} (cm^3/g)	L_{BJH} (nm)
XO	14	0,00	0,00	-	-	0,05	-
XF13	73	0,02	0,08	1,6	0,7	0,24	10,2
XF17	86	0,02	0,10	1,7	0,6	0,39	6,1
XF28	498	0,18	0,19	0,8	0,6	0,62	2,2
XMW13	98	0,03	0,10	1,5	0,6	0,50	15,7
XMW17	111	0,03	0,09	1,7	0,7	0,58	15,5
XMW28	121	0,04	0,14	1,5	0,5	0,40	15,4

En primer lugar hay que destacar que todas las películas carbonizadas son materiales mesoporosos, con volúmenes de mesoporos de hasta $0,6 \text{ cm}^3/\text{g}$ mostrando especialmente las películas de la serie MW isothermas claramente tipo IV según la clasificación IUPAC (Figura 3.2). Por otro lado, la anchura media de los mesoporos (L_{BJH}) es muy similar entre las películas de la serie XMW. También es interesante el hecho que con bajos grados de carbonización asistida por microondas (13 %) se obtiene un alto volumen de mesoporos. Estos resultados contrastan con los obtenidos mediante tratamientos convencionales de carbonización, donde se suele obtener un aumento de la porosidad en general a medida que aumenta el grado de carbonización, tal y como sucede con los materiales de la serie XF. La distribución de tamaños de poro (PSD) de las muestras XMW17 y XF17, obtenidas por aplicación de QS-DFT a los datos de las isothermas de N_2 , se recogen en la Figura 3.2 a título de ejemplo, mostrando una muy buena concordancia con los resultados obtenidos por aplicación de los

métodos BJH y DR. Las diferencias obtenidas en PSD para grados de carbonización iguales, parecen depender del método de carbonización empleado.

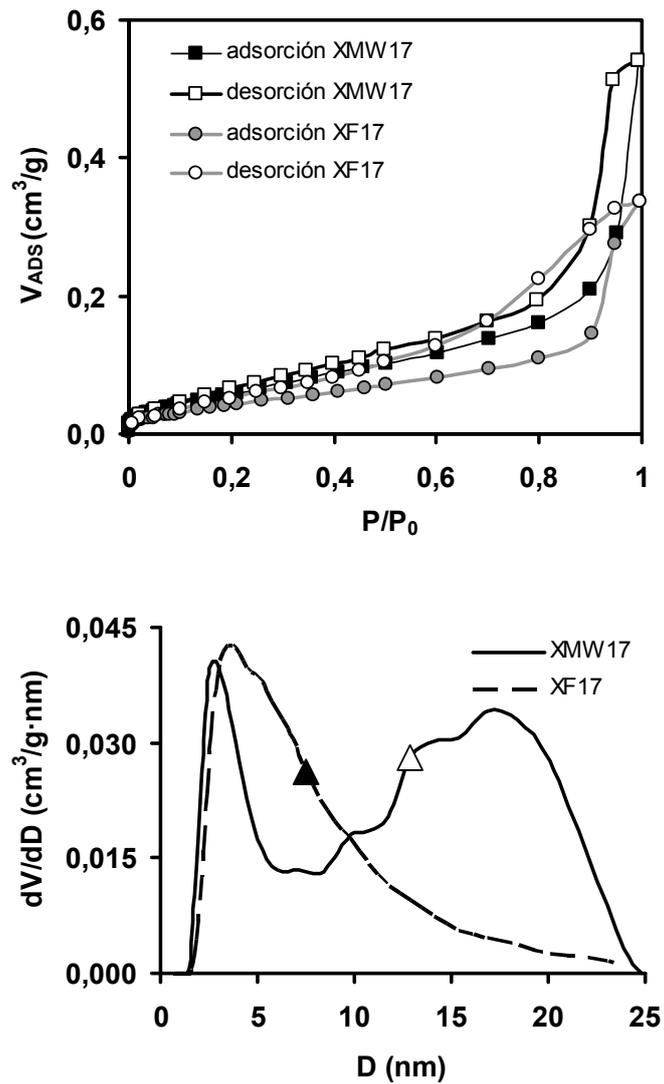


Figura 3.2. Isothermas de adsorción y desorción de N_2 a 77 °C correspondientes a XMW17 y XF17 (arriba). Distribución de tamaño de poros obtenida mediante la aplicación de QS-DFT a las isothermas de N_2 (debajo).

Los volúmenes de microporos son pequeños, y muy similares entre sí para las películas de una misma serie, algo superiores en los carbonizados convencionales frente a los de microondas, y también, en general superiores los obtenidos mediante adsorción de CO₂ a 0 °C frente a los obtenidos mediante adsorción de N₂ a - 196 °C. En las películas obtenidas mediante carbonización convencional se observa una tendencia lógica de desarrollo de la microporosidad y del área superficial a medida que aumenta el grado de carbonización, y obteniéndose un material como el XF28 con características micro-mesoporosas apreciables y un área superficial aparente de 500 m²/g, valores muy significativos para un material de estas características morfológicas. Sin embargo, dicha tendencia de desarrollo de la porosidad no es tan evidente en las películas carbonizadas con microondas, es más, las características texturales de las tres muestras de la serie son bastante similares y muy pobres en microporosidad, presentando solamente un pequeño volumen de ultramicroporos. Estos resultados indican claramente que los procesos de carbonización, a pesar de que las pérdidas de peso han sido iguales, no se están desarrollando de igual manera.

La morfología de este tipo de materiales está normalmente formada por una red tridimensional de partículas primarias de tamaño nanométrico interconectadas y más o menos fusionadas [1], aunque en este caso estas partículas fueron difícilmente distinguibles mediante microscopía SEM observándose una estructura compacta consecuencia de un alto grado de solapamiento entre las partículas primarias constituyentes de los geles de carbón (Figura 3.3). Las películas carbonizadas con un 28 % de pérdida de peso presentaron un espesor promedio de 0,6 mm.

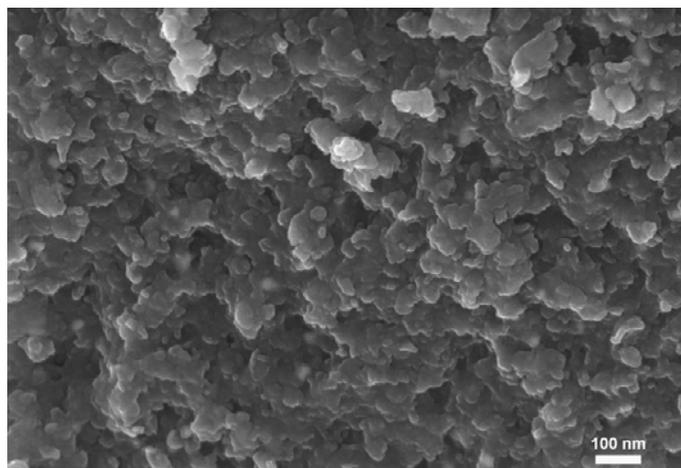


Figura 3.3.- Micrografía SEM de XMW28 a 200 Kx de magnificación.

3.1.2.- Caracterización química

Los datos de análisis elemental (AE), en tanto por ciento en peso, el contenido de oxígeno superficial determinado por XPS (O_{XPS}) y el pH del punto cero de carga (PZC) se recogen en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2.- Resultados de análisis elemental, contenido de oxígeno superficial determinado por XPS y PZC.

Film	C_{AE} (%)	H_{AE} (%)	O_{AE} (%)	O_{XPS} (%)	PZC
XO	58,9	6,3	34,8	-	3,6
XF13	64,4	5,2	30,4	30,5	4,3
XF17	70,1	5,4	24,5	23,2	5,6
XF28	77,5	4,7	17,8	14,7	6,8
XMW13	61,0	3,7	35,3	23,9	3,4
XMW17	63,2	3,6	33,3	24,1	3,8
XMW28	62,7	3,4	33,9	24,3	3,3

Todas las películas carbonizadas contienen contenidos en oxígeno elevados, debido a que en ninguno de los casos la carbonización ha sido completa. Hay que tener en cuenta, por un lado, el alto contenido en oxígeno que presentan las películas de gel orgánico, y por otro lado, que en el mayor de los casos solo se ha alcanzado un 28% de grado de carbonización, el cual, viene a estar en torno al 50% del porcentaje de carbonización completo promedio obtenido con materiales similares [1], lo que significa que es muy razonable la presencia de un contenido alto en oxígeno en todas las muestras. No obstante, analizando los contenidos en oxígeno por series sí que se observan tendencias diferentes y significativas conforme aumenta el grado de carbonización. Así, las películas carbonizadas en horno convencional muestran un aumento del contenido en carbono, en consonancia con un descenso en el contenido en oxígeno, a medida que aumenta el grado de carbonización, siendo ésta la evolución habitual en los procesos de carbonización convencionales. Sin embargo, es de destacar tanto el alto contenido en oxígeno que presentan las películas carbonizadas mediante microondas, como el hecho de que sean similares estos contenidos en todas las películas de la serie, lo cual estaría estrechamente relacionado con la técnica de microondas. En materiales sólidos la energía de microondas es suministrada a nivel molecular por un mecanismo de polarización dieléctrica, dando como resultado un calentamiento interno muy eficiente [2]. Por tanto una posible explicación a los altos contenidos de oxígeno mencionados anteriormente podría venir dado por el mecanismo de calentamiento, el cual permite la formación de centros activos en los materiales que, una vez expuestos al aire son estabilizados por oxidación [3]. Además, las películas de la serie XMW muestran también un contenido muy similar de oxígeno en la superficie externa no porosa (O_{XPS}), mientras que en el caso de los

films de la serie XF los contenidos de oxígeno determinados por XPS fueron muy similares a los determinados por AE, indicando una distribución homogénea de oxígeno a través de todo el material. Por el contrario, las películas XMW mostraron una menor concentración de oxígeno sobre la superficie externa no porosa, indicando que el proceso de re-oxidación mencionado anteriormente podría darse mayormente en las superficies de micro y mesoporos. Más aún, el análisis elemental de las películas carbonizadas está completamente en consonancia con las medidas de PZC. Los valores de PZC obtenidos indican que todos estos materiales tienen características ácidas superficiales. Pero además, los valores de PZC que dependen inversamente del contenido en oxígeno en este tipo de materiales siguen esta tendencia en la serie XF, mientras que en la serie XMW se obtuvieron valores muy parecidos de PZC para todos los grados de carbonización.

El estudio de las características químicas de estos materiales también se estudió mediante espectroscopía infrarroja. La asignación de bandas se ha realizado teniendo en cuenta la bibliografía especializada para éste tipo de materiales [4]. Así, en el espectro correspondiente a la película de xerogel orgánico (Figura 3.4) se distinguen las siguientes bandas principales: bandas típicas de vibraciones de enlaces C-O alrededor de 1090 y 1240 cm^{-1} características de grupos hidroxilo y éteres, respectivamente. La banda alrededor de 1460 cm^{-1} se encuentra asociada en la literatura a la formación de puentes metileno entre anillos aromáticos [1]. Una banda sobre los 1600 cm^{-1} que está asociada al doble enlace C=C aromático, y finalmente la banda ancha sobre los 3450 cm^{-1} que engloba la presencia de grupos -OH tanto del material, como debido a la presencia de humedad.

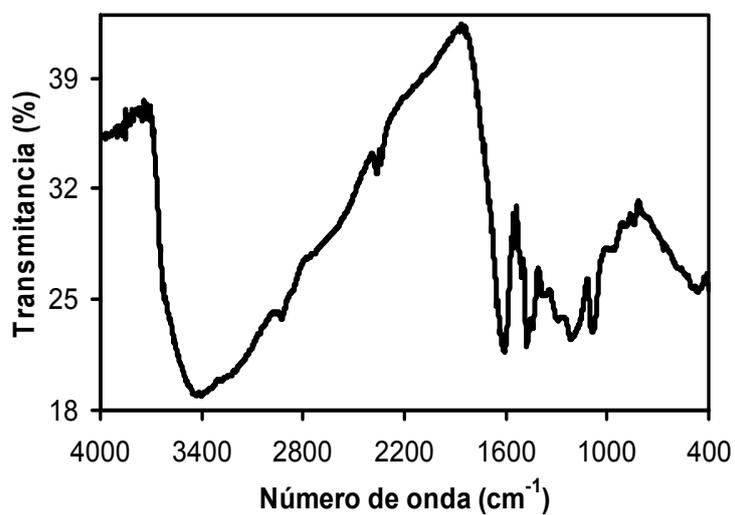


Figura 3.4.- Espectro IR del xerogel orgánico XO.

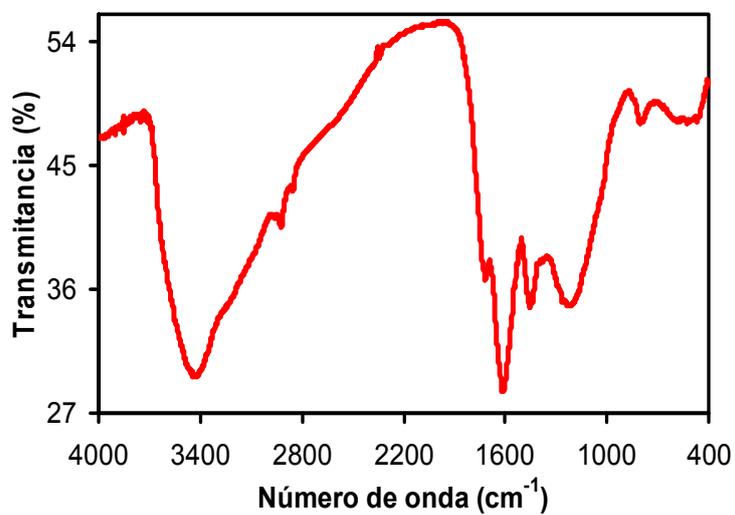


Figura 3.5.- Espectro IR del xerogel XMW28

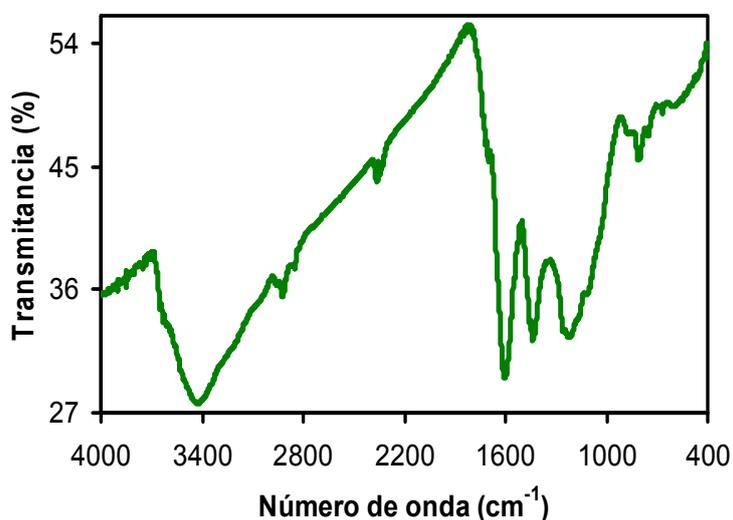


Figura 3.6.- Espectro IR del xerogel XF28

Las Figuras 3.5 y 3.6 corresponden a los espectros de las películas de carbón XMW28 y XF28, respectivamente, los cuales se muestran como ejemplo de cada una de las series. Se observa, que ambos espectros son muy similares entre sí, sin embargo se han producido modificaciones espectrales en la región entre 1000 y 1300 cm^{-1} típica de enlaces C-O como consecuencia del proceso de carbonización parcial. Esta técnica, no es una técnica cuantitativa, y además, es usual que bandas muy intensas enmascaren a otras, por lo que la información que nos aporta es limitada, sin embargo cabe destacar la aparición de una banda a 1718 cm^{-1} en el espectro de la muestra XMW28 (Figura 3.5) que no aparece en los espectros del xerogel orgánico original, ni en el de la muestra carbonizada en horno convencional XF28; dicha banda estaría asociada a vibraciones de enlaces C=O, los cuales se habrían formado principalmente durante la oxidación de las películas tratadas con microondas una vez expuestas al aire, en la línea de la explicación

propuesta sobre los contenidos en oxígeno obtenidos mediante el análisis elemental.

Las películas de carbón XMW13, XMW28 y XF28 también se analizaron mediante resonancia magnética nuclear de ^{13}C . La Figura 3.7 recoge el espectro de RMN de ^{13}C de las muestras XMW28 y XF28 donde se puede apreciar diferencias significativas. Las señales de RMN han sido asignadas acorde con la literatura consultada [5,6]. El espectro XMW28 muestra las siguientes señales: una señal a 117 ppm asociada con átomos de carbono localizados en anillos aromáticos contiguos a grupos $-\text{OH}$ y una segunda señal en 160 ppm correspondiente a carbonos aromáticos enlazados directamente a grupos $-\text{OH}$. Por otro lado, el espectro de XF28, mostró las señales de estos carbonos aromáticos a 130 y 155 ppm y por tanto desplazadas claramente con respecto a las correspondientes señales en el espectro de XMW28. En este sentido hay que mencionar, que la señal a 130 ppm se considera en la mayoría de los estudios como representativa de los átomos de carbono aromáticos en materiales de carbón [6]. Por tanto, podemos llegar a la conclusión de que la muestra XF28 es un material con menos grupos fenólicos y mayor carácter grafénico que la muestra XMW28 a pesar de tener ambas el mismo grado de carbonización.

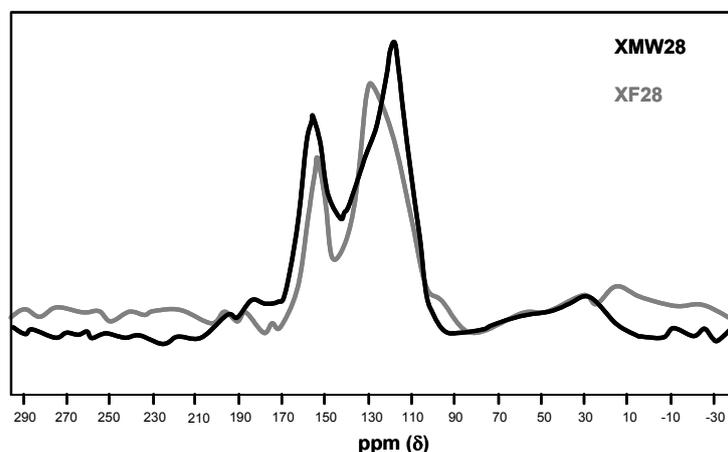


Figura 3.7.- Espectros RMN de ^{13}C correspondientes a XMW28 (negro) y XF28 (gris).

Los resultados del análisis realizado mediante espectroscopía Raman también concuerdan con las conclusiones obtenidas de la RMN. Los espectros Raman de las películas XO, XMW28 y XF28 se muestra en la Figura 3.8. Así, la mayor intensidad relativa de la banda con menor número de onda (vibración de estiramiento en anillos alternos o anillos bencénicos condensados [7]) con respecto a la banda centrada de 1580 cm^{-1} indica que el desarrollo del carácter grafénico de estos materiales sigue el orden $\text{XF28} > \text{XMW28} > \text{XO}$.

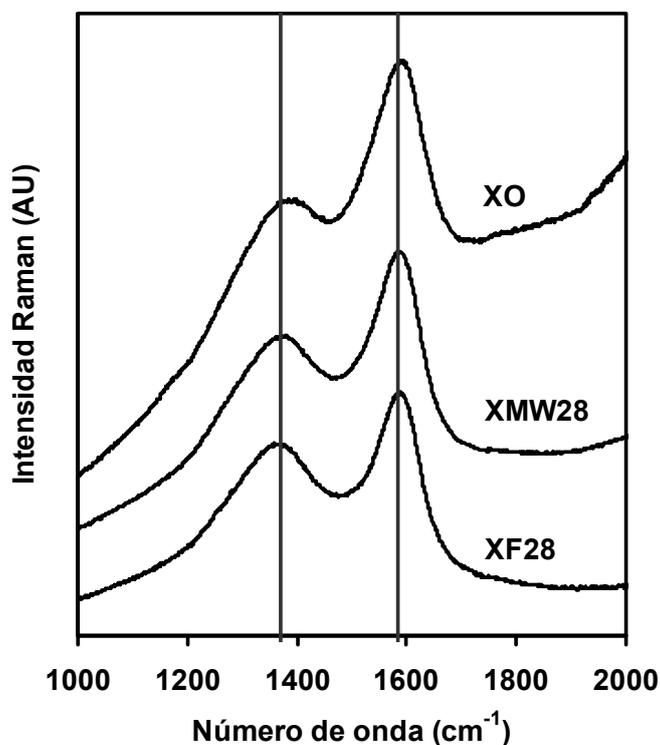


Figura 3.8.- Espectros Raman de las películas XO, XMW28 y XF28.

3.2. ELIMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA POR BACTERIAS *E. coli* SOPORTADAS

Como se describió en el Capítulo II se hicieron crecer bacterias *E. coli* sobre las películas de carbón con objeto de ser empleadas en la desnitrificación de aguas. Esta bacteria fue seleccionada teniendo en cuenta que *E. coli* está presente en todas las aguas residuales urbanas y basado en trabajos previos [8-10], donde se estudió la adsorción de *E. coli* en diferentes carbones activados con propiedades superficiales básicas. En estos carbones se demostró que, altos valores de PZC y

altos contenidos de materia mineral fueron positivos para la adsorción y consecuentemente para el proceso de desnitrificación. Sin embargo, los films de carbón preparados en este trabajo tuvieron valores muy ácidos de PZC y ningún contenido de materia mineral siendo además, desde un punto de vista químico, materiales muy diferentes de los estudiados previamente. Por otra parte, el tipo de porosidad de los films (microporos y mesoporos) no va a tener influencia en el proceso de desnitrificación, ya que la *E. coli* no puede fijarse dentro de este tipo de poros.

El desarrollo de la *E. coli* sobre las muestras XMW28 y XF28 fue estudiado mediante SEM, detectando mayor crecimiento bacteriano en XMW28 que en XF28. Para la nomenclatura de las películas con las bacterias soportadas se ha añadido letra B al nombre de la muestra correspondiente. En la Figura 3.9. se muestra un detalle de la bacteria sobre la muestra XMW28B.

Las bacterias, en general, están cargadas negativamente de hecho, el pH del punto cero de carga de la bacteria *E. coli* está alrededor de 3 [11] y es una bacteria Gram negativa. Se ha demostrado que estas bacterias se adsorben electrostáticamente bien sobre materiales con PZC > 7 que dan lugar a suspensiones alcalinas [10]. Sin embargo, con estas películas de carbón que tienen PZC más bajos (serie XMW) mostraron una mayor presencia de *E. coli*, resultado que no está en contradicción con lo anterior porque la observación microscópica se llevó a cabo tras 72 horas de cultivo, tiempo durante el cual las bacterias crecieron a distinto ritmo sobre ambas películas. En este sentido, *Gottenbos y col.* [12] demostraron que las superficies positivamente cargadas presentan un efecto antimicrobiano

mayor para las bacterias Gram negativas, y no así sobre las Gram positivas, ya que estas tienen una membrana celular más gruesa y rígida y se encuentran menos afectadas por la carga de la superficie. En definitiva, sobre superficies positivamente cargadas las bacterias *E. coli* se adsorberían mejor, pero verían inhibida su reproducción, lo cual justifica una mayor presencia de *E. coli* sobre la película XMW28, ya que, al tener un PZC muy ácido estará cargada negativamente a pH neutro.

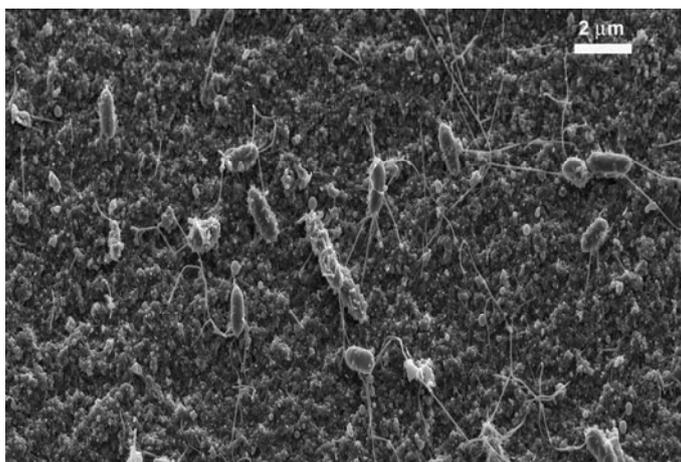


Figura 3.9.- Detalle de las bacterias soportadas sobre la película XMW28 obtenida mediante SEM.

Los resultados obtenidos en la eliminación de nitratos cuando la bacteria fue soportada sobre las películas de xerogel de carbón se muestran en la Figura 3.10. Así, las bacterias soportadas sobre las películas de la serie XMW eliminaron los nitratos más rápidamente que las soportadas sobre las películas de la serie XF. Este resultado estaría directamente relacionado con el mayor crecimiento de la *E. coli* detectado sobre las películas XMW, el cual, fue nuevamente corroborado

mediante SEM analizando las películas después del proceso de desnitrificación (Figura 3.11).

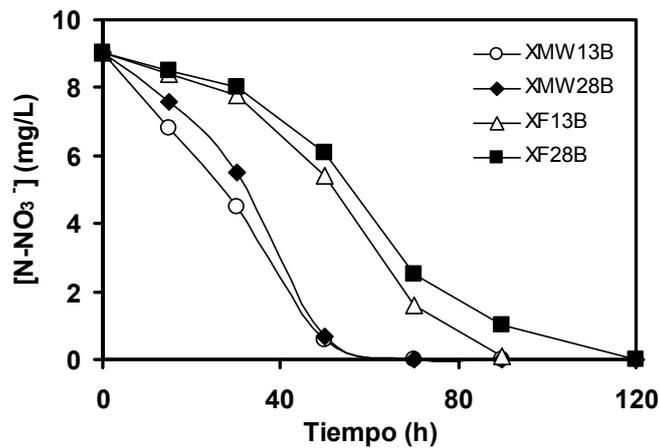


Figura 3.10.- Curvas de eliminación de nitratos.

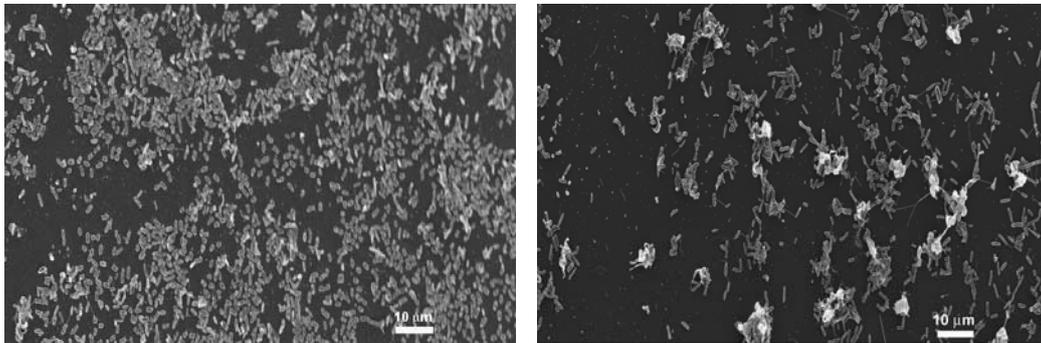


Figura 3.11.- Imágenes de *E. coli* soportada sobre los films XMW28B (izquierda) y XF28B (derecha) después de 170 horas de desnitrificación, obtenidas mediante SEM.

Se sabe [13], que durante el proceso de desnitrificación la bacteria primero transforma los nitratos en nitritos, y posteriormente los nitritos son eliminados progresivamente. En este sentido hay que mencionar que no se detectó la

presencia de iones amonio en ninguno de los experimentos. La Figura 3.12 muestra las curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas con las muestras XMW28B y XMW13B después de 170 horas del proceso de desnitrificación.

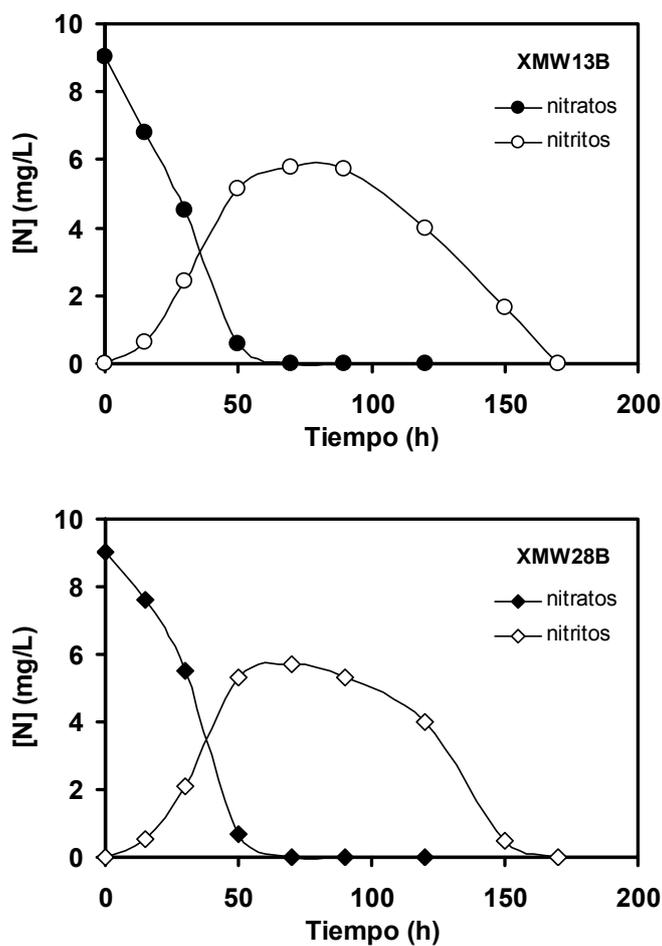


Figura 3.12.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos de las muestras XMW13B y XMW28B.

Así, en la Figura 3.12 se aprecia que los resultados obtenidos en la eliminación de nitratos y nitritos con las películas de la serie XMW fueron muy similares, ya que, el contenido en oxígeno y los valores de PZC son también muy similares entre todas las películas de esta serie, y estos parámetros están directamente relacionados con el crecimiento, o desarrollo, de la *E. coli* sobre la superficie de las películas de xerogel de carbón.

3.3. CONCLUSIONES

Se han preparado películas mesoporosas de xerogel de carbón mediante carbonización asistida por microondas, a partir de películas de un xerogel orgánico original obtenido mediante polimerización de resorcinol y formaldehído. Este tipo de material mesoporoso no se encuentra descrito, en forma de película, en la bibliografía especializada.

Para un mismo porcentaje de carbonización, el proceso de carbonización asistido por microondas produce materiales con menor contenido aromático-grafénico que la carbonización convencional.

La carbonización de películas de xerogel orgánico utilizando microondas hace posible, para un mismo porcentaje de carbonización, la obtención de materiales con contenidos en oxígeno mucho más altos, que empleando la carbonización convencional.

Las películas de xerogel de carbón, con bajos grados de carbonización y/o PZC ácidos, son buenos soportes para el crecimiento de bacterias Gram negativas.

Las películas de xerogel de carbón parcialmente carbonizadas, mediante el empleo de microondas, son buenos materiales para ser utilizados como soporte de bacterias *E. coli* en procesos de eliminación de nitratos en disoluciones acuosas.

Por lo tanto, las películas de xerogel de carbón parcialmente carbonizadas empleando microondas, y preparadas a partir de la polimerización de resorcinol y formaldehído, son materiales muy interesantes para ser utilizados como recubrimientos de estructuras cerámicas, u hormigones, en procesos de tratamiento de aguas, ya sea como soportes de bacterias *E. coli* para eliminación de nitratos, o para otro tipo de aplicaciones catalíticas en agua, donde sus características altamente mesoporosas sean requeridas.

3.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] E. Gallegos-Suárez, A.F. Pérez-Cadenas, F.J. Maldonado-Hódar, F. Carrasco-Marín. On the micro- and mesoporosity of carbon aerogels and xerogels. The role of the drying conditions during the synthesis processes. *Chemical Engineering Journal*, 181-182:851-855, (2012).
- [2] D.M. Mingos, D.R. Baghurst. Tilden Lecture. Applications of microwave dielectric heating effects to synthetic problems in chemistry. *Chem. Soc. Rev.*, 20:1-47, (1991).
- [3] E.G. Calvo, N. Ferrera-Lorenzo, J.A. Menéndez, A. Arenillas. Microwave synthesis of micro-mesoporous activated carbon xerogels for high

- performance supercapacitors. *Microporous Mesoporous Mater.*, 168:206-212, (2013).
- [4] P.E. Fanning, M.A. Vannice. A DRIFTS study of the formation of surface groups on carbon by oxidation. *Carbon*, 31:721-730, (1993).
- [5] NMRShift Data Base. <http://nmrshiftdb.nmr.uni-koeln.de/portal>. (2014).
- [6] J.C.C. Freitas, T.J. Bonagamba, F.G. Emmerich. ¹³C High-Resolution Solid-State NMR Study of Peat Carbonization. *Energy & Fuels*, 13:53-59, (1999).
- [7] J. Schwan, S. Ulrich, V. Batori, H. Ehrhardt, S.R.P. Silva. Raman spectroscopy on amorphous carbon films. *J. Appl. Phys.*, 80:440-447, (1996).
- [8] J. Rivera-Utrilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, C. Moreno-Castilla. Activated carbon surface modifications by adsorption of bacteria and their effect on aqueous lead adsorption. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 76:1209-1215, (2001).
- [9] J. Rivera-Utrilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, C. Moreno-Castilla. Bioadsorption of Pb(II), Cd(II), and Cr(VI) on activated carbon from aqueous solutions. *Carbon*, 41:323-330, (2003).
- [10] C. Moreno-Castilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, J. Rivera-Utrilla. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon*, 41:1743-1749, (2003).
- [11] H. Nikaido, M. Vaara. Outer membrane in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *American Society for Microbiology*, 1:7-22, (1987).
- [12] B. Gottenbos, D.W. Grijpma, H.C. Van Der Mei, J. Feijen, H.J. Busscher. Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48:7-13, (2001).

- [13] M. Vít, C. Simona, K. Jakub, J. Tomás. Biological water denitrification—A review. *Enzyme and Microbial Technology*, 14:170-183, (1992).

CAPÍTULO IV:

HORMIGONES POROSOS Y HORMIGONES RECUBIERTOS DE CARBÓN DE LA SERIE PC COMO SOPORTES DE *E. coli* PARA LA DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS

Resumen

En este capítulo se recogen los datos de caracterización mecánica, textural y química de los hormigones porosos PC1, PC2, PC3 y PC4, así como de los recubiertos de carbón PC1C y PC2C. A continuación, también se muestran los resultados obtenidos con los mencionados materiales en la desnitrificación biológica de aguas, para ello, bacterias *Escherichia coli* se cultivaron sobre los diferentes hormigones. Finalmente se discute el efecto de las características físicas y químicas de los hormigones sobre la capacidad de eliminación de nitratos de las bacterias soportadas.

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS HORMIGONES DE LA SERIE PC

La Figura 4.1. muestra varias fotografías de tamaños de los hormigones estudiados en este Capítulo. La Figura 4.1.A corresponde con probetas cilíndricas de 15 cm de altura y 10 cm de diámetro, recibidas por parte de Cementos Portland Valderrivas y que fueron extraídas de losas de 50 x 50 x 15 cm. Estas probetas una vez recibidas son cortadas en rodajas cilíndricas de unos 2 cm de espesor (Figura 4.1.B), de las cuales se obtienen piezas prismáticas de unos 5 cm de lado (Figura 4.1.C) y que serán utilizadas en procesos de desnitrificación, entre otros.

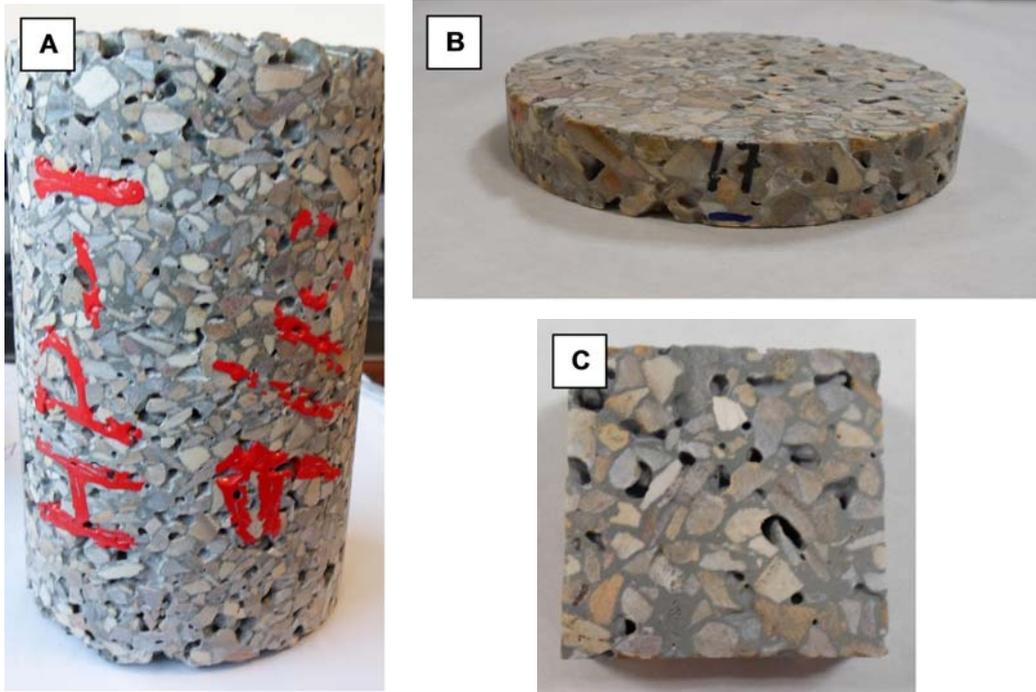


Figura 4.1.- Fotografías de la muestra PC1. Probeta cilíndrica recibida (A), rodaja cilíndrica (B), pieza prismática(C).

4.1.1. Caracterización mecánica y de la textura porosa

Estos materiales se han caracterizado mediante las siguientes técnicas y ensayos: resistencia a compresión, permeabilidad en agua, picnometrías en agua y mercurio, adsorción física de N_2 a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, porosimetría de mercurio, análisis superficial de imágenes y microscopía electrónica de barrido.

Los datos de resistencia a compresión y coeficiente de permeabilidad de los hormigones de la serie PC se recogen en la Tabla 4.1 junto a la dosificación de mezcla empleada en cada caso. Se obtuvieron en fábrica losas con dimensiones 50

x 50 x 15 cm de las cuales se determinó la permeabilidad y testigos (10 x 15 cm) extraídos de losas de las mismas dimensiones anteriores y de las que se obtuvieron los resultados de resistencia a compresión.

Tabla 4.1.- Dosificación de mezclas, resistencia a compresión a 28 días (R_c) y coeficiente de permeabilidad (K) de los hormigones de la serie PC.

Muestra	a/c	Arena ⁽¹⁾ (Kg/m ³)	Grava ⁽²⁾ (Kg/m ³)	Aditivo cohesionante ⁽³⁾ (%)	Aditivo experimental ⁽⁴⁾ (%)	R_c (MPa)	K (cm/s)
PC1	0,27	1450	-	1,7	1	37,1	0,72
PC2	0,22	-	1338	1,5	-	32,0	0,85
PC3	0,25	-	1400	1,5	1	26,2	1,06
PC4	0,20	560	840	1,5	1	23,8	1,30

⁽¹⁾ Tamaño 2-5 mm

⁽²⁾ Tamaño 5-8 mm

⁽³⁾ Aditivo Glenium sky suministrado por BASF

⁽⁴⁾ Aditivo superplastificante desarrollado por BASF

Tal y como se describió en el Capítulo II, para la preparación de cada hormigón se varió la relación agua/cemento (a/c), se utilizaron dos gradaciones distintas de tamaños de árido (arena y grava), dos aditivos diferentes (uno superplastificante y el otro cohesionante), y se mantuvo constante la proporción de humo de sílice en 6 %. En la preparación de hormigones porosos, generalmente a mayor relación agua/cemento, se incrementa la pasta de cemento, recubriendo los áridos y por tanto obteniendo una menor porosidad, generando un aumento en la resistencia a compresión y una disminución de la permeabilidad [1,2]; no obstante estos resultados dependerán además del tipo de árido, del tamaño de este, de los aditivos añadidos y del método de compactación utilizado, que en este caso fue mediante vibración.

La mayor resistencia a compresión se presenta en PC1 debido principalmente a su mayor relación a/c, con un incremento por tanto de lechada de cemento, la cual va cubriendo los poros incrementándose la compacidad, pero también al empleo de un árido de menor tamaño en su dosificación. Este fenómeno es contrario a un hormigón convencional, donde a menor relación a/c se obtiene mayores resistencias. Por el contrario el resultado más bajo se observa en PC4 debido a la menor relación agua/cemento respecto a PC1, consecuentemente su permeabilidad es ligeramente superior. Las propiedades mecánicas intermedias de PC2 y PC3 se deben a una combinación de la relación a/c y al empleo exclusivo de grava frente a arena. En cualquier caso, los cuatro hormigones preparados muestran propiedades mecánicas y de permeabilidad elevadas como consecuencia del empleo de los aditivos superplastificante y cohesionante usados en la dosificación [3]. El uso de humo de sílice mejora también las prestaciones mecánicas de las muestras [4].

En cuanto a la permeabilidad al agua de estos materiales se observa que el tamaño de árido juega un papel muy importante, observándose un menor coeficiente de permeabilidad cuando se añade únicamente árido fino [5]. Cabe pensar que la adición de un agente cohesionante podría conducir a una reducción de la permeabilidad, pero no fue éste el resultado obtenido, sino que la permeabilidad fue igualmente elevada en todos los casos. El hormigón poroso para que sea permeable se le debe atribuir una estructura de poros abiertos, es decir, conexión de la porosidad y tamaños de poro más grandes [6]. Con los resultados de resistencia y permeabilidad obtenidos estas cuatro muestras podrían ser utilizadas

como una capa de drenaje para estructuras de pavimento o como bloques de hormigón poroso [5,7].

En la Tabla 4.2 se recogen los datos de volumen de poros accesible a mercurio y agua determinado por picnometría (V_{Hg} y V_{H_2O}); volumen de poros con diámetros comprendidos entre 0,006 y 350 μm (V_{POR}) y superficie externa (S_{EXT}) obtenidos mediante porosimetría de mercurio; superficie BET, volumen de microporos (W_0) y volumen de mesoporos (V_{BJH}) obtenidos de los datos de adsorción-desorción de N_2 a -196 °C; y la sección superficial de área ocupada por poros (A_{POR-2D}) obtenida mediante análisis de imágenes.

Tabla 4.2.- Caracterización de la textura porosa de los hormigones de la serie PC.

Muestra	S_{BET} (m^2/g)	W_0 (mm^3/g)	V_{BJH} (mm^3/g)	V_{POR} (mm^3/g)	S_{EXT} (m^2/g)	V_{Hg} (mm^3/g)	V_{H_2O} (mm^3/g)	A_{POR-2D} (%)
PC1	4,964	0,571	12,85	14,40	1,959	47,08	49,04	13,70
PC2	4,326	0,874	16,28	29,50	3,702	57,86	70,31	16,40
PC3	5,385	0,857	12,98	32,50	5,004	52,60	67,55	16,30
PC4	6,942	1,057	19,64	36,20	4,803	50,07	66,97	18,90

Como cabía esperar los datos de área superficial BET y volumen de microporos de estos materiales son tan pequeños que a efectos prácticos pueden considerarse irrelevantes. En cuanto a los poros de mayor tamaño, mesoporos y macroporos, sus volúmenes siguen la secuencia lógica creciente $PC1 < PC2 < PC3 < PC4$, de forma coherente con el aumento paralelo de la permeabilidad al agua recogida en la Tabla 4.1. En la Figura 4.2 se representan el volumen de poros obtenido mediante porosimetría de mercurio frente a la resistencia a compresión, y la

permeabilidad, observándose una buena correlación inversa y directa entre ambos parámetros, R_c y K , respectivamente [8].

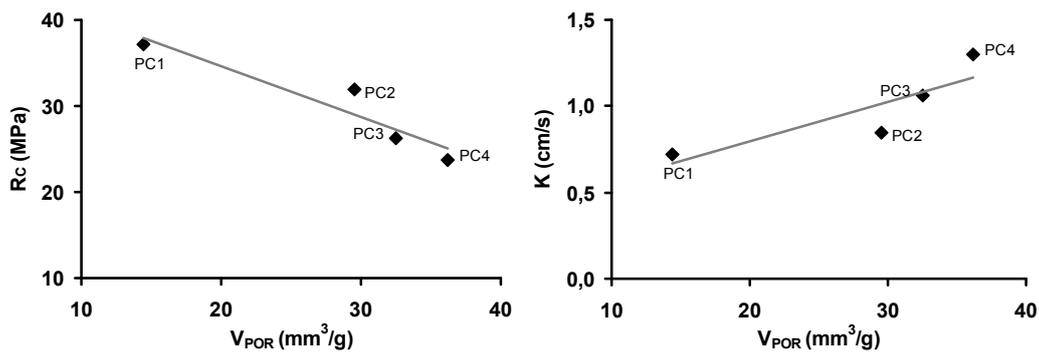


Figura 4.2.- Relación de la resistencia a compresión (izquierda) y permeabilidad (derecha) con el volumen de poros determinado por porosimetría de Hg.

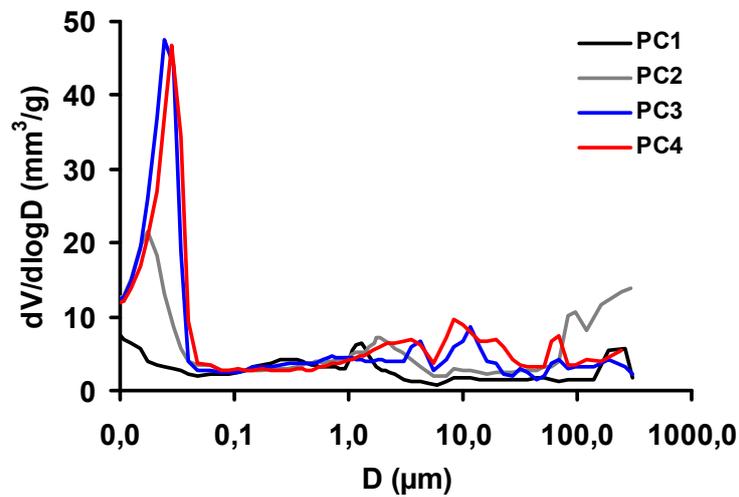


Figura 4.3.- Distribución de tamaños de poro determinados por porosimetría de Hg.

La distribución de tamaños de poro obtenida mediante porosimetría de mercurio se muestra en la Figura 4.3. Hay que destacar aquí, que los poros accesibles a la

bacteria *E. coli* son aquellos con diámetros superiores a 3 μm [9], por lo tanto los mayores volúmenes de poros inferiores a 0,1 μm que presentan PC3 y PC4 en la Figura 4.2 no serán determinantes para la posterior aplicación de desnitrificación biológica. Los volúmenes de poros accesibles al agua obtenidos son mayores que los accesibles al mercurio, debido a que el agua también puede absorberse en este tipo de materiales. Además hay que tener en cuenta que a presión atmosférica, y utilizando mercurio como fluido picnométrico solo se llenarán los poros con diámetros superiores a 15 μm .

En cuanto a los datos de áreas, S_{EXT} y $A_{\text{POR-2D}}$, la tendencia es también claramente de aumento en el sentido PC1 a PC4.

Las áreas superficiales de poros ($A_{\text{POR-2D}}$) calculadas a partir del análisis de imágenes 2D de diferentes secciones transversales de las probetas de hormigón se recogen en la Figura 4.4, la cual muestra para cada superficie de hormigón poroso la imagen escaneada, la imagen con los poros marcados y el binarizado de esta en blancos y negros. Las distribuciones de poros obtenidas mediante esta técnica se muestran en la Figura 4.5.

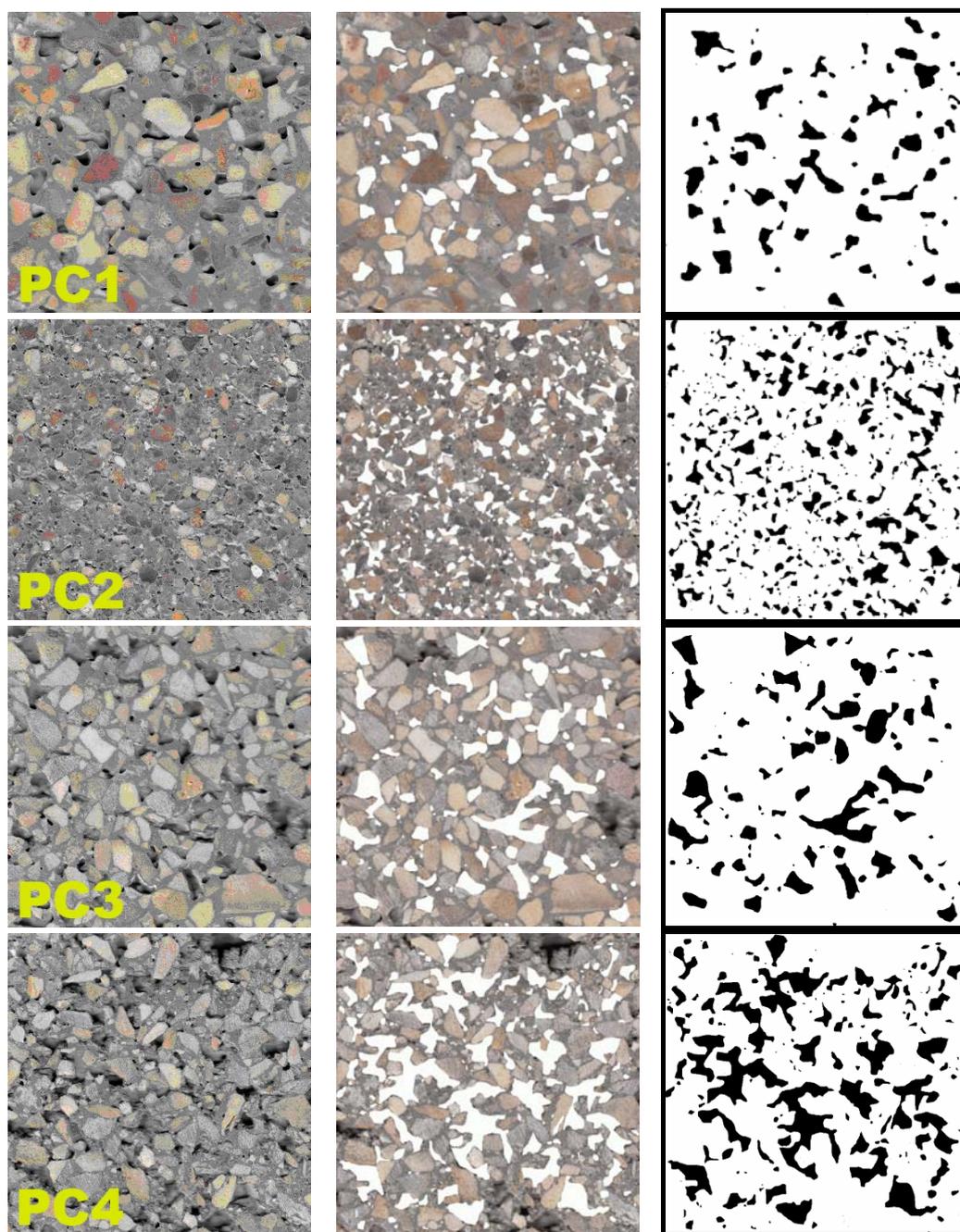


Figura 4.4.- Imágenes escaneadas a tamaño real (izquierda), con los poros marcados (centro) y binarizadas en blancos y negros (derecha).

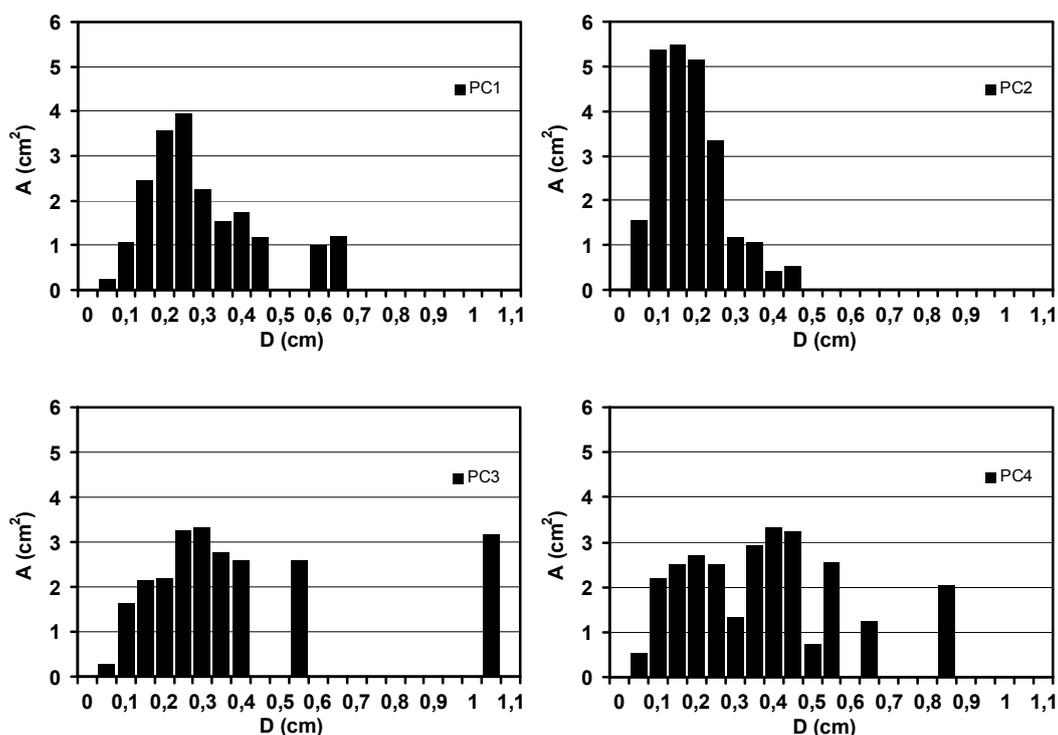


Figura 4.5.- Relación entre el área superficial y la anchura media de poro.

En general podemos concluir que existe una menor porosidad superficial en la muestra PC1, al igual que ocurría con la porosidad volumétrica, debido a la mayor relación agua/cemento, al uso únicamente de árido fino en su dosificación y probablemente al uso de mayor cantidad de aditivo superplastificante que produce una compactación del sistema más eficiente; no obstante PC1, y más significativamente PC2, muestran una distribución de porosidad superficial más estrecha que PC3 y PC4. Comparando las muestras PC2 y PC3 se observa que aún teniendo resultados de porosidad superficial similares (Tabla 4.2), la distribución tamaño de esos poros en ambas muestras difiere debido al mayor uso de árido

grueso en la muestra PC3. La muestra PC3 presenta una distribución más uniforme de los poros debido posiblemente al uso de aditivo cohesionante que no ha sido añadido en el caso de la muestra PC2. Todos estos datos explican también coherentemente los datos de permeabilidad al agua obtenidos tal y como muestra la Figura 4.6.

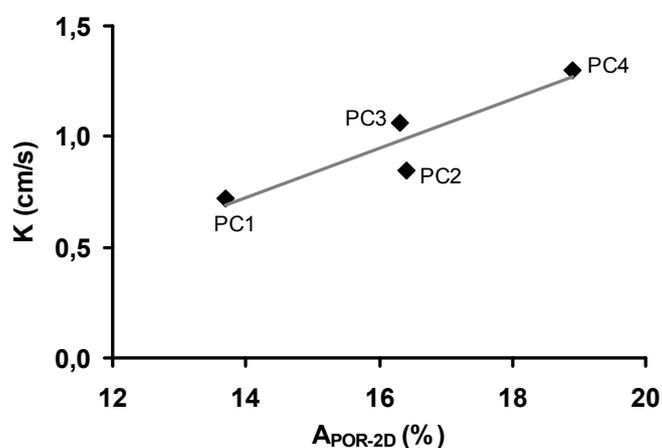


Figura 4.6.- Relación de la constante de permeabilidad con el área de poros superficial.

4.1.2. Caracterización química

Estos materiales se han caracterizado mediante las técnicas y ensayos siguientes: determinación del contenido en metales por ICP-masas de lixiviados en medio ácido (Tabla 4.3) y agua; medidas de pH y medidas de toxicidad expresadas como porcentaje de inhibición de la bacteria *Vibrio Fischeri*. Estos datos se encuentran recogidos en la Tabla 4.4 donde se puede observar claramente que los hormigones tienen un carácter básico fuerte.

Tabla 4.3.- Concentración metálica en $\mu\text{g/L}$ de los lixiviados.

Muestra	Sc	V	Cr	Co	Cu	Zn	As	Pb	Ba	Ni
PC1	2,69	15,88	5,81	0,35	3,20	68,64	1,15	0,44	16,06	11,39
PC2	2,72	14,27	5,31	0,59	3,37	52,82	0,42	0,26	14,91	11,24
PC3	3,97	17,12	4,98	0,41	2,93	57,01	0,85	0,37	9,50	8,92
PC4	3,59	16,8	5,57	0,39	3,32	61,84	0,62	0,24	11,14	11,59

Se observa como para todas las muestras de la serie PC los elementos mayoritarios presentes en el lixiviado son Zn, V, Ba y Ni.

Tabla 4.4.- pH final, concentración total de metales y porcentaje de inhibición a 30 minutos presente en los lixiviados en agua.

Muestra	pH _{FINAL}	[Metales] _{TOTAL} ($\mu\text{g/g}$)	I ₃₀ (%)
PC1	11,98	0,856	19,61
PC2	11,82	0,758	15,96
PC3	11,80	0,922	20,86
PC4	11,96	0,917	20,48

Representando los valores de inhibición en medio neutro frente a la concentración de metales obtenida se obtiene una relación lineal (Figura 4.7). Esto indica que los metales actúan como agentes contaminantes produciendo una disminución en la actividad bio-luminiscente de la bacteria, tal y como se había observado con otros materiales cerámicos [10]. Los resultados expuestos muestran una menor inhibición para las muestras PC1, y especialmente PC2, con respecto a las muestras PC3 y PC4. La menor lixiviación metálica encontrada para el hormigón PC2 llama la atención, porque este material es el que presenta mayor volumen

accesible al agua (Tabla 4.3), lo cual podría estar relacionado con no haber utilizado el aditivo experimental cohesionante en su preparación.

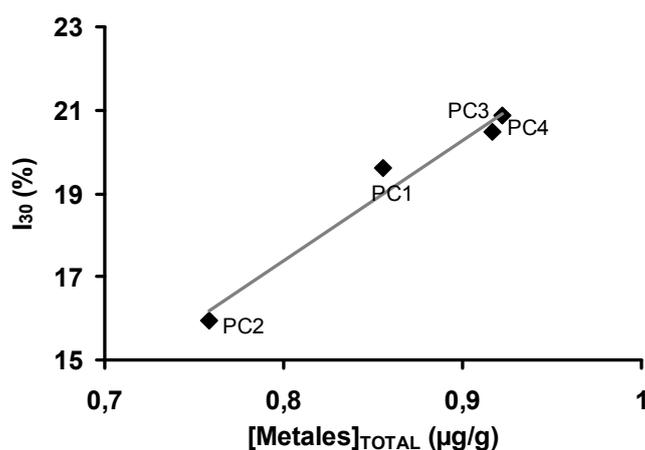


Figura 4.7.- Relación entre concentración de metales lixiviados y porcentaje de inhibición de la bacteria *Vibrio Fischeri*.

Considerando el parámetro de ecotoxicidad EC50, previamente descrito en el Capítulo II y teniendo en cuenta que en nuestro caso lo hemos determinado con el 100 % del lixiviado y resultados de inhibición menores al 50 %, podemos afirmar que el material no presenta toxicidad, tanto para el medio ambiente como para el crecimiento biológico sobre ellos.

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS HORMIGONES RECUBIERTOS DE CARBÓN DE LA SERIE PC

El recubrimiento de carbón de los hormigones, lleva por objetivo el hacerlos más idóneos como soportes de bacterias para ser empleados en la desnitrificación de aguas, Así, de los cuatro hormigones de la serie PC se seleccionaron dos, PC1 y

PC2 para ser recubiertos de carbón, siendo la denominación de estos materiales recubiertos PC1C y PC2C, respectivamente. Esta selección se hizo en base a que dichos materiales son los que presentaban ambos extremos de volúmenes accesibles al agua y menores concentraciones de metales presentes en el lixiviado.

El recubrimiento de carbón se llevó a cabo mediante el mojado de los hormigones en una mezcla polimérica de resorcinol-formaldehído, seguido del curado de la misma, y posterior carbonización utilizando microondas, tal y como se ha descrito en el Capítulo 2. Para este estudio se utilizaron probetas de hormigón PC1 y PC2 con las siguientes dimensiones: 5 x 5 x 2 cm. En esta sección, y para facilitar la discusión de resultados, se mostrarán todos los datos de caracterización de los hormigones recubiertos PC1C y PC2C comparados con los correspondientes PC1 y PC2, aunque algunos de los datos de estos últimos ya se hayan presentado en Tablas anteriores.

4.2.1. Caracterización mecánica y de la textura porosa

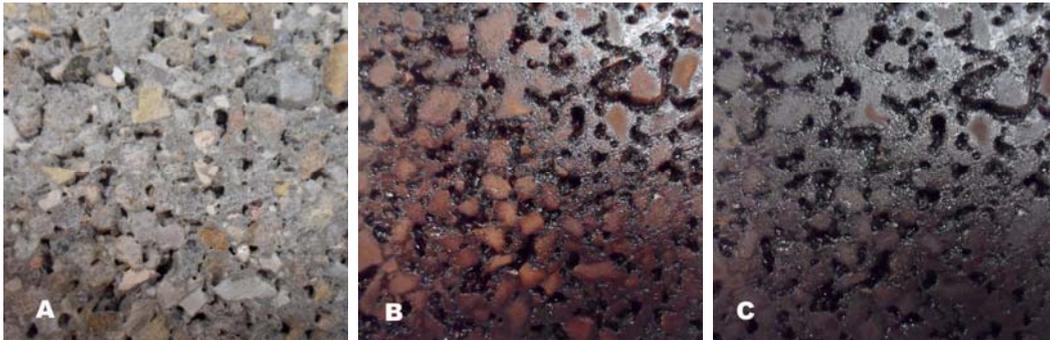


Figura 4.8.- Imágenes escaneadas a tamaño real de PC2 (A), recubierto con xerogel orgánico (B) y recubierto con xerogel carbonizado (C).

La Figura 4.8 muestra en imágenes la secuencia para la obtención del hormigón PC2C a partir del PC2. Los resultados de adherencia obtenidos de la capa de carbón fueron bastante satisfactorios, para lo cual se sometieron las piezas a tratamientos de ultrasonidos en agua no observándose desprendimientos. Por otro lado, el recubrimiento fue muy homogéneo a través de toda la estructura interna de las piezas, lo cual se comprobó varias veces rompiendo las probetas.

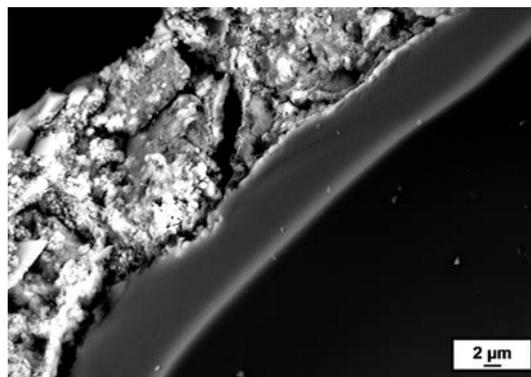


Figura 4.9.- Micrografía retrodispersiva de la interfase carbón-hormigón obtenida mediante SEM.

Dada la irregularidad superficial de los hormigones, la tortuosidad de su porosidad y la heterogenidad de su composición (grava, arena, cemento...) los espesores de la capa de carbón adherida fueron variables, midiéndose espesores de carbón en un rango aproximado de entre: 2 y 14 μm dentro de una misma pieza; la Figura 4.9 se muestra como ejemplo.

Tabla 4.5.- Caracterización de la textura porosa de los hormigones PC antes y después de ser recubiertos de carbón.

Muestra	S_{BET} (m^2/g)	S_{EXT} (m^2/g)	W_0 (mm^3/g)	V_{BJH} (mm^3/g)	V_{POR} (mm^3/g)	V_{Hg} (mm^3/g)	$V_{\text{H}_2\text{O}}$ (mm^3/g)
PC1	4,964	1,959	0,571	12,85	14,40	47,08	49,04
PC2	4,326	3,702	0,874	16,28	29,10	57,86	70,31
PC1C	4,588	0,686	0,344	8,00	11,40	43,04	44,22
PC2C	3,251	2,093	0,505	13,77	24,60	55,55	64,50

En la Tabla 4.5 se recogen los datos de volumen de poros accesible a mercurio y agua (V_{Hg} y $V_{\text{H}_2\text{O}}$); volumen de poros con diámetros comprendidos entre 0,006 y 350 μm (V_{POR}) y superficie externa (S_{EXT}); superficie BET, volumen de microporos (W_0) y volumen de mesoporos (V_{BJH}). Las isothermas de adsorción de N_2 a 77 °C se muestran en la Figura 4.10. Como tendencia general, se observa lógicamente una disminución de los volúmenes y superficies determinadas como consecuencia del recubrimiento realizado, sin embargo, dado la dificultad de recubrir un material con una macroporosidad tan tortuosa, estos datos de caracterización son prueba del éxito del proceso de recubrimiento, tras el cual, el porcentaje de bloqueo de la porosidad original del hormigón, que por otro lado es mínimamente inevitable, ha sido muy aceptable. Como era de esperar, ha sido en el rango de la mesoporosidad donde la pérdida de porosidad ha sido más notable,

afectando en mucha menor medida a la macroporosidad tal y como se deduce de la Tabla 4.5. así como de las distribuciones de tamaños de poros mostradas en la Figura 4.11. Por otro lado, hay que mencionar que a pesar de que la capa de carbón formada es altamente mesoporosa, esta contribución es despreciable cuando se expresan los datos por peso final de pieza recubierta, ya que, el porcentaje en peso del carbón de recubrimiento es muy pequeño, del orden del: 1,0 %. Merece la pena resaltar que el recubrimiento con xerogel de carbón ha supuesto para los hormigones recubiertos una disminución del volumen de poros accesibles al agua inferior al 10%.

También se analizó la textura porosa de la capa de carbón formada sobre los hormigones, así tras raspar cuidadosamente parte de ésta de varias piezas PC recubiertas, se analizó mediante adsorción de N_2 a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ obteniéndose los siguientes resultados: $118\text{ m}^2/\text{g}$ de superficie BET; $0,43\text{ cm}^3/\text{g}$ de V_{BJH} y un porcentaje de carbono del 64 % en peso, datos todos ellos muy coincidentes con los obtenidos para el film XMW13 descrito en el Capítulo III.

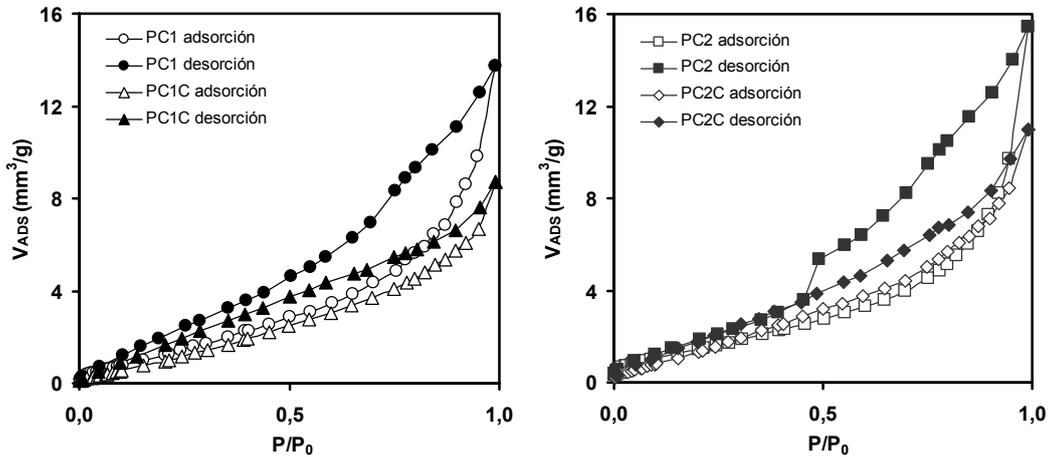


Figura 4.10.- Isothermas de adsorción y desorción de N₂ a 77 °C de PC1 y PC1C (izquierda), y PC2 y PC2C (derecha).

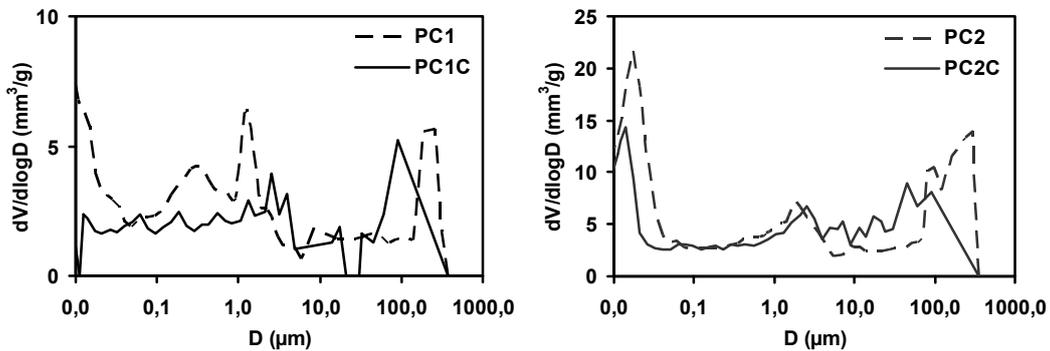


Figura 4.11.- Distribución de tamaños de poro determinados por porosimetría de Hg.

La resistencia a compresión de los hormigones recubiertos también fue estudiada, con objeto de determinar si el tratamiento térmico con microondas producía debilitamiento estructural como consecuencia de una posible pérdida parcial de agua de hidratación. Para poder realizar un análisis comparativo riguroso también se volvieron a analizar los hormigones PC no recubiertos, así como hormigones PC no recubiertos pero tratados con microondas en las mismas condiciones que

los recubiertos de carbón, y todos ellos utilizando probetas de idénticas dimensiones. Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 4.6 donde se observa que los hormigones recubiertos no son mecánicamente más débiles que los originales, sino que parecen haber incrementado su resistencia a compresión como consecuencia posiblemente de tener menor volumen de poros.

Tabla 4.6.- Resistencias a compresión de los hormigones PC antes y después de ser recubiertos de carbón. Se incluyen hormigones PC no recubiertos pero tratados (T) con microondas en las mismas condiciones que las de carbonización.

Muestra	Resistencia a compresión (MPa)
PC1	37,10
PC1T	38,43
PC1C	41,48
PC2	32,00
PC2T	28,55
PC2C	32,85

4.2.2. Caracterización química

Los mismos datos de caracterización química analizados para los hormigones PC se determinaron para los PC recubiertos, los cuales se muestran en la Tabla 4.7. Se observa que el recubrimiento de carbón no evita la lixiviación de metales pero sí la reduce, y por tanto como consecuencia de ello la toxicidad del material recubierto también disminuye, haciéndolo más biocompatible para soportar bacterias.

Tabla 4.7.- pH final, concentración total de metales y porcentaje de inhibición a 30 minutos presente en los lixiviados en agua.

Muestra	pH _{FINAL}	[Metales] _{TOTAL} (µg/g)	I ₃₀ (%)
PC1	11,98	0,856	19,61
PC2	11,82	0,758	15,96
PC1C	11,72	0,782	15,33
PC2C	11,69	0,648	13,69

4.3. ELIMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA POR BACTERIAS SOPORTADAS

Las bacterias *E. coli* se soportaron sobre los hormigones siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo II, apartado 4. Una vez soportada la bacteria sobre las distintas muestras se eliminó la solución de cultivo, se añadió la disolución de NaNO₃, se añadió etanol como fuente de carbono, y se purgó con argón el bioreactor mediante burbujeo. Tanto el empleo de etanol como fuente de carbono [11,12], como la concentración utilizada del mismo [13], se decidió en base a estudios previos encontrados en la bibliografía. Durante el proceso de eliminación de nitratos se detectó la formación temporal de nitritos pero en ninguno de los casos se detectó la presencia de iones amonio.

4.3.1. Eliminación de nitratos por bacterias soportadas sobre los hormigones de la serie PC

La Figura 4.12 muestra micrografías de SEM de las bacterias *E. coli* soportadas sobre la muestra PC2 antes y después del proceso de desnitrificación.

Comparando ambas imágenes se observa claramente una mayor concentración de bacterias tras el proceso de desnitrificación, tal y como sucedió con las láminas de xerogel de carbón estudiadas en el Capítulo III.

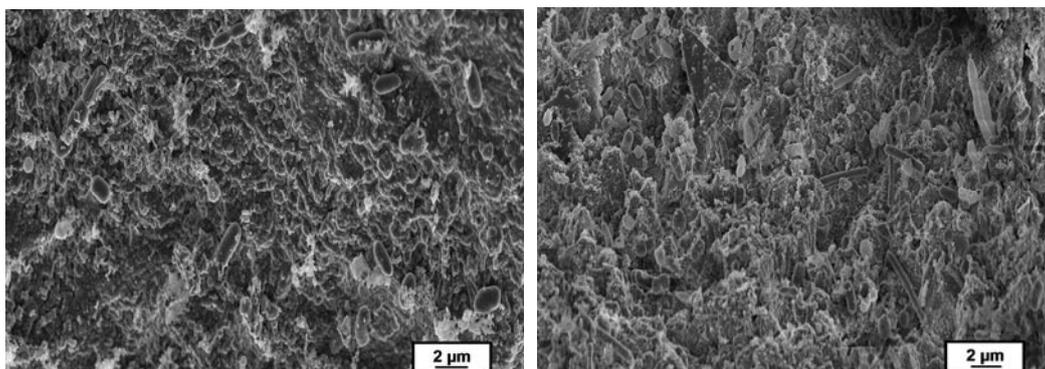


Figura 4.12.- Micrografías SEM de las bacterias *E. coli* soportadas sobre la muestra PC2 antes (izquierda), y después (derecha) del proceso de desnitrificación.

La Figura 4.13 muestra las curvas de eliminación de nitratos obtenidas con *E. coli* soportada sobre los hormigones de la serie PC. Se observa que en todos los casos se completó la eliminación de nitratos. Con los hormigones PC2 y PC4 la eliminación de nitratos se completó sobre los 90 - 95 minutos, sin embargo con el hormigón PC1 se sobrepasaron los 120 minutos. Son muchos los factores que influyen en este proceso, pero estos resultados parecen indicar que el menor volumen de poros accesible al agua de la muestra PC1 puede ser uno de los principales motivos que justifique su menor capacidad de desnitrificación, ya que, este hormigón no presentaba los valores más elevados de toxicidad (Tabla 4.4). Por otro lado, y aunque no son muy grandes las diferencias, podemos decir que el hormigón PC2 es el que mostró mejor comportamiento para la eliminación de nitratos, especialmente a tiempos más cortos de tratamiento. Hay que recordar que

en PC2 confluyen positivamente los dos parámetros discutidos anteriormente: mayor volumen de poros accesibles al agua (Tabla 4.2) y menores valores de toxicidad.

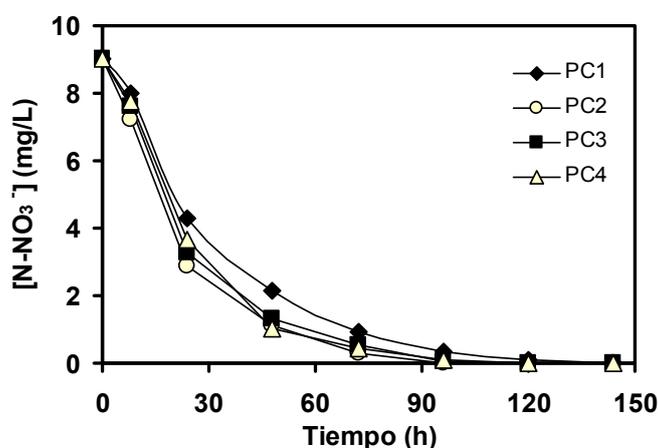


Figura 4.13.- Curvas de eliminación de nitratos. Resultados obtenidos con *E. coli* soportada sobre los hormigones de la serie PC.

La eliminación de nitritos generados durante la reducción de los nitratos fue total en todos los casos. La Figura 4.14 muestra la evolución en la eliminación de los nitratos y la producción y eliminación simultánea de los nitritos obtenidas con los hormigones PC1 y PC2. Se observa cómo se completa de nuevo la eliminación de nitritos a tiempos más cortos con el hormigón PC2, que con el PC1.

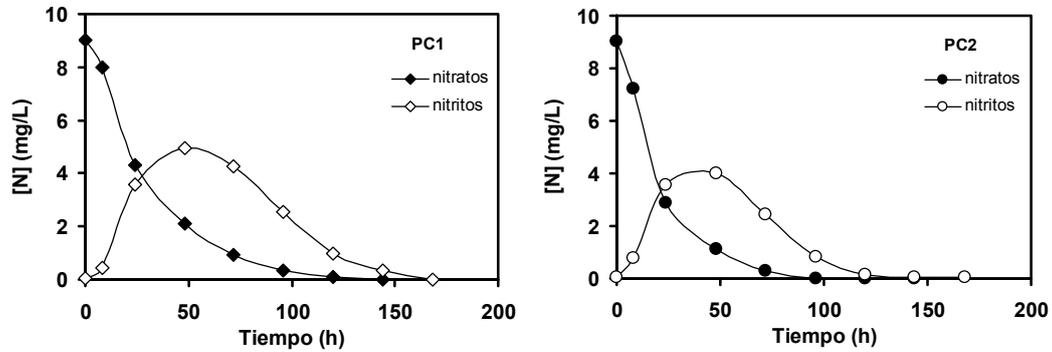


Figura 4.14.- Cinéticas completas de desnitrificación obtenidas con los hormigones de la serie PC.

4.3.2. Eliminación de nitratos por bacterias soportadas sobre hormigones recubiertos de carbón PC1C y PC2C

Las Figuras 4.15 y 4.16 recogen las curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas con los hormigones recubiertos PC1C y PC2C, respectivamente. En dichas figuras también se incluyen a efectos comparativos los correspondientes resultados obtenidos con los hormigones PC1 y PC2. Con ambos hormigones recubiertos se obtuvieron mejores resultados que con los correspondientes sin recubrir.

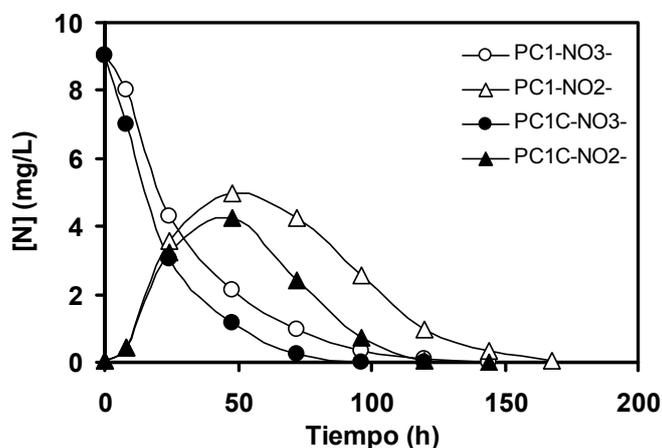


Figura 4.15.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas con los hormigones PC1 y PC1C.

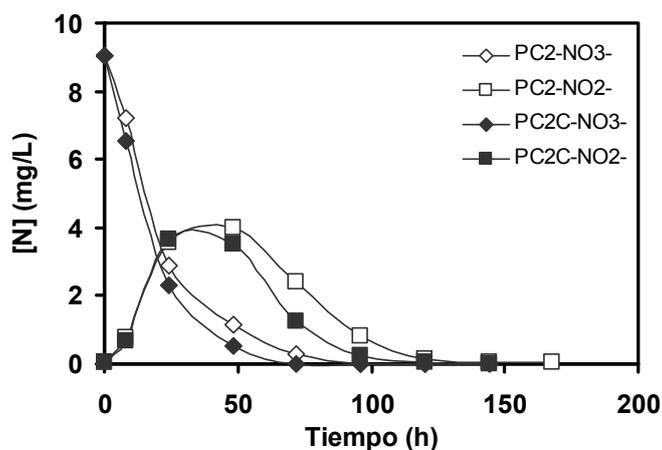


Figura 4.16.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas con los hormigones PC2 y PC2C.

Estos resultados se deben a diferentes aspectos, por un lado tenemos que las láminas de xerogel de carbón han demostrado ser muy buenos soportes para estas bacterias (Capítulo III), pero además, como hemos discutido en la Sección 4.2.2 dichos recubrimientos no solo minimizan la lixiviación de metales, sino que

evitan el contacto directo de las bacterias con las partes del hormigón más ricas en estos, es decir, el cemento; y es ahí en las zonas más ricas en cemento y arena donde más y mejor se adhiere la capa de carbón debido a su mayor rugosidad (Figura 4.8). Todo esto a pesar de que se ha producido una disminución de la porosidad en general, y del volumen accesible al agua en particular, como consecuencia de los recubrimientos (Tabla 4.4). Por lo tanto, la idoneidad del soporte desde un punto de vista de la toxicidad, o en definitiva de la biocompatibilidad, se muestra como el factor más influyente sobre la capacidad de eliminación de nitratos de la *E. coli* soportada, siempre y cuando los materiales comparados tengan un elevado volumen de poros accesible al agua.

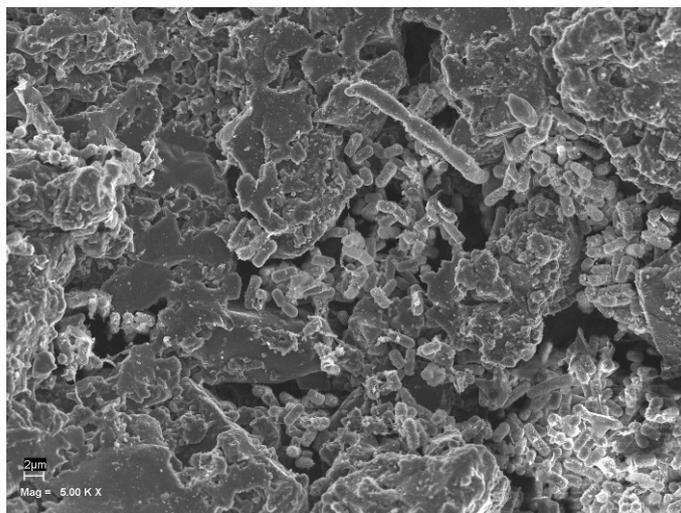


Figura 4.17.- Micrografía SEM de las bacterias *E. coli* soportadas sobre la muestra PC2C después del proceso de desnitrificación.

Finalmente, en la Figura 4.17 se muestra a título de ejemplo una imagen obtenida mediante SEM del hormigón PC2C tras ser usado en el proceso de eliminación de nitratos; en ésta se observa claramente una abundante proliferación de colonias de

bacterias, especialmente visibles en los macroporos mas grandes del material los cuales se muestran también bien recubiertos de xerogel de carbón. A este respecto hay que mencionar que no ha sido posible realizar un estudio riguroso mediante microscopía, acerca de la densidad de bacterias crecidas sobre la película de xerogel en los hormigones recubiertos, en comparación con los no recubiertos, debido a que la alta dureza del hormigón, ya que, las condiciones mecánicas que se necesitan para contar piezas de estos materiales son muy agresivas, e influyen muy negativamente en la adherencia del xerogel sobre el hormigón posteriormente observable, a lo que hay que añadir, que el tamaño adecuado de las muestras para poder ser fijadas en los soportes estándar de SEM, son tan pequeñas que no eran en muchos casos representativas en su composición de la muestra correspondiente, debido a la heterogenidad de tamaños de las distintas fases de estos materiales compuestos, tal y como se puso de manifiesto en numerosas observaciones.

4.4. CONCLUSIONES

Se han preparado hormigones altamente porosos mediante la modificación de la relación agua/cemento, el tamaño y cantidad de árido y el uso de aditivos. Todos los hormigones de esta serie presentan elevados valores de permeabilidad al agua, y además, a pesar de sus elevados volúmenes de poros tienen suficiente resistencia a compresión para poder ser empleados no solo como revestimientos sino como pavimentos.

El análisis conjunto de los datos de caracterización de la porosidad, áreas de poros 2D y permeabilidad en agua indican que la porosidad de estos materiales está altamente interconectada.

Se han obtenido por primera vez hormigones porosos recubiertos de xerogel de carbón, a partir del mojado de los mismos en una resina de resorcinol-formaldehído posteriormente curada y finalmente carbonizada o pirolizada mediante un tratamiento de microondas.

El recubrimiento de carbón y/o el tratamiento térmico de carbonización mediante microondas no perjudica la resistencia a compresión de las probetas estudiadas. Los hormigones recubiertos de xerogel de carbón fueron más resistentes a compresión posiblemente debido a que son menos porosos.

El recubrimiento con xerogel de carbón de los hormigones estudiados reduce la porosidad de los mismos especialmente en el rango de la mesoporosidad, pero afectando en menos de un 10% al volumen total de poros accesibles al agua.

El recubrimiento con xerogel de carbón de los hormigones estudiados reduce la cantidad de metales lixiviados.

La bacteria *E. coli* puede desarrollarse y ser soportada sobre los hormigones porosos preparados a pesar de los contenidos metálicos de los mismos. Así, la capacidad desnitrificante de la *E. coli* soportada sobre estos materiales se ha evaluado muy satisfactoriamente, permitiendo la eliminación total en todos los

casos de los nitratos y nitritos en las condiciones experimentales estudiadas. En ningún experimento se detectó la formación de amoniaco o iones amonio.

La capacidad de eliminación de nitratos de la *E. coli* soportada sobre hormigones no recubiertos dependió principalmente de dos factores predominantes: contenido metálico y volumen de poros grandes accesibles al agua. Los materiales con mayor volumen de poros accesibles al agua y menor cantidad de metales lixiviados (menor capacidad inhibidora) eliminaron los nitratos de las disoluciones acuosas en menor tiempo.

Los hormigones recubiertos de xerogel de carbón mostraron una mayor capacidad de eliminación, de nitratos y nitritos, que sus correspondientes hormigones no recubiertos a pesar de que contienen menores volúmenes de poros accesibles al agua. Por lo tanto, la idoneidad del soporte desde un punto de vista de la toxicidad, o en definitiva de la bio-compatibilidad, se muestra como el factor más influyente sobre la capacidad de eliminación de nitratos de la *E. coli* soportada, siempre y cuando los hormigones comparados tengan un elevado volumen de macroporos accesibles al agua.

4.5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] McCain, G. N. and Dewoolkar, M. M. Porous concrete pavements: Mechanical and hydraulic properties. 66-75, (2010).
- [2] Emiko, L., Kiang, H. T., and Tieng, F. F. Effect of Mix Proportion on Strength and Permeability of Pervious Concrete for Use in Pavement. Proceedings of the Eastern Asia Society for Transportation Studie 9(2013).

- [3] Yang J, Jiang G. Experimental study on properties of pervious concrete pavement materials. *Cement and Concrete Research*, 33:381-386, (2003).
- [4] Hu LQ, Sha AM, Zhang SS. Design method of no-fines porous concrete composition based on vibration compaction. *Journal of Traffic and Transportation Engineering*, 12:1-9+17, (2012).
- [5] Bhutta M, Tsuruta K, Mirza J. Evaluation of high-performance porous concrete properties. *Construction and Building Materials*, 31:67-73, (2012).
- [6] Neithalath N, Sumanasooriya MS, Deo O. Characterizing pore volume, sizes, and connectivity in pervious concretes for permeability prediction. *Materials Characterization*, 61:802-813, (2010).
- [7] Kostmatka SH, Kerkhoff B, Panarese WC, Macleod NF, McGrath RJ. Design and control of concrete mixtures. *Engineering Bulletin*, 101(2002).
- [8] Kumar R, Bhattacharjee B. Porosity, pore size distribution and in situ strength of concrete. *Cement and Concrete Research*, 33:155-164, (2003).
- [9] Rijnaarts HHM, Norde W, Bouwer EJ, Lyklema J, Zehnder AJB. Bacterial deposition in porous media: Effects of cell-coating, substratum hydrophobicity, and electrolyte concentration. *Environmental Science and Technology*, 30:2877-2883, (1996).
- [10] Gazulla MF, Gómez MP, Monfort E, Orduña M. Interferences in ceramic waste characterisation by the luminescence inhibition assay. *Boletín De La Sociedad Española De Cerámica y Vidrio*, 43:909-914, (2004).
- [11] Hasselblad S, Hallin S. Intermittent addition of external carbon to enhance denitrification in activated sludge. *Water Science and Technology*, 37:227-233, (1998).
- [12] Nyberg U, Andersson B, Aspegren H. Long-term experiences with external carbon sources for nitrogen removal. *Water Science and Technology*, 33:109-116, (1996).

- [13] Moreno-Castilla C, Bautista-Toledo I, Ferro-García MA, Rivera-Utrilla J. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon*, 41:1743-1749, (2003).

CAPÍTULO V:

HORMIGONES DE ALTA POROSIDAD DE LA SERIE HPC, Y RECUBIERTOS DE CARBÓN, COMO SOPORTES DE *E. coli* PARA LA DESNITRIFICACIÓN BIOLÓGICA DE AGUAS

Resumen

En este capítulo se recogen los datos de caracterización mecánica, textural y química de los hormigones altamente porosos HPC1, HPC3 y HPC5. A continuación, con el hormigón HPC1 se realizó un estudio riguroso sobre el efecto que tienen diferentes factores experimentales sobre la capacidad de eliminación de nitratos de las bacterias *Escherichia coli* soportadas, factores tales como: el empleo de diferentes fuentes de carbono y en diferentes concentraciones, la presencia inhibidora de algunos metales, o la influencia de la temperatura en este proceso. Además, también se estudió el comportamiento comparativo de otros materiales de construcción como soportes de *E. coli*, concretamente: piedra caliza, mármol y asfalto.

Finalmente, los tres hormigones seleccionados de la serie HPC se recubrieron de una capa de carbón, pero a diferencia del estudio realizado en el Capítulo anterior, en este caso, se utilizaron dos resinas poliméricas diferentes como precursores del recubrimiento carbonoso: por un lado una obtenida mediante polimerización de resorcinol y formaldehído en medio acuoso, ya descrita en capítulos anteriores (serie HPCC), y por otro lado una resina furánica a base de alcohol polifurfurílico (serie HPCF), dando así lugar a los hormigones de alta porosidad recubiertos de carbón HPC1C, HPC3C, HPC5C y HPC1F, HPC3F, HPC5F, respectivamente. Finalmente, estos seis hormigones recubiertos de carbón fueron también utilizados como soportes de bacterias *Escherichia coli* para estudiar la capacidad de eliminación de nitratos en función de sus características físicas y químicas.

5.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS HORMIGONES DE LAS SERIES HPC, HPCC Y HPCF

5.1.1. Caracterización mecánica y de la textura porosa

Estos materiales se han caracterizado mediante las siguientes técnicas y ensayos: resistencia a compresión, permeabilidad en agua, picnometrías en agua y mercurio, adsorción física de N₂ a -196 °C, porosimetría de mercurio, análisis superficial de imágenes y microscopía electrónica de barrido.

Tabla 5.1.- Dosificación de mezclas, resistencia a compresión a 28 días (R_c) y coeficiente de permeabilidad del agua (K), de los hormigones de la serie HPC.

Muestra	a/c	Arena ⁽¹⁾ (Kg/m ³)	Grava ⁽²⁾ (Kg/m ³)	Aditivo cohesionante ⁽³⁾ (%)	Aditivo experimental ⁽⁴⁾ (%)	R _c (MPa)	K (cm/s)
HPC1	0,25	330	1200	1	1	20,0	1,03
HPC3	0,25	310	1200	1	1	13,6	0,73
HPC5	0,29	-	1400	1,5	0,5	13,0	2,40

⁽¹⁾ Tamaño 2-5 mm

⁽²⁾ Tamaño 5-8 mm

⁽³⁾ Aditivo Glenium sky suministrado por BASF

⁽⁴⁾ Aditivo superplastificante desarrollado por BASF

Los datos de resistencia a compresión y coeficiente de permeabilidad de los hormigones de la serie HPC se recogen en la Tabla 5.1 junto a la dosificación de mezcla empleada en cada caso. La caracterización en fábrica se realizó de la misma forma que para las muestras de la serie PC; resistencias determinadas sobre probetas testigo extraídas de losas y permeabilidades determinadas en losas de iguales dimensiones. La cantidad de árido (arena + grava), fue en torno a los 1400 y 1500 Kg dependiendo de las muestras, con una variación de la relación agua/cemento de 0,25 a 0,29. La mayor concentración de aditivos en HPC1 y

HPC3, y el no haber utilizado arena ni compactación intermedia para la preparación de HPC5 explican los resultados de resistencia y permeabilidad [1], del mismo modo que se discutió en el Capítulo IV. Así, la muestra HPC1 presentó el valor más alto de resistencia a compresión, debido a su mayor contenido en árido fino [2]. Finalmente cabe destacar el alto valor de permeabilidad obtenido con la muestra HPC5.

Los hormigones de la serie HPC se recubrieron de carbón utilizando dos soluciones poliméricas diferentes: por un lado la ya estudiada polimerización de resorcinol y formaldehído en medio acuoso (serie HPCC), y por otro lado una resina furánica a base de alcohol polifurfurílico (serie HPCF), que tras la carbonización asistida por microondas correspondiente (Capítulo II) dieron lugar a los hormigones de alta porosidad recubiertos de carbón HPC1C, HPC3C, HPC5C y HPC1F, HPC3F, HPC5F, respectivamente. Las resinas furánicas tienen muy buena adherencia y por tanto son muy efectivas como recubrimiento de materiales cerámicos [3-5], así como protectores de materiales metálicos frente a desgaste y corrosión [6].

La Figura 5.1. recoge las fotografías de tres piezas correspondientes a las muestras HPC5, HPC5C y HPC5F. Claramente se observa como el hormigón recubierto de carbón HPC5F presenta un recubrimiento más completo debido principalmente a que el espesor de la capa de carbón obtenida fue mayor. Ambas resinas orgánicas mostraron una alta adherencia sobre todas las fases del hormigón, sin embargo en las fotografías de la Figura 5.1 se observa una cantidad de carbón adherida menor

sobre el árido grueso en la muestra HPC5C que en la HPC5F, lo cual fue debido también a que la mezcla polimérica RF era menos viscosa que la de PFA.



Figura 5.1.- Imágenes de una muestra de hormigón poroso original, recubierta de carbón utilizando como precursor R/F y recubierta de carbón utilizando como precursor PFA.

En la Tabla 5.2 se recogen los datos de los hormigones de la serie HPC correspondientes al volumen de poros accesible a mercurio y agua determinado por picnometría (V_{Hg} y V_{H_2O}); volumen de poros con diámetros comprendidos entre 0,006 y 350 μm (V_{POR}) y superficie externa (S_{EXT}) obtenidos mediante porosimetría de mercurio; superficie BET, volumen de microporos (W_0) y volumen de mesoporos (V_{BJH}) obtenidos de los datos de adsorción-desorción de N_2 a -196 °C; y la sección superficial de área ocupada por poros (A_{POR-2D}) obtenida mediante análisis de imágenes. La Tabla 5.2 también recoge los datos de V_{Hg} y V_{H_2O} de los hormigones recubiertos de carbón.

Tabla 5.2.- Caracterización de la porosidad.

Muestra	S_{BET} (m^2/g)	W_0 (mm^3/g)	V_{BJH} (mm^3/g)	V_{POR} (mm^3/g)	S_{EXT} (m^2/g)	V_{Hg} (mm^3/g)	V_{H_2O} (mm^3/g)	A_{SUP} (%)
HPC1	3,626	1,019	14,790	23,481	2,795	93,98	97,01	15,80
HPC1C						85,52	87,32	
HPC1F						80,81	81,21	
HPC3	4,088	0,936	16,520	26,481	2,652	130,98	140,92	26,30
HPC3C						121,68	129,78	
HPC3F						118,44	120,51	
HPC5	3,196	0,853	11,673	34,126	2,818	191,04	202,47	30,20
HPC5C						178,65	187,14	
HPC5F						172,12	179,26	

En el Capítulo IV se realizó un estudio comparativo exhaustivo, de los numerosos parámetros calculados para la caracterización de los distintos rangos de porosidad y superficie de los hormigones de la serie PC, antes y después de ser recubiertos, y además, en dicho Capítulo se puso claramente de manifiesto que los parámetros determinantes para interpretar la influencia de la porosidad sobre la capacidad de desnitrificación de las bacterias soportadas fueron V_{Hg} y V_{H_2O} , especialmente V_{H_2O} . Por esta razón, en el presente Capítulo la caracterización de la porosidad de los hormigones recubiertos se ha centrado exclusivamente en los mencionados parámetros. Así, se observa en la Tabla 5.2 que los volúmenes accesibles a los líquidos picnométricos estudiados V_{Hg} y V_{H_2O} , son muy superiores a los correspondientes de la serie PC, razón por la cual se decidió estudiar estos materiales en un Capítulo aparte y denominar a esta serie con las siglas HPC (Highly Porous Concretes). Tanto el volumen de poros accesible a mercurio

(V_{Hg}), el volumen de poros accesible al agua (V_{H_2O}), y el área A_{POR-2D} aumentan en el sentido $HPC1 < HPC3 < HPC5$, siendo la muestra más porosa la HPC5.

En cuanto al efecto producido sobre la porosidad por los recubrimientos de carbón se observa lo siguiente:

(i) Todos los valores V_{Hg} y V_{H_2O} disminuyen siguiendo la secuencia $HPC > HPCC > HPCF$. Es decir, ambos recubrimientos producen una disminución del volumen de poros; pero además ésta siempre fue mayor cuando se utilizó PFA frente a RF como precursor de la capa de carbón.

(ii) Comparando todos los hormigones recubiertos se siguió manteniendo la secuencia de aumento de la porosidad $HPC1X < HPC3X < HPC5X$.

(iii) En todos los casos el porcentaje de reducción de volumen de poros fue muy aceptable teniendo en cuenta la complejidad de la estructura porosa del material. Dicha reducción fue inferior al 10 % en la serie HPCC, siendo estos valores porcentuales muy similares a los obtenidos con los hormigones de la serie PCC frente PC. En el caso de los hormigones de la serie HPCF el porcentaje de reducción de volúmenes de poros respecto a los no recubiertos fue obviamente superior, pero en cualquier caso no superior al 16,5 %.

También se analizó la textura porosa de la capa de carbón formada sobre los hormigones a partir de PFA, así tras raspar cuidadosamente parte de ésta de varias piezas HPCF recubiertas, se analizó mediante adsorción de N_2 a -196 °C

obteniéndose los siguientes resultados: 2 m²/g de superficie BET; 0,0 cm³/g de V_{BJH}. También se determinó un porcentaje de carbono del 75 % en peso

5.1.2. Caracterización química y toxicidad

Estos materiales se han caracterizado mediante las técnicas y ensayos siguientes: determinación del contenido en metales por ICP de lixiviados en agua; medidas de pH y medidas de toxicidad expresadas como porcentaje de inhibición de la bacteria *Vibrio Fischeri*. Todos estos datos se recogen en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3.- pH final, concentración total de metales y porcentaje de inhibición a 30 minutos presente en los lixiviados en agua.

Muestra	PH _{FINAL}	[Metales] _{TOTAL} (µg/g)	I ₃₀ (%)
HPC1	12,04	0,799	19,58
HPC1C	11,89	0,703	18,39
HPC1F	11,71	0,650	16,82
HPC3	12,24	0,764	15,77
HPC3C	11,74	0,658	14,07
HPC3F	11,69	0,541	10,73
HPC5	12,09	0,706	12,37
HPC5C	11,75	0,591	10,62
HPC5F	11,59	0,463	8,62

En la Tabla 5.3 se observa, que al igual que sucedió con los hormigones recubiertos de la serie PC, el recubrimiento de carbón no evita la lixiviación de metales pero sí la reduce, siendo dicha reducción mucho más acusada en las serie HPCF respecto a la HPCC, y por tanto como consecuencia de ello la toxicidad de

todos estos materiales recubiertos también disminuye, proporcionalmente a la lixiviación mostrada, haciéndolos en dicho sentido más bio-compatibles para soportar las bacterias. Estos resultados también indican que el recubrimiento de carbón a partir de PFA es más efectivo para prevenir la lixiviación, aunque no hay que olvidar que también provoca una mayor disminución del volumen de poros de los hormigones originales.

5.2. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE DIFERENTES PARÁMETROS EXPERIMENTALES SOBRE LA CAPACIDAD DESNITRIFICANTE DE LA *E. coli* SOPORTADA

En esta sección se ha estudiado como influye la variación de una serie de parámetros experimentales, sobre el proceso de desnitrificación del agua realizado por la bacteria *E. coli* soportada. Para ello, se ha utilizado el hormigón poroso HPC1. Los parámetros estudiados han sido la fuente de carbono que se suministra al bioreactor, la temperatura del proceso y el efecto de la presencia de dos metales: el cromo y el zinc.

5.2.1. Fuente de carbono

El tipo de fuente de carbono suministrada puede afectar significativamente a la velocidad de desnitrificación en función de la facilidad que tenga la *E. coli* para obtener energía [7]. En este sentido el estudio se realizó suministrando un exceso de carbono al bio-reactor mediante la adición de 10.000 ppm de compuesto orgánico. Los compuestos orgánicos estudiados, como fuente de carbono, fueron

glucosa y acetato de sodio, además del etanol seleccionado previamente como consecuencia de la experiencia previa existente en nuestro Grupo de Investigación [8]. Acetato de sodio [9-14] y glucosa [15-18] han sido también estudiados previamente como fuente de carbono por otros autores.

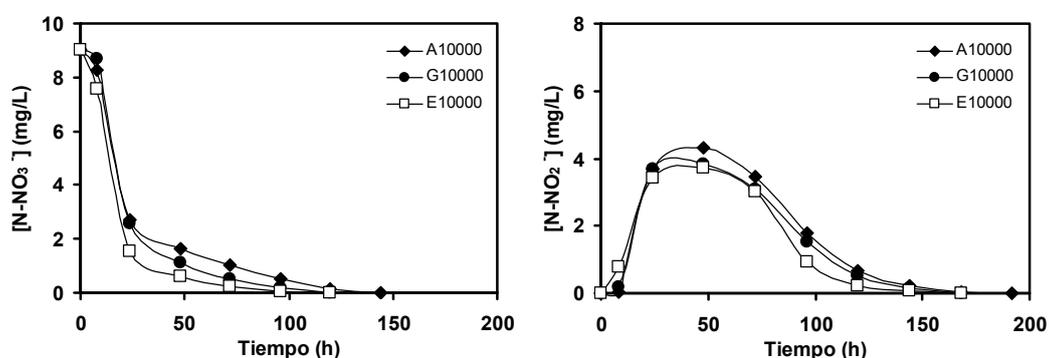


Figura 5.2.- Curvas de eliminación de nitratos (izquierda) y nitritos (derecha) obtenidas utilizando 10000 ppm de acetato sódico (A), glucosa (G) y etanol (E).

En la Figura 5.2 se muestran los resultados del mencionado estudio y se observa claramente que en las condiciones experimentales estudiadas con el empleo de etanol en exceso la capacidad desnitrificante de la *E. coli* es mayor, así la desnitrificación fue más lenta cuando se utilizó acetato sódico como fuente de carbono. Estos resultados reproducen las tendencias encontradas en la bibliografía, donde para medios anaeróbicos, la eliminación de nitratos y nitritos utilizando glucosa como fuente de carbono es más rápida respecto al empleo de acetato de sodio [17,18], y donde el etanol actúa como una de las fuentes de carbono más efectivas [19-25]. Por otro lado, además de estudiar el proceso de desnitrificación en condiciones de exceso de fuente de carbono se realizaron varias experiencias de eliminación de nitratos a 15, 45, 60 ppm, cuyos resultados

se muestran en la Figura 5.3. En esta Figura se observa que a medida que aumenta la concentración de etanol, desde 15 hasta 60 ppm, el tiempo necesario para la eliminación de nitratos y nitritos disminuye, sin embargo, los experimentos realizados a 60 y 10.000 ppm son muy similares.

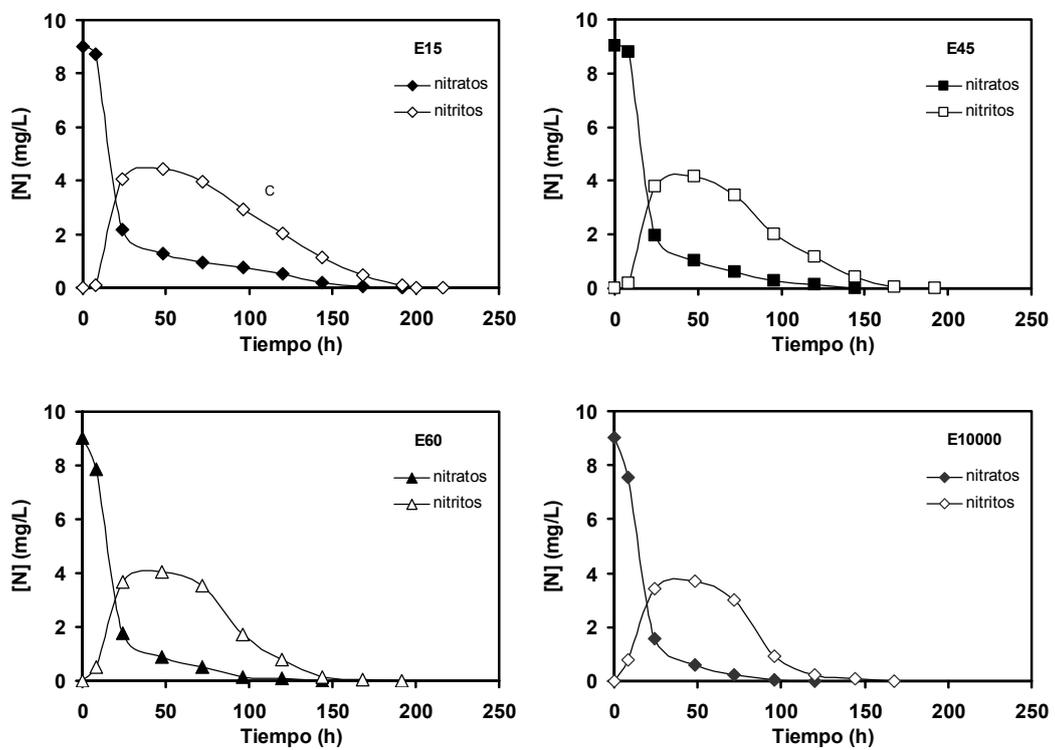


Figura 5.3.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas utilizando 15, 45, 60 y 10000 ppm etanol.

5.2.2. Temperatura de desnitrificación

Las evidencias experimentales demuestran que la temperatura afecta al proceso de desnitrificación, debido a que afecta al comportamiento de la bacteria. Los procesos de desnitrificación pueden ocurrir en rangos de temperatura de 2-50 °C, debido a la capacidad de algunas bacterias de sobrevivir en condiciones ambientales extremas [26].

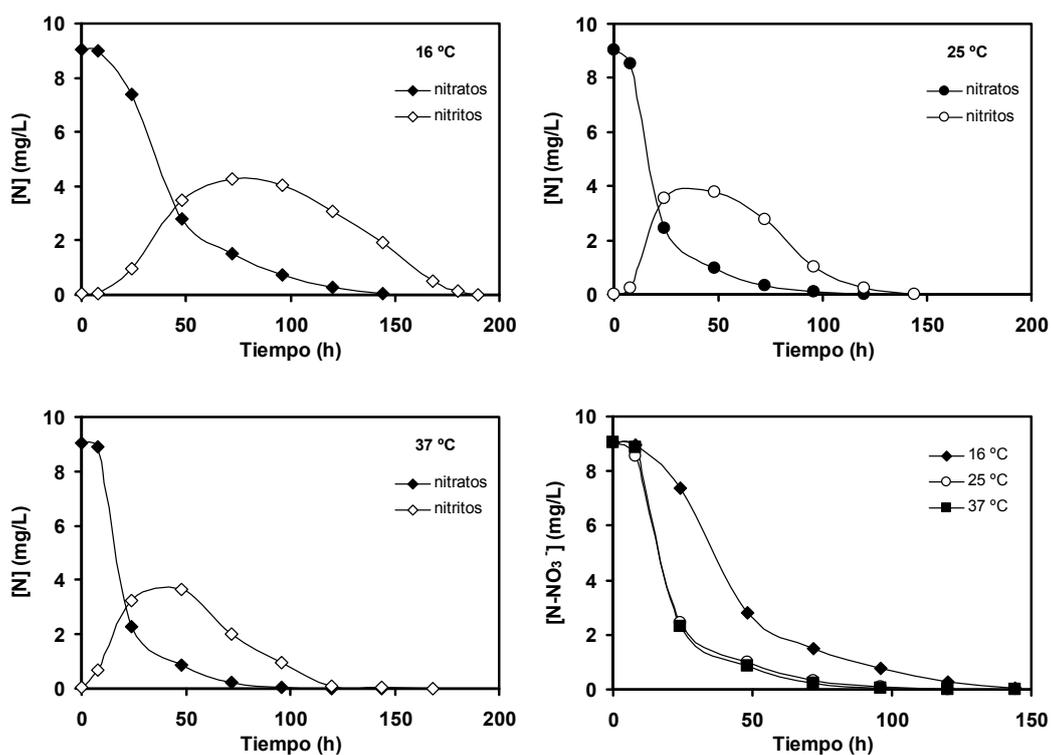


Figura 5.4.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas a 16, 25 y 37 °C utilizando glucosa como fuente de carbono.

Para llevar a cabo este estudio se realizó el proceso de desnitrificación a las temperaturas de 16, 25 y 37 °C, y utilizando como fuente de carbono etanol y glucosa. La Figura 5.4 muestra las curvas de desnitrificación a las tres temperaturas de trabajo distintas usando como fuente de carbono glucosa, así como la comparación conjunta de eliminación de nitratos a las tres temperaturas.

En la mayoría de los estudios encontrados en la bibliografía se observa que a medida que aumenta la temperatura, aumenta la velocidad de eliminación de nitritos y nitratos [27,28]. No obstante, no se han encontrado apenas estudios en los que se hayan utilizado temperaturas superiores a 30 °C. En nuestro caso, utilizando glucosa como fuente de carbono se observa que a medida que aumenta la temperatura la eliminación completa de nitratos y nitritos se produce a tiempos más cortos, habiendo una diferencia muy notable entre los 16 °C y las otras dos temperaturas superiores estudiadas.

Sin embargo, cuando utilizamos etanol como fuente de carbono el comportamiento varió ligeramente respecto al empleo de glucosa (Figura 5.5). Con etanol también se mejora el proceso de desnitrificación cuando aumenta la temperatura de 16 a 25 °C, sin embargo, algunos trabajos proponen precisamente una temperatura límite de 25 °C, a partir de la cual la velocidad de desnitrificación empieza a disminuir [29]. Nuestros resultados parecen ser coincidentes con la tendencia mencionada porque la eliminación de nitratos es ligeramente más lenta a 37 °C que a 25 °C, siendo este efecto más pronunciado en la eliminación completa de los nitritos.

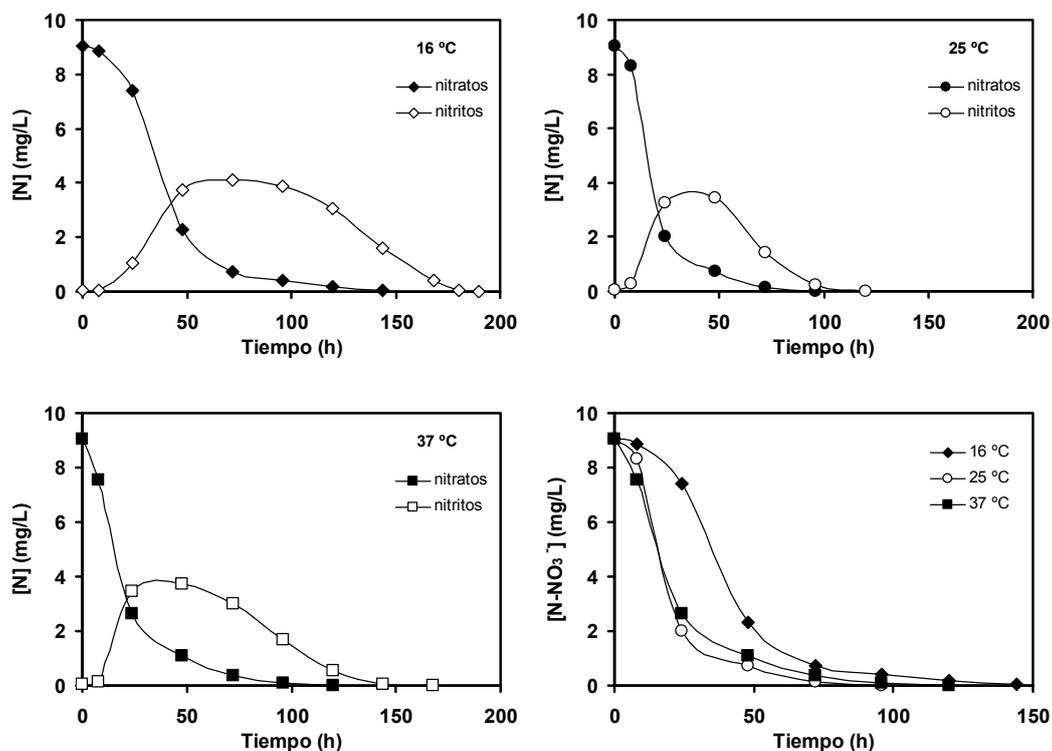


Figura 5.5.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas a 16, 25 y 37 °C utilizando etanol como fuente de carbono.

5.2.3. Presencia de iones metálicos: Cr(VI) y Zn(II)

En esta Tesis, también se ha estudiado cómo afecta la presencia de Cr(VI) y Zn(II), como ejemplo de metales contaminantes del agua, sobre la capacidad de desnitrificación de la *E. coli*. Se conoce que estos metales son contaminantes del agua incluso a muy bajas concentraciones [30]. Por otro lado, la presencia de estos metales (Cr(VI) y Zn(II)) han sido estudiados previamente por otros autores en procesos de desnitrificación [8,31-34].

Para la adición de Cr(VI) y Zn(II) al bio-reactor se empleó cromato potásico (K_2CrO_4) y nitrato de zinc tetrahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$), respectivamente. La Figura 5.6 recoge los resultados obtenidos de eliminación de nitratos para la muestra HPC1 (0 mg/L) libre de metales y cuando se adicionaron 0,5 o 1,0 mg/L de estos iones metálicos.

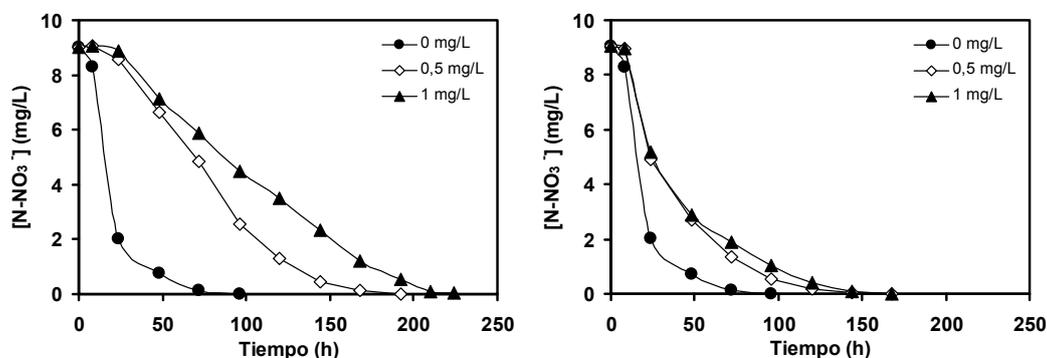


Figura 5.6.- Curvas de eliminación de nitratos obtenidas en presencia de los iones Cr(VI) (izquierda) y Zn(II) (derecha) a distintas concentraciones.

Estudios anteriores demuestran que la presencia de Cr(VI) o Zn(II) produce una disminución de la velocidad de crecimiento de las bacterias desnitrificantes [31,35], siendo este efecto más acusado a mayor concentración del ión metálico [36] incluso a altas concentraciones de fuente de carbono [33]. Este efecto de la disminución en la velocidad de crecimiento por la presencia de estos iones se ha observado también en plantas [30]. Los resultados presentados en la Figura 5.6 sobre la capacidad de desnitrificación de la *E. coli* soportada, en presencia de Cr(VI) o Zn(II), están de acuerdo con la bibliografía. Así, la presencia de Cr(VI) origina una mayor inhibición que el Zn(II), así como un mayor incremento de la inhibición al aumentar concentración metálica. Por lo tanto, estos resultados

también refuerzan el hecho de que el principal problema de bio-compatibilidad que presentan los hormigones, como soporte de *E. coli*, es su propio contenido metálico.

5.3. ELIMINACIÓN DE NITRATOS POR BACTERIAS SOPORTADAS SOBRE LOS HORMIGONES DE LAS SERIES HPC, HPCC Y HPCF

Las bacterias *E. coli* se soportaron sobre los hormigones, de esta serie, siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo II, apartado 2.4. Durante el proceso de eliminación de nitratos se detectó la formación temporal de nitritos pero en ninguno de los casos se detectó la presencia de iones amonio.

5.3.1. Hormigones de la serie HPC

La Figura 5.7 recoge las curvas de eliminación de nitritos y nitratos obtenidas con los hormigones HPC1, HPC3 y HPC5, y la Figura 5.8 muestra la relación entre el volumen de poros accesible al agua determinado por picnometría frente al tiempo total necesario para la eliminación de nitratos y nitritos. La eliminación de nitratos y nitritos fue más rápida para la muestra más macroporosa (HPC5) y más lenta para la muestra menos macroporosa (HPC1), siguiendo la secuencia inversa a la cantidad de metales lixiviada (Tabla 5.3) que en este caso además coincide con la secuencia directa del aumento del volumen de poros accesible al agua (Tabla 5.2), es decir, los dos parámetros que presentan una mayor influencia sobre la capacidad de desnitrificación de la *E. coli* soportada, tal y como se puso de

manifiesto en el Capítulo IV, se presentan secuencial y positivamente alineados en la serie HPC.

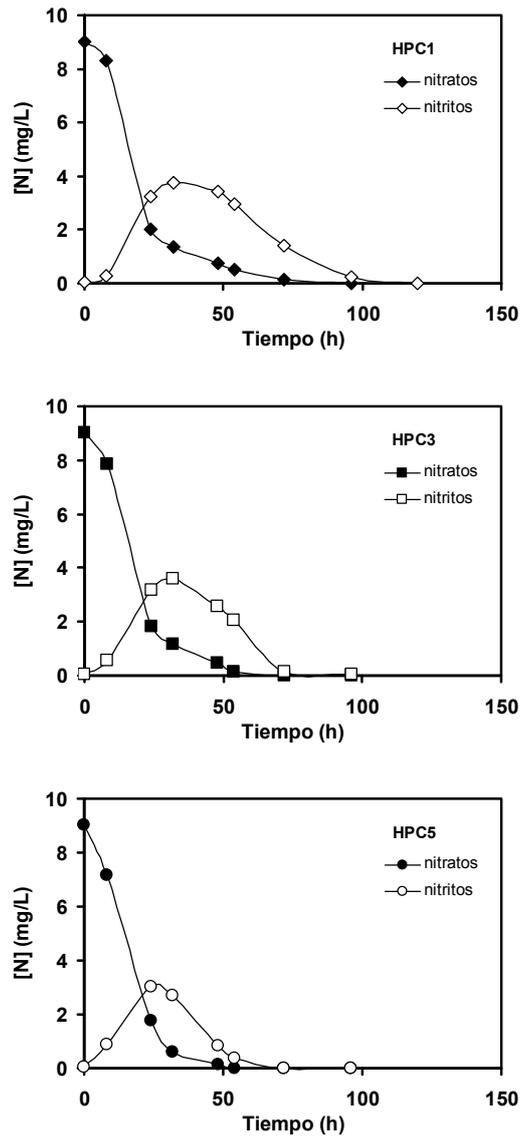


Figura 5.7.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos obtenidas con los hormigones de la serie HPC.

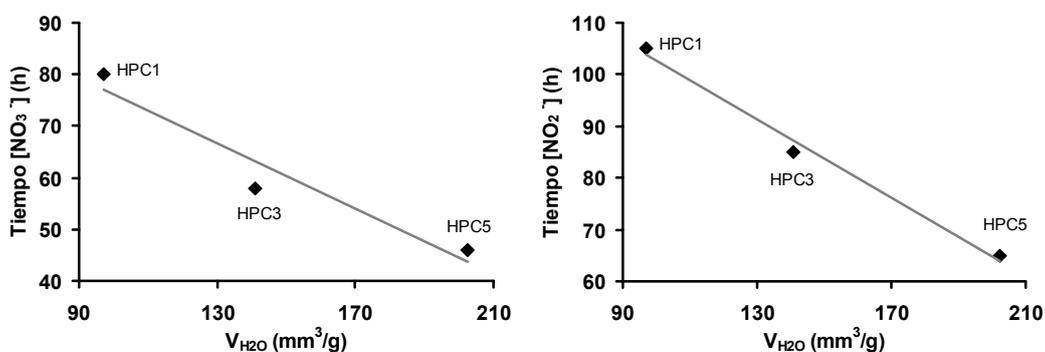


Figura 5.8.- Relación entre el volumen de poros accesible al agua con el tiempo de eliminación de nitratos (izquierda) y con el tiempo de eliminación de nitritos (derecha).

En resumen, según lo anteriormente expuesto, el orden en el cual se obtienen los mejores resultados en la desnitrificación sería: HPC5 > HPC3 > HPC1. Esta tendencia se pone igualmente de manifiesto en la Figura 5.9 donde se representa la eliminación total de nitrógeno (nitratos + nitritos) en función del tiempo.

Finalmente, al realizar una comparación con los hormigones de la serie PC, estudiados en el Capítulo IV, cabe destacar que mientras aquellos necesitaban tiempos para la eliminación total de nitrógeno comprendidos entre 120 y 160 horas, los hormigones altamente porosos de la serie HPC, tal y como se muestra en la Figura 5.9, emplean tiempos comprendidos entre 70 y 100 horas.

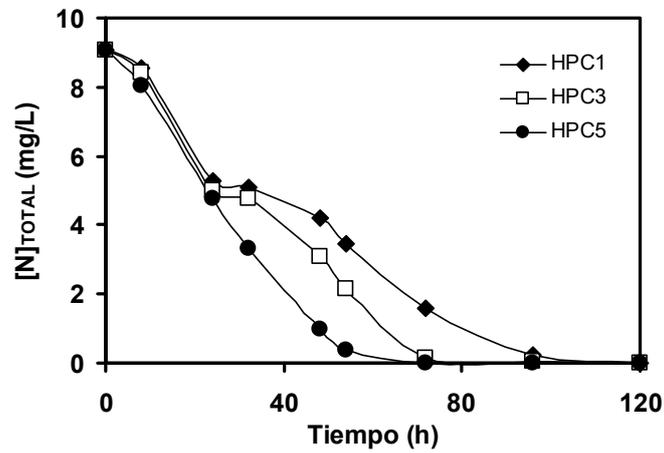


Figura 5.9.- Curvas de eliminación de nitrógeno total obtenidas con los hormigones de la serie HPC.

5.3.2. Hormigones de la serie HPC recubiertos de carbón

La Figura 5.10 recoge las curvas de eliminación de nitratos y nitritos de todos los hormigones de las series HPCC y HPCF, y la Figura 5.11 muestra la eliminación de nitrógeno total obtenida con todos los hormigones de las series HPC, HPCC y HPCF de forma comparativa.

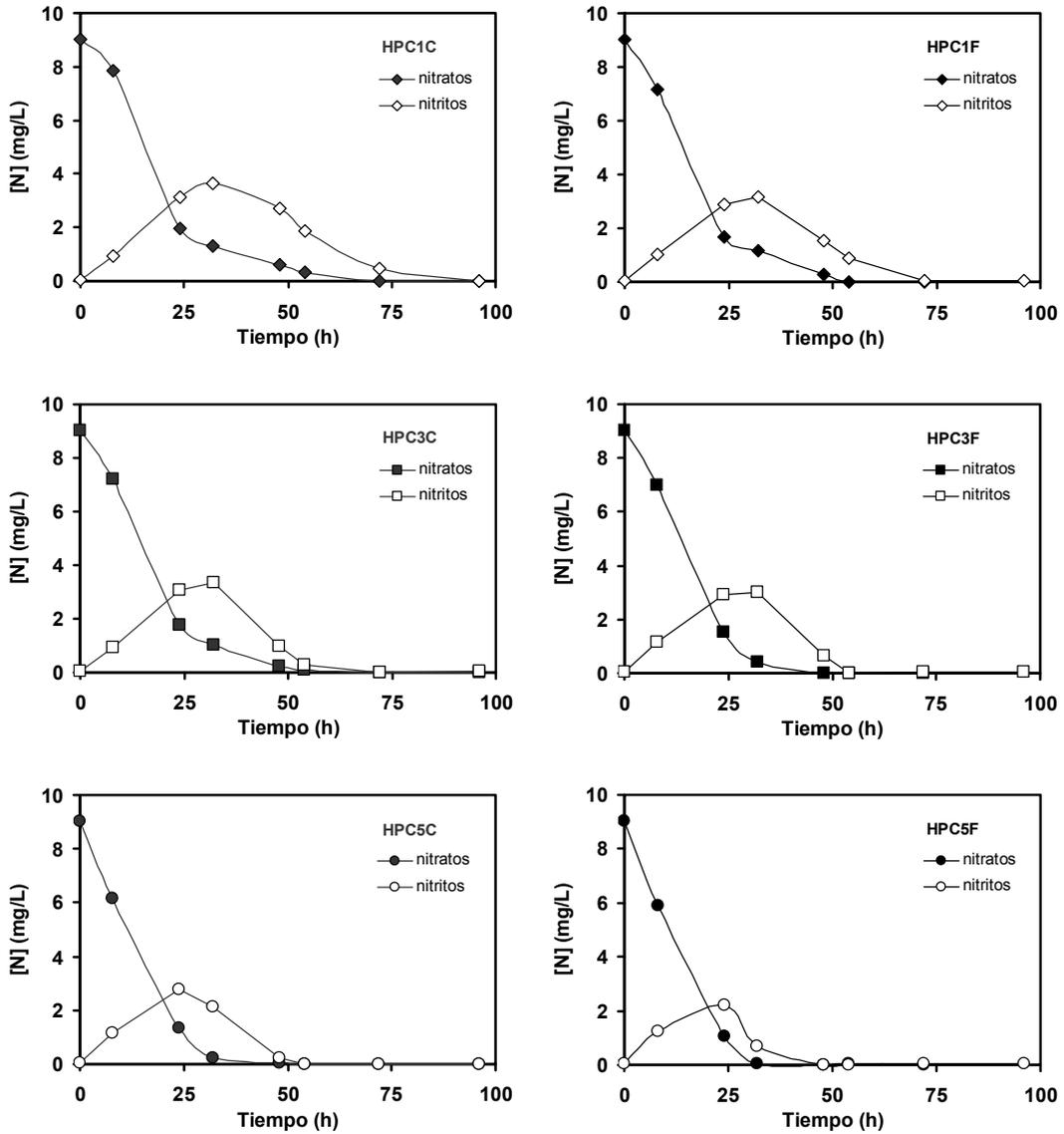


Figura 5.10.- Curvas de eliminación de nitratos y nitritos de los hormigones de la serie HPCC y HPCF.

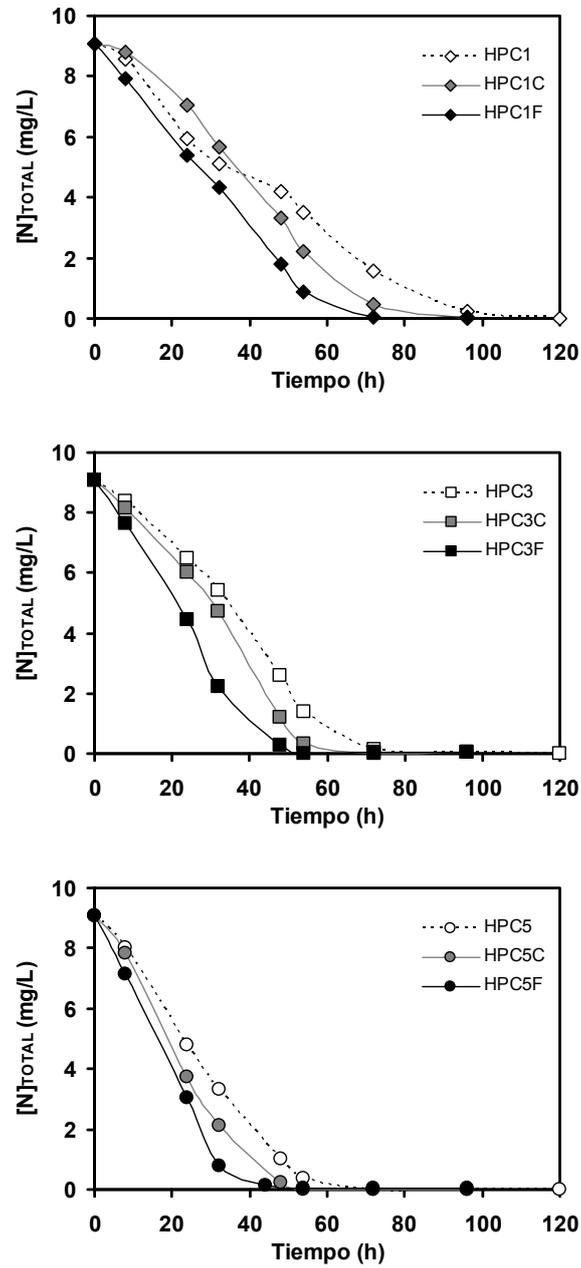


Figura 5.11.- Curvas de eliminación total de nitrógeno.

En la Figura 5.10 se observa que con los hormigones recubiertos se obtuvo la misma secuencia de resultados de desnitrificación que con la serie original HPC, es decir: HPC-C/F5 > HPC-C/F3 > HPC-C/F1, ya que en ambas series de hormigones recubiertos se mantuvo la misma secuencia de volumen de poros accesible al agua, y lixiviación de metales, que sus homólogos de la serie HPC (Tablas 5.2 y 5.3). Por otro lado, la Figura 5.11 muestra claramente que los hormigones recubiertos de carbón son mejores soportes de *E. coli* para la eliminación de nitratos en todos los casos. Sin embargo, con los hormigones de la serie HPCF los resultados obtenidos en la desnitrificación fueron siempre mejores que los obtenidos con sus homólogos HPCC, a pesar de que los volúmenes accesibles al agua en los hormigones de la serie HPCC son siempre menores que los correspondientes a la serie HPCF. La explicación a estos resultados estaría relacionada, por tanto, con la toxicidad relativa de todos los soportes recogida en la Tabla 5.3. Es decir, la bio-compatibilidad de los hormigones de la serie HPCF es superior a los de la serie HPCC, razón por la cual se comportan mejor como soportes de la *E. coli* en este proceso. Además hay que recordar que la desnitrificación se estudió en condiciones estáticas, y por tanto, la influencia de factores como la permeabilidad de los materiales, o el volumen de poros accesibles al agua puede quedar parcialmente supeditado a la bio-compatibilidad, como parece ser el caso.

En cualquier caso, ambas series de hormigones HPCC y HPCF son potencialmente excelentes soportes de bacterias *E. coli* para ser empleados en procesos de desnitrificación de aguas.

5.4. ELIMINACIÓN DE NITRATOS POR BACTERIAS SOPORTADAS SOBRE OTROS MATERIALES DE CONSTRUCCIÓN

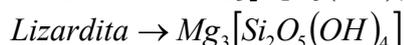
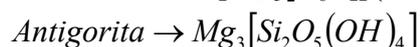
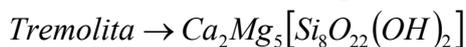
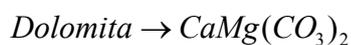
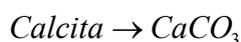
En esta sección se estudió el comportamiento de tres materiales de construcción con diferentes características como soporte de *E. coli* para la eliminación de nitratos de aguas. Estos fueron: piedra caliza, mármol y mezcla asfáltica.

La piedra caliza (CAL) es una roca sedimentaria compuesta fundamentalmente por carbonato cálcico, generalmente calcita. Material ampliamente utilizado en esculturas y edificios debido a su gran resistencia a la meteorización [37].

El mármol verde (MAR) es una roca metamórfica formada a partir de rocas calizas, sometidas a elevadas temperaturas y presiones. El componente básico en este caso también es el carbonato cálcico. Los demás componentes son los que le dan la gran variedad de color y definen sus propiedades físicas. Es por estas características por lo que es un material muy utilizado en construcción, decoración y esculturas [38].

El asfalto (ASF) es un material compuesto por áridos y una breá [39], la cual a su vez está compuesta por una amplia mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos. El principal elemento presente en la composición de la breá es carbono pero también contiene otros elementos como hidrógeno, oxígeno, azufre, nitrógeno y algunos elementos metálicos, entre los que se encuentran el vanadio y el níquel.

Mediante Difracción de Rayos X se determinó las principales fases minerales que componen la piedra caliza y el mármol. Así, la piedra caliza estaba compuesta únicamente por calcita, mientras que el mármol verde presentó además de la calcita como componente principal otras fases minerales como dolomita, tremolita, antigorita y lizardita. La fórmula química de cada una de estas fases es la siguiente:



La Antigorita y la Lizardita tienen la misma fórmula química pero el sistema en el que cristalizan es distinto. La primera cristaliza en el sistema monoclinico y la Lizardita lo hace en el sistema triclínico.

Las características texturales de los tres materiales seleccionados se estudió utilizando las mismas técnicas descritas que para el caso de los hormigones, obviamente solo el asfalto tenía características porosas, las cuales se recogen en la Tabla 5.4, siendo en cualquier caso muy inferiores a cualquiera de los hormigones porosos preparados en esta Tesis.

Tabla 5.4.- Caracterización de la porosidad.

MUESTRA	S _{BET} (m ² /g)	W ₀ (mm ³ /g)	V _{BJH} (mm ³ /g)	V _{POR} (mm ³ /g)	S _{EXT} (m ² /g)	V _{Hg} (mm ³ /g)	V _{H₂O} (mm ³ /g)
ASF	0,699	0,217	2,00	7,00	0,296	19,83	24,36
CAL	0	0	0	0	0	0	0
MAR	0	0	0	0	0	0	0

Por otro lado, también se estudió la toxicidad de estos materiales. La Tabla 5.5 recoge los datos de contenido en metales de los lixiviados en agua; medidas de pH y medidas de toxicidad expresadas como porcentaje de inhibición de la bacteria *Vibrio Fischeri*.

Tabla 5.5.- pH_{FINAL}, concentración total de metales lixiviados y porcentaje de inhibición a 30 minutos.

Muestra	pH _{FINAL}	[Metales] _{TOTAL} (µg/g)	I ₃₀ (%)
CAL	9,31	0,07	0,00
MAR	9,70	0,08	0,00
ASF	9,73	0,11	20,25

Todos los materiales produjeron lixiviados con pH básico, y en todos los casos la cantidades de metales lixiviadas fueron muy inferiores a las obtenidas con los hormigones. Sin embargo, es relevante el elevado porcentaje de inhibición, en relación a su volumen de poros accesible al agua, que presenta la mezcla asfáltica lo cual posiblemente se deba a la presencia en su composición, más que probable, de compuestos organohalogenados y azufre los cuales también intervienen en la inhibición de la bacteria *Vibrio Fischeri* [40].

Las bacterias *E. coli* se soportaron sobre estos materiales siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo II, apartado 2.4. Una vez soportada la bacteria sobre las distintas muestras se eliminó la solución de cultivo, se añadieron 100 ml de disolución de NaNO_3 (40 mg/L), se añadió etanol en exceso como fuente de carbono (2,6 ml), y se purgó con argón el bio-reactor mediante burbujeo. Durante el proceso de eliminación de nitratos se detectó la formación temporal de nitritos pero en ninguno de los casos se detectó la presencia de iones amonio. A diferencia de los apartados anteriores, en este caso se utilizaron piezas cúbicas de 1,5 x 1,5 x 1,5 cm como soportes de *E. coli* (Figura 5.12). En este estudio comparativo también se utilizó una pieza del hormigón HPC1 de idénticas dimensiones.



Figura 5.12.- De izquierda a derecha: piedra caliza, mármol, y asfalto.

Los resultados obtenidos con estos materiales en la eliminación de nitratos se muestran en la Figura 5.13. Tanto con el mármol como con la piedra caliza se obtienen exactamente los mismos resultados, ya que ambos materiales son no porosos y además presentan porcentajes de inhibición mínimos. Sin embargo, las bacterias soportadas sobre el asfalto eliminaron más rápidamente los nitratos que el mármol y la caliza. En el asfalto, el apreciable volumen de poros accesible al agua que presenta y la menor bio-compatibilidad en comparación con la caliza y mármol compiten, dando como resultado final un mejor comportamiento como

soporte de estas bacterias para la eliminación de nitratos. No obstante, ninguno de estos materiales estudiados, relacionados con la construcción, muestra en absoluto un mejor comportamiento que los hormigones porosos como soporte de la *E. coli* para la desnitrificación de agua, en las condiciones experimentales estudiadas.

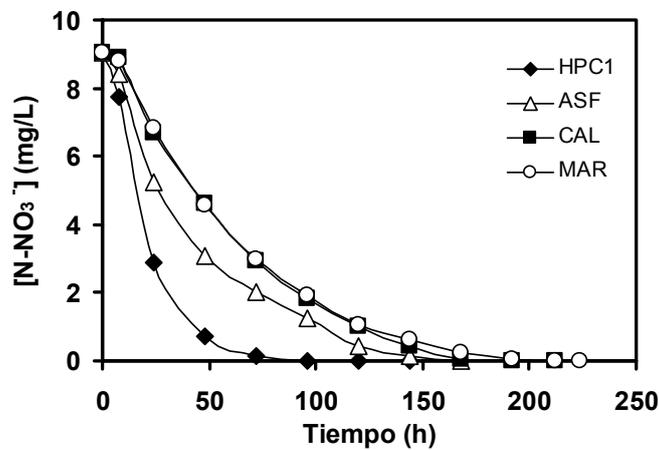


Figura 5.13.- Curva de eliminación de nitratos obtenida con los diferentes materiales de construcción.

5.5. CONCLUSIONES

Se han preparado hormigones altamente porosos modificando la relación agua/cemento, tamaño y cantidad de árido además del uso de aditivos. Estos hormigones, denominados serie HPC, presentan valores mucho más elevados de volúmenes de poros accesibles al agua y permeabilidad que los hormigones de la serie PC, sin embargo las propiedades mecánicas son significativamente inferiores.

Se han obtenido por primera vez hormigones altamente porosos recubiertos de carbón a partir del mojado de los mismos en una resina furánica, curada y finalmente carbonizada (o pirolizada) mediante un tratamiento de microondas. A estos hormigones recubiertos de carbón, se les ha denominado serie HPCF.

El recubrimiento con carbón realizado en los hormigones de la serie HPCF reduce la porosidad de los mismos especialmente en el rango de la mesoporosidad, pero afecta en menos de un 17% al volumen total de poros accesibles al agua.

El recubrimiento con carbón de los hormigones estudiados reduce la cantidad de metales lixiviados.

En las condiciones experimentales estudiadas se obtienen mejores resultados en el proceso de desnitrificación cuando se utiliza el etanol como fuente de carbono, frente a glucosa y acetato de sodio.

Cuando se utiliza etanol como fuente de carbono en la desnitrificación se obtienen mejores resultados a la temperatura de 25 °C, frente a 37 o 16 °C. En las mismas condiciones experimentales, cuando la fuente de carbono es glucosa, el proceso de eliminación fue más rápido a 37 °C que a 25 °C.

La presencia de Cr(VI) o Zn(II) producen una disminución de la velocidad de eliminación de nitratos, mucho más notable en el caso del Cr(VI).

La bacteria *E. coli* puede desarrollarse y ser soportada sobre todos los hormigones altamente porosos preparados, a pesar de los contenidos metálicos de los mismos. Así la capacidad desnitrificante de la *E. coli* soportada sobre estos materiales se ha evaluado muy satisfactoriamente, permitiendo la eliminación total, en todos los casos, de los nitratos y nitritos en las condiciones experimentales estudiadas. En ningún experimento se detectó la formación de amoniaco o iones amonio.

La capacidad de eliminación de nitratos de la *E. coli* soportada sobre hormigones altamente porosos no recubiertos dependió principalmente de dos factores: contenido metálico y volumen de poros grandes accesibles al agua. Los materiales con mayor volumen de poros accesibles al agua y menor cantidad de metales lixiviados (menor capacidad inhibidora) eliminaron los nitratos de las disoluciones acuosas en menor tiempo.

Los hormigones altamente porosos recubiertos de carbón mostraron una mayor capacidad de eliminación, de nitratos y nitritos, que sus correspondientes hormigones no recubiertos, a pesar de que contienen menores volúmenes de poros accesibles al agua. Los hormigones de la serie HPCF mostraron también una mayor capacidad de eliminación, de nitratos y nitritos, que sus homólogos de la serie HPCC, a pesar de que contienen también menores volúmenes de poros accesibles al agua. Este hecho se debe probablemente a la disminución de la toxicidad que presentan sus lixiviados, siendo la bio-compatibilidad el factor más influyente sobre la capacidad de eliminación de nitratos de la *E. coli* soportada, siempre y cuando los hormigones comparados tengan un elevado volumen de macroporos accesibles al agua.

5.6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. Bhutta, K. Tsuruta, J. Mirza. Evaluation of high-performance porous concrete properties. *Construction and Building Materials*, 31:67-73, (2012).
- [2] J. Yang, G. Jiang. Experimental study on properties of pervious concrete pavement materials. *Cement and Concrete Research*, 33:381-386, (2003).
- [3] F.J. Maldonado-Hódar, S. Morales-Torres, F. Ribeiro, E.R. Silva, A.F. Pérez-Cadenas, F. Carrasco-Marín, F.A.C. Oliveira. Development of carbon coatings for cordierite foams: An alternative to cordierite honeycombs. *Langmuir*, 24:3267-3273, (2008).
- [4] A.F. Pérez-Cadenas, M.M.P. Zieverink, F. Kapteijn, J.A. Moulijn. High performance monolithic catalysts for hydrogenation reactions. *Catalysis Today*, 105:623-628, (2005).
- [5] A.F. Pérez-Cadenas, F. Kapteijn, M.M.P. Zieverink, J.A. Moulijn. Selective hydrogenation of fatty acid methyl esters over palladium on carbon-based monoliths: Structural control of activity and selectivity. *Catalysis Today*, 128:13-17, (2007).
- [6] G. Rivero, L.A. Fasce, S.M. Cer+®, L.B. Manfredi. Furan resins as replacement of phenolic protective coatings: Structural, mechanical and functional characterization. *Progress in Organic Coatings*, 77:247-256, (2014).
- [7] D. Obaja, S. Macé, J. Mata-Alvarez. Biological nutrient removal by a sequencing batch reactor (SBR) using an internal organic carbon source in digested piggery wastewater. *Bioresource Technology*, 96:7-14, (2005).
- [8] C. Moreno-Castilla, I. Bautista-Toledo, M.A. Ferro-García, J. Rivera-Utrilla. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon*, 41:1743-1749, (2003).

- [9] H. Rahmani, J.L. Rols, B. Capdeville, J.C. Cornier, A. Deguin. Nitrite removal by a fixed culture in a submerged granular biofilter. *Water Research*, 29:1745-1753, (1995).
- [10] C. Glass, J. Silverstein. Denitrification of high-nitrate, high-salinity wastewater. *Water Research*, 33:223-229, (1999).
- [11] Y. Fernández-Nava, E. Marañón, J. Soons, L. Castrillón. Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources. *Journal of Hazardous Materials*, 173:682-688, (2010).
- [12] J. Oh, J. Silverstein. Oxygen inhibition of activated sludge denitrification. *Water Research*, 33:1925-1937, (1999).
- [13] X. Yang, S. Wang, L. Zhou. Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by *Pseudomonas stutzeri* D6. *Bioresource Technology*, 104:65-72, (2012).
- [14] S.S. Adav, D.J. Lee, J.Y. Lai. Enhanced biological denitrification of high concentration of nitrite with supplementary carbon source. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85:773-778, (2010).
- [15] J.C. Akunna, C. Bizeau, R. Moletta. Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: Glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Water Research*, 27:1303-1312, (1993).
- [16] F. Chevron, C. Defives, H.C. Dubourguier. Denitrification of high nitrate and ammonia waters using fixed-biofilms reactors on natural supports. *Environmental Technology*, 18:171-178, (1997).
- [17] M. Calderer, O. Gibert, V. Martí, M. Rovira, J. De Pablo, S. Jordana, L. Duro, J. Guimerá, J. Bruno. Denitrification in presence of acetate and glucose for bioremediation of nitrate-contaminated groundwater. *Environmental Technology*, 31:799-814, (2010).
- [18] D. Wang, Q. Huang, C. Wang, M. Ma, Z. Wang. The effects of different electron donors on anaerobic nitrogen transformations and denitrification processes in Lake Taihu sediments. *Hydrobiologia*, 581:71-77, (2007).

- [19] A. Anette, O. Hallvard, B. Kristin, R. Pujol, M. Hamon. Denitrification in a packed bed biofilm reactor (BIOFOR) – Experiments with different carbon sources. *Water Research*, 32:1463-1470, (1998).
- [20] W. Fuchs, G. Schatzmayr, R. Braun. Nitrate removal from drinking water using a membrane-fixed biofilm reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48:267-274, (1997).
- [21] P. Kesserü, I. Kiss, Z. Bihari, B. Polyák. Investigation of the denitrification activity of immobilized *Pseudomonas butanovora* cells in the presence of different organic substrates. *Water Research*, 36:1565-1571, (2002).
- [22] M. Ravnjak, J. Vrtovsek, A. Pintar. Denitrification of drinking water in a two-stage membrane bioreactor by using immobilized biomass. *Bioresource Technology*, 128:804-808, (2013).
- [23] M. Christensson, E. Lie, T. Welander. A comparison between ethanol and methanol as carbon sources for denitrification. *Water Science and Technology*, 30:83-90, (1994).
- [24] H. Constantin, M. Fick. Influence of C-sources on the denitrification rate of a high-nitrate concentrated industrial wastewater. *Water Research*, 31:583-589, (1997).
- [25] Z. kbari Shahabi, F. Naeimpoor. Enhanced Heterotrophic Denitrification: Effect of Dairy Industry Sludge Acclimatization and Operating Conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. (2014).
- [26] N.C. Brady, R.R. Weil. *The Nature and Properties of Soils*. Prentice Hall. New Jersey (2002).
- [27] J. Carrera. Eliminación biológica de nitrógeno en un efluente con alta carga. Estudio de los parámetros del proceso y diseño de una depuradora industrial., Universidad Autónoma de Barcelona, (2001).
- [28] Z. Shen, J. Hu, J. Wang, Y. Zhou. Biological denitrification using starch/polycaprolactone blends as carbon source and biofilm support. *Desalination and Water Treatment*. (2014).

- [29] Y.Z. Peng, Y. MA, S.Y. Wang. Denitrification potential enhancement by addition of external carbon sources in a pre-denitrification process. *Journal of Environmental Sciences*, 19:284-289, (2007).
- [30] R.J. Gakwavu, B.C. Sekomo, I. Nhapi. Zinc and chromium removal mechanisms from industrial wastewater by water hyacinth, *eichhornia crassipes* (MART.) solms. *Applied Ecology and Environmental Research*, 10:493-502, (2012).
- [31] J. Mazierski. Effect of chromium (CrVI) on the growth rate of denitrifying bacteria. *Water Research*, 28:1981-1985, (1994).
- [32] S. Yin, L. Yang, B. Yin, L. Mei. Nitrification and denitrification activities of zinc-treated soils worked by the earthworm *Pheretima* sp. *Biology and Fertility of Soils*, 38:176-180, (2003).
- [33] T. Panswad, P. Polprucksa. Specific oxygen uptake, nitrification and denitrification rates of a zinc-added anoxic/oxic activated sludge process. *Water Science and Technology*, 38:133-139, (1998).
- [34] Z. Lewandowski. Denitrification by packed bed reactors in the presence of chromium(VI). Resistance to inhibition. *Water Research*, 19:589-596, (1985).
- [35] A. Cabrero, S. Fernandez, F. Mirada, J. Garcia. Effects of copper and zinc on the activated sludge bacteria growth kinetics. *Water Research*, 32:1355-1362, (1998).
- [36] W. Zhao, Y.M. Zheng, S.W. Zou, Y.P. Ting, J.P. Chen. Effect of hexavalent chromium on performance of membrane bioreactor in wastewater treatment. *Journal of Environmental Engineering*, 135:796-805, (2009).
- [37] L. Straulino, S. Sedov, D. Michelet, S. Balanzario. Weathering of carbonate materials in ancient Maya constructions (Río Bec and Dzibanché): Limestone and stucco deterioration patterns. *Quaternary International*, 315:87-100, (2013).

-
- [38] M.M. Idris. The use of marble veneer in building facade in Riyadh: Materials, adaptability and construction. *Architectural Science Review*, 43:5-11, (2000).
- [39] O.W. Schuetz. Asphalt concrete pavement construction practices in Europe. *Asphalt Paving Technology: Association of Asphalt Paving Technologists-Proceedings of the Technical Sessions*, 612-623, (1992).
- [40] E. Reinado. Aplicación de la bacteria *Vibrio Fischeri* en la medida de toxicidad de aguas, Departamento de Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente, (2011).

CAPÍTULO VI:

HORMIGÓN POROSO COMO SOPORTE PARA CRECIMIENTO DE ALGAS

Resumen

Este capítulo recoge el estudio del crecimiento de algas cianofíceas sobre hormigones con distinta porosidad, y algunos recubiertos de carbón.

Para cuantificar el crecimiento de algas sobre las muestras de hormigón se llevó a cabo la determinación del contenido en *clorofila a*, y se determinó el área colonizada, mediante análisis de imágenes de alta resolución de la superficie de los materiales.

6.1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento biológico sobre las superficies externas de los edificios se ha considerado como un hecho negativo, sobre todo por el aspecto estético y el deterioro físico-químico que puede ocasionar la formación de las biopelículas.

En la actualidad se están llevando a cabo estudios en los que se analizan los parámetros que influyen en el desarrollo del crecimiento biológico sobre los hormigones, para así poder modificar la visión negativa que de ello se tiene y conseguir un crecimiento selectivo de microorganismos [1,2]. De esta forma, se pueden fabricar hormigones apropiados para que sean susceptibles de ser colonizados biológicamente, y además muestren interés estético y medioambiental. A la vez también se trata de poder conseguir que tengan capacidad para captar la radiación solar, lo que permite regular la conductividad térmica en el interior de los edificios en función de la temperatura alcanzada.

El hormigón con crecimiento biológico funciona no sólo como material aislante y regulador térmico, sino también como alternativa ornamental. El nuevo hormigón 'verde' (Figura 6.1) consigue el crecimiento directo de los organismos a partir del conjunto multicapa [3].



Figura 6.1.- Simulación de una fachada con crecimiento biológico.

Se denomina biopelícula aquella capa fina que cubre una superficie y que está formada por organismos, ya sean vivos o latentes, y los productos de su metabolismo, usualmente polisacáridos. Uno de los organismos susceptibles de formar biopelículas en superficies de estructuras de hormigón [4] son las bacterias fotosintéticas oxigénicas, también conocidas como cianobacterias (anteriormente incluidas en el grupo de las algas y denominadas algas verde-azules). Estos microorganismos se pueden desarrollar en soportes exclusivamente minerales, como los hormigones, por lo que presentan un gran interés para este estudio en concreto. Además de estas bacterias se encuentran las algas, hongos, musgos y líquenes.

Los hongos, son organismos heterótrofos que necesitan materia orgánica, como fuente de carbono. Normalmente no son los primeros en colonizar las fachadas. Los líquenes son organismos simbióticos formados por algas y hongos y tienen un crecimiento lento, únicamente crecen unos milímetros al año. Los musgos son plantas inferiores y suelen encontrarse en caminos y sobre capas de algas.

Las cianobacterias, también llamadas algas cianofíceas, figuran entre las formas de vida más antiguas de la Tierra. Existen desde hace unos 3.500 millones de años, y por tanto desde una época tan distinta a la actual que en aquel entonces ni siquiera había oxígeno en la atmósfera terrestre [5]. De hecho, se propone que fueron las cianobacterias las que desarrollaron la fotosíntesis oxigénica [6].

Estos organismos arcaicos no han sobrevivido por casualidad hasta nuestros días; son formas de vida extremadamente resistentes, tenaces y adaptables, a las cuales no ha logrado erradicar ninguna de las extinciones masivas que han asolado al planeta.

Es por ello por lo que se han elegido en este estudio las algas cianofíceas que además, presentan otras ventajas como la rapidez de crecimiento, y la facilidad de homogeneización en un cultivo líquido.

Estudios previos han puesto de manifiesto que los factores más importantes de crecimiento de estas especies en fachadas de hormigones son la porosidad del material, humedad y contenido en minerales [7,8].

Las algas son capaces de ajustar el contenido celular en clorofila ante cambios ambientales en el espacio y el tiempo [9,10]. Así, un aumento de la concentración de la clorofila significará un aumento en la cantidad de algas. Por tanto, para tener un dato cuantitativo del crecimiento de algas se determinó el contenido en *clorofila a* sobre distintas muestras de hormigón poroso.

Para esta Tesis, se han realizado estudios a escala de laboratorio, con muestras de hormigón de distinta porosidad y se ha cuantificado el crecimiento de algas mediante distintas técnicas [7,11]. Para determinar el área cubierta por las algas a partir de la intensidad de color, se pueden utilizar dos técnicas no destructivas, sencillas y reproducibles, que a su vez son complementarias y cumplen bien el objetivo. Dichas técnicas fueron: el análisis superficial de imágenes y la intensidad del color calculado por pérdida de reflectancia. La tercera es una técnica destructiva, y es la determinación del contenido de *clorofila a*, que además de proporcionar información sobre la cantidad de algas que han crecido sobre el hormigón, se utiliza para determinar el estado vital del alga en la muestra colonizada (determinación de feofitina) [11,12].

La cianobacteria usada en esta experiencia procede de la colección del profesor Sánchez Castillo del Departamento de Botánica de la Universidad de Granada, y que previamente había sido aislada del jardín de la Facultad de Ciencias de la mencionada Universidad.

6.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hormigones estudiados en este análisis como soporte para crecimiento de algas fueron HPC5 y HPC6, que presentan distinta porosidad para poder así obtener una relación entre la porosidad y el crecimiento de algas.

Este ensayo se llevó a cabo en una placa petri de 135 mm de diámetro en la que se colocaron las muestras de hormigón de dimensiones aproximadas de 2,5 x 2,5 x 1 cm sobre agar en donde se inculó el alga. La placa se cerró, para evitar contaminación y pérdida de humedad, y se introdujo en una estufa con iluminación a temperatura constante de 23 °C.

El crecimiento de algas sobre estas dos muestras se encuentra representado en la Figura 6.2 donde se observan las piezas HPC5 y HPC6 antes de someterlas al crecimiento, después de dos meses y medio de cultivo y después de cinco meses.

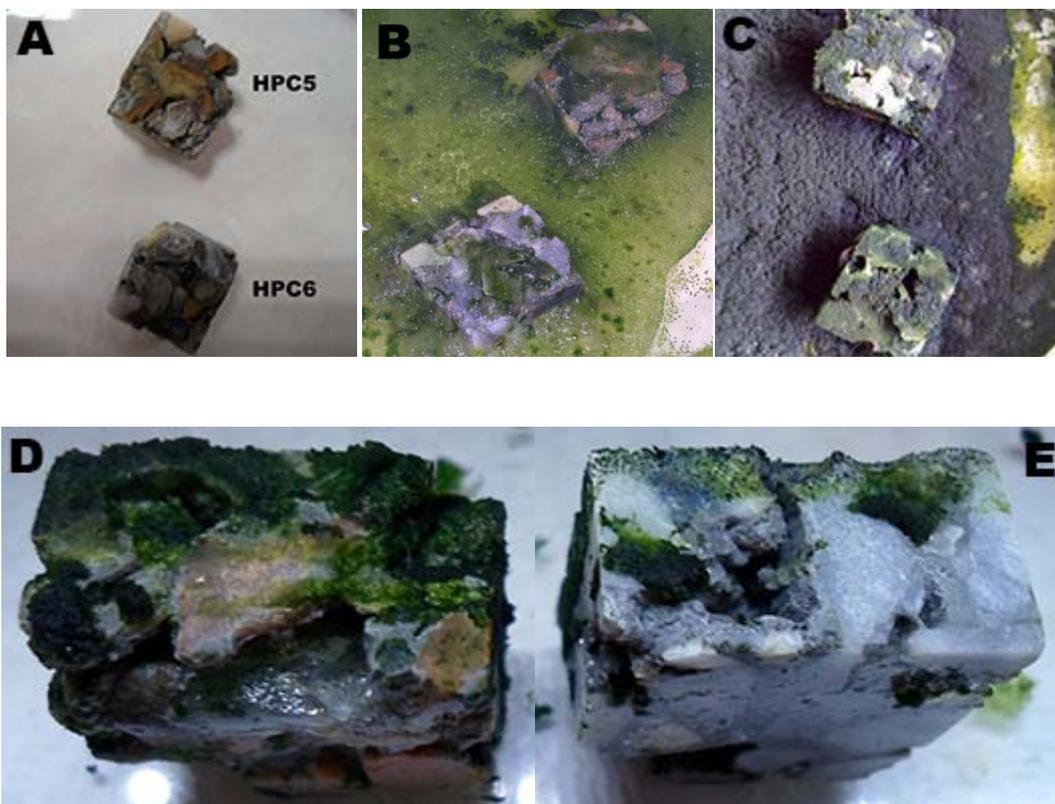


Figura 6.2.- Crecimiento de algas en los hormigones HPC5 (piezas superiores) y HPC6 (piezas inferiores). (A) Muestras originales (B) después de 2 meses y (C) después de 5 meses. (D) y (E) Son vistas laterales de HPC5 y HPC6, respectivamente, después de 5 meses de contacto.

Se puede observar un considerable aumento de algas en los hormigones a los dos meses del cultivo, que fue mayor cuando el tiempo de contacto aumentó hasta los cinco meses. En la Figura 6.2. D y E se observa como la muestra HPC5 presenta mayor contenido de algas que la muestra HPC6.

Para cuantificar este crecimiento se determinó el contenido en *Clorofila a* en ambas muestras. El método utilizado para la determinación de la *clorofila a* fue el

tricromático de Jeffrey y Humphrey basado en las medidas de espectroscopía visible [13]. Para ello, tras los cinco meses de cultivo se sacaron las piezas de las placas y se separaron en recipientes diferentes. Estos recipientes se introdujeron en el congelador a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ con objeto de romper las células que contienen la clorofila. Pasado ese tiempo se añadió a cada muestra 25 cm^3 de acetona y se cerraron para evitar la evaporación del disolvente. A las 24 horas, tiempo durante el cual la acetona ha extraído toda la clorofila presente en las muestras de hormigón, se midió la absorbancia a distintas longitudes de onda (nm): 630, 647, 664 y 750 (corrección de la turbidez). La Figura 6.3 muestra el espectro de absorción correspondiente a la *clorofila a*.

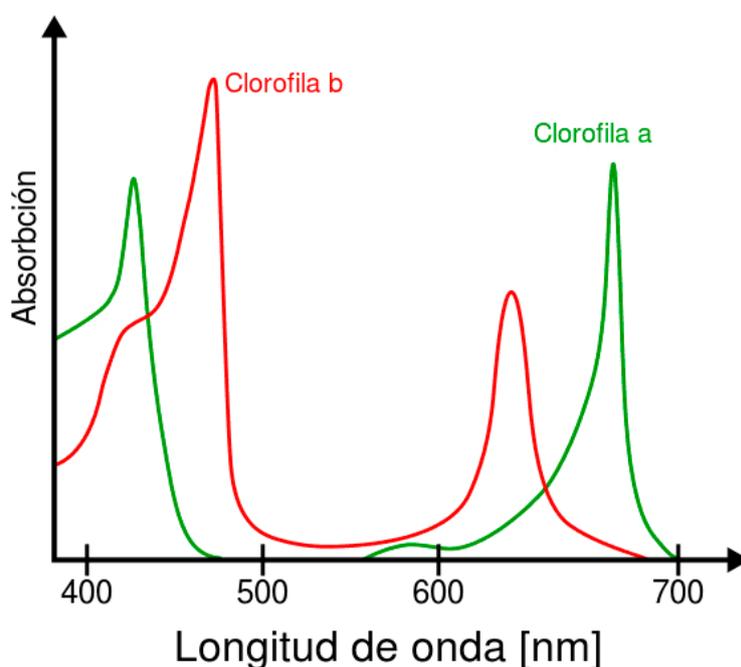


Figura 6.3.- Espectro de absorción *clorofila a*.

Aplicando la Ecuación 6.1 se obtuvo la concentración de *clorofila a* en el extracto y finalmente aplicando la Ecuación 6.2 se determinó la concentración de *clorofila a* en la muestra.

$$Chla = 11,85 \cdot (A_{664} - A_{750}) - 1,54 \cdot (A_{647} - A_{750}) - 0,08 \cdot (A_{630} - A_{750}) \quad (6.1.)$$

$$Chla(mg / m^3) = \frac{Chla \cdot V_{EXTRACTO}}{V_{MUESTRA}} \quad (6.2.)$$

Siendo $V_{EXTRACTO}$ el volumen inicial de acetona añadida y $V_{MUESTRA}$ el volumen de muestra de hormigón estudiada.

El $V_{EXTRACTO}$ añadido fue de 25 cm³, mientras que por $V_{MUESTRA}$ se consideró el volumen de las probetas de hormigón incluidos los poros, esto es: 6,25 cm³.

Los resultados obtenidos de *clorofila a* y la relación de absorbancias a 664 nm antes y después de la adición de ácido clorhídrico (relación feofitina) se presentan en la Tabla 6.1, junto con el volumen de poros accesible al agua, determinado por picnometría.

Tabla 6.1.- Resultados volumen de poros accesible a agua, *Clorofila a* y relación feofitina.

MUESTRA	V _{H2O} (mm ³ /g)	Chl a (mg/m ³)	A _{664nm} / A _{665nm} (HCl)
HPC5	202,47	6,95	2,67
HPC6	94,99	0,71	2,00

El contenido de *clorofila a* para la muestra HPC5 es casi diez veces superior al resultado de la muestra HPC6, indicando un mayor contenido de algas en la primera muestra de acuerdo con lo observado en la Figura 6.2.D y E.

En ambos casos se acidificó la disolución resultante con HCl 1 N con objeto de comprobar la existencia o no de feofitina (compuesto de alteración de la clorofila por pérdida del átomo de magnesio). Si la relación entre las absorbancias a 664 nm antes y después de acidificar fuese menor a 1,7 existiría feofitina. Se observa, para ambas muestras, una relación claramente superior a 1,7 por lo que no existe alteración posible por feofitina en la determinación de la clorofila.

Paralelamente a este ensayo se realizó otro sobre estas mismas muestras (HPC5 y HPC6), pero con musgo en vez de algas, y en las mismas condiciones experimentales que en el caso de las algas (Figura 6.4).



Figura 6.4. Crecimiento de musgo sobre HPC5 (derecha) y HPC6 (izquierda) a los dos meses.

Así, transcurridos dos meses se observó un menor crecimiento de musgo en las piezas con respecto al crecimiento de algas, no obstante se determinó un mayor crecimiento de musgo en la muestra más porosa (HPC5).

Por otro lado, se llevó a cabo otro estudio sobre el crecimiento de algas, utilizando un mayor número de muestras de hormigones que abarcaron diferentes rangos de porosidad. En este caso, todas las muestras de hormigón se colocaron simultáneamente en el fondo de un acuario de 20 litros de capacidad. A continuación se agregaron 15 litros del medio de cultivo BG11 (Tabla 6.2) para crecimiento acelerado de algas [14,15]. Posteriormente se añadieron 100 mL de medio BG11 que contenía disuelta el alga de estudio, y se mantuvo a una temperatura constante de 22 °C con agitación de la fase líquida. El sistema permaneció iluminado sin interrupción durante semanas utilizando una fuente de luz cuyo espectro de emisión cubre un rango de longitudes de onda similar a la radiación solar.

Además, el pH de la disolución se mantuvo ajustado en torno a 7 mediante la adición de ácido clorhídrico, ya que como hemos visto en los Capítulos anteriores los hormigones elevan el pH de la disolución, y así se evita la precipitación de hidróxido de hierro, metal que es esencial para el desarrollo de algas [16].

Tabla 6.2.- Composición del medio de cultivo BG11 (g/L).

MEDIO	NaNO ₃	K ₂ HPO ₄	FeSO ₄	CaCl ₂
BG11	1,500	0,040	0,075	0,036

En la Figura 6.5 se presenta un esquema de todas las partes de las que consta el acuario.

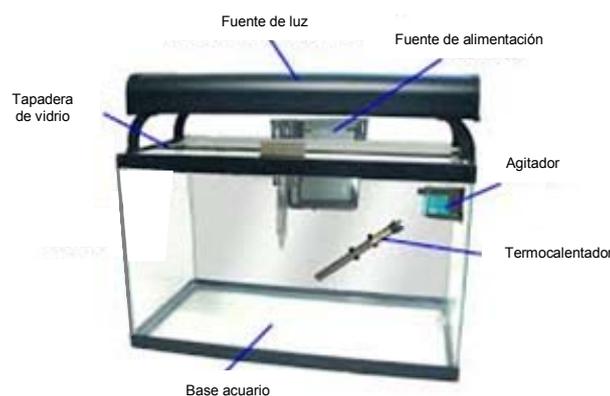


Figura 6.5. Esquema acuario.

Los hormigones utilizados para este ensayo fueron: un hormigón convencional (C1) con porosidad muy baja, una pieza con porosidad intermedia de la serie PC (PC3) y las tres piezas de la serie HPC estudiadas en el capítulo anterior (HPC1, HPC3 y HPC5). En la Figura 6.6 se muestran las fotos de la parte superior de las piezas prismáticas (con dimensiones aproximadas 5 x 5 x 2 cm) que se colocaron en el acuario así como los resultados obtenidos a tres tiempos distintos.

Se observó un crecimiento de algas progresivo (color verde) con el aumento de la porosidad de las muestras, siendo este crecimiento casi nulo en el hormigón no poroso (C1) y observándose un mayor crecimiento en HPC5 (pieza más porosa). Este comportamiento está de acuerdo con lo estudiado por otros autores donde el crecimiento de este tipo de algas es mayor en superficies más rugosas y con mayor porosidad [17].

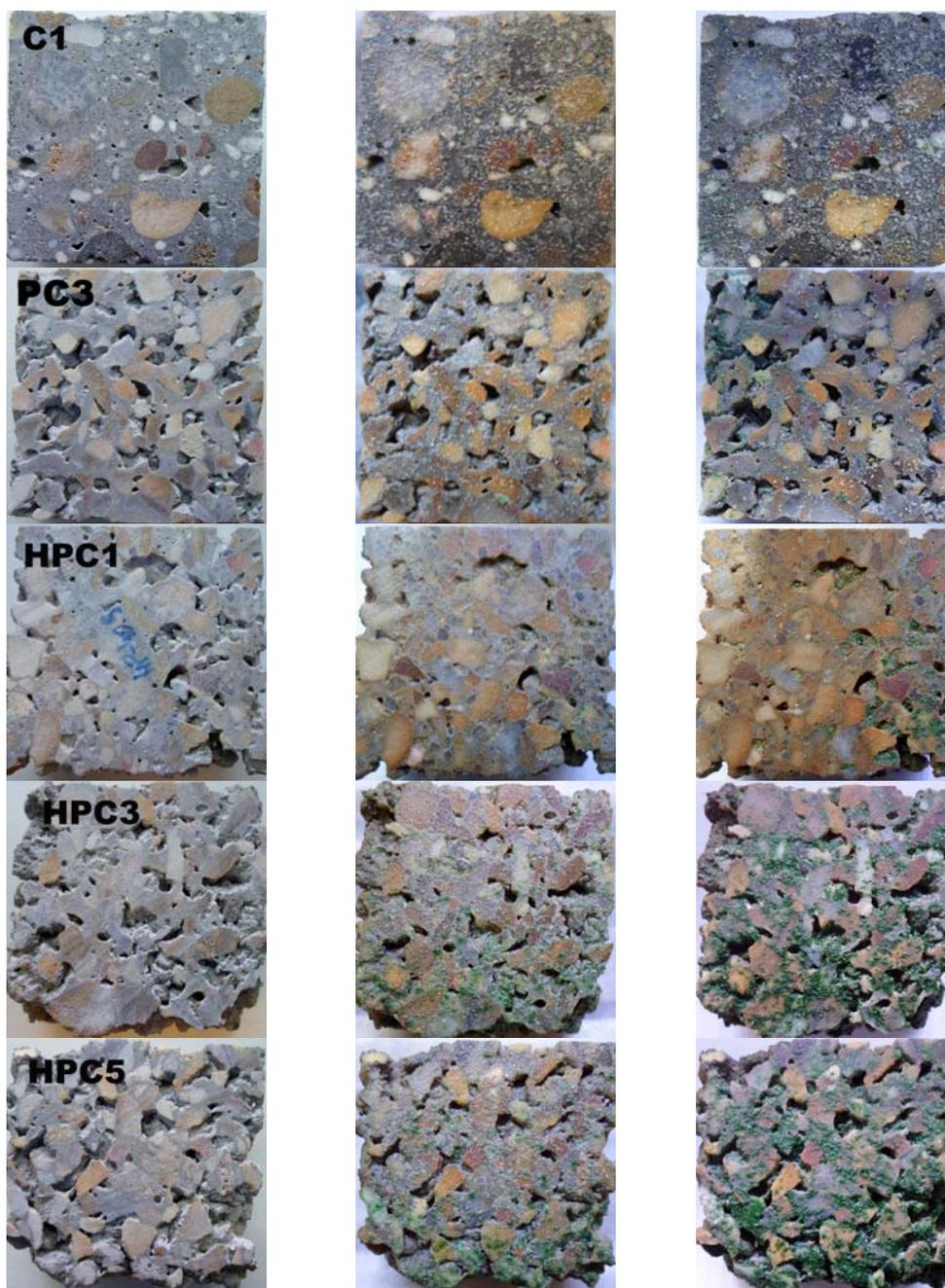


Figura 6.6. Aspecto macroscópico del crecimiento superficial de algas a las 4 semanas y 6 semanas sobre las piezas de hormigón.

Para obtener la superficie cubierta por el alga se utilizó un método no destructivo. Esta cuantificación se realizó mediante un análisis y recuento de áreas ocupadas, a partir de la imagen obtenida de fotografías de alta resolución de la superficie colonizada, utilizando el software ImageJ [18]. Así, en la Figura 6.7 se representa la relación que existe entre el volumen de poros accesible al agua, determinado por picnometría, y el área de hormigón colonizada por algas, comprobándose claramente una relación lineal entre la porosidad del hormigón y el crecimiento de algas cianofíceas.

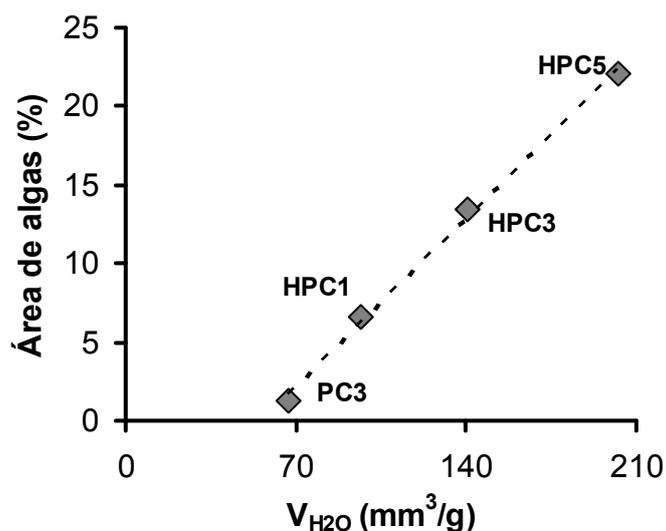


Figura 6.7. Relación entre el área superficial del hormigón cubierta de algas a las seis semanas frente al volumen de poros accesible a agua.

Otra conclusión importante sería la necesidad de un mínimo de porosidad para conseguir una colonización apreciable de las algas en las condiciones experimentales estudiadas.

De igual modo que se procedió con los hormigones anteriores, también se estudió el crecimiento de algas sobre hormigones recubiertos de carbón aunque con resultados menos satisfactorios, ya que, sobre estas muestras también se observó el crecimiento de hongos a partir de la cuarta semana. En la Figura 6.8 se muestran fotografías de los hormigones HPC3C y HPC3F colonizados por algas transcurridas 4 semanas.

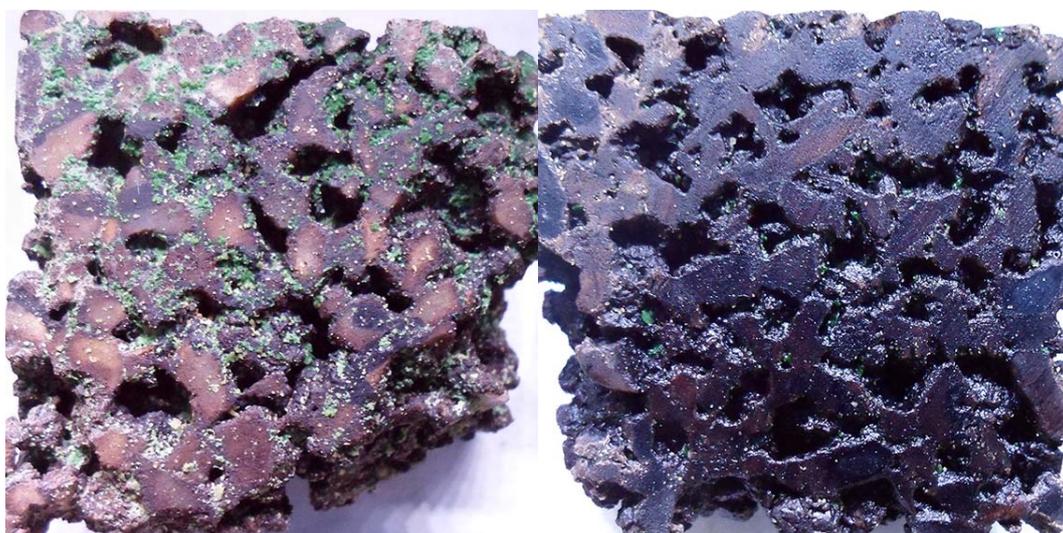


Figura 6.8. Crecimiento de algas sobre HPC3C (izquierda) y HPC3F (derecha).

La Figura 6.9 muestra un detalle de la competencia entre algas y hongos. La aparición de hongos no es inusual, ya que no se realizó el ensayo en condiciones estériles y los hongos son microorganismos que pueden crecer si hay materia orgánica al ser organismos heterótrofos, y por consiguiente, tanto la presencia de algas como el propio recubrimiento de carbón facilitan el desarrollo de este tipo de microorganismos.



Figura 6.9. Competencia algas-hongos en una muestra recubierta de carbón.

6.3. CONCLUSIONES

La determinación de la *clorofila a* resultó ser una técnica adecuada para cuantificar el crecimiento de algas cianofíceas en piezas de hormigón poroso.

El análisis cualitativo realizado por análisis superficial de imágenes mostró una relación directa entre la porosidad de las muestras y el crecimiento de este tipo de algas.

Las piezas recubiertas de carbón también pueden ser colonizadas por algas, aunque en las condiciones experimentales estudiadas también se produjo una colonización simultánea de hongos.

6.4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] W. De Muynck, S. Leuridan, D. Van Loo, K. Verbeken, V. Cnudde, N. De Belie, W. Verstraete. Influence of pore structure on the effectiveness of a biogenic carbonate surface treatment for limestone conservation, 77:6808-6820, (2011).
- [2] W. De Muynck, D. Debrouwer, N. De Belie, W. Verstraete. Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials, 38:1005-1014, (2008).
- [3] S. Manso, W. De Muynck, I. Segura, A. Aguado, K. Steppe, N. Boon, N. De Belie. Bioreceptivity evaluation of cementitious materials designed to stimulate biological growth. Science of The Total Environment, 481:232-241, (2014).
- [4] P.M. Gaylarde, C.C. Gaylarde. Algae and cyanobacteria on painted buildings in Latin America. International Biodeterioration & Biodegradation, 46:93-97, (2000).
- [5] A. Herrero, E. Flores. The cyanobacteria molecular biology, genomics and evolution. Caisler Academic Press. (2008).
- [6] M.L. Peleato-Sánchez. Las Cianobacterias: Cooperación versus Competencia(2011).
- [7] G. Escadeillas, A. Bertron, P. Blanc, A. Dubosc. Accelerated testing of biological stain growth on external concrete walls. Part 1: Development of the growth tests. Materials and Structures/Materiaux Et Constructions, 40:1061-1071, (2007).
- [8] P.M. Gaylarde, C.C. Gaylarde. Algae and cyanobacteria on painted surfaces in Southern Brazil, 30:209-213, (1999).
- [9] R. Sharma, G.P. Singh, V.K. Sharma. Comparison of different media formulations on growth, morphology and Chlorophyll content of green alga, Chlorella vulgaris, 2:509-516, (2011).

- [10] V.I. Shcherbak, Y. Sheliuk. Primary production of phytoplankton and its correlation with biomass, chlorophyll a content and algae species richness in a small river reservoir, 44:3-12, (2008).
- [11] G. Escadeillas, A. Bertron, E. Ringot, P.J. Blanc, A. Dubosc. Accelerated testing of biological stain growth on external concrete walls. Part 2: Quantification of growths. *Materials and Structures/Materiaux Et Constructions*, 42:937-945, (2009).
- [12] A. Dubosc, G. Escadeillas, P.J. Blanc. Characterization of biological stains on external concrete walls and influence of concrete as underlying material. *Cement and Concrete Research*, 31:1613-1617, (2001).
- [13] S.W. Jeffrey, G.F. Humphrey. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 167:191-194, (1975).
- [14] B. Karpanai Selvan, M. Revathi, P. Sobana Piriya, P. Thirumalai Vasan, D. Immanuel Gilwax Prabhu, S. John Vennison. Biodiesel production from marine cyanobacteria cultured in plate and tubular photobioreactors, 51:262-268, (2013).
- [15] S. Nair, B.V. Bhimba. Antimicrobial activity of cyanobacteria isolated from marine water resource, 8:1115-1118, (2014).
- [16] K.H. Coale, K.S. Johnson, S.E. Fitzwater, R.M. Gordon, S. Tanner, F.P. Chavez, L. Ferioli, C. Sakamoto, P. Rogers, F. Millero, P. Steinberg, P. Nightingale, D. Cooper, W.P. Cochlan, M.R. Landry, J. Constantinou, G. Rollwagen, A. Trasvina, R. Kudela. A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in the equatorial Pacific Ocean, 383:495-(1996).
- [17] O. Guillitte, R. Dreesen. Laboratory chamber studies and petrographical analysis as bioreceptivity assessment tools of building materials. *Science of The Total Environment*, 167:365-374, (1995).
- [18] N. Neithalath, M.S. Sumanasooriya, O. Deo. Characterizing pore volume, sizes, and connectivity in pervious concretes for permeability prediction. *Materials Characterization*, 61:802-813, (2010).

ANEXO I: COMUNICACIONES A CONGRESOS Y PUBLICACIONES

Los resultados de esta Tesis Doctoral han sido presentados en los siguientes congresos tanto nacionales como internacionales.

- XXXIX Reunión Ibérica de Adsorción. Baeza, 2014.
- 10th International Symposium on the Characterization of Porous Solids. Granada, 2014.
- XII Reunión del Grupo Español del Carbón. Madrid, 2013.
- XXXIV Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química. Santander, 2013.

Además, parte de los resultados de esta Tesis se han publicado en las siguientes revistas de difusión internacional.

- Mesoporous carbon-xerogels films obtained by microwave assisted carbonization. *Materials Letters*, 2015
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.11.052>.
- Bacteria supported on carbon films for water denitrification. *Chemical Engineering Journal*, 259 (2015), 424-429.

Author's Accepted Manuscript

Mesoporous carbon-xerogels films obtained by microwave assisted carbonization

David Espinosa-Iglesias, Carmen Valverde-Sarmiento, Agustín F. Pérez-Cadenas, M^a Isidora Bautista-Toledo, Francisco J. Maldonado-Hódar, Francisco Carrasco-Marín



www.elsevier.com/locate/matlet

PII: S0167-577X(14)02040-0
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.11.052>
Reference: MBLBLUE18038

To appear in: *Materials Letters*

Received date: 1 June 2014
Accepted date: 15 November 2014

Cite this article as: David Espinosa-Iglesias, Carmen Valverde-Sarmiento, Agustín F. Pérez-Cadenas, M^a Isidora Bautista-Toledo, Francisco J. Maldonado-Hódar, Francisco Carrasco-Marín, Mesoporous carbon-xerogels films obtained by microwave assisted carbonization, *Materials Letters*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2014.11.052>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting galley proof before it is published in its final citable form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.



Bacteria supported on carbon films for water denitrification



Carmen Valverde-Sarmiento^a, David Espinosa-Iglesias^a, M^a. Isidora Bautista-Toledo^a, Miguel A. Álvarez-Merino^b, Francisco J. Maldonado-Hódar^a, Francisco Carrasco-Marín^a, Agustín F. Pérez-Cadenas^{a,*}

^a Carbon Materials Research Group, Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Campus Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain

^b Department of Inorganic and Organic Chemistry, Faculty of Experimental Sciences, University of Jaén, 23071 Jaén, Spain

HIGHLIGHTS

- Mesoporous carbon-xerogels films have been obtained.
- The mesoporosity is independent of the reached carbonization degree using microwaves.
- Carbon xerogel films are very interesting materials as supports of bacteria *E. coli* to remove nitrates from water solution.
- Low carbonization degree and/or more acid PZC favor the Gram negative bacteria growth on carbon films.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 April 2014

Received in revised form 11 August 2014

Accepted 13 August 2014

Available online 20 August 2014

Keywords:

Carbon film
Carbon xerogel
Microwaves
Mesoporosity
Bacteria supported
Nitrate removing

ABSTRACT

This work shows the behavior of new carbon xerogel films as bacteria supports to remove nitrates from water solution. The preparation method of carbon-xerogel films with well developed mesoporosity obtained by microwave assisted carbonization, as well as the particular effects that the microwaves produce during the carbonization process on the final chemical characteristic of these materials, have been described. Bacteria *Escherichia coli* were supported on the films working well in the denitrification process of water solutions. Low carbonization degree and/or more acid pH of point of zero charge favor the Gram negative bacteria growth on these types of films.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Different types of carbon films have been used as a coating of structural materials [1]. On the other hand, the preparation of ceramic structures coated with well adhered carbon-xerogel films has also been studied [2]. Thus, the development of new types of carbon xerogels for different applications has grown considerably during the last years [3–8].

Actually, the development of carbon-based coatings to be applied on different structural materials as concretes [9], honeycomb monoliths [2] or foams [10], is reaching high interest due to their potential environmental applications: biological treatments, adsorption, or catalysis. Carbon-xerogels are very good can-

didates for this type of coatings and they are typically microporous materials with low mesopore volumes [11], being the presence of mesopores specially poor when carbon xerogels are formed in film shape [2,4]. Recently, several works in which microwave radiation is used during the synthesis process of resorcinol-formaldehyde organic gels have been published [11–13], and they show that this type of treatments make possible to obtain carbon xerogels in short periods of time, being this aspect very interesting from an economical point of view. On the other hand, the use of microwave radiation as a heating source for pyrolysis has already been shown as a very rapid method when microwave receptors are present in contact with the sample [14], nevertheless as far as we know, the microwave carbonization of resorcinol-formaldehyde organic gels has not been described yet, which can be due to the fact that these organic polymers hardly absorb the microwaves produced by standard ovens which normally operate at a frequency of 2.45 GHz [15].

* Corresponding author. Tel.: +34 958243316; fax: +34 958248526.

E-mail address: afperez@ugr.es (A.F. Pérez-Cadenas).

RESUMEN

El objetivo principal de la Presente Tesis Doctoral ha sido estudiar la capacidad de desnitrificación de bacterias *E. coli* soportadas sobre hormigones altamente porosos recubiertos de carbón.

Para alcanzar este objetivo, se han desarrollado nuevas películas de xerogel de carbón, y además, hormigones porosos desarrollados y suministrados por Cementos Portland Valderrivas, con diferentes grados de porosidad y permeabilidad, se han recubierto con una fina capa o película de xerogel de carbón, y también con una fina capa de carbonizado obtenido a partir de alcohol polifurfurílico. La preparación de estos hormigones recubiertos ha necesitado del desarrollo de un novedoso y original método de carbonización asistido por microondas, apto para ser usado sobre hormigones sin perjuicio de sus propiedades mecánicas. Los resultados obtenidos por la *E. coli* soportada en la desnitrificación de aguas, se han relacionado con las características físico-químicas del hormigón y del carbón. Previamente al proceso de desnitrificación, los materiales fueron exhaustivamente caracterizados, determinándose todos los parámetros necesarios para este tipo de estudios: propiedades mecánicas, características físicas y morfológicas, porosidad, permeabilidad, composición y propiedades químicas, etc.

En cuanto a las películas de xerogel de carbón desarrolladas en este trabajo, hay que mencionar que se han obtenido con una mesoporosidad bastante significativa, lo cual, también es muy novedoso desde el punto de vista del desarrollo de nuevos

materiales de carbón en forma de película o láminas, no habiéndose encontrado materiales de este tipo descritos en la bibliografía consultada.

El método de carbonización asistida por microondas, especialmente ideado para este estudio, ha permitido obtener películas de carbón mesoporosas a tiempos muy cortos, y con tan solo un 13 % de pérdida de peso durante la carbonización. Además, este tratamiento no ha afectado significativamente a la resistencia a compresión de los hormigones recubiertos de carbón obtenidos, lo cual abre un importante abanico de aplicaciones potenciales en la preparación de materiales cerámicos recubiertos.

Los métodos desarrollados para el recubrimiento de carbón de los hormigones porosos han sido muy satisfactorios, ya que las películas de carbón han quedado bien adheridas, y sobre todo porque no se ha producido un bloqueo excesivo de la porosidad, por ejemplo, en cuanto al volumen de poros accesible al agua la máxima disminución obtenida tras los recubrimientos fue un 17%. En cuanto al tipo de recubrimiento, el carbonizado obtenido a partir del empleo de alcohol polifurfurílico (serie HPCF) fue más efectivo, aunque ambos recubrimientos de carbón evitan significativamente la lixiviación de metales de los hormigones cuando están en contacto con el agua.

Además, también se ha realizado un estudio utilizando diferentes fuentes de carbono, diferentes temperaturas del proceso, así como el efecto de la presencia de los metales Cr(VI) y Zn(II) sobre la capacidad de desnitrificación de las bacterias *E. coli* soportadas. En este sentido, el empleo de etanol en exceso como fuente de

carbono, y la temperatura de 25 °C, han sido las condiciones experimentales más adecuadas. La presencia de estos metales disminuye la capacidad de desnitrificación de la *E. coli* soportada.

Tanto las películas de xerogel de carbón, como los hormigones porosos originales y recubiertos se comportan como buenos soportes para la *E. coli* en la desnitrificación del agua. Los hormigones altamente porosos recubiertos de carbón mostraron una mayor capacidad de eliminación, de nitratos y nitritos, que sus correspondientes hormigones no recubiertos, a pesar de que contienen menores volúmenes de poros accesibles al agua. Los hormigones de la serie HPCF mostraron también una mayor capacidad de eliminación, de nitratos y nitritos, que sus homólogos recubiertos de xerogel de carbón (serie HPCC), a pesar de que contienen también menores volúmenes de poros accesibles al agua. Este hecho se debe probablemente a la disminución de la toxicidad que presentan sus lixiviados, siendo la bio-compatibilidad el factor más influyente sobre la capacidad de eliminación de nitratos de la *E. coli* soportada, siempre y cuando los hormigones comparados tengan un elevado volumen de macroporos accesibles al agua. En cualquier caso la *E. coli* se fija y reproduce mejor sobre los materiales de carbón que directamente sobre el hormigón.

Los hormigones porosos también pueden ser colonizados por algas, habiéndose observado una relación directa entre la porosidad del material y el crecimiento de este tipo de algas.

