

erriaren ia zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

**Técnicas espectroscópicas
portátiles y de alta resolución para
estudiar el papel de las
condiciones bioambientales en la
degradación de nuevos materiales
pétreos de construcción**

Iratxe Ibarondo Armendia

Marzo 2020



Departamento de Química Analítica

Técnicas espectroscópicas portátiles y de alta resolución para estudiar el papel de las condiciones bioambientales en la degradación de nuevos materiales pétreos de construcción

Memoria para optar al título de Doctor

Iratxe Ibarondo Armendia

Marzo 2020

AGRADECIMIENTOS

Mi ama y mi aita, que en paz descansen, me transmitieron muchos valores esenciales para la vida. Y uno de los más importantes, sin duda, es ser agradecida.

En primer lugar, quería transmitir mi más sincero agradecimiento a los directores de esta Tesis, Juan Manuel Madariaga e Irantzu Martínez. A ti Juanma, por no haber perdido en ningún momento la confianza en mis posibilidades de llevar a término esta Tesis. Quiero que sepas que tus palabras de ánimo en los momentos que he estado a punto de tirar la toalla han sido claves para llegar a este punto y que estaré eternamente agradecida de toda la ayuda que me has prestado. Y, a ti Iran, decirte que, desde que tuve la suerte de tenerte como profesora he aprendido el lado más amable de la química. Pero no sólo de la química. Gracias también por haberme enseñado mucho de lo que hoy sé de la vida, compartiendo conmigo tanto los buenos como los malos momentos vividos. Espero seguir disfrutando de tus abrazos reconfortantes y de tus risas contagiosas.

Quería agradecer también a todas mis amigas, mis compañeros y compañeras, mis profesores y profesoras, que me han guiado para ser mejor química, mejor compañera y mejor persona. El cariño que me habéis transmitido y el esfuerzo y la colaboración que, directa o indirectamente, habéis puesto en este trabajo han sido también esenciales.

Para finalizar con los agradecimientos personales, quiero dar las gracias también a los cuatro pilares que componen mi pequeña familia. Gracias por aguantar mis malas leches y mis vacíos. Gracias por vuestras palabras de ánimo y por todo el cariño que me habéis dado, aun sin saber muy bien qué es una Tesis. Sin vosotros esto no habría sido posible. Me queda devolveros todo este tiempo que no hemos podido disfrutar juntos.

El trabajo recogido en esta memoria se ha podido realizar gracias también al apoyo económico recibido desde diversas Instituciones, sin el cual esta Tesis Doctoral no habría salido como aquí se presenta.

En primer lugar, quisiera agradecer a la Universidad del País Vasco – Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) la financiación recibida por la beca predoctoral de la Convocatoria 2007 (periodo de disfrute 2008-2011) para la realización de la Tesis Doctoral en base al proyecto: *Caracterización, Diagnóstico y Limpieza de nuevos Materiales de base Pétreo, localizados en Edificación Moderna con Afección Ambiental relacionada con el Cambio Climático.*

En segundo lugar, quisiera agradecer a varios proyectos financiados por el Plan Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación, que han aportado fondos para cubrir los costos de ejecución, y de los cuales he formado parte del equipo de Trabajo:

- IMDICOGU, *Metodologías Analíticas Innovadoras para Diagnosticar el impacto de Gases de Combustión y GHG en Edificios Urbanos* (ref. BIA2008-06592), Enero 2009 a Diciembre 2011.
- DEMBUMIES, *Deterioro de Materiales Pétreos de Construcción inducidos por Contaminantes Ambientales Urbanos* (ref. BIA2011-28148), Enero 2012 a Diciembre 2014.
- DISILICA-1930, *Metodologías Analíticas Innovadoras para Diagnosticar el impacto de Contaminación sobre Materiales de Construcción pre-1930 e base Silicato: hacia nuevos procesos de limpieza* (ref. BIA2014-59124-P), Enero de 2015 a Diciembre de 2017.
- MADyLIN, *Metodologías Analíticas de Diagnóstico y Procesos de Limpieza Innovadores aplicados a superficies inorgánicas pertenecientes al Patrimonio Construido con afección antrópica* (ref. BIA2017-87063-P), Enero de 2018 a Diciembre de 2020.

A mi familia

Índice

Capítulo 1: Introducción	1
1.1. Los materiales de construcción a lo largo de la historia	1
1.2. Influencia del ambiente en el estado de conservación de los materiales de construcción	4
1.2.1. Piedras naturales	4
1.2.2. Ladrillos	5
1.2.3. Cemento y Hormigón	6
1.3. Influencia del ambiente en el estado de conservación de los nuevos materiales de construcción	8
1.3.1 Deterioros promovidos por los gases ácidos Atmosféricos	9
1.3.2 Deterioros promovidos por aguas de infiltración	12
1.3.3 Biodeterioro	18
1.4. Las técnicas espectroscópicas de análisis para evaluar el estado de conservación de los edificios	26
1.5. Bibliografía	30
Capítulo 2: Objetivos	39
Capítulo 3: Metodología	43
3.1. Los emplazamientos y su índice de calidad del aire	44
3.1.1 Cementerio de Nuestra Señora del Carmen de Getxo	45
3.1.2 Campus Universitario de Leioa	48
3.1.3 Cementerio municipal de Bilbao en Derio	49
3.1.4 Axpe	51
3.1.5 Escuela Universitaria de Magisterio de la UPV/EHU de Donostia	53
3.1.6 Forua, Reserva de la Biosfera de Urdaibai	55
3.1.7 Biañez, feligresía del Valle de Carranza (Bizkaia)	56
3.1.8 Pirineos	57
3.2. Descripción de las muestras	57

3.3. Instrumentación	60
3.3.1 Pulidora metalográfica	60
3.3.2 Espectroscopia Raman	60
3.3.3 Difracción de rayos-X (XRD)	65
3.3.4 Fluorescencia de Rayos-X (XRF)	66
3.3.5 Microscopía electrónica de barrido acoplado a espectrómetro de dispersión de energías de rayos-X (SEM-EDX)	68
3.4. Bibliografía	70
Capítulo 4: Protocolo basado en técnicas espectroscópicas in situ para diagnosticar procesos de degradación en elementos estructurales de edificios modernos en restauración	71
4.1. Análisis de los aceros corrugados de Donostia	74
4.2. Análisis del hormigón armado	76
4.3. Análisis de eflorescencias en superficies de ladrillo	86
4.4. Discusión de los resultados y conclusiones	88
4.5 Bibliografía	92
Capítulo 5: Análisis espectroscópico de materiales de construcción de nueva generación sometidos a diferentes niveles de estrés ambiental	97
5.1. Hormigones armados	99
5.1.1. Aceros	99
5.1.2. Pasta de cemento y agregados	105
5.2. Morteros	111
5.3. Ladrillos	120
5.4. Materiales de construcción colonizados	124
5.5. Discusión de los resultados y conclusiones	127
5.6 Bibliografía	133
Capítulo 6: La interfaz líquen-sustrato en líquenes saxícolas de diferentes ambientes: evidencias de biomineralización	137
6.1. Muestreo y clasificación a partir de los análisis XRD	140
6.2. Análisis multicapa XRF de los líquenes <i>Caloplaca</i>	142

6.3. Análisis multicapa Raman de rocas calizas y areniscas carbonatadas pertenecientes a ambientes altamente contaminados	148
6.4. Neoformación de minerales de oxalato de calcio en líquenes <i>Lecanoraceae</i> incrustados en areniscas no-carbonatadas	160
6.5. Discusión de los resultados y conclusiones	164
6.6. Bibliografía	169
Capítulo 7: Desarrollo de un nuevo método basado en imagen Raman de resonancia para evaluar la contaminación atmosférica mediante los carotenoides de los líquenes como bioindicadores	175
7.1. Análisis Raman y comparación de dos fuentes de excitación en los líquenes <i>Lecanora campestris</i> y <i>Lecanora Atra</i>	178
7.2. Medidas Raman del líquen <i>Lecanora Muralis</i> bajo condiciones de resonancia (laser de 514 nm)	182
7.3. Relación entre el contenido en carotenoides y la contaminación ácida medioambiental	189
7.4. Discusión de los resultados y conclusiones	192
7.5. Bibliografía	194
Capítulo 8: Conclusiones integradoras	197
Anexo I: Glosario	203
Anexo II: Contribuciones científicas	207

CAPÍTULO 1

Introducción

1.1 Los materiales de construcción a lo largo de la historia

La historia de la construcción comienza cuando “los hombres teniendo por naturaleza, a diferencia de los otros animales, el no caminar inclinados a la tierra, sino rectos y elevados para ver la magnificencia del cielo y astros; como también, hallándose aptos con sus manos y articulaciones para tratar fácilmente cuanto querían, empezaron unos a disponer sus techados de ramas. Otros a cavar cuevas a la raíz de los montes. Algunos imitando los nidos de las golondrinas y su estructura, con barro y lodo hicieron donde guarecerse. Otros finalmente, que observaban estos abrigos, adelantando un poco más sus invenciones, iban de día en día erigiendo menos mal arregladas chozas: así, que, siendo aquellos hombres de imitadora y dócil naturaleza, gloriándose cada día de sus invenciones, se enseñaban unos a otros las nuevas formas de las casas que

levantaban; y ejercitándose los ingenios en estas emulaciones, las iban de grado en grado mejorando de gusto” [1].

Por lo tanto, las primeras construcciones humanas tenían como objetivo la protección del fuego, para evitar que éste fuese apagado por el viento o la lluvia. Y esa función de protección se ha mantenido inalterada a lo largo de los años. Hemos construido y seguimos construyendo edificios para llevar a cabo actividades del día a día en sitios protegidos del exterior [2].

Los primeros materiales utilizados en la construcción fueron la paja y el barro. El hombre del neolítico descubrió que la arcilla (barro) se ablandaba al mezclarse con agua, y se endurecía al secarse. Este ciclo de ablandamiento- endurecimiento se podía repetir una y otra vez al ir añadiendo agua. Cuando se introducían los bloques de arcilla húmeda dentro de una hoguera por un determinado tiempo, éstos quedaban permanentemente endurecidos al enfriarse y eran resistentes al agua. Se comenzó a utilizar así el adobe [2].

Hacia el año 6000 a.C., la mezcla de cemento con agua, arena y áridos dio como resultado un nuevo material que se podía modelar fácilmente y que, cuando endurecía adquiría características de solidez, resistencia y durabilidad notables. Este nuevo material fue el origen del hormigón. Además, desde la antigüedad, la piedra ha sido uno de los materiales preferentemente utilizados en edificación y escultura. [2,3].

La piedra ha tenido especial significado histórico en aquellas obras con las que se ha pretendido dar testimonio de la época [4]. De esta manera, el pueblo egipcio (año 2600 a.C.) ya utilizaba un mortero, mezcla de arena con materia cementosa, para unir bloques de piedra y levantar sus prodigiosas construcciones. Además, hacia el año 450 a.C., los constructores griegos y romanos descubrieron que ciertos materiales procedentes de depósitos volcánicos, mezclados con caliza, arena y agua, producían un mortero de gran fuerza, capaz de resistir la acción del agua dulce y salada aplicaciones [2,3].

La civilización romana utilizaba el hormigón y las rocas en la construcción de grandes edificios, y también en la red de agua potable y en la evacuación de aguas

residuales. En el año 75 a.C., cuando se construyó el anfiteatro de Pompeya se hizo utilizando anillos de hormigón en su perímetro, además de rocas y otras aplicaciones del cemento. Además, en el año 82 d.C., cuando se construye el coliseo de Roma se hizo utilizando también hormigón en los cimientos, los muros interiores y la estructura, además de morteros para uniones de rocas aplicaciones [2,3].

En el año 1759, un ingeniero de Leeds, en el Reino Unido, desarrolló un nuevo mortero para unir los bloques de piedra del faro de Eddystone. Al cabo de pocos años, el reverendo James Parker creó un nuevo cemento, denominado cemento romano porque se pensaba que era el que se había utilizado en la época romana, se patentó y se empezó a utilizar en diversas obras en el Reino Unido aplicaciones [3].

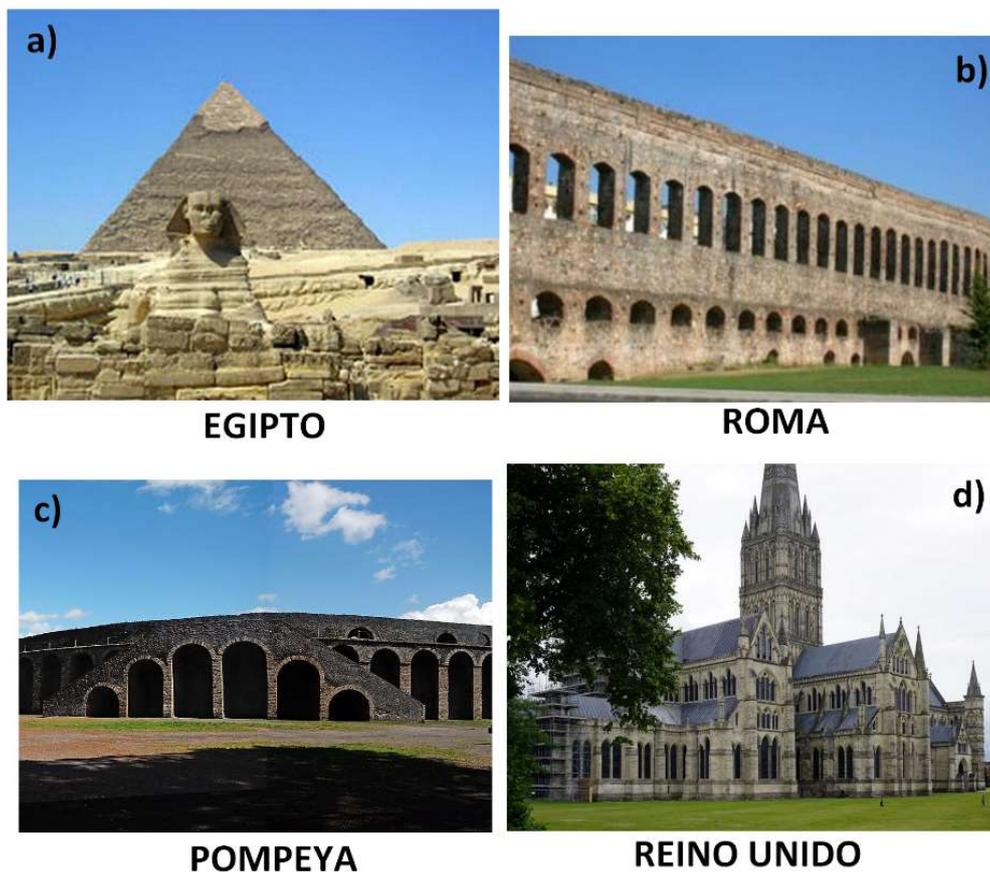


Figura 1.1: ejemplos de usos de piedras, cemento y hormigón en la historia: a) La esfinge y la pirámide de Kefrén en Egipto; b) acueducto de Roma; c) anfiteatro de Pompeya; d) Catedral de Salisbury en Reino Unido.

En el año 1824, James Parker y Joseph Aspdin patentaron un cemento hidráulico artificial, fabricado por la combustión conjunta de rocas calizas y carbón, que denominaron “Portland Cement” por su color oscuro, similar a la piedra de la isla de Portland. En sus inicios, este material no fue demasiado empleado, a causa de su complejo procedimiento de fabricación, que encarecía su producción. Unos años más tarde, y gracias al proceso de industrialización y la introducción de hornos rotatorios, se propició la extensión del uso del hormigón para todo tipo de aplicaciones [3].

1.2 Obtención y fabricación de los materiales nuevos de construcción

1.2.1 Piedras naturales

Las rocas se obtienen directamente desde la tierra. Pueden ser rocas simples cuando están formadas por un solo mineral o rocas compuestas cuando tiene varios minerales esenciales. Desde un punto de vista geológico, las rocas se clasifican en rocas ígneas, procedentes de la solidificación del magma terrestre, como el sílice, el granito y el basalto; rocas sedimentarias formadas tras la fragmentación de otras rocas y posterior transporte, depósito y consolidación, como son las rocas areniscas, calizas y dolomías; y rocas metamórficas como el mármol que se han formado a raíz de la transformación de otras rocas preexistentes en la tierra a valores muy altos de presión y temperatura [5].

La obtención de las rocas se hace a través de las minas. Posteriormente pueden ser cortadas y/o pulidas dependiendo del uso al que están dirigidas. Según su tamaño y propiedades organolépticas (textura, color y homogeneidad) los usos de las rocas van desde sillares, sillarejos y mampostería en estructuras de paredes; cubiertas y tejados si las rocas pueden ser pulidas; adoquines y peldaños en pavimentación; o protección de taludes, márgenes y diques en forma de escolleras [5].

Hoy en día, aunque se siga utilizando las rocas, los materiales de construcción más utilizados son los ladrillos, los cementos y los hormigones.

1.2.2 Ladrillos

Los ladrillos son los materiales cerámicos más comunes. Su proceso de fabricación está basado en tres premisas básicas de hace miles de años donde se combinan la tierra, el agua y el fuego. La fabricación de los ladrillos pasa por las siguientes etapas: extracción y selección de las arcillas, moldeado de la pasta, secado del material crudo y cocción de las piezas. La arcilla es un material natural proveniente de la tierra y que tiene un bajo coste. Está compuesto mayormente por silicatos hidratados de alúmina y por silicatos hidratados de magnesia en menor medida. Dependiendo del tamaño de las partículas de las arcillas se denominan también limos o arenas y la distribución de las tres partes granulométricas debe ser la adecuada para la obtención de ladrillos con las propiedades requeridas. Una vez realizada la selección de las arcillas se le añade agua para comenzar con el proceso de moldeado. Por lo tanto, las arcillas deben ser plásticas y fáciles de moldear. Esta operación puede hacerse a mano o bien por medios mecánicos que prensan y extrusionan la mezcla. Cuando finaliza el proceso de moldeado, se elimina el agua sobrante aireando, ventilando o dejándolo secar en zonas soleadas. Finalmente, se procede a cocer los ladrillos, siendo esta etapa clave para la obtención las propiedades características de los materiales cerámicos. Los ladrillos se cuecen a 800-1200 °C para que ocurra el proceso de vitrificación [6].

Hoy en día hay una gran cantidad de diferentes tipos de ladrillos que tienen diversas aplicaciones. Los ladrillos refractarios se utilizan en el interior de los hornos. También hay ladrillos para su uso en decoración, incluso ladrillos de colores, pero los ladrillos más habituales en construcción son aquellos que se utilizan en los suelos y los tabiques. En su mayoría son ladrillos conglomerados fabricados a base de aglomerantes como el yeso, la cal y el cemento, y ladrillos sílico-calcáreos fabricados con arena silícea y cal [6].

1.2.3 Cemento y hormigón

En términos generales el hormigón se compone de cemento, arena y grava o gravilla. El cemento es un conglomerante artificial formado a partir de una mezcla de caliza y arcilla calcinadas y molidas. El producto resultante de la molienda de estas rocas es llamada clínker y se convierte en cemento cuando se le agrega yeso para que adquiera la propiedad de fraguar al añadirle agua y endurecerse posteriormente. El cemento más utilizado es el cemento portland. La pasta formada por cemento y agua es la que confiere al hormigón su fraguado y endurecimiento, mientras que el árido es un material inerte sin participación directa en el fraguado y endurecimiento del hormigón. Los áridos proceden de la desintegración o trituración, natural o artificial de rocas y, según la naturaleza de las mismas, reciben el nombre de áridos silíceos, calizos, graníticos, etc. El árido cuyo tamaño sea superior a 5 mm se llama árido grueso o grava, mientras que el inferior a 5 mm se llama árido fino o arena. La combinación de cemento, áridos y agua debe ser la adecuada para conseguir una buena distribución granulométrica y una buena relación a/c (agua/cemento en masa). La cantidad de agua a añadir al cemento debe ser suficientemente baja para retener el agua de amasado reduciéndose así la exudación [7].

El hormigón sólo, tiene mucha resistencia a la compresión y es un material muy duro capaz de resistir mucho peso encima. Pero en cambio tiene poca resistencia a la tracción, es un material que tiene poca resistencia a la flexión y que quiebra pronto antes de doblarse. El hormigón armado, también llamado hormigón pretensado, es una solución constructiva que se basa en la combinación de barras de hierro, mallas de acero corrugado o fibras de polipropileno con el hormigón para dotarlo de mayores propiedades de resistencia y mejorar los esfuerzos de tracción [8].

Al fraguar el cemento, se forman los silicatos de calcio ($\text{Ca}_3\text{O} \cdot \text{SiO}_4$ (alita), Ca_2SiO_4 (belita)) y el aluminato de calcio ($3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$) que proporcionan al cemento y a su vez al hormigón, su consistencia pétreo, su resistencia, durabilidad y medio alcalino [7-9].

Los compuestos formados durante la hidratación de la pasta de cemento se mantienen estables mientras exista un equilibrio entre la disolución de los poros y la disolución de los compuestos hidratados que proveen el medio alcalino para su preservación. Sin embargo, el ataque químico puede alterar este equilibrio modificando el pH de la disolución de los poros produciendo la descomposición de los compuestos [7-9].

El cemento que está en equilibrio presenta un pH altamente alcalino, cercano a 12.5. Por debajo de este valor comienza el deterioro hasta que en valores por debajo de pH 9 se da la descomposición total de los compuestos de silicato de calcio hidratados. Además, el pH fuertemente alcalino del hormigón proporciona una capa de protección a la armadura metálica del hormigón armado consiguiendo un acero equilibrado que, aunque esté en presencia de oxígeno y humedad, no se oxida [10,11].

“El hormigón primero, el hormigón armado después, y más modernamente, el hormigón pretensado y post tensado, han permitido una gran evolución en la construcción durante siglos. Hoy en día, los hormigones fabricados a base de cemento portland admiten múltiples posibilidades de aprovechamiento y sus grandes prestaciones en comparación con su bajo coste, lo convierten en un material indispensable en la construcción y la obra civil actual” [12].

“A finales del siglo XX, cuando parecía que el hormigón entraba en una fase de madurez, las nuevas tecnologías de los materiales en campos tan dispares como la química, la nanotecnología o la ciencia de los materiales, han permitido aplicaciones que lo proyectan al futuro con más fuerza si cabe” [12]. Sin embargo, esta proyección futura puede estar limitada a la durabilidad del hormigón, por lo que es indispensable analizar los factores ambientales que afectan a la misma.

1.3 Influencia del ambiente en el estado de conservación de los nuevos materiales de construcción

A principios del siglo XXI el Grupo de Investigación IBeA, reconocido como Grupo de Excelencia desde 2002, empezó los estudios sobre Patrimonio Cultural Construido. Ya en sus primeros trabajos se observó la importante influencia del ambiente que rodea a un edificio en el estado de conservación del mismo, tanto en sus piedras, como en sus morteros como en sus elementos decorativos [13].

Esta influencia del ambiente alrededor de los elementos constructivos se ha manifestado en todos los trabajos que ha desarrollado el grupo sobre distintos tipos de materiales naturales [14] como creados por el hombre como morteros [15] ó ladrillos [16]. Y, además, se ha constatado que la mayor o menor agresividad del ambiente no condiciona el deterioro sino la velocidad a la que sucede, siendo ésta velocidad mucho mayor en ambientes urbano-industriales [17] que en ambientes completamente rurales [18].

Pero el ambiente rural no elimina el ataque químico a los materiales de construcción ya que la influencia de los compuestos excretados por los microorganismos colonizadores (ácidos carboxílicos por los líquenes principalmente) y los producidos por la descomposición de las plantas (principalmente nitrato de amonio) ejercen un deterioro importante que se manifiesta con el tiempo, y sobre todo con la falta de un mantenimiento adecuado alrededor del edificio [19].

Casi siempre tenemos en la cabeza que los ambientes urbanos, especialmente en entornos de puerto industrial, son los espacios donde se produce el deterioro. Y esto es cierto [20], pero no son los únicos. La influencia de las prácticas agrícolas se manifiesta como un factor de deterioro importante, tanto en pueblos [21] como en ciudades [22], ya que el uso en exceso de fertilizantes hace que los acuíferos se carguen de iones (nitratos, sulfatos, potasio, fósforo). Si estos acuíferos entran en contacto con los

cimientos de los edificios, las aguas de infiltración van a transportar estos iones hasta zonas de los edificios que están a cotas superiores a cero y van a provocar daños irreparables, como es el caso del coro de la Catedral de Burgos [23].

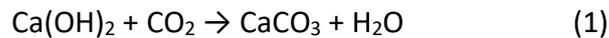
En todos los trabajos recogidos anteriormente se evidencia que, debido a su función de protección, el edificio está sometido día a día a altos niveles de estrés físico y químico proveniente de los vientos y la erosión, las lluvias, el sol y la abrasión, las temperaturas extremas, y los cambios bruscos del tiempo. Nos protege también de los altos niveles de contaminación medioambiental que hoy en día encontramos en cualquier ciudad y/o pueblo del mundo.

Dentro del conjunto de materiales que pueden estar presentes en el edificio, los hormigones empezaron a jugar un papel preponderante a partir de inicios del siglo XX. La calidad del hormigón dice mucho de su resistencia frente a los ataques que producen su deterioro, pero los procesos de deterioro, detectados a través de la composición de los diversos materiales de construcción y sus productos de degradación, es ya un hecho constatado. El edificio puede sufrir el ataque físico provocado principalmente por las temperaturas extremas, la abrasión y/o la erosión, o el ataque químico provocado por agentes agresivos presentes en el medioambiente, que reaccionan con los compuestos originales del material de construcción dando lugar a nuevos compuestos, pero además, también sufre procesos de colonización de microorganismos, líquenes y plantas superiores que originan inicialmente cambios estéticos en sus fachadas y posteriormente daños irreversibles (grietas, desprendimientos, etc.) en las mismas.

1.3.1 Deterioros promovidos por los gases ácidos atmosféricos

En los materiales sintéticos resulta necesario que la composición química y mineralógica del cemento, su grado de hidratación y las características de la interfaz pasta-agregado resulten adecuados para resistir el ataque químico.

Los problemas de corrosión de las armaduras del hormigón armado comienzan cuando empieza a descender el pH del hormigón debido a la acidificación constante de sus superficies expuestas al ambiente. Si no se produce un correcto fraguado del cemento aparece como subproducto, junto con los esperados silicatos de calcio hidratados, el hidróxido de calcio (Ca(OH)_2). Este puede reaccionar, según las condiciones del hormigón y de su entorno, con el dióxido de carbono (CO_2) presente en la atmósfera desencadenándose la reacción química (1):



Debido a esta reacción se forma el carbonato de calcio que hace descender el pH del hormigón a valores cercanos a 9. Este fenómeno llamado carbonatación del hormigón comienza en la superficie y progresivamente va introduciéndose hacia el interior formándose un frente de carbonatación. Para pH inferiores a 11, se pierde la condición de pasividad de las armaduras y si las condiciones del medio son favorables para la corrosión (humedad, oxígeno, cloruros, temperatura), el acero se oxida, provocando un aumento localizado de volumen, fisuras y hasta descascaramiento del hormigón que lo recubre. (ver Figura 1.2). A medida que el proceso de oxidación avanza, se va reduciendo la sección resistente de las armaduras, pudiendo llegarse a situaciones de riesgo y hasta el colapso (derrumbe de la estructura) [7,9,10].

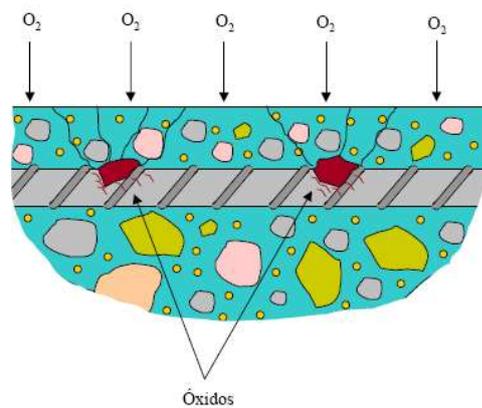
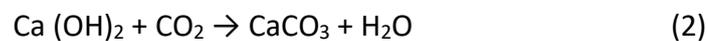


Figura 1.2: formación de óxidos de hierro sobre parte del acero que constituye el hormigón armado.

Otro mecanismo por el cual el hormigón puede deteriorarse, perdiendo su composición y resistencia original, es el ataque por gases ácidos distintos al CO₂, especialmente por los SO_x. Estos óxidos de azufre en ambientes oxidantes (principalmente el ozono en las modernas atmósferas urbano-industriales) evolucionan a SO₃ que con la humedad relativa generan aerosoles de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Este aerosol reacciona con el carbonato de calcio (CaCO₃), que se ha originado como consecuencia de la carbonatación del Ca(OH)₂, dando lugar a la formación de yeso (CaSO₄·2H₂O). Este carbonato de calcio de nueva formación, que no estaba inicialmente presente en la composición del hormigón, es el que se ve atacado preferentemente por los gases ácidos, ya que es más soluble que el carbonato de calcio natural presente en la arena o en la gravilla, al tener una constante de producto de solubilidad (k_{so}) mayor que el de los minerales naturales originales de la composición. El proceso sería similar en el ladrillo, en el que el carbonato se genera por hidratación del correspondiente óxido (CaO, Na₂O, MgO,...) y posterior reacción con CO₂ atmosférico según reacción (1) [13, 14, 24].

El mecanismo por el cual se forma el yeso se describe a continuación en las reacciones (2), (3) y (4).



Dependiendo de la humedad relativa del medioambiente, este sulfato de calcio puede aparecer como yeso hemihidrato (CaSO₄·1/2H₂O ó basanita) o como ya se ha mencionado anteriormente, como yeso (CaSO₄·2H₂O) debido a la hidratación parcial o total que pueden sufrir los diferentes sulfatos de calcio.

Generalmente, el yeso formado en la superficie más exterior de fachadas es la micro-estructura sobre la que se desarrollan las conocidas como costras negras dada la capacidad de esta red cristalina de captar partículas de hollín, y compuestos orgánicos

como ácidos carboxílicos, PAHs, etc, presentes en el medioambiente atmosférico de las ciudades [14,24,25].

1.3.2 Deterioros promovidos por aguas de infiltración

En lo referente a la durabilidad de materiales pétreos frente a aguas de infiltración que promueven su deterioro, la composición de los materiales es un factor clave, así como el contenido en sales disueltas en las aguas de infiltración. Por lo tanto, se debe enfatizar en el análisis y descripción de los espacios vacíos, su configuración tridimensional y sistema poroso. Dichos análisis permiten conocer el grado de conectividad de las fisuras y de los canales porosos, el radio de acceso de los poros y su localización en relación con los componentes minerales [26,27].

El efecto disruptivo de la cristalización de las sales está influenciado por la forma, la textura y el tamaño de los cristales, y también por el tamaño y distribución de los poros. Por lo tanto, las características texturales que relacionan espacialmente los componentes de la roca, como las uniones intergranulares y la naturaleza del cemento o de la matriz, son características muy importantes a tener en cuenta. Las uniones intergranulares condicionan, en gran medida, la aplicabilidad y durabilidad de las rocas, por lo que se dividen en cristalinas y cementadas, siendo estas últimas las más alterables [28].

Por otro lado, en los materiales sintéticos también resulta necesario que la composición química y mineralógica del cemento, su grado de hidratación y las características de la interfaz pasta-agregado resulten adecuados para resistir el ataque químico por aguas de infiltración. Entre estos procesos de deterioro, se encuentra la corrosión del acero en el hormigón armado, el cual se produce siguiendo un mecanismo electroquímico o galvánico influenciado por las características del hormigón y el espesor de recubrimiento. Si existe acceso de agua y oxígeno en el seno del acero, el agua es el electrolito de la pila galvánica [8,11].

El material pétreo puede deteriorarse siguiendo dos posibles mecanismos: el primero es la disolución de los compuestos fácilmente solubles del propio material o formación de sales también solubles y extracción de las mismas. Estas sales solubles cuando se crean en espacios y poros interiores se denominan subeflorescencias, y cuando se crean en puntos exteriores se denominan eflorescencias. Y el segundo sería por ataque con formación de compuestos insolubles de mayor volumen que los primitivos. Además, la humedad disuelve las sales en el material pétreo y las lleva a través de la acción capilar hacia la superficie. Cuando se evapora la humedad deja tras de sí un depósito mineral [28,29].

Formación de sales solubles

Las condiciones ambientales (humedad, temperatura, velocidad del aire) también juegan un papel destacado dentro de los procesos que afectan a la aparición de eflorescencias. Por tanto, hay que tener en cuenta la temperatura y humedad relativa ambientales, ya que condicionan los equilibrios químicos de las disoluciones salinas. Pero tampoco hay que olvidar el efecto de la acción directa del sol o del viento sobre una superficie, puesto que puede condicionar que una sal se forme en superficie o en capas interiores como se muestra en la Figura 1.3.

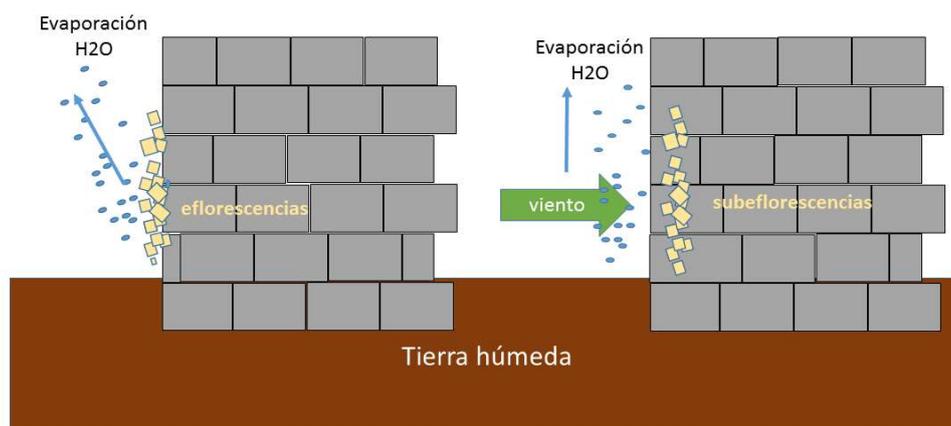


Figura 1.3: esquema de precipitación de sales en ausencia (eflorescencias) y presencia (subeflorescencia) de viento

Por otro lado, existen ciertos factores físico-químicos inherentes al material que van a influir en la formación de eflorescencias, el contenido inicial en sales solubles (propias del material pétreo o debido a las materias primas, incluyendo el agua, utilizadas en el proceso de producción de un material sintético como mortero, ladrillo o hormigón), la estructura de la red capilar de porosidad, la distribución de las sales solubles en el interior del material (que los métodos de cocción y de secado) hacen que sea heterogéneo en ladrillos [30], el grado de saturación acuosa de la red de poros, su configuración y microestructura etc.

Dentro de los procesos químicos que dan lugar a las eflorescencias se encuentran aquellos donde están implicados varios equilibrios químicos de las disoluciones de sales. Para que se den estos equilibrios es necesaria la presencia de agua. Por lo tanto, la capacidad de absorción de agua del material de cada material pétreo es de vital importancia ya que va a condicionar la concentración de sales solubles que se encuentren en el interior del material y que en algún momento puedan eflorececer [29]. A su vez, todos los factores mencionados van a definir el equilibrio químico que se da en el espacio de poro y, por tanto, el tipo de sal que vaya a precipitar.

Por lo tanto, cuando el agua de infiltración moviliza y disuelve iones del material pétreo y los transporta entre los poros, se pueden dar las condiciones de humedad, saturación y presión necesarias para desencadenarse la precipitación para que ocurra la primera nucleación dando lugar a la cristalización de diferentes sales, de diferentes tamaños y texturas [4].

Los iones móviles por disolución más comunes en materiales pétreos de construcción son calcio, magnesio, sodio y potasio entre los cationes, y cloruros, nitratos, sulfatos y carbonatos entre los aniones. Si el poro del material pétreo se satura en estos iones pueden precipitar los cloruro, nitratos, carbonatos y sulfatos de los metales alcalinos y alcalinotérreos mencionados. Sin embargo, debido al número de factores que afectan en su formación es difícil de prever el tipo de sal que se formará en una superficie.

A modo de ejemplo, en los ladrillos, donde la presencia de calcio es mayoritaria (ver Figura 1.4), las eflorescencias más comunes son de sodio y de potasio [29].

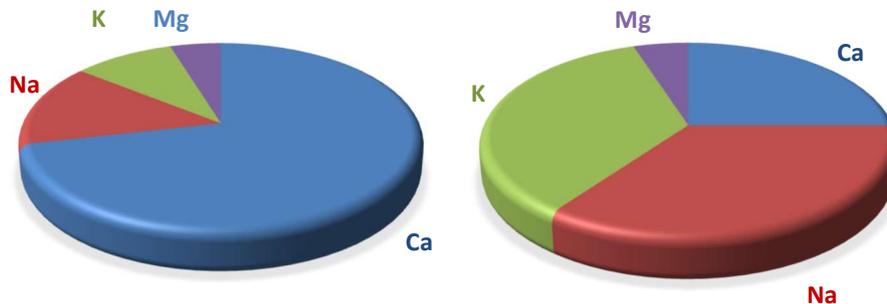


Figura 1.4: Contenido catiónico de las sales originales y las eflorescencias más comunes en ladrillo (basado en [29]).

De acuerdo con el modelo de cristalización propuesto por Arnold y Zenhder [31], la distribución de las sales solubles cristalizadas varía con la altura alcanzada por capilaridad y la composición química de la sal. La Figura 1.5 muestra este modelo aplicado a un muro de mampostería. La zona A, situada a cota 0 m, es la que se mantiene con humedad constante y solo precipitan las sales ocasionalmente, siendo mayoritariamente sales de cloruros y nitratos. La zona B, situada a 1 m, es la que presenta un mayor daño por cristalización de sales. Las sales mayoritarias en esta zona son sulfatos y carbonatos de calcio, potasio, sodio y magnesio, las cuales presentan una solubilidad menor en agua y precipitan antes que los cloruros y nitratos. Los daños estéticos de esta zona son cuantiosos y presentan desde, aparición de costras y eflorescencias generalmente de color blanco hasta, erosión, fracturación y pérdida de material.

En la zona C, situada a 2m, es donde llegan los iones más solubles y precipitan sales de cloruro y nitrato. Esta zona no está tan alterada como la anterior, pero es donde se observan cambios ligeros de textura y coloración original de las rocas.

Finalmente, la zona situada a más de 3m, es la única que permanece inalterada.

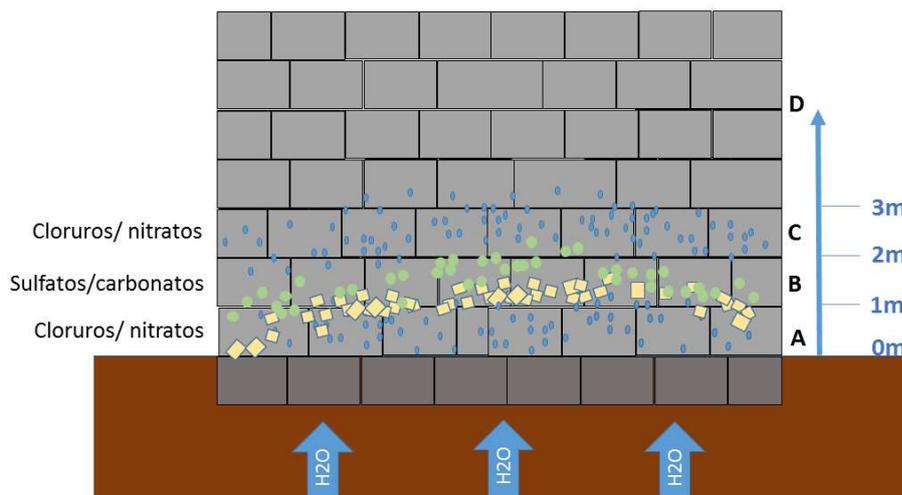


Figura 1.5: modelo de cristalización por capilaridad (basado en la propuesta de Arnold y Zehnder, 1989).

Además, dependiendo también en las condiciones de temperatura y humedad relativa dentro del poro, las sales solubles pueden precipitar con diferentes aguas de hidratación, como es el caso del sulfato de sodio. El sulfato de sodio puede precipitar como thenardita (Na_2SO_4) o como mirabilita ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), y la una se puede transformar en la otra simplemente por un cambio de temperatura (19°C) y humedad relativa (75%), perdiendo o adquiriendo aguas de hidratación. Este mecanismo de pérdida y adquisición de aguas ocurre con bastante rapidez (incluso varias veces al día) y provoca cambios bruscos en el volumen de las sales, lo que se deriva en una gran tensión dentro del poro que provoca fracturas y pérdidas de material pétreo. Es decir, además de por cristalización, el daño se debe a procesos de hidratación-deshidratación [32]. En cuanto al daño que la precipitación de una sal puede generar, depende directamente del tipo de sal y la forma en la que cristaliza. A modo de ejemplo, Ruiz-Agudo et al describen que el modo en el que migran los iones de Na_2SO_4 difiere significativamente de MgSO_4 , lo que resulta en un tipo de deterioro muy diferente del material pétreo. En el caso del experimento llevado a cabo sobre una probeta de piedra caliza se observan pérdidas de material de la superficie en forma de láminas o la formación masiva de grietas, respectivamente, hasta una rotura parcial o total del soporte pétreo, como se muestra en la Figura 1.6 [33]. Esto se debe a que el proceso de ascensión por capilaridad de la

disolución de sulfato de sodio es rápido, mientras que el del sulfato de magnesio (de mayor tamaño) ocurre más lentamente y se concentra en la zona central de la probeta de piedra.

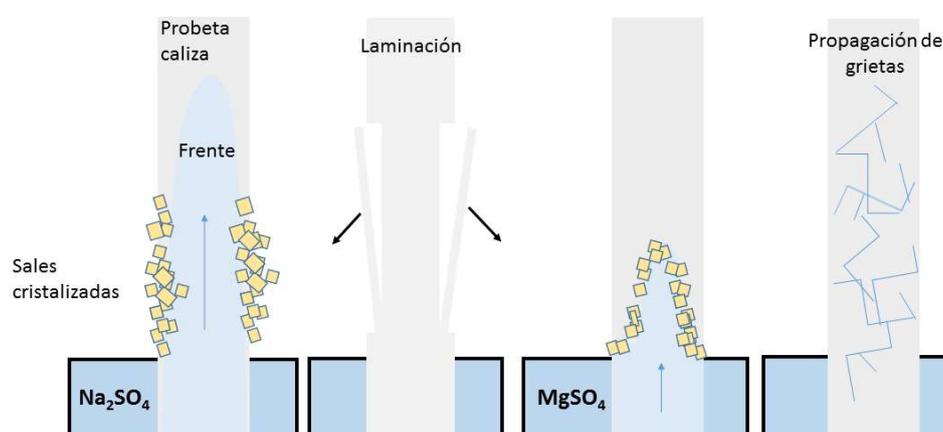


Figura 1.6: Mecanismos de deterioro del material pétreo en función del tipo de sal de sulfato, sodio (izquierda) o magnesio (derecha) y su modo de transporte por capilaridad en columna. (Basado en [33])

Además, estas sales solubles pueden precipitar también como sulfatos mixtos de sodio y potasio o de calcio y potasio [34,35]. En el caso de morteros en base a cemento Portland es también común la formación de especies como la thaumasita $\text{Ca}_3\text{Si}(\text{CO}_3)(\text{SO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ y su precursor etringita $\text{Ca}_6\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3(\text{OH})_{12} \cdot 26\text{H}_2\text{O}$, sal formada por la hidratación del aluminato tricálcico en presencia de iones sulfato. La etringita es típica de temperaturas templadas, mientras que la thaumasita es más común en temperaturas inferiores a $15\text{ }^\circ\text{C}$ [36]. Ambas especies han sido citadas en bibliografía como responsables de deterioro de edificios de diversa índole [37,38,39].

Debido a la gran diversidad de las sales que se pueden formar, las consecuencias en la integridad de los diferentes materiales de construcción también son muy diversas. La Figura 1.7 muestra algunas imágenes de las diferentes eflorescencias que suelen aparecer y también las consecuencias de la aparición de estas, como son las pérdidas de material y los cambios de color y textura.



Figura 1.7: apariencia de las eflorescencias sobre diferentes materiales de construcción

1.3.3 Biodeterioro

El edificio y sus materiales objeto de análisis pueden llegar a ser ecosistemas complejos donde habitan diferentes microfloras que pueden llegar a desarrollarse rápidamente si las condiciones ambientales y las características físico-químicas de los materiales pétreos son las idóneas [40].

Dentro de estos ecosistemas complejos los microorganismos más habituales son los hongos, las algas, las cianobacterias, los musgos y las plantas superiores, los cuales usan la luz solar como fuente de energía, fijan el CO₂ atmosférico y producen oxígeno a través de la fotosíntesis. Además, en este caso, los líquenes juegan un papel destacado [40].

La biogeoquímica de los líquenes

Los líquenes, esos organismos tan familiares en edificios, monumentos y árboles, son seres complejos cuyos cuerpos vegetales son el resultado de las asociaciones simbióticas entre un hongo (micobionte) y un socio fotosintético (fotobionte), que suele ser un alga verde o una cianobacteria. De esta asociación mutualista se originan talos liquénicos estables con morfología y fisiología específicas [41].

Según la forma de crecimiento que presentan los líquenes se distinguen los siguientes tipos: crustáceos, escuamulosos, foliáceos y fruticulosos. Las formas crustáceas se encuentran siempre en estrecho contacto con el sustrato y no se pueden separar de él sin destruirlas. Los escuamulosos representan el paso de los crustáceos hacia los foliáceos. Los foliáceos están parcialmente adheridos al sustrato por lo que se les puede separar de él sin destruirlos. Los fruticulosos son formas ramificadas como pequeños arbustos que se sujetan al sustrato por una superficie mínima y se desprenden fácilmente de él [41]. La Figura 1.8 muestra algunos líquenes crustáceos y foliáceos comunes en las rocas de las ciudades y pueblos.

Dependiendo del tipo de sustrato donde están viviendo, se puede realizar otra clasificación de los líquenes. Los que crecen sobre la corteza de los árboles o de otras plantas se denominan líquenes epífitos. En cambio, los que colonizan las rocas y los materiales pétreos se llaman saxícolas. Además, algunos son capaces de vivir en el suelo y son los líquenes terrícolas. También existen algunos que viven dentro de las rocas y son los denominados líquenes endolíticos [42].

Las hifas son el modo más común de sujeción al sustrato. Estas formaciones irregularmente orientadas y ramificadas se extienden desde la cara inferior del liquen y penetran profundamente en el sustrato provocando tensiones físicas y meteorización del mismo. La Figura 1.9 muestra las partes más importantes de la sección transversal de un liquen crustáceo [41,42].

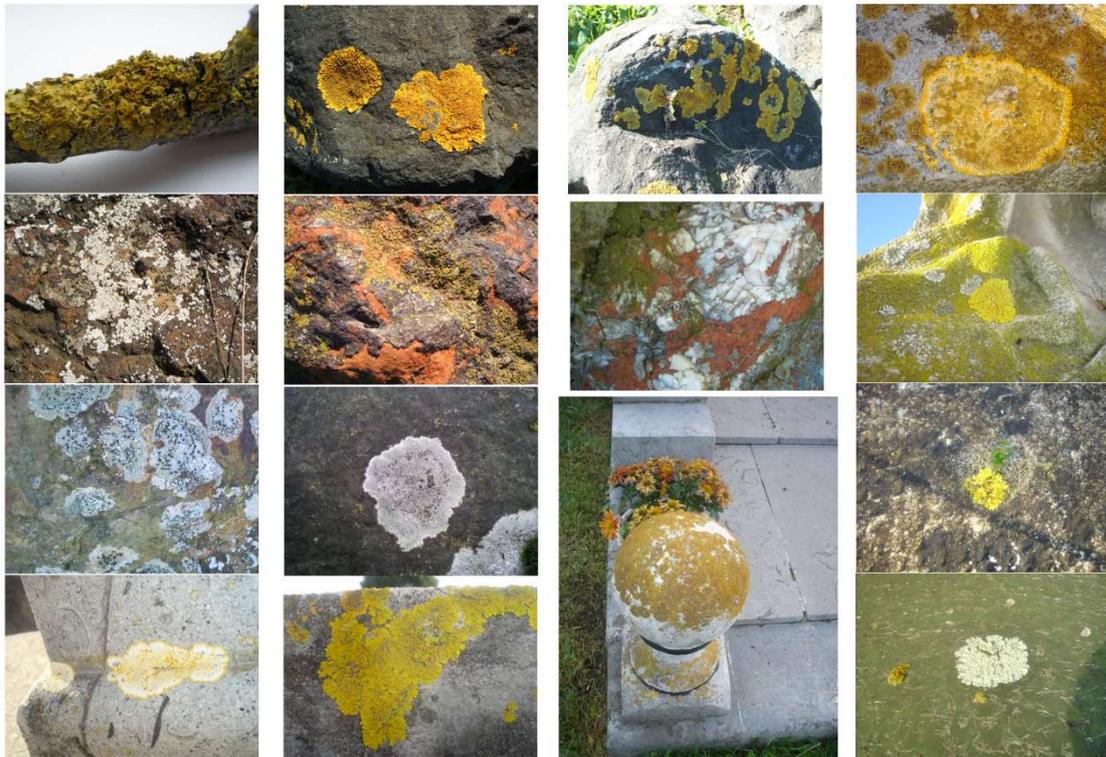


Figura 1.8: Líquenes crustáceos y foliáceos comunes en las rocas de las ciudades y pueblos.

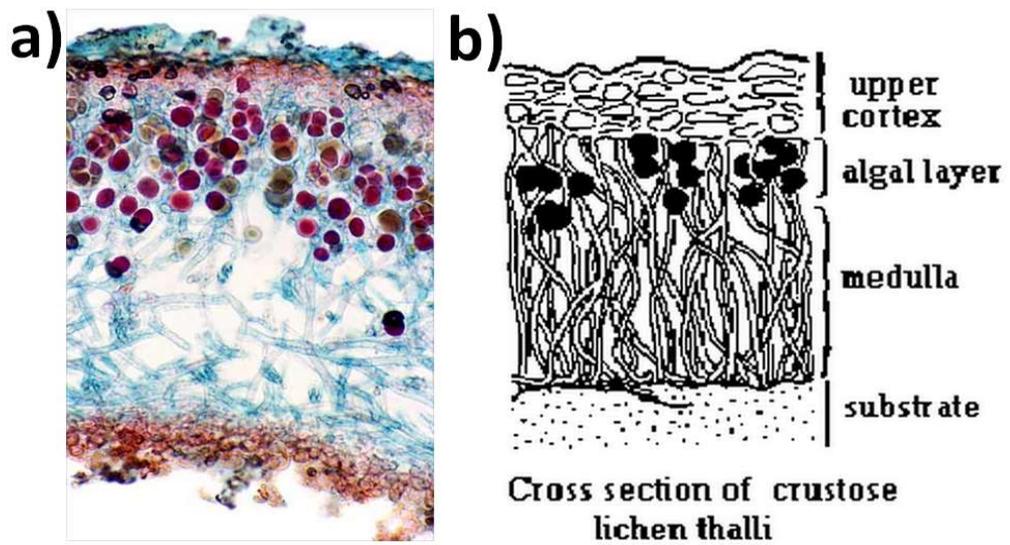


Figura 1.9: detalles de las diferentes partes en sección transversal de un líquen crustáceo [42].

Las simbiosis mutualistas son un fenómeno esencial en la utilización y reciclaje de los elementos más importantes en la Biosfera ya que dirigen algunos de los procesos biogeoquímicos más importantes. En este sentido, los talos de los líquenes también pueden interpretarse como micro-ecosistemas importantes, ya que aceleran los procesos de meteorización de sus sustratos y ponen en circulación muchos iones y diversas sustancias, y contribuyen sustancialmente a la fijación del carbono y del nitrógeno atmosféricos [43,44].

Además, estos organismos tan pequeños encierran en su interior un laberinto de procesos bioquímicos, ya que en la interfaz liquen-sustrato y liquen-aire se crean microclimas donde se dan infinidad de reacciones químicas [45]. A partir de estas reacciones se sintetizan numerosos compuestos, denominados ácidos de los líquenes. Una gran parte de ellos aún se desconocen, pero gracias a las nuevas técnicas microscópicas de imagen en alta resolución y técnicas de análisis químicos más fiables, se está profundizando más en el conocimiento de estos compuestos. De hecho, con el paso de los años cada vez hay más trabajos relacionados con el mundo de los líquenes y los posibles procesos de deterioro con los que se asocian [46-51].

Los colores tan llamativos de los líquenes encierran dentro de su composición química infinidad de diferentes tipos de pigmentos. La Figura 1.10 muestra un esquema de todas las rutas metabólicas que siguen los líquenes hasta sintetizar estos compuestos orgánicos o también llamados ácidos de los líquenes.

Dentro de estos pigmentos, quizá los carotenoides y la clorofila juegan un papel destacado ya que gracias a ellos ocurre la fotosíntesis. La clorofila es el pigmento que da el color verde a los cloroplastos, pero se presenta siempre junto a los carotenoides en el centro de reacción fotosintética. El color de los carotenoides varía entre amarillo, naranja y rojo. Por ello, aunque aparezcan siempre junto a la clorofila, prevalece el color verde de esta última [53].

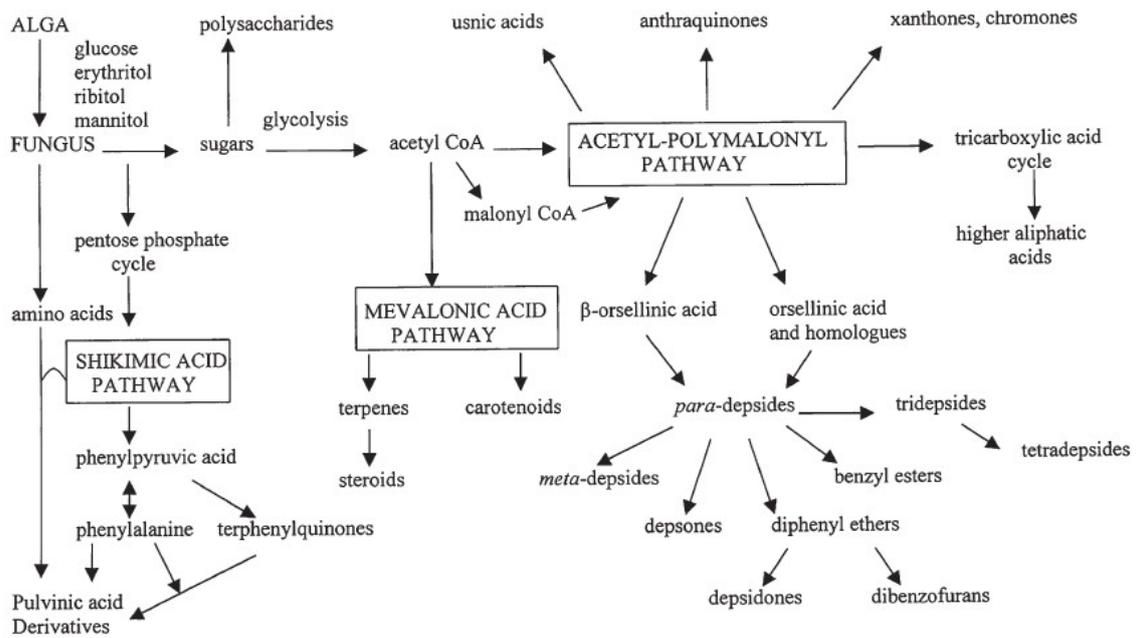


Figura 1.10: rutas metabólicas seguidas por los líquenes para sintetizar los diversos pigmentos [52].

Se han encontrado más de 400 carotenoides en plantas, algas y bacterias, siendo el β -caroteno uno de los más comunes. Los carotenoides están formados por tetraterpenoides C_{40} formados por ocho unidades isoprenoides C_5 y se clasifican en carotenos y sus derivados oxigenados las xantófilas. La característica más llamativa dentro de su estructura química es una cadena central compuesta por dobles enlaces conjugados, el cual es el cromóforo que absorbe la radiación solar y da el color característico. La Figura 1.11 muestra los nombres de los carotenoides más comunes junto a su estructura química [53].

Las xantofilas son aquellos carotenoides que tienen en los anillos de los extremos grupos oxigenados como alcoholes, cetonas y ácidos carboxílicos.

Otra función de los carotenoides es la protección frente a la excesiva radiación solar. Dentro de estos pigmentos fotoprotectores están también la parietina, y la escitonemina. Por lo tanto, un compuesto importante que también está asociado a los líquenes es la escitonemina. Este compuesto orgánico es un compuesto fotoestable que el liquen sintetiza para hacer frente a la desecación, altas temperaturas y exposición a

la luz UV de bajo número de onda. La síntesis de este compuesto por parte del líquen parece estar asociado a ambientes muy extremos como las regiones polares [54].

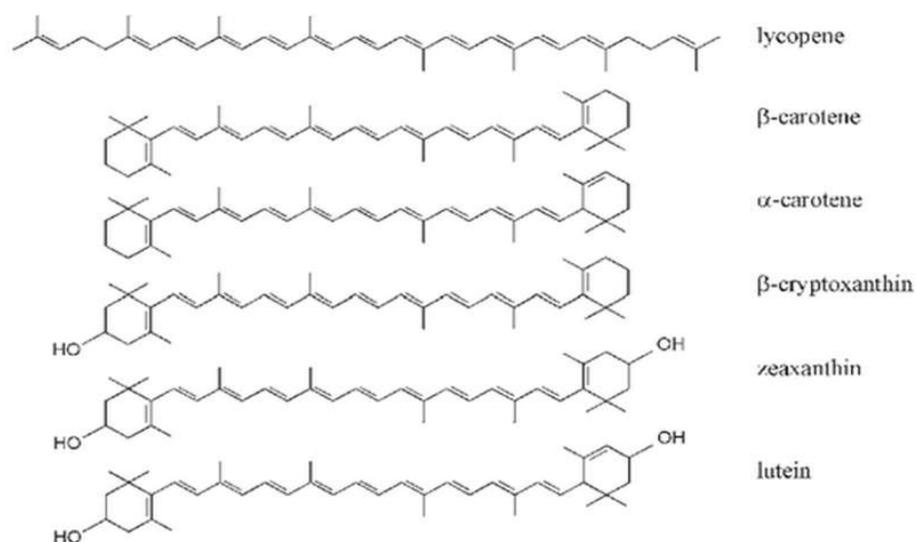


Figura 1.11: estructura química de los carotenos y las xantofilas más comunes. Modificado de [53].

Los líquenes en procesos de biomineralización

Tal y como se ha visto en los apartados anteriores, en los climas húmedos, siempre se dan episodios de colonización de líquenes que son una fuente permanente de procesos de biodeterioro. En este apartado se describen además las sustancias y los procesos de los líquenes que dan lugar a la formación de nuevos compuestos.

Los ácidos excretados por los líquenes son compuestos que poseen una solubilidad relativamente alta, es decir, tiene una alta movilidad en medio acuoso, pueden reaccionar con los metales alcalinotérreos y de transición formando precipitados, pero, a su vez, son agentes quelantes muy potentes que forman complejos metálicos con otros de los elementos presentes en el sustrato. Cuando el líquen coloniza sustratos pétreos compuestos de carbonato de calcio (CaCO_3), el ácido oxálico excretado por el líquen reacciona con el calcio para crear oxalato de calcio. Este nuevo biomineral creado

en la interfaz líquen-sustrato puede formarse con un agua de hidratación dando como resultado el oxalato de calcio monohidratado, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (whewellita), o también puede capturar dos aguas de hidratación creándose así el oxalato de calcio dihidratado, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (weddellita). Según algunos autores, la síntesis de uno u otro compuesto depende de la cantidad de agua presente en el medio, pero parece claro que la forma monohidratada es la más estable y la que definitivamente se queda aun cuando el líquen desaparece del lugar. El oxalato de calcio monohidratado es un compuesto muy poco soluble que debido a esta característica persiste durante mucho tiempo y a muchos ambientes extremos, lo que hace posible plantear la posibilidad de protección que puede otorgar este nuevo compuesto al sustrato mineral [55-59].

Además del calcio, si el sustrato pétreo contiene magnesio, manganeso y/o cobre también se pueden formar los oxalatos de estos cationes. Es decir, probablemente, el ácido oxálico excretado por parte del micobionte sea el compuesto ácido más activo generador de biodeterioro. Así mismo, también cabe destacar el papel que tienen estos ácidos de los líquenes en la biosolubilización de compuestos presentes en el sustrato y posterior transformación en nuevos minerales como aluminosilicatos u óxidos e hidróxidos de hierro [60].

Los líquenes como bioindicadores

Los bioindicadores son organismos o comunidades de organismos cuyas reacciones (comportamiento) son consideradas representativas para evaluar una situación, dando idea de las condiciones generales del ecosistema. Por lo general se define como bioindicador, aquel que reacciona ante factores de origen antropogénico [58].

Los bioindicadores tienen la capacidad de ofrecer información sobre el estado del medio en el cual se desarrollan (suelo, aire o agua) y su acción sobre ellos. Los líquenes están considerados entre los mejores bioindicadores del aire dado que dependen de la

atmósfera para obtener nutrientes, tienen una amplia distribución geográfica y acumulan minerales más allá de los que necesitan sin poseer mecanismos de eliminación. Pueden considerarse organismos “centinela” de la calidad del aire, puesto que este tipo de organismos son resistentes a los distintos estresores ambientales y, al acumular y concentrar contaminantes de su alrededor, permiten el análisis de sus tejidos para dar una idea de la concentración de los contaminantes accesible en el ambiente en un intervalo de tiempo [58].

Las algas verdes de los líquenes quedan protegidas de los efectos adversos de la radiación luminosa sobre sus cloroplastos y también frente a la desecación rápida gracias a la envoltura fúngica enfrentándose así con bastante éxito al ambiente atmosférico muchas veces un tanto estresante. Por lo tanto, el fino equilibrio funcional de los talos es lo que condiciona su reconocido uso como bioindicadores de las condiciones ambientales actuales y de las alteraciones de distinto tipo, consecuencia de la acción antropogénica [44,58].

Debido a estas características son particularmente susceptibles a los compuestos tóxicos transportados por el aire, especialmente el dióxido de azufre (que desorganiza las membranas biológicas impidiendo la fotosíntesis), ácido sulfúrico y nítrico, fluoruros, ozono, hidrocarburos y metales pesados como cobre, plomo, cinc, cadmio, níquel, mercurio y cromo [61].

Además, el cambio climático está siendo reconocido en los últimos años también como un factor conductor en la disminución de las especies y de las poblaciones de líquenes. Se están desarrollando numerosos trabajos que plantean nuevos retos en el uso de líquenes como modelos bioclimáticos y bioindicadores de los cambios medioambientales [62, 63].

1.4 Las técnicas espectroscópicas de análisis para evaluar el estado de conservación de los edificios del siglo XX

En los últimos años varias técnicas espectroscópicas no destructivas de análisis están siendo testadas para el mantenimiento y diagnóstico de materiales pétreos de construcción. De hecho, las técnicas espectroscópicas de análisis son técnicas muy adecuadas para diagnosticar caracterizar, describir y predecir el mecanismo y tipo de deterioro involucrado en el estrés ambiental que soportan los materiales nuevos de construcción [64].

Además, en muchas ocasiones, no es posible o está muy limitada la posibilidad de coger muestras de los edificios, especialmente cuando se trata de edificios históricos o monumentos con un cierto o importante nivel de protección. Por ello, es indispensable el desarrollo de nuevos métodos de análisis multielemental y multimolecular que permitan realizar medidas también *in situ*. Las técnicas espectroscópicas, no sólo ofrecen esta posibilidad, sino que, además son capaces de ofrecer una información muy fiable sólo con la realización de los análisis *in situ*. Y cuando existe la posibilidad de acceder a realizar un muestreo, la cantidad necesaria para los análisis de laboratorio es pequeña, suficiente para obtener resultados analíticos de gran calidad [64].

La fluorescencia de rayos-X ha experimentado en los últimos años una gran evolución técnica y se han desarrollado nuevos instrumentos más sofisticados para el análisis elemental de muestras pétreas. Gracias a estos avances, hoy en día los equipos de XRF son más compactos y están acoplados a instrumentos ópticos de alta resolución, lo que permite obtener unos resultados sumamente satisfactorios con pequeñas cantidades de muestra. Además, como consecuencia de la imposibilidad habitual de no poder muestrear, se han desarrollado también equipos XRF portátiles para los análisis *in situ* de los materiales nuevos de construcción. Estos equipos están dotados con softwares que permiten la cuantificación en algunos casos o los análisis semicuantitativos en la mayoría de los casos de los elementos presentes [65].

La espectroscopia Raman, tras sus décadas de evolución y tras la introducción de los láseres como fuentes de excitación, se ha catalogado como un método indispensable en el análisis molecular de materiales pertenecientes al patrimonio cultural [66].

Esta catalogación se debe en buena parte a sus características de alta resolución espacial (normalmente entre 1 y 10 μm), tanto en espacios laterales como en profundidad (con instrumentos confocales) y su gran especificidad molecular (reforzado con la disponibilidad de bases de datos). También es una técnica muy sensible a las estructuras moleculares y puede identificar y diferenciar tanto compuestos polimorfos, como isomorfos. También es sensible a compuestos tanto orgánicos como inorgánicos en sistemas heterogéneos que posibilita la identificación de compuestos tanto biológicos como geológicos. Además, es una técnica no destructiva que se puede acoplar fácilmente a los análisis *in situ* y tiene una alta versatilidad en muchas áreas donde se aplica (minerales, gemas, pigmentos orgánicos e inorgánicos y sus productos de degradación, pinturas murales, materiales de construcción, barnices, plásticos, vidrios, cerámica y tratamientos de conservación) spectroscopy [67].

Otra característica importante en esta técnica es la no necesidad de preparar la muestra, ya que se puede proceder a su análisis sin necesidad de pretratamiento (químico o mecánico) y, además, su tamaño no es un problema.

Los eficientes y modernos detectores permiten, además, trabajar con muy bajas potencias de láser, reduciendo los riesgos de quemar o alterar la muestra durante el análisis. Cabe destacar también, la capacidad de diferentes instrumentos para evitar el fenómeno de fluorescencia. Entre estos equipos destacan los espectrómetros Raman con transformada de Fourier, los equipos dispersivos Raman equipados con microscopios confocales y equipos SERS (surface enhanced Raman spectroscopy [67].

Este fenómeno de fluorescencia es habitual también en las muestras biológicas. Por ello, cuando los análisis Raman detectan pigmentos como los carotenoides en la muestra biológica, es interesante utilizar el fenómeno de resonancia Raman para

obtener señales y más intensas y suprimir la fluorescencia. Normalmente, estos pigmentos son moléculas cromóforas, que presentan máximos de absorción en diferentes regiones del espectro electromagnético. Cuando el láser de excitación Raman coincide o está cerca del número de onda donde se localiza el máximo de absorción, estos pigmentos absorben esta radiación con el efecto de resonancia. Como consecuencia, las señales Raman de estos compuestos se ven aumentados significativamente con respecto a la señal de otros compuestos presentes en la muestra. Además, cuando se procede a extender el rango de análisis Raman hasta los 3500-4000 cm^{-1} (dependiendo de las características del equipo), se detectan nuevas señales Raman correspondientes a las señales de resonancia [68].

La microscopía electrónica de barrido acoplado al analizador de dispersión de rayos-X (SEM-EDX), es una técnica espectroscópica y de imagen muy potente capaz de analizar en el mismo punto de medida, e incluso hacer mapeos, ofreciendo resultados cuantitativos de los elementos presentes y de las formas cristalinas en las que aparecen, ya que es posible identificar en las imágenes de alta resolución que ofrece las estructuras cristalinas de los diferentes compuestos [69].

Estas técnicas de análisis han contribuido a un gran número de descubrimientos también en muestras históricas de materiales pétreos. Sin ir más lejos, científicos de la Universidad de Utah, utilizando un microscopio electrónico, un equipo de microdifracción de rayos-X y espectroscopia *Raman*, han sido capaces de mapear la distribución de los elementos en los trabajos arquitectónicos romanos. Lo que encontraron fueron cantidades significativas de tobermorita (es un inosilicato con fórmula genérica $\text{Ca}_5\text{Si}_6\text{O}_{16}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) creciendo a través de la composición del hormigón, y un mineral poroso relacionado llamado filifsita (es un tectosilicato del grupo de las zeolitas, con fórmula genérica $(\text{Ca},\text{K},\text{Na})_6(\text{Si}_{10}\text{Al}_6)\text{O}_{32} \cdot 12\text{H}_2\text{O}$). Estas muestras de morteros de la época romana han estado en contacto continuo con el agua. Gracias a esta exposición, los científicos piensan que el cristal de estos compuestos fue capaz de

seguir creciendo con el tiempo, reforzando el hormigón y evitando que se formen grietas y convirtiéndolo en el hormigón quasi indestructible de los romanos [70].

1.5 Bibliografía

- [1] Vitruvio II, I, “Del principio de los edificios” (Texto: Ortiz y Sanz 1787).
- [2] A. Graciani, “Hacia el nacimiento de la Historia de la Construcción. Origen y devenir de una Ciencia”, Actas del Tercer Congreso Nacional de Historia de la Construcción, Sevilla, octubre 2000.
- [3] <https://www.ieca.es/historia-del-cemento/>. Instituto español del cemento y sus aplicaciones: IECA. Última entrada 26/02/2020.
- [4] R. M. Esbert, M. Montoto y J. Ordaz, “La piedra como material de construcción: durabilidad, deterioro y conservación”, *Materiales de construcción*, 41 (1991) 61-73.
- [5] R. F. González, “La piedra natural y su presencia en el patrimonio histórico”, *Enseñanza de las Ciencias de la Tierra*, 17 (2009) 16-25.
- [6] G. Cultrone, “Estudio mineralógico-petrográfico y físico-mecánico de ladrillos macizos para su aplicación en intervenciones del Patrimonio Histórico, Universidad de Granada (2001)
- [7] F. P. Glasser, J. Marchand y E. Samson, “Durability of concrete- degradation phenomena involving detrimental chemical reactions”, *Cement and Concrete Research*, 38 (2008) 226-246.
- [8] O. Poupard, V.L’Hostis, S. Catinaud y I.Petre-Lazar, “Corrosion damage diagnosis of a reinforced concrete beam after 40 years exposure in marine environment”, *Cement and Concrete Research*, 36 (2005) 504-520.
- [9] V.C. Johansen, W. A. Klemm, P. C. Taylor, “Why chemistry matters in concrete”, *Concrete International*, 24 (2002) 3-6.
- [10] “Guide to durable concrete”, reported by ACI Comité 201, American Concrete Institute, USA, 2002.

[11] T.D. Marcotte, C.M. Hanson, "Corrosion products that form on steel within cement paste", *Materials and Structures*, 40 (2007) 325-340.

[12] C. Romea, "El hormigón: breve reseña histórica de un material milenario" en el libro "Aplicaciones avanzadas de los materiales compuestos en la obra civil y la edificación", Omniascience (Omnia Publisher SL) Junio 2014.

[13] M. Perez-Alonso, K. Castro, I. Martinez-Arkarazo, M. Angulo, M. A. Olazabal y J. M. Madariaga, "Analysis of bulk and inorganic degradation products of stones, mortars and wall paintings by portable Raman microprobe spectroscopy", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379 (2004) 42-50.

[14] I. Martinez-Arkarazo, M. Angulo, L. Bartolome, N. Etxebarria, M.A. Olazabal y J.M. Madariaga, "An integrated analytical approach to diagnose the conservation state of building materials of a palace house in the metropolitan Bilbao (Basque Country, North of Spain)", *Analytica Chimica Acta*, 584 (2007) 350-359.

[15] M. Maguregui, U. Knuutinen, I. Martínez-Arkarazo, A. Giakoumaki, K. Castro y J.M. Madariaga, "Field Raman analysis to diagnose the conservation state of excavated walls and wall paintings in the archaeological site of Pompeii (Italy)", *Journal of Raman Spectroscopy*, 43 (2012) 1747-1753.

[16] M. Maguregui, A. Sarmiento, R. Escribano, I. Martinez-Arkarazo, K. Castro y J. M. Madariaga, "Raman spectroscopy after accelerated ageing tests to assess the origin of some decayed products found in real historical bricks affected by urban polluted atmospheres", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395 (2009) 2119-2129.

[17] N. Prieto-Taboada, M. Maguregui, I. Martinez-Arkarazo, M.A. Olazabal, G. Arana y J. M. Madariaga, "Spectroscopic evaluation of the environmental impact on black crusted modern mortars in urban-industrial areas", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399 (2011) 2949-2959.

- [18] M. Irazola, M. Olivares, K. Castro, M. Maguregui, I. Martínez-Arkarazo y J.M. Madariaga, “In situ Raman spectroscopy analysis combined with Raman and SEM-EDS imaging to assess the conservation state of 16th century wall painting”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 43 (2012) 1676-1684.
- [19] C. García-Florentino, M. Maguregui, H. Morillas, U. Balziskueta, A. Azcarate, G. Arana y J.M. Madariaga, “Portable and Raman imaging usefulness to detect decaying on mortars from Punta Begoña Galleries (Getxo, North of Spain)”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 47 (2016) 1458-1466.
- [20] O. Gómez-Laserna, P. Cardiano, M. Diez-García, N. Prieto-Taboada, L. Kortazar, M.A. Olazabal y J.M. Madariaga, “Multi-analytical methodology to diagnose the environmental impact suffered by building materials in coastal areas”, *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (2018) 4371-4386.
- [21] M. Veneranda, M. Irazola, M. Diez, A. Iturregui, J. Aramendia, K. Castro y J.M. Madariaga, “Raman spectroscopic study of the degradation of a middle age mural painting: the role of agricultural activities”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 45 (2014) 1110-1118.
- [22] V. Matović, S. Erić, A. Kremenović, P. Colombari, D. Srećković-Batočanin y N. Matović, “The origin of syngenite in black crusts on the limestone monument King’s Gate (Belgrade Fortress, Serbia) – the role of agriculture fertiliser”, *Journal of Cultural Heritage*, 13 (2012) 175-186.
- [23] F. Gázquez, F. Rull, J. Medina, A. Sanz-Arranz y C. Sanz, “Linking groundwater pollution to the decay of 15th-century sculptures in Burgos Cathedral (northern Spain)”, *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (2015) 15677-15689.
- [24] M. Maguregui., A. Sarmiento, I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo., K. Castro., N. Etxebarria., G. Arana y J.M. Madariaga, “Analytical diagnosis methodology to evaluate

nitrate impact on historical building materials (stones, mortars and bricks)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 (2007) 1361-1370.

[25] S. Martínez-Ramírez J.M. Bastidas, "A Raman Spectroscopy study of steel corrosion products in activated fly ash mortar containing chlorides", *Construction and Building Materials*, 96 (2015) 383-390.

[26] J.L Prada, A. Valenciano y A. Navarro, "Procesos de alteración de materiales pétreos en edificios de interés histórico", *Acta Geológica Hispánica*, 30 (1996) 97-110.

[27] M. Theodoridou y M. Harbottle, presentado en "European Geosciences Union General Assembly", "Preventing deterioration of construction geo-materials; the new concept of biological self-healing for porous building stone", *Geophysical Research Abstracts*, Vienna, Austria, Abril 2018.

[28] G. Torracca, "Lectures on material science for architectural conservation", J. Paul Getty Trust, The Getty Conservation Institute, Los Angeles, 2009,

[29] J. M. Rincón y M. Romero, "Fundamentos y clasificación de las eflorescencias en ladrillos de construcción", *Materiales de Construcción*, 50, 260 (2000) 63-69.

[30] M. Maguregui, R. Tagliapietra, M. Angulo, I. Martínez-Arkarazo, K. Castro, J.M. Madariaga y A. Brooker, "Identification of historical bricks degradation products by means of Combined Raman spectroscopy and scanning electron microscopy". *Conservation Science* (J.H. Townsend, L. Toniolo, F. Capitelli eds.), 2007, 212-219.

[31] A. Arnold y K. Zehnder, "Salt weathering on monuments" presentado en "Symposium on the Conservation of Monuments in the Mediterranean" Bari, Italy, 1989.

[32] C. Rodríguez-Navarro, E. Doehne, E. Sebastian, "How does sodium sulfate crystallize? Implications for the decay and testing of building materials", *Cement and Concrete Research*, 30, 10 (2000) 1527-1534.

- [33] E. Ruiz-Agudo, F. Mees, P. Jacobs y C. Rodríguez-Navarro, "The role of saline solution properties on porous limestone salt weathering by magnesium and sodium sulfates", *Environmental Geology*, 52 (2007) 269–281.
- [34] N. Prieto-Taboada, S. Fdez-Ortiz de Vallejuelo, M. Veneranda, E. Lama, K. Castro, G. Arana, A. Larrañaga y J. M. Madariaga, "The raman spectra of the Na₂SO₄-K₂SO₄ system: applicability to soluble salts studies in built heritage", *Journal of Raman Spectroscopy*, 50 (2019) 175-183.
- [35] N. Prieto-Taboada, O. Gómez-Laserna, I. Martínez-Arkarazo, M. A. Olazabal y J. M. Madariaga, "Raman Spectra of the Different Phases in the CaSO₄-H₂O System", *Analytical Chemistry*, 86, 20 (2014) 10131-10137.
- [36] S. Köhler, D. Heinz, L. Urbonas, "Effect of ettringite on thaumasite formation", *Cement and Concrete Research*, 36,4 (2006) 697-706.
- [37] S.M. Torresab, C.A. Kirkc, C.J. Lynsdalea, R.N. Swamyb y J.H. Sharp. "Thaumasite- ettringite solid solutions in degraded mortars", *Cement and Concrete Research*, 34 (2004) 1297-1305.
- [38] F. Veniale, M. Setti, C. Rodríguez-Navarro, S. Lodola, W. Palestra y A. Busetto, "Thaumasite as decay product of cement mortar in brick masonry of a church near Venice", *Cement & Concrete Composites*, 25 (2003) 1123–1129.
- [39] M. Romer, L. Holzer y M. Pfiffner, "Swiss tunnel structures: concrete damage by formation of thaumasite", *Cement & Concrete Composites* 25 (2003) 1111–1117.
- [40] T. Warscheida y J. Braamsb, "Biodeterioration of stone-a review", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46 (2000) 343–368.
- [41] T.H. Nash, "Lichen Biology", Cambridge University Press: Leiden, UK, 2006.

- [42] P. Cubas, J. Núñez, A. Crespo y P.K. Divakar, "Líquenes: que son y su uso como bioindicadores", Documento GEMM / Proyecto de Innovación 123, UCM, 2010.
- [43] J. P. McIlroy de la Rosa, P. A. Warke y B. J. Smith, "The effects of lichen cover upon the rate of solutional weathering of limestone", *Geomorphology*, 220 (2014) 81-92.
- [44] R. Scerbo, T. Ristori, L. Possenti, L. Lampugnani, R. Barale y C. Barghigiani, "Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy)", *Science of the Total Environment*, 286 (2002) 27-40.
- [45] M. Svensson, V. Johansson, A. Dahlberg, A. Frisch, G. Thor y T. Ranius, "The relative importance of stand and dead wood types for wood-dependent lichens in managed boreal forests", *Fungal Ecology*, 20 (2016) 166-174.
- [46] M. Maguregui, U. Knuutinen, I. Martinez-Arkarazo, K. Castro y J.M. Madariaga, "Raman spectroscopy as a tool to diagnose the impact and conservation state of Pompeian second and fourth style wall paintings exposed to diverse environments (House of Marcus Lucretius)", *Journal of Raman Spectroscopy*, 41 (2010) 1400-1409.
- [47] M. Maguregui, U. Knuutinen, J. Trebolazabala, H. Morillas, K. Castro, I. Martinez-Arkarazo y J.M. Madariaga, "Use of in situ and confocal Raman spectroscopy to study the nature and distribution of carotenoids in brown patinas from a deteriorated wall painting in Marcus Lucretius House (Pompeii)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402 (2012) 1529-1539.
- [48] H.G.M. Edwards, E.M. Newton, D.D. Wynn-Williams y R.I. Lewis-Smith, "Non-destructive analysis of pigments and other organic compounds in lichens using Fourier-transform Raman spectroscopy: a study of Antarctic epilithic lichens" *Spectrochimica Acta A*, 59 (2003) 2301-2309.
- [49] M. Hoppert, C. Flies, W. Pohl, B. Günzl y J. Schneider, "Colonization strategies of lithobiontic microorganisms on carbonate rocks", *Environmental Geology*, 46 (2004) 421-431.

- [50] S.E. Jorge-Villar, H.G.M. Edwards, "Raman Spectroscopy in Astrobiology", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384 (2006) 100-113.
- [51] M. Perez-Alonso, K. Castro, J.M. Madariaga, "Investigation of degradation mechanisms by portable Raman spectroscopy and thermodynamic speciation: The wall painting of Santa María de Lemoniz (Basque Country, North of Spain)", *Analytica Chimica Acta*, 571 (2006) 121-128.
- [52] S.E. Jorge-Villar, H.G.M. Edwards y R.D. Seaward, "Raman spectroscopy of hot desert, high altitude epilithic lichens", *Analyst*, 130 (2005) 730-737.
- [53] H. Schulz, M. Baranska, R. Barnski, "Potential of NIR-FT-Raman spectroscopy in natural carotenoid analysis", *Biopolymers*, 77 (2005) 212-221.
- [54] H.G.M. Edwards, F. Garcia-Pichel, E. M. Newton, D. Wynn-Williams, "Vibrational Raman spectroscopic study of scytonemin, the UV-protective cyanobacterial pigment", *Spectrochimica Acta Part A*, 56 (1999) 193-200.
- [55] H.G.M. Edwards, J.M. Holder, M.R.D. Seaward, D.A. Robinson, "Raman spectroscopic study of lichen-assisted weathering of sandstone outcrops in the High Atlas Mountains, Morocco", *Journal of Raman Spectroscopy*, 33 (2002) 449-454.
- [56] S.E. Jorge-Villar, H.G.M. Edwards y M.R.D. Seaward, "Raman spectroscopy of hot desert, high altitude epilithic lichens" *Analyst*, 130 (2005) 730-737.
- [57] K. Castro, S. Pessanha, N. Proietti, E. Princi, D. Capitani, M.L. Carvalho y J.M. Madariaga, "Noninvasive and nondestructive NMR, Raman and XRF analysis of a Blaeu coloured map from the seventeenth century", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391, 2008; 433-441.
- [58] A. Gerhardt, "Environmental Monitoring vol 1. Bioindicator Species and their Use in Biomonitoring". *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)* 2011.

- [59] A. Tournié, L. C. Prinsloo, C. Paris, P. Colomban y B. Smith, "The first *in situ* Raman spectroscopic study of San rock art in South Africa: procedures and preliminary results", *Journal of Raman Spectroscopy*, 42 (2011) 399-406.
- [60] P. Adamo y P. Violante, "Weathering of rocks and neogenesis of minerals associated with lichen activity", *Applied Clay Science*, 16, 5-6 (2000) 229-256.
- [61] Paolo Giordani, "Lichen Diversity and Biomonitoring: A Special Issue", *Diversity*, 11, 9 (2019) 171-174.
- [62] C.J. Ellis, "Climate Change, Bioclimatic Models and the Risk to Lichen Diversity", *Diversity*, 11 (2019) 54-76.
- [63] L.G. Sancho, A. Pintado, T.G.A. Green, "Antarctic Studies Show Lichens to be Excellent Biomonitoring of Climate Change", *Diversity*, 11 (2019) 42-56.
- [64] S. Siegesmund y R. Snethlage. "Stone in Architecture", Berlin, Springer, 2011.
- [65] M. S. Shackley, "X-Ray Fluorescence Spectrometry (XRF) in Geoarchaeology", Springer, 2011.
- [66] L. Bellot-Gurlet, S. Pagès-Camagna, C. Coupry, "Raman spectroscopy in art and archaeology", *Journal of Raman Spectroscopy*, 37 (2006) 962-965.
- [67] F. Casadio, C. Daher, L. Bellot-Gurlet, "Raman Spectroscopy of cultural heritage materials: overview of applications and new frontiers in instrumentation, sampling modalities, and data Processing", del libro "*Analytical Chemistry for Cultural Heritage*", Parte de "Topics in Current Chemistry Collections book series (TCCC)", Springer, 2016, 161-211.
- [68] O. Gómez-Laserna, N. Prieto-Taboada, I. Ibarrodo, I. Martínez-Arkarazo, M. A. Olazabal y J. M. Madariaga, "Raman Spectroscopic characterization of brick and mortars", del libro "Brick and Mortar Research", Nova Science Publishers Inc., UK ed., 195-213.

[69] M. Schreiner, M. Melcher, K. Uhlir, "Scanning electron microscopy and energy dispersive analysis: applications in the field of cultural heritage", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 3 (2007) 737-747.

[70] M.D. Jackson, S. R. Mulcahy, H.Chen, Y. Li, Q. Li, P. Cappelletti, H-R. Wenk, "Phillipsite and Al-Tobermorite mineral cements produced through low temperature water-rocks reactions in Roman marine concrete" *American Mineralogist*, 102 (2017) 1435–1450.

CAPÍTULO 2

Objetivos

Tal y como se ha descrito en la introducción de esta Tesis, cada edificio y sus materiales de construcción deben considerarse sistemas heterogéneos complejos, sobre todo si contienen materiales sintéticos modernos introducidos a partir del inicio del siglo XX, donde se dan gran cantidad de procesos de deterioro provocados por diversos factores bioambientales.

Muchos de estos procesos bioambientales están aún sin aclarar del todo y deben ser mejor estudiados para definirlos y explicarlos de un modo más adecuado a los actuales parámetros aplicados en los innovadores procesos de protección del Patrimonio. Por ello, el **Objetivo Global** de esta Tesis es ***Contribuir al Estudio de los factores Bioambientales en la Degradación de nuevos Materiales Pétreos de***

Construcción mediante el uso de Técnicas Espectroscópicas Portátiles y de Alta Resolución.

Para conseguir ese amplio objetivo global, este proyecto de Tesis Doctoral se ha estructurado para dar respuesta a varios **Objetivos Particulares**.

El **primero** de ellos pretende **demostrar y hacer ver que las técnicas espectroscópicas de análisis son herramientas muy válidas y fiables** para el estudio tanto de materiales tradicionales como son las rocas, como para la caracterización de materiales nuevos y cada vez más modernos y complejos como los hormigones.

El **segundo** de ellos **pretende evaluar y explicar las consecuencias que tiene en un edificio el hecho de que se haya visto expuesto o no a diferentes estresores ambientales**, tales como aguas de infiltración, colonizaciones de líquenes y gases atmosféricos. Y evaluar el impacto que ha tenido esta exposición a estresores ambientales en el estado de conservación de los materiales.

El **tercer** objetivo particular es **demostrar que las técnicas espectroscópicas de análisis pueden apoyar de manera muy fiable el trabajo de diagnóstico realizado por los arquitectos cuando proceden a evaluar el estado de conservación de los materiales** y en consecuencia de las estructuras de los edificios. En concreto, se quiere demostrar que la espectroscopia Raman *in situ*, al ser hoy en día una técnica analítica ultramóvil y que hace uso de instrumentos de tamaño reducido, puede ser una gran herramienta de apoyo y análisis químico no destructivo, usable en el propio andamio y que proporciona información en el momento que ayude a tomar decisiones, aunque se siga haciendo uso de otras herramientas de análisis destructivo que utilizan los arquitectos y restauradores.

El **cuarto** objetivo particular está dirigido a situaciones en las que los materiales de construcción y los edificios están padeciendo un daño más severo y profundo. Se quiere **demostrar que los análisis realizados *in situ* pueden orientar en la definición de**

un plan adecuado de muestreo evitando así la toma innecesaria de muestras. Y cuando las muestras llegan al laboratorio, gracias a las posibilidades ofrecidas por las técnicas espectroscópicas de alta resolución, se pretende aclarar los procesos y mecanismos involucrados en el deterioro de los materiales pétreos de construcción, explicando también el origen de los cationes y aniones que dan lugar a la aparición de nuevas sales solubles, ausentes en origen del material pétreo utilizado en los diversos edificios.

Indudablemente, los líquenes son unos organismos que producen una gran alteración físico-química allá donde se encuentran viviendo. Pero todavía hay muchos procesos sin describir y mecanismos sin aclarar. Por lo tanto, el **quinto** objetivo particular de esta tesis aspira a **contribuir al esclarecimiento de procesos relacionados con el biodeterioro producido por los líquenes.** Las técnicas espectroscópicas de análisis son herramientas muy válidas también en este campo. Concretamente, se pretende relacionar el estrés que están sufriendo estos líquenes caracterizando adecuadamente mediante estas técnicas analíticas tanto los tipos de pigmentos, como los diferentes biominerales que pueden llegar a producir y sintetizar según sus necesidades ambientales. Siguiendo con el mismo objetivo, se quiere estudiar también el comportamiento metabólico que presentan los diversos géneros de líquenes en función de la composición química del sustrato pétreo donde se encuentran anclados. A su vez, se pretende evaluar el papel que pueden tener estos organismos en la captación de sustancias atmosféricas de diversa naturaleza para ser posteriormente incorporados a su metabolismo. Y detectar así nuevos compuestos químicos antes ausentes en la interfaz liquen-sustrato pétreo.

Como se ha visto en la bibliografía que la caracterización de los compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos relacionados con los líquenes es en ocasiones bastante ambigua, se quiere hacer también una mejor caracterización mediante espectroscopia Raman de dichos compuestos.

Finalmente, tras la adecuada caracterización de los pigmentos, y con la intención de profundizar en el estudio del papel de bioindicadores que pueden realizar los

líquenes, el **sexto** objetivo particular consiste en **desarrollar un método de evaluación del impacto ambiental analizando compuestos químicos derivados del metabolismo de los líquenes con las técnicas espectroscópicas de análisis de alta resolución**. En la recopilación bibliográfica realizada se ha visto que muchos autores han utilizado los líquenes como bioindicadores, pero no se ha encontrado ningún trabajo que utilice imágenes espectroscópicas para visualizar el gran potencial que tienen estos organismos como muestreadores activos de las características ambientales alrededor del espacio colonizado por ellos. Es un escenario muy adecuado para demostrar la importancia de los factores bioambientales en la comprensión de los procesos de degradación que sufren los materiales (modernos) de construcción.

CAPÍTULO 3

Metodología

Los materiales de construcción analizados en esta Tesis han sido seleccionados, por una parte, en base a su origen, estructura y composición química y por otra parte en base a su afección bioambiental. Por lo tanto, se han analizado materiales pétreos naturales como rocas calizas, areniscas y mármoles (muchos de ellos colonizados por líquenes) así como materiales pétreos de fabricación humana como hormigones, hormigones armados, morteros y ladrillos muestreados en emplazamientos con diferentes afecciones ambientales. Para su análisis se ha hecho uso de diferentes técnicas espectroscópicas tanto portátiles como de alta resolución.

3.1. Los emplazamientos y su índice de calidad del aire

La Red de Control de Calidad del Aire del Gobierno Vasco es un instrumento para controlar y vigilar los niveles de contaminación en la Comunidad Autónoma Vasca que da cumplimiento a la obligación que tienen las Comunidades Autónomas de evaluar la calidad del aire en su territorio. Esta Red dispone de analizadores y sensores que miden los contaminantes que marca la normativa en materia de calidad del aire, principalmente dióxido de azufre (SO₂), óxidos de nitrógeno (NO y NO₂), ozono troposférico, monóxido de carbono (CO), benceno y partículas en suspensión (PM₁₀ y PM_{2.5}). Además, se miden parámetros meteorológicos como velocidad y dirección del viento, temperatura, humedad relativa, presión, radiación y precipitación. Esta red está compuesta por estaciones que se disponen por todo el territorio vasco. Actualmente hay 53 estaciones, de las cuales 14 pertenecen a actividades industriales. Estas estaciones permiten medir la contaminación de fondo en condiciones naturales, la calidad del aire en zonas urbanas y también en entornos industriales. De forma general se clasifican según el área donde estén; rurales, urbanas o suburbanas y según el origen de la contaminación que estén recogiendo; tráfico, industria o fondo (cuando es una mezcla de varias fuentes) [1].

La recogida y tratamiento de los datos históricos comenzó en la mayoría de las estaciones en el año 2012. Esta red de calidad del aire del Gobierno Vasco clasifica las diferentes zonas geográficas en función de las concentraciones de los contaminantes analizados y asocia un color y una calificación (muy buena, buena, regular, mala y muy mala) a cada rango de concentración (medido en µg/m³) de los contaminantes SO₂, NO₂, O₃, PM₁₀ y PM_{2.5}, tal y como se muestra en la Tabla 3.1 [1].

A fin de clasificar los emplazamientos respecto a su calidad ambiental, se han utilizado los contaminantes que todas las estaciones usadas como referencia tienen en común, y en todo el rango histórico, esto es, NO₂ y los PM₁₀. Los emplazamientos analizados y su perspectiva además de la afección ambiental de cada uno de ellos se muestran en la Figura 3.1 y se describen a continuación.

Tabla 3.1: asociación por colores de los rangos de concentración medidos en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de los contaminantes analizados por la red de calidad del aire del Gobierno Vasco. Modificado de [1].

Estado de la calidad del aire	SO ₂	NO ₂	O ₃	PM ₁₀	PM _{2.5}
Muy bueno	0-100	0-40	0-80	0-20	0-10
Bueno	101-200	41-100	81-120	21-35	11-20
Regular	201-350	101-200	121-180	36-50	21-25
Malo	351-500	201-400	181-240	51-100	26-50
Muy malo	501-1250	401-1000	241-600	101-1200	51-800

3.1.1. Cementerio de Nuestra Señora del Carmen de Getxo

El cementerio municipal de Nuestra Señora del Carmen se encuentra en la localidad de Getxo, actualmente el cementerio municipal de la localidad. Está ubicado en La Galea, pegado al mar Cantábrico y es una obra realizada por Fidel Urrutia, en 1908. Es neoclásico vizcaíno puro y uno de los conjuntos de arte funerario más significativos del País Vasco. Destaca por su suntuosa puerta principal y dos adyacentes, de rejería. Tiene 41.000 metros cuadrados, con 1.700 sepulturas, más de 3.000 nichos y 2.700 osarios aproximadamente; muchos de estos espacios son pequeñas joyas del arte funerario, entre las que destacan las capillas y los cerca de 500 panteones. Sus impulsores quisieron dar respuesta a la falta de espacio para nuevos enterramientos en el municipio. Es una obra arquitectónica enclavada entre la tradición y la vanguardia ya que posee materiales tales como rocas areniscas y calizas, mármoles, hormigón y piezas ornamentales de cobre y bronce [2].

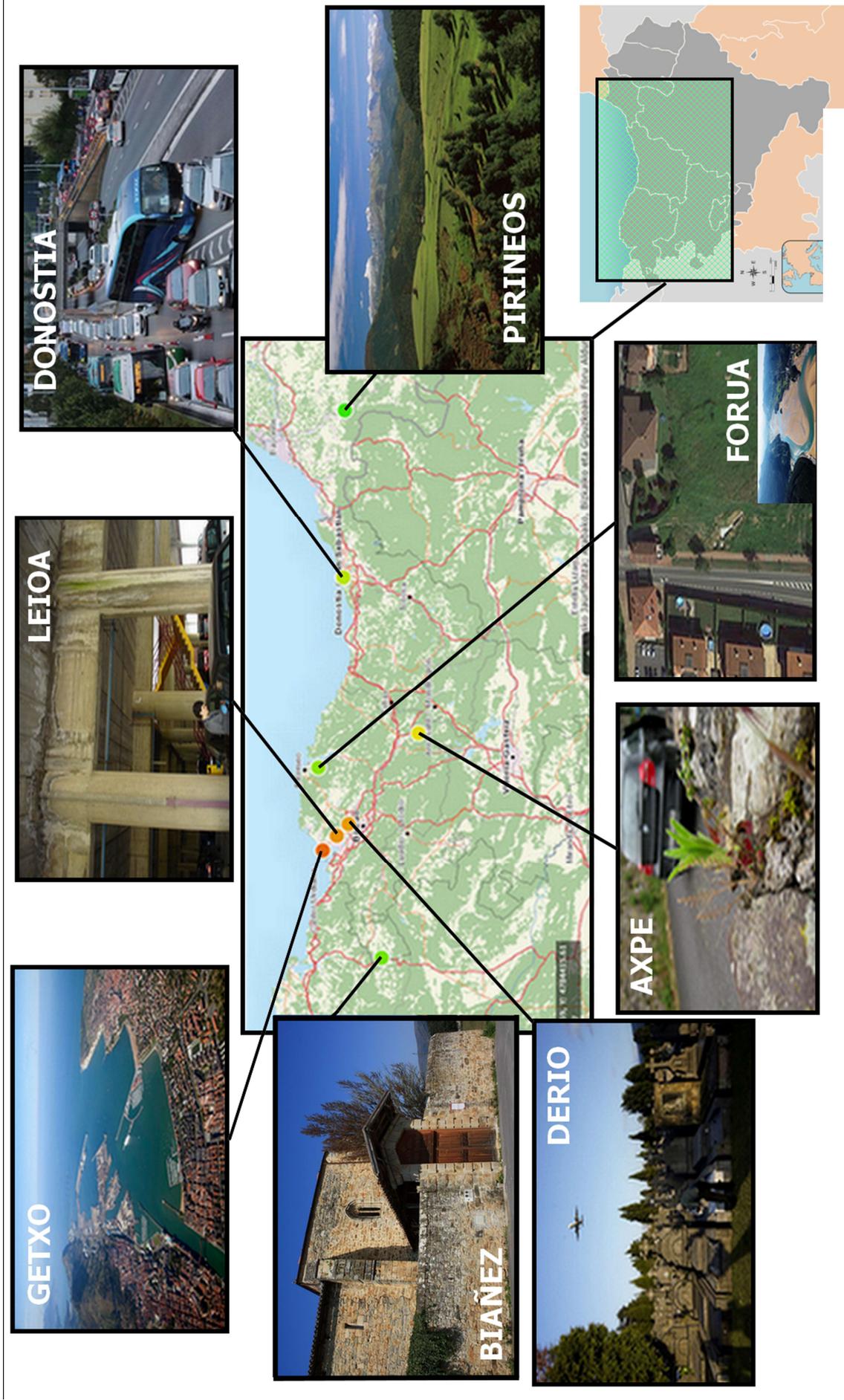


Figura 3.1: Localización de los emplazamientos e imagen de la afección ambiental característica de cada uno de ellos.

Para clasificar este emplazamiento acorde a su calidad del aire se ha escogido la estación de Algorta y las Figuras 3.2 y 3.3 muestran la variación de las concentraciones de los contaminantes NO₂ y PM₁₀, respectivamente, desde 2012 a 2019.

El cementerio de Getxo, al estar cerca del Superpuerto de Bilbao, soporta una afección ambiental directa tanto industrial como de tráfico marítimo.



Figura 3.2: niveles de NO₂ registrados en la estación de Algorta entre los años 2012 y 2019 [1].

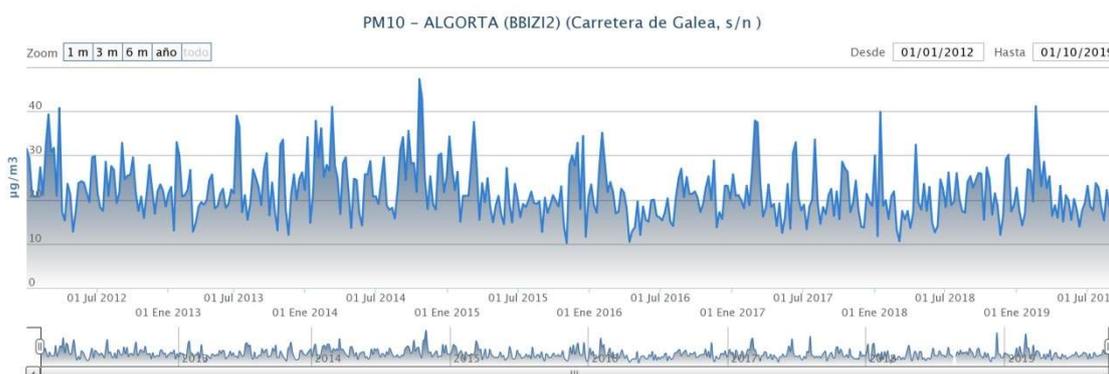


Figura 3.3: niveles de PM₁₀ registrados en la estación de Algorta entre los años 2012 y 2019 [1].

3.1.2. Campus Universitario de Leioa

El Campus de Leioa nace a partir de la extinta Universidad de Bilbao, cuando en 1969 se dio comienzo al proceso de adjudicación y posterior construcción de un nuevo campus ubicado en el municipio de Leioa (a 15 km. de Bibao) y en el que comenzaron a impartirse clases en el curso 1972-73. Es un buen ejemplo de la arquitectura brutalista con hormigón armado a la vista y edificios sobre pilotes [3].

Para clasificar este emplazamiento según su calidad del aire se ha escogido como referencia la estación de Sestao. La Figura 3.4 muestra los niveles de NO₂ en Sestao en todo el rango histórico y la Figura 3.5 muestran los niveles de NO₂ de esta misma estación en el año 2016 (no se dispone de datos de PM₁₀ en esta estación de muestreo)

Las muestras de los edificios de la universidad Leioa pertenecen a estructuras contiguas a su parking. Por lo tanto, y teniendo en cuenta también su localización geográfica, se ha catalogado este emplazamiento con una afección industrial difusa y una afección directa por aparcamiento de coches.



Figura 3.4: niveles de NO₂ registrados en la estación de Sestao entre los años 2012 y 2019 [1].

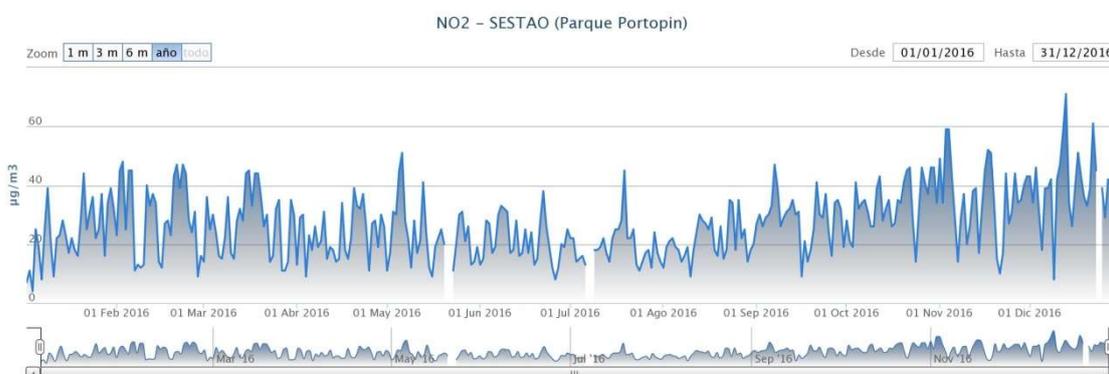


Figura 3.7: niveles de NO₂ registrados en la estación de Sestao en el año 2016 [1].

3.1.3. Cementerio municipal de Bilbao en Derio

El cementerio de Bilbao, situado en términos municipales de Zamudio y Derio se inauguró el 27 de abril de 1902. La responsabilidad del proyecto se le atribuye a Edesio de Garamendi y Enrique de Epalza. En la actualidad el cementerio se extiende a lo largo de 208.566 metros cuadrados. Constituye la necrópolis más importante del País Vasco y una de las más destacadas a nivel nacional. Es una ciudad analógica de suma importancia patrimonial. Se trata de un gran conjunto de planta rectangular cercado por

verja-muro de mampuesto al que se accede por paso abierto. La ejecución de gran parte de las obras del cementerio corrió a cargo de Francisco de Bustinza, a quien se otorgó el 14 de octubre de 1896 la edificación de la capilla y la galería cubierta. Para la construcción de ambas se utilizaron materiales que asegurasen la perdurabilidad del conjunto, tales como la mampostería de las canteras de Lutxana para los cimientos; la sillería para los pilares, antepecho, arcos y cornisas; el mármol de Mañaria para los fustes y el mármol de Ereño para las bases y los capiteles de las columnas; el pavimento de losa a base de sillares de Durango para el suelo de la galería, el ladrillo enlucido y pintado al óleo para las bóvedas; la pizarra de las canteras de Angers para la cubierta y los mármoles de diferentes colores traídos de Italia para el suelo de la capilla [4].



Figura 3.6: niveles de NO₂ registrados en la estación de Sangroniz entre los años 2012 y 2019 [1].

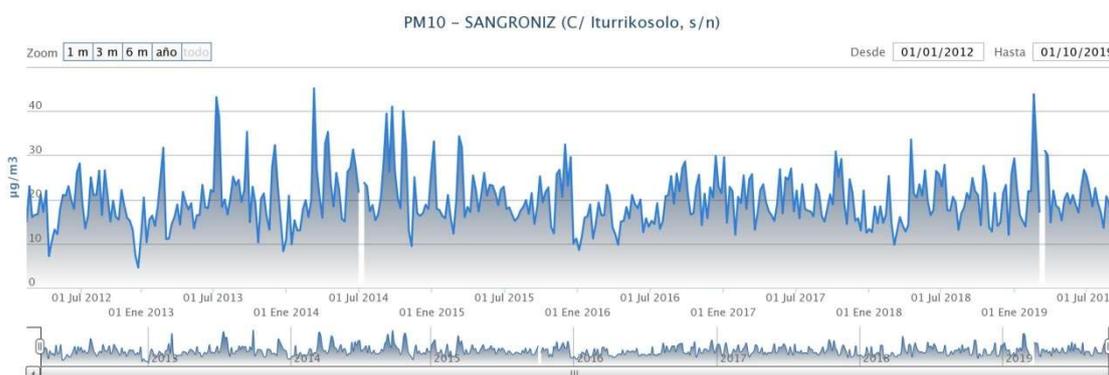


Figura 3.7: niveles de PM₁₀ registrados en la estación de Sangroniz entre los años 2012 y 2019 [1].

El cementerio de Derio está, a su vez, ubicado justo al lado del aeropuerto de Bilbao, que sólo en el año 2019 operó cerca de 51.600 vuelos entre pasajeros y mercancías, cifra que se ve aumentada cada año [5]. Considerando estos datos y acorde a su ubicación, se ha catalogado el cementerio de Derio como un emplazamiento con una afección de tráfico tanto aéreo, como rodado.

Para clasificar este emplazamiento según su calidad del aire se ha escogido como referencia la estación de Sangroniz, cuya evolución se ve en las Figuras 3.6 y 3.7.

3.1.4. Axpe

La antigua anteiglesia de Axpe se unió al municipio de Atxondo en el año 1962. Actualmente es un barrio rural perteneciente a dicho municipio. La etimología del topónimo “Atxondo” (Haitz-Ondo), hace referencia a la situación del valle junto a la Peña de Anboto. La actividad más relevante en

Axpe-Atxondo es la agricultura y ganadería, siendo esta última la más importante. También la industria, como en toda la comarca, tiene peso en la economía del municipio. Cabe destacar el paisaje montañoso y rural de esta zona, ya que las paredes de las Peñas del Duranguesado o Sierra de Anboto marcan el municipio. Dado su potencial turístico se ha incrementado en los últimos años el número de restaurantes y como consecuencia el número de visitantes que en su mayoría utilizan el coche para desplazarse hasta Axpe por la carretera BI-4332 de la red autonómica de tercer nivel [6].

La mayoría de las construcciones (caseríos) son a base de madera y roca, y presentan muros de mampostería tanto para las paredes de los caseríos como para los muros de cierre de los terrenos. La estación de la red de calidad del aire del gobierno vasco más cercana a Axpe se sitúa en Durango. Las Figuras 3.8 y 3.9 recogen la evolución de concentraciones de NO₂ y PM₁₀ en la citada estación desde 2012 a 2019.

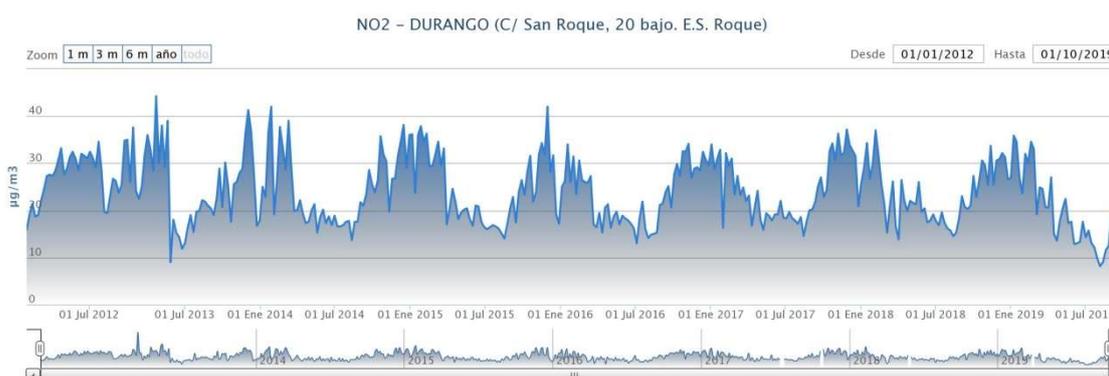


Figura 3.8: niveles de NO₂ registrados en la estación de Durango entre los años 2012 y 2019 [1].

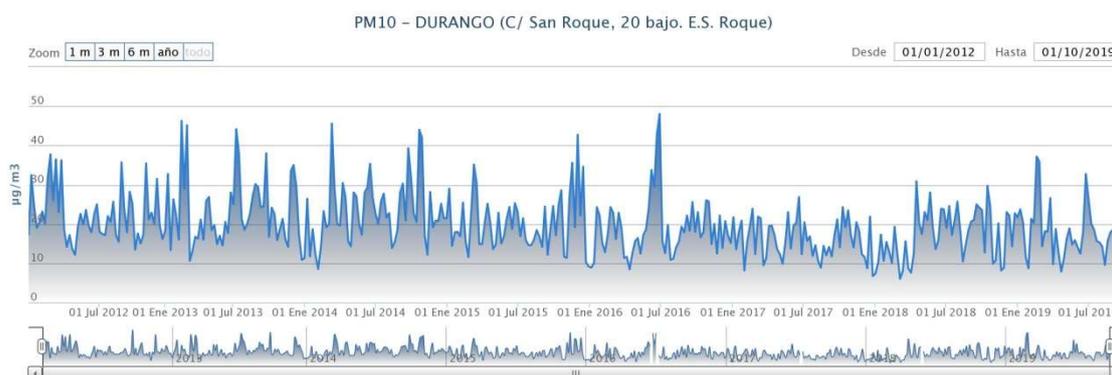


Figura 3.9: niveles de PM₁₀ registrados en la estación de Durango entre los años 2012 y 2019 [1].

Dada su ubicación, las muestras de Axpe soportan una afección directa de tráfico rodado.

3.1.5. Escuela Universitaria de Magisterio de la UPV/EHU de Donostia

La Escuela Universitaria de Magisterio de Donostia/San Sebastián se encuentra en el barrio de Ibaeta. Está ubicado cerca de la playa de Ondarreta, muy cerca de la Avenida Tolosa que soporta un gran tráfico rodado. Se trata de una construcción con estructura de hormigón y fachada de ladrillo cara vista.

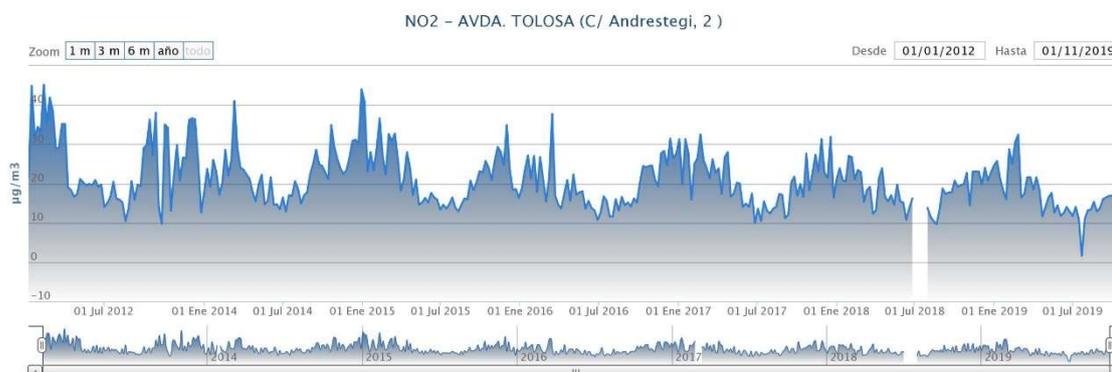


Figura 3.10: niveles de NO₂ registrados en la estación de la avenida Tolosa de Donostia entre los años 2012 y 2019 [1].

Para clasificar este emplazamiento en base a su calidad del aire se ha cogido como referencia la cercana estación de muestreo de la Avenida Tolosa. La Figura 3.10 muestra la evolución de los niveles de NO₂ entre 2012 y 2019, mientras que en la Figura 3.11 se presentan los valores de PM₁₀.

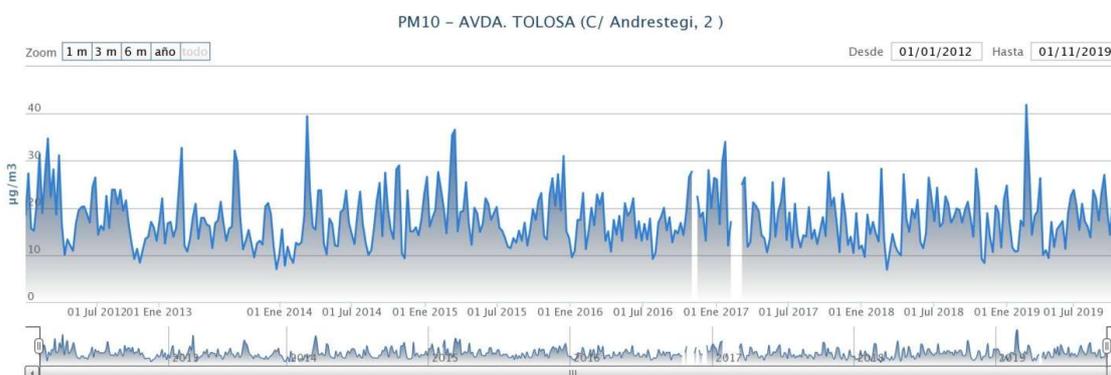


Figura 3.11: niveles de PM₁₀ registrados en la estación de la avenida Tolosa de Donostia entre los años 2012 y 2019 [1].

Considerando la ubicación de la escuela de Magisterio de Donostia, se ha catalogado este emplazamiento con una afección urbana difusa.

3.1.6. Forua, Reserva de la Biosfera de Urdaibai

Forua es un pequeño pueblo rural de la comarca de Busturialdea enclavado en la Reserva de la Biosfera de Urdaibai [7]. El municipio se ubica a ambos lados de la carretera BI-2235 (autonómica de 2º nivel) que comunica los pueblos de Gernika (capital de la comarca) y Bermeo. Su ubicación es cercana a la costa por lo que ha visto en los últimos 30 años un gran incremento de viviendas unifamiliares en terrenos que antes eran rurales. Estas viviendas están hechas en su mayoría a base de estructuras de hormigón y hormigón armado y utilizan morteros a base de cemento para la unión de bloques y ladrillos. Como referencia de la calidad del aire de Forua se ha escogido la estación más cercana ubicada en Mundaka, municipio cercano ubicado al pie de la misma carretera. Las figuras 3.12 y 3.13 muestran los niveles de los contaminantes NO₂ y PM₁₀ hallados en esta estación de muestreo en todo el rango histórico de recogida de datos.



Figura 3.12: niveles de NO₂ registrados en la estación de Mundaka entre los años 2012 y 2019 [1].

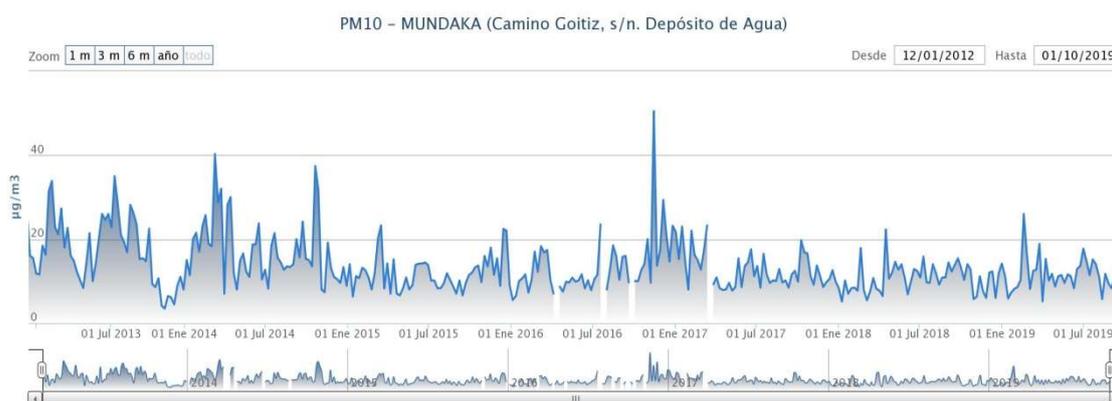


Figura 3.13: niveles de PM₁₀ registrados en la estación de Mundaka entre los años 2012 y 2019 [1].

Considerando estos datos de la ubicación de Forua, se ha catalogado como un emplazamiento con afección de tráfico rodado difuso de alta intensidad.

3.1.7. Biañez, feligresía del Valle de Carranza (Bizkaia)

Otras muestras analizadas en esta Tesis pertenecen a un muro de mampostería contiguo a la iglesia del municipio vizcaíno de Biañez. San Andrés de Biañez es una feligresía del Valle de Carranza (Bizkaia). El Valle de Karrantza, situado en la zona más occidental de la comarca de las Encartaciones es, con una extensión de 137,87 km², el municipio más extenso de Bizkaia [8]. No existe estación cercana que sirva de referencia, pero dada la ubicación (ver Figura 3.1) se considera un emplazamiento con afección ambiental difusa por tráfico rodado de baja intensidad.

3.1.8. Pirineos

También se han analizado en esta tesis muestras del Pirineo Navarro. Concretamente, se han analizado muestras pertenecientes al Valle del Roncal. No existe estación cercana a la zona de muestreo [8], pero dada su ubicación se considera un emplazamiento sin ninguna afección ambiental antropogénica.

Los demás emplazamientos han sido clasificados en base a los niveles de contaminación histórica alcanzados con cada contaminante de referencia. Por lo tanto, se ha establecido la siguiente escala, en orden ascendente de afección ambiental, desde T1 para ambiente natural no impactado a T8 para atmósfera altamente antropizada.

3.2. Descripción de las muestras

En base a los registros de NO₂ y PM₁₀ mostrados en el apartado anterior y a las afecciones ambientales mayoritarias, la Tabla 3.2 resume, la clasificación ambiental de cada emplazamiento. Este orden de clasificación de los emplazamientos es el siguiente: Pirineos-Biañez-Forua-Donostia-Axpe-Derio-Leioa-Getxo. Los detalles se recogen en la Tabla 3.2.

Además, se recoge la descripción de las muestras tomadas en cada emplazamiento junto con el tipo de estructura muestreada. Algunas de esas afecciones no se incluyen en los parámetros de calidad ambiental de la Red de Calidad del aire del Gobierno Vasco, pero se consideran importantes, para definir las condiciones ambientales del emplazamiento.

Tabla 3.2: clasificación de los tipos de materiales de construcción analizados en esta tesis, en base a su localización, tipo de atmósfera y tipo de muestra.

Localización de los emplazamientos	Tipo de atmósfera	Fuente mayoritaria de contaminación	Estructura muestreada	Tipos de muestras recogidas
Pirineos	T1		- Rocas y barro del suelo	- Rocas arcillosas con colonizaciones de musgos
Biañez/ Apatamonasterio	T2	Difusa bajo tráfico	- Muros de roca	- Rocas areniscas con colonizaciones de líquenes
Forua	T3	Difusa alto tráfico	- Columnas de hormigón armado	- Hormigón armado desprendido del acero - Morteros de recubrimiento, algunos con colonizaciones de musgos y verdín
Donostia	T4	Difusa urbana	- Paredes y columnas de hormigón armado - Muros de ladrillo	- Hormigón armado, cemento y mortero desprendido - Eflorescencias y costras blancas
Axpe	T5	Directa tráfico	- Muros de roca	- Rocas calizas y areniscas con colonizaciones de líquenes
Derio	T6	Tráfico aéreo + rodado	- Muros bajos de roca	- Rocas calizas y areniscas con colonizaciones de líquenes
Leioa	T7	Industrial difusa + directa por aparcamiento	- Muros bajos de hormigón - Columnas de hormigón armado - Muros de ladrillo	- Hormigón y mortero desprendido - Eflorescencias blancas
Getxo	T8	Industrial + tráfico marítimo directo	- Monumentos funerarios, lápidas, columnas y muros bajos de roca	- Rocas calizas, areniscas y mármoles con colonizaciones de líquenes



Figura 3.14: imágenes de las muestras tomadas y/o las estructuras muestreadas en los emplazamientos de Getxo, Leioa, Derio, Axpe, Donostia, y Forua.

La Figura 3.14 muestra las imágenes de las estructuras muestreadas y/o las muestras recogidas en los emplazamientos más contaminados (desde T3 a T8). En concreto, las imágenes de Donostia se tomaron los días que se estuvieron haciendo los análisis in-situ, encima de los andamios y mientras los trabajadores ejecutaban sus labores, pero siempre supervisados por el encargado de seguridad de la obra.

3.3. Instrumentación

3.3.1. Pulidora metalográfica

Previo a los análisis espectroscópicos, en algunas muestras se procedió a su preparación como sección transversal. Los fragmentos de las muestras se introdujeron en una resina acrílica. Cuando terminó el proceso de polimerización de la resina se procedió a su lijado y pulido con una pulidora metalográfica Forcipol[®]1(Metkon, Turkey). El primer lijado se obtuvo con papeles de arena (P320-2000) y el pulido final con discos de diamante, con sistema de refrigeración con agua para evitar el sobrecalentamiento de las muestras por fricción. Por lo tanto, se obtuvo una superficie perfectamente lisa en las muestras que mejora considerablemente el enfoque en las imágenes microscópicas y en los análisis espectroscópicos.

3.3.2. Espectroscopia Raman

Para llevar a cabo los análisis moleculares de las muestras tomadas se utilizaron los tres espectrómetros Raman que se describen a continuación.

Espectrómetro Raman ultramóvil innoRamTM (B&WTEKINC, Newark, USA)

El espectrómetro Raman portátil innoRamTM (B&WTEKINC, Newark, USA) (Figura 3.15) está dotado de lentes de enfoque de 20x y 50x de largo alcance (10 μm y 2 μm de resolución lateral respectivamente) y equipado con un láser de excitación de diodos de 785 nm (a máxima potencia de láser, la potencia que incide en la superficie de la muestra es de 255 mW).



Figura 3.15: Imagen del espectrómetro Raman portátil innoRamTM y de la microcámara acoplada al microscopio de enfoque manual.

El equipo dispone de un detector de CCD refrigerado mediante efecto Peltier. El programa para el tratamiento de datos es el BWSpecTM 3.26 software (B&WTEKINC, Newark, USA). La microsonda (~ 0.1 mm de área de enfoque) puede ser usada a mano, acoplada a un microscopio de mesa o

montada sobre un trípode (MicroBeam S.A., Barcelona, Spain) motorizado en los ejes XYZ, con una resolución espacial de 1 μm y que proporciona, mediante una microcámara, el enfoque sobre las áreas seleccionadas. Dependiendo del objetivo usado, el láser se focaliza en un área de medida (spot) de entre 10-200 μm . El espectrómetro permite analizar un rango espectral fijo comprendido entre 100-3000 cm^{-1} , con una resolución espectral media de 3.5 cm^{-1} .

Espectrómetro Raman Renishaw RA 100

El espectrómetro Renishaw RA 100 (Renishaw, Gloucestershire, UK) (Figura 3.16) se acopla a una microsonda de fibra óptica a la que se pueden unir objetivos de 4x, 20x y 50x (10, 5 y 2 μm de resolución lateral respectivamente). El láser de excitación presenta una longitud de onda de 785 nm, cuya potencia es de 300 mW al 100% de la potencia del láser. El equipo dispone de un detector CCD refrigerado mediante efecto Peltier y el programa de adquisición espectral es el Wire 3.2 (Renishaw, Oxford, UK). La microsonda está montada sobre un trípode acoplado a una microcámara TV que permite un perfecto enfoque de las zonas de interés. El haz del láser se enfoca en un spot de entre 10-200 μm . El rango espectral variable está comprendido entre 100-3250 cm^{-1} con una resolución espectral de 2 cm^{-1} .



Figura 3.16: Imagen del espectrómetro Raman Renishaw RA100.

Espectrómetro confocal microRaman Renishaw

El espectrómetro Raman de microscopia confocal Renishaw InVia (Renishaw, Gloucestershire, UK) (Figura 3.17) dispone de un microscopio DMLM Leica (UK) dotado de objetivos de 5x (N PLAN, apertura 0.12, distancia de trabajo 14 mm), 20x (N PLAN EPI, apertura 0.40, distancia de trabajo 1.1 mm), 50x (N PLAN, apertura 0.75, distancia de trabajo 0.37 mm), 100x (N PLAN EPI, apertura 0.85, distancia de trabajo 0.33 mm) y un objetivo de largo alcance de 50x (N PLAN, apertura 0.55, distancia de trabajo 8.0 mm). De manera general, se usaron los objetivos 20x, 50x y 100x para las medidas, aunque el objetivo 50x de largo alcance permitió el análisis de muestras más

irregulares. El microscopio está dotado de una plataforma motorizada XYZ controlada mediante un trackball y una microcámara TV. Los espectros Raman fueron adquiridos entre $150\text{-}3000\text{cm}^{-1}$ con una resolución espectral de 1 cm^{-1} y una resolución lateral mínima de $1\text{ }\mu\text{m}$. En todas las medidas se utilizaron filtros de densidad neutra para atenuar la potencia del láser sobre las muestras y así evitar reacciones de degradación por procesos fotolíticos y/o térmicos (burning).



Figura 3.17: Imagen del espectrómetro confocal microRaman Renishaw.

El espectrómetro dispone de tres láseres como fuentes de excitación; a 325 nm , a 514 nm y a 785 nm . En la presente tesis doctoral se hizo uso de los láseres de 514 nm y 785 nm , con potencia de láser sobre la superficie de la muestra de 20 mW y 150 mW respectivamente. La detección se hizo por medio de un detector CCD refrigerado mediante efecto Peltier, y el programa utilizado por el equipo fue el Wire 3.3 software (Renishaw, UK).

3.3.3. Difracción de rayos-X (XRD)

Una porción de algunas muestras se ha analizado también mediante XRD de polvo, en un difractómetro PANalytical Xpert PRO (Figura 3.18), equipado con tubo de cobre ($\lambda_{CuK\alpha} = 1,5418 \text{ \AA}$, $\lambda_{CuK\alpha 1} = 1,54060 \text{ \AA}$ y $\lambda_{CuK\alpha 2} = 1,54439 \text{ \AA}$), goniómetro vertical (geometría Bragg-Brentano), rendija programable de divergencia, intercambiador automático de muestras, monocromador secundario de grafito y detector PixCel. Las condiciones de medida fueron 40 KV y 40 mA, con un barrido comprendido entre 5 y $70^\circ 2\theta$. Para el tratamiento informático de los difractogramas obtenidos e identificación de las fases presentes se empleó el software específico PANalytical X'pert HighScore, en combinación con la base de datos PDF2 del ICDD.



Figura 3.18: Imagen del Difractómetro de Rayos-X PANalytical Xpert PRO.

3.3.4. Fluorescencia de Rayos-X (XRF)

Para proceder a los análisis elementales de las muestras de esta Tesis se ha utilizado dos espectrómetros de Fluorescencia de Rayos-X (XRF) que se describen a continuación.

Espectrómetro de microfluorescencia de rayos-X con dispersión de energías (μ -ED-XRF) Artax

El espectrómetro de microfluorescencia de rayos-X con dispersión de energías (μ -ED-XRF) modelo Artax de Röntec (actualmente BrukerAXS) que se muestra en la Figura 3.19 posee un tubo de rayos X de molibdeno que trabaja a un voltaje máximo de 50 kV y una corriente máxima de 0.7 mA. La radiación es detectada mediante un detector especial Xflash con un área activa de 5 mm². El instrumento dispone de dos colimadores de Tantalio de diferente tamaño (0.65 y 1.5 mm) dependiendo de las necesidades del análisis.



Figura 3.19: Imagen del espectrómetro de fluorescencia de Rayos-X Artax.

El cabezal de medición está implementado en una cámara CCD que permite enfocar la muestra mediante un posicionador motorizado en tres dimensiones (XYZ) controlado por ordenador. El equipamiento permite realizar análisis con flujo de helio para identificar los elementos ligeros de número atómico entre 10 y 15 ($10 < Z < 15$). El equipo se calibró diariamente con un estándar de referencia de bronce de Röntec. El programa utilizado fue el SpectraArtax versión 4.9.13.2 (Bruker AXS Microanalysis GmbH, Berlin, Germany).

Espectrómetro de micro-Fluorescencia de Rayos-X, Tornado M4

Para la caracterización mediante micro-fluorescencia de rayos X en el laboratorio se empleó el espectrómetro de micro-fluorescencia de rayos X por dispersión de energías M4 TORNADO de la marca Bruker (ver Figura 3.20). Este equipo implementa una fuente de Rodio (Rh) cuyo voltaje y corriente máxima de trabajo son 50 kV y 600 μ A, respectivamente. Gracias al uso de un sistema de colimación basado en lente policapilar, los análisis se realizaron con una resolución lateral (spot) de 20 μ m. La detección de la emisión se realizó empleando un detector XFlash silicon drift de 30 mm², el cual permite obtener espectros de fluorescencia de rayos X con una resolución energética de 145 eV (medido a la línea $K\alpha$ de Mn). Los análisis se realizaron a vacío (20 mbar) para mejorar la detección de los elementos más ligeros ($Z \leq 11$).



Figura 3.20. Imagen del Espectrómetro de micro-Fluorescencia de Rayos-X, M4 TORNADO.

Los análisis se realizaron a la mayor corriente y voltaje posibles y adquiriendo los espectros durante 200 segundos. Para mejorar la detección de algunos elementos pesados se procedió a realizar análisis adicionales haciendo uso de un filtro de aluminio de 630 μm .

3.3.5. Microscopía electrónica de barrido acoplado a espectrómetro de dispersión de energías de rayos-X (SEM-EDX)

Las imágenes electrónicas se adquirieron mediante un microscopio electrónico de barrido EVO[®]40 de Carl Zeiss NTS GmbH acoplado a un espectrómetro de dispersión de energías de rayos-X X-Max de Oxford Instruments (Figura 3.21) para la determinación de la composición elemental. Las imágenes SEM se obtuvieron a alto vacío usando un voltaje de aceleración de 30 kV y a una distancia de trabajo entre 8-10 mm. Se emplearon diferentes magnificaciones (hasta x10000) para tomar imágenes

mediante el detector de electrones secundarios. El análisis elemental se realizó usando una distancia de trabajo de 8.5 mm, a un ángulo de salida (take-off) de 45° y un voltaje de aceleración de 30 kV. Para obtener una buena relación señal/ruido en los análisis puntuales el tiempo de integración varió entre 100 y 200 segundos, mientras que en el caso de los mapeos se realizaron 5 acumulaciones de entre 100 y 200 segundos. El programa utilizado por el equipo para la realización y tratamiento de los análisis fue el INCA Suit version 4.13 (Oxford Instruments Analytical Limited, United Kingdom).



Figura 3.21: imagen del equipo SEM-EDX.

3.4. Bibliografía

[1] <http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.eus/r49aa17a/es/aa17aCalidadAireWar/estacion/mapa?locale=es>. Descripción de la Red de Control de Calidad de Aire. Último acceso 04/02/2020.

[2] J.M. Gutiérrez Landaburu y J. Muñiz Petralanda, *El Arte Funerario entre la tradición y la vanguardia: el Cementerio de Nuestra Señora del Carmen de Getxo*, Ondare, 23 (2004) 411-426.

[3] <https://www.ehu.eus/eu/web/bizkaia/campusaren-historia>. Descripción de la historia del Campus de Leioa. Último acceso 07/02/2020.

[4] http://www.derio.koudala.net/es-ES/Municipio/Patrimonio/Paginas/patrimonio_CementeriodeVistaAlegre.aspx. Historia del cementerio de Derio. Último acceso 07/02/2020.

[5] <http://www.aena.es>. Estadísticas de tráfico aéreo. Informe del 2019.

[6] http://www.atxondo.eus/eu-ES/Herria_bera/Orrialdeak/default.aspx. Historia de Axpe-Atxondo. Última entrada 05/02/2020.

[7] <http://www.forua.net>. Última entrada 16/02/2020.

[8] <http://www.karrantza.org/es-ES/Turistas/Patrimonio-Historia/Paginas/ArquitecturaRelijiosa.aspx>. Última entrada 16/02/2020.

[9] http://www.navarra.es/home_es/Temas/Medio+Ambiente/Calidad+del+aire/. Descripción de la Calidad del aire en Navarra. Último acceso 05/02/2020.

CAPÍTULO 4

Protocolo basado en técnicas espectroscópicas *in situ* para evaluar el impacto ambiental en edificios modernos en restauración

El método y la manera de construir cambió drásticamente a principios del siglo XX cuando se empezó a utilizar el ya gran conocido cemento Portland para producir, por una parte, morteros para ser utilizados en las fachadas y decoraciones exteriores y por otra parte, el hormigón armado para las estructuras [1]. El cemento Portland es un compuesto muy complejo

y versátil al mismo tiempo. Considerando su microestructura física y química, el cemento Portland y sus variantes son duraderas al paso del tiempo. Sin embargo, cabe destacar que los costes y esfuerzos posteriores para arreglar estas malas praxis son muy costosos y difíciles de implantar correctamente [2].

En el proceso de restauración y/o mantenimiento de trabajos realizados en materiales de construcción a base de cemento Portland es muy importante conocer las características minerales y químicas de dichos materiales para saber y conocer cuáles han sido las interacciones entre los estresores ambientales (generalmente contaminantes atmosféricos, las aguas de infiltración y los microorganismos) con los materiales de construcción, y así obtener una caracterización completa a fin de proponer soluciones para su mejor conservación [3-5]. Además, estudios recientes han demostrado que los edificios actúan como depósitos de contaminantes [6] los cuales afectan a las personas y al medioambiente durante la manipulación de estos materiales contaminados [6,7].

Aunque en sendos trabajos haya quedado demostrado que la espectroscopia Raman es una técnica apropiada para evaluar el estado de conservación de los materiales de construcción [8-10], hoy en día no está estandarizado su uso en análisis de campo de edificios en restauración y/o mantenimiento. Su uso en el ámbito de la construcción, se ha centrado principalmente en análisis de laboratorio de muestras previamente tomadas [7, 11-14]. En este trabajo se pretende superar las limitaciones previamente citadas [15-18], demostrando la utilidad de una nueva metodología basada

en el uso de instrumentos Raman portátiles de última generación para analizar áreas susceptibles de sufrir deterioro ambiental mediante análisis *in situ* de las partes exteriores de edificios inmersos en procesos de restauración y mantenimiento. Además, la información técnica y científica recogida será la base para seleccionar las muestras óptimas que serán recogidas para su posterior análisis en el laboratorio, en caso de ser necesario un análisis más exhaustivo. Este diagnóstico *in situ* también tiene como objetivo asegurar la representatividad del muestreo a realizar, recogiendo el menor número posible de muestras, y reduciendo así el impacto en los edificios. Por todo ello, es muy importante el uso de una técnica rápida y fiable para ser implementada como protocolo de rutina en el proceso de restauración de edificios modernos a fin de definir el mejor método de actuación además de evaluar el riesgo para las personas que trabajan en la restauración/rehabilitación de ese edificio y para el medioambiente.

Como ejemplo de aplicación real de este protocolo se han seleccionado tres edificios inmersos en procesos de reforma y rehabilitación integral como son el edificio de la escuela de Magisterio de Donostia de la UPV/EHU, el edificio del Rectorado y el edificio de la Biblioteca central en el Campus de Leioa (consultar el apartado de metodología para conocer las afecciones ambientales y la descripción de los materiales de estos emplazamientos). Los análisis Raman *in situ* se realizaron en función de la orientación de las superficies expuestas de hormigón armado (con y sin otro tipo de materiales presentes), tanto de Donostia como de Leioa. En los emplazamientos, las áreas con una orientación noroeste son las más afectadas por el lavado de

lluvia, mientras que las que se presentan en una orientación sureste-suroeste son las menos afectadas por dicha lluvia. A continuación, se muestran los resultados obtenidos en cada tipo de material y en cada edificio.

4.1. Análisis de los aceros corrugados de Donostia

Debido a los desprendimientos del hormigón, muchas de las estructuras de acero corrugado se encontraban en contacto con el aire, tal y como se muestra en las imágenes de la Figura 4.1. Además, este acero corrugado presentaba costras blancas (Figura 4.1, imagen 2) y desprendimientos de lascas de acero en algunas zonas (Figura 4.1, imagen 3).



Figura 4.1: imágenes tomadas sobre andamio de los aceros corrugados de Donostia. Este acero se encontraba al aire (imagen 1), con costras blancas (imagen 2) y presentaba desprendimientos en forma de lascas (imagen 3).

Los análisis Raman *in situ* de las estructuras de acero corrugado pertenecientes a la escuela de magisterio de Donostia, revelan la presencia

de dos oxohidróxidos de hierro (III): lepidocrocita (γ -FeO(OH)), fácilmente identificable por su banda intensa a 249 cm^{-1} [19] y goetita (α -FeO(OH)), caracterizada por su banda principal a 385 cm^{-1} [19], tal y como se puede ver en la figura 4.2. Estos dos compuestos son producto de la oxidación del Fe del acero en presencia de agua y oxígeno. En este caso, aunque el acero original no estuviera en contacto con la atmósfera, el agua y el oxígeno han llegado hasta el acero mediante infiltraciones que han tomado mayor protagonismo a medida que el hormigón armado se ha ido deteriorando. También se detectan otras señales Raman a 583 y 617 cm^{-1} que podrían pertenecer a otros óxidos, como los de manganeso dada su posición en el espectro Raman [20,21].

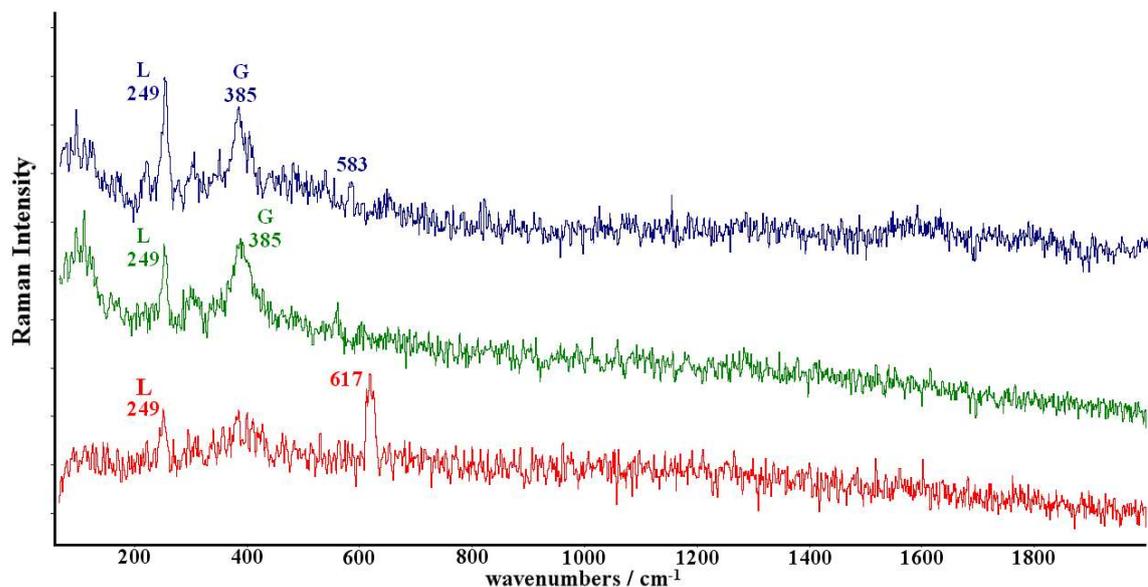


Figure 4.2. Espectros Raman *in situ* tomados en la escuela de Magisterio de Donostia que revelan la presencia de lepidocrocita, (L, γ -FeO(OH)) y goetita, (Go, α -FeO(OH)), además de otros óxidos con señales a 583 y 617 cm^{-1} .

Estas reacciones de oxidación promueven fracturas en el hormigón armado ya que los nuevos óxidos y oxohidróxidos de hierro formados tienen un mayor volumen y provocan un estrés físico [14] dentro del hormigón.

Al mismo tiempo, el proceso de oxidación se acelera ya que las nuevas fracturas dejan paso a nuevas infiltraciones de los agentes oxidantes que deterioran el acero y a su vez, el hormigón, incrementando así su declive.

4.2. Análisis del hormigón armado

Los hormigones armados de Donostia (T4) presentaban desprendimientos de material, incrustaciones y chorretones por escorrentía, tal y como se muestra en las imágenes de la Figura 4.3.

Los análisis Raman realizados en el hormigón armado en el que se embebe el acero corrugado analizado de la escuela de magisterio de Donostia muestran señales de yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, identificado por su banda principal a 1008 cm^{-1}) [22], en la parte más blanca del hormigón fracturado (Figura 4.4, espectro a). Teniendo en cuenta la localización del punto analizado, este compuesto puede generarse por la reacción con una fuente medioambiental. No se descarta que pudiera estar ya presente en la mezcla del hormigón en el momento de su fabricación ya que los sulfatos son añadidos a las mezclas de hormigón para controlar su tiempo de secado [23-25]. Sin embargo, estos sulfatos se pueden generar también por la precipitación de sales desde agua que tienen disueltos iones de SO_4^{2-} reactivos, que forman nuevas eflorescencias de naturaleza sulfatada.



Figura 4.3: imágenes del hormigón armado de Donostia tomadas sobre el andamio donde se aprecian los detalles de las zonas analizadas junto con el equipo Raman portátil.

La calcita (CaCO_3), identificada por sus bandas Raman a 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} , fue encontrada en la mayoría de cristales de eflorescencia, costras y áreas blanquecinas del hormigón.

Aunque la calcita sea un agregado típico que está presente como compuesto original en el hormigón formado durante el fraguado, su presencia como eflorescencia, costra o área blanquecina son signos de deterioro que indican que su formación se debe a la carbonatación del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (proveniente de la hidratación en el tiempo del compuesto original CaO) por la acción del CO_2 atmosférico. Este efecto es conocido como carbonatación del hormigón y lleva consigo la acidificación del hormigón y su posterior inestabilidad química [25].

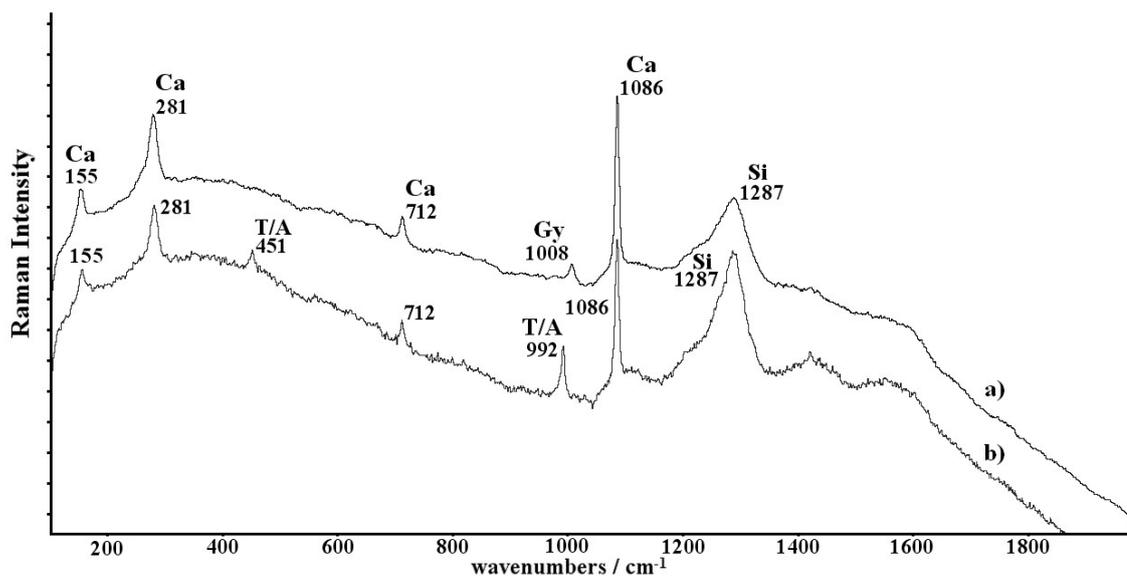


Figura 4.4: espectros Raman recogidos sobre el hormigón deteriorado en la escuela de magisterio de Donostia, mostrando la presencia de calcita (Ca) y yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Gy) en el espectro a, calcita y thenardita (Na_2SO_4 , T) o aftitalita ($\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)$, A) en el espectro b. Se detectan además en los dos espectros bandas anchas propias de fluorescencias producidas por materiales silicatados (Si).

Además, el SO_2 puede atacar incluso los metales alcalinos accesibles del hormigón armado deteriorado, llevando a la formación de otros sulfatos como son la thenardita (Na_2SO_4) o la aftitalita ($\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)$) [22]. Estos dos sulfatos tienen localizado su pico principal a la misma longitud de onda (992 cm^{-1}), por lo que en los espectros en los cuales sólo se puede llegar a ver este pico principal la asignación es ambigua. Este es el caso recogido en el espectro b de la Figura 4.4, en el que, para poder identificar la sal formada es necesario proceder al análisis de laboratorio.

En el emplazamiento de Leioa también se procedió al análisis *in situ* de hormigones armados. La Figura 4.5 muestra las estructuras y columnas de hormigón armado analizadas en el edificio de Rectorado del Campus de Leioa. Estos hormigones se presentaban con afección de aguas por escorrentía de las estructuras superiores y mostraban eflorescencias blancas y desprendimientos de material. La Figura 4.6 muestra los espectros Raman recogidos. En ellos se detecta la presencia de calcita por su banda

principal a 1086 cm^{-1} , por el efecto de carbonatación del hormigón, y yeso con su banda principal a 1008 cm^{-1} . Tal y como ocurre en las medidas realizadas en Donostia, la presencia de yeso puede atribuirse al ataque ácido del SO_2 a la calcita o ser un compuesto que ya estuviera presente en la mezcla del hormigón para controlar su tiempo de fraguado.



Figura 4.5: estructuras de hormigón armado analizadas *in situ* en Leioa.

Aparece en este emplazamiento con un alto grado de cristalización y mostrando todas sus bandas características la thenardita (espectro d, Figura 4.6). Este espectro puede equipararse a un espectro patrón de dicho sulfato. Además, la thenardita fue encontrada sistemáticamente en todas las eflorescencias blancas de la superficie de los hormigones localizados en Leioa. Se trata de un sulfato anhidro que, en ambientes con una humedad relativa superior al 85% [26], y en superficies que no han sido lavadas por la lluvia, adquiere aguas de hidratación dando lugar a nuevos compuestos de deterioro como la mirabilita, $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$. Puede pertenecer a este último sulfato el pico a 990

cm^{-1} detectado en el espectro b, quedando demostrada así la presencia del temible equilibrio thenardita-mirabilita que tantos daños estructurales provoca.

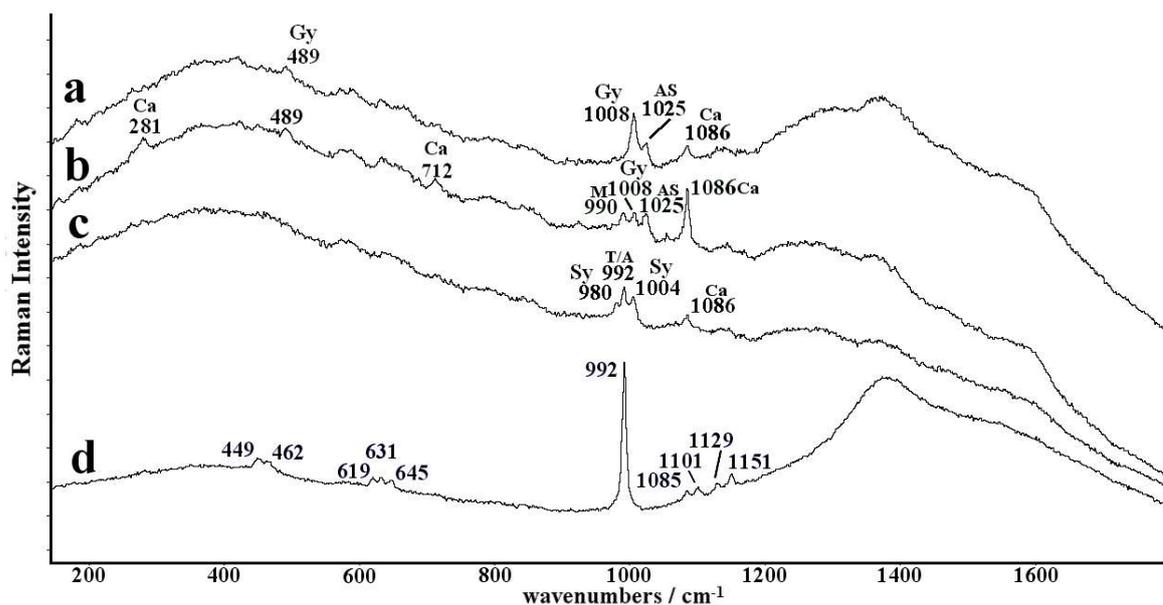


Figura 4.6: Espectros Raman de diversos sulfatos encontrados en eflorescencias de hormigón armado de Leioa: a) yeso (Gy) y anhidrita soluble (CaSO_4 , tipo III ,AS) o (para) coquimbita ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (1024 cm^{-1}), además de calcita (Ca); b) estos mismos compuestos junto con otro sulfato, probablemente mirabilita (M, $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) que tiene su pico principal a 990 cm^{-1} ; c) se pueden apreciar las bandas principales de la singenita, (S, $(\text{K}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O})$) y de la thenardita (T) o aftitalita, (A), además de la calcita; d) thenardita.

Además, también hay señales Raman de otros sulfatos anteriormente no citados, tal y como se puede apreciar en la Figura 4.6. El pico a 1025 cm^{-1} puede pertenecer a la paracoquimbita ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) o a la anhidrita soluble (CaSO_4 , tipo III) [22,27]. La banda principal de los espectros Raman de estos dos últimos sulfatos coincide en 1025 cm^{-1} y los dos están relacionados con un ataque de sulfatos. Este último fue referenciado en un trabajo previo como producto de deterioro formado por el ataque de los iones sulfato

libres sobre compuestos de hierro, siguiendo un mecanismo descrito en el mismo [13, 25].

Las bandas a 980 y 1004 cm^{-1} son características de la singenita ($\text{K}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), un sulfato no detectado previamente en ninguna muestra de este trabajo y que puede formarse a partir del ataque de los iones sulfato (SO_4^{2-}) a los metales alcalinos del hormigón. La singenita se forma a partir de mezclas de hormigón que contengan yeso y sulfato de potasio (K_2SO_4), a humedades relativamente altas ($\geq 96\%$) y a partir de 30°C [28]. Además, su formación ha sido descrita también como producto de degradación en morteros a base de yeso [27,29], y como parte de las costras negras que se crean bajo la influencia del ácido sulfúrico atmosférico y K_2SO_4 sobre la calcita cuando las concentraciones de los iones of K^+ and SO_4^{2-} son altos [30].



Figura 4.7: imágenes del muro bajo de hormigón armado analizado de Leioa (imágenes 1 y 2); las imágenes 3) y 4) muestran además los detalles de las eflorcencias encontradas en dicho muro.

En el edificio de Rectorado de Leioa, también se procedió al análisis Raman *in situ* de muros bajos de hormigón armado que estaban en contacto con la tierra de las jardineras, y se mantenían protegidos frente al lavado de lluvia. La Figura 4.7 muestra el aspecto de estos muros (imágenes 1 y 2) junto con el aspecto de las diferentes eflorescencias encontradas en ellos (imágenes 3 y 4).

A continuación, la Figura 4.8 muestra las medidas más significativas obtenidas en los muros bajos de la Figura 4.7. El espectro a) muestra los compuestos propios de la grava del hormigón, esto es, calcita ($155, 281, 713$ y 1086 cm^{-1}) y carbón (1300 y 1600 cm^{-1}) junto con la señal a 992 cm^{-1} , que puede pertenecer a la thenardita o a la aftitalita, siendo los dos compuestos cristalinos y blancos que se forman como eflorescencias en materiales pétreos.

La presencia de thenardita y aftitalita debe ser chequeada cuidadosamente ya que los dos sulfatos han sido encontrados en materiales de construcción modernos (menos de 20 años) [29] y morteros de unión [30] de mediana edad (alrededor de 80 años) expuestos a la atmósfera de la intemperie. Las dos bandas principales de los dos compuestos están localizadas a 452 y 992 cm^{-1} , pero se diferencian en sus bandas secundarias, localizadas a $1101, 1129$ y 1151 cm^{-1} en el caso de la thenardita y a 1083 y 1203 cm^{-1} en el caso de la aftitalita (ver Figura 4.8). Si estas bandas secundarias no aparecen en un espectro dado, debemos considerar que las bandas secundarias de la aftitalita están mejor definidas y que la intensidad relativa entre las bandas $452/992$ de la thenardita y la aftitalita no es la misma (ver Figure 4.8 b y c), siendo la de menor valor la de la thenardita [32]. Debido al equilibrio químico thenardita-mirabilita que ocurre aproximadamente a temperatura ambiente y dependiendo de la humedad se produce un notable incremento en el volumen de las sales. Esta situación es análoga a los óxidos de hierro, provocando incluso fracturas en el material [1,4, 14].

El espectro b) muestra thenardita (Na_2SO_4) con bandas a $452, 464, 619, 632, 992, 1085, 1101, 1130$ y 1151 cm^{-1} , y el espectro d muestra aftitalita ($\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)_2$), con bandas Raman a $452, 620, 628, 992, 1083$ y 1203 cm^{-1} [32]. En estos dos casos, se han podido recoger todas las bandas características de cada sal, por lo que no existe duda respecto a

si son thenardita y aftitalita, como se ha descrito anteriormente. Su presencia, sólo es detectable en superficies secas que no hayan sido lavadas por la lluvia [24].

A pesar de tener una presencia menos frecuente, también han sido detectados otro tipo de sales solubles como son los nitratos en eflorescencias del hormigón. En concreto, el espectro d) de la Figura 4.8 muestra la clara presencia de nitrato (KNO_3) con bandas a 125, 715, 1049, 1342 y 1358 cm^{-1} [21]. Este compuesto es frecuente en las formaciones de eflorescencia de diversos materiales, pero debido a su alta solubilidad, se detecta solamente en áreas no afectadas por el lavado de lluvia, tal y como se ha descrito en trabajos anteriores [5].

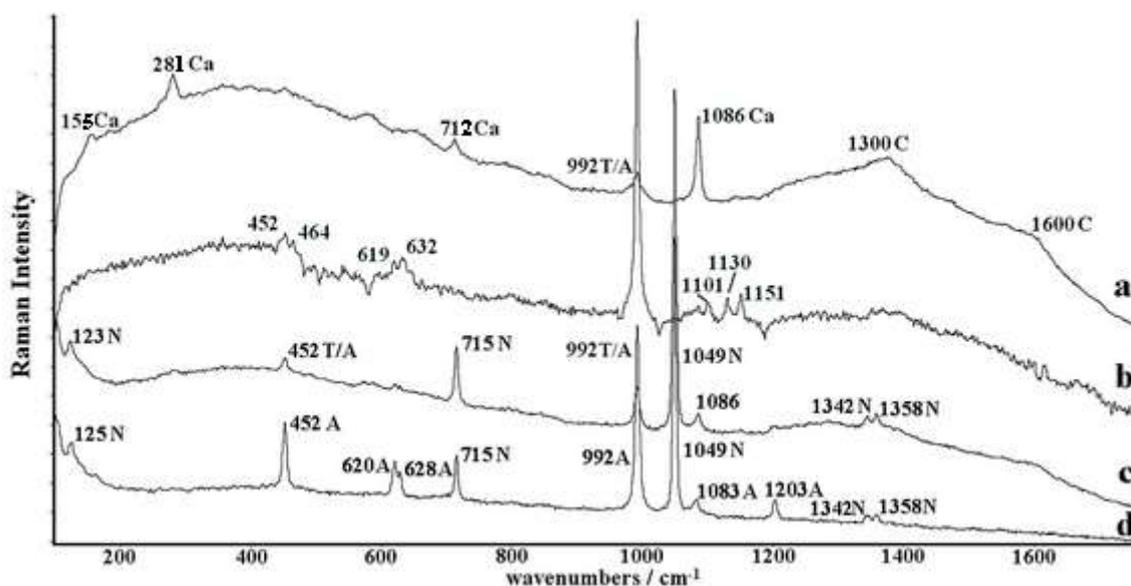


Figura 4.8: Espectros Raman recogidos en eflorescencias cristalinas blancas en la superficie del hormigón armado de Leioa, en áreas protegidas al lavado de lluvia: a) muestra calcita (Ca) carbón (C) y thenardita (T) o aftitalita (A); b) muestra casi todas las bandas de la thenardita; c) muestra thenardita o aftitalita y nitrato (N, KNO_3) y d) muestra aftitalita y nitrato.

Se analizaron también las columnas estructurales situadas debajo del edificio de Rectorado de Leioa. Estaban ubicadas bajo pisos de hormigón destinados a jardín y

contenían elementos de desagüe, por lo que se veían afectadas por una humedad frecuente. Se mostraban con afección de aguas de infiltración, eflorescencias blancas y desprendimientos de material (Figura 4.9)

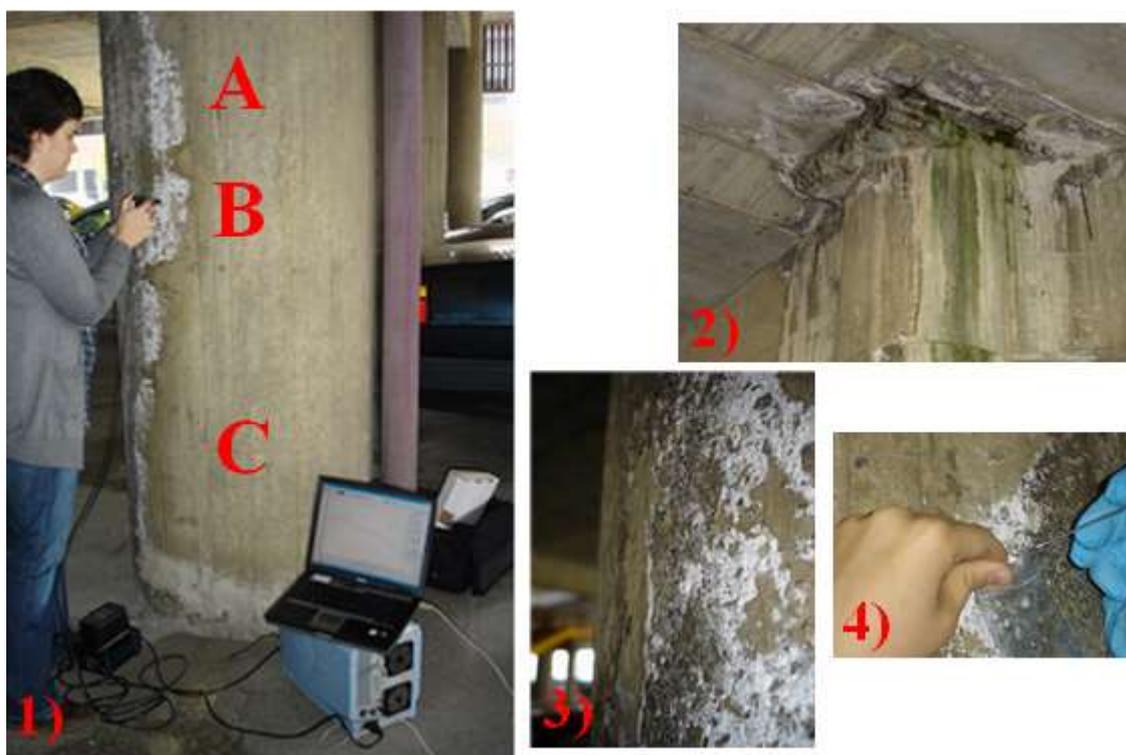


Figura 4.9: medidas in situ realizadas sobre columnas de hormigón (imagen 1), que presentaban infiltración de aguas (imagen 2), eflorescencias y desprendimientos de material (imágenes 3 y 4).

La Figura 4.10 muestra un resumen de las medidas Raman *in situ* más significativas obtenidas en diferentes alturas de las columnas y en materiales desprendidos, eflorescencias y áreas oscurecidas. En este caso el sulfato dominante es la mirabilita ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), la cual está presente en todas las áreas estudiadas. La Figura 4.10, y los análisis correspondientes a la zona A muestran dos espectros Raman de una mirabilita altamente cristalina: en el espectro a) se aprecian todas las bandas Raman a 450, 620, 989 y 1111 cm^{-1} de la mirabilita y en el espectro b) se muestra la mirabilita mezclada con thenardita Na_2SO_4 (bandas 450, 621, 632, 645 y 1130 cm^{-1}).

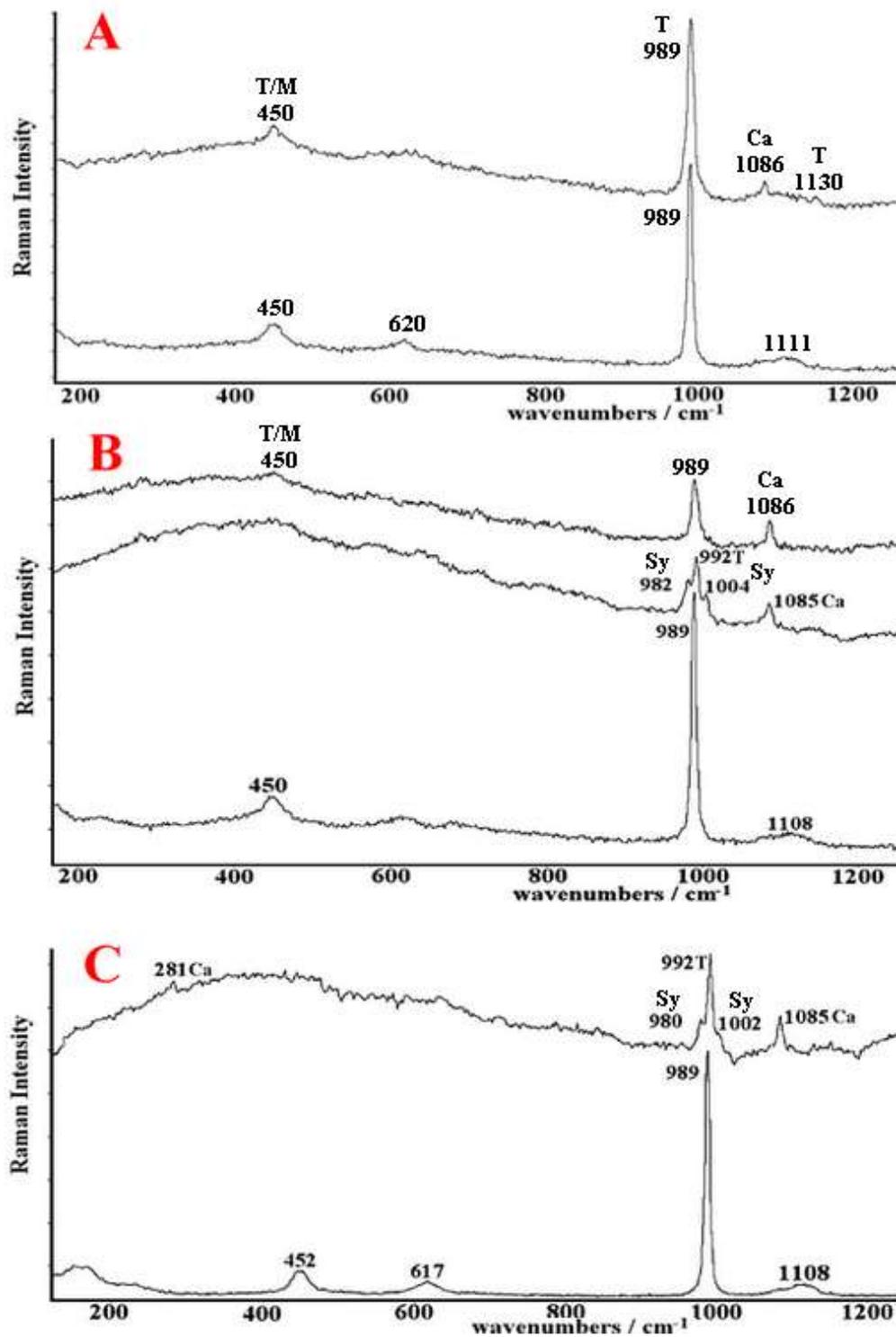


Figura 4.10: En las distintas zonas A, B y C de la columna se encuentran: A: a) mirabilita (M), b) mirabilita, thenardita (T) y calcita (Ca); B: a) mirabilita, b) thenardita, singenita (Sy) y calcita, c) mirabilita y calcita; C: a) mirabilita, b) thenardita, singenita y calcita.

Cuando la disponibilidad de agua decae, la mirabilita se transforma en thenardita, pudiendo coexistir ambas cuando la transformación no se completa, tal y como se puede observar en los espectros de las zonas B y C de la misma figura. Son espectros en los que aparece una mezcla de mirabilita y thenardita, además de la calcita del hormigón.

Además, los espectros obtenidos en las zonas B y C muestran las bandas principales del sulfato alcalino singenita ($K_2Ca(SO_4)_2$) localizados a 980 y 1004 cm^{-1} . Este sulfato alcalino es menos soluble que la thenardita y la mirabilita por lo que es probable que se haya formado tras precipitar los iones correspondientes una vez alcanzadas las condiciones de saturación en las aguas que ascienden por capilaridad.

4.3. Análisis de eflorescencias en superficies de ladrillo

Los ladrillos de Leioa se presentaban también con afección de aguas por lixiviación de las estructuras superiores y con eflorescencias blancas. Todos estos detalles se muestran en las imágenes de la Figura 4.11.

Los análisis llevados a cabo en las eflorescencias de las paredes de ladrillo, revelan la presencia de sales de la misma naturaleza descritas en los apartados anteriores. Los espectros Raman más relevantes se muestran en la Figura 4.12. En dichos espectros se aprecia la fluorescencia típica debida a los silicatos de los ladrillos, entre 1250-1900 cm^{-1} , cuando se realizan las medidas Raman con el láser de 785 nm. Pero a su vez, aparecen también señales Raman bien definidas como son las del yeso ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$) a 414, 493, 618, 669, 1008 y 1135 cm^{-1} , las de la singenita a 428, 442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139 y 1163 cm^{-1}) y las de la aftitalita a 452, 620, 628, 992, 1083 y 1203 cm^{-1} . Como ya se ha comentado en el apartado anterior, la aftitalita es una sal doble que se forma como una disolución sólida bajo ciertas condiciones de saturación. Es necesario obtener una disolución saturada en iones de sulfato de potasio y sodio en el poro del hormigón para después obtener la sal doble ya citada.



Figura 4.11: detalles de las afecciones ambientales encontradas en ladrillos de Leioa: lixiviación de las estructuras superiores (imágenes 1 y 2) y aparición de eflorescencias (imagen 3).

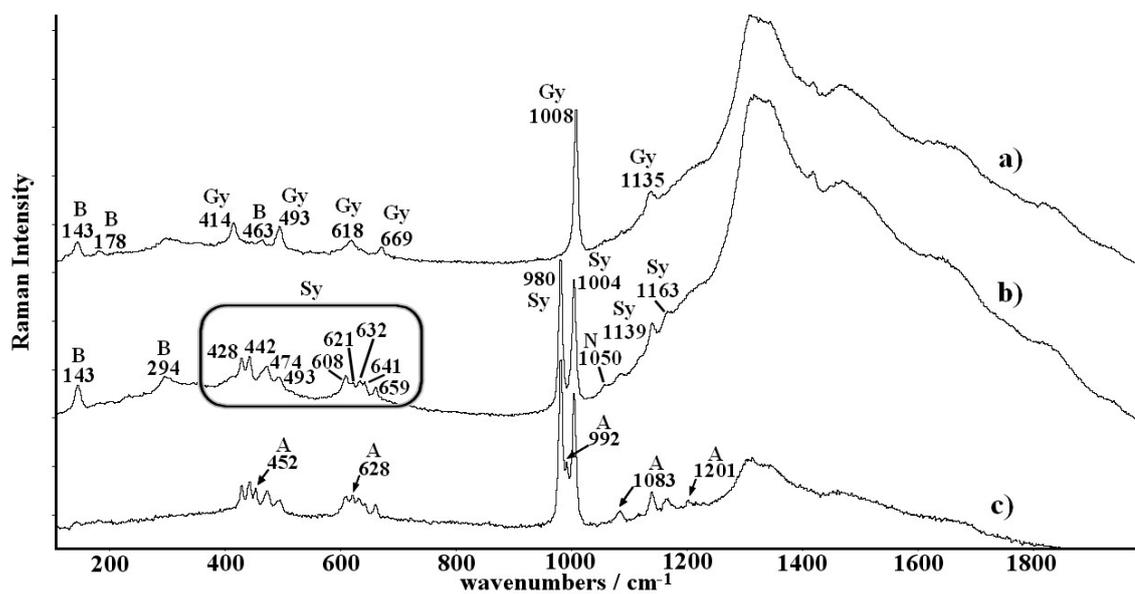


Figura 4.12: Espectros Raman representativos obtenidos en costras y eflorescencias blancas en superficies de ladrillo de Leioa; (a) señales del ladrillo (B) junto con yeso (Gy, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); (b) singenita (Sy, $\text{K}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) prácticamente pura con trazas de niter (N); (c) mezcla de singenita (las mismas bandas que en b) y aftitalita (A) (bandas señaladas).

La banda ancha detectada a 1050 cm^{-1} en el espectro b, podría pertenecer a nitro. De todas maneras, no aparece en tal cantidad como para obtener un espectro patrón de dicha sal, como se ha conseguido en los muros bajos de hormigón armado en Leioa (ver Figura 4.8). Podría ser fruto de la acción atmosférica de los gases NO_x producidos por los coches sobre el sustrato pétreo.

Por todo lo anterior, se concluye que las aguas de infiltración promueven la disolución de los sulfatos y de los metales alcalinos presentes en el cemento, produciendo la saturación de los poros y la posterior precipitación de la aftitalita. Como cualquier proceso de cristalización, la formación de esta sal provoca grandes daños en el hormigón a raíz del cambio de volumen de esta sal y el subsiguiente aparecer de fracturas y desprendimientos de este material [31].

4.4. Discusión de los resultados y conclusiones

El desarrollo de este trabajo demuestra que la espectroscopia Raman *in situ* es una técnica de análisis rápida y fiable para detectar la presencia de un gran número de compuestos de deterioro en materiales a base de cemento.

A partir de los resultados obtenidos en los tres edificios analizados, se deben tomar dichos edificios como sistemas químicos complejos, donde se dan gran número de reacciones que causan los deterioros de los compuestos originales. De hecho, en las eflorescencias de todos los soportes analizados se han encontrado diversas sales (en su mayoría sulfatos alcalinos o alcalinotérreos) relacionados con diferentes procesos de degradación, los cuales deben ser aclarados, para preservar la integridad de los materiales, y en consecuencia, de las estructuras. El uso de sulfatos como aditivos, no es suficiente para explicar los niveles y tipos de sulfatos hallados en el exterior de las superficies. El porcentaje de sulfatos añadidos al clínker del cemento no debe ser mayor del 5%, y habitualmente no supera el 2% gracias a las nuevas mejoras en su proceso de fabricación. Además, en las primeras 24 horas de secado del

hormigón, la concentración de iones sulfato libres decae drásticamente al formarse compuestos propios del hormigón endurecido[2,25]. Por lo tanto, la verdadera disponibilidad de sulfatos procedentes de los aditivos del hormigón es muy pequeña. Por otro lado, dada la antigüedad de los edificios estudiados, la exudación de sales a través de los materiales de construcción también es bastante improbable.

La gran humedad observada en los materiales de estos edificios proviene de las aguas de infiltración. Esta agua puede venir cargada de sulfatos y nitratos o puede disolver los sulfatos presentes en el cemento, dando lugar a la precipitación de las diversas sales encontradas.

La Tabla 4.1. agrupa todos los compuestos, tanto originales como de deterioro, encontrados con los análisis Raman *in situ*, en los materiales de construcción de los edificios de Donostia y Leioa. La presencia de calcita en la mayoría de las áreas afectadas por los sulfatos pone de manifiesto la gran relevancia que tiene su presencia como precursor del ataque sulfato ácido. Esta calcita, proveniente de la carbonatación del hormigón no está envejecida y presenta diferencias que la hacen más vulnerable a sufrir ataques ácidos ambientales. Además, el yeso, también a menudo muy presente, puede actuar como intermediario en las posteriores reacciones de deterioro del hormigón y del hormigón armado [1, 2, 25], dando lugar a la precipitación de sales de diversos sulfatos alcalinos y alcalinotérreos.

Las aguas de infiltración promueven el equilibrio de hidratación-deshidratación de la thenardita-mirabilita, lo que se deriva en un cambio drástico de volumen de estas sales que provoca fisuras y desprendimientos de material. Estas mismas aguas de infiltración pueden ascender también por capilaridad y se han podido encontrar sales de diferente naturaleza en diferentes alturas del soporte. Probablemente, los sulfatos que contienen calcio, los cuales son menos solubles que los que contienen sodio y potasio, pueden ascender por capilaridad pero se han detectado a menores alturas que estos últimos.

Tabla 4.1: resumen de los compuestos tanto originales como de deterioro encontrados en las medidas Raman *in situ*.

	HORMIGÓN ARMADO/ACERO		HORMIGÓN/MORTERO		LADRILLOS	
	ORIGINAL	DETERIORO	ORIGINAL	DETERIORO	ORIGINAL	DETERIORO
DONOSTIA		L, γ -FeO(OH): 249 cm^{-1} Go, α -FeO(OH): 385 cm^{-1}	Ca, CaCO ₃ : 1086 cm^{-1} Si, silicatos: 1287 cm^{-1}	Gy, CaSO ₄ .2H ₂ O: 1008 cm^{-1} T, Na ₂ SO ₄ : 992 cm^{-1} A, K ₃ Na(SO ₄): 992 cm^{-1}		
LEIOA			Ca: 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} Carbón, C: 1300 y 1600 cm^{-1}	Ca: 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} Gy: 489 y 1008 cm^{-1} AS, CaSO ₄ : 1025 cm^{-1} M, Na ₂ SO ₄ .10H ₂ O: 450, 620, 989 y 1111 cm^{-1} T: 452, 464, 619, 632, 992, 1085, 1101, 1130 y 1151 cm^{-1} A: 452, 620, 628, 992, 1083 y 1203 cm^{-1} Sy, K ₂ Ca(SO ₄) ₂ .H ₂ O: 980 y 1004 cm^{-1} N, KNO ₃ : 125, 715, 1049, 1342 y 1358 cm^{-1}	Q, SiO ₂ : 463 cm^{-1} An: 143 cm^{-1}	Gy: 414, 493, 618, 669, 1008 y 1135 cm^{-1} Sy: 428, 442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139 y 1163 cm^{-1} A: 452, 620, 628, 992, 1083 y 1203 cm^{-1} N: 1050 cm^{-1}

En los ladrillos se han detectado todas las bandas Raman tanto del yeso como de la singenita en los ladrillos, donde las aguas provenían de la lixiviación de las estructuras superiores de hormigón. Dada la menor solubilidad en agua de estos dos sulfatos de calcio se puede decir que las aguas movilizan a unas distancias mayores las sales menos solubles, hasta llegar a otras estructuras. Este es el caso observado en la pared de ladrillo situada bajo el edificio de Rectorado (hormigón).

Se ha demostrado así que la espectroscopia Raman *in situ* es una técnica indispensable como apoyo a los técnicos y arquitectos que proceden a analizar el estado de conservación de edificios construidos a base de cemento y hormigón. Su gran especificidad molecular ayuda de manera esclarecedora en el diagnóstico del tipo de afección ambiental que presenta cada edificio. Por lo tanto, puede considerarse el nuevo martillo de análisis no destructivo de estos profesionales.

Finalmente, dada la diversidad encontrada dentro de los compuestos de deterioro del hormigón y del hormigón armado sería interesante estudiar la interfaz entre las eflorescencias y el soporte utilizando instrumentos analíticos de gran precisión, para describir más detalladamente los mecanismos de deterioro de dichos materiales y poder proponer mejoras para su durabilidad.

4.5. Bibliografía

- [1] J. Elsen, "Microscopy of historic mortars-a review", *Cement and Concrete Research*, 36 (2006) 1416-1424.
- [2] J. Marchand, Ivan Odler, Jan P. Skalny, "*Sulphate attack on concrete*", Spon Press, London (2002).
- [3] A. Sarmiento, M. Maguregui, I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo, K. Castro y M.A. Olazábal, L.Á. Fernández, M.D. Rodríguez-Laso, A.M. Mujika, J. Gómez, J.M. Madariaga, "Raman spectroscopy as a tool to diagnose the impacts of combustion and greenhouse acid gases on properties of Built Heritage", *Journal of Raman Spectroscopy*, 39 (2008) 1042-1049.
- [4] H. Morillas, M. Maguregui, O. Gómez-Laserna, J. Trebolazabala y J.M. Madariaga, "Characterisation and diagnosis of the conservation state of cementitious materials exposed to open air in XIX century lighthouses located on the coast of the Basque Country. The case of Igueldo lighthouse, San Sebastian, North of Spain", *Journal of Raman Spectroscopy*, 43 (2012) 1630-1636.
- [5] O. Gómez-Laserna, M.A. Olazabal, H. Morillas, N. Prieto-Taboada, I. Martínez-Arkarazo, G. Arana y J.M. Madariaga, "*In-situ* spectroscopic assessment of the conservation state of building materials from a Palace house affected by infiltration water", *Journal of Raman Spectroscopy*, 44 (2013) 1277-1284.
- [6] N. Prieto-Taboada, I. Ibarondo, O. Gómez-Laserna, I. Martinez-Arkarazo, M.A. Olazabal y J.M. Madariaga, "Buildings as repositories of hazardous pollutants of anthropogenic origin", *Journal of Hazardous Materials*, 248-249 (2013) 451-460.
- [7] N. Prieto-Taboada, C. Isca, I. Martínez-Arkarazo, A. Casoli, M.A. Olazabal, G. Arana y J.M. Madariaga, "The problem of sampling on built heritage: a preliminary study of a new non-invasive method", *Environmental Science and Pollution Research*, 21 (2014) 12518-12529.

- [8] F. Gázquez, F. Rull, J. Medina, A. Sanz-Arranz y C. Sanz, "Linking groundwater pollution to the decay of 15th-century sculptures in Burgos Cathedral (northern Spain), *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (2015) 15677-15689.
- [9] N. Prieto-Taboada, M. Maguregui, I. Martinez-Arkarazo, M. Olazabal, G. Arana y J.M. Madariaga, "Spectroscopic evaluation of the environmental impact on black crusted modern mortars in urban–industrial areas", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399 (2011) 2949-2959.
- [10] C.M. Belfiore, D. Barca, A. Bonazza, V. Comite, M.F. Russa, A. Pezzino, S.A. Ruffolo y C. Sabbioni, "Application of spectrometric analysis to the identification of pollution sources causing cultural heritage damage", *Environmental Science and Pollution Research*, 20 (2013) 8848-8859.
- [11] E. Smith y G. Dent, "Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach", John Wiley & Sons, Chichester, UK (2005).
- [12] R. Salzer, H.W. Siesler, "Infrared and Raman Spectroscopic Imaging", Wiley, Mörlenbach Germany, (2009).
- [13] N. Prieto-Taboada, O. Gómez-Laserna, I. Martinez-Arkarazo, M.Á. Olazabal y J.M. Madariaga, "Relevance of Cross-Section Analysis in Correct Diagnosis of the State of Conservation of Building Materials As Evidenced by Spectroscopic Imaging", *Analytical Chemistry*, 85 (2013) 9501-9507.
- [14] J. Aramendia, L. Gomez-Nubla, K. Castro, I. Martinez-Arkarazo, D. Vega, A. Sanz López de Heredia, A. García Ibáñez de Opakua y J.M. Madariaga, "Portable Raman study on the conservation state of four CorTen steel-based sculptures by Eduardo Chillida impacted by urban atmospheres", *Journal of Raman Spectroscopy*, 43 (2012) 1111-1117.

- [15] N. Stefanis, P. Theoulakis y C. Pilinis, "Dry deposition effect of marine aerosol to the building stone of the medieval city of Rhodes, Greece", *Building Environment*, 44 (2009) 260-270.
- [16] P.W. Brown y A. Doerr, "Chemical changes in concrete due to the ingress of aggressive species", *Cement and Concrete Research*, 30 (2000) 411-418.
- [17] M. Maguregui, A. Sarmiento, R. Escribano, I. Martínez-Arkarazo, K. Castro y J.M. Madariaga, "Raman spectroscopy after accelerated ageing tests to assess the origin of some decayed products found in real historical bricks affected by urban polluted atmospheres", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395 (2009) 2119-2129.
- [18] M. Maguregui, U. Knuutinen, I. Martínez-Arkarazo, A. Giakoumaki, K. Castro y J.M. Madariaga, "Field Raman analysis to diagnose the conservation state of excavated walls and wall paintings in the archaeological site of Pompeii (Italy)", *Journal of Raman Spectroscopy*, 43 (2012) 1747-1753.
- [19] M. Hanesch, "Raman spectroscopy of iron oxides and (oxy)hydroxides at low laser power and possible applications in environmental magnetic studies", *Geophysical Journal International*, 177 (2009) 941-948.
- [20] R.T. Downs. The RRUFF project: an integrated study of the chemistry, crystallography, Raman and infrared spectroscopy of minerals. Program and Abstracts of the 19th General Meeting of the International Mineralogical Association in Kobe, Japan. O03-13, 2006.
- [21] K. Castro, M. Pérez-Alonso, M.D. Rodríguez-Laso, L.Á. Fernández y J.M. Madariaga, "On-line FT-Raman and dispersive Raman spectra database of artists' materials (e-VISART database)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382 (2005) 248-258.
- [22] N. Prieto-Taboada, A. Larrañaga, O. Gómez-Laserna, I. Martínez-Arkarazo, M.A. Olazabal y J.M. Madariaga, "The relevance of the combination of XRD and Raman

spectroscopy for the characterization of the $\text{CaSO}_4\text{-H}_2\text{O}$ system compounds", *Microchemical Journal*, 122 (2015) 102–109.

[23] P.D. Tennis, S. Bhattacharja, W.A. Klemm y F.M. Miller, "Assessing the Distribution of Sulfate in Portland Cement and Clinker and its Influence on Expansion in Mortar", *Cement, Concrete and Aggregates*, 21 (1999) 212-216.

[24] H. Morillas, I. Marcaida, M. Maguregui, J.A. Carrero y J.M. Madariaga, "The influence of rainwater composition on the conservation state of cementitious building materials", *Science of the Total Environment*, 542 (2016) 716-727.

[25] P. López, "Estudio sobre la durabilidad de los nuevos tipos de cemento para la evaluación del comportamiento de morteros y hormigones frente a la agresión química de los sulfatos y el agua de mar", Universidad Politécnica de Madrid, 2015

[26] P.D. Tennis, S. Bhattacharja, W.A. Klemm y F.M. Miller, "Assessing the Distribution of Sulfate in Portland Cement and Clinker and its Influence on Expansion in Mortar", *Cement, Concrete and Aggregates*, 21 (1999) 212-216.

[27] N. Prieto-Taboada, O. Gómez-Laserna, I. Martínez-Arkarazo, M.A. Olazabal y J.M. Madariaga, "The Raman spectrum of the different phases in the $\text{CaSO}_4\text{-H}_2\text{O}$ system", *Analytical Chemistry*, 86 (2014) 10131-10137.

[28] S. Smillie, E. Moulin y F. P. Glasser, "Freshness of cement: conditions for syngenite $\text{CaK}_2(\text{SO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ formation" *Advances in Cement Research*; 5 (19) (1993) 93-96.

[29] H. Morillas, M. Maguregui, C. Paris, L. Bellot-Gurlet, P. Colomban, J. M. Madariaga, "The role of marine aerosol in the formation of (double) sulfate/nitrate salts in plasters" *Microchemical Journal*", 123 (2015) 148.

[30] V. Matović, S. Eríc, A. Kremenović, P. Colomban, D. Srécković-Bató canin y Nenad Matovic, "The origin of syngenite in black crusts on the limestone monument King's Gate (Belgrade Fortress, Serbia) – the role of agriculture fertiliser" *Journal of Cultural Heritage*, 13 (2012) 175–186.

[31] H. de Clercq, M. Jovanovic, K. Linnow y M. Steiger, "Performance of limestones laden with mixed salt solutions of $\text{Na}_2\text{SO}_4\text{--NaNO}_3$ and $\text{Na}_2\text{SO}_4\text{--K}_2\text{SO}_4$ ", *Environmental Earth Science*, 69 (2013) 1751.

[32] N. Prieto-Taboada, S. Fdez Ortiz de Vallejuelo, M. Veneranda, E. Lama, K. Castro, G. Arana, A. Larrañaga y J. M. Madariaga, "The Raman spectra of the $\text{Na}_2\text{SO}_4\text{--K}_2\text{SO}_4$ system: Applicability to soluble salts studies in built heritage", *Journal of Raman Spectroscopy*, 50 (2019) 175-183.

CAPÍTULO 5

Análisis espectroscópico de materiales inorgánicos de construcción de nueva generación sometidos a diferentes niveles de estrés ambiental

El estudio del ataque químico a los materiales de construcción de nueva generación es considerado vital para la preservación de la integridad estructural de las construcciones. El comportamiento agresivo de estos ataques provoca degradaciones en la matriz de los materiales los cuales cambian las propiedades iniciales de los mismos. De hecho, los edificios y las construcciones en general poseen una vida útil determinada. Y en muchos casos esa vida útil se acorta considerablemente debido a los ataques

internos y/o externos que sufre el edificio. Inicialmente estos posibles ataques o situaciones extremas no se contemplan en el proyecto de ejecución de la obra y una vez ejecutada, el deterioro prematuro de un material de construcción está condicionado por el ambiente que lo rodea [1-7].

Y es que el ambiente urbano sufre desde hace algunos años unos niveles excesivos de contaminación, provocada principalmente por la industria y el tráfico rodado, que hacen que los edificios sufran deterioros en su mayoría superficiales que con el paso de los años pueden ir manifestándose también en el interior [8-12]. También se incluyen entre estos agentes de destrucción los musgos y líquenes que promueven el biodeterioro de materiales pétreos [13-16].

Las técnicas espectroscópicas de análisis son herramientas muy válidas para caracterizar el deterioro químico presente en materiales inorgánicos de construcción de nueva generación gracias a su capacidad simultánea multielemental y multimolecular y rapidez sin pretratamiento de muestras [5].

A pesar del uso extensivo de los materiales de síntesis, de acuerdo con la bibliografía de hace no tantos años, aún se encuentran productos de deterioro en hormigones, morteros y ladrillos sin identificar y mecanismos sin explicar [6]. Por todo ello, el objetivo de este capítulo de Tesis es analizar mediante espectroscopia Raman y XRF, hormigones, morteros y ladrillos del siglo XX sometidos a diferentes tipos y niveles de contaminantes, para explicar las posibles reacciones químicas que se han producido entre los compuestos originales y los contaminantes hasta dar lugar a los diferentes tipos de compuestos de deterioro encontrados en Leioa, Donostia, Forua y Getxo, emplazamientos con diferentes características atmosféricas, tal y como se describe en la metodología.

5.1. Hormigones armados

5.1.1. Aceros

Atmósfera tipo T3: Forua

Los hormigones armados muestreados en el emplazamiento de Forua presentaban diversas alteraciones tales como fracturas y desprendimientos del material. Los análisis espectroscópicos se realizaron en este caso en las zonas desprendidas circundantes a las áreas de contacto acero-hormigón, es decir, la zona de pátina marrón (ver las imágenes en la Figura 5.1).

La Figura 5.1 muestra, además, los resultados Raman más relevantes obtenidos sobre las zonas marrones: en el espectro a) se detecta calcita [17] (281, 712 y 1086 cm^{-1}) asociada a la matriz carbonatada del hormigón y goetita [18] (α -FeO(OH), 244, 299 y 385 cm^{-1}). Como la banda de 385 cm^{-1} es muy ancha, puede ser que en este punto de análisis aparezca también lepidocrocita (γ -FeO(OH), ya que esta banda ancha está posicionada entre las bandas principales de la lepidocrocita a 249 cm^{-1} y la banda principal de la goetita a 385 cm^{-1} . Ocurre con frecuencia que, cuando aparecen los oxohidróxidos de hierro en forma de mezcla, las bandas son más anchas, dificultando en consecuencia su apropiada identificación y caracterización. Al contrario, se aprecia en los espectros Raman de los oxohidróxidos puros que las bandas son más estrechas y que están mejor definidas. El espectro b) muestra goetita (244, 299 y 385 cm^{-1}) y en el espectro c) se muestran las bandas de la lepidocrocita [18] (214, 250, 379, 528 y 650 cm^{-1}).

Todo parece indicar que los aceros embebidos han perdido la condición de pasividad como resultado de la carbonatación del hormigón y el posterior descenso del pH. El agua y el oxígeno han llegado al acero a través de la estructura de poros del hormigón y se han formado los oxohidróxidos de hierro. El hallazgo de estos oxohidróxidos de hierro demuestra que las fuerzas expansivas de estos productos de corrosión han provocado el agrietamiento y exfoliación del hormigón.

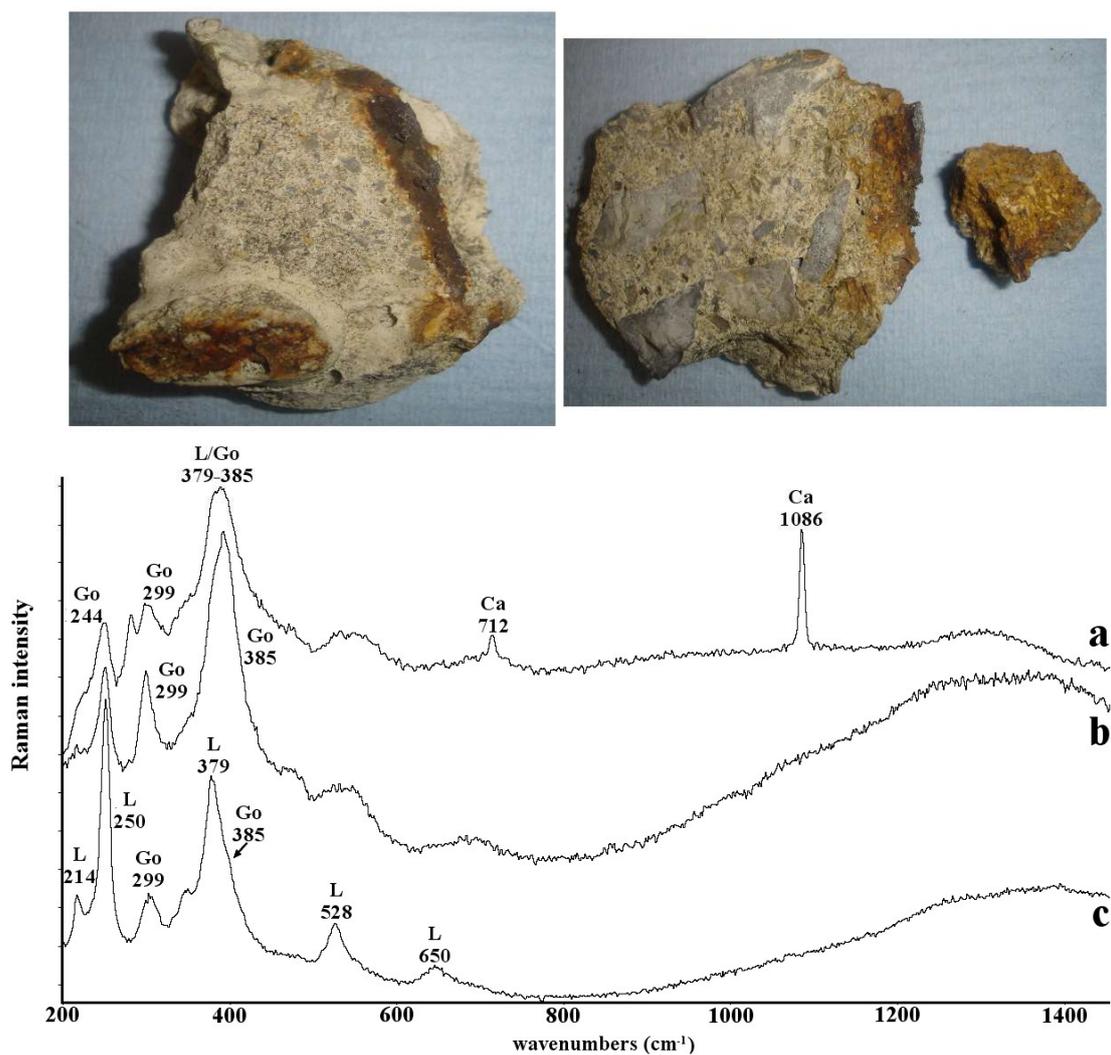


Figura 5.1: medidas Raman más relevantes obtenidas sobre el acero fracturado, mostrando la presencia de lepidocrocita (L) y goetita (Go) productos de deterioro formados a partir de dicho acero, además de calcita (Ca).

Atmósfera tipo T4: Donostia

En este emplazamiento las muestras obtenidas de acero corrugado fueron mayormente lascas desprendidas, muchas de ellas con incrustaciones blancas. Las fotos tomadas sobre el andamio en el que estaban trabajando los operarios y de los detalles de las muestras recogidas se recogen en la Figura 5.2.

En las áreas blancas y anaranjadas se obtuvieron tres espectros representativos (Figura 5.3). En el espectro a) se aprecian las siguientes bandas: 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} asignadas a la calcita; mientras que 491, 630, 1008 y 1025 cm^{-1} corresponden a la mezcla yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)-anhidrita soluble (CaSO_4) [19,20].



Figura 5.2: imágenes *in situ* y detalles de las muestras de acero recogidas en Donostia

En el espectro b) se obtuvieron las señales a 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} para la calcita; 422, 491, 630, 673 y 1025 cm^{-1} para la anhidrita soluble y 225 y 412 cm^{-1} para la hematita (Fe_2O_3). Y en el espectro c se identificaron las señales a 214, 250, 379, 528 y 650 cm^{-1} de la lepidocrocita junto con las señales a 155, 712 y 1086 cm^{-1} de la calcita.

En las zonas de color negro, se seleccionaron dos espectros representativos, los cuales se muestran en la figura 5.4: en el espectro a) se identifican las señales a 299 y 385 cm^{-1} de la goetita y 1086 cm^{-1} de la calcita. Y en el espectro b) se aprecian las señales de la hematita (225, 290 y 412 cm^{-1}), de la anhidrita soluble (1025 cm^{-1}) y de la calcita (1086 cm^{-1}).

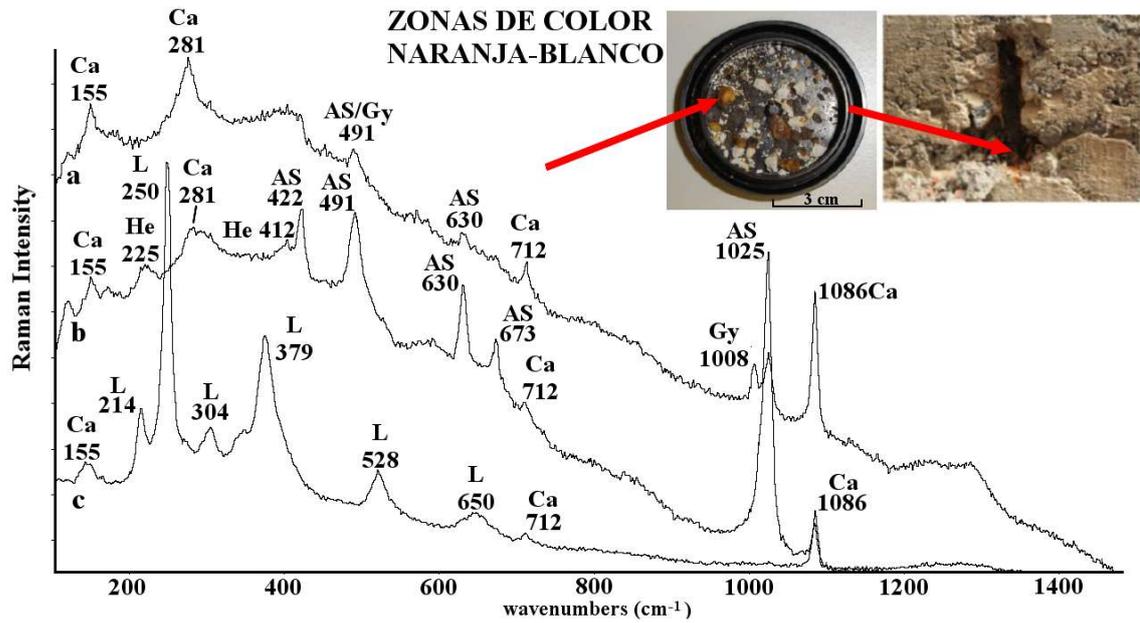


Figura 5.3: espectros Raman obtenidos en las diferentes áreas anaranjadas de las lascas de acero de Donostia; el espectro a muestra calcita (Ca) y anhídrita soluble (AS); el espectro b calcita (Ca), anhídrita soluble y hematita (He); el espectro c muestra calcita y lepidocrocita (L).

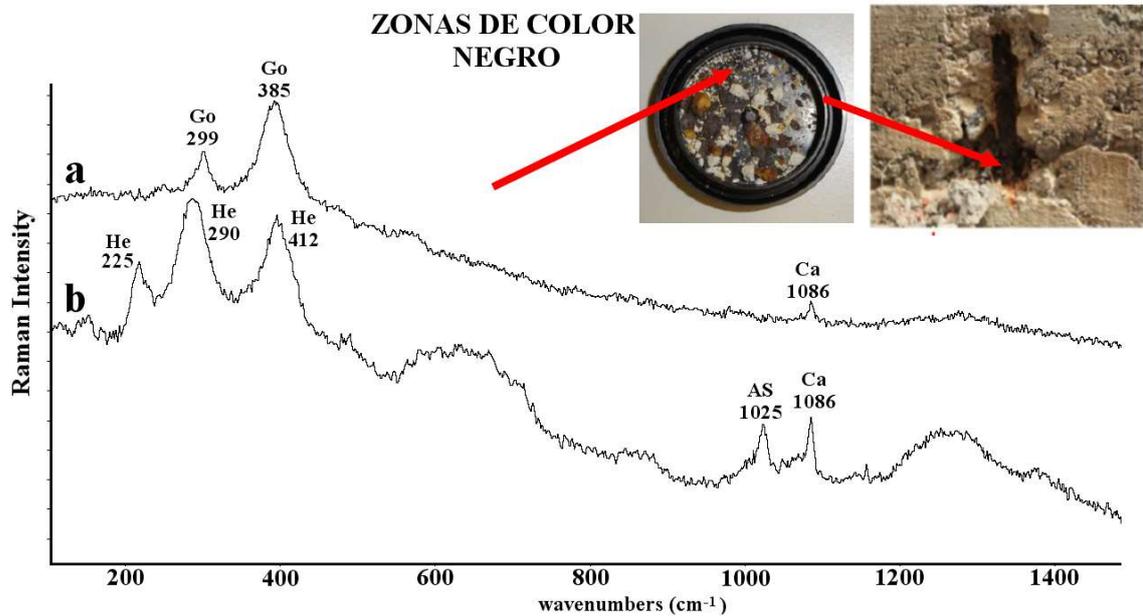


Figura 5.4: espectros Raman obtenidos en las diferentes áreas anaranjadas de las lascas de acero de Donostia; Go goetita, Ca calcita, He hematita y AS anhídrita soluble.

En las zonas negras se vuelven a identificar los compuestos ferruginosos hallados en las zonas anteriores, pero esta zona se caracteriza por una mayor presencia de sulfatos de calcio. En la Figura 5.5 Se muestran un total de cinco espectros obtenidos en las áreas blancas y grises. En el espectro a) se muestran las señales más intensas de la calcita (1086 cm^{-1}) y de la goetita (299 y 385 cm^{-1}); en el espectro b) se aprecian las señales a 225 , 290 y 412 cm^{-1} de la hematita y la señal a 1015 cm^{-1} correspondiente probablemente al yeso hemihidrato. Las señales a 225 , 290 y 412 cm^{-1} del espectro c) se corresponden con la hematita y las bandas principales de la anhidrita soluble (1025 cm^{-1}) y de la calcita (1086 cm^{-1}). El espectro d) muestra todas las señales de la calcita, junto a las señales principales del yeso a 1008 cm^{-1} y de la anhidrita soluble. Finalmente, el espectro e) muestra todas las bandas de la anhidrita soluble (422 , 491 , 630 , 673 , 1025 y 1165 cm^{-1}).

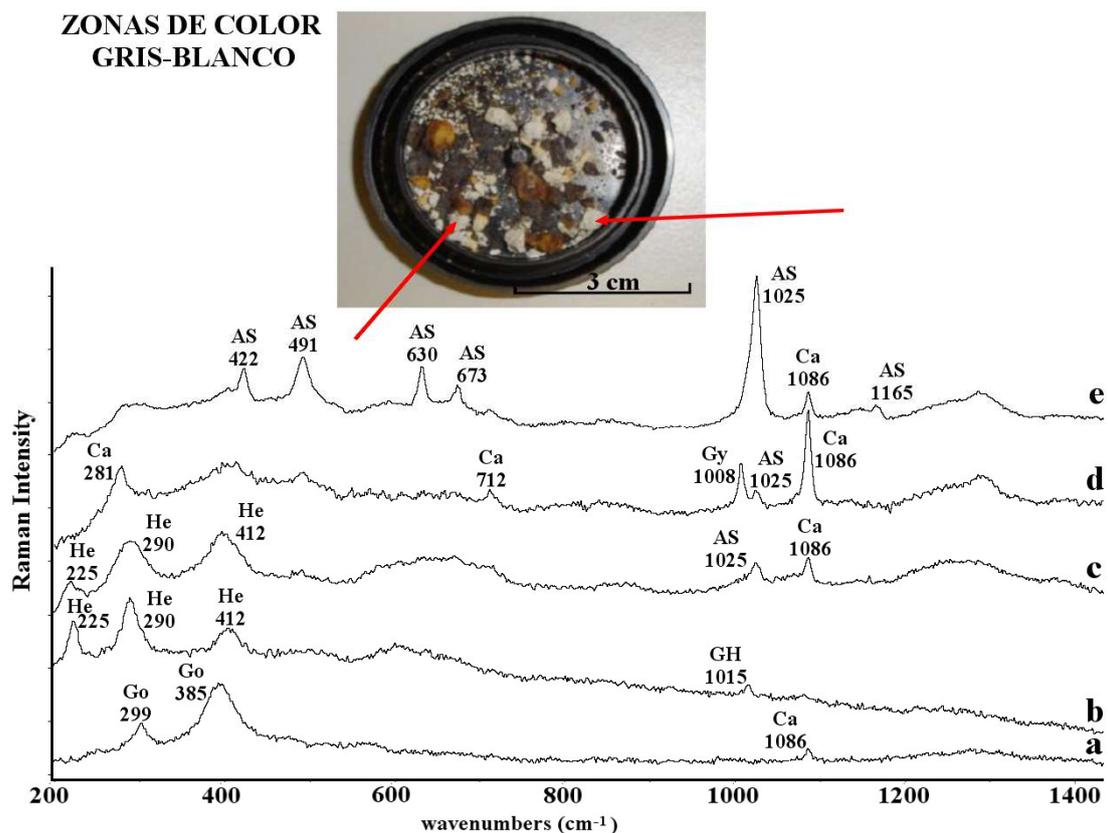


Figura 5.5: espectros Raman obtenidos en las áreas gris-blancas de las lascas de acero de Donostia.

La presencia de las distintas especies del sistema CaSO_4 evidencia la posibilidad de coexistir distintos compuestos en una misma zona, dependiendo de la disponibilidad de agua en el ambiente. Los cambios en el número de aguas de hidratación aceleran el proceso de deterioro del hormigón armado, dando lugar a la desintegración en forma de lascas de los materiales que lo componen.

Atmósfera Tipo T7: Leioa

Se muestran a continuación los espectros más significativos de las áreas circundantes a los aceros pertenecientes a Leioa, en los cuales se analizaron también lascas de acero desprendidas de las barras de acero corrugado de las columnas de hormigón armado mostradas en la figura 5.6.

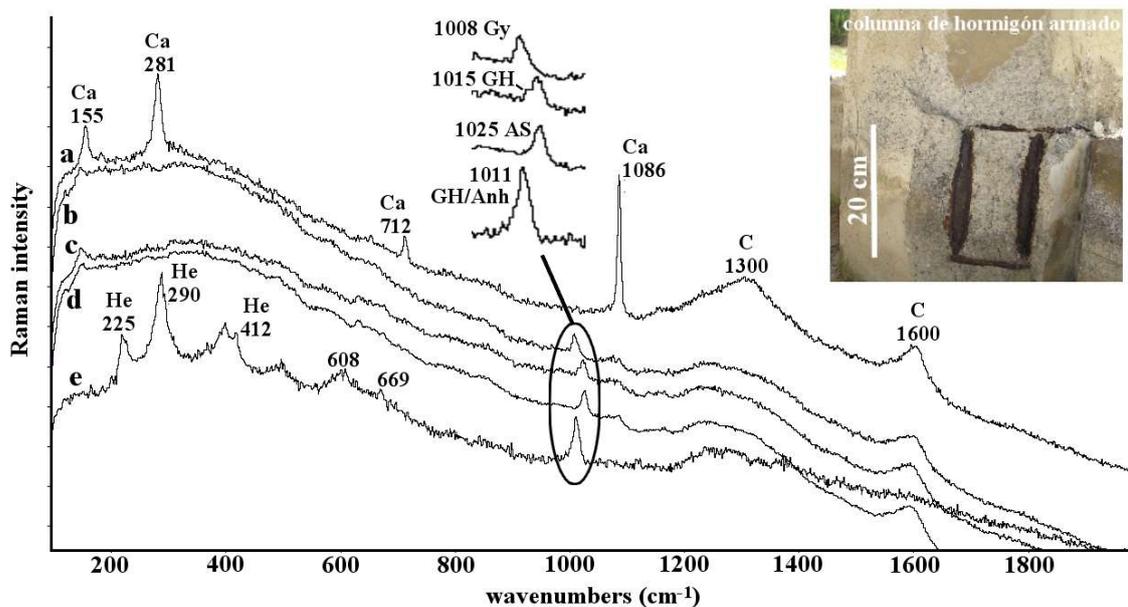


Figura 5.6: espectros Raman obtenidos en el acero oxidado de Leioa, mostrando la presencia de calcita (Ca), carbón (C), hematita (He) y diversos sulfatos de calcio: yeso (Gy), anhídrido soluble (AS) y yeso hemihidrato (GH).

En el espectro a) se identificaron los picos a 155, 281, 712 y 1086 cm⁻¹ relativos a la calcita y las bandas anchas a 1300 y 1600 cm⁻¹ correspondientes al carbón amorfo de

la matriz del hormigón que actúa como captador de partículas de hollín del ambiente. En los espectros b-e se observan de nuevo las bandas principales de varios sulfatos de calcio; banda a 1008 cm^{-1} atribuible al yeso, a 1015 cm^{-1} correspondiente al yeso hemihidrato y a 1023 cm^{-1} ligado a la anhidrita soluble.

Al contrario, las bandas a 608 , 669 y 1010 cm^{-1} que se observan en el espectro e no pueden ser atribuibles a un solo sulfato de calcio y pueden pertenecer a la mezcla yeso hemihidrato-anhidrita. En este último espectro se ven además los picos a 225 , 290 y 412 cm^{-1} de la hematita.

Comparando las lascas de acero corrugado oxidado de Donostia y Leioa cabe destacar que el tipo de compuestos encontrados en las mismas es de similar naturaleza. Los compuestos de deterioro encontrados son de una parte óxidos y oxohidróxidos de hierro, y de otra parte sulfatos de calcio. Parece que el sistema $\text{CaSO}_4/\text{H}_2\text{O}$ juega un papel destacado en el deterioro del hormigón, hecho que queda demostrado al haber encontrado compuestos derivados del yeso y compuestos de deterioro del acero como los oxohidróxidos de hierro simultáneamente, de forma repetida y en los mismos niveles de concentración, obtenidos de las lascas desprendidas.

En el emplazamiento de Forua en cambio, se han detectado únicamente como compuestos de deterioro del acero corrugado la lepidocrocita y la goetita y no se ha encontrado ninguna señal que evidencie la presencia de sulfatos. Este hallazgo apunta como hipótesis más probable que el origen de dichos sulfatos son los SO_x atmosféricos que se encuentran en mayor concentración en los emplazamientos de Leioa y Donostia, lo que supone un ambiente más agresivo que favorece la degradación del hormigón armado.

5.1.2. Pasta de cemento y agregados

Atmósfera tipo T3: Forua

El hormigón armado de Forua se presentaba con agregados de todos los tamaños rodeados de pasta de cemento tal y como se puede apreciar en la Figura 5.7. Los análisis Raman de cada zona detallada muestra carbonato de calcio en todos los casos, pero el grado de cristalización es diferente. Así, en los agregados aparecen los picos a 281, 712 y 1086 cm^{-1} en espectros libres de fluorescencia y en la pasta de cemento se aprecian los picos a 231 (el cual no se corresponde con las señales de la calcita), 281 y 1086 cm^{-1} con menor intensidad y sobre una fluorescencia notable.

Esto se debe a que la calcita que aparece en la pasta de cemento es una calcita menos cristalizada (amorfa) dado que es el producto de carbonatación del hormigón. En cambio, la calcita presente en los agregados está más cristalizada dado que se trata del árido.

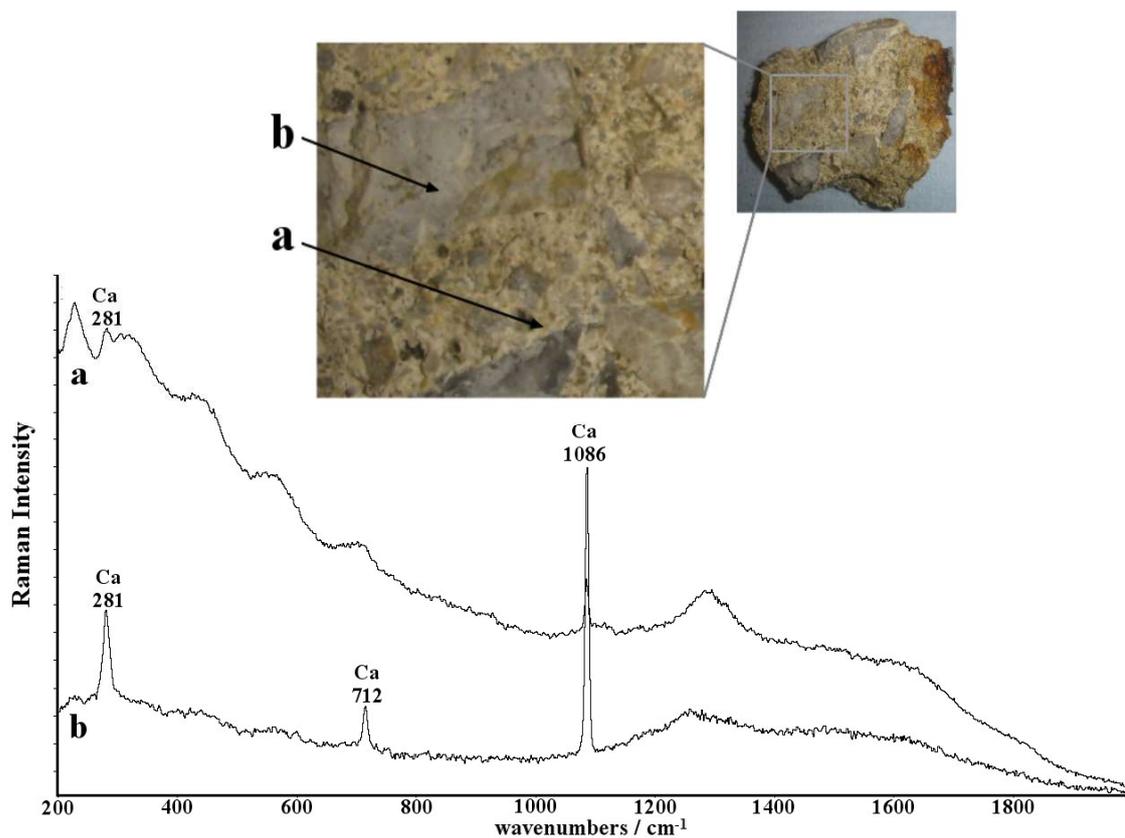


Figura 5.7: espectros típicos de a) pasta de cemento y b) de agregados de Forua. Se aprecia que, aunque el componente principal sea el carbonato de calcio, éste se muestra más cristalizado en el agregado que en la pasta.

Atmósfera tipo T4: Donostia

Las muestras analizadas en Donostia pertenecen a una viga estructural de hormigón que presentaba desprendimientos de dicho material. Los espectros Raman obtenidos se muestran en la figura 5.8.

En el espectro a) de dicha figura, se aprecian las bandas a 155, 206, 281, 712 y 1086 cm^{-1} pertenecientes a la mezcla de aragonito y calcita, polimorfos del carbonato de calcio. En el espectro b) se obtienen las señales a 155, 204, 705 y 1086, 1205, 1235, 1305, 1325 y 1855 cm^{-1} , pertenecientes al aragonito sintetizado por organismos vivos (biomineralización) y que indicaría la presencia de conchas en la arena utilizada para la mezcla de cemento [21]. Y el espectro c) muestra señales Raman a 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} de la calcita.

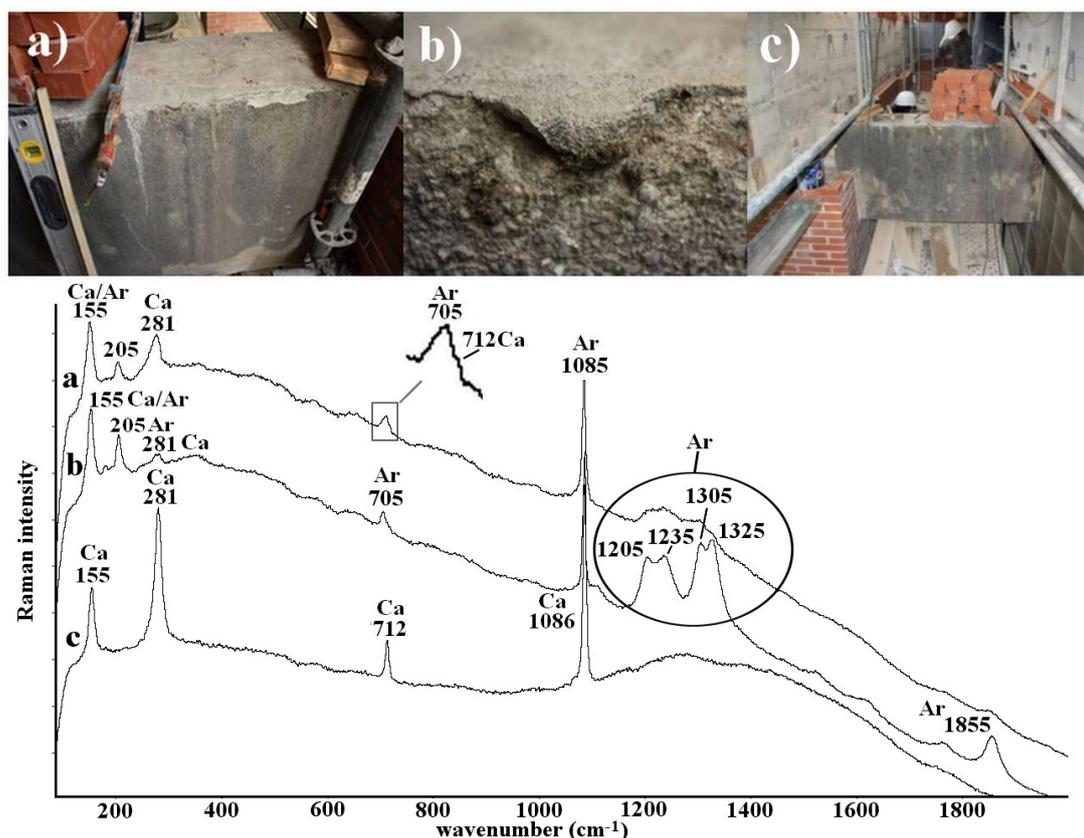


Figura 5.8: espectros Raman obtenidos en hormigón desprendido perteneciente a una viga estructural de hormigón, en los cuales se aprecia calcita, aragonito y diversos silicatos.

Atmósfera Tipo T7: Leioa

Las muestras relativas de hormigón del Campus de Leioa pertenecen por un lado a eflorescencias y desprendimientos de material en columnas de hormigón armado y por otro lado a eflorescencias en muros bajos de zonas ajardinadas. Las fotos incluidas en la parte superior de la figura 5.9 se aprecian las afecciones ambientales y el estado de conservación de estas columnas. Además, se aprecia también el aspecto de dichas eflorescencias.

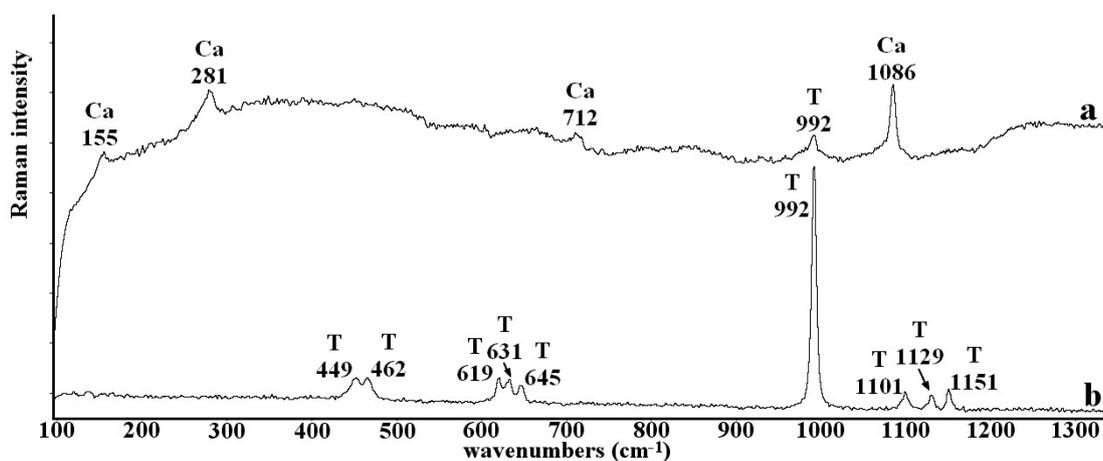
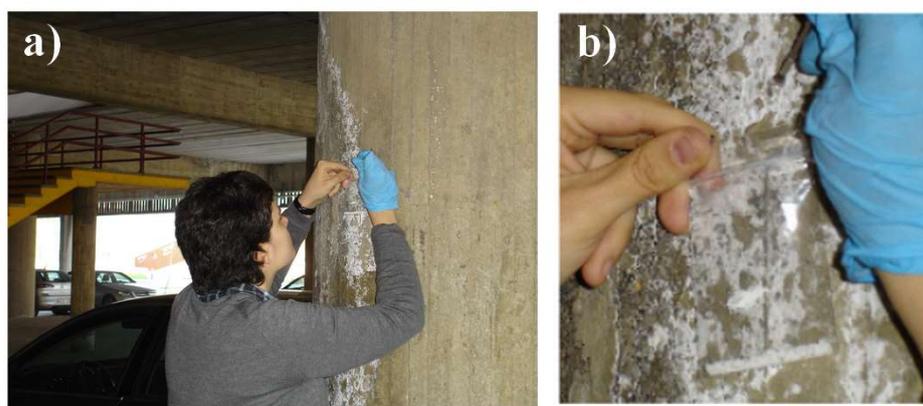


Figura 5.9: espectros Raman obtenidos en eflorescencias de columnas de hormigón mostrando la presencia de calcita (Ca) y thenardita (T).

Los espectros Raman tomados sobre las eflorescencias de las columnas (Figura 5.9) muestran señales a 155, 281, 712 y 1086 cm⁻¹ correspondientes a la calcita, siendo

el producto de la carbonatación del hormigón. El carbonato de calcio es el precursor de la formación de la thenardita (Na_2SO_4), 449, 462, 619, 631, 645, 992, 1085, 1101, 1129 y 1151 cm^{-1} [22] por disolución de sus componentes en presencia de aguas de infiltración.

La figura 5.10 muestra una medida puntual de eflorescencias de otra columna de hormigón donde se puede ver la presencia de arcanita (K_2SO_4) [19] otro sulfato alcalino más, no detectado hasta el momento en muestras de hormigón de este trabajo. Esta sal forma cristales de apariencia similar a la de la thenardita como puede verse en la Figura 5.10. Su presencia sólo puede explicarse si hay una alta concentración de potasio en las aguas de infiltración que han dado lugar a las eflorescencias.

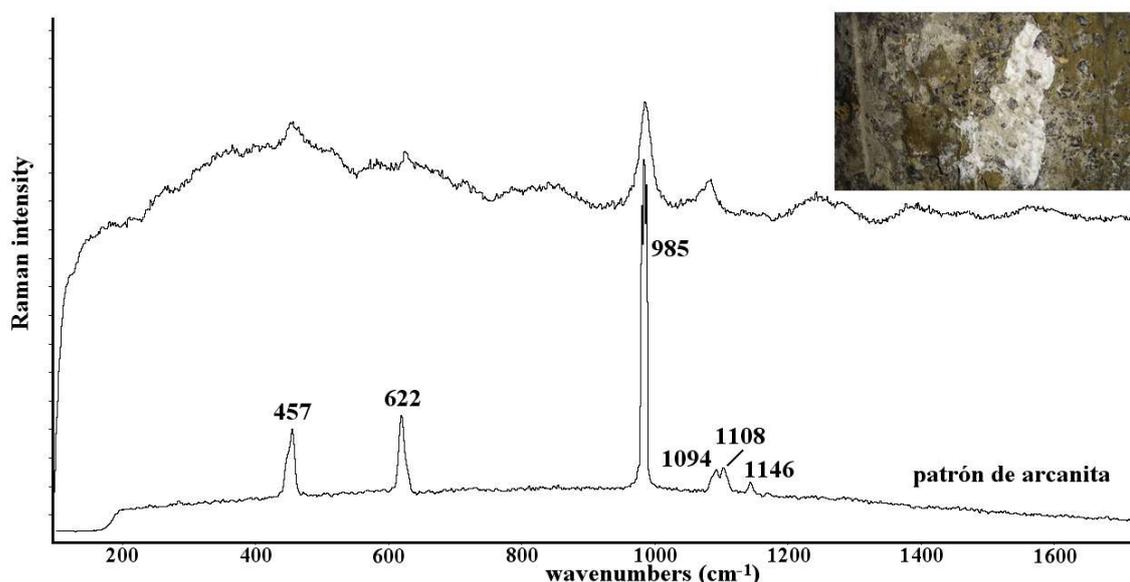


Figura 5.10: espectro de sulfato de potasio (K_2SO_4 , arcanita) comparado con el espectro patrón obtenido en una medida puntual en las eflorescencias de la columna de hormigón.

La apariencia macroscópica de todas las eflorescencias del hormigón era la misma; presentaban un color blanco y un aspecto cristalino. Sin embargo, la caracterización micro Raman de todas ellas ha demostrado que su composición química es diferente. Esta caracterización es importante, ya que la problemática que cada una de ellas acarrea es también muy diversa.

La distribución de las eflorescencias en el muro bajo de hormigón Leioa, era dependiente de la altura del muro donde se encontraban. Por lo tanto, se recogieron dos eflorescencias situadas en diferentes alturas. La Figura 5.11 muestra los distintos frentes de cristalización formados en el muro (imagen a), y las eflorescencias tomadas para su análisis Raman en el laboratorio, además de los espectros Raman más relevantes obtenidos. La interfaz entre la eflorescencia y el sustrato está compuesta de calcita ($155, 281, 712$ y 1086 cm^{-1}) y thenardita ($449, 462, 619, 631, 645, 992, 1101, 1129$ y 1151 cm^{-1}).

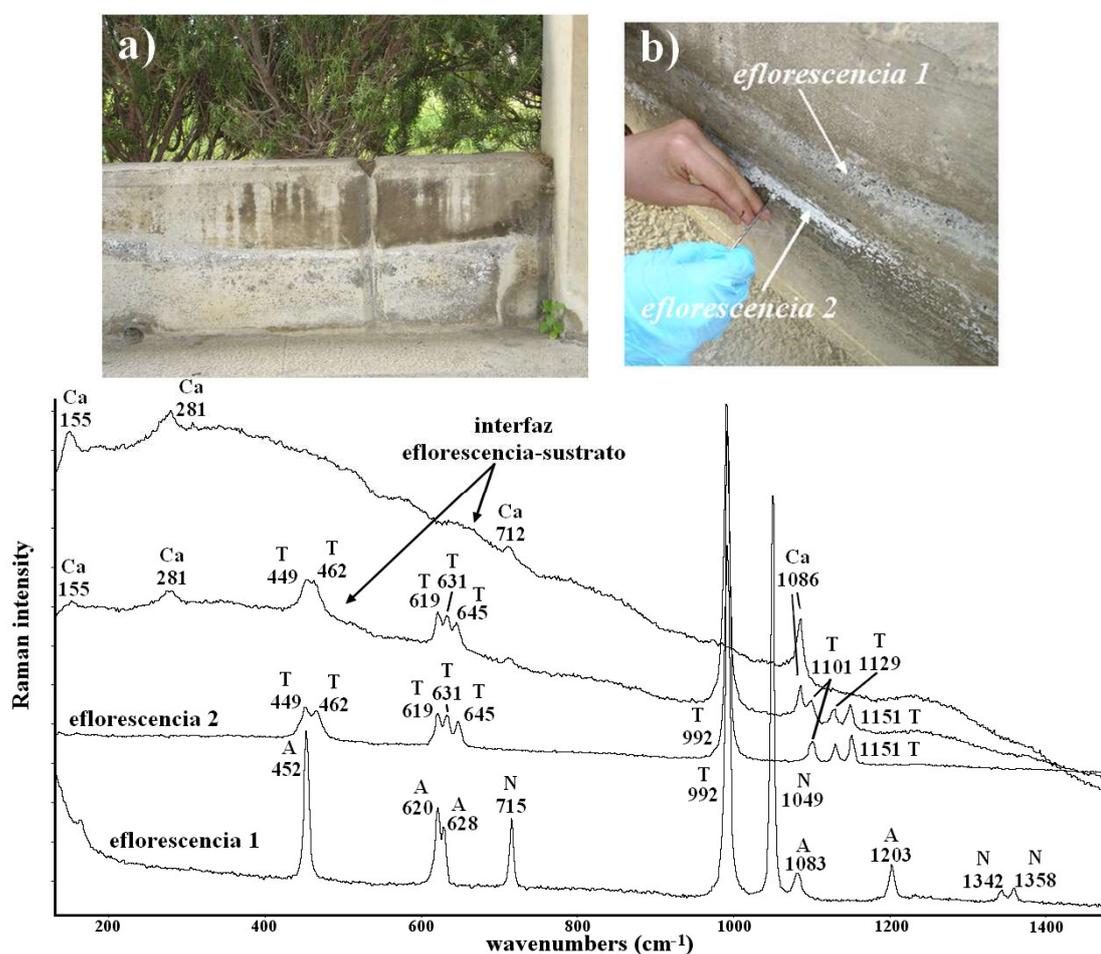


Figura 5.11: espectros Raman obtenidos en muros de hormigón de jardín donde. La distribución de las eflorescencias difiere según la cota: La eflorescencia 1 está compuesta por thenardita y la eflorescencia 2 está compuesta por niter y aftitalita.

La eflorescencia 1 está compuesta por nitro (KNO_3) [19] ($715, 1049, 1342$ y 1358 cm^{-1}) y aftitalita ($\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)_2$) [17,22] ($452, 620, 628, 992, 1083, 1203 \text{ cm}^{-1}$), pero, los análisis Raman revelan también que la presencia de thenardita componente principal de la eflorescencia 2. Esta sal es menos soluble a las anteriores por lo que su capacidad de ascender a través del material cementoso es menor.

Teniendo en cuenta esta diferencia de solubilidad y de acuerdo con la bibliografía [23], las sales más solubles que ascienden por capilaridad se sitúan en cotas superiores a las menos solubles, es decir, la distribución de sales en los muros de hormigón también es dependiente de la cota, tal y como sucede en los muros de roca.

5.2. Morteros

Atmósfera tipo T3: Forua

La Figura 5.12 muestra los espectros Raman obtenidos en un mortero de Forua. Estos espectros están tomados en este caso en una cara de la muestra que no ha estado en contacto con la atmósfera por lo que los compuestos identificados en estas medidas pueden considerarse compuestos originales de dicho mortero.

El espectro a) de dicha figura muestra los picos a 705 y 1085 cm^{-1} del aragonito y bandas anchas entre 1200 y 1400 cm^{-1} de diversos silicatos. La presencia de estos compuestos en este mortero puede indicar el origen marino de la arena utilizada. El espectro b) muestra los picos a $281, 712$ y 1086 cm^{-1} de una calcita no cristalina por lo que puede pertenecer a la calcita derivada de la carbonatación del mortero. El espectro c) en cambio muestra los picos claros y de gran intensidad a $281, 712$ y 1086 cm^{-1} de una calcita mucho más cristalizada presente en las partes reservadas al árido. Finalmente, el espectro d) muestra los picos a $262, 354, 398$ y 463 cm^{-1} del cuarzo (SiO_2) de la parte relativa a la arena del mortero.

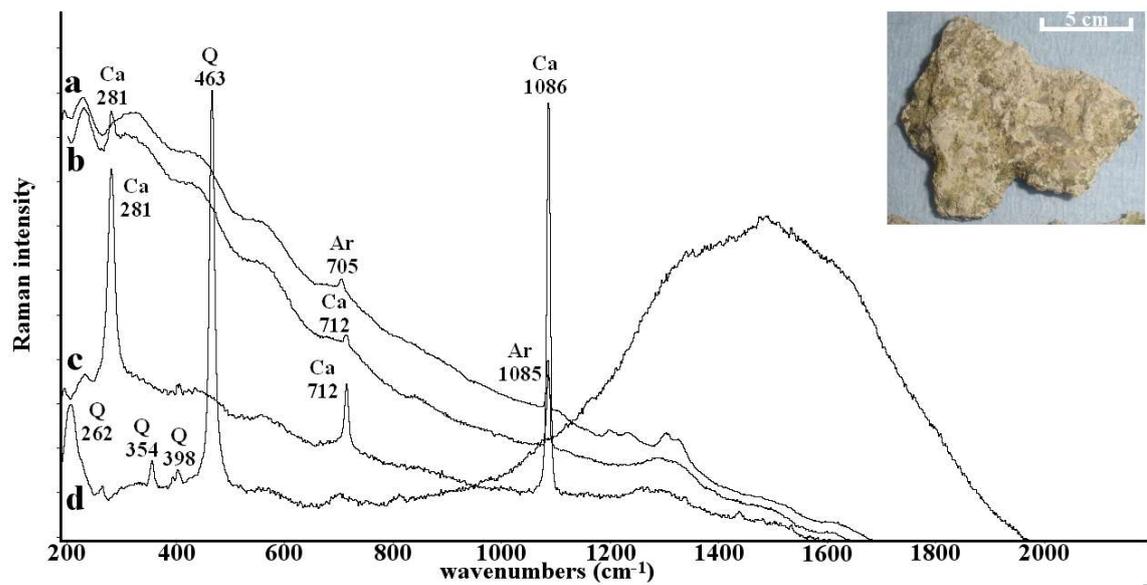


Figura 5.12: espectros Raman obtenidos en el mortero de Forua donde se aprecia que se compone en su origen de calcita (Ca), aragonito (Ar) y cuarzo (Q).

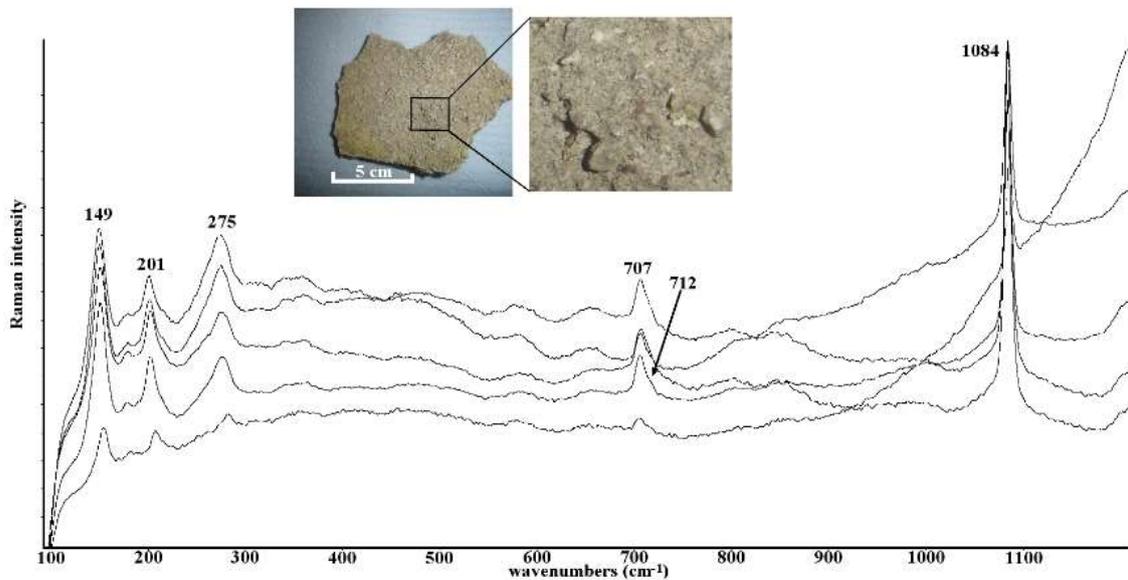


Figura 5.13: espectros Raman obtenidos en otro mortero de Forua mostrando la presencia de tres polimorfos del carbonato de calcio, la calcita, el aragonito y la vaterita.

La figura 5.13 muestra los espectros más significativos obtenidos en otro mortero de Forua dónde se ve la presencia de aragonito una vez más y se detecta por primera vez otro polimorfo de la calcita como es la vaterita (CaCO_3) [17] gracias a los

picos a 149, 201, 275, 707, 712 (hombro) y 1084 cm^{-1} . Este último polimorfo encontrado en el mortero es una forma alotrópica de la calcita muy poco común en la tierra y su procedencia puede estar unida al origen marino de la arena utilizada en este mortero.

Atmósfera tipo T4: Donostia

Con el fin de profundizar en el análisis Raman de muestras de mortero se analizó en este caso, tanto la cara externa que ha estado en contacto con la atmósfera como la cara más protegida y la que ha estado en contacto con el hormigón, de un mortero perteneciente a la Escuela de Magisterio de Donostia. La Figura 5.14 muestra las imágenes del muestreo de este mortero de unión entre el hormigón y las placas de granito.



Figura 5.14: imágenes del muestreo de un mortero de unión entre hormigón y granito de Donostia que presentaba pérdidas de material y eflorescencias.

Los espectros obtenidos en la interfaz mortero-eflorescencia y sobre la misma eflorescencia, se han recogido en la figura 5.15. En el espectro a se observan señales a 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} correspondientes a la calcita y 414, 493, 618, 669, 1008, y 1135 cm^{-1} correspondientes al yeso. En el espectro b se observan los picos a 428, 442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139 y 1163 cm^{-1} de la singenita ($\text{K}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) y 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} de la calcita. El espectro c muestra los picos a 155, 281, 712, 1086 cm^{-1} de la calcita y 414, 618, 669, 1008 y 1135 cm^{-1} del yeso y 442, 493 y 980 cm^{-1} de la singenita.

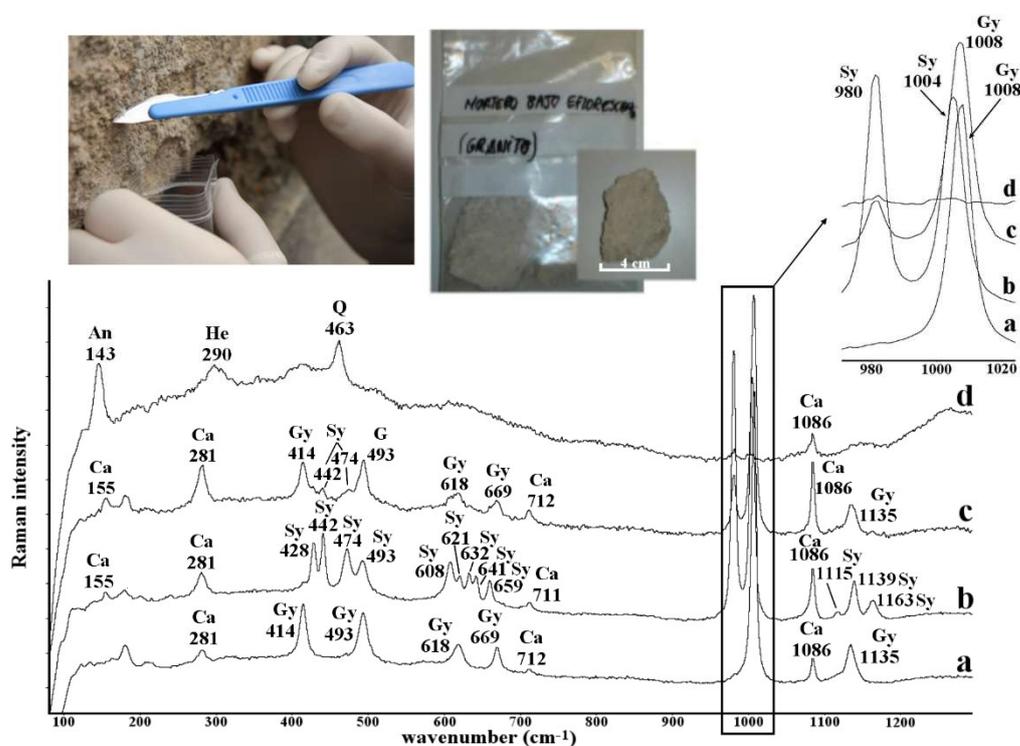


Figura 5.15: espectros Raman recogidos en la parte interna de un mortero de Donosti, donde se puede observar la presencia de calcita (Ca), cuarzo (Q), anatasa (An) y hematita (He) como compuestos originales y yeso (Gy) y singenita (Sy) como compuestos de deterioro.

Tal y como se ha descrito en el capítulo 4 de esta tesis, la singenita es una disolución sólida que se forma cuando los poros del mortero están saturados en iones SO_4^{2-} , Ca^{2+} y K^+ . El hecho de haber encontrado en el espectro c mayormente yeso y algo de singenita puede demostrar que la singenita se forma como disolución sólida a partir

del yeso, cuando a este último se le incorporan iones potasio en su red cristalina bajo condiciones de humedad relativamente altas. Por último, el espectro muestra las señales a 145 cm^{-1} de la anatasa (TiO_2), 290 cm^{-1} de la hematita, 463 cm^{-1} del cuarzo y 1086 cm^{-1} de la calcita los cuales pueden considerarse compuestos originales del mortero.

La Figura 5.16 muestra el espectro más relevante obtenido en una eflorescencia sobre la parte externa expuesta a la atmósfera del mismo mortero de la escuela de Magisterio de Donostia. En la misma figura se ha hecho comparación con los patrones de los compuestos identificados. Se trata de una mezcla de thaumasita y singenita que aparecen junto a la calcita, como muestra la comparativa con los patrones correspondientes [17].

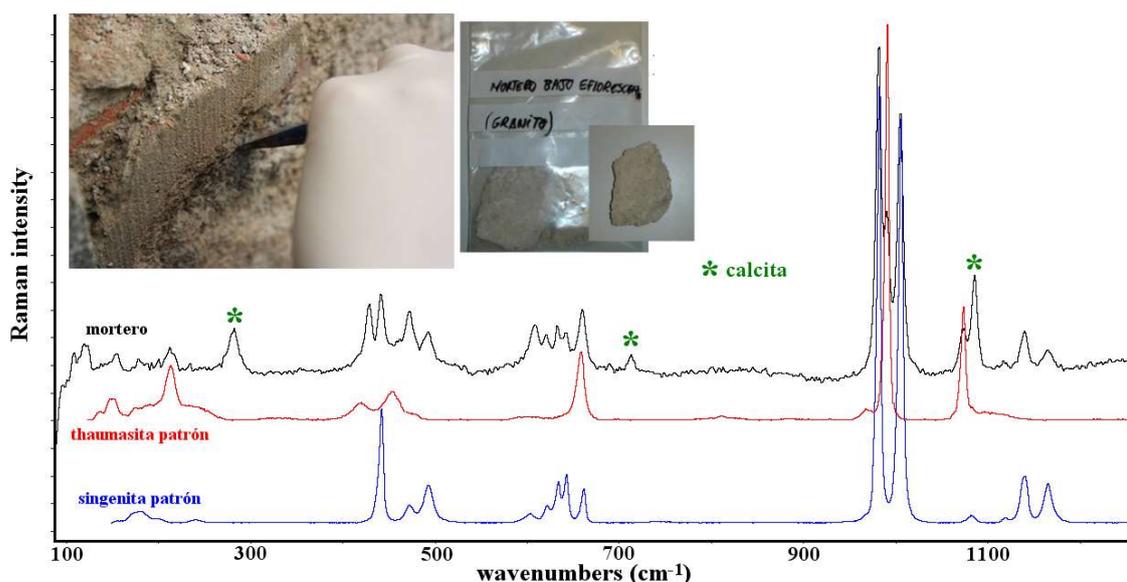


Figura 5.16: espectro Raman obtenidos en un mortero de Donosti y comparación con patrones donde se ha detectado el sulfato de calcio y potasio singenita y por primera vez el carbonato/sulfato/silicato triple thaumasita.

En concreto, las señales claras y de gran intensidad a $155, 281, 712$ y 1086 cm^{-1} de la calcita; $428, 442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139$ y 1163 cm^{-1} se corresponden con la singenita y los picos a $660, 990$ y 1073 cm^{-1} de la

thaumasita ($\text{Ca}_3\text{Si}(\text{CO}_3)(\text{SO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 12(\text{H}_2\text{O})$) [17]. Es la primera vez que se detecta este último compuesto de deterioro en materiales de construcción modernos analizados en esta Tesis Doctoral y es muy relevante este hallazgo ya que se trata de un compuesto ligado a graves problemas de deterioro en dichos materiales. La thaumasita es una sal compleja que se forma cuando la degradación del hormigón está bastante avanzada dándose las condiciones para formar el compuesto de carbonato-sulfato-silicato altamente hidratado. Su presencia en morteros y hormigones produce daños irreparables de manera expansiva [24-27].

Atmósfera Tipo T7: Leioa

En el campus de la Universidad del País Vasco en Leioa, se recogieron muestras desprendidas de mortero y eflorescencias circundantes a estas. Dichas eflorescencias han precipitado en el interior del material, han causado tensión en el espacio de poros que ha dado lugar al desprendimiento de la pintura plástica aplicada como recubrimiento, y no ha dejado exudar al hormigón.

La Figura 5.17 muestra las señales Raman más representativas obtenidas sobre el primer mortero analizado. En el espectro a se han detectado todas las señales de la thenardita a 449, 462, 619, 631, 645, 992, 1101, 1129 y 1151 cm^{-1} .

En el espectro b, en cambio, se aprecian las señales a 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} de la calcita; además de las señales a 450, 619, 631, 645, 992, 1101, 1129 y 1151 cm^{-1} que, dada la posición y anchura de los picos obtenidos, podrían corresponder a una fase cristalina o mezcla entre la mirabilita y la thenardita.

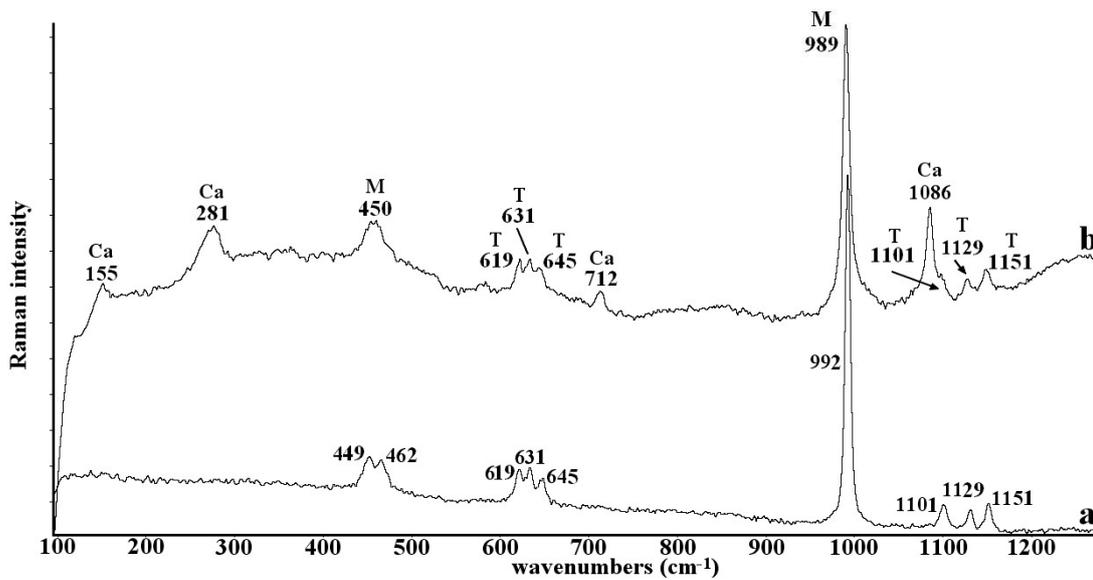


Figura 5.17: señales Raman obtenidas en el primer mortero analizado de Leioa donde se ven picos de la calcita, Ca, la mirabilita, M y la thenardita, T.

Las Figuras 5.18 y 5.19 muestran las señales Raman obtenidas en el segundo mortero analizado en Leioa. La primera de ellas se centra en las eflorescencias que presenta el mortero que estarían compuestas por thenardita según las bandas características a 449, 462, 619, 631, 645, 992, 1102, 1131 y 1152 cm^{-1} (ver espectro a).

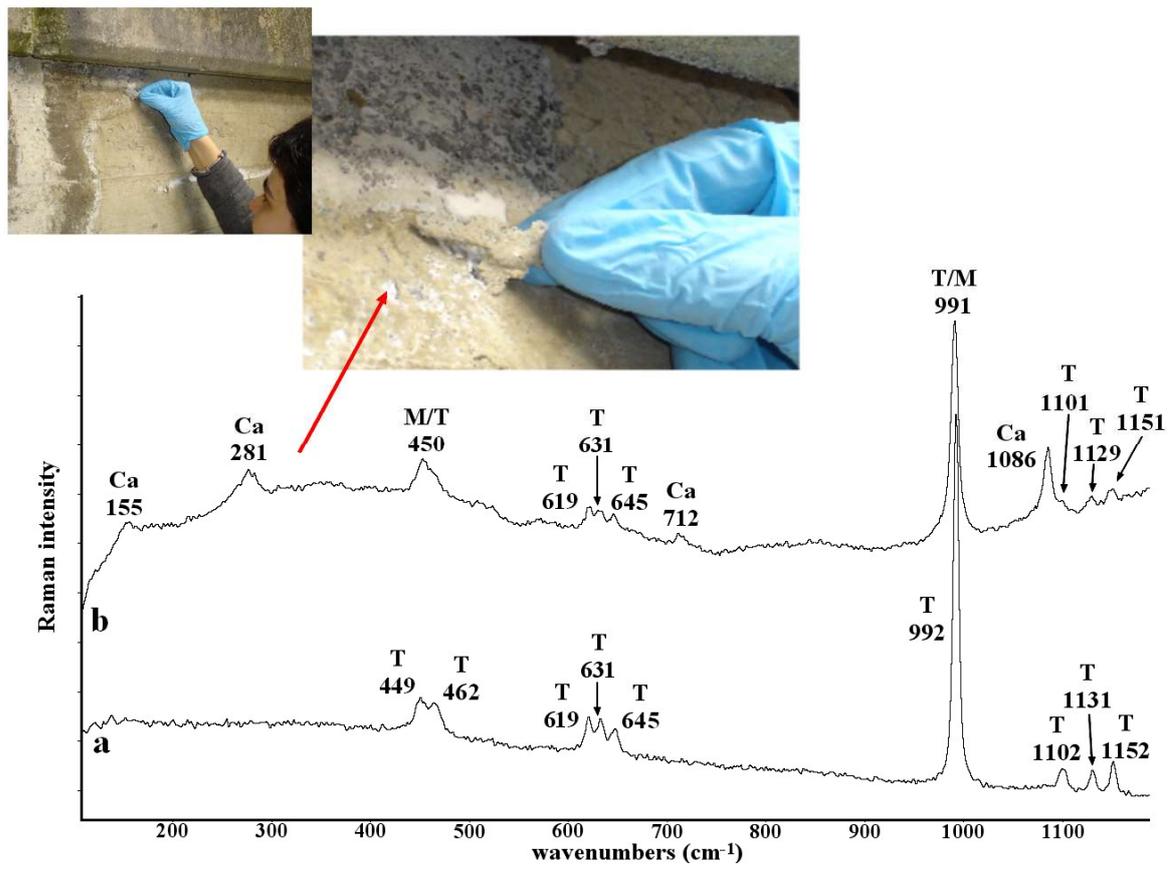


Figura 5.18: medidas Raman de las eflorescencias de un mortero de Leioa; el espectro a muestra calcita (Ca), thenardita (T) y mirabilita (M) y el espectro b muestra thenardita (T).

Además, en el espectro b) se pueden ver de nuevo, los picos a 155, 281, 712 y 1086 cm^{-1} de la calcita y los picos a 450, 619, 631, 645, 991, 1101, 1129 y 1152 cm^{-1} de la fase cristalina intermedia entre la mirabilita y la thenardita. Por lo tanto, se puede decir que la aparición de los sulfatos de sodio está relacionada con los entornos de la grava (zona granulada donde el árido queda al descubierto, detalle de la figura 5.19) cuando ésta presenta cationes de Na^+ poco estables y reactivos [25].

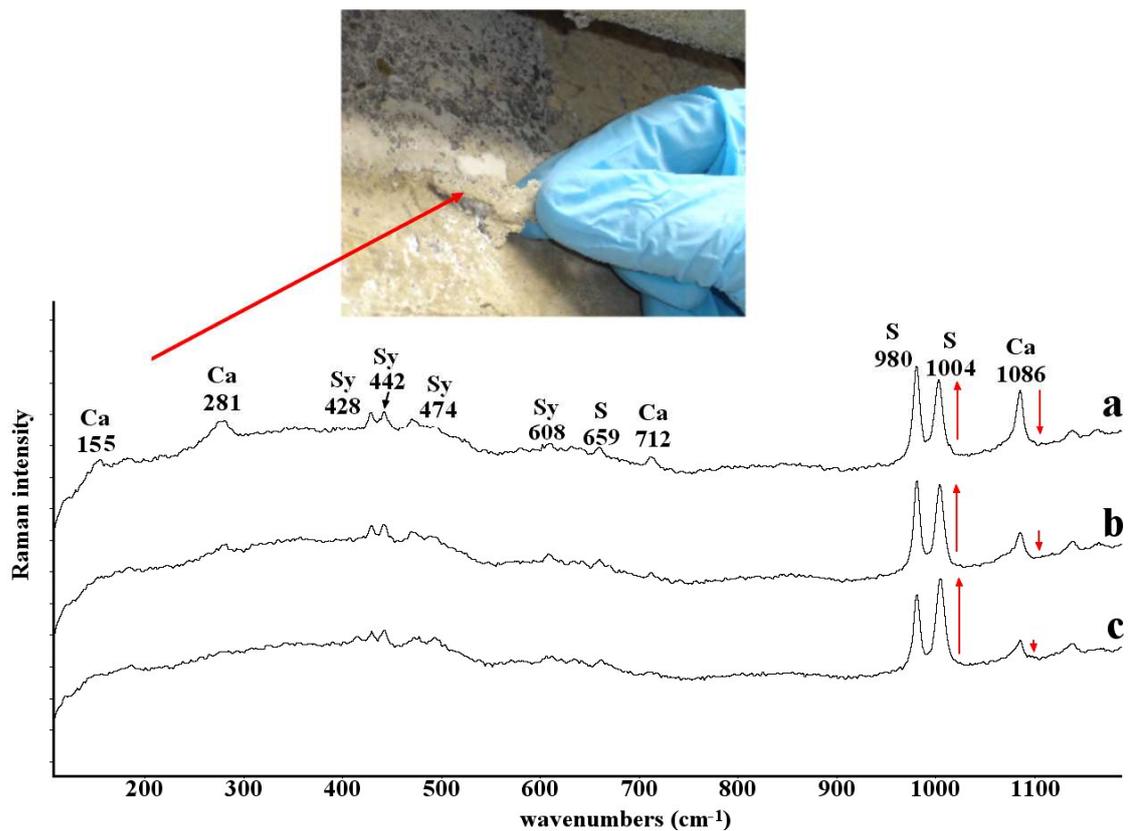


Figura 5.19: medidas Raman del mortero desprendido a causa de las eflorescencias; los tres espectros muestran calcita (Ca) y singenita (S) pero cabe destacar la diferencia de intensidad relativa en el pico a 981 cm^{-1} de la singenita y del pico a 1086 cm^{-1} de la calcita.

La Figura 5.19 muestra en cambio las señales recogidas sobre la parte interior del mortero desprendido (ver detalles en la foto adjunta a los espectros) y muestra las señales a $155, 281, 712$ y 1086 cm^{-1} de la calcita y $429, 442, 470, 610, 660, 981$ y 1003 cm^{-1} de la singenita en los tres espectros que se muestran. En la misma figura se aprecia la intensidad relativa del pico a 1004 cm^{-1} de la singenita aumenta cuando disminuye la intensidad relativa del pico a 1086 cm^{-1} de la calcita. Este nuevo hallazgo demostraría que los cationes de Ca^{2+} que se necesitan para formar singenita pueden proceder de la calcita generada durante la carbonatación del hormigón.

Además, teniendo en cuenta toda la información Raman que aportan las medidas presentes en la Figura 5.19 se puede decir que los morteros analizados aportan

cationes Ca^{2+} provenientes de la calcita y que, en presencia también de los cationes K^+ aportados por la arena de estos morteros, puede precipitar la disolución sólida singenita con diferentes relaciones de concentración entre dichos cationes.

5.3. Ladrillos

Atmósfera tipo T4: Donostia

Los ladrillos de la escuela de Magisterio de Donostia, no presentaban aparentes alteraciones visuales, salvo algunas microáreas de color blanco, ni desprendimientos de material. Para proceder a su muestreo, hubo que actuar con martillo y cincel, debido a la dureza del material, tal y como se muestra en la Figura 5.20.

Esta misma figura también muestra las medidas Raman tomadas sobre las muestras de ladrillo de la escuela de Magisterio de Donostia. En el espectro a) se observan los compuestos originales feldespatos de potasio con picos a 282, 473 y 511 cm^{-1} ; amazonita (KAlSi_3O_8) y cuarzo (463 cm^{-1}). Como compuesto de deterioro hallamos singenita, identificado por sus bandas a 980 y 1004 cm^{-1} . En el espectro b) se aprecian las señales de la singenita (980 y 1004 cm^{-1}) junto con anatasa (143 cm^{-1}) y cuarzo (463 cm^{-1})

En estas muestras de ladrillo, la singenita se presentaba en menores concentraciones, ya que las señales Raman obtenidas eran de notable menor intensidad que en otros emplazamientos y tipo de muestras pétreas analizadas en esta Tesis. Considerando la singenita como un compuesto de deterioro, se puede decir que los análisis Raman están de acuerdo con el estado de conservación observado en el momento de muestreo. Por lo tanto, los ladrillos de Donostia estaban deteriorados en menor medida.

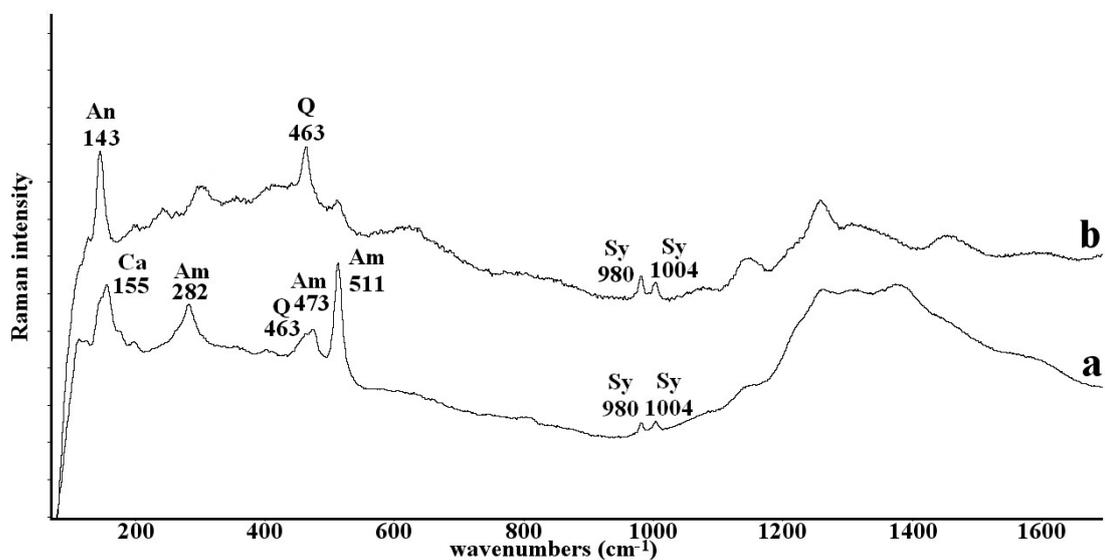


Figura 5.20: espectros Raman tomados sobre ladrillo de la escuela de Magisterio de Donosti, donde se aprecia la presencia de los compuestos originales anatasa (An), cuarzo (Q) y amazonita (Am), y el compuesto de deterioro singenita (Sy).

Atmósfera Tipo T7: Leioa

En los ladrillos de Leioa se pueden diferenciar, gracias a las medidas Raman, dos tipos de eflorescencias. Dichas eflorescencias no podían diferenciarse a simple vista ya que presentaban el mismo aspecto cristalino y color blanco. La figura 5.21 recoge las medidas Raman de la primera eflorescencia (eflorescencia 1) donde se ve que está

compuesta mayoritariamente por singenita ($K_2Ca(SO_4)_2 \cdot H_2O$, 428, 442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139, 1163 cm^{-1}) y por el sulfato doble de sodio y potasio aftitalita (K_3NaSO_4 , 452, 620, 628, 640, 992, 1084, 1113, 1204 cm^{-1}) en menor medida, ya que éste último sulfato aparece con menor frecuencia en los espectros Raman. Cabe mencionar la gran pureza en la que se encuentran estos sulfatos, puesto que se ha conseguido capturar un espectro de singenita prácticamente pura (espectro a de la figura 5.19). Aunque la aftitalita aparece siempre simultáneamente con la singenita, se observan todas sus bandas características.

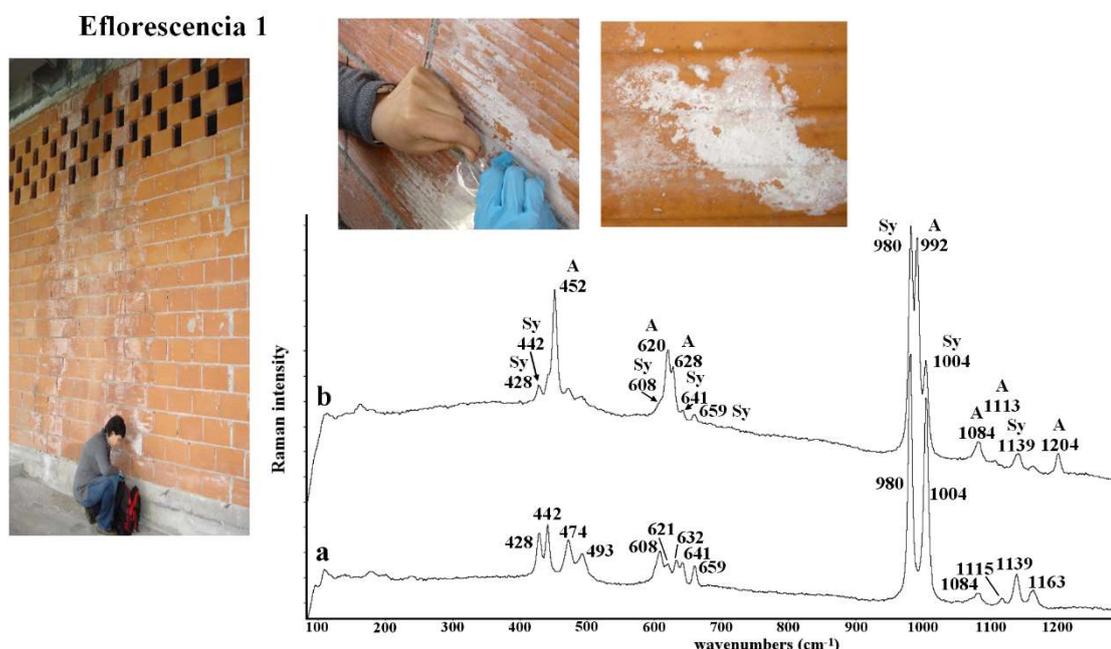


Figura 5.21: espectros Raman obtenidos en el primer tipo de eflorescencia (1) tomada sobre ladrillo de Leioa, en la cual aparece singenita (Sy) con todas sus señales Raman características en el espectro a y singenita y aftitalita (A) simultáneamente en el espectro b.

Comparando estos resultados con los obtenidos en las medidas *in situ* descritas en el capítulo anterior, cabe destacar la ausencia en estos del yeso, el cual sí que aparecía en las medidas de campo. Puede ser que el yeso se haya transformado en parte en anhidrita soluble (compuesto también encontrado solamente en las medidas de campo)

incrementando así los poros del ladrillo en iones Ca^{2+} y SO_4^{2-} . Si en estos mismos poros ha habido cationes K^+ disueltos de la matriz del ladrillo (disolución de la amazonita original), ha precipitado la singenita.

De todas maneras, para precipitar simultáneamente la singenita y la aftitalita, tal y como ocurre en los ladrillos de Leioa, y siendo los dos sulfatos de potasio, se necesita una gran cantidad de iones K^+ en el poro, que no sólo pueden proceder de la disolución de la amazonita original.

Eflorescencia 2

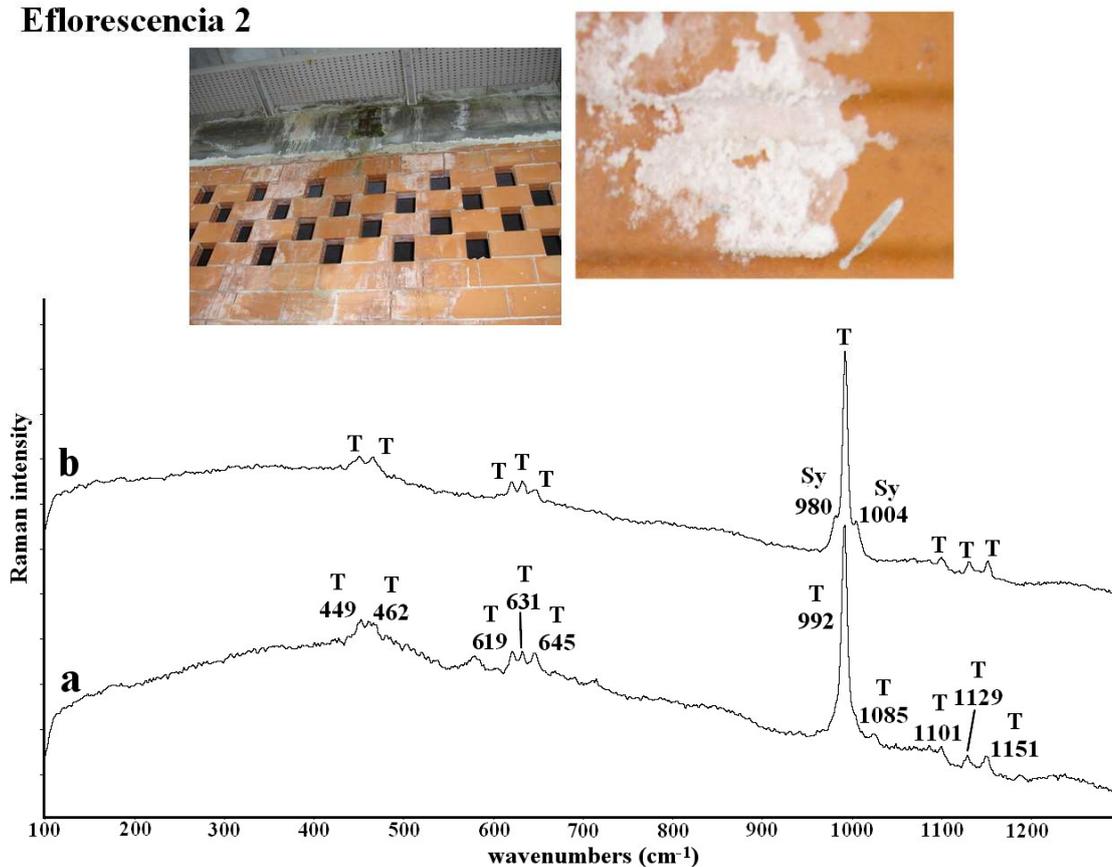


Figura 5.22: espectros Raman obtenidos en el segundo tipo de eflorescencia (2) tomada sobre ladrillo de Leioa, en la cual aparece thenardita (T) en el espectro a) y thenardita con singenita (Sy) en el espectro b).

La Figura 5.22 muestra además, las señales Raman obtenidas en el segundo tipo de eflorescencia (eflorescencia 2) en la cual se aprecian en el espectro a) las señales a

452, 464, 621, 632, 648, 992, 1098, 1130 y 1151 cm^{-1} de la thenardita. Se trata de todas las señales características de la thenardita lo que describe, de nuevo, la gran pureza en la cual se encuentra también este sulfato. En el espectro b) se observan las señales de la thenardita junto con las señales más intensas de la singenita a 980 y 1004 cm^{-1} .

Para que se dé la precipitación del sulfato de sodio thenardita, los poros del ladrillo tienen que estar también saturados en cationes Na^+ , los cuales no provienen del ladrillo. Por lo tanto, y viendo el chorretón que desciende de la pared de ladrillo, se ha estimado que los cationes Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y los aniones de SO_4^{2-} necesarios para precipitar los sulfatos encontrados pueden proceder de la lixiviación de los compuestos de hormigón presentes en las estructuras superiores de la pared (ver fotografías de la pared en Fig. 5.21 y Fig. 5.22).

5.4. Materiales de construcción colonizados

Atmósfera tipo T3: Forua

Hormigón y/o mortero colonizado se encontró mayoritariamente en Forua, ya que la estructura muestreada se encontraba totalmente a la intemperie, en una zona con alta vegetación, azotada constantemente por las inclemencias meteorológicas. Por lo tanto, ha sido el emplazamiento más propenso a ser colonizado, en este caso por musgos y verdín. Cabe destacar que los musgos y el verdín encontrados en Forua se presentaban con un color mayormente negro, aunque también tuviesen zonas de color verde propias del musgo, lo que hacía indicar que no se encontraban vivos en su mayoría.

La Figura 5.23 muestra una fotografía de este color negro de la colonización en un mortero y resume además los espectros Raman más importantes tomados sobre él.

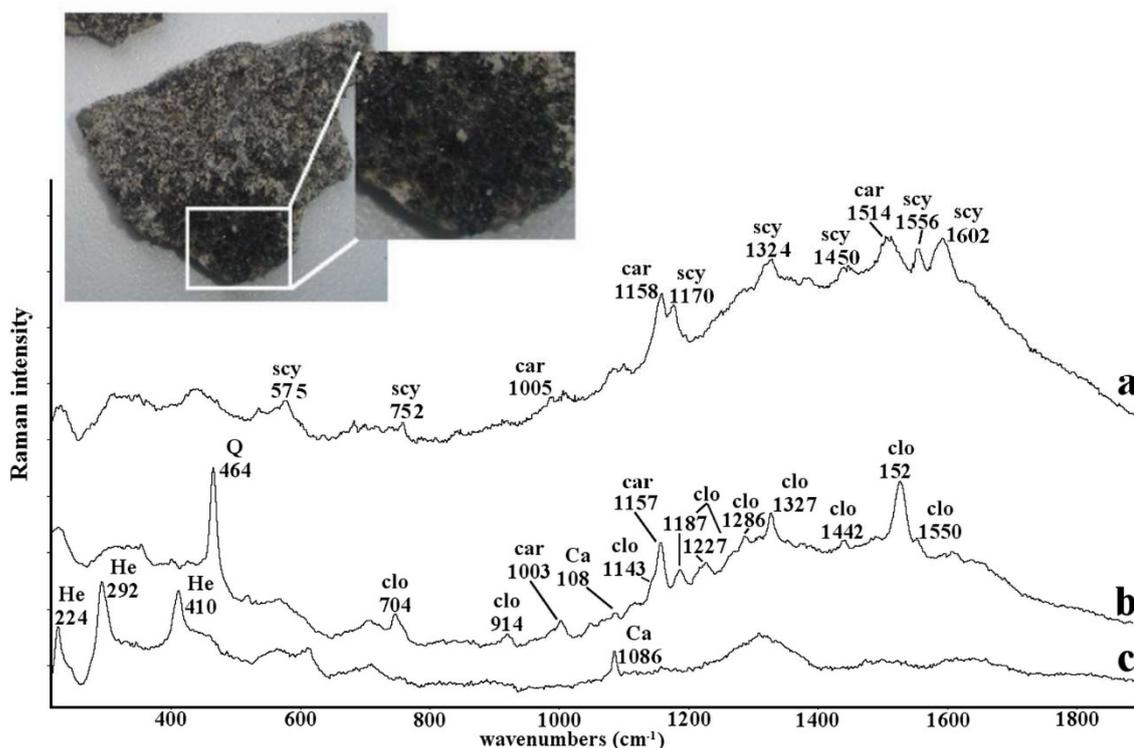


Figura 5.23: detalle fotográfico y señales Raman más significativas de una colonización tipo musgo procedente de Forua donde se aprecian las señales de la escitonemina (scy), clorofila (clo), carotenoides (car), hematita (He) y calcita (Ca).

En el espectro a) de dicha figura se ven las señales a 578, 758, 1177, 1329, 1444, 1556 y 1592 cm^{-1} de la escitonemina y las señales a 1005, 1158 y 1514 cm^{-1} de un carotenoides. En el espectro b) en cambio se observan las señales a 464 cm^{-1} del cuarzo, las señales a 704-746, 914, 1143, 1187, 1227, 1286, 1327, 1442 y 1550 cm^{-1} de la clorofila, la señal a 1085 cm^{-1} de la calcita y las señales a 1003, 1157 y 1527 cm^{-1} de otro carotenoides. Finalmente, en el espectro c se han recogido las señales a 224, 292 y 410 cm^{-1} de la hematita y la señal a 1085 cm^{-1} de la calcita. También se detectó con señales Raman a 244, 298 y 392 cm^{-1} la goetita y con las bandas anchas a 1318 y 1607 cm^{-1} el carbón, espectros que no se han incluido en dicha figura por no tratarse de compuestos relacionados con el biodeterioro.

Atmósfera Tipo T8: Getxo

En el cementerio de Getxo se encontró un mortero de menos de 20 años colonizado por un pequeño líquen verde. Fue considerada una muestra muy importante ya que es el único mortero colonizado por un líquen que se ha encontrado en todos los emplazamientos, por lo que es el único mortero con líquen analizado en esta Tesis. Los detalles microscópicos de este líquen y las medidas Raman más representativas de él se muestran en la figura 5.24.

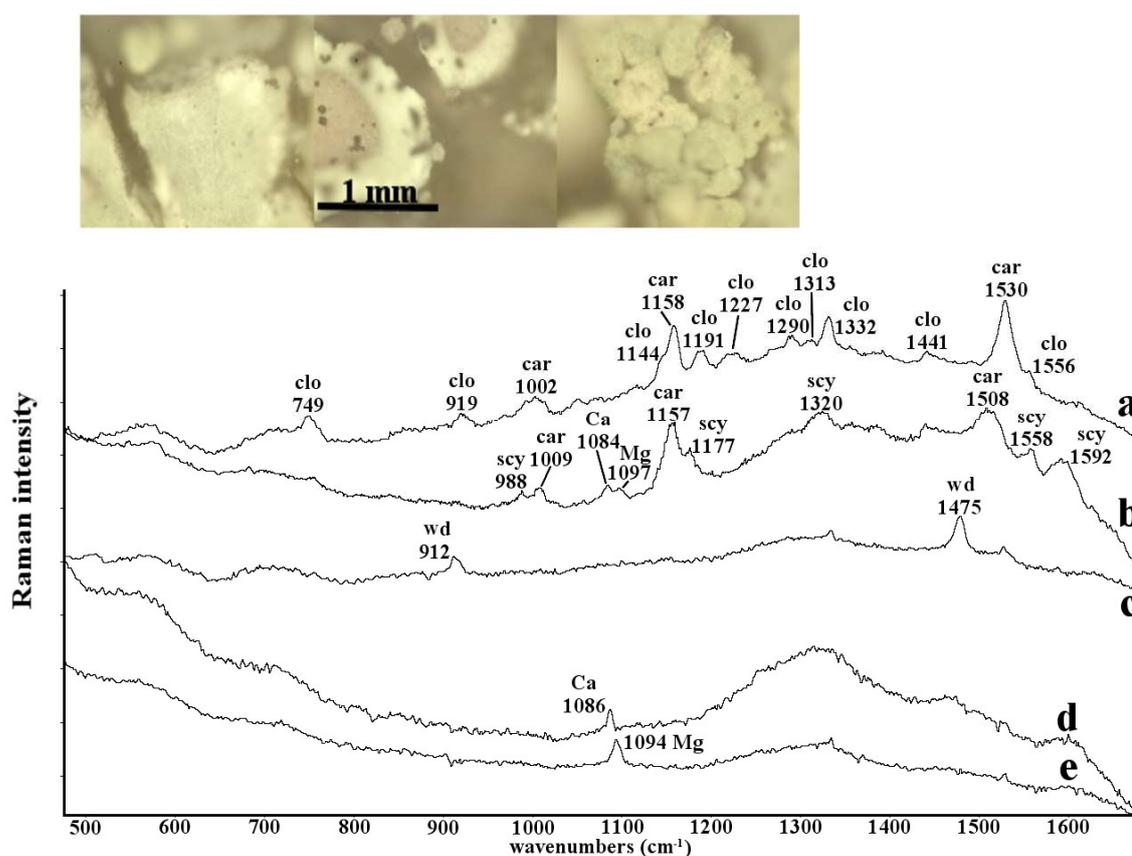


Figura 5.24: detalle microscópico y medidas Raman obtenidas en un pequeño líquen verde incrustado sobre mortero en el cementerio de Getxo. Se aprecian señales de la clorofila (clo), carotenoides (car), escitonemina (scy), weddellita (wd), calcita (Ca) y magnesita (Mg).

En el espectro a de la figura 5.24 se obtienen las señales a 749, 919, 1144, 1191, 1227, 1290, 1313, 1332, 1441 y 1556 cm⁻¹ correspondientes a la clorofila junto con las

señales a 1002, 1158, y 1530 cm^{-1} de un pigmento carotenoide. En el espectro b en cambio de obtienen las señales a 988, 1177, 1320, 1558 y 1592 cm^{-1} atribuibles al pigmento fotoprotector escitonemina. También aparecen las señales principales a 1084 cm^{-1} de la calcita y a 1097 cm^{-1} de la magnesita y las bandas a 1009, 1157 y 1508 cm^{-1} de otro carotenoide. Esta última banda destaca por su gran anchura coincidiendo con la posición Raman entre 1500-1550 cm^{-1} , la cual se utiliza para caracterizar cada tipo de carotenoide. Esta anchura de banda podría ser característica de la presencia conjunta de varios tipos de carotenoides en el punto de medida. En el espectro c) aparecen las señales a 912 y 1479 cm^{-1} del oxalato de calcio dihidratado (weddellita), mineral típico y sintetizado por los líquenes cuando el ácido oxálico excretado por su metabolismo reacciona con el calcio presente en el material pétreo que coloniza. En el espectro d aparece una pequeña señal a 1087 cm^{-1} correspondiente a la calcita del sustrato y en el espectro e aparece la señal a 1094 cm^{-1} perteneciente a la magnesita (MgCO_3), cuya presencia se explica en el siguiente capítulo.

5.5. Discusión de los resultados y conclusiones

La Tabla 5.1 muestra un resumen de todos los compuestos, tanto originales como de deterioro, encontrados en materiales de construcción (hormigón armado, mortero y ladrillo).

El hecho de encontrar calcita incrustada y/o en forma de costra y eflorescencia en las armaduras de acero de Donosti y Leioa, indica que se ha roto la protección alcalina de las mismas y que el frente de carbonatación ha alcanzado el acero descendiendo el pH en las áreas circundantes. El descenso de pH favorece la formación de productos de deterioro de este acero como son los diversos óxidos e oxohidróxidos de hierro. Estos compuestos ocupan más espacio que el acero original y provocan fracturas y desprendimientos del hormigón por su aumento de volumen.

El hallazgo de yeso, yeso hemihidrato y anhidrita soluble entorno a los aceros demuestra que estos sulfatos están jugando un papel destacado en todos los mecanismos de deterioro involucrados. Un hormigón armado estable que está en equilibrio no debe presentar compuestos sulfatados entorno a los aceros ya que estos también descienden el pH del hormigón y provocan la rotura de la pasividad de las armaduras.

Y es que la presencia de calcita y de sulfatos no se reduce solamente al entorno de los aceros, sino que están presentes en todas y cada una de las muestras pertenecientes a Donostia y Leioa. La anhidrita soluble presente en todos los casos con el yeso indica que, ayudada por la gran humedad en la que se encontraban las muestras, los sulfatos circulaban libremente por los poros del hormigón. Así, puede precipitar thenardita [22, 26], cuando el agua cargada en sulfatos encuentra en sus cercanías una zona de grava rica en cationes Na^+ poco estables y reactivos en disolución, y una vez se evapora el agua del espacio de poro. La reacción 1 describe este proceso donde los iones disueltos, en contacto con el carbonato/bicarbonato del agua, precipitan calcita (la calcita es más insoluble que el yeso, basanita, anhidrita y thenardita).



Esta thenardita, cuando se encuentra con otro ciclo o momento de humedad, da lugar a la precipitación de mirabilita, ya que ésta última no es más que la versión diez veces hidratada de la primera. Sin embargo, provoca una vez más un gran aumento de volumen que genera presión en el espacio de poros y por último fisuras y pérdidas de material.

Tabla 5.1: Resumen de las señales Raman detectadas en los análisis de laboratorio de los diversos materiales. Se incluye también el tipo de atmósfera de cada emplazamiento. *Compuestos también detectados en las medidas *in situ*; **Compuestos detectados sólo en las medidas *in situ*.

	SEÑALES RAMAN DETECTADAS (cm ⁻¹)				
	HORMIGÓN ARMADO		MORTEROS	LADRILLOS	SUSTRATOS COLONIZADOS
LOCALIZACIÓN	ACERO	CEMENTO/ÁRIDO			
FORUA ATMÓSFERA T3	Ca, CaCO ₃ : 281, 712, 1086 Go, α-FeO(OH): 244, 299, 385 L, γ-FeO(OH): 214-250-379-528-650	Ca (de carbonatación): 281, 1086 Ca (original del árido): 155, 281, 712, 1086	Ca: 155, 281, 712, 1086 Ar (original , arena de playa): 705, 1085 Va, CaCO ₃ (original , arena de playa): 149, 201, 275, 707, 712, 1086 Q, SiO ₂ : 262, 354, 398, 463		He (original de la arena: 224, 292, 410 Ca (original de la arena: 1085 Q (original de la arena): 464 car: 1005, 1158, 1514-1527 clo: 745, 914, 1143, 1219, 1286, 1327, 1440, 1550, 1603 scy: 575, 752, 1177, 1329, 1450, 1556, 1592
DONOSTIA ATMÓSFERA T4	L*: 214, 250,379, 528, 650 Go*: 299, 385 He, Fe ₂ O ₃ : 225, 290, 412 Ca: 155, 281, 712, 1086 AS, CaSO ₄ : 422, 491, 630, 673, 1025 GH, CaSO ₄ : 1015 Gy, CaSO ₄ .2H ₂ O: 1008	Ar, CaCO ₃ (original , arena de playa): 155, 206, 705, 1085 Ca: 155, 281, 712, 1086	Ca*, CaCO ₃ : 155, 281, 712, 1086 cm ⁻¹ Si, silicatos** (original de la arena): 1287 cm ⁻¹ An original, 143 Q, original: 463 Gy, CaSO ₄ .2H ₂ O: 414, 493, 615, 669, 1008, 1135 Sy, K ₂ Ca(SO ₄) ₂ .H ₂ O: 428,442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139, 1163 Thau, 660, 990 y 1073	Q: 463 An: 143 Am, KAlSi ₃ O ₈ : 282, 473, 511 Sy: 980, 1004	

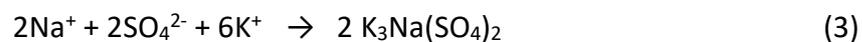
Continuación de la Tabla 5.1: Resumen de las señales Raman detectadas en los análisis de laboratorio de los diversos materiales. Se incluye también el tipo de atmósfera de cada emplazamiento. *Compuestos también detectados en las medidas *in situ*; **Compuestos detectados sólo en las medidas *in situ*.

LOCALIZACIÓN	SEÑALES RAMAN DETECTADAS (cm ⁻¹)				
	HORMIGÓN ARMADO		MORTEROS	LADRILLOS	SUSTRATOS COLONIZADOS
	ACERO	CEMENTO/ÁRIDO			
LEIOA ATMÓSFERA T7	He: 225, 290, 412 Ca: 155, 281, 712, 1086 Gy: 1008 GH: 1015 AS: 1025 Anh, CaSO ₄ : 1011	Ca*: 155, 281, 712, 1086 M**, Na ₂ SO ₄ ·10H ₂ O: 450, 620, 989, 1111 T*, Na ₂ SO ₄ : 449, 462, 619, 631, 645, 992, 1085, 1101, 1129, 1151 Ak, K ₂ SO ₄ : 457, 622, 985, 1094, 1108, 1146 N*, KNO ₃ : 125, 715, 1049, 1342, 1358 A*, K ₃ Na(SO ₄): 452, 620, 628, 992, 1083, 1203	Ca: 155, 281, 712 y 1086 cm ⁻¹ Carbón**, C: 1300 y 1600 cm ⁻¹ Gy**: 489 y 1008 AS**, CaSO ₄ : 1025 M*: 450, 989 T*: 619, 631, 645, 992, 1101, 1129, 1151 Sy: 428, 442, 474, 608, 659, 980 y 1004	Gy**: 414, 493, 618, 669, 1008 y 1135 cm ⁻¹ Sy*: 428, 442, 474, 493, 608, 621, 632, 641, 659, 980, 1004, 1084, 1115, 1139, 1163 A*: 452, 620, 628, 640, 992, 1084, 1113, 1204 cm ⁻¹ N**: 1050 cm ⁻¹ T: 449, 462, 619, 631, 645, 992, 1085, 1101, 1129, 1101	
GETXO ATMÓSFERA T8					car: 1002, 1158, 1508-1530 clo: 745, 914, 1144, 1187, 1219, 1285, 1313, 1441, 1556 scy: 988, 1177, 1332, 1558, 1592

Cuando se disuelve la anhidrita soluble en zonas de pasta de cemento, las cuales llevan arena en su composición y aportan cationes K⁺ al poro, puede precipitar el sulfato de potasio, arcanita, siguiendo la reacción 2 [12].

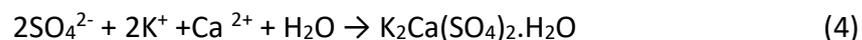


En cambio, cuando se satura el poro con iones sulfato y cationes sodio y potasio puede crearse la aftitalita según la reacción 3 [22, 25, 26].

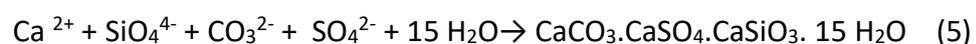


Tal y como se puede apreciar en la reacción 3 se necesita más cantidad de cationes de potasio para precipitar la aftitalita. El potasio necesario puede proceder de la hidrólisis de los compuestos silicatos o de la composición de materia orgánica (zonas ajardinadas).

Los cationes de calcio libres procedentes de las reacciones 1 y 2 mantienen el poro saturado en estos cationes. Cuando en esta zona del poro se satura también en cationes de potasio y sulfatos libres puede precipitar la singenita. La singenita se forma por disolución sólida cuando a la red cristalina de sulfatos se le van añadiendo tanto cationes de calcio como de potasio en diferentes proporciones, tal y como se ha descrito en los resultados de este capítulo. La reacción 4 describe este proceso.



Si los iones carbonato se encuentran presentes junto con iones sulfato pueden interaccionar con el gel de silicato cálcico hidratado (C-S-H) provocando una pérdida importante de la cohesión interna, fisuración y rotura de los hormigones. Este efecto es debido a la formación de taumasita a través de la reacción 5 [28].



La taumasita es una sal compleja que provoca una gran destrucción en morteros y hormigones [23-26]. El gran número de sulfatos de diferentes tipos encontrados demuestra que estos edificios han sufrido un grave ataque por SO_x , que han generado un gran número de productos de deterioro y que se ha alterado gravemente la composición inicial de los materiales de construcción.

Dado que su formación se debe a procesos de disolución, y que las sales formadas son solubles, este proceso conlleva una pérdida neta de masa del material de construcción, que en cierto modo puede afectar a la integridad de los distintos elementos constructivos, e incluso al edificio, cuando se trata de un elemento estructural.

En el emplazamiento de Forua, en cambio, no se aprecia una afección por sulfatos al hormigón, pero queda clara la presencia de humedad en los aceros que ha dado lugar a la aparición de los óxidos e oxohidróxidos de hierro y manganeso. Dado que la estructura de hormigón se encontraba a la intemperie, es muy importante destacar los compuestos encontrados en torno a las colonizaciones de musgos y verdín que presentaban las muestras analizadas. Es muy relevante haber encontrado en estas muestras compuestos no sólo inorgánicos relacionados con los sustratos pétreos, sino también compuestos orgánicos relacionados con el biodeterioro, como son la clorofila, los carotenoides y la escitonemina.

Por otra parte, se ha observado que los carotenoides identificados en Forua y Getxo, parecen ser diferentes, ya que la banda a 1500 cm^{-1} característica de ellos se encuentra ligeramente desplazada hacia longitudes de onda más altas en el caso de Forua. Puede ser que las características del desplazamiento influyan en la síntesis de un carotenoide distinto debido al nivel de estrés ambiental que sufren estos organismos vivos. También parece ser muy relevante el hecho de haber encontrado calcita y magnesita en torno a la colonización del cementerio de Getxo. Estos hallazgos van a ser estudiados a fondo en los siguientes capítulos de esta Tesis Doctoral.

5.6. Bibliografía

- [1] Vagn C. Johansen, Waldemar A. Klemm, Peter C. Taylor, "Why chemistry matters in concrete", *Concrete International*, 24 (2002) 3-6.
- [2] F. P. Glasser, J. Marchand y E. Samson, "Durability of concrete- degradation phenomena involving detrimental chemical reactions", *Cement and Concrete Research*, 38 (2008) 226-246.
- [3] "Guide to durable concrete", reported by ACI Comité 201, American Concrete Institute, USA, 2002.
- [4] Skibsted, C.Hall, "Characterization of cement minerals, cements and their reaction products at the atomic and nano scale", *Cement and Concrete Research*, 38 (2008) 205-225.
- [5] S.S.Potgieter-Vermaak, J.H.Potgieter, R.Van Grieten, "The application of Raman spectrometry to investigate and characterize cement, Part I: A review", *Cement and Concrete Research*, 36 (2005) 656-662.
- [6] A. Neville, "The confused world of sulfate attack on concrete", *Cement and Concrete Research* 34 (2004) 1275-1296.
- [7] T.D.Marcotte, C.M.Hanson, "Corrosion products that form on steel within cement paste", *Materials and Structures*, 40 (2007) 325-340.
- [8] I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo, L. Bartolomé, N. Etxebarria, M. A. Olazabal, J. M. Madariaga, "An integrated analytical approach to diagnose the conservation state of building materials of a palace house in the metropolitan Bilbao (Basque Country, North of Spain)", *Analytica Chimica Acta*, 584 (2007) 350-359.
- [9] M. Maguregui., A. Sarmiento, I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo., K Castro., N Etxebarria., G. Arana, J.M. Madariaga, "Analytical diagnosis methodology to evaluate nitrate impact on historical building materials (stones, mortars and bricks)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 (2007) 1361-1370.

- [10] M. Pérez-Alonso, K. Castro, I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo, M. A. Olazabal, J. M. Madariaga, "Analysis of bulk and inorganic degradation products of stones, mortars and wall paintings by portable Raman microprobe spectroscopy", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379 (2004) 42-50.
- [11] N. Prieto-Taboada, M. Maguregui, I. Martinez-Arkarazo, M. Olazabal, G. Arana, J.M. Madariaga, "Spectroscopic evaluation of the environmental impact on black crusted modern mortars in urban-industrial áreas, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399 (2011) 2949-2959.
- [12] N. Prieto-Taboada 1, S. Fdez-Ortiz de Vallejuelo, M. Veneranda, I. Marcaida, H. Morillas, M. Maguregui, K. Castro, E. De Caroli, M. Osanna, J. M. Madariaga, "Study of the soluble salts formation in a recently restored house of Pompeii by in-situ Raman spectroscopy", *Scientific reports*, 8 (2018) 1613.
- [13] H.G.M. Edwards, E. M. Newton, D. D. Wynn-Williams, R.I.Lewis-Smith, "Non-destructive analysis of pigments and other organic compounds in lichens using Fourier-transform Raman spectroscopy. A study of Antarctic epilithic lichens", *Spectrochimica Acta Part A*, 59 (2003) 2301-2309.
- [14] Mark R.D. Seaward, "Lichens, agents of monumental destruction", *Microbiology today*, 30 (2003) 110-112.
- [15] J.De Gelder, K. De Gussem, P. Vandenabeele, L. Moens, "Reference database of Raman Spectra of biological molecules", *Journal of Raman Spectroscopy*, 38, (2007) 1133-1147.
- [16] H.G.M.Edwards, "Probing history with Raman spectroscopy", *The Analyst*, 129 (2004) 870-879.
- [17] R.T. Downs. "The RRUFF project: an integrated study of the chemistry, crystallography, Raman and infrared spectroscopy of minerals". Program and Abstracts of the 19th General Meeting of the International Mineralogical Association in Kobe, Japan. O03-13, 2006.

- [18] M. Hanesch, "Raman spectroscopy of iron oxides and (oxy)hydroxides at low laser power and posible applications in environmental magnetic studies", *Geophysical Journal International*, 177 (2009) 941-948.
- [19] K. Castro, M. Pérez-Alonso, M.D. Rodríguez-Laso, L.Á. Fernández, J.M. Madariaga, "On-line FT-Raman and dispersive Raman spectra database of artists' materials (e-VISART database)", *Anal. Bioanal. Chem.* 382 (2005) 248-258.
- [20] N. Prieto-Taboada, A. Larrañaga, O. Gómez-Laserna, I. Martínez-Arkarazo, M.A. Olazabal, J.M. Madariaga, "The relevance of the combination of XRD and Raman spectroscopy for the characterization of the CaSO₄-H₂O system compounds", *Microchemical Journal*, 122 (2015) 102-109.
- [21] I. Martínez-Arkarazo, D. C. Smith, O. Zuloaga, M. A. Olazabal, J. M. Madariaga, "Evaluation of three different mobile Raman microscopes employed to study deteriorated civil building stones", *Journal of Raman Spectroscopy*, 39 (2008) 1018-1029.
- [22] N. Prieto-Taboada, S. Fdez Ortiz de Vallejuelo, M. Veneranda, E. Lama, K. Castro, G. Arana, A. Larrañaga, J. M. Madariaga, "The Raman spectra of the Na₂SO₄-K₂SO₄ system: Applicability to soluble salts studies in built heritage", *Journal of Raman Spectroscopy*, 50 (2019) 175-183.
- [23] A. Arnold y K. Zehnder, "Salt weathering on monuments" presentado en "Symposium on the Conservation of Monuments in the Mediterranean" Bari, Italy, 1989.
- [24] S Martínez-Ramírez, M.T. Blanco-Varela, "Ataque por sulfatos con formación de taumasita en sistemas cementantes: efecto del catión" Instituto de Ciencias de la Construcción Eduardo Torroja, (CSIC).
- [25] J. Marchand, Ivan Odler, Jan P. Skalny, "Sulphate attack on concrete", Taylor & Francis Group, Spon Press, London, New York, 2003.
- [26] H. Brocken, T.G. Nijland, "White efflorescence on brick masonry and concrete masonry blocks, with special emphasis on sulfate efflorescence on concrete blocks", *Construction and Building Materials*, 18 (2004) 315-323.

[27] K.N. Jallad, M. Santhanam, M.D. Cohen, D. Ben-Amotz, "Chemical mapping of thaumasite formed in sulfate-attacked cement mortar using near-infrared Raman imaging microscopy", *Cement and Concrete Research*, 31 (2001) 953-958.

[28] M.T Blanco-Varela, F. Puertas, "Deterioro del hormigón por ataque de sulfatos. Procesos químicos implicados y recomendaciones", *Revista FICEM* (2015) 112-118.

CAPÍTULO 6

La interfaz líquen-sustrato en líquenes saxícolas de diferentes ambientes: evidencias de biomineralización

Los líquenes saxícolas tienen la capacidad de colonizar diferentes tipos de rocas naturales y/o artificiales que se usan para la construcción, tales como rocas calizas, areniscas, mármoles, morteros y cementos, siendo los materiales carbonatados más susceptibles a dichas colonizaciones [1]. El mecanismo utilizado por los líquenes para

engancharse a los sustratos pétreos está compuesto por largas estructuras filamentosas llamadas hifas que penetran entre los poros de las rocas y permiten la enorme adherencia de estos organismos vivos. Pero la gran penetración de las hifas trae como consecuencia numerosos daños, tanto físicos y químicos como mecánicos y su alcance dependerá de la dureza de la roca y del tamaño de poro. De hecho, estas estructuras tan expansivas afectan considerablemente a la destrucción biofísica de las mismas la cual se transforma en una destrucción bioquímica ya que se desencadenan diferentes reacciones químicas que producen fisuras y pérdidas de material. Los líquenes saxícolas se clasifican dependiendo de la manera que tienen de crecer. Así, hay especies foliáceas, fruticulosas y crustáceas [2,3].

El deterioro bioquímico ocurre también por la excreción por parte del liquen de nuevos compuestos llamados ácidos de los líquenes o metabolitos secundarios de los líquenes. Dentro de este grupo de compuestos, el más estudiado es el ácido oxálico sintetizado por la parte litobionte del liquen. Cuando este ácido es sintetizado en sustratos que contienen gran cantidad de calcio, se forman las especies sólidas de oxalatos de calcio, tanto en su forma monohidratada whewellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) como en su forma dihidratada weddellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) [4-7]. La producción de weddellita por parte de la colonia de líquenes tiene una función de almacenaje de agua en situaciones o estaciones de sequedad. Por otra parte, la forma monohidratada tiene una solubilidad muy baja y resiste muy bien a condiciones ambientales ácidas, por lo que es considerado como un compuesto protector de los diferentes sustratos [8-13].

Así mismo, en muchos casos los líquenes actúan como protectores de las rocas gracias a su capacidad de resistir a ambientes extremos con grandes concentraciones de gases ácidos atmosféricos que, como hemos mencionado en esta Tesis, cambian las propiedades y características iniciales de dichos materiales formándose nuevos compuestos (muchas veces más solubles) afectando al color, la textura y la resistencia de las superficies expuestas [11]. Estos organismos persisten también en ambientes

secos y con gran afeción de radiación ultravioleta ya que pueden sintetizar pigmentos fotoprotectores como el β -caroteno, la escitonemina y la parietina [14-18].

Considerando que dichos microorganismos pueden vivir en áreas con condiciones extremas de polución y altos niveles de radiación UV, y que pueden hacerlo con bastante éxito gracias a su capacidad de síntesis de nuevos compuestos protectores, están considerados como individuos extremófilos. Dada la naturaleza simbiótica de los líquenes y gracias a su remarcable extremotolerancia, representan un modelo válido para los estudios y experimentos de simulación que están llevando a cabo en el área de la astrobiología [19-21].

Por otro lado, los líquenes viven del agua y el dióxido de carbono que cogen de la atmósfera, por lo que la calidad del aire es un importante factor que afecta a su supervivencia. Debido a esta propiedad son utilizados habitualmente como bioindicadores de la calidad del aire, ya que actúan como filtradores y los contaminantes como metales pesados y material particulado suelen quedar atrapados en su matriz [22].

La espectroscopia Raman es la técnica de análisis idónea para este tipo de muestras, ya que es sensible tanto a moléculas orgánicas como inorgánicas y es útil en la identificación de los compuestos originales, así como los formados a consecuencia de su metabolismo. El tamaño de la muestra no es un problema a la hora de realizar los análisis y estos se llevan a cabo de manera no destructiva [8,17,23]. A su vez se han utilizado también como técnicas de apoyo a la espectroscopia Raman, la microscopia electrónica de barrido con detección de elementos por energía dispersiva de rayos-X (SEM-EDX) y la fluorescencia de rayos-X (XRF).

Los objetivos de este capítulo son, por una parte, analizar y caracterizar las diferentes áreas de líquenes *Lecanora* y *Caloplaca* incrustados tanto en rocas calizas

como en areniscas, carbonatadas y no carbonatadas, pertenecientes a ambientes de distinto grado de contaminación, y por la otra relacionar los compuestos hallados en estas áreas con el tipo de afección ambiental.

6.1. Muestreo y clasificación a partir de los análisis XRD

Para dar respuesta al segundo objetivo de este capítulo, se muestrearon distintas zonas, con diferente nivel de afección atmosférica. La Tabla 6.1 recoge las distintas muestras, tomadas en diferentes localidades cuya clasificación ambiental varía desde T1 (atmósfera no impactada) hasta T8 (atmósfera altamente impactada).

Debido a la alta variabilidad con respecto al origen y composición de las muestras de rocas utilizadas en este estudio, se procedió a la clasificación de las mismas, utilizando la difracción de rayos X (XRD) y la espectroscopia Raman. Mediante estas técnicas se identificaron las fases minerales mayoritarias y minoritarias de cada muestra, las cuales están resumidas en la Tabla 6.1.

En base a las fases minerales presentes en cada muestra se pudo diferenciar entre rocas calizas cuando la fase mineral mayoritaria era la calcita y el cuarzo estaba ausente, rocas areniscas carbonatadas, cuando estaba presente la calcita como fase mineral mayoritaria y rocas areniscas no carbonatadas cuando la calcita estaba ausente y la fase mineral mayoritaria era el cuarzo.

Las muestras de rocas calizas (de GCL2 a GCL5) y de un mármol (GCM) de Getxo, con colonizaciones del líquen del género *Caloplaca*, cuya fase mineral principal era carbonato cálcico fueron seleccionadas para su análisis por fluorescencia de rayos-X (XRF).

Tabla 6.1: caracterización de las calizas y areniscas estudiadas en base al tipo de atmósfera, el tipo de líquen que lo coloniza y el tipo de roca en base a datos XRD y Raman.

Muestra	Localización	Tipo de atmósfera	Liquen	Composición de la roca: minerales mayoritarios(+) y minoritarios (-)	Clasificación de la roca
GCL1	Getxo /G/	T8	Caloplaca /C/	calcita (+) cuarzo (-) filosilicatos(-)	Arenisca carbonatada
GCL2	Getxo /G/	T8	Caloplaca /C/	calcita (+)	Caliza
GCL3	Getxo /G/	T8	Caloplaca /C/	calcita (+)	Caliza
GCL4	Getxo /G/	T8	Caloplaca /C/	calcita (+)	Caliza
GCL5	Getxo /G/	T8	Caloplaca /C/	Caloplaca /C/	Caliza
GLLa	Getxo /G/	T8	Lecanora /L/	calcita (+) dolomita (-)	Caliza
GLLb	Getxo /G/	T8	Lecanora /L/	Calcita (+) Cuarzo (-) filosilicatos (-)	Caliza
GLS	Getxo /G/	T8	Lecanora /L/	cuarzo (+) calcita (-) moscovita (-) caolinita (-)	Arenisca carbonatada
BLS	Biañez/B/	T2	Lecanora /L/	Cuarzo (+) Albita (-) moscovita (-)	Arenisca
ALS	Axpe /A/	T3	Lecanora /L/	cuarzo (+) moscovita (+) albita(+)	Arenisca
PLS	Pirineos /P/	T1	Lecanora/L	cuarzo (+) ortoclasa (+) albita (+) caolinita (-) moscovita (-)	Arenisca

6.2. Análisis multicapa XRF de los líquenes *Caloplaca*

Tal y como se ha descrito en la introducción de esta Tesis los líquenes pueden captar metales de la atmósfera y acumularlos en su talo.

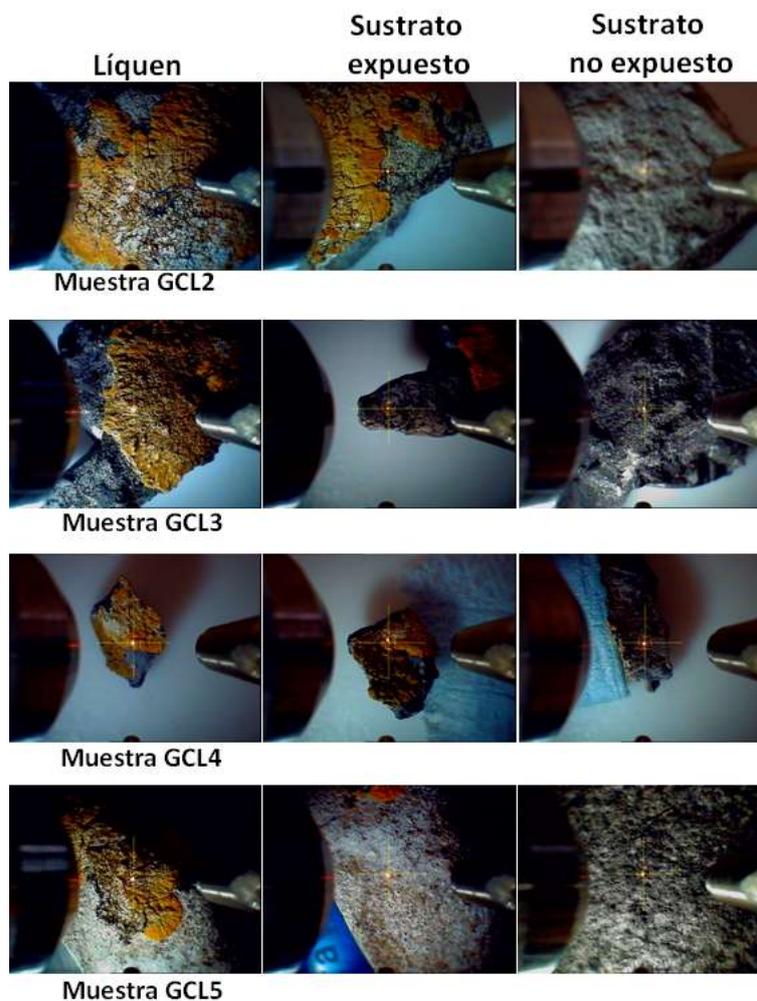


Figura 6.1: imágenes de las zonas de los líquenes *Caloplaca* analizadas por XRF.

Para comprobar este hecho en los líquenes del género *Caloplaca* incrustados en rocas carbonatadas de Getxo se procedió a realizar medidas XRF punto a punto de las superficies de los líquenes, de las partes de la roca expuestas al aire y de las partes de la

roca protegidas de la atmósfera (zonas de rotura de la roca cuando se ha procedido a su muestreo).

La Figura 6.1 ilustra una de las muestras tomadas para este análisis (GCL2) y las zonas dónde se ha procedido a realizar las medidas XRF. En la primera columna aparecen los puntos del talo del liquen analizados; en la segunda columna se muestran las zonas más sucias y ennegrecidas de la roca expuesta a la atmósfera y la tercera columna muestra las zonas de la roca que han estado protegidas. Las medidas puntuales de XRF indican que hay diferencias en el contenido en metales de las tres zonas analizadas. En la superficie del liquen (Figura 6.2) se detectan, debido al poder de penetración del láser, elementos como K, Ca, Ti, Rb y Sr pertenecientes a la base pétrea y elementos como Mn, Fe y Zn que pueden estar ligados al aporte exterior de material particulado atmosférico.

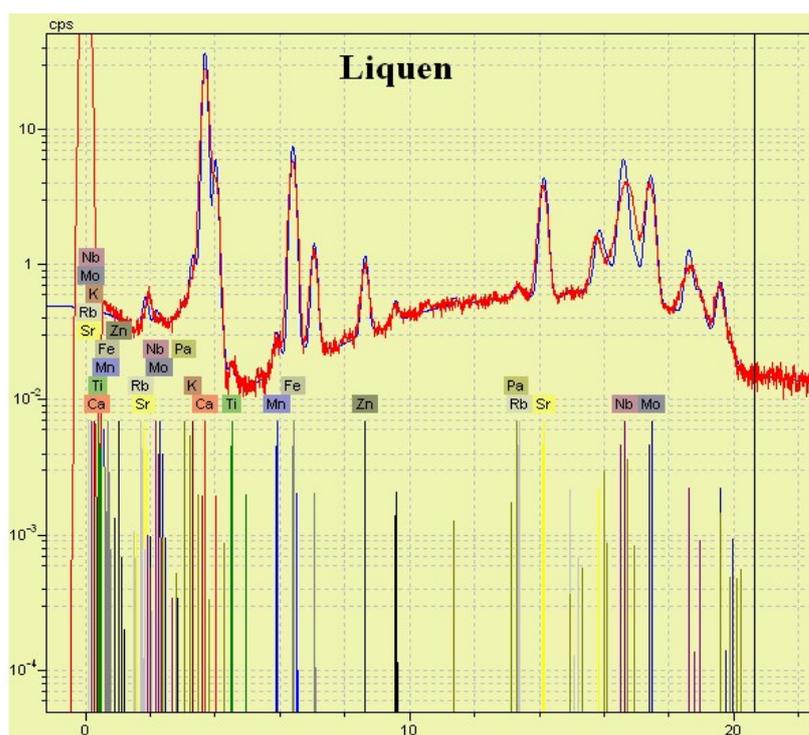


Figura 6.2: espectro XRF recogido sobre el liquen de la muestra GCL2

En el sustrato expuesto (Figura 6.3) también se detectan Mn, Fe y Zn además de K, Ca, Rb y Sr de la roca.

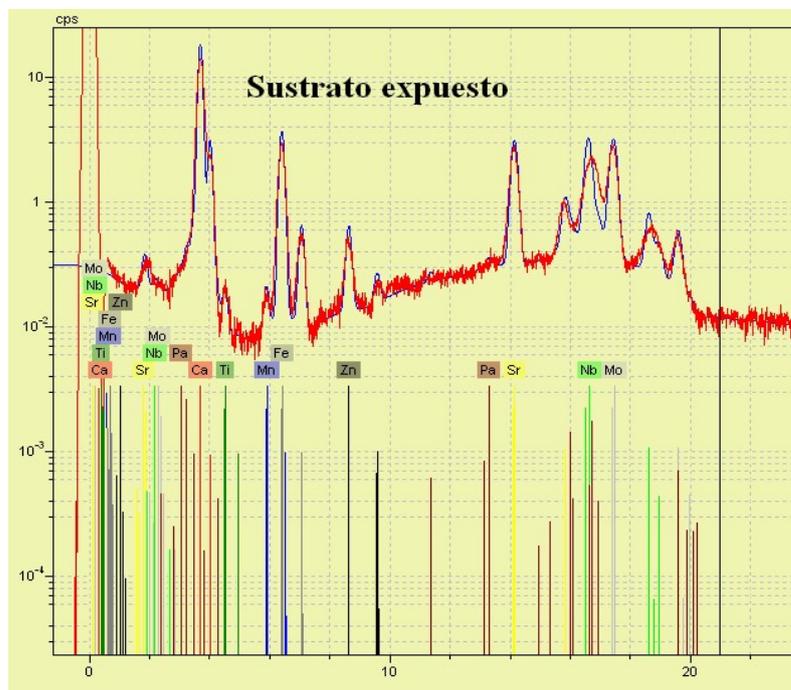


Figura 6.3: espectro XRF recogido sobre el sustrato expuesto de la muestra GCL2.

En cambio, en el sustrato que no ha estado en contacto con el aire (Figura 6.4) se detectan los elementos pertenecientes a la roca como son K, Ca, Ti, Rb y Sr. El Mn y Fe y que encontramos en las tres zonas pueden ser tanto de la roca como del ambiente, pero cabe reseñar que el Zn, el cual sólo se encuentra en la superficie del liquen y en el sustrato expuesto procede del ambiente cargado de material particulado.

Teniendo en cuenta estos datos se procedió a realizar el análisis semicuantitativo de las mismas zonas en diferentes muestras (Figura 6.1) para comprobar y comparar el contenido metálico. En la Tabla 6.2 se muestran los resultados de porcentaje en masa de la caliza GCL2.

Si tomamos los valores SL como el fondo debido al sustrato de la roca, se ve que la presencia de Zn sólo puede ser explicada por la captación de cinc atmosférico (probablemente particulado). La concentración de Fe aumenta considerablemente por lo que o bien ha sido captado o bien el liquen se enriquece de hierro tomado de la roca.

El calcio y el estroncio son dos elementos presentes en las calizas estando siempre el Ca en mayor concentración que el Sr, como se ve en la Tabla 6.2 (SL). Sin embargo, en todas las zonas analizadas del liquen y del soporte expuesto se observa un aumento de concentración de Sr a la vez que la del Ca disminuye.

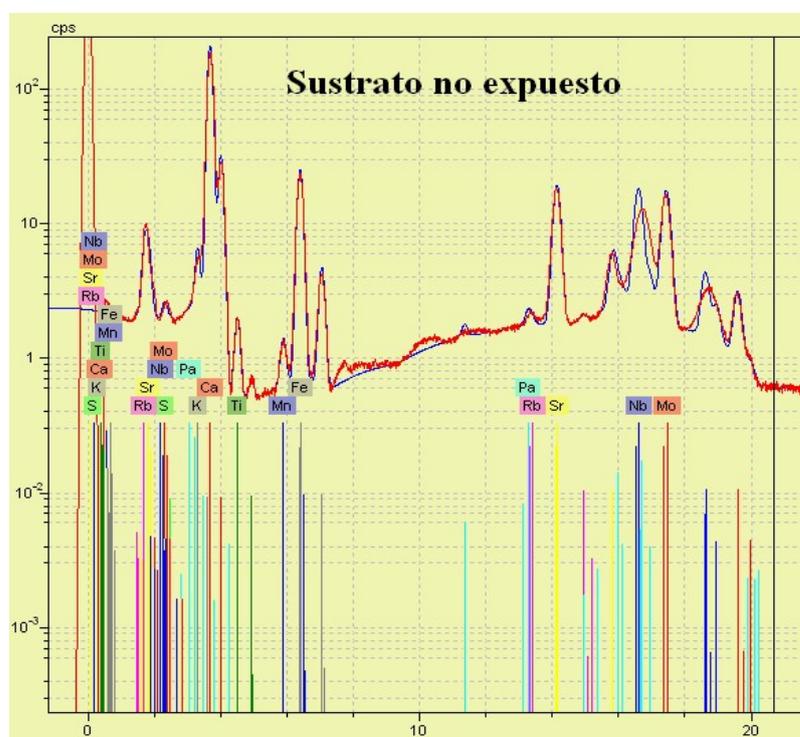


Figura 6.4: espectro XRF recogido sobre el sustrato no expuesto de la muestra GCL2.

Tabla 6.2: Concentraciones (%w) calculadas en base a los espectros XRF de los elementos encontrados en la superficie del líquen (L), en las zonas expuestas del sustrato (SS) y en las zonas protegidas del aire (SL) de la muestra GCL2 (roca caliza de Getxo con líquen del género *Caloplaca*).

Zonas GCL2	%Ca	%Fe	%Zn	%Sr	%sus*	%otros
L1	20.0	42.7	5.4	29.9	1.29	0.73
L2	38.1	37.5	4.3	16.6	1.40	1.97
L3	54.8	25.6	2.8	14.2	0.14	2.5
L4	66.2	17.2	2.0	11.9	0.70	2.0
L5	50.2	23.2	4.4	16.1	1.28	4.8
L6	67.8	18.5	1.51	9.0	0.60	2.7
L7	72.7	14.8	2.0	6.9	0.53	3.1
SS1	66.0	14.4	2.2	15.3	0.44	1.8
SS2	75.3	11.9	0.11	10.3	0.51	1.8
SS3	70.3	11.5	0.62	12.9	0.09	4.4
SS4	60.8	23.0	1.67	12.1	0.25	2.2
SS5	55.0	21.3	2.5	14.4	3.3	3.5
SL	75.5	10.0	0.00	10.4	2.05	2.0

*Elementos minoritarios atribuibles al sustrato, K, Ti y Rb que no aparecen en todas las medidas

Además, en la Tabla 6.3 se muestran los datos XRF obtenidos en las tres zonas citadas de la muestra GCM (Mármol de Getxo con líquen del género *Caloplaca*). Se ha calculado el porcentaje en masa de cada elemento. Aunque esta técnica de análisis elemental sea semicuantitativa da una aproximación de los porcentajes en masa de los elementos encontrados en cada zona y sirve para comparar las zonas entre sí.

La muestra de mármol GCM está compuesta por Ca (96.8 ± 0.2 %), K (0.96 ± 0.03 %), P (0.67 ± 0.01 %), Fe (0.12 ± 0.03 % y S (0.07 ± 0.01 %) y no tiene cinc. Como se aprecia en los puntos L y SS, hay un enriquecimiento sistemático en Fe, Zn, K y S, mientras que el P oscila en valor por encima o debajo del sustrato, pero siempre muy próximos.

Los datos de ambas muestras demuestran además que el contenido en Fe y Zn del líquen es mayor tanto del sustrato expuesto a la atmósfera como del sustrato protegido. Por lo tanto, queda demostrado una vez más que los líquenes actúan como filtros del aire y captan las partículas atmosféricas y/o iones disueltos en el aerosol para incorporarlas después a su talo.

Tabla 6.3: Concentraciones (%w) calculadas en base a los espectros XRF de los elementos encontrados en la superficie del líquen (L), en las zonas expuestas del sustrato (SS) y en las zonas protegidas del aire (SL) en la muestra GCM (mármol de Getxo con líquen del género Caloplaca).

Zonas GCM	%P	%S	%K	%Ca	%Fe	%Zn	%sus*	%otros
L1	0.56	0.08	1.53	89.2	2.9	1.06	4.6	0.03
L2	0.58	0.14	1.34	94.8	0.39	0.71	2.0	0.02
L3	0.55	0.46	1.89	92.0	2.0	0.88	2.3	0.07
L4	0.63	0.31	1.87	94.6	0.73	0.40	1.39	0.06
L5	0.46	0.13	2.8	84.8	8.0	1.18	2.4	0.22
L6	0.58	0.17	1.63	93.1	1.88	0.61	1.96	0.03
SS1	0.62	0.08	1.22	94.8	1.10	0.42	1.37	0.36
SS2	0.55	0.10	1.76	92.0	2.2	1.32	1.92	0.18
SS3	0.62	0.14	1.18	95.7	0.50	0.34	1.2	0.33
SS4	0.59	0.09	1.38	95.1	0.71	0.40	1.42	0.30
SS5	0.58	0.11	1.38	94.6	1.33	0.43	1.57	0.04
SS6	0.61	0.07	1.01	91.8	3.8	0.45	1.34	0.84
SL1	0.68	0.07	0.93	96.9	0.17	0.00	1.20	0.08
SL2	0.67	0.08	1.02	96.5	0.10	0.00	1.15	0.50
SL3	0.67	0.07	0.94	97.0	0.09	0.00	1.24	0.00

*Elementos minoritarios atribuibles al sustrato, K, Ti y Rb que no aparecen en todas las medidas

6.3. Análisis multicapa Raman de rocas calizas y areniscas carbonatadas pertenecientes a ambientes altamente contaminados

Un ambiente altamente contaminado como es Getxo, ha sido elegido para explicar la distribución de los biominerales tanto en la superficie del líquen como en la interfaz líquen substrato en líquenes del género *Caloplaca* y *Lecanora*.

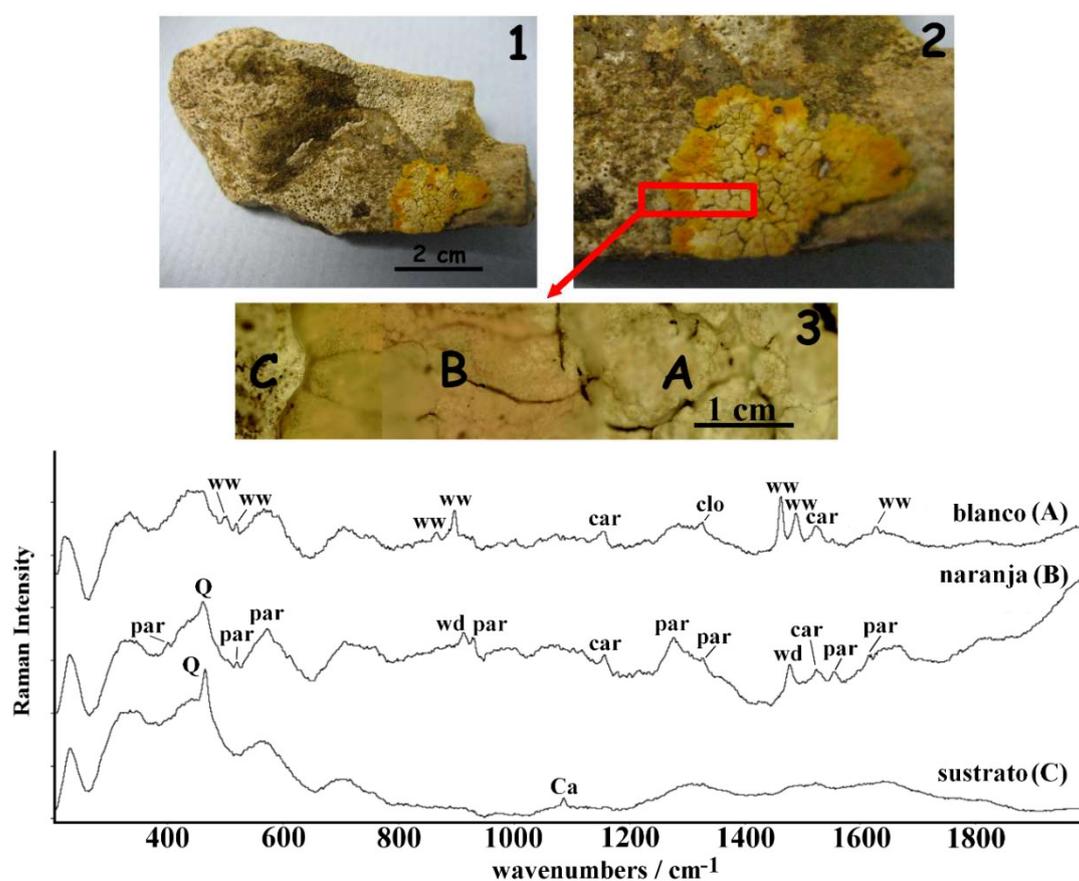
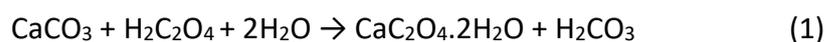


Figura 6.5: (1) y (2) imágenes macroscópicas de la muestra GCL1 correspondientes a una roca arenisca carbonatada colonizada por un líquen del género *Caloplaca*; (3) detalle microscópico de las áreas estudiadas del líquen: A es la parte blanca central donde se detecta whewellita (ww), clorofila (clo) y un carotenoide (car); B es la parte exterior naranja donde se detectan la parietina (par), la weddellita (wd) y el cuarzo (Q); C es el sustrato donde se detectan calcita (Ca) y cuarzo (Q).

En la Figura 6.5 se muestra un líquen del género *Caloplaca* de la muestra GCL1. Tal y como se aprecia en la figura, la superficie del líquen muestra diferentes zonas de diferentes colores y texturas. Es naranja en la parte más externa y límite del círculo formado por el líquen y es más apagado y prácticamente blanco en la parte interna del mismo.

Se caracterizaron por Raman todas las distintas zonas del líquen y del sustrato no colonizado (ver Figura 6.5). Estos análisis mostraron que la roca (imagen 1, espectro C) está compuesta mayoritariamente por calcita (banda principal a 1086 cm^{-1}) y en menor medida por cuarzo (banda principal a 464 cm^{-1}) datos que concuerdan con los análisis obtenidos por XRD.

Los espectros Raman obtenidos en la parte más naranja (B) revelan la presencia de oxalato de calcio dihidratado o weddellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) con bandas Raman a 910 y 1475 cm^{-1} como componente mayoritario. En la misma zona se evidencia la presencia del pigmento fotoprotector parietina responsable del color naranja con bandas Raman a $400, 460, 519, 572, 928, 1277, 1370, 1554$ y 1618 cm^{-1} junto con las bandas a 1155 y 1521 cm^{-1} pertenecientes a un carotenoide, probablemente zeaxantina. En la parte central y más blanca del líquen (A), aparece el oxalato de calcio monohidratado (whewellita) con bandas a $504, 521, 596, 865, 896, 1463, 1490$ y 1629 cm^{-1} junto con la presencia de nuevo, de un carotenoide con señales Raman a 1155 y 1521 cm^{-1} (Figura 6.5, espectro zona blanca (A)). Es decir, la colonia de líquenes *Caloplaca* forma círculos concéntricos en las diferentes etapas de su crecimiento donde se acumulan diferentes compuestos. En la primera etapa del metabolismo (frente de crecimiento) se forma weddellita, gracias a la reacción química (1) dada entre el calcio presente en el sustrato y el ácido oxálico excretado por el líquen.



Simultáneamente, estos microorganismos sintetizan pigmentos fotoprotectores como la parietina para defenderse de la radiación solar y/o de los ácidos de la atmósfera. Por ello, las partes del líquen bioquímicamente más activas son las que presentan el color naranja. Por otro lado, y mientras el líquen se expande, ciertas áreas pierden su actividad biológica y la cantidad de agua decrece considerablemente. Ante estas nuevas condiciones bioquímicas, el oxalato de calcio dihidratado se transforma en la forma monohidratada, la cual es más estable. Por lo tanto, estos análisis demuestran que los compuestos que hallamos en zonas colonizadas van a depender de la fase en el que se encuentre el organismo colonizador, en este caso un líquen.

Los análisis de las muestras pertenecientes al género *Lecanora* (GLLa y GLLb), se llevaron a cabo en diferentes puntos clave de la superficie de los líquenes como de la interfaz líquen-sustrato. Tal y como se muestra en la Figura 6.6, el espectro e) correspondiente a la superficie del líquen o cara más expuesta de la muestra GLLa, indica que está compuesta por whewellita con señales Raman a 504, 896, 1463 y 1490 cm^{-1} y un carotenoide con bandas Raman a 1155 and 1521 cm^{-1} . Además, en la parte verde del talo del líquen la parte litobionte o alga se manifiesta con la presencia de la clorofila A, por sus señales Raman a 745, 1286, 1326 y 1387 cm^{-1} junto con un carotenoide con señales a 1155 y 1521 cm^{-1} como muestra el espectro d). Por otra parte, el espectro c) está tomado en la cara interna del líquen (donde la hifa penetra) y se puede apreciar fácilmente la presencia de whewellita con bandas Raman a 504, 521, 596, 865, 896, 1463, 1490 y 1629 cm^{-1} . Además, en el espectro b), se pueden detectar los dos oxalatos de calcio con sus bandas a 506, 896, 910, 1460 y 1475 cm^{-1} . En esta muestra de arenisca carbonatada, no todos los cristales del aglutinante son calcita, sino que también se detectó dolomita, como lo muestra el espectro a).

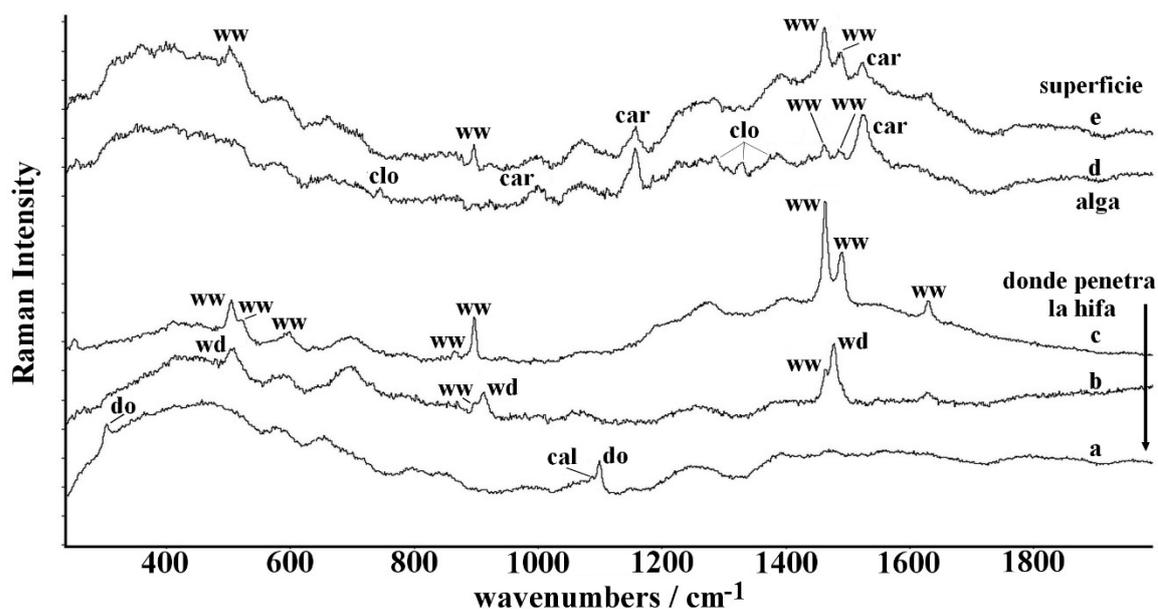


Figura 6.6: espectros Raman obtenidos en la muestra GLLa

En comparación con el líquen de la Figura 6.5, se puede decir que en los líquenes del género *Lecanora* los oxalatos de calcio no siguen una distribución ordenada y muchas veces las dos formas aparecen juntas en la misma zona. Por lo tanto y teniendo en cuenta las muestras estudiadas, se puede decir que la formación y distribución de los oxalatos de calcio es dependiente del género del líquen.

Otro ejemplo de biomineralización lo hallamos en otro espécimen del género *Lecanora*, cuyo análisis se realizó tras preparar una sección transversal para poder distinguir las distintas capas desde la parte exterior del líquen hasta el sustrato pétreo (muestra GLLb).

La Figura 6.7 muestra los detalles microscópicos de cada capa obtenidos sobre la sección transversal. La base pétrea es gris, debido a la calcita natural. Después, se puede

apreciar una capa gris-marrón que cubre la base y en cambio una capa marrón cubre esta última.

De acuerdo con los análisis Raman llevados a cabo en esta muestra, la base pétreo está compuesta por calcita ($281, 712$ y 1086 cm^{-1}) y carbón amorfo (1300 y 1600 cm^{-1}), según se aprecia en el espectro a). Posteriormente, se realizaron varios análisis en la siguiente capa inmediata a la base, los cuales revelaron la presencia de magnesita (MgCO_3) con bandas Raman a $330, 738$ y 1094 cm^{-1} (espectro no enseñado).

Además de calcita y magnesita se detectaron otros carbonatos en las diferentes capas del líquen según el análisis realizado sobre el corte transversal de la muestra GLLb. La Figura 6.7 muestra los detalles Raman de las diferentes capas que se pudieron distinguir: en la capa a) de color gris se identificaron la calcita y el carbón ($1086, 1300$ y 1600 cm^{-1}) correspondientes a la base pétreo (espectro a). En la capa b) fue identificada la ankerita [25] ($\text{FeCa}(\text{CO}_3)_2$) gracias a las señales Raman a $170, 292, 722$ y 1094 cm^{-1} ; la ankerita es un carbonato doble de Fe (II) y Ca que puede presentar colores que van desde el blanco-grisáceo hasta el amarillo-marrón pálido [25]. La capa blanca (espectro c)) está compuesta principalmente por las dos formas hidratadas del oxalato de calcio ($504, 896, 910, 1463, 1475, 1490$ y 1629 cm^{-1}) y la calcita ($281, 712$ y 1086 cm^{-1}). La espectroscopia Raman puede servir también en este caso para diferenciar la calcita gris de la base pétreo y la calcita blanca encontrada junto a los oxalatos de calcio del talo del líquen.

Además, en la capa d) de color blanco se observa la presencia de calcita por su principal banda a 1086 cm^{-1} junto con otra señal Raman a 1093 cm^{-1} . Este última puede estar relacionada con la ankerita o con la magnesita (MgCO_3) [25], no siendo posible distinguirlas al carecer de las bandas secundarias. En cuanto a la parte blanca más externa (espectro e) del talo del líquen, está compuesta principalmente por whewellita ($896, 1463$ y 1490 cm^{-1}), la forma monohidratada del oxalato de calcio. Finalmente, según el espectro f), en la capa verde correspondiente al alga del líquen hay clorofila-A,

que se identifica gracias a todas sus bandas características a 516, 745, 753, 917, 963, 987, 1047, 1068, 1108, 1143, 1220, 1286, 1326, 1387, 1439, 1546 y 1608 cm^{-1} . Una vez más, se detecta la presencia de un pigmento carotenoide con señales Raman a 1001, 1155 y 1521 cm^{-1} .

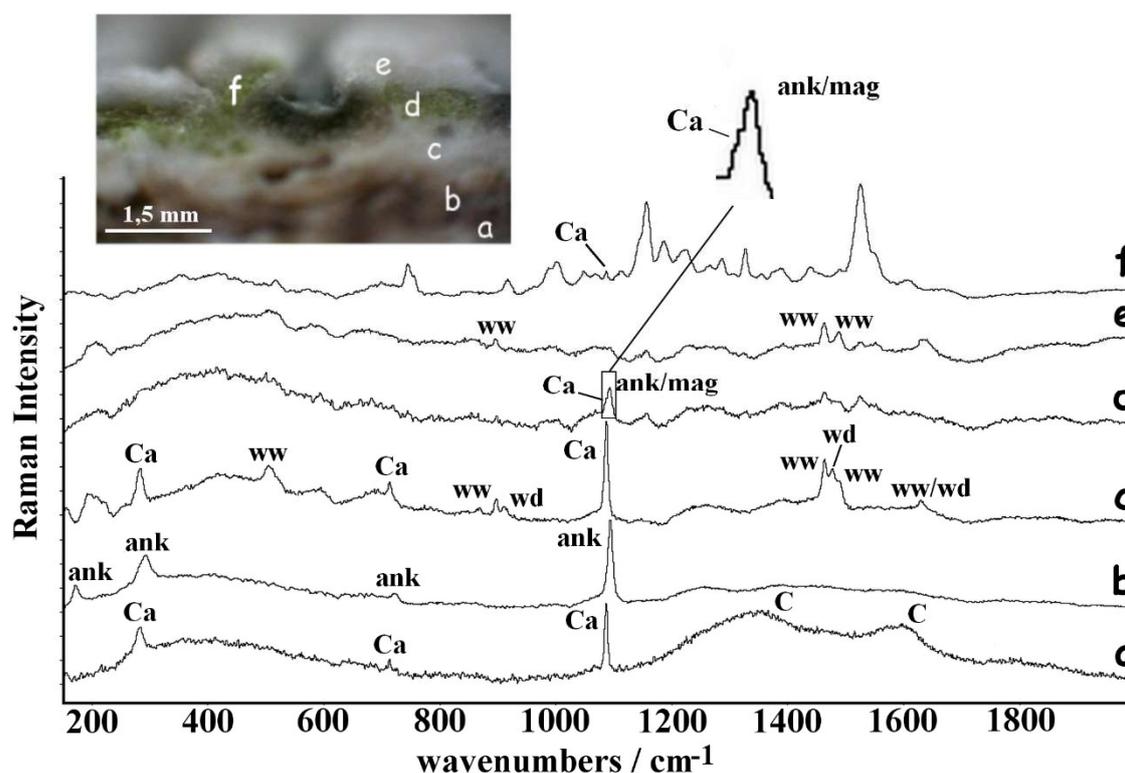


Figura 6.7: respuestas Raman recogidas en cada capa de la sección transversal de la primera muestra GLLb, incluyendo los detalles microscópicos de cada capa: a) soporte pétreo, b) capa marrón, c) capa blanca, d) capa verde y blanca, e) segunda capa blanca, f) punto muy verde. Calcita (cal), Carbón amorfo (C), ankerita (ank), whewellita (ww) y weddellita (wd).

Teniendo en cuenta los análisis Raman realizados en muestras de rocas calizas grises colonizadas por líquenes *Lecanora*, donde se han observado diversos carbonatos

de Ca, Mg y Fe repetidamente, se decidió preparar otra muestra (GLLb) para explicar más detalladamente la presencia y distribución de estos carbonatos. Dicha muestra no presenta una distribución de capas tan evidente como la mostrada en la Figura 6.7, pero se pueden diferenciar en las imágenes microscópicas áreas de diferentes colores donde hacer el análisis por espectroscopia Raman. Los colores de los puntos analizados eran grises, marrones y blancos, los cuales se corresponden con los colores característicos de los diferentes carbonatos (biominerales) citados.

La Figura 6.8 muestra las imágenes a diferentes escalas obtenidas en la interfaz líquen-sustrato. Parte del líquen se separó del sustrato para proceder a su estudio. La imagen 1) es del líquen cuando se encontraba en el emplazamiento; la imagen 2) muestra en qué medida se ha podido separar el líquen del sustrato y el tamaño de la muestra llevada al laboratorio y la imagen 3) es una imagen microscópica de la interfaz.

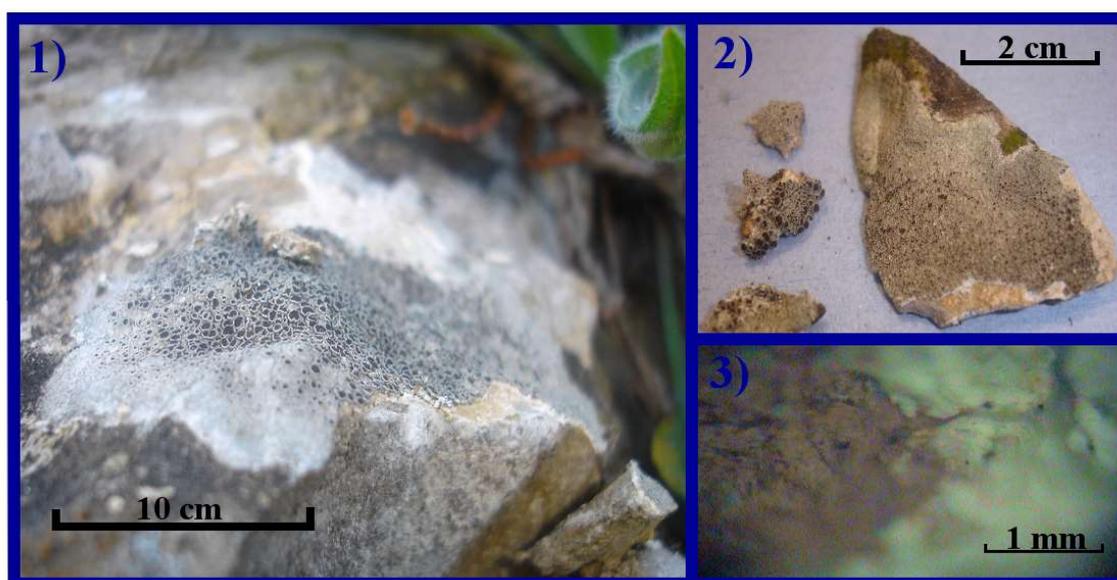


Figura 6.8: detalles macro y microscópicos de un líquen *Lecanora* obtenidos en la interfaz líquen-sustrato.

Es en esta interfaz dónde se han encontrado los diferentes carbonatos de Ca, Mg y Fe y en la Figura 6.9 se detallan las posiciones Raman más relevantes obtenidas en las

zonas blancas (calcita, whewellita, wedellita y calcita alta en magnesio (HMC)), marrones (ankerita) y verdes (carotenoides y clorofila-A). Es decir, a pesar de no haber diferenciación clara de las distintas zonas (capas de diferente color), la visualización y análisis puntual sobre los distintos colores arroja los mismos resultados.

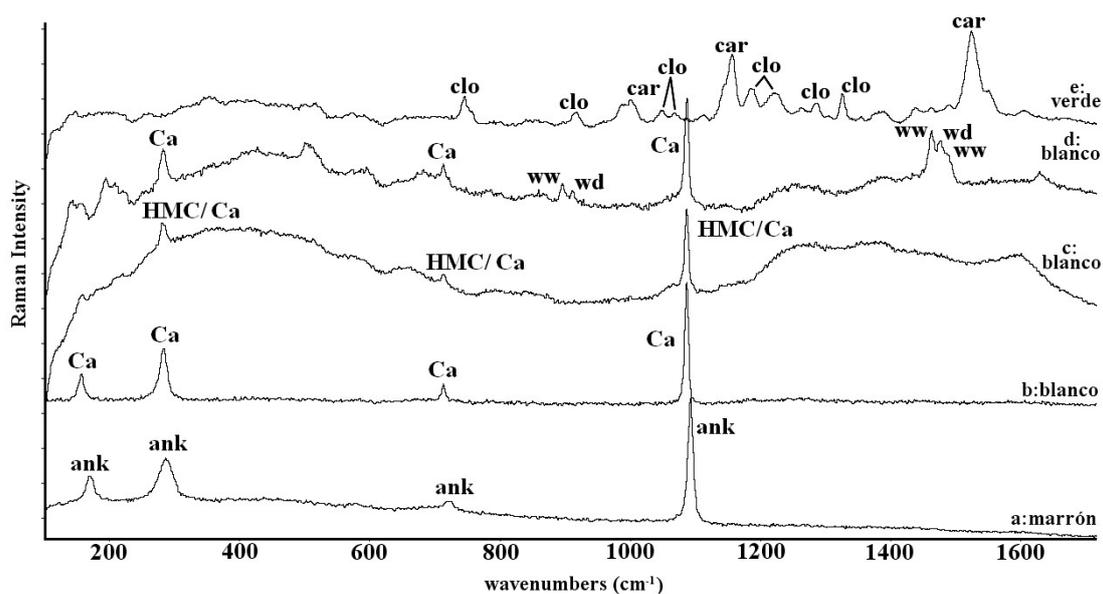


Figura 6.9: espectros Raman obtenidos en la interfaz de la segunda muestra GLLb mostrando la presencia de calcita (Ca), ankerita (ank), calcita alta en magnesio (HMC), wedellita (wd), whewellita (ww), carotenoide (car) y clorofila (clo).

En la Figura 6.10 se observan los detalles microscópicos del sustrato pétreo (1) y de la superficie del liquen (2). Se recogen también las bandas Raman obtenidas en cada parte y se observa que el sustrato de la arenisca está compuesto por calcita y carbón amorfo responsable de su color gris y que la superficie del liquen está compuesta por el oxalato de calcio monohidratado whewellita.

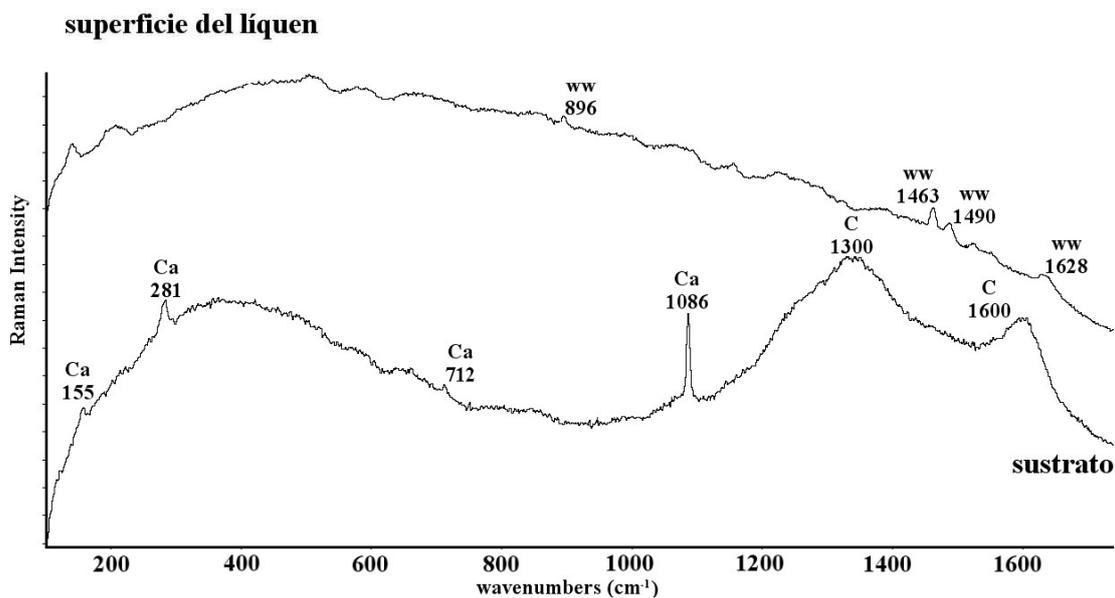
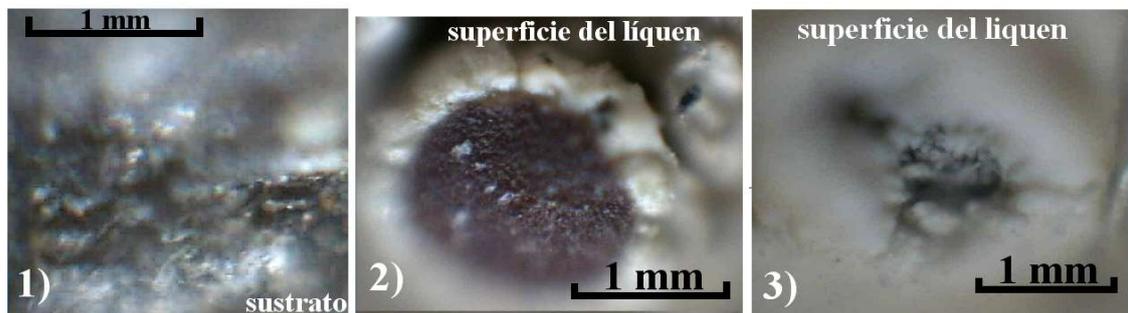


Figura 6.10: detalles macro y microscópicos de un líquen *Lecanora* y los espectros Raman obtenidos en la superficie del líquen (whewellita (ww)) y en el sustrato pétreo (calcita (Ca) y carbón amorfo (C)).

En estos espectros de estas zonas no se observan carbonatos de Mg y Fe como los que se hallan en la interfaz líquen-sustrato, por lo que se puede decir que dichos compuestos son biominerales formados por la actividad del organismo.

La Tabla 6.4 resume las señales Raman más relevantes obtenidas en esta muestra diferenciando el sustrato pétreo y la interfaz líquen-sustrato. Se detallan las posiciones Raman obtenidas y se hace comparación numérica con las señales Raman que se observan en los patrones de calcita, dolomita, magnesita, calcita alta en magnesio (HMC) y ankerita. Finalmente observando todas las posiciones Raman en el rango $150-1100\text{ cm}^{-1}$ se ha procedido a la asignación de dichas señales. Así se observa que la interfaz líquen-sustrato está compuesta por diversos carbonatos de Ca, Mg y Fe. En las zonas blancas se obtienen las señales características de la calcita y/o de HMC y/o magnesita y en cambio las zonas marrones están asociadas a la ankerita.

Por último, cabe destacar el color y los espectros Raman de la calcita blanca la cual es diferente en color y en señales Raman respecto de la calcita gris del sustrato pétreo. Además, se observa el grado de cristalización de esta calcita blanca en la imagen 3) de la Figura 6.10. Estos análisis Raman y estas imágenes demuestran que esta calcita blanca es un biomineral sintetizado por el líquen.

Con el fin de realizar un estudio más detallado y estudiar los cambios biogeoquímicos que ocurren en la interfaz líquen-sustrato, se realizaron análisis SEM-EDX en la misma muestra (GLLb).

Tabla 6.4: composición de las distintas zonas del sistema líquen-sustrato en la muestra GLLb.

	color del spot de análisis	Bandas características Raman (cm ⁻¹)				Fórmula y asignación
PATRONES						
calcita	blanco	155	282	712	1086	CaCO ₃ / calcita
dolomita	blanco		301	725	1098	CaMg(CO ₃) ₂ / dolomita
magnesita	blanco	214	332	740	1095	MgCO ₃ / magnesita
calcita/dolomita	blanco		282/300	713/725	1087/1098	
HMC	blanco		282/290	713/721	1087-1094	Ca(Mg)CO ₃ / dolomita
ankerita	marrón	171	286	724	1094	CaFe(CO ₃) ₂ / Ankerita
INTERFAZ LIQUEN-SUSTRATO						
1	blanco		288	720	1093	HMC (50% de Mg)
2	gris		281	712	1086	Calcita
3	marrón	170	286	720	1093	Ankerita
4	gris	156/172	284/290	713/721	1087/1091	Ca _{1-x} Mg _x CO ₃ / HMC con %Mg variable
5	gris	156	282	713	1087	CaCO ₃ /Calcita
6	marrón	157/168	282/290	711/724	1088/1093	CaFe(CO ₃) ₂ / Ankerita
7	marrón	170	292	726	1094	Calcita/ Ankerita
SUSTRATO						
1	gris	157	284	711	1087	Calcita/ Carbón

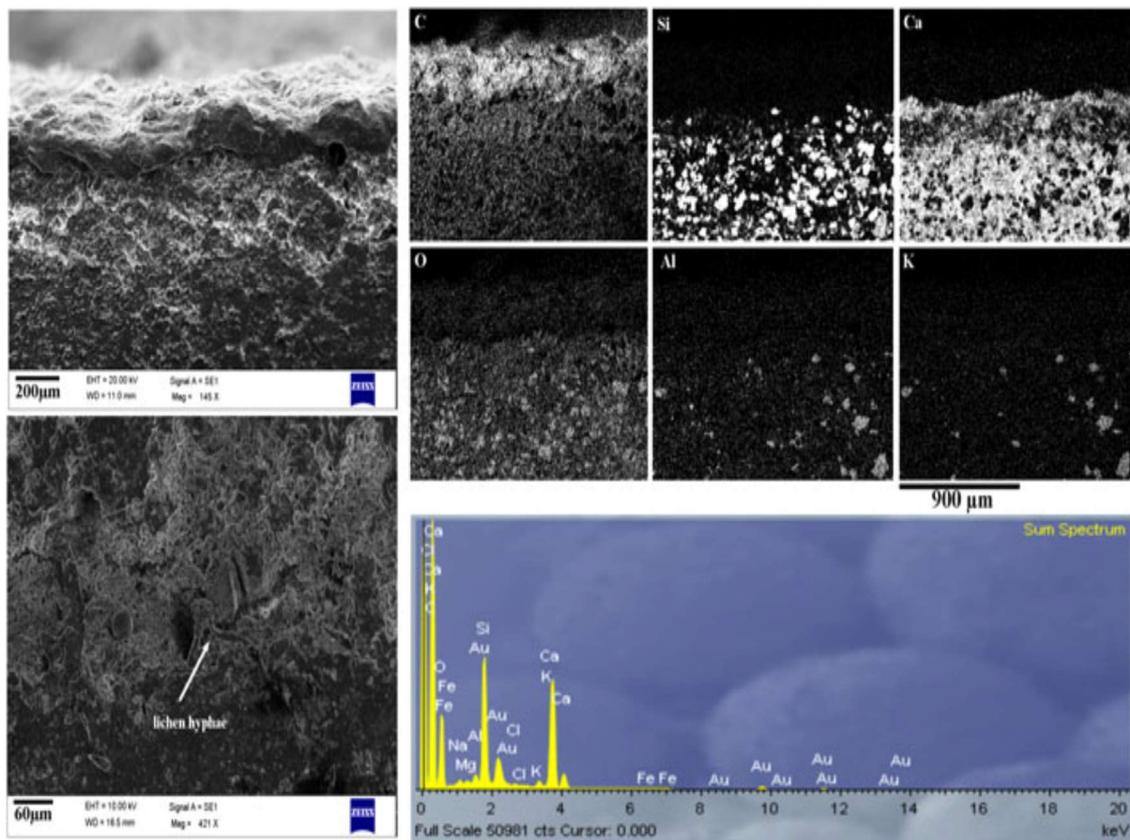


Figure 6.11: imágenes SEM y mapeo EDX de la muestra GLLb. La roca caliza del sustrato está compuesta principalmente por calcita, de cuarzo y de silicatos de potasio y aluminio en menor medida (Au corresponde a la cobertura de oro usado en las imágenes SEM).

En la imagen SEM de la Figura 6.11 se diferencian tres capas: (1) el talo del liquen que forma una costra estrechamente anclada a la roca, (2) una zona más frágil donde se evidencian los efectos mecánicos causados por la penetración de la hifa del liquen y (3) zona inalterada correspondiente a la base pétreo. Se realizaron a su vez los correspondientes espectros de dispersión de rayos X (EDX) que revelaron que la arenisca carbonatada base está compuesta principalmente por calcita, cuarzo y en menor medida

por aluminosilicatos de potasio (Au representa la cobertura metálica necesaria para realizar estos análisis).

Además, los análisis semicuantitativos llevados a cabo en la parte frágil donde se observa la presencia de la hifa del liquen, se detectaron Fe y Mg junto con los elementos correspondientes a los minerales anteriormente mencionados. El hierro y el magnesio pueden estar relacionados con la dolomita, la magnesita y la ankerita encontrados con la espectroscopia Raman en las inmediaciones del talo del liquen del mismo género de la muestra GLLa.

6.4. Formación de neominerales de oxalato de calcio en líquenes *Lecanora* incrustados en areniscas no-carbonatadas

La Figura 6.12 muestra los resultados Raman más relevantes obtenidos en los talos de los líquenes crustáceos epifitos correspondientes al género *Lecanora* hallados en las muestras BLS y ALS. Estas muestras fueron recogidas en diferentes emplazamientos que están sometidos tanto a ambientes contaminados como no contaminados: un área rural (T2) y una localización influenciada por el tráfico rodado directo al haberse muestreado en rocas situadas en una fuerte pendiente de una carretera rural donde los coches deben ir en segunda(T5). Los espectros Raman fueron recogidos en las áreas blancas del talo de los líquenes. En algunos casos, fue necesario rascar una pequeña parte de la muestra para obtener unos resultados más significativos por la presencia de nuevas capas inferiores de oxalatos de calcio. Gracias a las posibilidades ofrecidas por los instrumentos Raman, los análisis fueron realizados en áreas microscópicas de diferentes colores y diferentes propiedades de la colonia líquénica y los resultados obtenidos en el sustrato y en la capa del liquen fueron esencialmente diferentes. Por lo tanto, las diferencias en

los contenidos de calcio obtenidos por un lado en la roca y, por otro lado, en el talo del liquen de las citadas dos muestras, son evidentes.

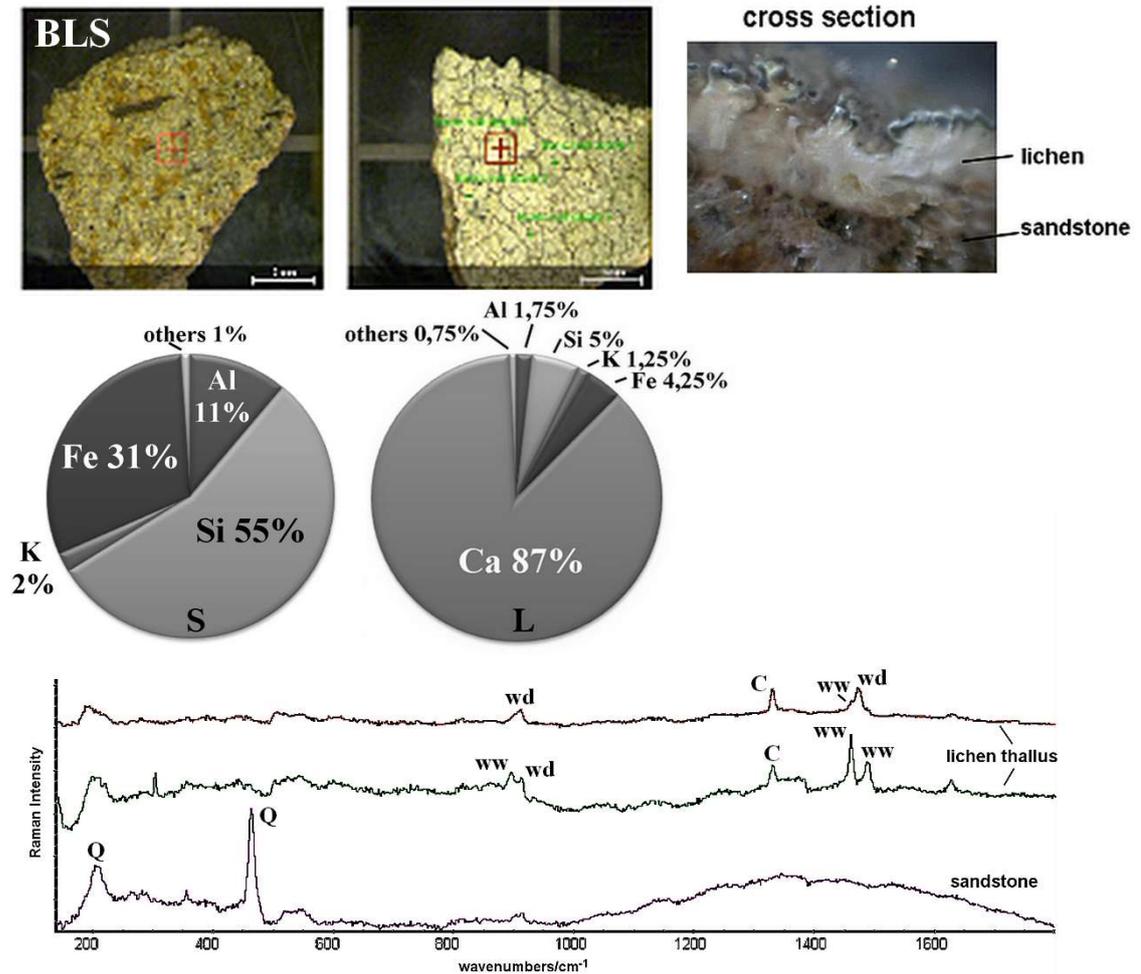


Figura 6.12: Resultados Raman y XRF obtenidos en la muestra BLS, una arenisca no-carbonatadas: L: talo del liquen, S: arenisca.

Los espectros Raman que se muestran en la Figura 6.12 fueron recogidos en la sección transversal de la muestra BLS, que previamente fue lijada con un disco de diamante (C). Este hecho explica la presencia de la banda Raman a 1331 cm⁻¹ que se

observa en los espectros superiores obtenidos en el talo del liquen de la muestra. La base pétreo fue caracterizada por XRD (ver la composición en la Tabla 6.1) y se realizaron además análisis Raman complementarios. Haciendo referencia a estos resultados, en la muestra BLS el sustrato está compuesto principalmente de cuarzo (presenta bandas a 207 y 464 cm^{-1}). Se incluyen también en la Figura 6.12 imágenes tanto del sustrato pétreo (S) y del talo del liquen (L), como de la sección transversal realizada. Además, se incluyen también en esta figura los porcentajes en masa de los elementos hallados en el sustrato pétreo y en el liquen.

Los espectros Raman tomados en la colonia de líquenes revelan que estos han producido grandes cantidades de los dos oxalatos de calcio que se han acumulado en su talo.

La Figura 6.13 muestra las medidas Raman obtenidas en la muestra ALS. El sustrato del liquen está compuesto por albita ($\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$) mineral identificado por sus bandas Raman a 186, 209, 254, 273, 292, 331, 480, 508, 764 y 815 cm^{-1} y probablemente el mineral cementante sea el cuarzo (SiO_2 , 207, 265, 356, 395 and 465 cm^{-1}). Sin embargo, el biomineral encontrado en el talo del liquen fue mayoritariamente weddellite ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), determinado en este caso por sus bandas Raman a 188, 506, 869, 910, 1475 y 1630 cm^{-1} . También se incluyen en la Figura 6.13 los porcentajes en masa de los elementos encontrados en el sustrato (S) y en el liquen (L).

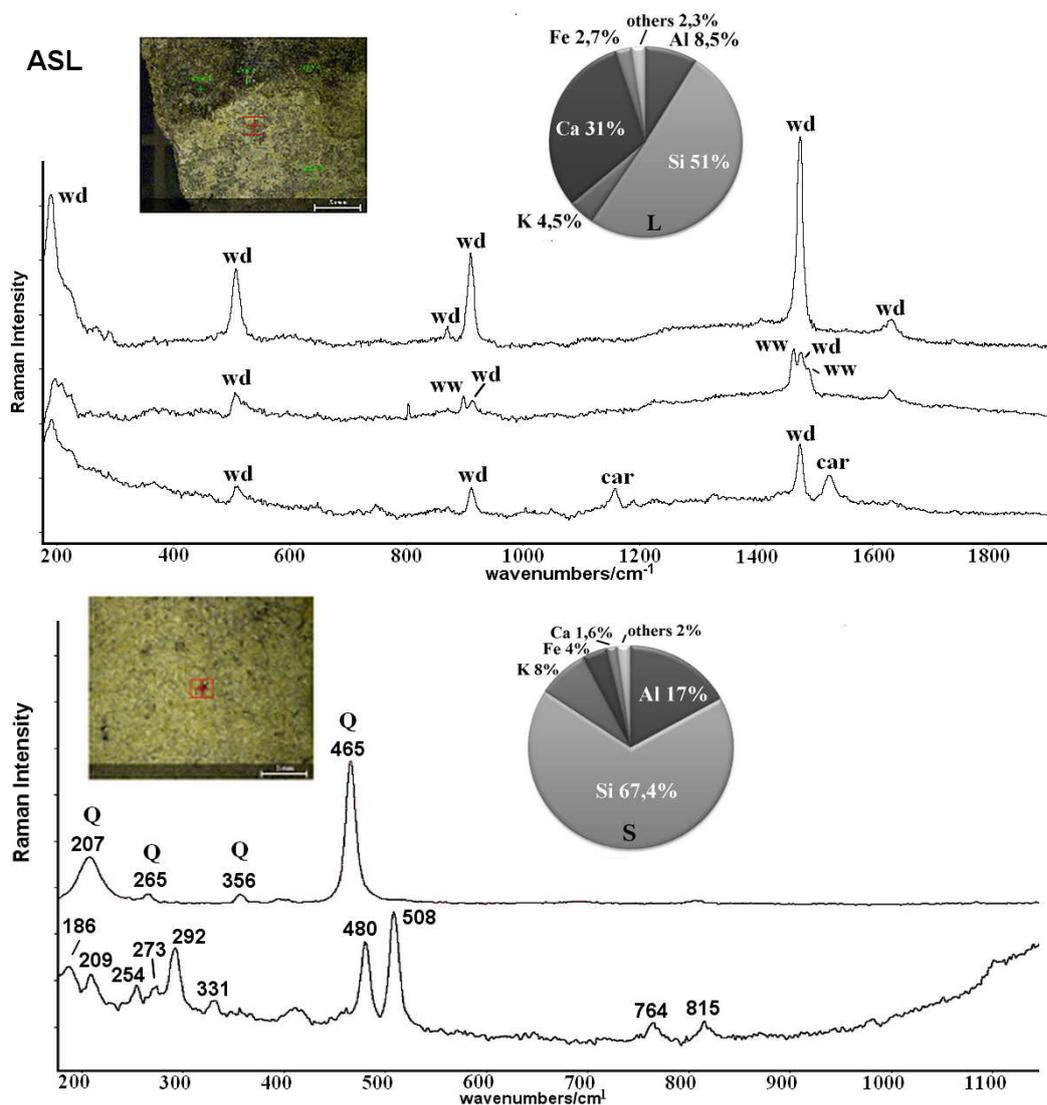


Figure 6.13: Resultados Raman y XRF obtenidos en la muestra ALS, una arenisca no-carbonatada: L: talo del liquen, S: arenisca.

Ocasionalmente fueron encontrados los dos oxalatos de calcio en varios puntos del talo del liquen analizados (504, 896, 910, 1463, 1475 y 1490 cm^{-1}) y una vez más, se

detectó la presencia de un pigmento carotenoide con sus bandas características a 1155 y 1521 cm^{-1} .

Además, en la muestra GLS, aunque la cara correspondiente al sustrato presentase bandas de silicatos sin asignar (bandas anchas entre 1200 y 1450 cm^{-1}) la capa del líquen era rica en whewellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). El mismo patrón fue observado en la muestra PLS, la cual estaba compuesta por minerales de la arcilla (diversos silicatos) y la colonia estaba produciendo en este caso mayoritariamente oxalato de calcio dihidratado.

Como los análisis XRF demuestran que en las rocas areniscas de las muestras BLS y ALS no existe Ca, y los análisis Raman detectan oxalato de calcio en sus dos formas de hidratación en el talo del líquen, queda demostrado que el líquen, para formar el biomineral oxalato de calcio gracias a su metabolismo, capta el calcio de la atmósfera (posiblemente como partícula de calcita). El metabolismo del líquen es capaz de transformar esa calcita (el ácido oxálico la neutraliza) en oxalato de calcio siguiendo la reacción (1).

6.5. Discusión de los resultados y conclusiones.

De los análisis en las diferentes muestras se puede concluir que, independientemente del ambiente al que está expuesto el líquen, los biominerales formados y acumulados en la interfaz líquen-sustrato son siempre las mismas (ver tabla 6.5). Todas las muestras descritas presentan oxalatos de calcio, aunque la base pétreo no esté compuesta por minerales de calcio, tal y como se ha determinado con los análisis de XRF.

Por lo tanto, se puede decir el calcio tiene una fuente medioambiental y que probablemente se ha depositado como partículas de calcita y ha sido incorporado al metabolismo del líquen.

Además, el calcio no es el único elemento que incorporan los líquenes analizados en este capítulo de tesis. Se ha visto también que los líquenes del género *Lecanora* captan partículas de Zn y Fe del aire y lo incorporan a su metabolismo. Así es cómo se han detectado carbonatos de Fe, Mg y Ca en la interfaz líquen-sustrato de ambientes con alta concentración de partículas metálicas.

El hecho de encontrar los diferentes carbonatos (HMC, ankerita, dolomita y calcita) siempre en la interfaz líquen-sustrato, incluso en soportes donde el calcio estaba ausente, favorece la cementación y anclaje del líquen. La formación de estos compuestos puede ser ciertamente una estrategia para colonizar los soportes de diferente composición mineral.

Como consecuencia de la presión ejercida a causa de la formación de estos biominerales ocurre la disrupción mecánica de las muestras. Sin embargo, el punto de vista positivo de estos resultados puede ser que los líquenes contribuyen al descenso atmosférico de las cantidades de dióxido de carbono, de partículas de metales y de calcita.

Tabla 6.5: resumen de las señales Raman obtenidas en este estudio, comparando el soporte pétreo y el talo del líquen.

Muestra	Señales Raman de la roca (cm ⁻¹)	Minerales de la roca	Género del líquen	Señales Raman del talo del líquen (cm ⁻¹)	Biominales y pigmentos detectados
GCL1	464	Cuarzo (SiO)	<i>Caloplaca</i>	400, 460, 519, 572, 928, 1277, 1370, 1554 y 1618 / 910 y 1475 (zona naranja)	Parietina / weddellita (wd, CaC ₂ O ₄ .2H ₂ O)
GCL2	1086	CaCO ₃ (Calcita)		1155, 1523 (zonas naranjas y blancas)	carotenoide
GCL3				504, 521, 865, 896, 1463, 1490, 1629 (zonas blancas)	whewellita (ww, CaC ₂ O ₄ .H ₂ O)
GCL4				745, 917, 1220, 1286, 1326 /1000, 1155, 1186, 1526 (puntos verdes, alga)	clorofila-A (clo)/ carotenoide (car)
GCL5					
GCM					
GLLa	-		<i>Lecanora</i>	Cara expuesta 504, 896, 1463, 1490 / 1001, 1155, 1284, 1523/ 745, 1326, 1387 Interfaz 504, 521, 596, 865, 896, 1463, 1490, 1629 506, 896, 910, 1463, 1475 302, 1098 1086	whewellita /carotenoide/ clorofila-A whewellita weddellita/ whewellita dolomita MgCa(CO ₃) ₂ calcita (CaCO ₃)

Tabla 6.5 (continuación): resumen de las señales Raman obtenidas en este estudio, comparando el soporte pétreo y el talo del líquen

Muestra	Señales Raman de la roca (cm ⁻¹)	Minerales de la roca	Género del líquen	Señales Raman del talo del líquen (cm ⁻¹)	Biominales y pigmentos detectados
GLLb	284, 713,1086, 1300, 1600	Calcita Carbón	<i>Lecanora</i>	Interfaz 170, 292, 722, 1094 281, 712, 1086 282-290, 713-721, 1087 504, 896, 910, 1463, 1475, 1490 Cara expuesta 504, 896, 1463, 1490 1001, 1155, 1187, 1264, 1525 745, 1220, 1286, 1326, 1354, 1387, 1439, 1490, 1546, 1608	FeCa(CO ₃) ₂ (ankerita) CaCO ₃ (calcita) HMC (calcite alta en magnesio) weddellita/whewellita whewellita carotenoide clorofila-A
GLS	1200-1450	Silicatos no definidos (bandas anchas de fluorescencia)	<i>Lecanora</i>	503, 519, 894, 1461, 1488, 1627	whewellita
BLS	464 303,913	Quartz (SiO ₂) Compuesto de Fe no definido	<i>Lecanora</i>	896, 910, 1463, 1475, 1490, 1630	weddellita/ whewellita

Tabla 6.5 (continuación): resumen de las señales Raman obtenidas en este estudio, comparando el soporte pétreo y el talo del líquen

	Señales Raman de la roca (cm ⁻¹)	Minerales de la roca	Género del líquen	Señales Raman del talo del líquen (cm ⁻¹)	Biominales y pigmentos detectados
ALS	164,186,209 254,273,292, 331,480,508, 764, 815 128, 207, 265, 356, 395, 465	Albita (NaAlSi ₃ O ₈) Cuarzo (SiO ₂)	<i>Lecanora</i>	188, 506, 869, 910, 1475, 1630 504, 896, 910, 1463, 1475, 1490 1155, 1525	weddellita weddellita/ whewellita carotenoide
PLS	254, 480, 508 1200-1600	Albita Silicatos (bandas anchas de fluorescencia)	<i>Lecanora</i>	188, 506, 865, 910, 1475, 1630	weddellita

6.6. Bibliografía

- [1] M. Svensson , V. Johansson, A. Dahlberg, A. Frisch, G. Thor y T. Ranius, “The relative importance of stand and dead wood types for wood-dependent lichens in managed boreal forests” *Fungal Ecology*, 20 (2016) 166-174.
- [2] J. P. McIlroy de la Rosa, P. A. Warke y B.J.Smith, “The effects of lichen cover upon the rate of solutional weathering of limestone”, *Geomorphology*, 220 (2014) 81-92.
- [3] R. Scerbo, T. Ristori, L. Possenti, L. Lampugnani, R. Barale y C. Barghigiani, “Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy)”, *Science of the Total Environment*, 286 (2002) 27-40.
- [4] A. Tournié, L.C. Prinsloo, C. Paris, P. Colombari y B. Smith, “The first in situ Raman spectroscopic study of San rock art in South Africa: Procedures and preliminary results”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 42 (2011) 399-406.
- [5] H. G. M. Edwards, L. Drummond y J. Russ, “Fourier transform Raman spectroscopic study of prehistoric rock paintings from the Big Bend region, Texas”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 30 (1999) 421-428.
- [6] H. G. M. Edwards, E. M. Newton y J. Russ, “Raman spectroscopic analysis of pigments and substrata in prehistoric rock art”, *Journal of Molecular Structure*, 550-551 (2000) 245-256.
- [7] A. Hernanz, J. M. Gavira-Vallejo, J. F. Ruiz-Lopez y H. G. M. Edwards, “A comprehensive micro-Raman spectroscopic study of prehistoric rock paintings from the

Sierra de las Cuerdas, Cuenca, Spain”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 39 (2008) 972-984.

[8] M. Maguregui, U. Knuutinen, I. Martinez-Arkarazo, K. Castro y J.M. Madariaga, “Raman spectroscopy as a tool to diagnose the impact and conservation state of Pompeian second and fourth style wall paintings exposed to diverse environments (House of Marcus Lucretius)”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 41 (2010) 1400-1409.

[9] M. Maguregui, U. Knuutinen, J. Trebolazabala, H. Morillas, K. Castro, I. Martinez-Arkarazo y J.M. Madariaga, “Use of in situ and confocal Raman spectroscopy to study the nature and distribution of carotenoids in brown patinas from a deteriorated wall painting in Marcus Lucretius House (Pompeii)”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402 (2012) 1529-1539.

[10] H.G.M. Edwards, E.M. Newton, D.D. Wynn-Williams y R.I. Lewis-Smith, “Non-destructive analysis of pigments and other organic compounds in lichens using Fourier-transform Raman spectroscopy: a study of Antarctic epilithic lichens”, *Spectrochimica Acta A*, 59 (2003) 2301-2309.

[11] M. Hoppert, C. Flies, W. Pohl, B. Günzl y J. Schneider, “Colonization strategies of lithobiontic microorganisms on carbonate rocks”, *Environmental Geology*, 46 (2004) 421-428.

[12] S.E. Jorge-Villar y H.G.M. Edwards, “Raman spectroscopy in astrobiology”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384 (2006) 100-113.

[13] M. Perez-Alonso, K. Castro y J.M. Madariaga, “Investigation of degradation mechanisms by portable Raman spectroscopy and thermodynamic speciation: the wall painting of Santa María de Lemoniz (Basque Country, North of Spain)”, *Analytica Chimica Acta*, 571 (2006) 121-128.

- [14] N. Prieto-Taboada, M. Maguregui, I. Martinez-Arkarazo, M.A. Olazabal, G. Arana y J.M. Madariaga, "Spectroscopic evaluation of the environmental impact on black crusted modern mortars in urban-industrial areas", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399 (2011) 2949-2959.
- [15] H.G.M. Edwards, J.M. Holder, M.R.D. Seaward y D.A. Robinson, "Raman spectroscopic study of lichen-assisted weathering of sandstone outcrops in the High Atlas Mountains, Morocco", *Journal of Raman Spectroscopy*, 33 (2002) 449-454.
- [16] H.G.M. Edwards, C.S. Cockell, E.M. Newton y D.D. Wynn-Williams, "Protective pigmentation in UVB-screened Antarctic lichens studied by Fourier transform Raman spectroscopy: an extremophile bioresponse to radiation stress", *Journal of Raman Spectroscopy*, 35 (2004) 463-469.
- [17] S.E. Jorge-Villar, H.G.M. Edwards y M.R.D. Seaward, "Raman spectroscopy of hot desert, high altitude epilithic lichens", *Analyst*, 130 (2005) 730-737.
- [18] K. Castro, S. Pessanha, N. Proietti, E. Princi, D. Capitani, M.L. Carvalho y J.M. Madariaga, "Noninvasive and nondestructive NMR, Raman and XRF analysis of a Blaeu coloured map from the seventeenth century", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 (2008) 433-441.
- [19] S.E. Jorge-Villar y H.G.M. Edwards, "Lichen colonization of an active volcanic environment: a Raman spectroscopic study of extremophile biomolecular protective strategies", *Journal of Raman Spectroscopy*, 41 (2010) 63-67.
- [20] A. Gerhardt. "Environmental Monitoring vol 1. Bioindicator Species and their Use in Biomonitoring". *Encyclopedia of Life Support Systems*, EOLSS publishers, Oxford, UK 2011.

[21] U. Böttger, J. Meessen, J. Martínez-Frias, H.-W. Hübers y F. Rull, F. J. Sánchez, R. de la Torre, J.-P. de Vera, “Raman spectroscopic analysis of the calcium oxalate producing extremotolerant lichen *Circinaria gyrosa*”, *International Journal of Astrobiology*, 13 (2014) 19-27.

[22] H.G.M. Edwards, I.B. Hutchinson, R. Ingley, P. Vitek y J. Jehlička, “Raman spectroscopic analysis of geological and biogeological specimens of relevance to the ExoMars misión”, *Astrobiology* 13 (2013) 543-549.

[23] I. Miralles, H. G. M. Edwards, F. Domingo y S. E. Jorge-Villar, “Lichens around the world: a comprehensive study of lichen survival biostrategies detected by Raman spectroscopy”, *Analytical Methods*, (2015) 6856-6868.

[24] I. Martínez-Arkarazo, D.C. Smith, O. Zuloaga, M.A. Olazabal y J.M. Madariaga, “Evaluation of three different mobile Raman microscopes employed to study deteriorated civil building stones”, *Journal of Raman Spectroscopy*, 39 (2008) 1018-1029.

[25] R.T. Downs, The RRUFF Project: an integrated study of the chemistry, crystallography, Raman and infrared spectroscopy of minerals, Anonymous Program and Abstracts of the 19th General Meeting of the International Mineralogical Association in Kobe, Japan 2006, pp. O03–O13. Web site in <http://ruff.info>.

[26] L. Paoli, A. Winkler, A. Guttová, L. Sagnotti, A. Grassi, A. Lackovicova, D. Senko y S. Loppi, “Magnetic properties and element concentrations in lichens exposed to airborne pollutants released during cement production”, *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (2017) 12063-12080.

[27] J. Garty, P. Kunin, J. Delarea y S. Weiner, “Calcium oxalate and sulphate-containing structures on the thallial surface of the lichen *Ramalina lacera*: response to polluted air and simulated acid rain”, *Plant, Cell & Environment*, 25 (2002) 1591-1604.

[28] J. Garty y R.L. Garty-Spitz, "Neutralization and neoformation: Analogous processes in the atmosphere and in lichen thalli—A review", *Environmental and Experimental Botany*, 70 (2011) 67-79.

CAPÍTULO 7

Desarrollo de un nuevo método basado en imagen Raman de resonancia para evaluar la contaminación atmosférica mediante los carotenoides de los líquenes como bioindicadores

Los líquenes, individuos simbióticos formados por un hongo y un alga (*Trebouxia*) o cianobacteria (*Nostoc*), son los primeros colonizadores de cualquier material pétreo expuesto a la atmosfera [1]. La parte del hongo llamado micobionte es la parte dominante dentro de esta asociación mutua ya que sintetiza todos los metabolitos tanto primarios como secundarios [2,3]. Pero estos procesos serían imposibles sin la presencia

de la parte fotosintética (alga verde o cianobacteria), aunque muchas veces se encuentre sólo formando una fina capa dentro del talo del liquen.

La fotosíntesis ocurre en los cloroplastos que presentan un color verde gracias a la clorofila A y/o B y los carotenoides. Estos últimos son los pigmentos más comunes y responsables de muchos colores y tonalidades de la naturaleza [4]. Se conocen más de 650 carotenoides naturales que son sintetizados por hongos, algas bacterias y plantas.

Con respecto a su estructura química, todos los carotenoides son compuestos tetraterpenoides C₄₀ formados por ocho unidades isoprenoides. El esqueleto de estas moléculas es un sistema largo y central que alterna enlaces dobles y simples. Los hidrocarburos relacionados con la fórmula empírica C₄₀H₅₆ son conocidos como carotenos y sus derivados oxigenados que contienen diferentes grupos funcionales (aldehídos, ácidos carboxílicos, epóxidos, hidroxilos o cetonas) se denominan xantofilas [4].

El sistema conjugado de dobles enlaces, la característica más destacada y llamativa de los carotenoides, se denomina cromóforo y es el responsable de la absorción de la luz y de su atractivo color. La mayoría de ellos absorben la luz en el rango de 400-550 nm; en otras palabras, absorben más luz en la región verde-azul del espectro electromagnético y reflejan el resto de la luz incidente. Esta propiedad hace que presenten siempre colores en el rango amarillo-rojo. El color no es sólo una característica superficial sino que tiene una función crucial en la fotoprotección del talo del liquen [5]. Los carotenoides disipan la excesiva energía solar en la fotosíntesis y evitan la formación de especies reactivas de oxígeno. Como consecuencia, los carotenoides se clasifican habitualmente como pigmentos fotoprotectores de la radiación solar, especialmente contra la radiación UV, la cual, es muy dañina para el metabolismo de estos simbioses.

Además, algunas especies de líquenes reciben el sobrenombre de individuos extremófilos [6,7]. En el proceso de adaptación han aprendido a sintetizar compuestos específicos que les ayudan a sobrevivir en condiciones ambientales hostiles y extremas como son las regiones polares y los desiertos. [1,8,9]. Los líquenes, por su característica

de ser filtros pasivos del aire atmosférico, son capaces de vivir en ambientes altamente agresivos con atmósferas cargadas de gases ácidos y partículas en suspensión, y pueden metabolizar las partículas contaminantes depositadas en su talo. Concretamente los líquenes pertenecientes a la especie *Lecanora* han sido reconocidos como resistentes a la contaminación atmosférica gracias a su capacidad de protegerse ante concentraciones elevadas de gases ácidos y metales [10,11].

Dentro de los compuestos orgánicos relacionados con los líquenes, la escitonemina es probablemente el más referenciado y característico de los líquenes que viven en estos ambientes tan adversos. Sin embargo, la escitonemina ha sido encontrada también en ambientes aparentemente no extremos como las inmediaciones del estuario Nervio-Ibaizabal cerca de Bilbao [12].

Posteriormente en un nuevo trabajo realizado por nuestro equipo de investigación la presencia de la escitonemina fue relacionada con las altas condiciones ácidas ambientales encontradas en estos puntos de muestreo localizados cerca de actividades industriales [13]. Por lo tanto, parece que los líquenes que viven en dichas atmósferas tan contaminadas pueden considerarse individuos extremófilos porque necesitan sintetizar compuestos protectores extra para sobrevivir.

Por ello, los objetivos de este capítulo de Tesis son establecer una relación entre las diferentes atmósferas clasificadas en el apartado de la metodología y los pigmentos carotenoides encontrados en los líquenes del género *Lecanoraceae* en base a los análisis de imagen espectroscópica Raman, en condiciones de resonancia, favorables para la detección tanto de los carotenos como de las xantofilas. Siguiendo con las averiguaciones hechas hasta ahora por el grupo de investigación con la escitonemina, también se procederá a explicar la presencia o ausencia de ésta en los diferentes emplazamientos con diferentes niveles de contaminación.

7.1. Análisis Raman y comparación de dos fuentes de excitación en los líquenes *Lecanora campestris* y *Lecanora Atra*

Lecanora Campestris es un líquen crustáceo de talo color blanco grisáceo y apotecias negras. La Figura 7.1 muestra imágenes a diferentes escalas de este líquen donde se aprecian tanto el talo como las apotecias. La imagen c es una foto de la sección transversal de este líquen donde se aprecian las capas verdes del alga responsable de realizar la fotosíntesis.

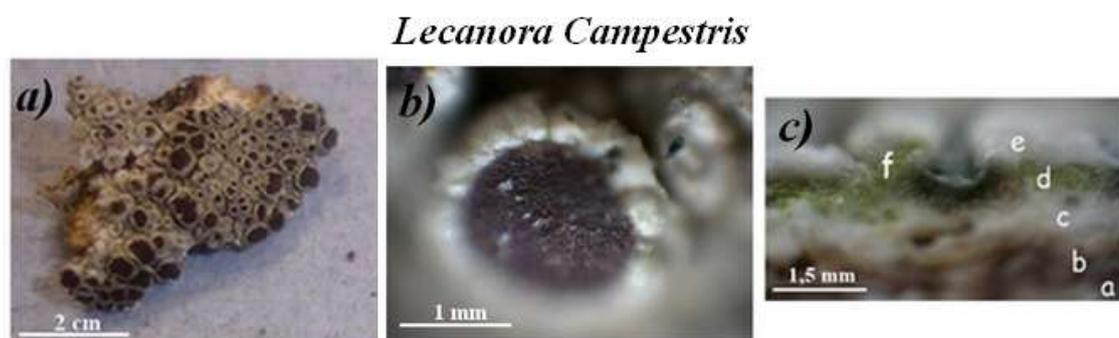


Figura 7.1: imágenes a diferentes escalas del líquen *Lecanora Campestris*.

La Figura 7.2 muestra los espectros Raman obtenidos en el punto microscópico de color verde (Figura 7.1, imagen c punto f) es decir, donde se concentran los pigmentos sintetizados por el líquen *Lecanora campestris* mediante dos fuentes de excitación láser: 785 y 514 nm. En el espectro obtenido con el láser de 785 nm (Figura 7.2b) se pueden distinguir un carotenoide (1003, 1155 y 1520 cm^{-1}) y la clorofila A (745, 753, 987, 1047, 1068, 1108, 1143, 1220, 1286, 1326, 1387, 1439 y 1608 cm^{-1}). Las bandas relacionadas con la clorofila y detectadas con el láser de 785 nm impiden la adecuada identificación del carotenoide, ya que la banda ν_1 característica y usualmente posicionada alrededor de 1520 cm^{-1} es bastante ancha. Por lo tanto, son necesarias el resto de señales de menor intensidad para la correcta asignación del mismo.

Sin embargo, en el espectro obtenido con el láser de 514 nm (Figura 7.2a) se observan solamente bandas relacionadas con el carotenoide; las más intensas se

posicionan a 1003, 1155 y 1520 cm^{-1} junto con señales de intensidad media del mismo carotenoide a 1186 y 1209 cm^{-1} . También aparecen señales Raman de menor intensidad. Todas estas señales se muestran en el espectro a de la Figura 7.2. Además, y analizando los espectros obtenidos en la especie *Lecanora Atra* utilizando el láser rojo, la repetitividad obtenida en las respuestas Raman de varios puntos de interés muestran la presencia de un único carotenoide. Estos espectros muestran siempre bandas posicionadas en 1003, 1155, 1186, 1209 y 1520 cm^{-1} .

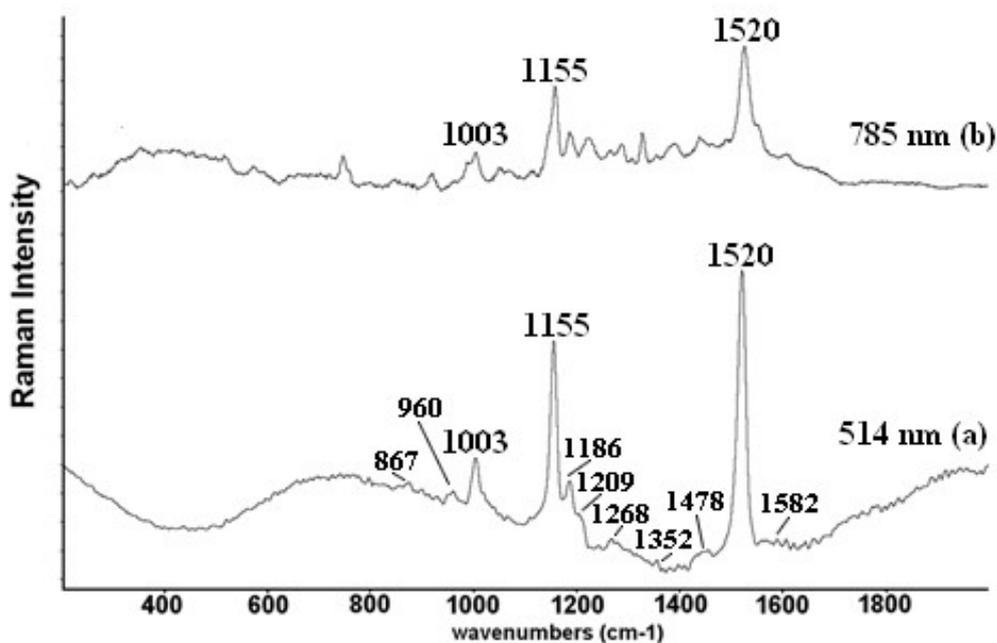


Figura 7.2: señales Raman de los puntos verdes en el líquen *Lecanora campestris* comparando las fuentes de excitación láser a 785 y 514 nm.

Cuando se trabaja con el láser de 514 nm, las señales características de la clorofila dejan de detectarse, y todas las señales Raman halladas corresponden a los carotenos. Las posiciones Raman de estas bandas de diversas intensidades se muestran en el espectro a) de la Figura 7.2. Además, en la Tabla 7.1 se han recogido todas las bandas de los carotenos detectadas, así como la asignación del modo de vibración de cada una de ellas [3].

Los modos de vibración de cada enlace dan información también respecto de la configuración espacial que presenta el caroteno [3].

Tabla 7.1 bandas de carotenoides detectadas y asignación del modo de vibración.

Posición Raman (cm ⁻¹)	Intensidad de la banda	Modo de vibración
867	Hombro	ν_9 : aleteo C-H fuera de plano
960	Media, hombro	ν_8 : aleteo C11-H y C12-H fuera de plano
1003	Fuerte	ν_3 : flexión C-H en el plano
1155	Muy fuerte	ν_2 : estiramiento C-C
1186	Media	División de ν_2 : estiramiento C-C acoplado con flexión C-H
1209	Hombro	ν_7 : configuración <i>trans</i> de C-H en el metilo
1268	Débil	ν_6 : flexión en el plano de C11-H y C12-H
1352	Débil	ν_5 : deformación simétrica del C-H del metilo
1478	Muy débil	ν_4 : deformación asimétrica del C-H del metilo
1520	Muy fuerte	ν_1 : estiramiento C=C
1582	Muy débil	ν_{11} : estiramiento C=C en el 11- <i>cis</i> -caroteno

Por lo tanto, se puede decir que este caroteno presenta la conformación *cis* en el carbono 11, y se denomina 11-*cis*-caroteno.

Sin embargo, cuando se utiliza el láser verde y se trabaja bajo condiciones de resonancia, se obtienen espectros Raman que permiten la adecuada identificación del carotenoide. Es decir, se pueden identificar correctamente tanto los carotenos como sus derivados oxigenados, las xantofilas. Tal y como se muestra en la Figura 7.3, hay diferencias reseñables en el posicionamiento de la banda ν_1 en torno a 1515-1525 cm^{-1} . Las bandas obtenidas en el espectro a) son 1006, 1155 y 1507 cm^{-1} y han sido atribuidas a la astaxantina. Además, el espectro b) muestra las siguientes bandas a 1003, 1154, 1512 cm^{-1} que, de acuerdo con la bibliografía, corresponden al licopeno [14-16], pero esta asignación es sumamente discutible, porque hasta ahora casi nunca se había encontrado este carotenoide en los líquenes. Finalmente, el espectro c) muestra las bandas a 1003, 1155 y 1521 cm^{-1} las cuales pueden ser asignadas al β -caroteno o a la zeaxantina.

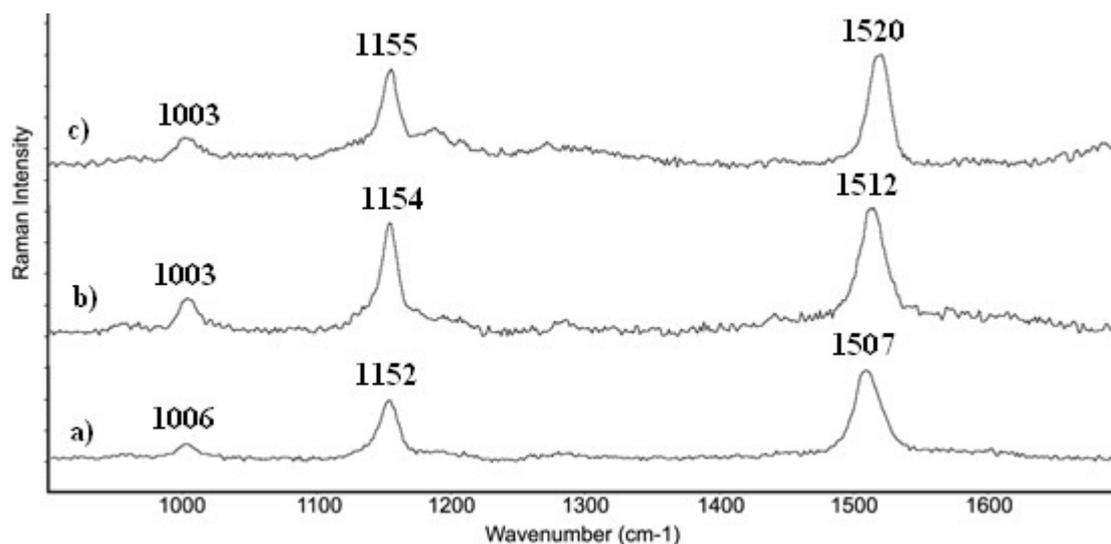


Figura 7.3: espectros de resonancia Raman de diferentes carotenoides: a) astaxantina, b) licopeno y c) β -caroteno o zeaxantina

Con el propósito de diferenciar entre estos dos últimos carotenoides y a su vez entre los carotenos y sus respectivos derivados oxigenados, las xantofilas, recomendamos la extensión de los espectros Raman hasta los 3500 cm^{-1} , como se aprecia en la Figura 7.5, de lo contrario la identificación y diferenciación puede resultar ambigua [9,17].

7.2. Medidas Raman del líquen *Lecanora Muralis* bajo condiciones de resonancia (laser de 514 nm)

Lecanora Muralis es un líquen crustáceo de talo color verde y apotecias color naranja pálido. La Figura 7.4 muestra este líquen a diferentes escalas. La imagen a) es una imagen tomada en el mismo emplazamiento del cementerio de Getxo y muestra la extensión de la colonia de este líquen. La imagen b) corresponde a las muestras tomadas y llevadas al laboratorio y la imagen c) está tomada a escala microscópica y se aprecian claramente los colores característicos del talo y las apotecias.

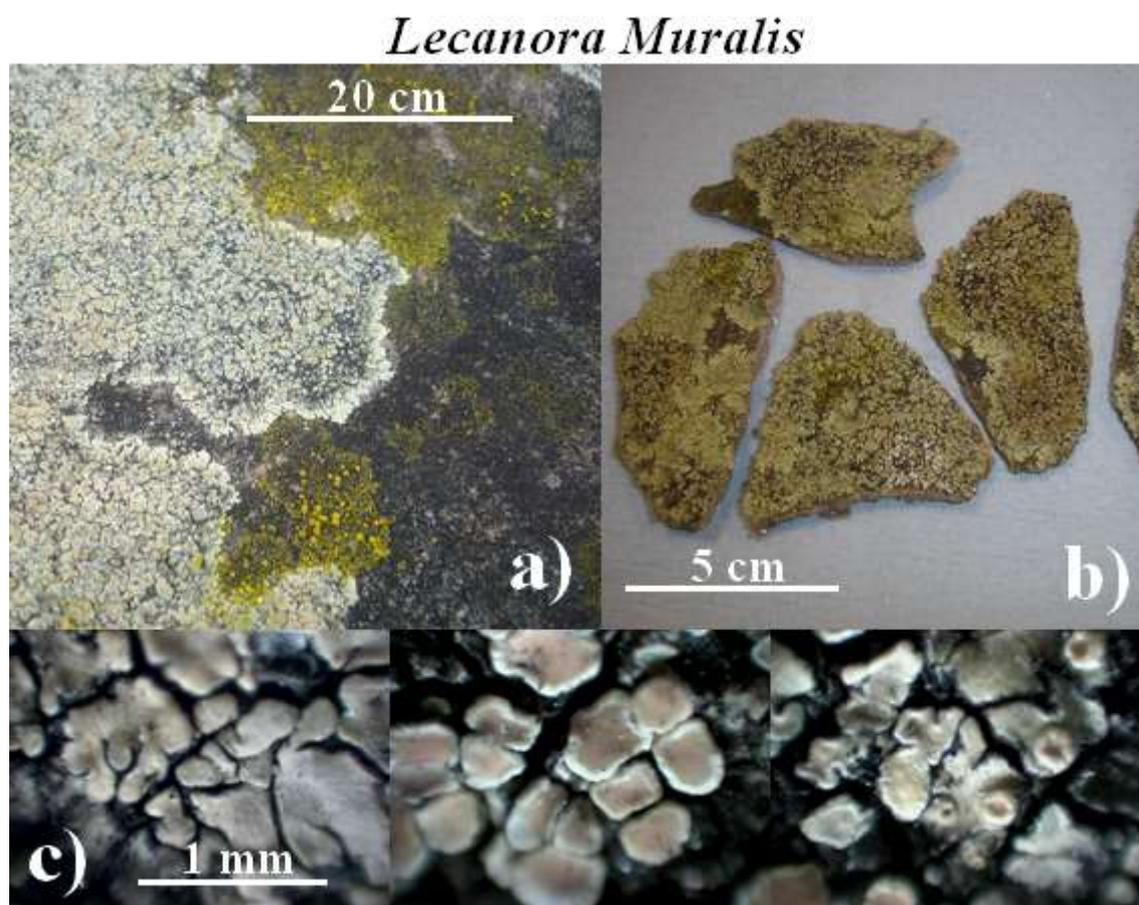


Figura 7.4: imágenes a diferentes escalas del líquen *Lecanora Muralis*

Las medidas Raman del líquen *Lecanora Muralis* se realizaron bajo condiciones de resonancia usando el láser de 514 nm con el objetivo de obtener mayor sensibilidad y conseguir señales Raman óptimas de los carotenoides con respecto a otros compuestos de los líquenes.

Las diferentes áreas microscópicas fueron clasificadas dependiendo de su color. En las áreas marrones del líquen se obtuvieron bandas Raman de un carotenoide a 1006, 1152 y 1507 cm^{-1} . Nótese que la banda ν_1 está situada en un número de onda bastante bajo, lo cual podría indicar la presencia de un carotenoide de esqueleto largo y abundante en enlaces conjugados [18].

Las medidas Raman en condiciones de resonancia permitieron no sólo el aumento de las intensidades de las bandas específicas de los carotenoides sino la detección de nuevas bandas que permanecían ocultas cuando las condiciones de medida no eran condiciones resonantes. Además, en algunas medidas se observaron nuevas bandas Raman a 956 y 1025 cm^{-1} . Siguiendo en el mismo punto de medida se amplió el rango hasta los 3500 cm^{-1} y fueron detectadas nuevas señales Raman a 2020, 2161, 2302, 2353, 2510, 2652, 2785, 2983, 3016, 3159, 3294, 3444 cm^{-1} , atribuibles a los enlaces C-H y O-H de la misma molécula. Teniendo en cuenta todos estos datos, el espectro Raman fue asignado a la astaxantina, una xantofila previamente referenciada en algunos líquenes [17] y que contiene grupos hidroxilos y cetonas y en un esqueleto con 12 enlaces conjugados C=C. Además, el color marrón que presentaban estas áreas era debida a la presencia de otro compuesto con bandas Raman a 437, 494, 575, 630, 675, 752, 1024, 1096, 1169, 1285, 1324, 1356, 1384, 1453, 1555, 1588, 1602, 1628 y 1710 cm^{-1} , las cuales fueron inequívocamente asociadas al pigmento cianobacterial y fotoprotector escitonemina. La Figura 7.5 muestra algunos espectros recogidos en estas áreas marrones con diferentes relaciones de concentración astaxantina-escitonemina.

Esta diferente relación de concentraciones se aprecia comparando las intensidades de las bandas a 1155 cm^{-1} (ast) con 1168 cm^{-1} (scyt), así como las bandas a 1520 cm^{-1} (ast) y 1602 cm^{-1} (ast).

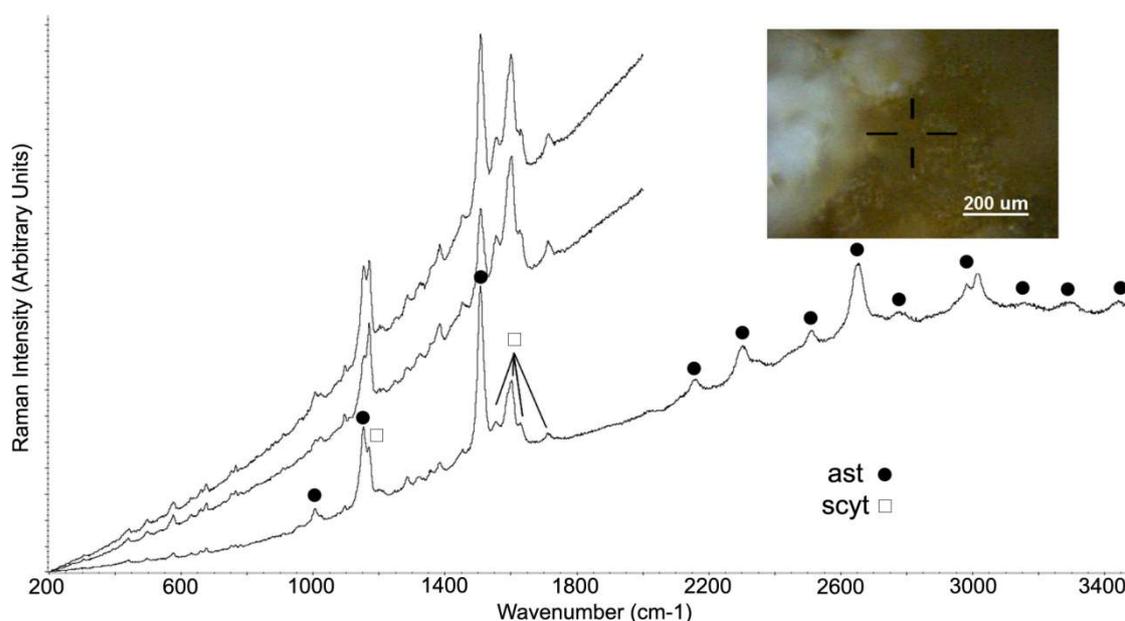


Figura 7.5: espectros Raman de las áreas marrones con diferentes relaciones de concentración astaxantina (ast)-escitonemina(scyt), según muestra la relación de intensidades en las bandas a 1155 cm^{-1} (ast) y 1168 cm^{-1} (scyt).

En las regiones amarillas del talo del liquen, fueron observadas siempre bandas Raman a 1003 , 1155 y 1521 cm^{-1} junto con señales a 963 , 1184 and 1207 cm^{-1} (ver Figura 7.6). Se observan diferencias evidentes en la región $2000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$. De hecho, el espectro a), con bandas a 2156 , 2309 , 2521 , 2672 y 3030 cm^{-1} fue atribuido al β -caroteno, mientras que el espectro b), con bandas a 2157 , 2305 , 2345 , 2525 , 2666 , 2985 , 3027 , 3306 y 3445 cm^{-1} fue atribuido a la zeaxantina [19]. Los detalles de los espectros Raman están así mismo incluidos para poder observar las bandas O-H.

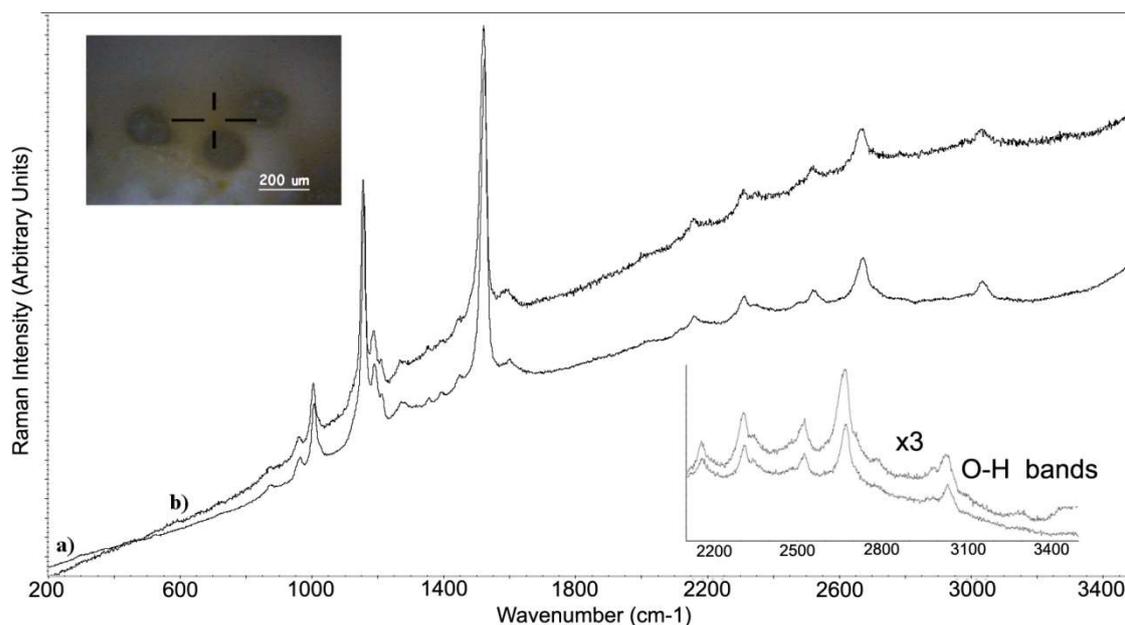


Figura 7.6: medidas Raman realizadas en las áreas amarillas. Se muestran además los detalles de las bandas O-H. a) β -caroteno; b) zeaxantina

Muchas señales de resonancia Raman detectados en números de onda superiores a 2000 cm^{-1} pueden ser explicados como combinaciones de las bandas principales ν_1 , ν_2 y ν_3 . Las correspondientes combinaciones y las posiciones de cada señal Raman obtenidas en este capítulo de Tesis se resumen en la Tabla 7.1. Sin embargo, otros picos Raman detectados entre 3100 y 3500 cm^{-1} , sin embargo, no pueden considerarse bandas de combinación, y se tratan de bandas de vital importancia para diferenciar los carotenos de las xantofilas.

En general, hay significativas diferencias espectrales entre las áreas microscópicas marrones y amarillas del talo del líquen. Además, en la misma muestra se observan también regiones naranjas, que no tienen nada que ver con las regiones hasta ahora descritas. La Figura 7.7 muestra dos espectros recogidos en estas zonas. El espectro a) presenta bandas a 460 , 467 , 572 , 1277 , 1555 y 1671 cm^{-1} pertenecientes a la parietina, el pigmento fotoprotector naranja descrito en los líquenes *Caloplaca* del capítulo 6 de

esta Tesis. Por lo tanto, este compuesto ha sido referenciado muchas veces en líquenes naranjas de los géneros *Caloplaca* y *Xanthoria*, pero ha sido pocas veces encontrado en líquenes con otros colores característicos. Además, en el mismo espectro a) se observan también otras señales Raman a 643, 1185, 1311, 1447, 1582, 1596, 1638 y 1654 cm^{-1} . Debido al solapamiento entre estas señales no se muestran bien definidas, lo cual dificulta su correcta identificación, pero tratándose de líquenes del género *Lecanora* pueden tratarse de las señales del ácido lecanórico [20]. El ácido lecanórico es un depsido sintetizado por el líquen siguiendo el camino de síntesis APP (acetyl polymanolyl pathway). Estas y otras vías de síntesis de los ácidos de los líquenes se incluyen en la Figura 1.10 de la introducción de esta Tesis.

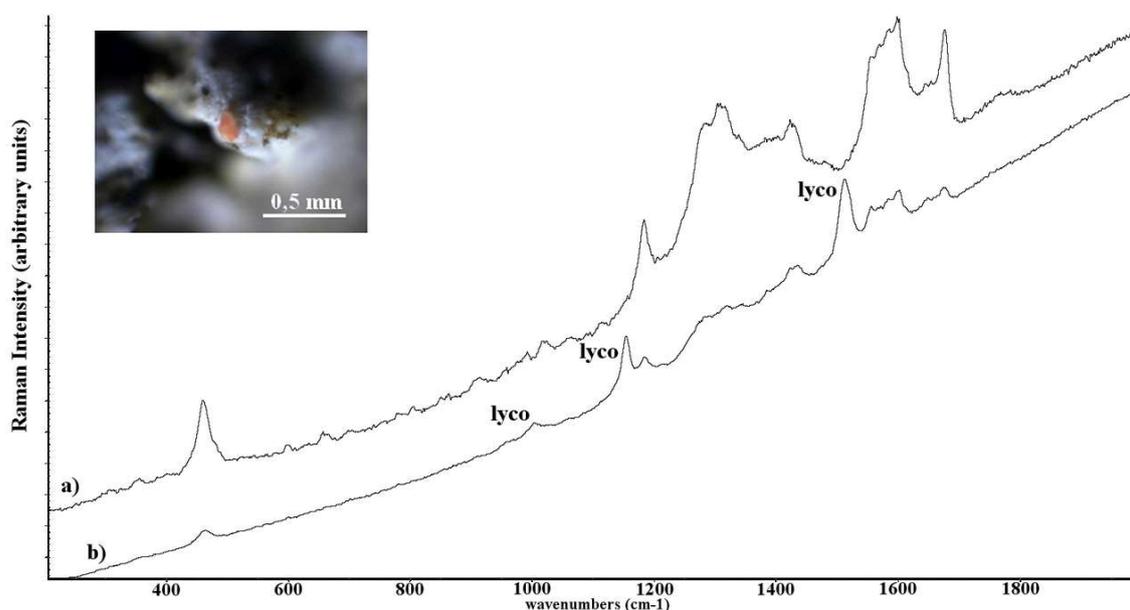


Figura 7.7: espectros Raman obtenidos en las regiones naranjas: espectro a) parietina y ácido lecanórico (par); espectro b) parietina y ácido lecanórico con licopeno (lyco).

El espectro b) de la Figura 7.7 muestra también señales Raman de la parietina y del ácido lecanórico junto con señales de un carotenoide a 1003 (ν_3), 1153 (ν_2), 1186 y 1512 (ν_1) cm^{-1} . La banda ν_1 de este carotenoide se encuentra posicionada entre la banda ν_1 de la xantofila astaxantina a 1507 cm^{-1} y la banda ν_1 característica del β -caroteno o la zeaxantina a 1520 cm^{-1} . Este desplazamiento Raman observado es bastante grande como

para concluir que estamos ante un carotenoide u otro, ó uno diferente. De hecho, este espectro fue asignado al licopeno.

Se incluyen así mismo en la Tabla 7.2 todas las señales Raman detectadas de los diferentes los pigmentos, así como los máximos de absorción en la región UV/Vis de cada uno de ellos. Esta información nos ayuda a entender el efecto de resonancia que presentan los carotenoides cuando son expuestos al láser verde. Lo primero que se observa es que la escitonemina y la parietina absorben más radiación en la región UV. Esta característica determina su función de disipar la luz solar y por ello son clasificados como pigmentos fotoprotectores de la radiación UV.

Además, la clorofila presenta dos máximos de absorción. El primero está localizado en la región Vis a 432 nm y el otro aparece en la región del IR-cercano (680-700 nm). Por ello, este pigmento no absorbe nada al excitarle con el láser verde de 514 nm, siendo la detección Raman de este compuesto más sensible con el láser rojo (785 nm).

Por el contrario, la absorción más intensa de los carotenoides ocurre en la región visible del espectro, es decir, entre 400 y 550 nm. Por lo tanto, el láser de 514 nm es capaz de promover el efecto de resonancia (o pre-resonancia). Bajo estas condiciones de medida el efecto de la fluorescencia se ve reducido considerablemente, ya que la radiación láser no coincide con el máximo de absorción. De todos modos, la radiación verde es suficiente para lograr la resonancia y conseguir un aumento notable de la intensidad de las bandas Raman de los carotenoides con respecto a señales de otros compuestos como la parietina, la escitonemina y la clorofila-A presentes en la misma muestra.

Tabla 7.2: Resumen de las señales Raman (en cm^{-1}) recogidos en diferentes áreas microscópicas con diferentes colores, usando los láseres a 785 nm y 514 nm.; vw: muy débil; w: débil; m: mediano; s: fuerte; vs: muy fuerte; nd: no detectado. Los correspondientes modos de vibración están incluidos entre paréntesis. También se incluyen los máximos de absorción en la región UV/Vis de cada pigmento.

Láser (nm)	Color del spot	Señales Raman (cm^{-1})	Pigmento asignado	Picos de absorción (nm)			
				UVC< 280	UVB =280-320	UVA= 320-400	Visible >400
514	Rojo oscuro	956w, 1006m (ν_3), 1152vs (ν_2), 1198w, 1507vs (ν_1), 2020w ($2\nu_3$), 2161m ($\nu_2+\nu_3$), 2302m ($2\nu_2$), 2353w, 2510m ($\nu_1+\nu_3$), 2652s ($\nu_1+\nu_2$), 2785m, 2983s, 3016s ($2\nu_1$), 3159m ($\nu_2+\nu_3$), 3294m ($2\nu_2+\nu_3$), 3444m	Astaxantina (ast)				480
514	Amarillo	867w, 962m, 1003s (ν_3), 1155vs (ν_2), 1185w, 1206m, 1267m, 1288m, 1314m, 1351w, 1389w, 1445m, 1521vs (ν_1), 2020w ($2\nu_3$), 2157m ($\nu_2+\nu_3$), 2305m ($2\nu_2$), 2345m, 2525m ($\nu_1+\nu_3$), 2666s ($\nu_1+\nu_2$), 2985w, 3027s ($2\nu_1$), 3306m ($2\nu_2+\nu_3$), 3445m	Zeaxantina (zea)				450 476
514	Amarillo	959m, 1003s (ν_3), 1155vs (ν_2), 1186s, 1207m, 1520vs (ν_1), 2156m ($\nu_2+\nu_3$), 2309m ($2\nu_2$), 2521m ($\nu_1+\nu_3$), 2672s ($\nu_1+\nu_2$), 3030m ($2\nu_1$)	β -caroteno (β -car)				425 450 479
514	Marrón	437w, 494w, 575w, 630w, 675w, 752m, 1024w, 1096w, 1169vs, 1285w, 1324w, 1356w, 1384w, 1453w, 1555s, 1588m, 1602vs, 1628s, 1710m	Escitonemina (scy)	52	00	70	

Tabla 7.2 (continuación): Resumen de las señales Raman (en cm^{-1}) recogidos en diferentes áreas microscópicas con diferentes colores, usando los láseres a 785 nm y 514 nm.; vw: muy débil; w: débil; m: mediano; s: fuerte; vs: muy fuerte; nd: no detectado. Los correspondientes modos de vibración están incluidos entre paréntesis. También se incluyen los máximos de absorción en la región UV/Vis de cada pigmento.

Láser (nm)	Color del spot	Señales Raman (cm^{-1})	Pigmento asignado	Picos de absorción (nm)			
				UVC< 280	UVB =280-320	UVA= 320-400	Visible >400
514	Naranja	460s, 467sh, 572w, 1277s, 1555s, 1568s, 1671vs	Parietina (par)	257	288		
514	Blanco-grisáceo	643w, 1185s, 1311s, 1447s, 1582s, 1596s, 1638m, 1654m,	Ácido lecanórico	210	308	325	
785	Verde	745s, 754sh, 914m, 987m, 1047m, 1108m, 1143m, 1185m, 1219m, 1285m, 1326m, 1355m, 1382m, 1487m, 1462m, 1549sh, 1603m	Clorofila-A (clo)				432 680 700

7.3. Relación entre el contenido en carotenoides y la contaminación ácida ambiental

La Tabla 7.2 anterior señala bandas Raman exclusivas para cada pigmento. Si de una muestra donde existen colonizaciones de líquenes se obtiene la imagen espectroscópica Raman y se asignan colores a bandas exclusivas para cada pigmento, se puede obtener una fotografía de la distribución espacial de cada pigmento dentro de la zona analizada.

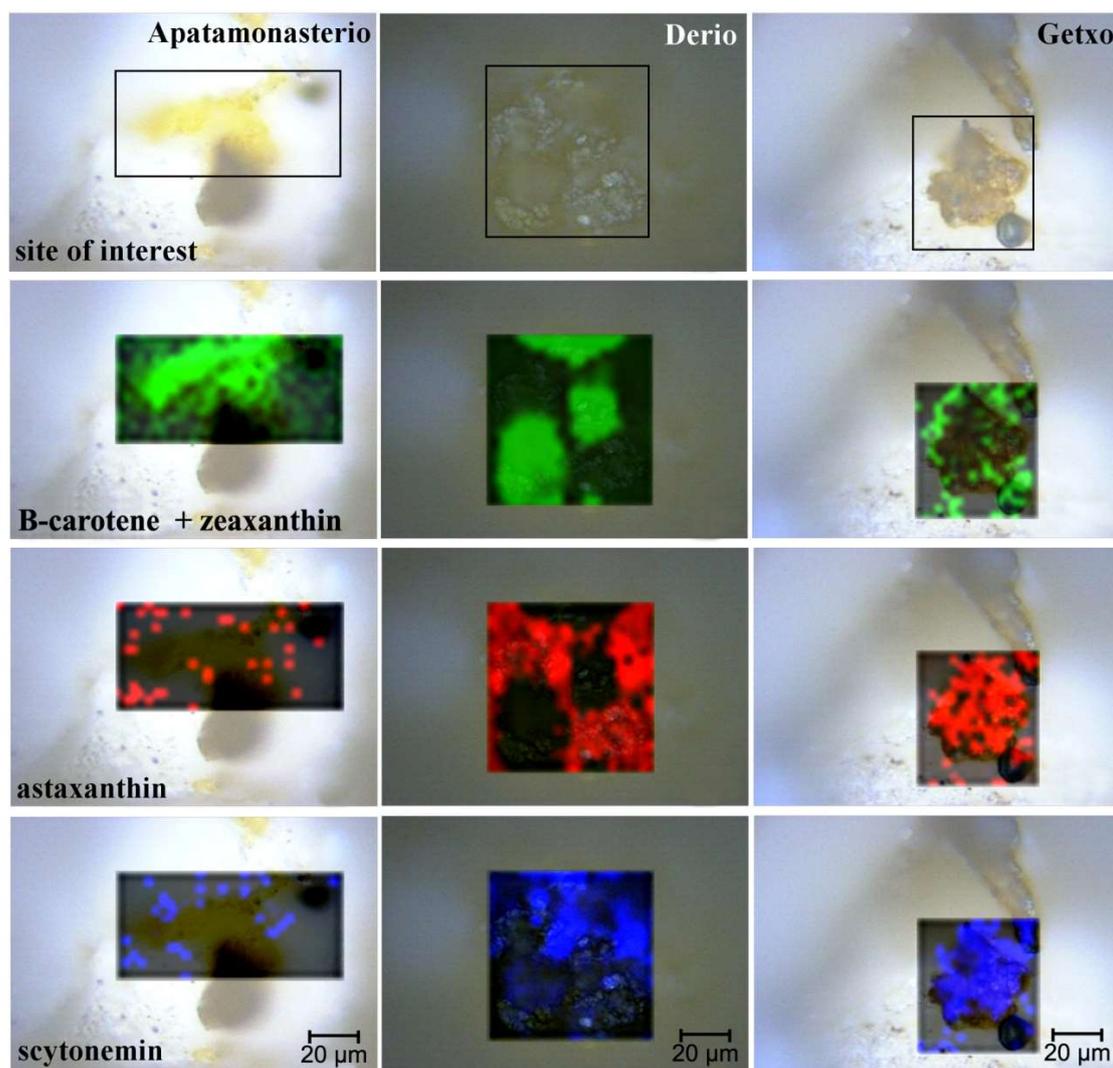


Figura 7.8: imagen Raman, con excitación láser a 514 nm, de zeaxantina + β -caroteno (1521 cm^{-1}) astaxantina (1507 cm^{-1}) y escitonemina (1602 cm^{-1}) obtenidas en muestras recogidas en emplazamientos de distinto tipo de atmósfera: Apatamonasterio (T2), Derio (T6) y Getxo (T8).

La Figura 7.8 ilustra varias muestras analizadas por imagen espectroscópica Raman donde se aprecia claramente la diferencia en el contenido carotenoide en líquenes de la especie *Lecanora muralis*. Las muestras pertenecen a líquenes recogidos en tres emplazamientos con diferentes niveles de estrés de gases ácidos: Apatamonasterio (T2), Derio (T6) y Getxo (T8). La presencia del pigmento fotosensible a la radiación UV escitonemina no puede atribuirse solamente a la exposición solar de las colonias, ya que

todos los emplazamientos reciben más o menos la misma radiación UV. Por lo tanto, la presencia de la escitonemina en la localización más contaminada (Getxo) tiene que ser debida a una estrategia de protección contra la influencia de grandes niveles de los gases ácidos CO₂, SO₂ y NO_x, provenientes de las inmediaciones que se encuentran altamente industrializadas.

Además, las muestras de líquenes presentan claras diferencias en el contenido carotenoides, el cual puede estar relacionado con el nivel de exposición a los gases ácidos. De hecho, los pigmentos carotenoides más oxidados estaban presentes en colonias de líquenes que estaban viviendo en áreas más contaminadas; esto es, el súper antioxidante astaxantina es el pigmento mayoritario en localizaciones altamente contaminadas o en colonias que sufren un impacto directo, como es el caso de Getxo y Derio.

En este caso, las condiciones de medida elegidas no permitían distinguir entre el β-caroteno y la zeaxantina, ya que el rango espectral donde aparecen las señales de los enlaces O-H no fue analizado. Se seleccionaron las señales Raman de mayor intensidad para llevar a cabo los mapeos, por lo tanto, los picos Raman utilizados para obtener la imagen Raman de cada pigmento fueron los siguientes: la señal total de β-caroteno más zeaxantina a 1521 cm⁻¹, astaxantina a 1507 cm⁻¹ y escitonemina a 1602 cm⁻¹.

Estos datos demuestran que, aunque los líquenes posean un mecanismo propio para protegerse ante la radiación UV, han desarrollado un nuevo mecanismo basado en la síntesis o transformación (oxidación) de ciertos carotenoides para protegerse frente al daño oxidativo que produce la contaminación atmosférica. Aunque este mecanismo por el momento no esté claro, parece que la naturaleza del contaminante no es crítica. Podemos decir que el contaminante mayoritario de cada emplazamiento es distinto, o al menos las características generales. En otras palabras, los gases ácidos contaminantes CO₂, SO_x y NO_x fomentan la aparición de carotenoides más oxidados, ya que la astaxantina es detectada en ambientes con grandes cantidades de estos contaminantes.

7.4. Discusión de los resultados y conclusiones

Este capítulo de Tesis demuestra que la presencia de un carotenoide u otro en el talo del líquen depende considerablemente del grado de contaminación al que están expuestos. Cuanto más alto es el grado de contaminación, más oxidado se muestra el carotenoide, siguiendo la siguiente secuencia β -caroteno \rightarrow zeaxantina \rightarrow astaxantina. Cuando aumenta la concentración de gases ácidos, la colonia del líquen parece que sintetiza carotenoides más oxidados o los previamente sintetizados son oxidados. Esto es, la notable presencia del super antioxidante astaxantina está limitado a sitios contaminados con altos niveles de concentración de gases ácidos.

La espectroscopia Raman de resonancia y la imagen Raman en particular, han demostrado ser las técnicas analíticas idóneas para la identificación y clasificación no destructiva de los carotenoides, tanto de los hidrocarburos o carotenos y sus derivados oxigenados o xantofilas. El estiramiento vibracional del enlace C=C del esqueleto de dobles enlaces conjugados de las moléculas carotenoides da lugar a la banda ν_1 , la cual aparece alrededor de 1500-1550 cm^{-1} y puede servir para identificar los carotenoides de acuerdo con el número de enlaces conjugados de estas estructuras. Pero muchas veces la extensión del espectro de resonancia obtenido con el láser de 514 nm a frecuencias más altas (3000-3500 cm^{-1}) es esencial para su correcta asignación. Si en el proceso bioquímico de los líquenes y en su metabolismo están implicados tanto los carotenos como las xantofilas, se recomienda la extensión de dichos espectros hasta los 3500 cm^{-1} . De hecho, la presencia o ausencia de las bandas O-H en la región 3100-3500 cm^{-1} , puede usarse para diferenciarlos.

La simultanea identificación de los carotenoides y/u otros pigmentos sería difícil en condiciones no resonantes, es decir, con el uso de un láser diferente al de 514 nm (o 532 nm en su caso). La presencia del pigmento fotoprotector de la radiación UV escitonemina, junto con bandas asociadas a los carotenoides se puede asociar a la presencia de especies extremófilas, ya que se ha observado también la escitonemina en ambientes altamente contaminados. Es más, el contenido en escitonemina es más

elevado en zonas con niveles de gases ácidos más elevados. Este pigmento actualmente considerado como una molécula filtradora de la radiación UV, ahora probablemente pueda considerarse como un pigmento protector y resistente a altos niveles de contaminación.

En resumen, los líquenes del género *Lecanora*, conocidos por su resistencia a elevadas concentraciones de gases ácidos y metales, pueden ser usados para clasificar diferentes áreas ya que su contenido en carotenoides está ligado al nivel de estrés medioambiental. Para beneficiarse del potencial que los líquenes *Lecanora* tienen, se puede proponer la espectroscopia Raman de resonancia y obtener imágenes Raman de diferentes áreas microscópicas

7.5. Bibliografía

- [1] S.E. Jorge-Villar y H.G.M. Edwards, "Lichen colonization of an active volcanic environment: a Raman spectroscopic study of extremophile biomolecular protective strategies", *Journal of Raman Spectroscopy*, 41 (2010) 63-67.
- [2] B. Moroni y L. Pitzurra, "Biodegradation of atmospheric pollutants by fungi: a crucial point in the corrosion of carbonate building stone", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62 (2008) 391-396.
- [3] M. Maguregui, U. Knuutinen, J. Trebolazabala, H. Morillas, K. Castro, I. Martinez-Arkarazo y J.M. Madariaga, "Use of in situ and confocal Raman spectroscopy to study the nature and distribution of carotenoids in brown patinas from a deteriorated wall painting in Marcus Lucretius House (Pompeii)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402 (2012) 1529-1539.
- [4] R. Withnall, B.Z. Chowdhry, J. Silver, H.G.M. Edwards y L.F.C. de Oliveira, "Raman spectra of carotenoids in natural products", *Spectrochimica Acta A*, 59 (2003) 2207-2212.
- [5] P. Vitek, J. Jehlička, H.G.M. Edwards y K. Osterrothová, "Identification of beta-carotene in an evaporitic matrix-evaluation of Raman spectroscopic analysis for astrobiological research on Mars", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393 (2009) 1967-1975.
- [6] P. Malaspina, S. Tixi, G. Brunialti, L. Frati, L. Paoli, P. Giordani, P. Modenesi y S. Loppi, "Biomonitoring urban air pollution using transplanted lichens: element concentrations across seasons", *Environmental Science and Pollution Research*, 2014; 22, 12836-12842.
- [7] T. Mrak, Z. Slejkovec y Z. Jeran, "Extraction of arsenic compounds from lichens", *Talanta*, 69 (2006) 251-258.

- [8] A. Ellery, D. Wynn-Williams, J. Parnell, H.G.M. Edwards y D. Dickensheets, "The role of Raman spectroscopy as an astrobiological tool in the exploration of Mars", *Journal of Raman Spectroscopy*, 35 (2004) 441-457.
- [9] S.E. Jorge Villar y H.G.M. Edwards, "Raman spectroscopy in astrobiology", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384 (2006) 100–113.
- [10] R. S. Larsen, J.N.B. Bell y P.W. James, "Lichen and bryophyte distribution on oak in London in relation to air pollution and bark acidity", *Environmental Pollution*, 146 (2007) 332-340.
- [11] S. Saxena, D.K. Upreti y N. Sharma, "Heavy metal accumulation in lichens growing in north side of Lucknow city, India", *Journal of Environmental Biology*, 28 (2007) 49-51.
- [12] M. Pérez-Alonso, K. Castro, I. Martínez-Arkarazo, M. Angulo, M. A. Olazabal y J.M. Madariaga, "Analysis of bulk and inorganic degradation products of stones, mortars and wall paintings by portable Raman microprobe spectroscopy", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 379 (2004) 42-50.
- [13] H. Morillas, M. Maguregui, I. Marcaida, J. Trebolazabala, I. Salcedo y J.M. Madariaga, "Characterization of the main colonizer and biogenic pigments present in the red biofilm from La Galea Fortress sandstone by means of microscopic observations and Raman imaging", *Microchemical Journal*, 121 (2015) 48–55.
- [14] H. Schulz, M. Baranska y R. Baranski, "Potential of NIR-FT-Raman spectroscopy in natural carotenoid analysis" *Biopolymers*, 77 (2005) 212-221.
- [15] J. de Gelder, K. de Gussem, P. Vandenabeele y L. Moens, "Reference database of Raman spectra of biological molecules", *Journal of Raman Spectroscopy*, 38 (2007) 1133-1147.

[16] V.E. de Oliveira, H.V. Castro, H.G.M. Edwards y L.F.C. de Oliveira, "Carotenes and carotenoids in natural biological samples: a Raman spectroscopic analysis", *Journal of Raman Spectroscopy*, 41 (2010) 642-650.

[17] H.G.M. Edwards, S.E. Jorge Villar, D. Pullan, M.D. Hargreaves, B.A. Hofmann y F. Westall, "Morphological biosignatures from relict fossilised sedimentary geological specimens: a Raman spectroscopic study", *Journal of Raman Spectroscopy*, 38 (2007) 1352-1361.

[18] H.G.M. Edwards, "A novel extremophile strategy studied by Raman spectroscopy", *Spectrochimica Acta A*, 68 (2007) 1126–1132.

[19] J.C. Merlin, "Resonance Raman spectroscopy of carotenoids and carotenoid-containing systems", *Pure & Applied Chemistry*, 57 (1985) 785-792.

[20] L. F.C. de Oliveira, P. C. C. Pinto, M. P. Marcelli, H. F. Dos Santos y H.G.M. Edwards, "The analytical characterization of a depside in a living species: spectroscopic and theoretical analysis of lecanoric acid extracted from *Parmotrema tinctorum* Del. Ex. Nyl. Lichen", *Journal of Molecular Structure*, 920 (2009) 128–133.

CAPÍTULO 8

Conclusiones integradoras

Los resultados obtenidos a lo largo del trabajo realizado, nos permiten afirmar que se han cumplido los objetivos planteados y gracias a las técnicas espectroscópicas de análisis *in situ* y de alta resolución, se han caracterizado y explicado diversos procesos de deterioro que han ocurrido y están ocurriendo en los diferentes materiales nuevos de construcción sometidos a varios tipos de impactos bioambientales.

Se han caracterizado mediante la espectroscopia Raman *in situ*, los procesos de deterioro que han ocurrido en ladrillos, morteros, hormigones y hormigones armados pertenecientes a edificios inmersos en procesos de rehabilitación y reforma, sometidos a diferentes estresores bioambientales. Tras ver que esta técnica de análisis es idónea para el estudio de los compuestos originales de los materiales pétreos y de los compuestos formados en el proceso de su deterioro, se ha establecido un protocolo

basado en este tipo de análisis como ayuda y apoyo a los profesionales que están restaurando el edificio, proponiendo nuevos métodos analíticos que pueden mejorar la durabilidad de los materiales nuevos de construcción, ya que sería posible diseñar un plan de mantenimiento *ad-hoc* a partir del conocimiento de los impactos que sufre el edificio, de las características de sus materiales y de la naturaleza de los productos de degradación generados.

Estos análisis por espectroscopia Raman *in situ* han servido también para proponer el plan de muestreo más adecuado a partir de un primer diagnóstico de las patologías encontradas en los materiales de construcción, evitando así posteriores muestreos innecesarios que pudieran dañar aún más la integridad de los edificios, abaratando el costo de análisis.

Tras la correcta realización del plan de muestreo propuesto, y cuando la comprensión del proceso de deterioro requiere de análisis más exhaustivos, se han estudiado los diversos materiales muestreados con técnicas espectroscópicas de alta resolución a partir de las muestras tomadas de distintas partes del edificio.

Esta estrategia permite caracterizar mediante la espectroscopia Raman compuestos originales de los materiales pétreos como los carbonatos y los silicatos, y numerosas sales de deterioro de diferente solubilidad como carbonatos, sulfatos y nitratos de metales alcalinos y alcalinotérreos. En consecuencia, se han explicado más detalladamente los procesos de cristalización de diversas sales solubles, así como el posible origen ambiental de los cationes y aniones necesarios para su formación.

Cuando los protagonistas del deterioro de los materiales pétreos han sido los líquenes, también se han aclarado diversos procesos entorno a ellos y a los sustratos donde están incrustados. En particular, se ha estudiado al detalle la interfaz liquen-sustrato de diversos líquenes (géneros *Caloplaca* y *Lecanora*) sometidos a diferentes niveles de concentración de gases ácidos atmosféricos, dando lugar a la obtención de nuevos resultados que hasta ahora no se habían publicado en la bibliografía,

especialmente los relacionados con las imágenes espectroscópicas Raman que muestran la distribución de distintos carotenoides y de la escitonemina.

Además, se han encontrado nuevos compuestos relacionados con el metabolismo de los líquenes, como los oxalatos de calcio y los diversos carbonatos de calcio, magnesio y hierro, los cuales estaban ausentes en el material pétreo constituido en su mayoría por carbonato de calcio y silicatos.

Los compuestos detectados entorno a los líquenes han sido de diversa naturaleza, tanto orgánicos como inorgánicos, y gracias a su correcta caracterización, se ha establecido también una relación entre el estrés ambiental que padecen estos organismos y los compuestos hallados. Teniendo en cuenta que los líquenes captan la mayoría de nutrientes y el agua de la atmósfera, se ha visto que dependiendo del nivel de concentración de gases ácidos y material particulado de la atmósfera donde están viviendo, sintetizan diferentes pigmentos orgánicos y biominerales no descritos en la bibliografía consultada.

El estudio de los pigmentos detectados en los líquenes ha dado lugar a nuevos hallazgos y al desarrollo de nuevos métodos de análisis. Se han hallado en las mismas muestras diferentes pigmentos clave en la adaptación al medio de estos líquenes, como son la clorofila, los carotenoides, la parietina y la escitonemina.

Tras realizar los análisis con técnicas espectroscópicas de alta resolución y en base a los resultados de imagen Raman de resonancia obtenidos, se ha demostrado que los líquenes, y más concretamente los pigmentos carotenoides observados en ellos, sirven para evaluar la calidad del aire donde están viviendo, afianzando así su papel tan importante en el campo de la biomonitorización y la bioindicación.

La calidad de los espectros Raman obtenidos, tanto de los compuestos inorgánicos como de los orgánicos de las muestras pertenecientes a los diversos trabajos de esta tesis, ha sido muy alta. Se han obtenido espectros con todas las señales Raman de

muchos compuestos en muestras reales, los cuales pueden servir de referencia para futuros análisis.

Trabajos Futuros

En esta Tesis se ha avanzado en el conocimiento de los impactos bioambientales en los materiales, clásicos y modernos de construcción, haciendo uso de técnicas espectroscópicas que hoy día se pueden usar con instrumentación portátil de una muy buena resolución, y que se pueden complementar con las mismas técnicas espectroscópicas pero de alta resolución.

En este sentido, nos parece interesante explorar las posibilidades que ofrece la imagen de espectroscopia Raman de alta resolución para visualizar cómo y en que extensión se distribuyen los compuestos que están simultáneamente presentes en las muestras. Esto ayudará a incluso, desmonar ciertos mitos que se han generado a partir de conclusiones obtenidas mediante análisis punto a punto. Pongamos un ejemplo.

Hasta este trabajo, se había publicado mediante estudios basados en análisis puntuales de espectroscopia Raman que la escitonemina era sintetizada por los líquenes sólo en ambientes extremos, tanto naturales (desiertos, hielos, etc.) como antropizados (alta concentración de gases ácidos). Sin embargo, usando imagen de espectroscopia Raman se ha podido ver como los líquenes también sintetizan la escitonemina en ambientes poco extremos (de ligero impacto por contaminación difusa), pero su presencia es simplemente minoritaria respecto de otros pigmentos mayoritarios como son los beta-carotenos, o carotenoides con bajo nivel de oxidación. Es decir, pasamos de “no hay escitonemina” al “la escitonemina está presente en muy bajas proporciones”, lo que representa un indudable avance en el diagnóstico de los impactos medio ambientales.

Por otro lado, la mayoría de estudios publicados hasta el momento hacía referencia a los impactos ambientales producidos por compuestos químicos procedentes de actividades antrópicas, no de productos producidos por organismos vivos. Sin embargo,

esta Tesis doctoral deja claro que el estudio del estado de conservación de un edificio deberá contemplar el conjunto de condiciones bioambientales alrededor del mismo. De lo contrario, se puede hacer un diagnóstico parcial de las causas que producen los deterioros observados, y en consecuencia, se impulsarán acciones correctoras que no darán adecuada respuesta a todas las fuentes de impacto que están actuando, y que seguirán actuando, sobre el edificio en estudio.

ANEXO I

Glosario

Compuestos inorgánicos

Aftitalita, A, $K_3Na(SO_4)_2$

Amazonita, Am, $KAlSi_3O_8$

Anatasa, An: TiO_2

Anhidrita, Anh, $CaSO_4$

Ankerita, ank, $FeCa(CO_3)_2$

Aragonito, Ar, $CaCO_3$

Arcanita, Ak, K_2SO_4

Calcita alta en Magnesio, HMC

Calcita, Ca, $CaCO_3$

Carbón, C, C

Cuarzo, Q, SiO_2

Dolomita, do, $MgCa(CO_3)_2$

Goetita, Go, $\alpha\text{-FeO(OH)}$

Hematita, He, Fe_3O_4

Lepidocrocita, L, $\gamma\text{-FeO(OH)}$

Mirabilita, M, $Na_2SO_4 \cdot 10 H_2O$

Nitro, N, KNO_3

Singenita, Sy, $K_2Ca(SO_4)_2 \cdot H_2O$

Thaumasita, $Ca_3Si(CO_3)(SO_4)(OH)_6 \cdot 12(H_2O)$

Thenardita, T, Na_2SO_4

Vaterita, Va, $CaCO_3$

Yeso hemihidrato, GH, $CaSO_4$

Yeso, Gy, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$

Compuestos orgánicos

Ácido lecanórico,

Astaxantina, ast

Carotenoide, car

Clorofila-A, clo

Escitonemina, scyt

Parietina, par

Weddellita, wd $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Whewellita, ww $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Zeaxantina, zea

β -caroteno, β -car

ANEXO II

Contribuciones científicas

El trabajo recogido en esta memoria ha producido resultados que han sido recogidos en varios artículos científicos y comunicaciones a congresos, nacionales e internacionales. La relación de los mismos es la siguiente:

Publicaciones en Revistas ISI y capítulos de libro

- I. Ibarrodo, I. Martínez-Arkarazo, J. M. Madariaga, *Biominerals resulting from biodeterioration promoted by different Saxicolous lichens*, *Macla*, 2012, **16**, 64-65.
- O. Gomez-Laserna, N. Prieto-Taboada, I. Ibarrodo, I. Martínez-Arkarazo, M.A. Olazabal, J. M. Madariaga, *Raman spectroscopic characterisation of bricks and mortars: the advantages on non-destructive and in-situ analyses*, in *Brick and Mortar Research* (Ed. S. Manuel-Rivera and A.L. Pena Diez), pp. 195-214, Nova Publishers, New York, 2012. ISBN 978-1-61942-927-7
- N. Prieto-Taboada, I. Ibarrodo, O. Gomez-Laserna, I. Martínez-Arkarazo, M.A. Olazabal, J. M. Madariaga, *Buildings as repository of hazardous pollutants of anthropogenic origin*, *Journal of Hazardous Materials*, 2013, **248-249**, 451-460
- I. Ibarrodo, N. Prieto-Taboada, I. Martínez-Arkarazo, J. M. Madariaga, *Resonance Raman imaging as a tool to assess the atmospheric pollution level: carotenoids in Lecanoraceae lichens as bioindicators*, *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, **23**, 6390-6399.
- I. Ibarrodo, I. Martínez-Arkarazo, J. M. Madariaga, *Biominalization in saxicolous lichens: Raman spectroscopic study supported by XRF and SEM/EDS analyses*, *Journal of Raman Spectroscopy*, 2017, **48**, 161-169.
- I. Ibarrodo, U. Balziskueta, I. Martínez-Arkarazo, C. García-Florentino, G. Arana, A. Azcarate, J. M. Madariaga, *Portable Raman can be the new hammer for architects restoring 20th century Built Heritage elements made of reinforced concrete*, *Journal of Raman Spectroscopy*, 2020, En revision.

Comunicaciones a Congresos

- I. Ibarrodo, N. Goienaga, J.A. Carrero, I. Martinez-Arkarazo, J. M. Madariaga, *Raman spectroscopy screening prior to the chromatographic quantification of some urban pollutants affecting to modern building materials*, 9th Highway and Urban Environment Symposium, Madrid, 2008.
- I. Ibarrodo, N. Goienaga, A. Sarmiento, M. Maguregui, I. Martinez-Arkarazo, K. Castro, M.A. Olazabal, G. Arana, A. de Diego, N. Etxebarria, J. M. Madariaga, *Characterisation of atmospheric and biological degradations on modern construction materials by means of ultramobile Raman spectroscopy*, EMEC9 - 9th European Meeting on Environmental Chemistry, Girona, 2008.
- A. Vallejo, N. Goienaga, J.A. Carrero, I. Ibarrodo, L.A. Fernández, J. M. Madariaga, *Bio-passive samplers: application of lichen communities for metal pollution monitoring in an abandoned mine*, 4th International Passive Sampling Workshop and Symposium, Krakow (Poland), 2011.
- I. Ibarrodo, I. Martinez-Arkarazo, J.M. Madariaga, CORALS II - *The suitable Carotene and Xanthophyll identification in Lecanora Lichens: Resonance Raman Spectroscopy Study*, Conference on Micro-Raman and Luminescence studies in the Earth and Planetary Sciences, Madrid, 2011.
- O. Gomez-Laserna, H. Morillas, N. Prieto-Taboada, I. Ibarrodo, I. Martinez-Arkarazo, M.A. Olazabal, J. M. Madariaga, ISMEC11 - *Raman Spectroscopy study of a salt weathering process in mortars of a Historical Palace House*, XXII International Symposium on Metal Complexes , Taormina (Italy), 2011.
- N. Prieto-Taboada, I. Ibarrodo, O. Gomez-Laserna, I. Martinez-Arkarazo, M.A. Olazabal, J.M. Madariaga, *In situ Raman spectroscopy applied to the analysis on concrete made urban buildings*, EMEC12 - 12th European Meeting on Environmental Chemistry , Clermont-Ferrand (France), 2011.

- I. Ibarrodo, N. Prieto-Taboada, I. Martinez-Arkarazo, J.M. Madariaga, *Resonance Raman study focused in the identification of carotenoids present in Lecanoraceae Lichens: a new Bioindication strategy related with environmental stress*, EMEC12, 12th European Meeting on Environmental Chemistry, Clermont-Ferrand (France), 2011.
- I. Ibarrodo, U. Balziskueta, I. Martinez-Arkarazo, C. García-Florentino, G. Arana, A. Azcarate, J. M. Madariaga, *Portable Raman: the new hammer for architects restoring 20th century Built Heritage elements made of reinforced concrete*, RAA2019, 10th International Congress on the Application of Raman Spectroscopy in Art and Archaeology, Potsdam (Germany), 2019.