

# “ESTUDIO DE LÍQUENES Y OTROS ORGANISMOS CAUSANTES DEL DETERIORO BIOLÓGICO EN PROBETAS DE MORTERO”

Becaria: Sabrina Belén Prunell<sup>(1)</sup>

Directora: Dra. Vilma G. Rosato<sup>(2)</sup>

Proyecto de I+D+i de pertenencia: “Relevamiento y estudio de líquenes y otros organismos causantes de deterioro biológico en obras viales”

Código UTN: UTI-1283 Código de Incentivos 25/1044

---

## 1. Resumen

Los hongos y líquenes son capaces de desarrollarse sobre morteros y otros materiales de cemento. En experiencias anteriores se observó que los distintos aditivos (filler calcáreo, puzzolana y escorias de alto horno) influyen sobre el crecimiento del moho *Aspergillus niger*, notándose que el factor de mayor relevancia es la microporosidad antes que la porosidad total o la concentración de Ca. Se busca corroborar dicha hipótesis preparando morteros de cemento con escorias de alto horno, pero empleando un curado breve de 7 días para comparar si las diferencias en la porosidad a edad temprana influye en el desarrollo de *A. niger*, empleando microscopía electrónica de barrido, espectrometría de dispersión de electrones y porosimetría por intrusión de Hg.

## 2. Abstract

Fungi and lichens are able to develop on mortars and other cement materials. In previous experiences it was observed that the different additions (calcareous filler, puzzolan and slash) have an influence on the growth of the mould *Aspergillus niger*, and the most relevant factor is microporosity rather than total porosity or Ca concentration. The aim is to test this hypothesis by preparing cement mortars with slash, but with a short 7 days curing to compare if the differences in porosity at young age influence the development of *A. niger*, using scanning electron microscopy, electron dispersive spectrometry and Hg intrusive porosimetry.

## 3. Fundamentos

Los líquenes y hongos se desarrollan sobre los materiales de cemento, causando daños sobre todo estéticos, pero también químicos y mecánicos (Pinna, Nugari y Salvadori). También es necesario recordar que los mohos pueden causar alergias y enfermedades respiratorias en quienes utilizan las viviendas o espacios afectados. Por eso es importante analizar qué factores son los que favorecen o inhiben su desarrollo. Con esta finalidad, se adaptó el método de ensayo acelerado de Wiktor et al. (2009) y se realizaron diversas pruebas preparando morteros con filler calcáreo, puzzolana y escorias de alto horno, que luego de ser inoculados con el moho se incubaron y se estudiaron bajo MO (microscopio óptico), MEBA (Microscopía Electrónica de Barrido Ambiental) y porosimetría por intrusión de mercurio. Se observó que el desarrollo del moho *A. niger* está más relacionado a la microporosidad y a la cantidad de poros mayores de 1µm existentes antes que a la porosidad total o la concentración de Ca (Rosato, Sota y Prunell, 2012) Para verificar esto, se preparó un nuevo experimento: se

(1) Becaria de investigación del Centro LEMaC Depto de Ingeniería Civil

(2) Directora de Beca. Directora del proyecto asociado

prepararon probetas con escorias de alto horno, se siguió el procedimiento descrito y se realizaron los ensayos mencionados, pero realizando un curado breve de 7 días en vez de 28. Se desea ver si el diferente desarrollo de la porosidad a corta edad influye en el crecimiento de *A. niger*.

#### **4. Desarrollo experimental**

##### **Aislamiento de la cepa**

Se empleó una cepa de *Aspergillus niger* previamente aislada del muro del convento de San Francisco de La Plata.

##### **Preparación de los cultivos**

Se cultivó la cepa de *Aspergillus niger* en medio de agar- extracto de malta (AEM), preparado de la siguiente forma: 1000 ml de agua destilada, 20 g de agar en polvo, 30 g de maltosa y 5 g de peptona de carne.

##### **Preparación de los bloques de material**

Se confeccionaron probetas de mortero de 1x 6,5 x 2,5 cm en moldes de acrílico de 11 x 12 cm. En total se utilizaron 7 moldes, tres probetas por molde. Las mezclas se realizaron con 3 concentraciones diferentes de filler, puzolana y escorias, considerando también una mezcla patrón de cemento normal (Tabla 1). Los bloques se curaron en cámara húmeda durante 7 y 28 días y luego se dejaron una semana en cámara de carbonatación.

Para la preparación de las mezclas se utilizaron los siguientes componentes:

**Cemento Portland:** Es un cemento hidráulico que se obtiene de calcinar una mezcla de arcillas y piedra caliza en un horno, para pulverizar posteriormente la mezcla obtenida.

**Arena fina silícea:** Es el material que resulta de la desintegración natural de las rocas, es la que sus granos pasan por el tamiz de mallas 1mm de diámetro y son retenidos por otro de 0.25 mm.

**Escoria de alto horno:** Material silico- calcáreo que se obtiene en las cubas de fundición de aceros y que posee propiedades hidráulicas, frente al hidróxido de calcio.

##### **Inoculación e incubación de los bloques**

Previo a la inoculación, se esterilizaron los bloques y vermiculita mediante el proceso de tindalizado: los materiales se dejan una hora en la autoclave con la espita abierta. Este proceso se repite durante 3 días. Así se asegura la eliminación de todos los microorganismos sin someter al material a la presión.

**Tabla 1:** Dosificaciones

Mezcla	Agua	Cemento	Arena	a/mc	Escoria
8	21	28,00	105	0,60	20%
9	21	24,50	105	0,60	30%
10	21	17,50	105	0,60	50%

Este material se dispuso en frascos de plástico estériles de 500 ml de capacidad: primero se colocó la vermiculita en la base y se regó con 30 ml de agua destilada estéril. Luego se cubrió la base de vermiculita con un filtro estéril de 10 cm de diámetro y se ubicaron los bloques (dos por cada frasco).

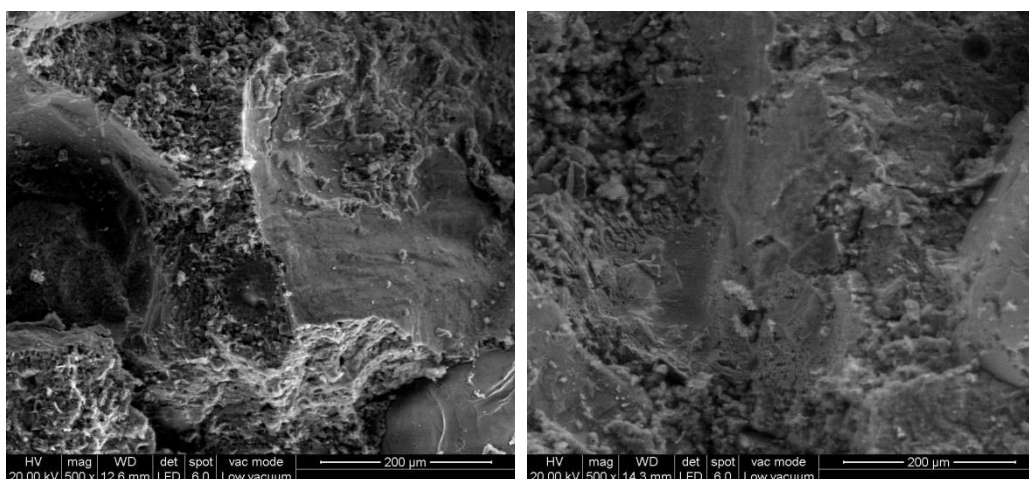
Los cultivos de *A. niger* se inundaron con agua destilada estéril y se raspó la superficie con un ansa estéril para obtener una suspensión de esporas, que se roció sobre la superficie de los bloques.

Una vez preparados los cultivos, se incubaron durante 4 meses en la estufa de cultivos a 35° C. Luego se observaron bajo microscopio estereoscópico (ME) y microscopio electrónico de barrido ambiental (MEBA). Además, se estudiaron los materiales mediante microanálisis de espectrometría de dispersión de electrones (EDE) y porosimetría por intrusión de mercurio.

## 5. Análisis de Resultados

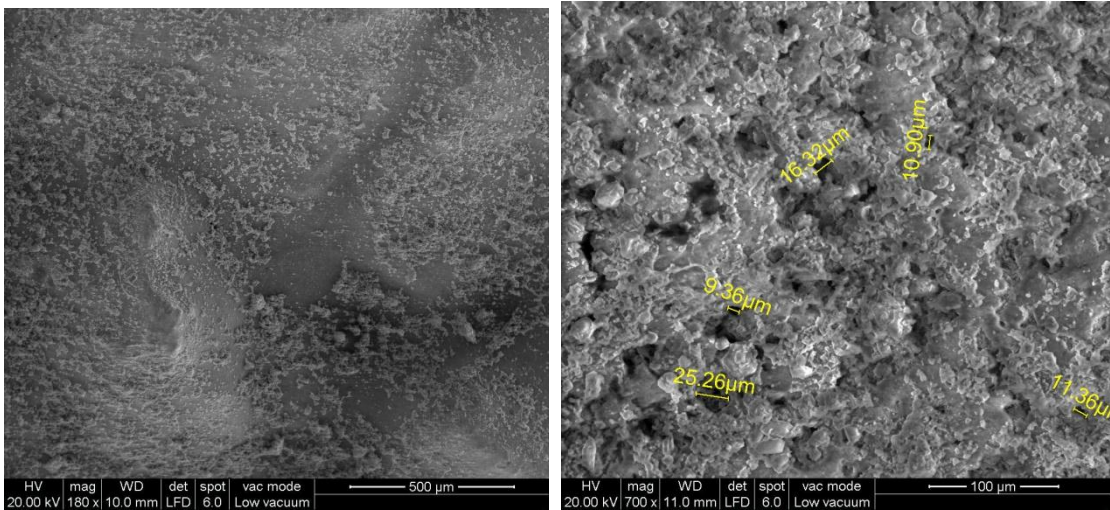
Crecimiento del moho: tanto en las muestras curadas durante 7 o 28 días, no se observó crecimiento.

Observaciones bajo ESEM: En las muestras con 20% y 50% de escoria curados durante 28 días, al medir los poros de las imágenes (Figura 1 y figura 2), el promedio de diámetro de los mismos es de 6,5  $\mu\text{m}$  y 4,7  $\mu\text{m}$ , respectivamente.



**Figura 1:** mortero con 20% escoria, curado 28 días observado bajo ESEM. **Figura 2:** mortero con 30% escoria, curado 28 días observado bajo ESEM

Al realizar las mismas mediciones en las imágenes de los morteros con escoria, curados durante sólo 7 días fueron de 6,18 y 6.08  $\mu\text{m}$  (Figuras 3 y 4). Esto señala que ambas mezclas tienen tamaños de poros bastante semejantes, excepto el mortero con 30% de escoria y 28 días de curado, que, como es de esperarse, tiene poros menores



**Figura 3:** mortero con 20% escoria, curado 7 días observado bajo ESEM. **Figura 4:** mortero con 30% escoria, curado 7 días observado bajo ESEM

Porosimetría por intrusión de mercurio: se presentan los resultados en la tabla 2, presentando el porcentaje de volumen que representan los poros comprendidos entre los intervalos indicados. . Se observa que el porcentaje del volumen de poros representados por los poros mayores de 10  $\text{\AA}$  ( $1 \mu\text{m}$ ) es mucho menor en los morteros con escoria. No se incluyen datos de los morteros curados a 7 días, porque el ensayo no pudo hacerse por desperfecto del aparato

**Tabla 2:** Distribución del tamaño de poros.

Muestra % del volumen total de poros para el rango de tamaño de poros (en $\text{\AA}$ )	Cemento normal	Cemento con 20% de escorias (curado 28 días)	Cemento 30% escorias (curado 28 días)
<10	23	1.61	5.43
10-100	43,5	35.26	39.39
100-100	25,9	43.42	21.69
1000-10000	5,4	19.4	33.13
10000-100000	2,2	0.31	0.35
Volumen total de los poros ( $\text{mm}^3$ )	92.2	76	70.81

## Microanálisis EDE

Los elementos que se detectan en los morteros se presentan en la tabla 3. La presencia de S y Fe en los morteros con escoria se debe justamente al tipo de agregado.

Muestra	Cemento normal	Cemento con 20% de escorias (curado 28 días)	Cemento 30% escorias (curado 28 días)	Cemento 20% escorias (curado 7 días)	Cemento 30% escorias (curado 7 días)
C	11.82	2.75	4.565	8.015	8.145
O	48.03	48.03	47.06	47.1	39.805
Mg	0.31	0.895	1.375	0.745	1.75
Al	-	1.875	3.71	1.08	2.195
Si	15.0	15.785	22.225	9.125	6.595
P		0.08	-	-	-
S		0.54	0.62	-	.825
K	-	-	-	0.72	.465
Ca	38.05	28.75	19.86	38.71	39.615
Fe	-	1.275	0.583	0.485	0.605

Tabla 3 Microanálisis EDE

### 5. Conclusiones

A diferencia de lo observado anteriormente con otros morteros con adiciones de filler calcáreo y puzolana, no se observa desarrollo del moho *A. niger*. Esto se atribuye a la baja proporción de poros mayores a  $\mu\text{m}$  observada en estas mezclas, Esto resulta desfavorable para el hongo, porque las hifas (filamentos) son mayores a  $1 \mu\text{m}$  y, en consecuencia, no tendrían espacio para crecer y penetrar el material. Queda confirmar si esto es así en las mezclas curadas durante 7 días, ya que no se pudo verificar con la porosimetría por intrusión de Hg, La medición de los poros a partir de las imágenes de ESEM utilizando las escalas, parecen indicar que los poros son de similares tamaños.

### 6. Bibliografía

- Caneva G., Nugari M.P. y Salvadori O.(2003). *La Biología nel restauro*. Nardini Editori, Firenze (Cuarta Ed.)
- Prunell, S., Rosato, V. G., Sota, J. D. (2011). "Deterioro biológico acelerado por acción del hongo *Aspergillus niger* en matrices de cemento Portland con adiciones." 2do Congreso Iberoamericano y X Jornada "Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio", La Plata, 13 al 15 de setiembre (2011) (en CD)
- Wiktor V., De Leo F., Urzı C., Guyonnet R., Grosseau Ph., García-Díaz E. (2009). "Accelerated test to study fungal biodeterioration of cementitious matrix." *International Biodeterioration and Biodegradation* 63 : 1061-1065