

Contenido

I. Intereses y objetivos.....	2
I.I El suelo no saturado. Generalidades.....	2
I.I.1 Fases componentes de un suelo no saturado.....	2
I.I.2 Estructura de los suelos.....	3
I.I.3 Succión en suelos no saturados.....	3
I.II Comportamiento deformacional de los suelos no saturados.....	4
I.II.1 Fenómeno de Colapso.....	4
I.II.2 Fenómeno de hinchamiento.....	7
I.III Teoría de la consolidación.....	7
I.IV Precipitación microbiana del carbonato.....	10
I.V Biotecnología.....	11
I.VI Estabilización de suelos con microorganismos.....	12
I.VII La lluvia acida.....	13
I.IIX Objetivos.....	16
II. Estado del arte.....	17
II.I Biodeposición.....	18
II.II Biocementación.....	19
II.II.1 Mortero Biológico.....	19
II.II.2 Reparación de las grietas en el hormigón.....	20
II.II.3 Hormigón bacteriano.....	22
II.II.4 Auto-sanación de hormigón.....	23
III. Material y métodos.....	25
III.I Aplicación de microorganismos y preparación de las muestras.....	25
III.II Ensayos químicos y mineralógicos.....	25
III.III Ensayos de identificación.....	26
III.IV Ensayos Edométricos.....	27
IV. Resultados y discusión.....	32
IV.I Ensayos químicos.....	32
IV.II Resultados químicos y mineralógicos del suelo B-5.....	33
IV.III Resultados de microscopia de barrido de los suelos B-5 y BT-5.....	36
IV.IV Ensayos de identificación.....	39
IV.V Ensayos mecánicos.....	42
V. Conclusiones.....	45
VI. Bibliografía.....	47

I. Intereses y objetivos.

I.I El suelo no saturado. Generalidades

La Mecánica del Suelo tradicional se ha ocupado principalmente de los suelos saturados. Ello se debe a que, en general, la rigidez y resistencia de los suelos parcialmente saturados son mayores, por lo que es más conservador suponer que, en cualquier caso, los suelos pueden estar saturados (en la mayoría de los casos, es posible que se llegue a esta situación). Por otra parte, el estudio de los suelos saturados es mucho más sencillo. (Alfaro, 2008)

Los fenómenos más característicos del comportamiento del suelo no saturado se relacionan con sus deformaciones volumétricas al modificar el grado de saturación. Estas deformaciones pueden ser tanto positivas, en cuyo caso se produce un **colapso**, como negativas, en cuyo caso se produce un hinchamiento. Según Aitchison (1973), tanto el colapso como el hinchamiento pueden ser considerados como procesos de inestabilidad estructural, debido a que inducen discontinuidades en el comportamiento deformacional del suelo al variar las condiciones ambientales (ejemplo cambios de humedad), sin modificación del estado tensional exterior.

- Respecto a los suelos identificados con estructura potencialmente colapsable, los más extendidos son los de origen eólico (loes y arena eólica) se han observado colapsos en suelos aluviales, coluviales, residuales o en rellenos compactados (Dudley, 1970). La sensibilidad al colapso es graduada según el tipo de depósito, de tal forma que los suelos de origen eólico son, en general más propensos al colapso que los aluviales.

- En cuanto a los suelos potencialmente expansivos, hay que relacionar su origen a la presencia de partículas arcillosas que puedan provocar esta expansión.

I.I.1 Fases componentes de un suelo no saturado

El suelo parcialmente saturado es un sistema trifásico compuesto por sólidos, líquidos y gases. El conocimiento de las interacciones existentes entre las tres fases del sistema constituye el punto básico para el entendimiento del comportamiento del suelo no saturado. La *Fase sólida* está integrada básicamente por partículas sólidas de distintos tamaños. Las propiedades más importantes de dichas partículas son: tamaño (fracción gruesa y fracción fina), forma, textura, composición química (cargas eléctricas y capacidad de intercambio catiónico)

Las partículas se disponen formando estructuras espaciales. Esta es determinante en la respuesta del suelo especialmente en los no saturados, ya que influyen en el estado de tensiones que se desarrolla en los contactos entre partículas, el aire, el agua y controla la componente capilar de la succión (Barrera, 2002).

Fase líquida: La fase líquida se compone fundamentalmente del agua y de las sales disueltas en ella. De una forma clásica esta fase ha sido clasificada en tres tipos: 1) Agua adsorbida en la partícula o haciendo parte de la capa doble difusa, que no puede ser separada por acciones hidrodinámicas. 2) Agua capilar, que permanece en el suelo por acción de las fuerzas capilares y pueden moverse por la acción de éstas. Y por ultimo 3) Agua gravitacional, es aquélla que puede perder el suelo en condiciones de drenaje libre por gravedad.

Fase gaseosa: formada básicamente por aire y vapor de agua. Sobre este punto Barrera (2002) afirma que la forma en que se encuentra el aire en el suelo, está relacionada con la humedad o el grado de saturación del mismo.

I.I.2 Estructura de los suelos

La estructura interna que presentan los suelos es un aspecto de gran importancia en el comportamiento mecánico de éstos. Así, por ejemplo bajo las mismas condiciones de carga, para un suelo con una estructura abierta se produce un colapso durante el mojado del suelo, sin embargo, para el mismo suelo y en condiciones de carga, pero con una estructura más compacta se puede producir un hinchamiento al mojarlo. (Barrera, 2002)

La estructura de un suelo no saturado depende del proceso por el cual el suelo ha llegado a ser no saturado (por ejemplo secado de un suelo natural o compactación de rellenos). Además tiene una influencia considerable en el comportamiento de ese suelo. (Barrera, 2002)

I.I.3 Succión en suelos no saturados

El término “succión del suelo” fue usado por Schofield, (1935) para representar la “deficiencia de presión” en el agua de poros de algunos suelos (saturados o no saturados) que tenían la capacidad de absorber agua si se le adicionaba agua a la presión atmosférica. El término succión o potencial de agua designa a la integrante del estado de tensiones que tiene en cuenta aquellos efectos de superficie capaces de retener agua dentro de la estructura de un suelo. El flujo de agua a través de los suelos no saturados se controla por el gradiente del potencial de agua total. El potencial de agua total puede expresarse como la suma de tres componentes: 1) *Potencial gravitacional*, causado por la elevación del agua del suelo con respecto a un nivel de referencia, 2) *Capilar o potencial matricial*, causado por efectos de tensión de superficie y por ultimo 3) *Potencial osmótico*, causado por la concentración de iones disueltos en el agua del suelo. (Barrera, 2002)

I.II Comportamiento deformacional de los suelos no saturados

I.II.1 Fenómeno de Colapso

La finalidad de la determinación del potencial del colapso es determinar o evaluar la susceptibilidad al colapso de una muestra de suelo, la que podrá sufrir un asentamiento adicional originado por la inundación de la muestra.

El colapso es uno de los fenómenos más característicos de los suelos parcialmente saturados. Cuando este fenómeno ocurre la estructura ubicada sobre dicho suelo puede sufrir daños irreversibles. Se pueden producir asientos sobre el terreno que se reflejan sobre infraestructuras superficiales (líneas férreas, autovías) causando daños importantes (Figura 1).



Figura 1.- Deformación en vías a consecuencia de un colapso de suelo. Línea férrea Madrid-Barcelona. (Serrano, 1998)

En los suelos parcialmente saturados con una estructura abierta, al aumentar el grado de saturación debido a cambios ambientales o de otro tipo, pueden producir reducciones volumétricas irreversibles sin que varíen las sollicitaciones externas del suelo; es decir, sin aumento de la carga aplicada; este fenómeno se conoce con el nombre de colapso. (Barrera, 2002)

El colapso es uno de los fenómenos más característicos de los suelos parcialmente saturados y ha sido estudiado por numerosos autores, entre los que se pueden citar Dudley (1970), Jiménez Salas *et al.*, (1973), Maswoswe (1985), entre otros, que exponen las características que debe tener un suelo para que en él ocurra un colapso:

- 1) Estructura abierta, no saturada, tipo panal de abeja, capaz de reducir significativamente su volumen a expensas de una disminución del volumen de poros.
- 2) Un estado exterior de carga suficientemente grande como para generar una condición metaestable para la succión aplicada.
- 3) La existencia de enlaces entre partículas, que se debiliten en presencia del agua.

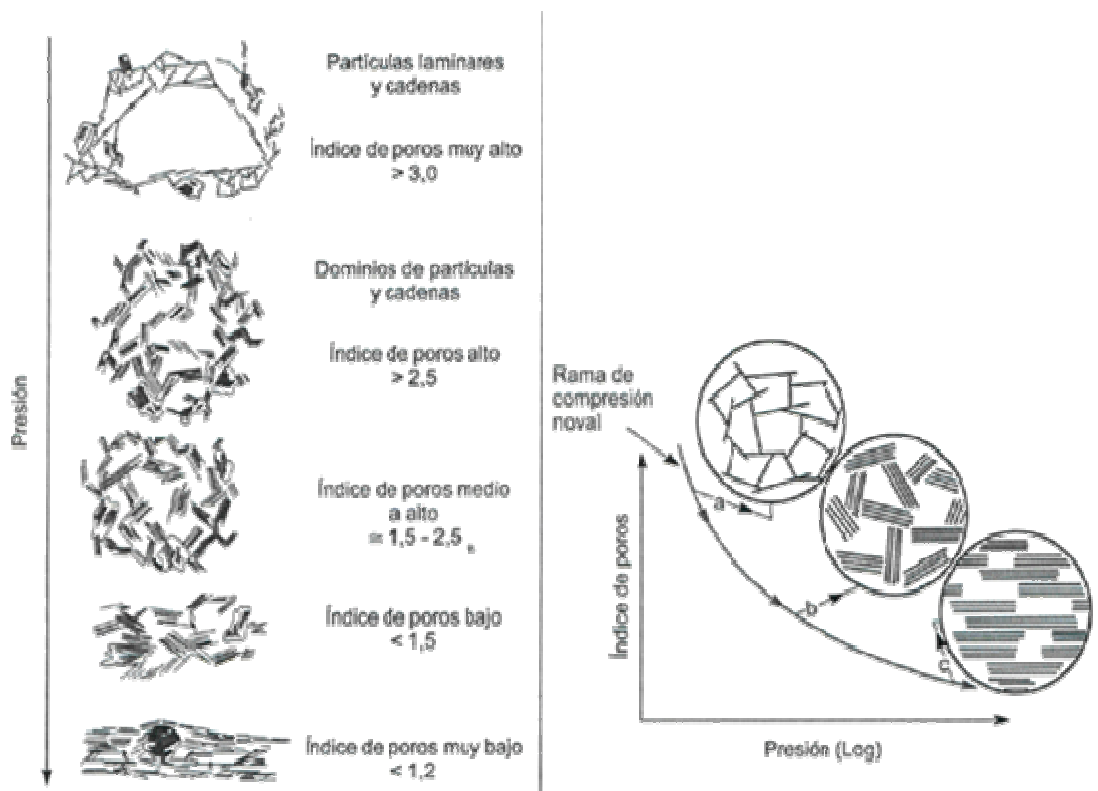


Figura 2.- Reordenamiento de partículas y del índice de poros en función de la presión de consolidación (Benett y Hulbert, 1986)

En este sentido Jiménez Salas y Justo (1975) encontraron que algunos materiales arcillosos de baja y mediana plasticidad presentan un comportamiento combinado de hinchamiento y colapso cuando se los satura. El cambio neto de volumen que experimenta un suelo arcilloso cuando se pone en contacto con el agua es la suma de dos términos, por un lado el hinchamiento que se produce al relajar las tensiones netas entre partículas y por otro el colapso que ocurre al fallar las uniones entre grandes partículas. La deformación que se atribuye al hinchamiento puede ser elástica no así la que corresponde al colapso. Esta última implica un reordenamiento de la estructura y es irreversible.

Un mismo suelo puede sufrir hinchamientos o colapso, o ningún cambio de volumen de acuerdo con la densidad seca, la humedad, y la presión aplicada en el momento en el que se lo inunda, como señalan Jennings y Kenight (1975).

❖ Mecanismo de colapso:

Un suelo que tiene tendencia a colapsar, en general es estable mientras el grado de saturación es inferior a un cierto límite, a partir del cual la llegada del agua puede debilitar suficientemente los enlaces existentes como para que se produzcan deslizamientos tangenciales en los contactos entre partículas. Los enlaces entre las partículas del suelo pueden ser de varios tipos: 1) Enlace capilar: Este se presenta fundamentalmente en el caso de limos y arenas. Los meniscos que se forman en la interfase (aire-agua-partículas sólidas), generan fuerzas normales que aumentan las tensiones entre dichas partículas, rigidizando el conjunto. En el caso de las arcillas este fenómeno no es tan claro a nivel de partículas aunque es probable que ocurra a nivel de agrupaciones más grandes de las mismas. En cualquier caso si el grado de saturación crece por aumento de la humedad o por reducción del índice de vacíos, estos enlaces desaparecen con lo que el conjunto se debilita pudiendo llegar al colapso si la presión exterior aplicada es suficientemente grande. 2) Enlaces con puentes: Enlace con puentes de partículas arcillosas que unen entre sí partículas mayores de limo, arena o arcilla. Las partículas de arcilla que forman los puentes pueden ser de origen diferente, pueden haber sido transportadas por el agua, o estar allí desde la formación del suelo, o ser autogénicas por acción del agua intersticial sobre los feldespatos existentes. Estos puentes de arcillas pueden desaparecer o cambiar su estructura con la llegada del agua. 3) Enlaces por cementación: Estos son formados por el arrastre de sales, generalmente calcáreas, que precipitan en los huecos que dejan las partículas de arena. Si posteriormente estos suelos son sometidos a un lavado permanente, las sales pueden disolverse desapareciendo los enlaces y causando así una reordenación de la estructura. (Barrera, 2002)

En todos los enlaces descritos la llegada del agua causa el mismo efecto: reducción de la resistencia al corte en los contactos entre partículas sólidas. Si esta resistencia cae por debajo del esfuerzo impuesto por las cargas exteriores aplicadas se produce el colapso que conduce a una nueva estructura capaz de resistir el nuevo estado de tensiones. Una vez que ha ocurrido el colapso la nueva estructura del suelo es estable y es incapaz de sufrir nuevos colapso a menos que cambie el estado tensional existente y/o el grado de saturación. Los ensayos de Booth (1975), Yudhbir (1982) y Maswoswe (1985) muestran que el colapso alcanza un máximo a partir del cual disminuye. El tipo de suelo y la estructura del suelo condicionan la magnitud del máximo de colapso y la presión para la que se produce. (Barrera, 2002)

I.II.2 Fenómeno de hinchamiento

Existe otro tipo de comportamiento en el suelo, y es el fenómeno de hinchamiento:

Determinados suelos (expansivos) sufren fenómenos de hinchamiento de magnitud considerable al aumentar su humedad. El proceso de hinchamiento se produce cuando un suelo no saturado se humedece adsorbiendo agua entre sus partículas y aumentando de volumen. Este aumento de volumen tiene una componente debida a la relajación de las tensiones intergranulares al aumentar el grado de saturación. Los suelos no saturados que contienen minerales arcillosos como la illita, la caolinita y la montmorillonita tienen tendencia a hinchar cuando se ponen en contacto con el agua. Lambe y Whitman (1959) se han referido exhaustivamente a estos minerales y consideran que el potencial de hinchamiento de los minerales arcillosos expansivos depende de los siguientes factores: estructura de los cristales; estructura del grupo de cristales y la capacidad de intercambio catiónico.

Delgado (1986) clasifica en tres los mecanismos microestructurales fundamentales que producen el hinchamiento: 1) *Hidratación de las partículas de arcilla*: Las partículas de arcilla, con cargas negativas, se rodean de moléculas de agua que a su vez atraen a otras moléculas de agua al quedar desbalanceada su carga eléctrica. El equilibrio eléctrico puede ser satisfecho también por cationes, formándose así cadenas de partículas-agua-cación-agua-partícula. La partícula de arcilla se hidrata y aumenta de volumen, 2) *Hidratación de cationes*: Los cationes adsorbidos en la capa doble difusa se rodean de moléculas de agua produciendo el consiguiente aumento de volumen y por último 3) *Repulsión osmótica*: La concentración de cationes en la capa doble difusa decrece al alejarse de la partícula arcillosa, lo cual puede provocar una migración de las moléculas de agua hacia el interior por ósmosis si se pone en contacto con agua pura o con agua con una concentración más baja de cationes. El resultado es un aumento de volumen. (Barrera, 2002)

I.III Teoría de la consolidación.

Desde hace muchísimos años, se sabe que zapatas, o estructuras de cimentación superficiales, apoyadas en terrenos blandos (generalmente arcillas blandas), sufren grandes asientos e incluso se hunden. Ya de antiguo se vio la necesidad de cimentar sobre pilotes o pilares-pozos que atravesaran la capa blanda y descansaran en estratos más firmes. Pero, si bajo una capa de arena existe una de arcilla blanda, las consecuencias no serán tan fáciles de prever. De aquí que los estratos confinados de arcilla haya que estudiarlos a fondo, para prevenir y calcular los asientos. A esos estratos se les denomina *confinados*, pues la adherencia y fricción en los

bordes impiden la expansión horizontal. De ahí que los estudios y ensayos se hagan sobre muestras lateralmente confinadas, para asemejarse más al comportamiento real.

El tema de la compresibilidad se centra en el estudio de las variaciones de dimensión del suelo, (preferentemente en lo referente a su altura), en función de las cargas o esfuerzos aplicados al suelo.

El estudio de la compresibilidad se realiza fundamentalmente para arcillas o suelos arcillosos, y en estado de saturación. Cuando el incremento de carga es asumido conjuntamente por las partículas minerales y el agua (que conforman el total del suelo), la variación de presión intersticial, o presión de poro, obliga al agua a moverse a través del suelo, hasta disipar esa sobrepresión intersticial, con lo cual muchas propiedades del suelo varían con el tiempo en que se produce ese fenómeno.

La expulsión de agua de los poros, que permite el reajuste de las partículas sólidas en los huecos que han quedado vacíos, es la base del **fenómeno de la consolidación**. (González, 2001)

Si las sobrepresiones intersticiales son positivas, y en consecuencia el suelo disminuye de volumen, el proceso se denomina *consolidación*.

Sin embargo si las sobrepresiones intersticiales son negativas, de modo que el suelo tiende a aumentar su volumen, el proceso se denomina *expansión*.

El tema de la consolidación es similar al de la compresibilidad pero con una variable adicional en su estudio: el tiempo. (González, 2001)

Relaciones tensión-deformación con drenaje

En los suelos blandos, y sobre todo en los arcillosos, es donde se desarrolla e interesa el *comportamiento de los suelos en relación al esfuerzo - deformación con drenaje*.

Generalmente los suelos arcillosos son de origen sedimentario (el tamaño medio de sus partículas es menor que 2 micras), depositados en profundidades marinas, lacustres, o deltas.

Para analizar su proceso de formación, se puede imaginar un espesor pequeño, en el que las partículas se han ido depositando y *uniendo*, dejando entre ellas unos huecos, de modo que se puede determinar un índice de huecos, e_1 , de equilibrio inicial. Más tarde, con más peso propio, fruto de nuevas deposiciones (que implican una mayor tensión efectiva), se tiene un nuevo índice de huecos o de vacíos, e_2 (de menor valor), correspondiente al nuevo incremento de tensión, $\Delta\sigma'$. Así, sucesivas sedimentaciones conllevan variaciones de e , que se corresponden con los sucesivos $\Delta\sigma'$. E incluso no habiendo nuevas deposiciones ni cataclismos, con el tiempo el índice de huecos, e , varía (disminuye) hasta un nuevo estado de equilibrio (aunque $\Delta\sigma'$ siga constante). (González, 2001).

Si debido a una perturbación, como por ejemplo, la construcción de un edificio, existe un $\Delta\sigma'$, “instantáneo” (en realidad, aunque tarde años, será equiparable a “instantáneo” en relación a la edad geológica del depósito), se obtiene como respuesta un nuevo índice de huecos, e . En el gráfico (figura 3), queda reflejado en una nueva curva de variación $e / \log \sigma'$. Si la duración del incremento de carga es (o se considera) sólo instantánea, la curva acabará en a.

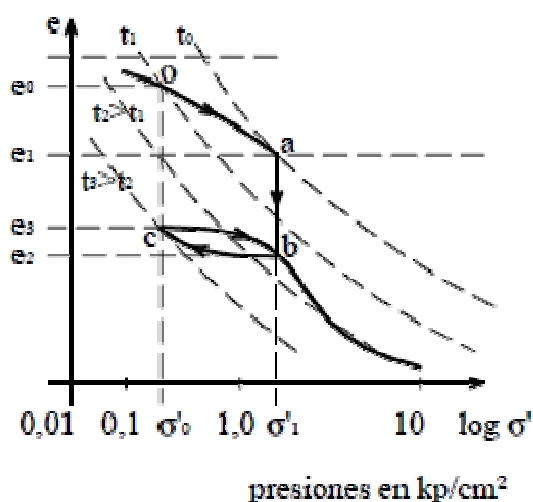


Figura 3

Si la carga perdura, seguirá la línea ab, para una σ_1' constante. A tensión efectiva constante se observa la disminución del índice de huecos, e_1 a e_2 .

Si posteriormente hay una descarga, que puede ser por desecación, o por una erosión y posterior desmantelamiento por acción eólica, se sigue en la gráfica la llamada curva de descarga, bc (también llamada de hinchamiento o entumecimiento). Puede llegar a tener de nuevo el valor de la tensión inicial, σ_0' , pero por otro camino. El punto c se halla en la curva que correspondería a “más tiempo” (edad geológica); de ello se deduce que el efecto de colocar una carga durante un cierto tiempo equivale a aumentar la edad del yacimiento (en este hecho se basa uno de los métodos de mejora del suelo, la *precarga*). (González, 2001)

Suelos normalmente consolidados y sobreconsolidados

Los yacimientos que se encuentran en un estado tal que la única carga de consolidación que ha actuado durante su historia es la actual geostática, y que es la máxima soportada hasta ahora, se dice que son *normalmente consolidados*.

Los yacimientos que han sido sometidos a uno o varios ciclos de descarga, como el grafiado como oabc en la figura 3, se dice que son preconsolidados; en ellos, la carga actual no es la máxima tensión a la que han estado sometidos en su historia. (Gonzalez, 2001.)

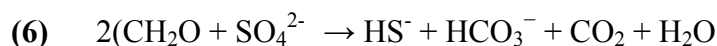
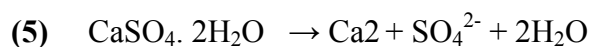
I.IV Precipitación microbiana del carbonato.

La precipitación microbiana de carbonato, ha ganado interés en los últimos 20 años, en particular con respecto al papel potencial de los sistemas marinos el cual, puede jugar como "sumidero de carbono" para el aumento de la producción mundial de CO₂. Existen tres principales grupos de organismos que pueden inducir la precipitación microbiana de carbonato a través de sus procesos metabólicos: (I) Organismos fotosintéticos tales como la cianobacteria y algas que eliminan CO₂, (II) Bacterias reductoras de sulfato que son responsables de la reducción de disimilación del sulfato y (III) Algunos organismos involucrados en el ciclo del nitrógeno. (Castanier et al., 1999; Hammes y Verstraete, 2002)

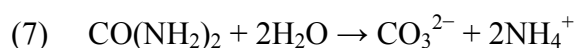
La forma mas común de la precipitación microbiana de carbonato en medios acuosos es causada por organismos fotosintéticos (McConnaughey y Whelan, 1997). Los procesos metabólicos de las algas y cianobacterias utilizan disolvente CO₂ (ecuación 1) el cual esta en equilibrio con HCO₃⁻ y CO₃²⁻ (ecuación 2). La eliminación del CO₂ induce a cambios en el equilibrio y se produce un incremento en el pH (Ecuacion 3) (Ehrlich, 1998). Cuando esta reacción ocurre en la presencia de iones calcio, se produce el carbonato cálcico (ecuación 4). (Hammes y Verstraete, 2002)

- (1) $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2$
- (2) $2 \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{CO}_2 + \text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O}$
- (3) $\text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{OH}^-$
- (4) $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- + \text{OH}^- \rightarrow \text{CaCO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$

La calcita puede ser precipitada incluso por organismos heterótrofos mediante la producción de carbonato o bicarbonato y la modificación del medio para favorecer la precipitación (Castanier et al., 1999). La disolución abiótica del yeso (CaSO₄·2H₂O) (ecuación 5) proporciona un medio que es rico en sulfatos y iones calcio. En la presencia de materia orgánica y ausencia de oxígeno, las bacterias reductoras de sulfato (SRB) pueden reducir el sulfato a H₂S y liberar HCO₃⁻ (ecuación 6). (Castanier et al., 1999, Ehrlich, 1998; Wright, 1999). Si el H₂S se desgasifica del medio, se produce un aumento en el pH y favorece la precipitación del carbonato cálcico (ecuación 4) (Castanier et al., 1999).



La precipitación microbiana de carbonato puede ser incluso inducida por organismos involucrados en el ciclo del nitrógeno, a través de la amonificación de aminoácidos, la reducción de nitrato y la hidrólisis de la urea. El más simple de todos los mecanismos para la precipitación microbiana de carbonato es la hidrólisis de la urea por la enzima ureasa, la cual resulta de la producción de iones carbonato en la presencia de amonio (ecuación 7). La calcita es fácilmente precipitada bajo estas condiciones, en la presencia de calcio.



La actividad ureasa está muy extendida entre las bacterias y este ha sido el método utilizado más a menudo para la precipitación microbiana del carbonato para la producción de calcita (Fujita et al., 2000; Mobley y Hausinger, 1989; Stocks-Fischer et al., 1999).

I.V Biotecnología.

La biotecnología es una rama de Ingeniería del Terreno que se ocupa de las aplicaciones de los métodos biológicos para los problemas de ingeniería geotécnica. En la actualidad, la biotecnología se relaciona principalmente con las aplicaciones de las plantas o la cubierta del suelo vegetal para el control de la erosión del suelo y protección de taludes, la prevención de fallas en la pendiente, y la reducción de la infiltración de agua en las pendientes. La biotecnología tiene ventajas de baja inversión y costos de mantenimiento. También ofrece beneficios para el medio ambiente y la estética del paisaje (Karol 2003).

En este sentido la geotécnica microbiana es un área emergente de Ingeniería del Terreno. Aunque hay posibles aplicaciones de los microorganismos en la ingeniería geotécnica, en las aplicaciones actuales, sólo se concentra en el proceso conocido como bioclogging y biocementation.

Bioclogging es reducir la conductividad hidráulica del suelo y las rocas porosas debido a la actividad microbiana o debido a productos. Podría ser utilizado para reducir la erosión del canal de drenaje, formar cortinas de lechada para reducir la migración de metales pesados y contaminantes orgánicos.

Sin embargo el proceso de Biocementación se basa en la mejora de las propiedades de resistencia y la rigidez del suelo y rocas a base de la actividad microbiana o de productos. Podría ser utilizado para evitar avalanchas del suelo, reducir el hinchamiento potencial de suelos arcillosos, mitigar el potencial de licuación de arena y tierra compacta en los sitios de terrenos ganados al mar.

I.VI Estabilización de suelos con microorganismos.

Actualmente hay otros métodos de estabilización química de suelos distintos de los tradicionales (cemento, cal). En este sentido varios trabajos han descubierto una mejora en la resistencia del material mediante la inducción de la precipitación microbiana de carbonato, pero por lo general el tratamiento tiene una profundidad de inyección limitado (del orden de centímetros) y se asocia a menudo con una importante reducción de la permeabilidad. En la mayoría de los casos las bacterias y los reactivos se mezclan con el material granular, se rocía la superficie o se inyecta junto con una alta velocidad o presión. La inyección de las bacterias y los reactivos, a velocidades de flujo bajas pueden dar lugar a la obstrucción completa del sistema cerca del punto de inyección (Stocks-Fischer et al., 1999). A efectos de la mejora de los suelos, la reducción de la permeabilidad es una característica no deseada. La reducción de la permeabilidad en la zona tratada promueve la reorientación de las rutas naturales de flujo subterráneo. Esto puede dar lugar a un aumento en la presión de poros en el suelo, lo que aumenta el riesgo de fracaso del suelo. El mantenimiento de la permeabilidad del suelo ofrece una ventaja adicional, ya que también permite la aplicación adicional de los tratamientos de fortalecimiento y por lo tanto el control sobre la cantidad de refuerzo que se obtendrá finalmente. Estas características deseables se han aplicado con éxito en un diseño de proceso en el que la precipitación microbiana de carbonato se produce en condiciones tales que todos los componentes pueden ser aplicados sin alteración del suelo (es decir, el suelo de mezcla o sustitución), el fortalecimiento del suelo se consigue y la permeabilidad se mantiene en gran parte (Whiffin 2004; Kucharski et al. 2006). Este diseño ha sido probado en condiciones de laboratorio a las profundidades de penetración de menos de 0,5 m.

Otras investigaciones basados en la precipitación microbiana de carbonato que se han realizado hasta la fecha se han centrado en la precipitación de carbonatos microbianos para otras aplicaciones de mejora del suelo, tanto que los parámetros importantes para esta aplicación específica aún no se han evaluado (por ejemplo, la profundidad de penetración significativa (del orden de metros) el bajo gradiente hidráulico, la conservación de la permeabilidad, y la correlación de parámetros mecánicos con el contenido de carbonato de calcio).

Las razones anteriores estimularon la adopción de los microorganismos como potenciales herramientas para la estabilización del suelo (Weiner y Addadi 1997, Tiano et al. 1999, Gray 2001, Bang et al. 2001).

I.VII La lluvia acida.

La **lluvia ácida** se forma cuando la humedad en el aire se combina con los óxidos de nitrógeno y el dióxido de azufre emitidos por fábricas, centrales eléctricas y vehículos que queman carbón o productos derivados del petróleo. En interacción con el vapor de agua, estos gases forman ácido sulfúrico y ácidos nítricos. Finalmente, estas sustancias químicas caen a la tierra acompañando a las precipitaciones, constituyendo la lluvia ácida.

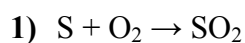
Los contaminantes atmosféricos primarios que dan origen a la lluvia ácida pueden recorrer grandes distancias, siendo trasladados por los vientos cientos o miles de kilómetros antes de precipitar en forma de rocío, lluvia, llovizna, granizo, nieve, niebla o neblina. Cuando la precipitación se produce, puede provocar importantes deterioros en el ambiente.

La lluvia normalmente presenta un pH de aproximadamente 5.65 (ligeramente ácido), debido a la presencia del CO₂ atmosférico, que forma ácido carbónico, H₂CO₃. Se considera lluvia ácida si presenta un pH de menos de 5, y puede alcanzar el pH del vinagre (pH 3). Estos valores de pH se alcanzan por la presencia de ácidos como el ácido sulfúrico, H₂SO₄, y el ácido nítrico, HNO₃. Estos ácidos se forman a partir del dióxido de azufre, SO₂, y el monóxido de nitrógeno que se convierten en ácidos.

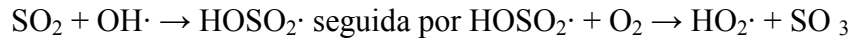
La lluvia ácida no sólo afecta el suelo, la vegetación y la salud humana, sino que también contamina el agua. Los estudios realizados en el mundo han resaltado que la lluvia ácida ha causado, entre otros daños, la acidificación de 14 mil lagos en Canadá, un cuarto de todos los lagos de Suecia, un 8 por ciento de los lagos de Finlandia y ha dañado la vegetación de los montes Apalaches, en los Estados Unidos.(Gauci, 2005)

Proceso de acificación de la lluvia:

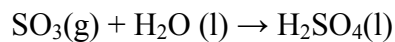
Como se ha comentado previamente, una gran parte del **SO₂** (dióxido de azufre) emitido a la atmósfera procede de la emisión natural que se produce por las erupciones volcánicas, que son fenómenos irregulares. Sin embargo, una de las fuentes de SO₂ es la industria metalúrgica. El SO₂ puede proceder también de otras fuentes, por ejemplo como el sulfuro de dimetilo, (CH₃)₂S, y otros derivados, o como sulfuro de hidrógeno, H₂S. Estos compuestos se oxidan con el oxígeno atmosférico dando SO₂. Finalmente el SO₂ se oxida a SO₃ (interviniendo en la reacción radicales hidroxilo y oxígeno) y este SO₃ puede quedar disuelto en las gotas de lluvia, es el de las emisiones de SO₂ en procesos de obtención de energía: el carbón, el petróleo y otros combustibles fósiles contienen azufre en unas cantidades variables (generalmente más del 1%), y, debido a la combustión, el azufre se oxida a dióxido de azufre.



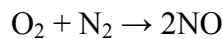
Los procesos industriales en los que se genera SO₂, por ejemplo, son los de la industria metalúrgica. En la fase gaseosa el dióxido de azufre se oxida por reacción con el radical hidroxilo por una reacción intermolecular.



En presencia del agua atmosférica o sobre superficies húmedas, el trióxido de azufre (SO₃) se convierte rápidamente en ácido sulfúrico (H₂SO₄).



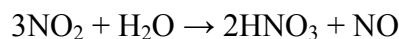
2) El NO se forma por reacción entre el oxígeno y el nitrógeno a alta temperatura.



3) Una de las fuentes más importantes es a partir de las reacciones producidas en los motores térmicos de los automóviles y aviones, donde se alcanzan temperaturas muy altas. Este NO se oxida con el oxígeno atmosférico,



reacciona con el agua dando ácido nítrico (HNO₃), que se disuelve en el agua.



La acidificación de las aguas de lagos, ríos y mares dificulta el desarrollo de vida acuática en estas aguas, lo que aumenta en gran medida la mortalidad de peces. Igualmente, afecta directamente a la vegetación, por lo que produce daños importantes en las zonas forestales, y acaba con los microorganismos fijadores de N.

El término "lluvia ácida" abarca la sedimentación tanto húmeda como seca de contaminantes ácidos que pueden producir el deterioro de la superficie de los materiales. Estos contaminantes que escapan a la atmósfera al quemarse carbón y otros componentes fósiles reaccionan con el agua y los oxidantes de la atmósfera y se transforman químicamente en ácido sulfúrico y nítrico. Los compuestos ácidos se precipitan entonces a la tierra en forma de lluvia, nieve o niebla, o pueden unirse a partículas secas y caer en forma de sedimentación seca.

La lluvia ácida por su carácter corrosivo, corroe las construcciones y las infraestructuras. Puede disolver, por ejemplo, el carbonato de calcio, CaCO₃, y afectar de esta forma a los monumentos y edificaciones construidas con mármol o caliza.

Un efecto indirecto muy importante es que los protones, H^+ , procedentes de la lluvia ácida arrastran ciertos iones del suelo. Por ejemplo, cationes de hierro, calcio, aluminio, plomo o zinc. Como consecuencia, se produce un empobrecimiento en ciertos nutrientes esenciales y el denominado *estrés en las plantas*, que las hace más vulnerables a las plagas.

Los nitratos y sulfatos, sumados a los cationes lixiviados de los suelos, contribuyen a la eutrofización de ríos y lagos, embalses y regiones costeras, lo que deteriora sus condiciones ambientales naturales y afecta negativamente a su aprovechamiento.

Un estudio realizado por Gauci, 2005, sugiere que cantidades relativamente pequeñas de sulfato presentes en la lluvia ácida tienen una fuerte influencia en la reducción de gas metano producido por metanógenos en áreas pantanosas, lo cual podría tener un impacto, aunque sea leve, en el efecto invernadero.

A continuación en la Figura 6 se presentan algunos datos del pH del agua de lluvia en diferentes regiones del mundo:

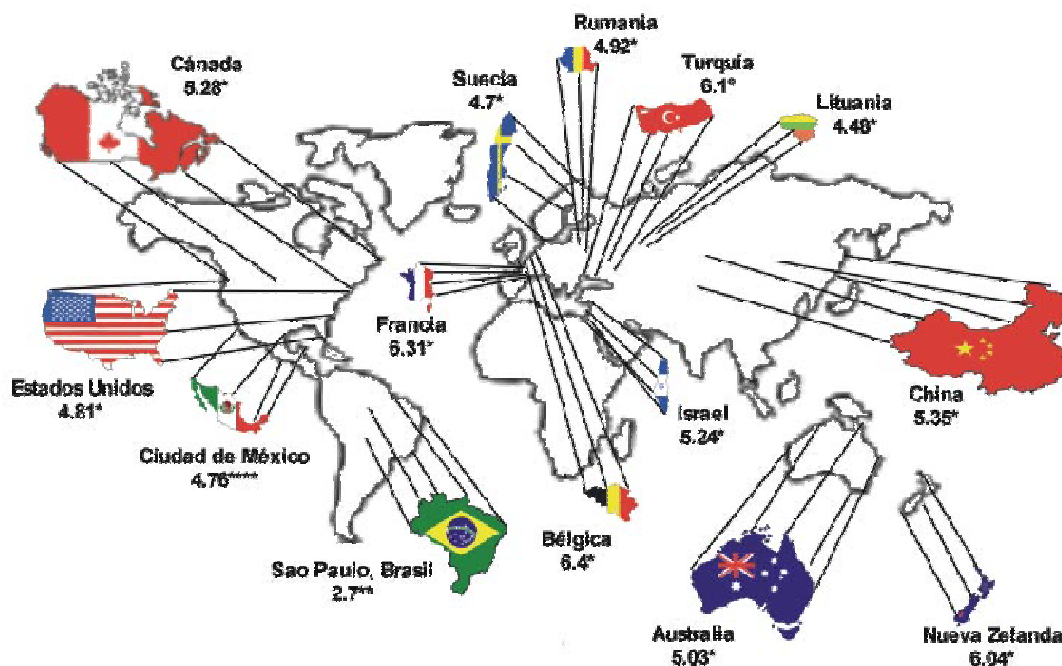


Figura 6: pH del agua de lluvia en diferentes regiones del mundo

(Fuente: Gallardo, A. y Garcia L 1999)

En función de lo anteriormente expuesto, en la Universidad de Almería, se inició un estudio experimental, con el fin de verificar los efectos estabilizadores de un tratamiento microbiológico en diferentes suelos españoles utilizados como materiales de construcción. En esta contribución, se da una visión de conjunto de los efectos del tratamiento microbiológico en un macro-suelo limoso, a partir de las observaciones de la microestructura y pasando a los aspectos hidromecánicos de relevancia para la construcción de obras de tierra.

También en este proyecto se realizan ensayos con simulación de lluvia acida, en los cuales a las muestras de suelo se les aplica un ciclo de carga-descarga, a la vez que son sometidas (proceso de inundación) bajo la influencia de diferentes disoluciones a distinto pH.

I.IIX Objetivos

El **principal objetivo** de esta investigación es verificar la eficacia de un producto de base microbiológica para mejorar las propiedades hidro-mecánicas del suelo.

La investigación se basa en la capacidad de algunos microorganismos de precipitar sustancias con características cementantes, especialmente carbonato cálcico. Lo que se pretende es evaluar la incidencia que tiene sobre un determinado tipo de suelo el uso de bacterias con la propiedad citada, para que posteriormente se pueda llegar al desarrollo de técnicas de biotecnología que sirvan como herramientas útiles para distintas aplicaciones, principalmente en obras lineales de infraestructura. Y además se evaluará también su resistencia frente a lluvias ácidas. Esto se concreta en los siguientes objetivos específicos:

Objetivos específicos:

- Comparación entre los resultados obtenidos para los suelos naturales (sin tratar) y los tratados con el producto microbiano.
- Estudiar los efectos que tiene el carbonato cálcico generado por los microorganismos en la colapsabilidad de los suelos.
- Estudio de la permanencia del tratamiento.
- Efectos de la simulación de lluvia acida sobre la acción de los microorganismos.

II. Estado del arte.

Los materiales de construcción como la piedra y el hormigón están sometidos a la acción de la intemperie de factores tanto físicos, como químicos y biológicos (Saiz-Jiménez, 1997, Le Metayer-Levrel et al., 1999 y Warscheid y Braams, 2000). Debido a su composición y las características texturales, las piedras de carbonatos (calizas, dolomías y mármoles) son particularmente susceptibles a la erosión. La disolución progresiva de la matriz mineral, como consecuencia de la erosión, conduce a un aumento de la porosidad, y como resultado, una disminución de las características mecánicas (Tiano et al., 1999). Con el fin de disminuir el deterioro, se han aplicado tratamientos de conservación con el objetivo de modificar algunas de las características de las rocas. Los repelentes de agua han sido aplicados para proteger la piedra de la entrada de agua y otros agentes atmosféricos. El uso de consolidantes de piedra tiene por objeto restablecer la cohesión entre los granos de la piedra deteriorada. Sin embargo, ambos tratamientos de conservación son objeto de controversia frecuente debido a su acción no reversible y de su aplicación limitada a largo plazo. Debido a problemas relacionados con la incompatibilidad con la piedra, tanto los repelentes de agua como los consolidantes a menudo han servido para acelerar el deterioro de la piedra. (Delgado, 2001)

Los tratamientos orgánicos resultado de la formación de películas superficiales, resultan nocivas. Además esto contribuye a la contaminación debido a las grandes cantidades de disolvente orgánico que se utilizan (Rodríguez-Navarro et al., 2003). La consolidación de inorgánicos puede ser preferible antes que los materiales de piedra o los materiales de consolidación o de protección (Rodríguez-Navarro et al., 2003).

Algunos investigadores han intentado desarrollar métodos basados en la reintroducción de la calcita en los poros de la piedra caliza. La técnica de agua de cal, es decir, la aplicación de una solución saturada de hidróxido de calcio, se ha propuesto y experimentado tanto para morteros para pintar paredes como para algunas piedras calcáreas deterioradas, con el fin de dar un ligero efecto repelente del agua y provocar su consolidación (Tiano et al. 1999). Hasta el momento, se ha logrado poco éxito en la consolidación de la piedra con materiales inorgánicos. Algunas de las razones de los malos resultados se debe a su tendencia a producir costras superficiales, a su pobre capacidad de penetración, a la formación de sales solubles como subproductos de reacción, al crecimiento de cristales precipitados y a la capacidad cuestionables de algunos de ellos de unión entre si a la piedra (Clifton y Frohnsdorff, 1982). En el caso de los métodos de reintroducción de calcita, este último es atribuible a la producción de muchos cristales pequeños, que no estén ligados químicamente a la superficie interna de los poros y que no son capaces de superar los poros (Tiano et al., 2006).

Recientemente, la precipitación de carbono inducido por bacterias ha sido propuesto como un método ecológico para proteger la piedra ornamental dañada. El método se basa en la formación de un precipitado de carbonato, compatible con la piedra caliza, y a diferencia del tratamiento de agua de cal este precipitado de carbonato parece ser muy coherente (Le

Metayer-Levrel et al., 1999). Además, esta técnica ha sido estudiada para la mejora de la durabilidad de los materiales de cemento (Ramachandran et al, 2001; Ramakrishnan et al, 2001; De Muynck et al, 2008).

II.I Biodeposición.

Cuando la piedra caliza blanda se expone a condiciones atmosféricas, rápidamente adquiere una piel protectora (calcin) a través de la disolución de los carbonatos con el agua de los poros, y se produce la evaporación y precipitación de la calcita dentro o cerca de la superficie expuesta (Dreesen y Duser, 2004). Esta capa muestra una mayor dureza y densidad en comparación con las capas subyacentes. Sin embargo, como resultado de los contaminantes atmosféricos, esta capa se degrada lentamente, perdiendo su función protectora. El descubrimiento de que las bacterias contribuyen a la formación de piedra caliza ha dado lugar a la sugerencia de utilizar bacterias para el restablecimiento de este calcin.

Boquet et al. (1973) fueron los primeros en demostrar la capacidad de las bacterias del suelo para precipitar el carbonato de calcio en condiciones de laboratorio. Si bien Drew, 1911 y Shinano, 1972 trabajaron y observaron la formación de cristales por las bacterias del suelo en medios sólidos. Otros autores obtuvieron los mejores resultados con unos medios de cultivo de los microorganismos que tenían unas características determinadas (Acetato de calcio 0.25%, Extracto de levadura 0,4%, Glucosa 1%, pH = 8). Entre los organismos analizados observaron varias cepas de *Bacillus* (incluido el *Bacillus cereus*) y *Pseudomonas aeruginosa* para formar cristales. Además encontraron que la formación de cristales es función del medio, y que en condiciones adecuadas la mayoría de las bacterias pueden formar cristales. (Boquet et al. 1973)

En paralelo con el trabajo realizado por este grupo, Adolphe y Billy (1974) lograron la formación de calcita en laboratorio por bacterias aisladas de toba y travertino. Entre 1983 y 1987, Castanier et al. (1999) investigaron los distintos mecanismos responsables de la formación microbiana de carbonato de calcio, lo que evidencia el origen microbiano de la piedra caliza. Adolphe et al. (1989) demostró además el origen bacteriano de las costras de calcita en los climas extremos, como Groenlandia y el desierto del Sahara. Además, el equipo observó la gran resistencia de estas capas a la erosión.

Adolphe et al. (1990) fueron los primeros en considerar el uso de la precipitación de carbonato inducida por microbios (MICP) para la protección de la piedra ornamental. Desarrollaron una patente en relación con el uso de bacterias carcinogénicas en superficies de piedra. Los prometedores resultados de la denominada técnica de *Calcite BioConcept* animaron a diferentes grupos de investigación a evaluar enfoques alternativos para la precipitación de carbonato en piedra caliza.

II.II Biocementación.

Aparte de la deposición de una capa de carbonato en la superficie de los materiales de construcción, la precipitación de carbonatos inducida por microbios también se ha utilizado para la generación de materiales aglomerantes. Hubo grandes desarrollos iniciales en el campo de la ingeniería geotécnica conectando el fortalecimiento y la mejora de los suelos (Ferris y Stehmeier, 1992; Zhong y Ismail, 1995; Nemati y Voordouw, 2003; Whiffin et al, 2007). Los avances recientes, indican que el uso potencial de esta técnica para el saneamiento de grietas en materiales de construcción mejora la fuerza y la auto-sanación de los materiales de cemento.

II.II.1 Mortero Biológico.

En general, un **mortero** se refiere a una pasta manejable que consta de aglomerantes, aglomerados y agua para unir los materiales de construcción entre sí y para llenar los vacíos entre ellas. En particular, un **mortero biológico** se refiere a una mezcla de bacterias, piedra caliza finamente molida y un medio nutritivo que contiene una sal de calcio. El término biológico se refiere al origen microbiano del aglutinante es decir, carbonato de calcio microbiológicamente producido. Similares a los morteros de cal, el carbonato de calcio cementa los áridos juntos. La cementación se produce como consecuencia de la nucleación y el crecimiento de cristales de carbonato en la superficie de los áridos, especialmente en las áreas de contacto entre ellos.

El conocimiento y las experiencias obtenidas con el tratamiento de *Calcite BioConcept* de piedra caliza, han dado como resultado el desarrollo de un mortero biológico para la rehabilitación de pequeñas cavidades en las superficies de la piedra caliza. La meta del mortero biológico fue evitar algunos de los problemas relacionados con la química y física de las incompatibilidades de uso de morteros de reparación con el material base, especialmente en el caso de materiales frágiles (Castanier, 1995; Le Metayer-Levrel et al, 1999)

La optimización de la composición del mortero abarcaba la dosis y la composición de los tres componentes principales, es decir el polvo de la piedra caliza, los nutrientes y la pasta bacteriana. Los morteros fueron evaluados en base a su apariencia (la cohesión y el color), la presencia de micro-grietas y la resistencia a la fractura. En cuanto a la composición del medio, se hicieron algunos ajustes del método inicial, que fue utilizado para la Biodeposición. La cantidad de solución de nutrientes introducidos durante la fabricación del mortero fue suficiente para soportar la actividad bacteriana. Las repetidas aplicaciones externas de la solución nutritiva no fueron capaces de mojar completamente el mortero. Además, dio lugar a cambios de color en la superficie. Por último, para los morteros biológicos era necesario el

uso de grandes cantidades de bacterias y, tuvo que ser modificado como resultado de la composición del medio nutritivo. (De Muynck et al., 2010)

Con base a los diferentes parámetros de evaluación, se obtuvieron mejores resultados con una parte de la pasta de bacterias (que contiene 10^9 células/ ml), una parte del medio nutritivo y dos partes de polvo de piedra caliza. La técnica ya ha sido probada con éxito en pequeña escala en las esculturas de la catedral de Amiens y en un portal de la iglesia de Argetnton-Château (Francia) y 2 años después el tratamiento ofrecía un aspecto satisfactorio en las zonas reparadas. (Le Metayer-Levrel et al, 1999; Oriol et al, 2002.).

II.II.2 Reparación de las grietas en el hormigón.

En la recuperación de petróleo pesado de los yacimientos petrolíferos, donde el agua es más fácil de eliminar que el aceite viscoso, es muy conveniente la capacidad para conectar selectivamente roca porosa para concentrar la energía de bombeo en zonas ricas en petróleo (Hart et al, 1960; Lappin-Scott et al., 1988). Debido al costo y el rendimiento insatisfactorio de algunos de los polímeros químicamente reticulado, muchos trabajadores sugirieron que los biopolímeros insolubles y la biomasa generada por la inyección de microorganismos autóctonos se podían utilizar para conectar de forma selectiva las zonas de alta permeabilidad al agua (Lappin-Scott et al., 1988; Jack et al, 1991; Gollapudi et al, 1995). Además, se sugirió el uso de un sistema conector de minerales microbianos basado en la precipitación de los carbonatos (Ferris y Stehmeier, 1992; Zhong y el Islam, 1995).

Mientras, la investigación inicial sobre la precipitación microbiana de carbonatos de calcio en las columnas de arena se centró principalmente en la disminución de la porosidad y la permeabilidad como consecuencia de la presencia física de los carbonatos recién formados (Ferris y Stehmeier, 1992). Posteriormente las investigaciones se centraron en la mejora de la fuerza como resultado de la cementación de las partículas de arena (Whiffin, 2004; Kucharski et al, 2006.).

La hidrólisis de la urea ha sido seleccionada como una vía muy adecuada para la producción de iones de carbonato, debido a su capacidad para alcalinizar el medio ambiente. Por otra parte, la urea es una fuente importante de nitrógeno orgánico en ambientes naturales y es comúnmente utilizado como abono agrícola (Nielsen et al., 1998). Además, la capacidad de hidrolizar de la urea es ampliamente distribuida entre bacterias en los suelos y sistemas de aguas subterráneas (Mobley y Hausinger, 1989; Fujita et al, 2000.). Algunos ejemplos de las bacterias urea que se utilizan son *Sporosarcina pasteurii* y *Sporosarcina ureae* las cuales están frecuentemente aisladas del suelo, del agua, y del alcantarillado.

La participación de *Sporosarcina pasteurii* en la consolidación de la arena ha sido demostrada por Kantzas et al. (1992). Gollapudi et al. (1995) investigó además su utilización para conectar las columnas de arena. Aunque las bacterias fueron mezcladas con mezcla de arena,

la consolidación se produce sobre todo cerca de la superficie. Stocks Fischer et al. (1999) mostró que los microorganismos participaron directamente en precipitación de calcita, proporcionando un punto de nucleación y creando un ambiente alcalino que favorece la precipitación de la calcita. Zhong y Islam (1995) utilizó la consolidación de las mezclas de arena para el saneamiento de las grietas en granito. Las grietas de granito fueron llenadas de una mezcla de bacterias, nutrientes y un material de relleno (*Sporosarcina pasteurii*, humo de sílice 10% y arena 90%). Con estos componentes se lleva a la mezcla a la más alta resistencia a la compresión y la más baja permeabilidad.

Sobre este punto, Ramachandran et al. (2001) investigaron la reparación microbiológica de las grietas en hormigón. Los autores proponen la precipitación microbiana de carbonato como una forma efectiva para sellar grietas. La aparición de grietas y fisuras es un fenómeno inevitable durante el proceso de envejecimiento de las estructuras de hormigón en la exposición a los cambios climáticos. Si no se tratan, las grietas tienden a ampliar aún más y, finalmente, conducen a reparaciones costosas. Las muestras con grietas llenas de bacterias, nutrientes y arena demostraron un aumento significativo de la resistencia a la compresión y la rigidez comparándolos con los testigos. La presencia de la calcita, sin embargo, se limita a las superficies de la grieta. Los autores atribuyen esto al hecho de que la *Sporosarcina pasteurii* crece de manera más activa con la presencia de oxígeno. Sin embargo, el pH muy alcalino (12-13) del hormigón fue un factor importante que obstaculiza el crecimiento de la alkaliphile *Sporosarcina pasteurii*, cuyo crecimiento óptimo es de alrededor de un pH de 9. Con el fin de proteger a las células del pH alto, Day et al. (2003) investigó el efecto de diferentes materiales de relleno sobre la eficacia de la reparación de grietas.

Las vigas tratadas con bacterias y poliuretano mostraron una mejoría superior en la rigidez en comparación con los materiales de relleno como sílice, cal, ceniza y arena. Según los autores, la naturaleza porosa de poliuretano reduce al mínimo la transferencia de las limitaciones a los substratos y apoya el crecimiento de las bacterias de manera más eficiente que otros materiales de relleno, lo que permite una acumulación de calcita en áreas más profundas de las grietas. (De Muyneck et al., 2010)

En este sentido, Bachmeier et al. (2002) investigaron la precipitación de carbonato de calcio con la enzima ureasa inmovilizada en poliuretano pero no se observaron diferencias en la precipitación de carbonato entre los resultados generales de las células libres ni las de poliuretano inmovilizadas (Bang et al., 2001).

La inmovilización protege la enzima de los cambios ambientales. La ureasa inmovilizada retuvo la mayor actividad enzimática a altas temperaturas y en presencia de altas concentraciones de pronasa mientras que la tasa de precipitación de calcita de la enzima inmovilizada fue más lenta en comparación con la de la enzima libre. (De Muyneck et al., 2010)

De Belic y De Muynck (2008), además de su investigación sobre Biodepositación en materiales de cemento, investigaron más a fondo el uso de la precipitación microbiana de carbonato inducida por la reparación de grietas en hormigón. Para la protección de *B. sphaericus* del pH alcalino, las bacterias fueron inmovilizadas en una solución de sílice. Tras la adición de una sal, se formó un material biocerámico (biocer), que fue capaz de salvar las grietas. La posterior adición de una solución de urea y cloruro de calcio dio como resultado la formación de cristales de carbonato dentro de los poros del biocer y simultáneamente el sellado de la grieta. Como resultado, se observó una disminución de la permeabilidad del agua, similar a la obtenida con las tradicionales inyecciones de epoxi.

II.II.3 Hormigón bacteriano.

Además de la aplicación externa de las bacterias en el caso de la reparación de grietas, los microorganismos también han sido aplicados en la mezcla de hormigón. Hasta ahora, la investigación se ha centrado principalmente en las consecuencias de esta adición en las propiedades del hormigón, es decir, resistencia y durabilidad. Ambas propiedades dependen de la microestructura del hormigón. Sin embargo, los efectos de la presencia de microorganismos y/o carbonatos microbiológicamente inducidos en la microestructura todavía necesitan ser aclarados, especialmente la interacción entre la biomasa y la matriz del cemento. (De Muynck et al., 2010)

Ramachandran et al. (2001) investigó el uso de la precipitación mineral microbiológicamente inducida para la mejora de la resistencia en la compresión de cubos de cemento Portland. Este estudio identificó el efecto de la solución buffer, el tipo (*S. pasteurii* y *P. aeruginosa*) y la cantidad de microorganismos que se utilizaba. Además, con el fin de estudiar el efecto de la biomasa, se investigó la influencia entre las células vivas y las células muertas. Antes de la adición de la mezcla al cemento, las bacterias se centrifugaron y se lavaron dos veces. Los gránulos finales fueron suspendidos en solución salina o buffer de fosfato, que se añadió posteriormente a la mezcla. Una vez se produjo el desmolde, las muestras de cemento fueron almacenadas en una solución que contenía urea y cloruro de calcio durante 7 días. Posteriormente, las muestras fueron curadas al aire hasta la medición de la resistencia a compresión.

A bajas concentraciones, se ha demostrado que la presencia de *S. pasteurii* aumenta la resistencia a compresión de cubos de cemento. (55 ± 1 MPa). Las muestras fueron tratadas con 10^3 células/cm³ que tenían una resistencia a compresión de alrededor de 65 ± 1 MPa. La contribución de *P. aeruginosa* con respecto a la fuerza resultó ser insignificante. Desde el análisis de la difracción de rayos X (DRX), no se puede encontrar ninguna cantidad significativamente mayor de calcita en las muestras de cemento que fueron tratadas con bacterias. Esto podría atribuirse a la inhibición de los microorganismos por el pH alto y a la falta de oxígeno dentro de la mezcla de cemento. El aumento global de fuerza, se obtuvo como resultado de la presencia de una cantidad adecuada de sustancias orgánicas en la matriz debido a la biomasa microbiana. Sin embargo, un aumento de biomasa, dio lugar a una

disminución de la fuerza. Ramachandran et al., 2001, dijeron que esto podría atribuirse a la desintegración de la materia orgánica con el tiempo, haciendo la matriz más porosa.

Ramakrishnan et al. (2001) investigaron el efecto de esta técnica en la durabilidad del hormigón. La presencia de bacterias fue observada para aumentar la resistencia del hormigón hacia alcalinos, sulfato, ataques de congelación y descongelación y contracción por secado; siendo el efecto más pronunciado con el aumento de las concentraciones de células bacterianas. Los autores atribuyen esto a la presencia de una capa de calcita en la superficie, según lo confirmado por el análisis de difracción de rayos X.

Ghosh et al. (2005) demostraron el efecto positivo de la adición del *Shewanella* en la resistencia a compresión de probetas de cemento. A diferencia de la investigación mencionada, estos autores no tenían intención de provocar la precipitación mineral, ya que estas muestras fueron curadas en aire y no en un medio nutritivo. Con un aumento del 25% a los 28 días en la resistencia a compresión se obtuvo una concentración celular de aproximadamente 10^5 células/mL y una proporción agua-cemento del 0,4. Para estas muestras, es importante la presencia de un material fibroso en el interior de los poros. Como resultado, se observó una modificación de la distribución de tamaño de los poros. El efecto positivo de la adición de *Shewanella* mejoró con el aumento de los tiempos de curado. Además para una concentración de 10^5 células/mL, produjo un aumento de la resistencia a la compresión de 17% y el 25% después de 7 y 28 días, respectivamente. Sin embargo, no hubo aumento de la resistencia a la compresión con las adiciones de *Escherichia coli* a la mezcla de cemento. Esto llevó a los autores a sugerir que *la elección de microorganismos juega un papel importante en la mejora de la resistencia a la compresión.*

II.II.4 Auto-sanación de hormigón.

Jonkers (2007) y Jonkers y Schlangen (2007) investigaron el uso de bacterias para el saneamiento autónomo de grietas en el hormigón (Fig. 7). En contraste con estudios anteriores, este enfoque hizo necesaria la presencia de todos los componentes de la reacción, los microorganismos y los nutrientes, en la matriz para garantizar la mínima activación externa. Por lo tanto, los autores investigaron la compatibilidad de los diferentes compuestos orgánicos con la matriz de cemento.

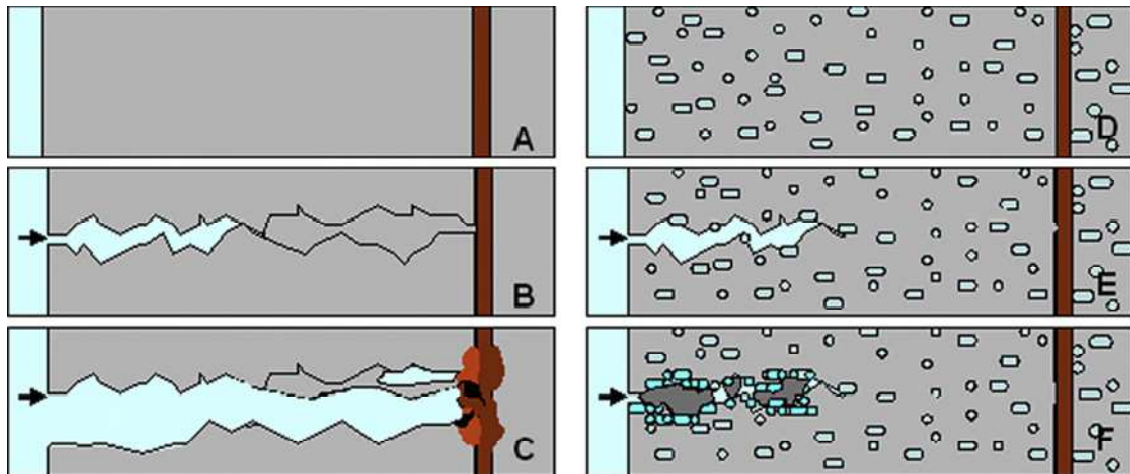


Figura 7: Esquema de hormigón convencional (A-C) en comparación con hormigón auto-sanación basado en bacterias (D-F). Productos químicos en la entrada de las grietas que degradan el material de la matriz y aceleran la corrosión de la armadura (A-C). Agente curativo basado en bacterias activadoras por juntas de agua y evita la formación de nuevas grietas (D-F)

(Fuente: De Muynck et al. 2009.)

Por otra parte, De Muynck et al., 2010, encontraron que las bacterias adecuadas deben ser capaces de sobrevivir a la incorporación de hormigón durante períodos prolongados de tiempo. A tal fin, fueron seleccionadas las esporas que forman la bacteria, relacionada con el género *Bacillus*: *Bacillus pseudofirmus* DSM 8715 y *Bacillus cohnii* DSM 6307, Además, las bacterias fueron añadidas en forma de esporas, ya que estas son conocidas por su capacidad para resistir tensiones mecánicas y químicas extremas. Además de esto, los autores decidieron elegir un camino diferente de la hidrólisis de la urea para la producción de iones de carbonato. De esta manera, se podrían evitar los posibles efectos negativos del amoníaco producido en la corrosión de las armaduras y la degradación de la matriz de hormigón.

Para la evaluación de la capacidad de producción de minerales, las muestras tratadas y las muestras de control se rompieron en pedazos después de 7 a 28 días curando, sumergido en agua del grifo durante 8 días y posteriormente analizados por SEM. Se observó una producción masiva de precipitados de CaCO_3 de mayor tamaño para los 7 días en muestras curadas, sin embargo no se observaron diferencias entre el agente curativo incorporado y las muestras de control después de 28 días. Los autores relacionaron esto a una disminución de la viabilidad de las esporas en la incorporación en la matriz de cemento. Y este hecho parece estar vinculado con una disminución del diámetro de los poros de la matriz (Jonkers y Schlangen, 2007; Jonkers et al, 2008).

III. Material y métodos.

Se ha trabajado con el suelo natural denominado B-5, y con el suelo tratado microbiológicamente BT-5

Los ensayos llevados a cabo se han realizado a partir de unas condiciones iniciales establecidas. Parten de un Proctor normal (UNE 103500: 1994), correspondiente a una densidad seca óptima (ρ_d) y una humedad comprendida entre la óptima ω_{opt} y la óptima menos el 2% ($\omega_{opt} - 2\%$), previamente pasado por el tamiz #10 (2mm.). De manera que se trabaja en el lado seco del plano de compactación (grados de saturación menores de 80%), en el que los suelos presentan una mayor rigidez, permeabilidad saturada y tienden a desarrollar colapso durante el mojado a tensiones elevadas.

III.I Aplicación de microorganismos y preparación de las muestras.

Se utiliza un microorganismo de la familia Bacillaceae en la precipitación de carbonatos minerales en el suelo investigado. Los microorganismos se añaden a la muestra natural, junto con el contenido de agua de compactación y la muestra de suelo, y esta preparación se deja envejecer en cámara húmeda durante siete días como mínimo donde se produce su maduración y seguidamente se suspende el tratamiento con el aumento de la temperatura. Posteriormente se procede a la caracterización del suelo (física, química y geotécnica)

III.II Ensayos químicos y mineralógicos.

- ❖ La humedad se ha determinado mediante balanza termogravimétrica y con tratamiento en estufa y la pérdida por calcinación por tratamiento térmico durante una hora a 1000°C.
- ❖ Microscopia electrónica de barrido (SEM) a diferentes aumentos con análisis de energías dispersivas (Hitachi S-3500 N con microsonda de rayos X: modelo INCA X-Sight / casa: Oxford y metalizado: sputtering Bal-Tec modelo SCD 005)
- ❖ Fluorescencia de rayos X (FRX). Análisis químico por fluorescencia de rayos X (Modelo S4 PIONEER WDXRF).
- ❖ Difracción de rayos X (DRX) en muestras en polvo y con agregado orientado (Equipo de Difracción de Rayos X BRUKER SMART APEX CCD)
- ❖ Absorción del gas Nitrógeno. Una prueba complementaria fue realizada con el fin de determinar el área superficial y la estructura del poro de las muestras de filitas, que habían llenado el espacio de los poros con gas nitrógeno adsorbido. El equipo utilizado fue Micrometrics-ASAP 2010. La superficie específica estimada por

Brunauer, Emmett y Teller (BET) y superficies Langmuir a lo largo del ciclo de adsorción

- ❖ El pH se ha determinado por potenciometría siguiendo la norma UNE-EN 13037:2001.
- ❖ La conductividad eléctrica del extracto de saturación con un conductivímetro siguiendo la norma UNE 77308:2001.
- ❖ Las sales solubles se han hecho a partir de la fórmula de Richards (UNE103205:2006)
- ❖ Los sulfatos por turbidimetría (UNE 103201:1996).
- ❖ El contenido de materia orgánica se ha realizado siguiendo la norma UNE 103204:1993
- ❖ La capacidad de intercambio catiónico se ha realizado según la metodología recomendada (Método del acetato) por el Servicio de Conservación de suelos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 1972).
- ❖ En cuanto a los yesos se ha utilizado el método de Richards (UNE 103206:2006)
- ❖ Para los carbonatos por el método de calcímetro de Bernard siguiendo la norma UNE 103200:1993.

III.III Ensayos de identificación.

- ❖ Condiciones iniciales de las muestras ensayadas (propiedades gravimétricas y volumétricas) (Densidades).
- ❖ Distribución del tamaño de partículas: Granulometría por tamizado (UNE 103101:1995).
- ❖ Límites de Atterberg.
- ❖ Límite líquido: Método de la cuchara. Según norma: UNE 103103:1994.
- ❖ Límite plástico: Según norma: UNE 103104:1993.
- ❖ Ensayos de compactación Proctor normal (UNE 103500:94). La Figura 8 muestra la maza y el molde utilizados.
- ❖ Densidad específica: norma (UNE 103302:94). La Figura 9, muestra el equipo utilizado para la prueba, basándose en el principio de Arquímedes.
- ❖ Descripción física. Color de cocción.

Las muestras se evalúan siguiendo la clasificación del suelo para la construcción de carreteras y puentes en España (clasificación PG3) (MOPU, 1991)



Figura 8. Molde de Proctor normal



Figura 9. Equipo utilizado para hallar el peso específico y dos matraces con muestra.

III.IV Ensayos Edométricos.

Todas las muestras se compactaron con el Proctor normal, con la misma cantidad de humedad y la misma energía.

Compresión edométrica en edómetro tipo **ETI** y en célula edométrica con aplicación de carga (UNE 103405:1994) (Figura 10).

Determinación de los parámetros de compresibilidad en condiciones de confinamiento lateral de un suelo en función de diferentes tensiones netas/efectivas verticales aplicadas en escalones sucesivos de carga (compresión/consolidación) y descarga. Se utilizaron células edométricas con anillos de 50mm de diámetro y 20mm de altura. Para cada muestra se realizaron tres probetas, la primera se comenzó a cargar a 20kPa (de tensión vertical) seguida de 50kPa, y 100kPa y se saturó a 100kPa, la segunda igualmente se empezó a cargar a 20kPa, seguida de 50kPa y luego se cargó a 200kPa en la cual se inundó, y la tercera probeta se empezó cargando con 20kPa, 50kPa y seguida de 300kPa, y en esta última carga se produjo la inundación. En los ensayos con ácido acético se siguió un procediendo de carga por etapas hasta llegar a 800kPa de tensión efectiva vertical (400, 800kPa); la descarga para el caso de la inundación con agua de pH normal se realizó en un solo paso, es decir extrayendo las cargas de cada edómetro de una sola vez, y a las 24 horas de inundar y en el caso de las muestras saturadas con la simulación de lluvia ácida la descarga se realizó en dos escalones (200 y 20kPa). El intervalo de tiempo es de 24 horas entre la aplicación de cada escalón y el siguiente (excepto para las cargas aplicadas antes de saturar, donde el intervalo es menor). Todas las muestras tienen 50mm. de diámetro y 20mm. altura, y se extraen de la zona central del cilindro Proctor.



Figura 10. Equipo edométrico y detalle de la célula de carga con la muestra durante el proceso de tallado.

En la figura 11 podemos ver una muestra del ensayo edométrico saturado durante el proceso de simulación de lluvia ácida. El pH de esta simulación es de 3,7, este dato se mide mediante un multímetro (MM40.CRISON), el cual podemos ver en la figura 12.

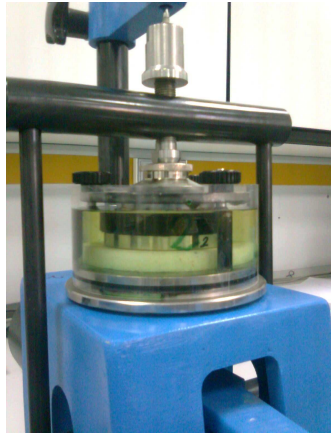


Figura 11: Detalle de ensayo edométrico durante simulación de lluvia ácida



Figura 12: Multímetro utilizado

La deformación vertical de la muestra se mide a través de un comparador. En nuestros ensayos tomamos como lectura inicial 5000 micras. Y esto es así ya que si se diera el caso de que se produzca un hinchamiento en el suelo, nos quedaríamos sin margen de lectura. Lo ponemos en la mitad de su rango de medición, por si hincha o colapsa poder medir.

En la figura 13 podemos observar una imagen del comparador utilizado.



Figura 13: Detalle del comparador utilizado

La preparación de la muestra se debe hacer con la máxima precaución intentando que el procedimiento empleado sea lo más repetitivo y conduzca a muestras idénticas. Para cada ensayo se ha fabricado una muestra tallada con el suelo seleccionado una vez realizado el Proctor. La muestra edométrica es de un tamaño estándar (Diámetro: 50mm, altura: 20 mm) y está confinada lateralmente por un anillo de acero. El anillo con la muestra se introduce en la célula edométrica y se coloca una piedra porosa tanto en la cara superior como en la cara inferior de la muestra. En la figura 14 podemos observar esquemáticamente la célula de un edómetro convencional. Seguidamente se ajusta el cuerpo lateral de cierre (collarín) que queda fijado por tres tornillos. Y finalmente se coloca el pistón de carga que transmite la carga vertical a la muestra (Norma UNE 103405:1994).

En la figura 15 podemos ver una imagen de la célula de carga con la muestra durante el proceso de tallado

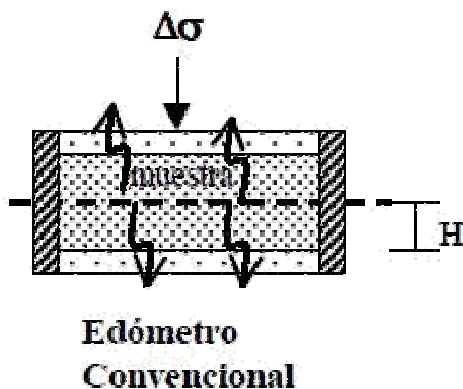


Figura 14: Esquema célula edómetro convencional Figura 15: Detalle del proceso de tallado

En la figura 16 podemos observar una célula edométrica con todos sus componentes.



Figura 16: Célula edométrica.

El drenaje de la muestra se realizará en los dos sentidos, tanto ascendente como descendente, por lo que la distancia que recorrerá el agua o ácido acético, en su caso, será como máxima de 10 mm. (Mitad de la altura de la muestra).

IV. Resultados y discusión.

IV.I Ensayos químicos.

La Tabla 4 muestra los parámetros químicos más importantes del suelo B5 natural y tratado.

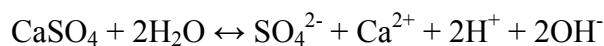
Tabla 4. Parámetros químicos de la muestra ensayada, natural y tratada. (Morales 2009)

Suelo	pH	Conductividad eléctrica (dS/m)	Sales solubles (%)	Sulfatos (%)	Yeso (%)	CaCO ₃ eq (%)	Materia Orgánica (%)	Capacidad de intercambio catiónico (meq/100 gr. Suelo)
B5	9.4	0.54	0.035	1.13*10 ⁻³	0.91	0.2	0.24	17.8
BT-5	8.88	1.27	0.081	23.13*10 ⁻³	0.12	2.6	0.07	22.3

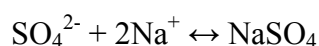
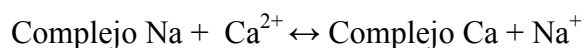
La **conductividad eléctrica** (CE) y las **sales solubles** se muestran directamente proporcionales en el análisis de la muestra. La conductividad eléctrica aumenta y el contenido en sales solubles aumenta.

Se observa también una relación **yesos/sulfatos** que es inversamente proporcional. Se da un descenso en el porcentaje de yesos tras el tratamiento, mientras que el contenido en sulfatos aumenta. Esto se justifica de la siguiente manera:

El yeso se disuelve a pH alcalino, además su solubilidad no muy elevada hace que vaya pasando lentamente a la solución y su efecto sea prolongado. El yeso al solubilizarse se disocia de la siguiente forma:



El calcio liberado se intercambia con el sodio del complejo de cambio y aquel se combina con el exceso de sulfato para formar sulfato sódico:



La cristalización de CaCO₃ reduce la concentración de calcio en la solución y, en consecuencia, favorece la disolución de más yeso. A su vez, las nuevas condiciones de pH que hacen que precipite el carbonato de calcio de la fase fluida conducen a que la cristalización de CaCO₃ continúe. Los procesos de disolución-cristalización definen un bucle

que se retroalimenta y que continuará funcionando mientras que la concentración de carbonato en la solución sea suficientemente alta y siga quedando yeso que disolver. Las reacciones que se producen en el suelo pasan por la incorporación del calcio a la partícula adsorbente y la liberación del sodio a la solución.

La **capacidad de intercambio catiónico (CIC)** aumenta, puesto que los cationes divalentes de Ca^{2+} presentes en el yeso, posiblemente desplazan a los de sodio hacia la solución del suelo. Sin embargo el contenido de materia orgánica ha disminuido.

La estimación de los **carbonatos** ha planteado ciertas dificultades, por la variabilidad e influencia de ciertos factores como pueden ser la presión y temperatura. Los resultados presentados han sido obtenidos según el método de calcímetro de Bernard según la norma UNE 103200:1993 y observando los resultados se ha dado un aumento considerable en la concentración de carbonatos.

IV.II Resultados químicos y mineralógicos del suelo B-5.

- ❖ Humedad de la muestra recibida, determinada mediante utilización de balanza termogravimétrica por calentamiento de infrarrojos a 110 °C: 2.23 % en peso.
- ❖ Pérdida por calcinación a 300 °C durante 1 hora: 0.59 % en peso.
- ❖ Pérdida por calcinación a 600 °C durante 1 hora: 2.50 % en peso.
- ❖ Pérdida por calcinación a 1000 °C durante 1 hora: 3.72 % en peso.
- ❖ Color de cocción: marrón claro.
- ❖ Para la determinación del contenido de fases minerales de la muestra, se realizó el difractograma de Rayos X (DRX) de la muestra original tal y como se recibió, es decir, con el contenido inicial de humedad y sin moler.
- ❖ También se realizó el DRX a la muestra seca en estufa a 110 °C y posteriormente molida en mortero de ágata. Para mayor apreciación de silicatos laminares se realizó un agregado orientado en agua de dicha muestra.

- ❖ Los resultados del análisis mineralógico cualitativo confirman la presencia de mica illita, clorita, cuarzo, feldespato (albita) como componentes más destacados (Figura 17).

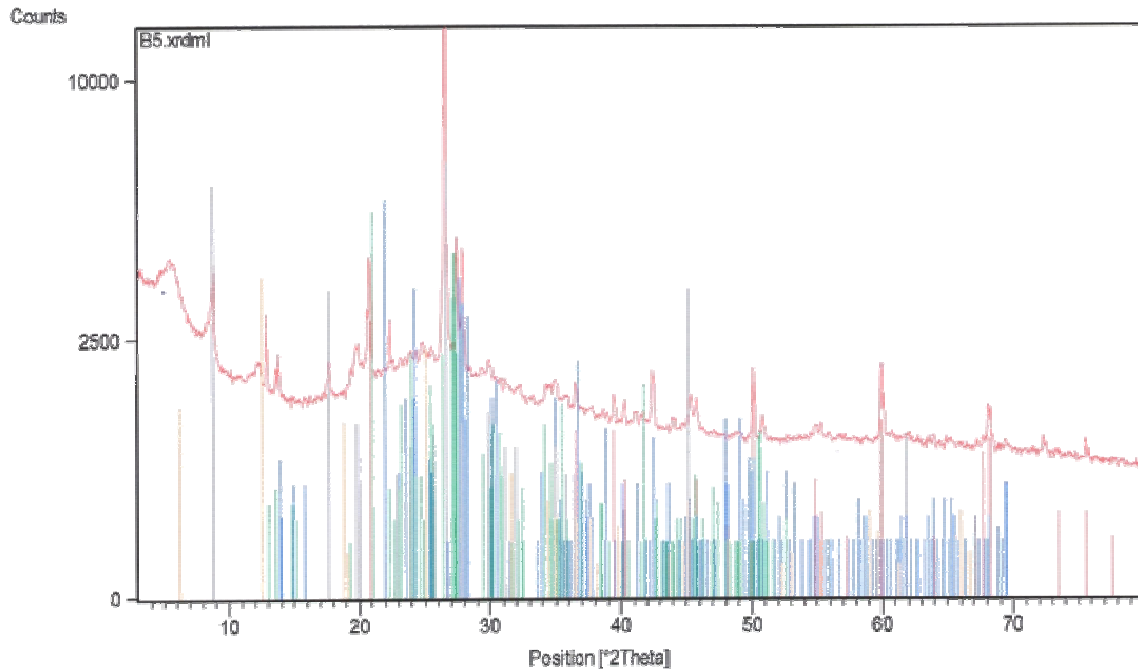


Figura 17. Composición mineralógica de la muestra B-5.

Para aclaración, se ha utilizado:

- Azul: Feldespatos Na-K
- Gris: Illita
- Naranja: Clorita
- Verde: Cuarzo

Se ha realizado una estimación semicuantitativa sobre el difractograma en polvo desorientado, arrojando los resultados presentados en la Tabla 5. Se han identificado feldespatos, además de cuarzo y los silicatos laminares clorita (clinocloro) e illita.

Existen también fases minerales interestratificadas como en las muestras precedentes, posiblemente de tipo binario como pueden ser illita-clorita o illita-montmorillonita a falta de análisis posteriores.

En este caso se aprecia un mayor fondo en el difractograma probablemente asociado a la presencia de fases amorfas (no cristalinas), como pueden ser los geles de óxido de hierro, por ejemplo.

Tabla 5. Estimación semicuantitativa de la composición mineralógica de la muestra B-5.

Mineral	Cuarzo (Q)	Albita (Al)	Microclina	Mica Illita (I)	Clorita (Cl)	Interestratificados
Porcentaje (%)	20	20	20	10	20	10

El análisis químico por EDX mostró la predominancia de Silicio, Hierro y Aluminio, lo que se asocia al cuarzo (SiO_2) libre identificado por DRX, a la Albita ($\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$) y a la Microclina (KAlSi_3O_8). El calcio se asocia con la calcita (Figura 18).

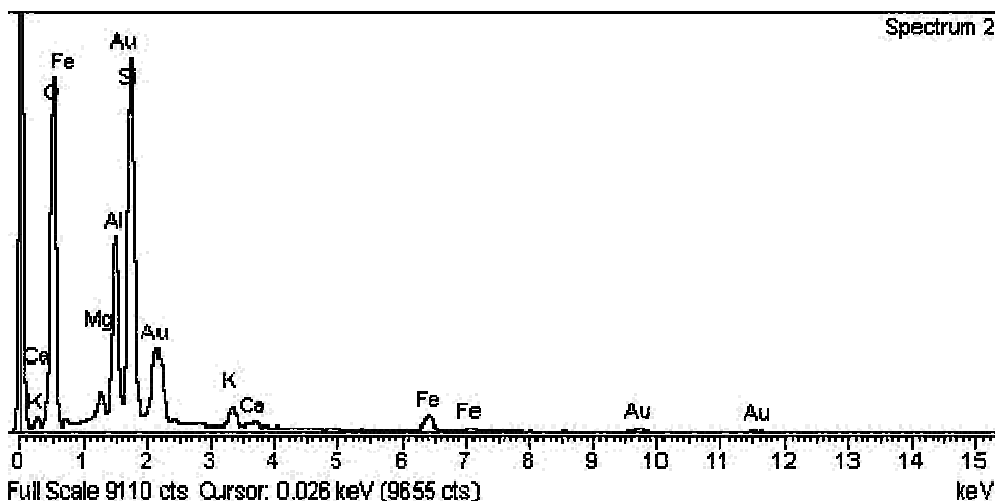


Figura 18. Composición química elemental de la muestra B-5, determinada mediante EDX.

Asimismo, se prepararon dos pastillas por prensado empleando alícuotas de esta muestra y un soporte de ácido bórico, en las condiciones habituales, para realizar el análisis químico por Fluorescencia de Rayos X (FRX). Una vez registradas las señales de los distintos elementos, junto a los patrones más adecuados para este tipo de muestras, se llevó a cabo la evaluación cuantitativa del contenido en peso de los elementos identificados (mayoritarios y minoritarios) en porcentaje en peso. Los resultados se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición química de la muestra B-5, determinada por FRX.

MUESTRA B-5	SUMA	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	P ₂ O ₅	As	Ba
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)
	98,89	65,7	18,89	4,94	0,05	2,21	1,29	0,82	3,83	0,66	0,13	9	624
Dy	Er	Eu	F	Ga	Gd	Hf	La	Lu	Mo	Nb	Ni	Pb	
(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	
2	2	1	1698	27	4	5	22	0	1	15	43	26	

IV.III Resultados de microscopia de barrido de los suelos B-5 y BT-5.

Los resultados de microscopia electrónica de barrido a 80 y 3.500 aumentos muestran una superficie homogénea de partículas (Fotografía 19 y 20).

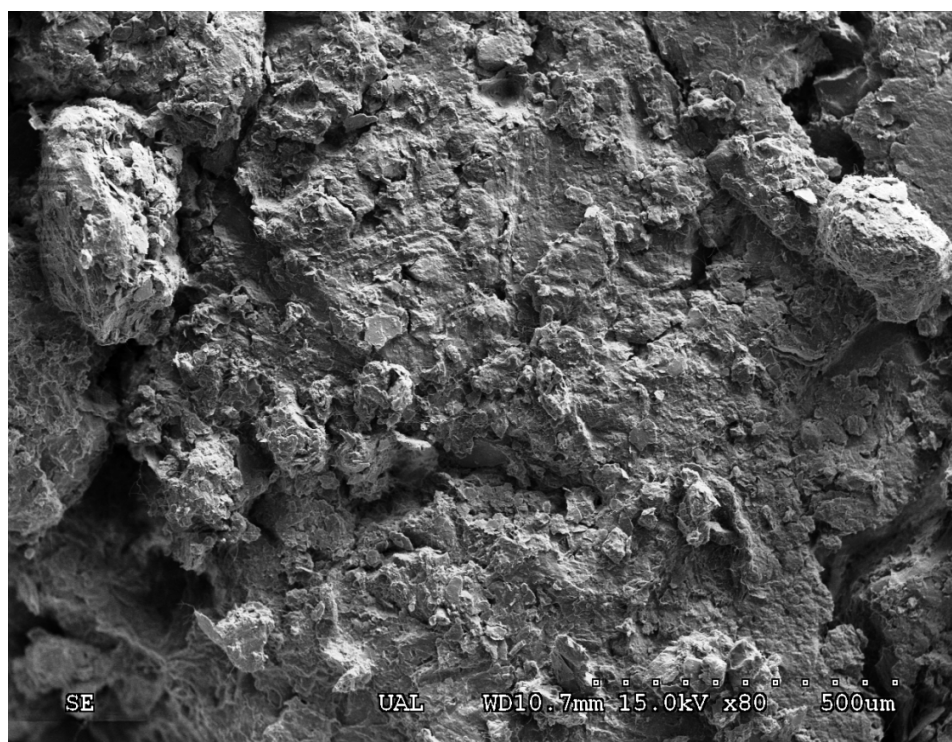


Figura 19. Muestra B-5 observada al Microscopio electrónico de barrido, a 80 aumentos.

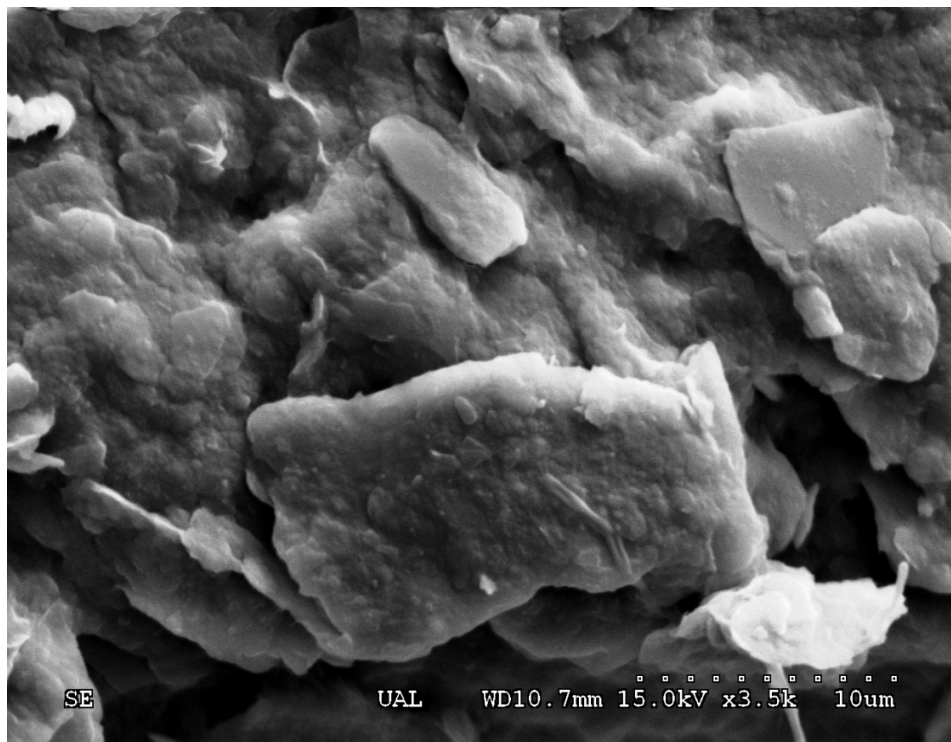


Figura 20. Muestra B-5 observada al Microscopio electrónico de barrido, a 3.500 aumentos.

Las figuras 21 y 22 muestran imágenes obtenidas por SEM a 80 y 3.500 aumentos. La muestra BT-5, también presenta cierto contenido en CaCO_3 tras ser tratada con la bacteria. En la imagen de detalle a 3.500 aumentos los CaCO_3 recubren las partículas de suelo casi en su totalidad, observándose cristales de calcita con formas fibrosas y laminares.

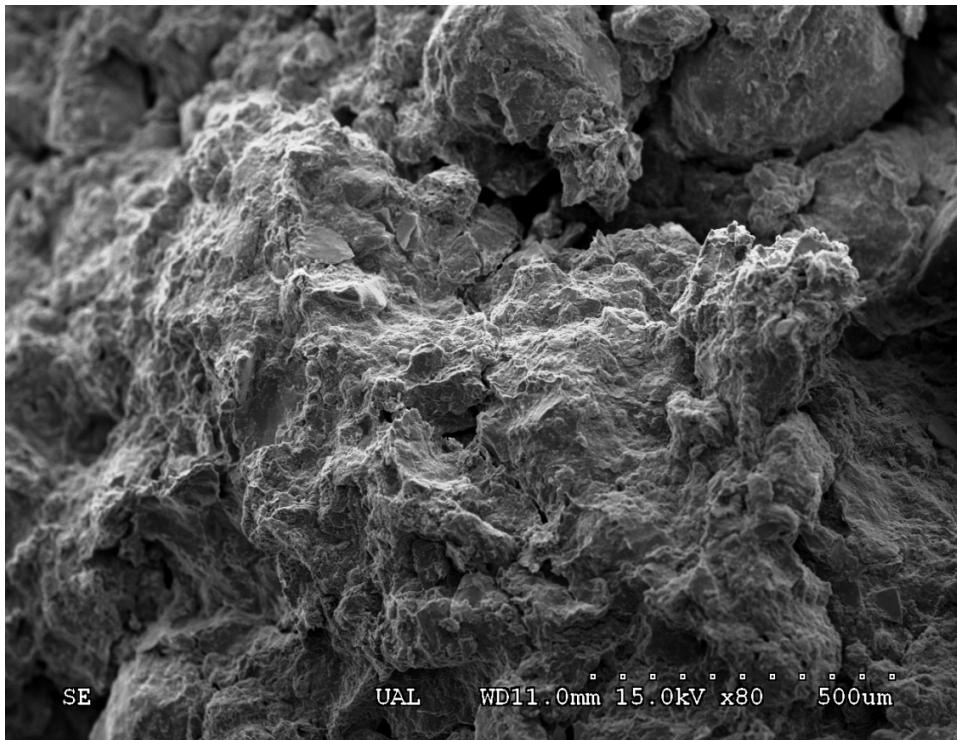


Figura 21. Muestra BT-5 observada al Microscopio electrónico de barrido, a 80 aumentos.

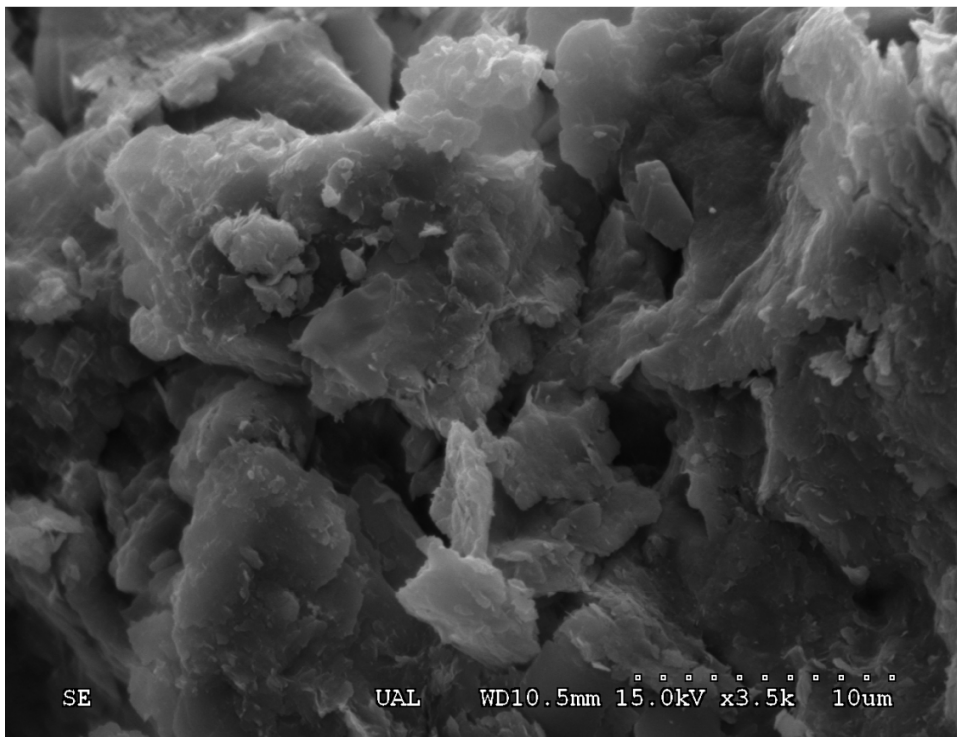


Figura 22. Muestra BT-5 observada al Microscopio electrónico de barrido, a 3.500 aumentos.

IV.IV Ensayos de identificación.

El suelo natural usado en las pruebas es una arena limo-arcillosa, según el método de clasificación de Casagrande. En la figura 23 se indican los resultados de las fracciones que pasan por los tamices #4, #40 y #200 ASTM, tanto para el suelo tratado como sin tratar, y se observa que en el suelo tratado disminuye el porcentaje que pasa por estos tamices.

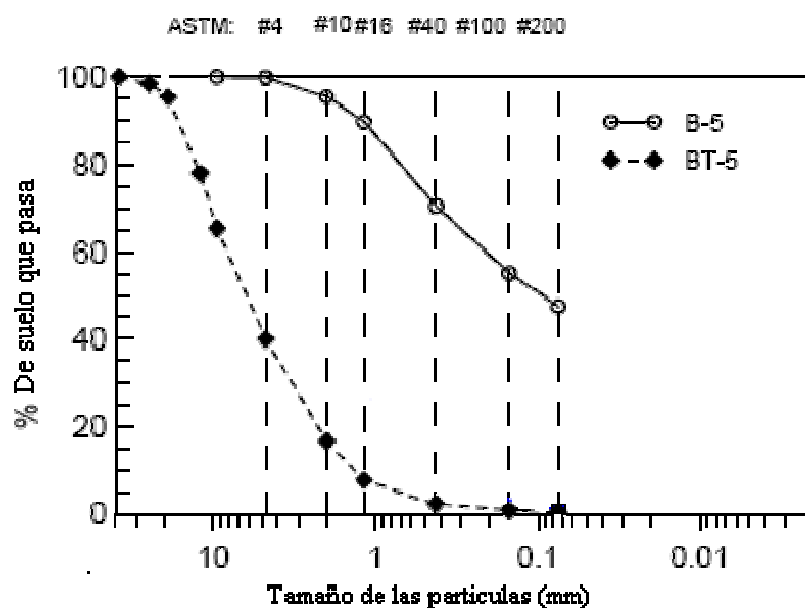


Figura 23: Distribución de tamaño de grano del suelo natural (B-5) y del suelo tratado (BT-5)

En la tabla 7 se presentan los resultados obtenidos de límite líquido (w_L), índice de plasticidad (IP), porcentaje de carbonato cálcico del suelo ($CaCO_3$), densidad de los sólidos (ρ_s) y superficie específica (S_s). La superficie específica se relaciona con el límite líquido del material (método BET y método Langmuir). Los efectos que el tratamiento microbiológico tiene sobre el suelo, se basan en la disminución del índice de plasticidad (suelos menos plásticos), aumento del contenido de carbonatos, como consecuencia de la hidrólisis de la urea, incremento en la densidad de los sólidos y reducción de la superficie específica.

La mayor superficie específica del suelo natural, está asociada con una mayor higroscopicidad (la superficie específica permite absorber agua) y una mayor capacidad de sufrir cambios de expansión del volumen en el proceso de humedecimiento. De forma, que el tratamiento permite obtener suelos más estables.

Tabla 7: Características físicas de las muestras

Sample	w_L	PI	CaCO ₃	ρ_g	S_s (m ² /g)	
	(%)	(%)	(%)	(Mg/m ³)	BET	Langmuir
B-5	48.	30.	4.5	2.73	33.1	45.9
BT-5	49.	29.	6.4	2.74	31.8	43.7

w_L : Límite líquido (%); PI: Índice Plástico (%); ρ_g : Densidad de los sólidos (Mg/m³); S_s : Superficie específica

En la figura 24, se muestran las curvas de compactación obtenidas para diferentes niveles de energía Proctor. Se presentan las curvas de compactación a energía Proctor normal para los suelos B-5 y BT-5, así como las curvas correspondientes con la mitad de energía Proctor normal (1/2PN) y al doble de la energía Proctor normal (2xPN), para el suelo natural.

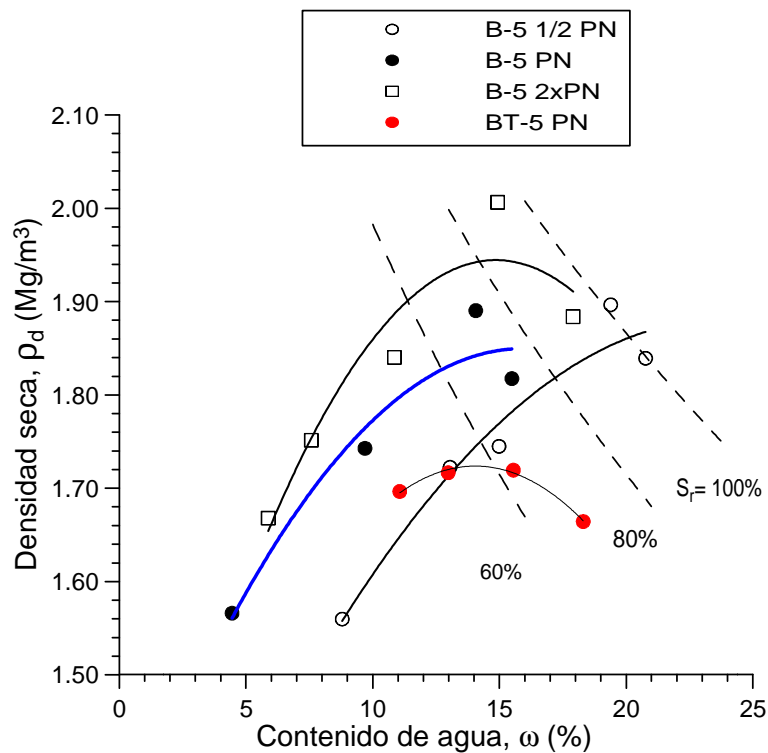


Figura 24: Curvas de compactación Proctor. (Morales et al. 2010)

Los resultados ponen de manifiesto, que parte de esa energía de compactación se disipa, rompiendo parte de los grumos de suelo formados durante el tratamiento microbiológico, de forma que llega a ser similar a la energía 1/2PN.

La humedad óptima (w_{opt}), índice de poros (e) y densidad (ρ_d : seca y ρ_{sat} : saturada) de los materiales analizados se indican en la Tabla 8.

Tabla 8. Humedad (w), índice de poros (e) y densidad de los materiales compactados a energía PN (ρ_d y ρ_{sat}).

Muestra	w (%)	e	ρ_d (g/cm ³)	ρ_{sat} (g/cm ³)
B-5	15.00	0.473	1.85	2.171
BT-5	14.19	0.581	1.73	2.097

El **pH** es alcalino, lo que implica que el sodio predomina sobre el resto de cationes de cambio, aunque a veces el ión predominante es el magnesio. Sin embargo la **conductividad eléctrica** es muy baja que corresponde con un suelo sin ninguna salinidad. El contenido de **materia orgánica** se considera muy bajo (<0,5%). La **capacidad de intercambio catiónico** es bajo, ya que se trata de un suelo de textura fina (USDA). De los datos de materia orgánica, sales solubles, yeso, hinchamiento y límites de Atterberg hacen que se clasifique este suelo como tolerable. Cuando se estabiliza con bacterias (BT-5) baja el **pH** pasando a ligeramente alcalino y la **capacidad de intercambio catiónico** pasa a ser normal. Y los contenidos de **yesos** y **materia orgánica** caen bruscamente, pero sin embargo la **concentración de carbonatos** aumenta espectacularmente debido a la acción de las bacterias. Con estos parámetros físico-químicos el suelo sigue siendo tolerable, ya que el valor del límite líquido supera en un 9% lo establecido en el PG3.

IV.V Ensayos mecánicos.

La figura 20 muestra la evolución del índice de poros (e) frente a la tensión vertical neta/efectiva (σ_v) correspondiente a las muestras de suelo B-5/BT-5. La figura indica la compresibilidad, en términos de la variación del índice de poros con respecto a la variación del logaritmo natural de la tensión para las ramas de carga antes de la inundación, de carga noval después de la inundación y descarga elásto-plástica. Para cada suelo, se realizan tres ensayos de colapso, en los que se saturan las muestras a 100, 200 y 300kPa de tensión vertical y un ensayo edométrico en el que se estudia el comportamiento elastoplástico de los suelos sometidos a diferentes cargas de tensión neta efectiva vertical e inundando los suelo a 100kPa.

A medida que aumenta la carga, el índice de poros disminuye, con lo cual el suelo es cada vez más rígido.

La muestra sufre una deformación elástica hasta el momento en que se produce la inundación, ya sea con agua o con ácido acético. En el momento de la inundación se produce un efecto de colapso en la muestra, a partir de la cual se dan deformaciones irreversibles, deformación elasto-plástica.

Una vez inundado, la muestra se satura y seguimos manteniendo la carga, en la grafica podemos observar que cuanto más carga añadimos mas se reduce el índice de poros, y una vez comenzamos con la descarga el índice de poros comienza a aumentar, pero este aumenta de una forma más leve y nunca llegando a su estado de índice de vacíos inicial.

Podemos observar que el colapso es mucho mayor en la muestra natural que en las muestras tratadas, y esto lo podremos observar aun mejor en la figura 21, donde la diferencia del colapso normalizado frente a la carga, entre B-5 y BT-5, es mucho mayor para el rango de índice de vacíos más pequeños. A pesar de obtener estructuras más abiertas tras la compactación, el colapso en BT-5 es menor que para el suelo natural, B-5, tendencia que se incrementa para índices de vacíos más pequeños.

La evolución temporal del desplazamiento vertical para los diferentes escalones de tensión vertical aplicados sobre las muestras (sólo a carga 100kPa) se muestran en la siguiente grafica (Figura 25):

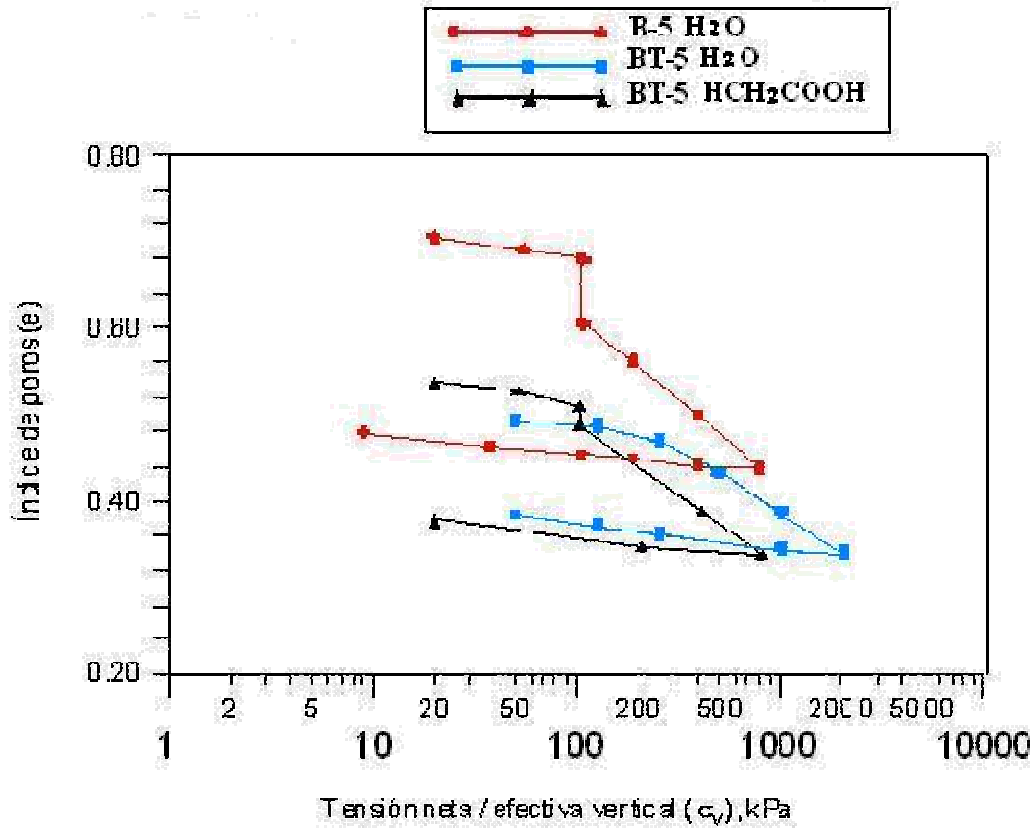


Figura 25: Gráfica de edómetro para B-5 Agua, BT-5 Agua, y BT-5 ácido acético con colapso a 100 kPa

En la figura 25 se observa que el índice de vacíos inicial influye también en la magnitud del colapso. Las ramas de descarga de los suelos tratados, muestran una mayor pendiente y, por tanto, una mayor capacidad de recuperación elástica.

La figura 26 muestra la evolución del índice de vacíos (e_0) (en el momento en que se produce la inundación), según el colapso/Tensión vertical $\Delta \Sigma_{\omega}/v_v$ (kPa^{-1}), correspondiente a las muestras B-5/BT-5 agua y BT-5 ácido acético. La figura indica la colapsabilidad en términos de la variación del índice de poros con respecto a la variación del logaritmo natural del colapso en función de la tensión vertical para suelo natural y tratado.

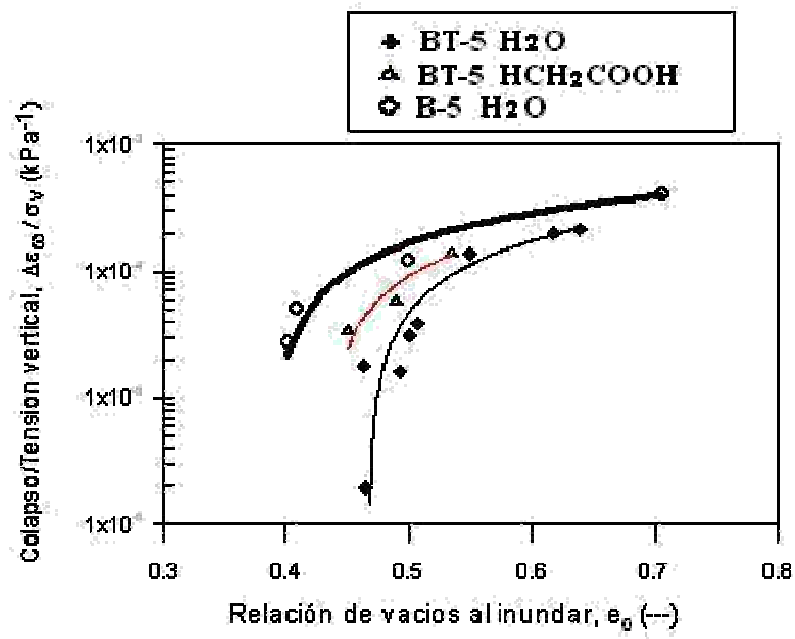


Figura 26: Gráfica de colapso para los suelos B-5 y BT-5 colapsando con agua, y BT-5 colapsando con ácido acético.

V. Conclusiones.

El tratamiento microbiológico aplicado al suelo investigado en el presente estudio mejora considerablemente las propiedades químicas, físicas y mecánicas del suelo. Se ha observado que a pesar del corto periodo de curado (7 días) del suelo en cámara húmeda, los microorganismos son capaces de generar un producto cementante de CaCO_3 capaz de alterar todas estas propiedades.

A nivel mineralógico y químico, el tratamiento es capaz de mejorar determinados parámetros como el contenido en yesos y materia orgánica, considerados en sistemas de clasificación de suelos para su uso como por ejemplo el PG3.

También mejora determinados parámetros de identificación del suelo. Se obtienen suelos más granulares y menos propensos a la deformación.

El tratamiento microbiológico disminuye un efecto no deseado en suelos como es el colapso. Los cristales de carbonato cálcico precipitados se distribuyen por el espacio poroso, como material de relleno, disminuyendo dicho espacio poroso, incluso llegando a hacerlo desaparecer para un tamaño de poros determinado, según los resultados obtenidos por Morales et al., 2010. Estos resultados, ponen de manifiesto, que parte de los cristales formados se rompen durante el proceso de compactación, dando lugar a un proceso de “filling” de los poros, que justifica que el colapso obtenido para el suelo BT-5 sea menor que para el suelo natural B-5.

Los resultados presentados son coherentes con aquellos obtenidos en Morales et al. 2010, donde se sugiere que la precipitación de carbonato de calcio por parte de las bacterias se lleva a cabo en los poros del suelo, los cuales son un poco más grandes que las dimensiones características de las propias bacterias, alrededor de $1 \div 2 \mu\text{m}$.

Como resultado, la distribución del tamaño de los poros del suelo cambia en el rango de $3 \mu\text{m} \div 30 \mu\text{m}$, donde el poro tiende a desaparecer. El cambio producido en la función de densidad de los poros, se refleja en el comportamiento mecánico del suelo tratado, que presenta características típicas de un suelo más denso que las presentadas en un suelo natural, sin tratar. La compresibilidad, observada en el edómetro, es sistemáticamente inferior, siendo así diferente del suelo natural.

En el caso de la simulación con lluvia ácida en un suelo tratado, cuando inundamos, la acidez del líquido (pH 3,7), destruye algunas partículas de carbonato cálcico generadas por los microorganismos. Las observaciones hechas a partir de los ensayos de colapso, ponen de manifiesto que a pesar de destruir parte de los cristales de carbonato, este daño resulta ser muy leve ya que aun así, el colapso es mucho menor que para el suelo natural inundado con agua.

En conjunto, las pruebas realizadas parecen indicar que la técnica microbiológica puede resultar eficaz en la mejora de las características mineralógicas, químicas y mecánicas de los suelos compactados y puede ser mejorada proporcionando mayor energía de compactación del suelo estabilizado, a fin de obtener un índice de vacíos menor. Pero a pesar de partir de estructuras más abiertas, con índices de vacíos mayores, el tratamiento resulta ser eficiente en la mejora de dichas propiedades.

VI. Bibliografía

- Adolphe, J.P., Billy, C., *Biosynthèse de calcite par une association bactérienne aérobie*. C. R. Acad. Sci. Paris 278, 2873–2875 (1974).
- Adolphe, J.P., Hourimèche, A., Loubière, J.F., Paradas, J., Soleilhavoup, F., Les formations carbonatées d'origine bactérienne. Formations continentales d'Afrique du Nord. Bull. Soc. Geol. Fr. 8 (5), 55–62. (1989).
- Adolphe, J.P., Loubière, J.F., Paradas, J., Soleilhavoup, F., Procédé de traitement biologique d'une surface artificielle. European patent 90400G97.0. (after French patent 8903517, 1989). (1990).
- AENOR. 1999. Geotecnia. Ensayos de Campo y de Laboratorio. Asociación Española de Normalización y Certificación, Madrid.
- Alfaro, M.A. “*Geotecnia en suelos no saturados*”. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 32(125); 471-481. (2008).
- Bachmeier, K.L., Williams, A.E., Warmington, J.R., Bang, S.S., Urease activity in microbiologically-induced calcite precipitation. J. Biotechnol. 93 (2), 171–181. (2002).
- Bang, S.S., Galinat, J.K. & Ramakrishnan, V. Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Bacillus pasteurii*. *Enzyme and Microbial Technology* 28 (4–5): 404–409. (2001).
- Barrera, M. “Estudio experimental del comportamiento hidro-mecánico de suelos colapsables” Director: Lloret Morancho, Antonio. Universitat Politècnica de Catalunya. Departament d'Enginyeria del Terreny, Cartogràfica i Geofísica. (2002).
- Boquet, E., Boronat, A., Ramos-Cormenzana, A., Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a general phenomenon. Nature 246 (5434) ,527–529. (1973).
- Castanier, S., Le Me'tayer-Levrel, G. & J.F. Loubrière. Nouvelles composition pour mortier biologique, procédé de recouvrement d'une surface ou de comblement d'une cavité à l'aide des compositions. French patent No. 95 05861. (1995).
- Castanier, S., Le Me'tayer-Levrel, G. & Perthuisot, J.P. Ca-carbonates precipitation and limestone genesis—the microbiologist point of view. *Sediment. Geol.* 126: 9–23. (1999)
- Clifton, J.R., Frohnsdorff, G.J.C., Stone consolidating materials: a status report. In: Conservation of Historic Stone Buildings and Monuments. National Academy Press, Washington, DC, pp. 287–311. (1982).
- Crawford, C.B.,. State of the art: evaluation and interpretation of soil consolidation tests. In: Yong, R.N., Townsend, F.C. (Eds.), Consolidation of Soils: Testing and Evaluation. ASTM STP, vol. 892. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp. 71–103. (1986).
- Day, J.L., Ramakrishnan, V., Bang, S.S., Microbiologically induced sealant for concrete crack remediation. In: Proc. of 16th Engineering Mechanics Conference, Seattle. (2003).

- De Belie, N., De Muynck, W., Crack repair in concrete using biodeposition. In: Proc. of ICCRR Cape Town, South Africa. (2008).
- De Muynck, W., Cox, K., De Belie, N., Verstraete, W., Bacterial carbonate precipitation as an alternative surface treatment for concrete. *Constr. Build. Mater.* 22 (5), 875–885. (2008).
- De Muynck, W., Verbeken, K., De Belie, N., Verstraete, W., Influence of the calcium dosage on the effectiveness of bacterially induced carbonate precipitation on limestone. *Ecol. Eng.*, doi:10.1016/j.ecoleng.2009.03.025, this issue. (2009).
- De Muynck, W., De Belie, N. y Verstraete, W. *Microbial carbonate precipitation in construction materials: A review*. *Ecological Engineering*, 36: 118–136 (2010).
- DeJong, J. et al. *Bio-mediated soil improvement*. *Ecological Engineering*, 36: 197–210 (2010).
- Delgado, J. *La consolidación de las piedras decaído un problema delicado, con pocas soluciones prácticas*. PB Loureço y Roca P., Editor, Seminario Internacional sobre construcciones históricas, Guimarães, Portugal (2001).
- Dreesen, R., Duser, M., Historical building stones in the province of Limburg (NE Belgium): role of petrography in provenance and durability assessment. *Mater. Charact.* 53 (2–4), 273–287. (2004).
- Drew, G.H. The action of some denitrifying bacteria in tropical and temperate seas, and the bacterial precipitation of calcium carbonate in the sea. *Journal of the marine biological association* 9: 142-155. (1911).
- Ehrlich, H.L. Geomicrobiology: its significance for geology. *Earth science. Reviews* 45:45-60. (1998)
- Ferris F.G and L.G. Stehmeier. Bacteriogenic mineral plugging. United States patent 664769. (1992)
- Ferris FG, Phoenix V, Fujita Y, Smith RW. Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10°C to 20°C in artificial groundwater. *Geochem Cosmochim Acta* 67:1701–1722. (2003)
- Fischer, S., Galinat, J.K., Bang, S.S., 1999. Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biol. Biochem.* 31 (11), 1563–1571.
- Fujita Y, F.G. Ferris, R.D. Lawson, F.S. Colwell and R.W. Smith. Calcium Carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria. *Geomicrobiology journal* 17: 305-318. (2000)
- Gallardo, A. y Garcia L. Lluvia ácida. [En línea] Junio 1999. <http://www.sma.df.gob.mx/simat/pdf/folletolluvia.pdf>
- Gauci, V., *Long-term suppression of wetland methane flux following a pulse of simulated acid rain*. *Geophysical research letters*. vol. 32, doi:10.1029/2005 (2005)
- Gauci. *Centre for Earth. Planetary, Space & Astronomical Research*, Open University, Reino Unido, (2005).
- “Generalidades de la lluvia ácida”. [En línea] <http://www.ideam.gov.co/sectores/Lluvia/LLuviaAcidaGeneralidades.html>

- Ghosh, P., Mandal, S., Chattopadhyay, B.D., Pal, S. Use of microorganism to improve the strength of cement mortar. *Cem. Concr. Res.* 35 (10), 1980–1983. (2005).
- Gollapudi U.K., C.L. Knutson, S.S. Bang and M.R. Islam. A new method for controlling leaching through permeable channels. *Chemosphere* 30: 695-705. (1995)
- González, M. *El Terreno*. Edicions UPC, Barcelona (2001).
- Graham, J., Li, E.C.C. Comparison of natural and remolded plastic clay. *Journal of Geotechnical Engineering, ASCE* 111 (7), 865–881. (1985)
- Gray, D. *Microbial Stabilization*. University of Michigan, USA. (2001).
- Hammes F. y W. Verstraete, las funciones clave del pH y el metabolismo del calcio en la precipitación de carbonato microbiana, *Rev. Medio Ambiente. Ciencia. Biotechnol.* 1, pp 3-7. (2002)
- Hart R.T., T. Fekete and D.L. Flock. The plugging effect of bacteria in sandstone systems. *The Canadian Mining and metallurgical Bulletin* July: 495-501. (1960)
- Holtz, R.D., Jamiolkowski, M.B., Lancelotta, R. Lessons from oedometer tests on high quality samples. *Journal of Geotechnical Engineering, ASCE* 112 (8), 768–776. (1986).
- Jack, T.R., Stehmeier, L.G., Ferris, F.G., Islam, M.R., 1991. Microbial selective plugging to control water channeling. In: Donaldson (Ed.), *Microbial Enhancement of Oil Recovery-Recent Advances*. Elsevier Science Publishing Co., New York.
- Jonkers, H., 2007. Self healing concrete: a biological approach. In: van der Zwaag, S. (Ed.), *Self Healing Materials: An alternative Approach to 20 Centuries of Materials Science*. Springer, Netherlands, pp. 195–204.
- Jonkers, H.M., Schlangen, E., 2007. Crack repair by concrete-immobilized bacteria. In: Schmits, A.J.M., Van der Zwaag, S. (Eds.), *Proc. of First International Conference on Self Healing Materials*. Noordwijk, The Netherlands, p. 7.
- Jonkers, H.M., Thijssen, A., Copuroglu, O., Schlangen, E., 2008. Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. In: *Proc. of First International Conference on BioGeoCivil Engineering*, Delft, The Netherlands, p. 25.
- Kantzas, A., Ferris, F.G., Jha, K.N., Mourits, F.M., 1992. A novel method of sand consolidation through bacteriogenic mineral plugging. In: *Proc. of CIM Annual Technical Conference*, Calgary.
- Kucharski ES, Cord-Ruwisch R, Whiffin V, Al-Thawadi SMJ.. *Microbial Biocementation*. World Patent 066326. (2006)
- Lappin-Scott H.M., F. Cusack and J.W. Costerton. Nutrient resuscitation and growth of starved cells in sandstone cores: a novel approach to enhanced oil recovery. *Applied and environmental Microbiology* 54: 1373-1382. (1988)
- Le Metayer-Levrel G., S.Castanier, G. Oriol, J.F. Loubrière and J.P. Perthuisot.. Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony. *Sedimentary geology* 126: 25:34. (1999).
- “Lluvia ácida.” [En línea]
http://www.fisicanet.com.ar/astronomia/planeta_tierra/ar08_lluvia_acida.php.

- McConnaughey, T.A., Whelan, J.F., 1997. Calcification generates protons for nutrient and bicarbonate uptake. *Earth Sci. Rev.* 42 (1–2), 95–117.
- Mitchell, J.K., Sitar, N. Engineering properties of tropical residual soils. ASCE Geotechnical Engineering Specialty Conference on Engineering and Construction in Tropical and Residual Soils, Hawaii, pp. 30–57. (1982)
- Mobley H.L.T. and R.P. Hausinger. Microbial ureases: Significance, regulation and molecular characterization. *Microbiological Reviews*: 53:85-108. (1989).
- MOPU. Pliego de Prescripciones Técnicas Generales para Obras de Carreteras y Puentes (PG3). Dirección General de Carreteras, Secretaría General Técnica, Servicio de Publicaciones, Madrid. (1991).
- Morales, L. y Garzón, E., *Aplicación de herramientas biotecnológicas en la estabilización de suelos utilizados en obras lineales.*(2009)
- Morales, L., E. Garzon, E. Romero y C. Jommi. *Effects of a microbiological compound for the stabilisation of compacted soils on their microstructure and hydro-mechanical behaviour.* (2010)
- Nemati, M., Voordouw, G., Modification of porous media permeability, using calcium carbonate produced enzymatically in situ. *Enzyme Microb. Technol.* 33 (5), 635–642. (2003).
- Nemati M, Voordouw G. Permeability profile modification using bacterially formed calcium carbonate: comparison with enzymic option. *Proc Biochem* 40:925–933. (2005).
- Nielsen T.H., T.A. Bonde and J. Sorensen. Significance of microbial urea turnover in N cycling in three Danish agricultural soils. *FEMS Microbiology ecology* 25:147-157. (1998)
- Oriol, G., Vieweger, T., Loubiere, J.F., 2002. Les mortiers biologiques: une solution pour la conservation de la sculpture monumentale en pierre. *Art Biology and Conservation*, Metropolitan Museum, New York.
- Ramachandran SK, Ramakrishnan V, Bang SS. Remediation of concrete using microorganisms. *ACI Mater J* 1:3–9. (2001).
- Rivas, M.A. et al., *Precipitación de carbonato de calcio por especies de Vibrio de un salinas continentales*, *FEMS Microbiol Ecol* 13 (3) pp 197-204 (1994),
- Rodríguez-Navarro C., M. Rodríguez Gallego, K.B. Chekroun and M.T. Gonzalez Muñoz. Conservation of ornamental Stone by *Myxococcus xanthus* induced Carbonate biomineralisation. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2182-2193. (2003).
- Rookovodstvo po proektirovaniyu osnovanij zdanij i soroozhenij (Guidance for Structure Bases Design), Moscow, Russia, 376 pp (in Russian). (1977).
- Saiz-Jimenez, C., 1997. Biodeterioration vs biodegradation: the role of microorganisms in the removal of pollutants deposited on historic buildings. *Int. Biodeter. Biodegr.* 40 (2–4), 225–232.
- Schmertmann, J.H. The undisturbed consolidation behavior of clay. *Transactions, American Society of Civil Engineers* 120, 1201–1227. (1955).
- Serrano, F. “El lenguaje de las grietas”. Ed. Fundación Escuela de la Edificación (1998)

- Shinano, H., 1972. Studies of marine microorganisms taking part in the precipitation of calcium carbonate. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 38, 717.
- Stocks-Fischer, S., Galinat, J.K. & Bang, S.S. Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biology and Biochemistry* 31:1563–1571. (1999).
- Tiano, P., Biagiotti, L. & Mastromei, G. Bacterial biomediated calcite precipitation for monumental stones conservation: methods of evaluation. *Journal of Microbiological Methods* 36: 139-145. (1999).
- Vargas, M., Structurally unstable soils in Southern Brazil. Proceedings of the Eight International Conference on Soil Mechanics and Foundation Engineering, Moscow, Russia, vol. 2.2, pp. 239–246. (1973).
- Vaughan, P.R., Mechanical and hydraulic properties of in-situ residual soils. Proceedings of the First International Conference on Geomechanics in Tropical Lateritic and Saprolitic Soils, Brazil, pp. 1–33. (1985).
- Volodymyr Ivanov, Jian Chu. *Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ*. *Rev. Environ Sci Biotechnol*, 7: 139–153. (2008).
- Warren L.A., P.A. Maurice, N. Parmar and F.G. Ferris. Microbially mediated calcium carbonate precipitation: Implications for interpreting calcite precipitation and for solid-phase capture of organic contaminants. *Geomicrobiology Journal* 18:93-115. (2001).
- Warscheid, T., Braams, J., 2000. Biodeterioration of stone: a review. *Int. Biodeter. Biodegr.* 46 (4), 343–368.
- Weiner, S. & Addadi, L. Design strategies in mineralized biological materials. *Journal of Materials Chemistry* 7(5): 689-702. (1997).
- Whiffin, V. *Microbial CaCO₃ Precipitation for the production of biocement*. School of Biological science and Biotechnology. Ph.D thesis: Murdoch University Western Australia. (2004).
- Whiffin, V., Leon A. van Paassen and Marien P. Harkes. *Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique*. *Geomicrobiology Journal*, 24: 1–7. (2007)
- Yakov M. Reznik. *Influence of physical properties on deformation characteristics of collapsible soils*. *Engineering Geology*, 92 © 2007 Elsevier B.V. 27–37.(2007).
- Zhong, L., Islam, M.R., 1995. A new microbial plugging process and its impact on fracture remediation. In: Proc. of Society of Petroleum Engineers. Annual Technical Conference, Dallas, Texas, pp. 703–715.