ISBN: 978-628-96613-1-6. ISSN: 2414-6390. Digital Object Identifier: https://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2025.1.1.1832

The potential of *Bacillus subtilis* in self-healing of cracked concrete: Evaluation of calcium carbonate bioprecipitation

Dana Alessandra Alhuay Caoguila[1]; Jose Hugo Silva Ipanaque[2]; Esther Joni Vargas Chang[3]; Eduardo Yupanqui Apolinario[4]; Sol Angel Rodríguez Carrillo[5]; José Miguel Gonzales Rivasplata[6]
[1]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, N00217517@upn.pe
[2]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, hugo.silva@upn.pe
[3]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, esther.vargas@upn.pe
[4]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Industrial, Universidad Privada del Norte, Perú, N00429472@upn.pe
[5] Departamento de Ciencias, Universidad Privada del Norte, Lima, Perú, sol.rodriguez@upn.edu.pe
[6]Escuela de Posgrado, Universidad Ricardo Palma, Perú, 202312678@urp.edu.pe

Abstract*– The present study aims to evaluate the potential of the bacterium Bacillus subtilis for the self-repair of cracked concrete (concrete with compressive strength of 210 kg/cm²) by the process of calcium carbonate bioprecipitation. Microbiological and physicochemical evaluations of the bacterial strain used were carried out, as well as quality control of the construction materials, specifically fine and coarse aggregates, for the design of the concrete mix. In the laboratory, the bacterium Bacillus subtilis was characterized under different pH. Mechanical compression and bending tests were performed on cylindrical, prismatic and cubic specimens, to evaluate the effectiveness of the repair system based on the mechanical properties and self-healing capacity of the concrete. The results showed that calcium carbonate bioprecipitation allowed the repair of fissures up to 0.15 mm wide in a period of 7 days. In conclusion, calcium carbonate bioprecipitation mediated by Bacillus subtilis is presented as an effective alternative for the self-repair of fissures in concrete f'c 210 kg/cm², especially in alkaline conditions, which makes it a possible solution for urban and industrial structures.

Keywords*-- Biocementation, MICP, hydraulic concrete, crack self-healing, self-healing concrete.

Potencial de *Bacillus subtilis* en la autorreparación de concreto fisurado: Evaluación de la bioprecipitación de carbonato de calcio

Dana Alessandra Alhuay Caoguila[1]; Jose Hugo Silva Ipanaque[2]; Esther Joni Vargas Chang[3]; Eduardo Yupanqui Apolinario[4]; Sol Angel Rodríguez Carrillo[5]; José Miguel Gonzales Rivasplata[6]
[1]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, N00217517@upn.pe
[2]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, hugo.silva@upn.pe
[3]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, esther.vargas@upn.pe
[4]Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Industrial, Universidad Privada del Norte, Perú, N00429472@upn.pe
[5]Departamento de Ciencias, Universidad Privada del Norte, Lima, Perú, sol.rodriguez@upn.edu.pe
[6]Escuela de Posgrado, Universidad Ricardo Palma, Perú, 202312678@urp.edu.pe

Resumen*– El presente estudio tiene como objetivo evaluar el potencial de la bacteria Bacillus subtilis para la autorreparación de concreto fisurado (concreto con resistencia a la compresión de 210 kg/cm²) mediante el proceso de bioprecipitación de carbonato de calcio. Se llevaron a cabo evaluaciones microbiológicas y fisicoquímicas de la cepa bacteriana utilizada, así como el control de calidad de los materiales de construcción, específicamente los agregados finos y gruesos, para el diseño de la mezcla de concreto. En el laboratorio, se realizó la caracterización de la bacteria Bacillus subtilis bajo diferentes pH. Se realizaron pruebas mecánicas de compresión y flexión en probetas cilíndricas, prismáticas y cúbicas, para evaluar la efectividad del sistema de reparación en función de las propiedades mecánicas y la capacidad de autorreparación del concreto. Los resultados mostraron que la bioprecipitación de carbonato de calcio permitió la reparación de fisuras de hasta 0.15 mm de ancho en un periodo de 7 días. En conclusión, la bioprecipitación de carbonato de calcio mediada por Bacillus subtilis se presenta como una alternativa efectiva para la autorreparación de fisuras en concreto f'c 210 kg/cm², especialmente en condiciones alcalinas, lo que la convierte en una posible solución para las estructuras urbanas e industriales.

Palabras clave-- biocementación, MICP, hormigón hidráulico, autorreparación de fisuras, hormigón autorreparable.

I. INTRODUCCIÓN

El concreto es un material ampliamente utilizado en la construcción; sin embargo, su durabilidad puede verse comprometida por problemas como la erosión y agrietamiento, especialmente en zonas sometidas a ciclos alternados de humedad y sequedad provocados por fluctuaciones del nivel del agua [1]. Estas condiciones provocan una pérdida progresiva en la resistencia y una reducción de la vida útil de la estructura, lo que conlleva elevados costos de mantenimiento y reparación [2].

En base a esto, diversos estudios han explorado el fenómeno de biomineralización, un proceso biológico de ciertas bacterias capaces de inducir la formación de compuestos minerales, como la calcita [3]. Este enfoque biotecnológico representa una alternativa innovadora y prometedora para el desarrollo de materiales similares al cemento. Por otro lado, investigaciones previas han demostrado, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), la presencia de calcita en la incorporación de bacterias en el concreto [4]. Así mismo, se ha evidenciado bacterias con la capacidad de sobrevivir en entornos altamente alcalinos, manteniendo su actividad metabólica [5].

La precipitación de calcita inducida por bacterias (BCP) promete ser una solución respetuosa con el medio ambiente, sostenible y económica, abordando diversos problemas medioambientales y de ingeniería [6]. Dentro de estos organismos se estudia la bacteria *Bacillus Subtilis* (*BS*), que han sido incorporada en el concreto para la reparación de fisuras. Por ejemplo, la Ref. [7] ha reportado preparaciones con diferentes relaciones agua/cemento (a/c), logrando reparar fisuras en muestras con un ancho menor a 0.2 mm en un tiempo. Así mismo, un estudio en vigas de concreto autorreparables, utilizando *BS* en una concentración del 3%, aumentó la capacidad de la viga en un 20,2% y redujo la deflexión en un 15,7%, en comparación con la muestra control sin bacterias [8]. Por otro lado, se realizaron estudios inmovilizando la bacteria *BS* con biocarbón de bagazo molido para facilitar la precipitación de carbonato de calcio ($CaCO_3$) en el concreto, exhibiendo un comportamiento mecánico mejorado de 23,18% en la resistencia a la compresión después de 56 días de curado y una curación efectiva de grietas con un sellado máximo del 100% [9]. De igual forma, se utilizaron biopolímeros de almidón como protección y fuente de carbono para la bacteria *BS*, los resultados experimentales muestran que las células bacterianas inmovilizadas en el biopolímero son capaces de sobrevivir y mantener una actividad bacteriana significativa [10]. Así mismo, la Ref. [11] empleó la bacteria *BS* suplementada con una fuente de calcio, elaborando cubos de concreto con diferentes concentraciones de células bacterianas y se observó una mejora significativa en la resistencia a la compresión de los cubos de concreto con la adición de bacterias, obteniendo los mejores resultados a una concentración celular de 10^5 células/mL, con aumentos de resistencia del 27%, 26%, 14% y 13% a los 7, 14, 28 y 56 días de curado, respectivamente. Igualmente, se llevaron a cabo pruebas preliminares en morteros con *BS* CV16, demostrando su capacidad de autocuración de grietas y un aumento en la resistencia a la compresión después de 63 días de curado en fisuras de hasta 0.3 mm, sin necesidad de urea ni calcio

adicionales. Además, los análisis de los cristales precipitados se analizaron por difracción de rayos X (XRD) y SEM confirmando la presencia de calcita y vaterita (variantes de carbonato) [12]. Del mismo modo, Ref. [13] realizó la caracterización de la bioprecipitación de cristales de $CaCO_3$ inducida por *BS* en un sistema semisólido, la biomineralización realizada por *BS* afectó el pH llevándolo hasta valores de pH 10. La morfología de los cristales sugiere que las bacterias influyen en la nucleación mineral alrededor de sus paredes celulares. También, en otro estudio con incorporación revelan que la adición de *BS* y *Bacillus megaterium* mejora las propiedades mecánicas del concreto, especialmente en una concentración del 1,0% de peso de cemento, así como la recuperación de la resistencia a la compresión y a la flexión en muestras de concreto simple y reforzado después de un período de curación de 56 días [14].

En conclusión, la aplicación de *BS* en concreto mediante la formación controlada de $CaCO_3$ tiene un gran potencial para fortalecer las estructuras y prolongar su vida útil. Además, el uso de biopolímeros y otras técnicas de inmovilización de bacterias abre nuevas posibilidades para optimizar estos procesos biotecnológicos. El objetivo del presente estudio es evaluar la incorporación de *BS* en concreto con una resistencia a la compresión de 210 kg/cm², analizando sus propiedades mecánicas de compresión y flexión, así como su capacidad de autorreparación.

II. METODOLOGÍA

A. *Materiales y equipos*

Se emplearon los siguientes reactivos (grado analítico) e insumos:

i. Cristal violeta, yodo, alcohol acetona y safranina, utilizado para la coloración gram. Lactato de calcio pentahidratado (mixo lab, Perú), presentado en polvo granulado. Agar plate count (PCA), medio de cultivo para aislamiento y conteo de colonias. Agregado fino, agregado grueso, cemento portland tipo I, insumos para el diseño de mezcla. Arcilla expandida (AE), utilizado como medio encapsulante de *BS* y lactato de calcio ($CaLac{\cdot}5H_2O$). Cepa de bacteria *BS*, de 1.0 x 10^9 UFC/mL (Bioalternativa, Perú).

ii. Los equipos empleados fueron: incubadora (Memmert), balanza analítica (Ohaus), microscopio (Zeiss), estereoscopio (Amscope), espectrofotómetro (DS5), estufa (Memmert), tamices, centrífuga (Ohaus), equipo de resistencia de compresión y flexión.

B. *Evaluación de BS*

Para la caracterización de la cepa *BS* se desarrolló el protocolo de encapsulación de AE con algunas modificaciones, como se ha reportado previamente [15], para nuestro caso utilizamos $CaLac{\cdot}5H_2O$ como fuente de carbono y calcio. Se evaluó el rango de crecimiento sometido a diferentes pH a temperatura de 37°C. Luego, se realizó una validación de coloración gram, y posteriores pruebas aeróbicas de crecimiento bacteriano. Además, se realizó el método de evaluación fisicoquímica para la identificación de $CaCO_3$ con algunas modificaciones, donde se utilizó pruebas espectrofotométricas.

C. *Control de los agregados finos y gruesos*

En el control de agregado fino y grueso se determinaron parámetros de granulometría, contenido de humedad, peso unitario, peso específico, absorción de agua para la elaboración de probetas cilíndricas, prismáticas y cubos elaborados con concreto incorporado con *BS* en el diseño de mezcla del concreto F'c 210 kg/cm^2.

D. *Preparación de probetas cilíndricas, prismáticas y cubos incorporados con BS*

Se realizó el modelo de mezcla de proporciones de agregado fino y grueso con la incorporación de la bacteria *BS* en la preparación del concreto en las probetas cilíndricas y prismáticas (F'c 210 Kg/cm^2) y los cubos.

E. *Pruebas mecánicas y evaluación de curación del concreto*

Se realizó pruebas mecánicas del concreto en compresión (NTP 339.034) y resistencia a la flexión (ASTM C78) a las probetas de concreto en distintos tiempos (7 días, 14 días, 21 días y 28 días) de igual manera con los cubos. Por otro lado, se evaluaron la autorreparación de las grietas y fisuras mediante equipos ópticos (estereoscopio y microscopio) en los cubos incorporados con *BS.*

III. RESULTADOS

A. *Evaluación de BS*

Se evaluó la bacteria *BS* en el laboratorio realizando métodos analíticos considerando técnicas microbiológicas y fisicoquímicas.

iii. *Evaluación microbiológica*

La evaluación microbiológica de la bacteria *BS* se desarrolló mediante el siguiente protocolo de activación de bacteria, agregando sobre una plata Petri con PCA + 1 mL de *BS* + 1 mL de $CaLac{\cdot}5H_2O$ 10mM, esparcidos con una espátula de drigalsky, preparado por duplicado e incubado a 37°C por un tiempo de 48 horas para posterior realizar la coloración Gram, como se indica en la Fig.1.

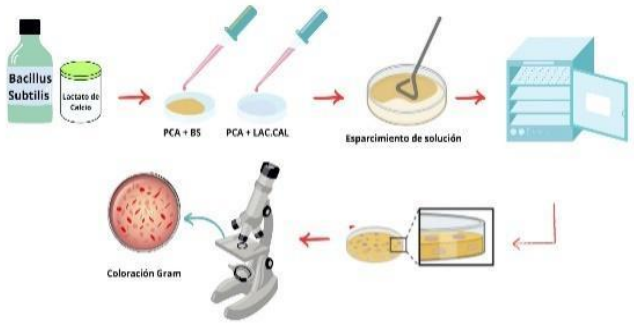


Fig.1. Esquema de protocolo de evaluación microbiológica de la bacteria *BS.* (Elaboración propia)

iv. *Coloración Gram*

Se realizó una coloración gram demostrando experimentalmente la forma de un bacilo gram positivo utilizando un microscopio con un objetivo 100X, como se muestra en la Fig.2.



Fig.2. Coloración Gram de *BS,* observación realizada con microscopio con objetivo 100X. (Elaboración propia)

v. Evaluación de BS en diferentes pH

La prueba se realizó a diferentes pH 1, 4, 7, 10 y 13, ajustados gota a gota con HCl 0.2N y NaOH 0.2N, para posteriormente ser incubado a una temperatura de 37° C por un periodo de tiempo de 7 días, cada uno de los tubos consta de 1 mL de cepa de 1.0 x 10^9 UFC/mL + 1 mL de 10mM de $CaLac \cdot 5H_2O$ + 3 mL de agua destilada estéril por duplicado, como se muestra en la Fig.3.

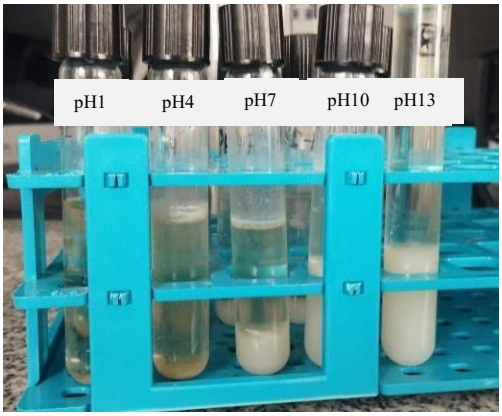


Fig.3. Tubos de ensayo con *BS* + $CaLac \cdot 5H_2O$ en medios de diferentes pH posterior a una incubación de 7 días a 37°C. (Elaboración propia)

En los tubos de ensayo acondicionados con pH 1 y 4 se muestra poca actividad de bioprecipitación, mientras que los tubos de ensayo de pH donde se desarrolla mayor bioprecipitación es en los medios alcalinos pH 10 y 13.

vi. Prueba de crecimiento en placa

Se adiciono 1 mL de solución en cada uno de los tubos de ensayo a diferentes pH, preparados como indica el apartado anterior y se incubó por 48 horas, observando mayor presencia de bacterias en los pH de 10 y 13 en diluciones de $1x10^{-5}$ en medio de PCA, realizando cada ensayo por duplicado como se observa en la Fig.4.

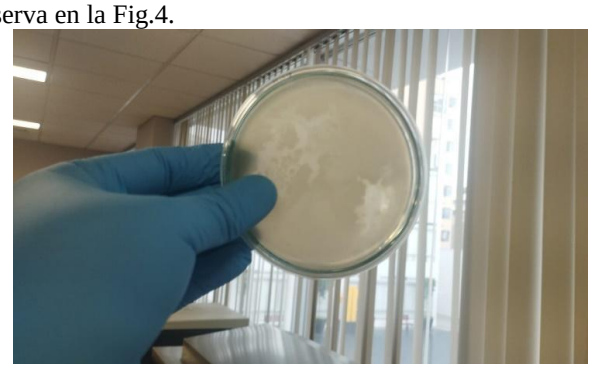


Fig.4. Placa en medio de PCA en pH 10 con cultivo de *BS*. (Elaboración propia)

vii. Evaluación fisicoquímica

La evaluación fisicoquímica de la bacteria *BS* se realizó por métodos instrumentales de espectrofotometría UV-VIS. Se preparó una solución del bioprecipitado seco en una concentración de solución de 50 partes por millón (ppm) la gráfica de las lecturas espectrofotométricas de los diferentes pH de la solución preparada en los cuales los bioprecipitados sólidos fueron analizados por el espectrofotómetro de doble haz como se observa en la Fig.5. Se realizó un barrido entre las longitudes de 190 a 450 nm, obteniendo picos de absorbancia en el rango de 203 a 205 nm.

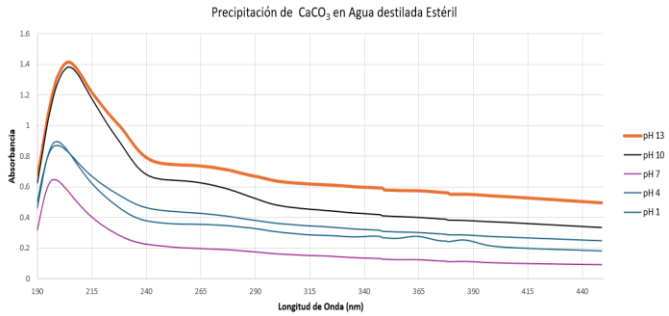


Fig.5. Lectura espectrofotométrica en rango UV de 50 ppm de $CaCO_3$. (Elaboración propia)

B. Pruebas de control de agregado fino y grueso

Se realizó pruebas para determinar parámetros de cada agregado fino y grueso para optimizar la mezcla del concreto mediante los siguientes ensayos:

i. Análisis Granulométrico

Este ensayo en los agregados tal como se estipula en la NTP 400.012 proporciona una información esencial para la distribución de tamaños de las partículas en estos materiales, indicando la admisibilidad para el diseño de mezcla mediante el uso de tamices, como indica la Fig.6.

A partir del análisis granulométrico, se obtiene el módulo de fineza (MF), un índice numérico que representa las características granulométricas de los agregados. Este valor se calcula, según se indica en la NTP 400.037, en el caso de

agregado fino, el MF suele situarse entre 2.3 y 3.1, mientras que para el agregado grueso no se establece un rango específico de MF.

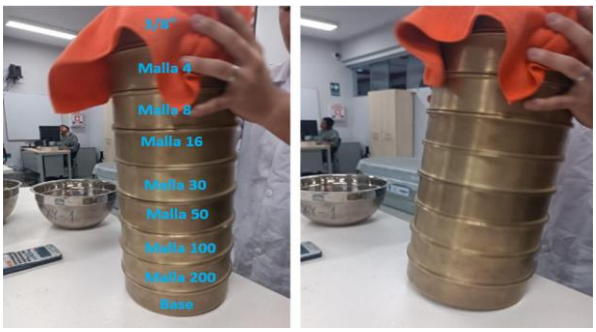


Fig.6. Tamizado de agregados gruesos (piedras) y finos (arena). (Elaboración propia)

Finalmente, se determinó que el material evaluado cumple con los requisitos establecidos por la Norma Técnica Peruana (NTP 400.012), el detalle experimental se encuentran en las Tablas 1, 2 y las Fig.7 y 8.

TABLA 1
ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO DE AGREGADO FINO

TAMIZ		Peso Retenido (Gr)	Peso Retenido (%)	Retenido Acumulado (%)	Pasante Acumulado (%)
Pulg.	mm				
3/8"	9.50	0.00	0.00	0.00	100.00
N° 04	4.75	15.50	2.80	2.80	97.20
N° 08	2.36	74.60	13.48	16.28	83.72
N° 16	1.18	115.30	20.83	37.12	62.88
N° 30	0.60	132.60	23.96	61.08	38.92
N° 50	0.30	85.60	15.47	76.54	23.46
N° 100	0.15	83.40	15.07	91.62	8.38
N° 200	0.075	30.50	5.51	97.13	2.87
FONDO		15.90	2.87	100.00	0.00
TOTAL		553.40	100.00	-	-

Elaboración propia

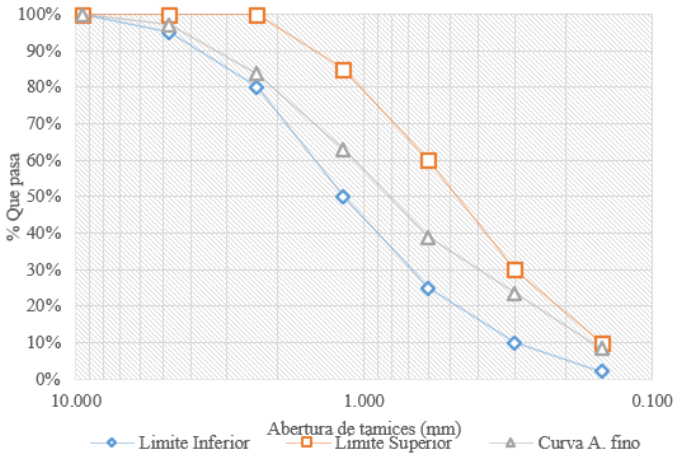


Fig.7. Curva granulométrica de agregado fino. (Elaboración propia)

En cuanto a los resultados obtenidos, se obtuvo que el MF del agregado fino corresponde a un valor de 2.76.

TABLA 2
ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO DE AGREGADO GRUESO.

TAMIZ		Peso Retenido (Gr)	Peso Retenido (%)	Retenido Acumulado (%)	Pasante Acumulado (%)
Pulg	mm				
1 1/2"	37.50	0.00	0.00	0.00	100.00
1"	25.00	448.00	8.25	8.25	91.75
3/4"	19.00	2500.00	46.02	54.26	45.74
1/2"	12.50	2451.00	45.11	99.37	0.63
3/8"	9.50	22.00	0.40	99.78	0.22
# 4	4.76	9.00	0.17	99.94	0.06
FONDO		3.00	0.06	100.00	0.00
TOTAL		5433.00	100.00	-	-

Elaboración propia

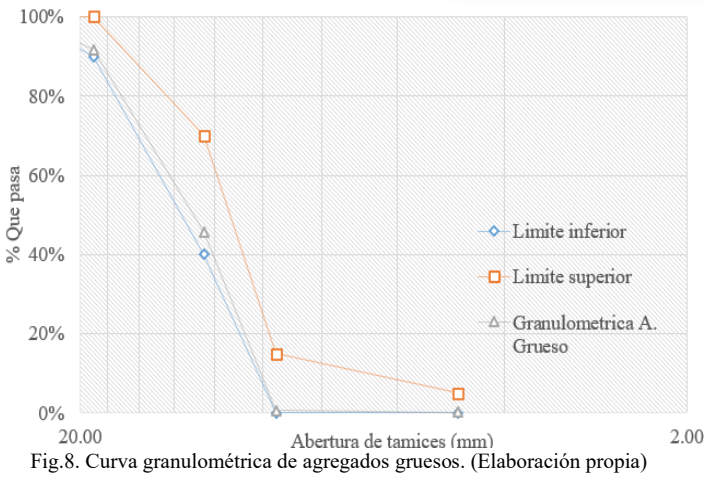


Fig.8. Curva granulométrica de agregados gruesos. (Elaboración propia)

En cuanto a los resultados obtenidos, se obtuvo que el MF de agregado grueso corresponde a un valor de 6.53.

Respecto a la AE, dicho material fue sometido a un proceso de trituración donde alcanzó una granulometría comparable al agregado fino. Esta modificación permitió aplicar los procedimientos de la NTP 400.012, tal como se muestra en la Tabla 3 y Fig.9, con el fin de no afectar el diseño de mezcla por su forma porosa e irregular.

TABLA 3
ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO DE LA AE.

TAMIZ		Peso Retenido (Gr)	Peso Retenido (%)	Retenido Acumulado (%)	Pasante Acumulado (%)
Pulg	Mm				
3/8"	9.50	0.00	0.00	0.00	100.00
N° 04	4.75	0.20	0.06	0.06	99.94
N° 08	2.36	5.00	1.62	1.68	98.32
N° 16	1.18	80.00	25.86	27.54	72.46
N° 30	0.60	120.00	38.79	66.33	33.67
N° 50	0.30	34.14	11.04	77.37	22.63
N° 100	0.15	40.00	12.93	90.30	9.70
N° 200	0.075	20.00	6.47	96.77	3.23
FONDO		10.00	3.23	100.00	0.00
TOTAL		309.34	100.00	-	-

Elaboración propia

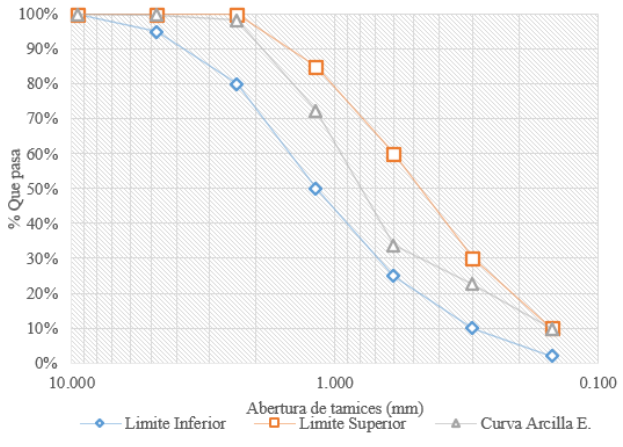


Fig.9. Curva granulométrica de AE. (Elaboración propia)

ii. Contenido de humedad

En el agregado fino y grueso, así como la AE, es esencial conocer sus características para poder realizar el diseño de mezclas debido a que este factor impacta directamente a las propiedades mecánicas del concreto. Para ello, a cabo un ensayo de determinación del contenido de humedad en cada material con el fin de garantizar una adecuada relación (a/c), según el procedimiento establecido por la NTP 339.185, como se muestra en la Fig.10 y Tabla 4.



Fig.10. Ensayo de humedad en los agregados gruesos, finos y AE. (Elaboración propia)

TABLA 4
RESUMEN DE ANÁLISIS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LOS AGREGADOS

Descripción	Prueba 1 (%)	Prueba 2 (%)	Promedio (%)
Humedad de agregado fino	0.89	0.86	0.875
Humedad de agregado grueso	0.38	0.38	0.38
Humedad de AE	0.11	0.11	0.11

Elaboración propia

El porcentaje de humedad de la arcilla fue inferior al de los demás agregados, registrando un valor de 0.11%. Este resultado se debe a que sus poros son muy pequeños.

iii. Peso unitario

Este ensayo permite calcular el porcentaje de porosidad entre las partículas, lo cual influye en las propiedades mecánicas del concreto. El procedimiento se realiza conforme la NTP 400.017, como se detalla en la Tabla 5.

TABLA 5
PESO UNITARIO DEL AGREGADO SUELTO Y COMPACTADO

Peso Unitario	Prueba 1 (kg/m^3)	Prueba 2 (kg/m^3)	Prueba 3 (kg/m^3)	Promedio (kg/m^3)
Agregado fino suelto	1716.48	1712.91	1720.41	1716.60
Agregado fino compactado	1883.09	1895.96	1905.97	1895.01
Agregado grueso suelto	1377.26	1339.96	1426.29	1381.17
Agregado grueso compactado	1576.91	1555.95	1531.79	1554.88

Elaboración propia

iv. Peso específico y absorción

El peso específico de un agregado es la relación entre su masa y el volumen que ocupa, mientras que la absorción representa el porcentaje de agua que pueda retener respecto a su peso seco. En este estudio, se utilizó la AE previamente triturada hasta obtener una granulometría similar al agregado fino, por lo que se aplicó la norma técnica NTP 400.022, correspondiente a agregados finos. Esta decisión se basa en que las características físicas, como la absorción y el peso específico, no solo dependen del tamaño de la partícula, sino también de las características propias del material, detallado en la Tabla 6.

TABLA 6
PORCENTAJE DE ABSORCIÓN DE ARCILLA

Descripción		Gramos (g)
Peso de material (SSS)	B	78.05
Peso fiola + Agua	D	652.16
Peso fiola + agua + SSS	C	675.27
Peso material Seco	A	76.69
Resultados		
Peso específico de masa	1.40 gr	
Peso específico de Muestra (SSS)	1.42 gr	
Peso específico Aparente	1.43 gr	
Porcentaje (%)	1.77%	

Elaboración propia

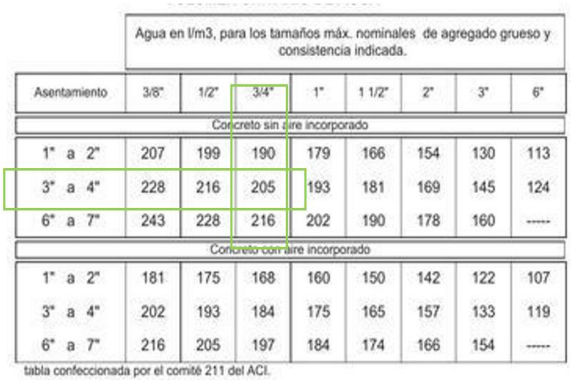
C. Preparación de mezcla y elaboración de probetas cilíndricas y cubos

El diseño de la mezcla se siguió una secuencia técnica que permitió asegurar la uniformidad de la mezcla y la adecuada incorporación de la bacteria *BS* y CaLac·5H₂O. Primero se realizó el control de calidad de los agregados. Luego, se elaboró el diseño de mezcla con las correcciones correspondientes por humedad y absorción. Finalmente, se incorporó la bacteria *BS* junto con el CaLac·5H₂O a la AE previamente triturada, como se muestra en la Fig. 11. Las proporciones empleadas y los cálculos respectivos se presentan en las tablas siguientes.



Fig.11. Incorporación de *BS* con el CaLac·5H₂O en AE. (Elaboración propia)

TABLA 7
TABLA DE AGUA DE MEZCLA CON AIRE ELABORADA POR ACI-211.1-91



Agua en l/m3, para los tamaños máx. nominales de agregado grueso y consistencia indicada.								
Asentamiento	3/8"	1/2"	3/4"	1"	1 1/2"	2"	3"	6"
Concreto sin aire incorporado								
1" a 2"	207	199	190	179	166	154	130	113
3" a 4"	228	216	205	193	181	169	145	124
6" a 7"	243	228	216	202	190	178	160	-----
Concreto con aire incorporado								
1" a 2"	181	175	168	160	150	142	122	107
3" a 4"	202	193	184	175	165	157	133	119
6" a 7"	216	205	197	184	174	166	154	-----

tabla confeccionada por el comité 211 del ACI.

El volumen del cemento tipo I en la interpolación es de 0.5484 m^3 en lo que concluye en 373.81 kg con un volumen de 0.12 m^3. Así mismo el volumen del agregado grueso en la interpolación realizada es 0.624 m^3 obteniendo un volumen absoluto de piedra de 0.365 m^3, en la Tabla 8 se detalla los volúmenes de agua, cemento, piedra y aire, detallado en la Tabla 8.

TABLA 8
VOLÚMENES OBTENIDOS EXPERIMENTALMENTE

VARIABLES	METROS CÚBICOS (m^3)
Agua	0.205
Cemento tipo I	0.12
Piedra	0.365
Aire	0.02
TOTAL	0.708

Elaboración propia

El volumen absoluto de la arena es 0.292 m^3, el cual se encuentra incluido en la Tabla 9 en la cual detalla los valores de diseño de la mezcla.

TABLA 9
TABLA DE VALORES DE DISEÑO DE MEZCLA

Elemento	Volumen absoluto (m^3)	Peso específico (Kg/m^3)	Peso (kg)
Agua	0.205	1000	205
Cemento tipo I	0.12	3150	374
Piedra Seca	0.365	2670	973
Arena seca	0.292	2696	787
Aire	0.02	-	-

Elaboración propia

Posteriormente, se ajustó el diseño de mezcla en función al contenido de humedad y absorción de los agregados, ya que esto influye directamente en la cantidad real de agua en la mezcla. Para ello, se cuantificó la humedad y absorción presente y se realizaron las correcciones necesarias en la dosificación considerando el valor inicial y el factor en la comuna central, como se detallada en la Tabla 10.

TABLA 10
TABLA DE CORRELACIÓN DE ABSORCIÓN Y HUMEDAD

Piedra húmeda pesada	973 kg	1.00380	977 kg
Arena húmeda pesada	787 kg	1.00875	793 kg
Balance de agua en la piedra	0.0038	0.0072	-0.003400
Contribución agua piedra	977kg	-0.003400	-3.32227 Kg
Balance de agua en la arena	0.00875	0.0091	-0.00035
Contribución agua arena	793kg	-0.00035	-0.27770 Kg

Elaboración propia

Concluyendo que la mezcla final de nuestro diseño utiliza 209 kg de agua.

Con los valores obtenidos experimentalmente en los controles de materias primas de los agregados finos y gruesos se logra definir el diseño final para el concreto tradicional de F'c 210 kg/cm^2 representado en la Tabla 11.

TABLA 11
DISEÑO FINAL DE CONCRETO TRADICIONAL

Materiales	Cantidad (Kg)
Agua	209
Cemento tipo I	374
Piedra (húmedad)	977
Arena húmedad	793
Aire	-
TOTALES	2353

Elaboración propia

Se utilizaron probetas cilíndricas de 6x12" y probetas prismáticas, las cantidades de cada material utilizados se detallan en la Tabla 12 y Tabla 13.

TABLA 12
CANTIDAD UTILIZADA PARA PROBETA CILÍNDRICA DE 6X12"

Materiales	Volumen $0.0162m^3$		Error al 5%
Cemento tipo I	374kg	8.059	8.462 kg/ m^3
Agua	209kg	4.506	4.731 kg/m^3
Agregado Fino	793kg	17.106	17.961 kg/m^3
Agregado Grueso	977kg	21.058	22.111 kg/m^3

Elaboración propia

Para este modelo se realizaron 4 probetas cilíndricas.

TABLA 13
CANTIDAD UTILIZADA PARA PROBETAS PRISMÁTICAS (VIGAS)

Material	Volumen $0.033m^3$		Error al 5%
Cemento tipo I	374kg	12.388	13.008 kg/m^3
Agua	209kg	6.926	7.272 kg/m^3
Agregado Fino	793kg	26.294	27.609 kg/m^3
Agregado Grueso	977kg	32.370	33.988 kg/m^3

Elaboración propia

Para este modelo se realizaron dos moldes de probetas prismáticas.

En el presente estudio, se incorporó AE previamente preparada con *BS* y $CaLac{\cdot}5H_2O$, la cual fue añadida a la mezcla en una proporción equivalente al 5% del peso total del cemento, y se encuentra detallada en la Tabla 14 para las 4 probetas cilíndricas y 1 prismática.

TABLA 14
PROBETAS CILÍNDRICAS Y PRISMÁTICA CON 5% DE AE INCORPORADA CON *BS*.

Descripción	Probetas Cilíncricas	Probeta Prismática
Cemento tipo I	6.0293 kg/m^3	6.1786 kg/m^3
Agua	3.548 kg/m^3	3.636 kg/m^3
Agregado Fino	13.471 kg/m^3	13.804 kg/m^3
Agregado Grueso	16.583 kg/m^3	16.994 kg/m^3
AE	317gr	325gr

Elaboración propia

Se realizaron 3 probetas cilíndricas, que constan de 317 g de AE con 50 mL de *BS* (1.0 x 10^9 UFC/mL) + 250 mL de CaLac·5H$_2$O a 10 mM. Del mismo modo, se realizó para la probeta prismática de 325 g de AE que contiene 100 mL de *BS* (1.0 x 10^9 UFC/mL) + 500 mL de CaLac·5H$_2$O a 10 mM.

Una vez determinado las proporciones de diseño de mezcla, se elaboró un esquema del procedimiento seguido en la preparación del concreto con incorporación bacteriana. Este se presenta en la Fig.12.

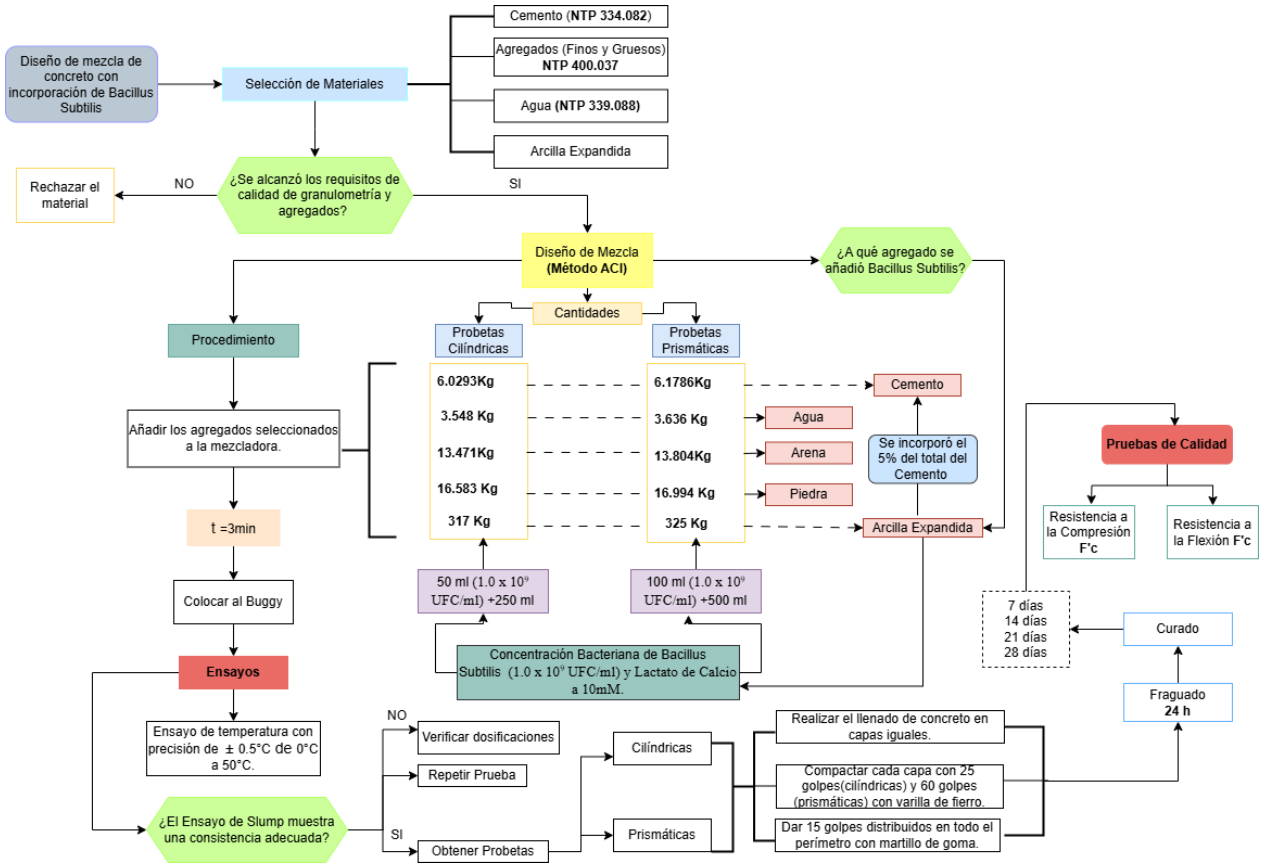


Fig.12. Esquema de diseño de mezcla de concreto en la incorporación de BS. (Elaboración propia)

D. Evaluación de pruebas mecánicas y curación en el concreto

Las pruebas de compresión y flexión permiten realizar un análisis del comportamiento del diseño del concreto. Por tal motivo se realizaron pruebas de compresión y flexión a los diseños de concreto tradicional y concreto incorporado con *BS*.

Se realizaron las pruebas de compresión de probetas cilíndricas de 6x12" de las mezclas de concreto de F'c 210 kg/cm2 tradicional y las probetas incorporadas *con BS* en AE, como se detalla en las Tablas 15 y 16.

TABLA 15
TABLA DE RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN DEL CONCRETO TRADICIONAL DE F'C 210 KG/CM^2

Edad (días)	Tipo de falla	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (kg)	F´c (kg/cm^2)
7	3	15.02	30.05	13.37	299.5
14	3	15	30.06	13.4	309.1
21	5	15	30.5	13.286	318.6
28	3	15.1	30.5	13.453	345.7

Elaboración propia

TABLA 16
TABLA DE RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN DEL CONCRETO INCORPORADO CON *BS*

Edad (días)	Tipo de falla	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (kg)	F'c (kg/cm^2)
7	3	15	30.7	13.291	281.9

Elaboración propia

Se aprecia en el día 7 una diferencia de 5.88% entre el concreto convencional y concreto con incorporación de *BS*.

En cuanto al tipo de falla, según la norma técnica peruana NTP 339.034, el tipo de falla 3 describe las grietas verticales en las columnas, las cuales se presentan en ambas bases, así como la formación de conos mal definidos. Las grietas verticales suelen ser el resultado de una distribución inadecuada de las tensiones internas, mientras que los conos mal formados reflejan la incapacidad del concreto para resistir las cargas concentradas en las bases de las columnas. Por otro lado, el tipo de falla 5 se caracteriza por fracturas en los lados de las bases, tanto en la parte superior como inferior, y es comúnmente asociado a cabezales no adheridos adecuadamente.

Se realizaron pruebas de flexión de las probetas prismáticas para el concreto tradicional y el incorporado por *BS* en AE, detallado en las Tablas 17 y 18.

TABLA 17
TABLA DE RESISTENCIA DE FLEXIÓN DEL CONCRETO TRADICIONAL

Edad (días)	Ancho (cm)	Largo (cm)	Hondo (cm)	Peso (kg)	F'c (kg/cm^2)	Falla
21	15.14	56	15.3	31.54	27.2	Tercio Central
28	15.5	56	15.5	31.96	77.7	Tercio Central

Elaboración propia

TABLA 18
TABLA DE RESISTENCIA DE FLEXIÓN DE CONCRETO INCORPORADO CON *BS*

Edad (días)	Ancho (cm)	Largo (cm)	Hondo (cm)	Peso (kg)	F'c (kg/cm^2)	Falla
7	15.4	56	25.4	31.22	12.9	Tercio Central

Elaboración propia

En los primeros 7 días, se observa una disminución en su resistencia a la flexión en el concreto incorporado con bacterias comparado con el concreto tradicional.

Las fisuras fueron evaluadas en cubos con incorporación de la bacteria *BS,* mediante instrumentos ópticos para dimensionar el ancho de fisuras y observar su bioprecipitación de $CaCO_3$ en las fisuras y grietas en el cubo mortero, en la Fig.13 se observa los morteros fisurados los cuales serán monitoreados por varios días como un estereoscopio.

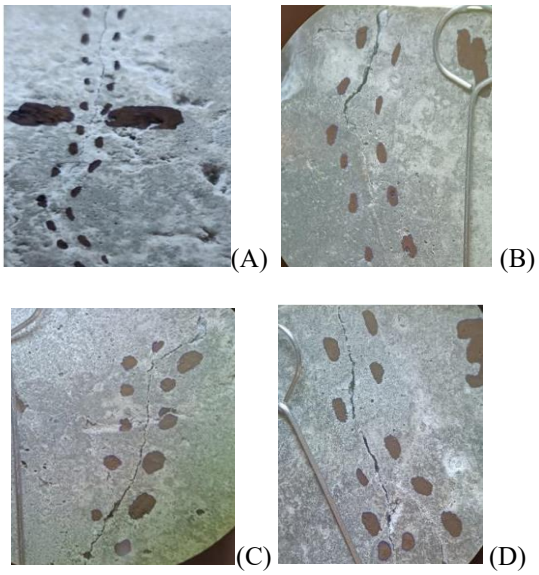


Fig.13. Las fotografías (A), (B), (C) y (D) de cubos con mezcla de incorporación de *BS*, vista de estereoscopio día uno con objetivo 4X. (Elaboración propia)

La fotografía (A) tiene un ancho de fisura de 0.10 mm, mientras que la fotografía (B) cuenta con una fisura de 0.15 mm, la fotografía (C) cuenta con una fisura de 1.0 mm y las fotografía (D) cuenta con un ancho de fisura de 0.8 mm en el día 1.

Se realizó una segunda medición en los 7 días posteriores a la primera medida con el estereoscopio obteniendo resultados favorables como se observa en la Fig.14.

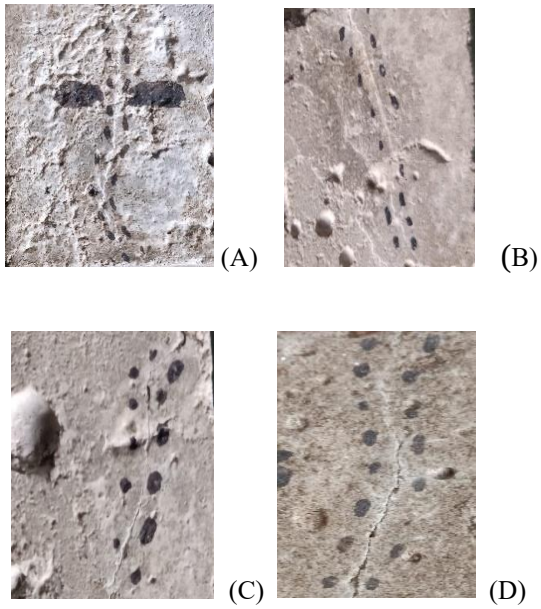


Fig. 14. Fotografía en el día 7 de los cubos morteros en estereoscopio. (Elaboración propia)

Se observa desde los primeros dos días evidencias de autorreparación debido a la precipitación de calcita en las fotografías posterior a 7 días se aprecia tanto en la figura (A) y (B) una autorreparación completa del concreto para ambos cubos incorporados con *BS*. En los cubos (C) y (D) debido a su amplio ancho de fisura aun a los 7 días no se autorreparó completamente como en los primeros cubos morteros, siendo indicativo que a mayor sea el ancho de la fisura disminuye la posibilidad de autorreparación del concreto para una mezcla de diseño F'c 210 Kg/cm^2 o tomaría más tiempo en la autorreparación de los cubos morteros (C) y (D).

IV. Discusión

Se evaluó la bacteria *BS* mediante pruebas microbiológicas y fisicoquímicas. En cuanto a la evaluación microbiológica, se realizaron pruebas como la coloración Gram, que confirmó la naturaleza gram positiva del bacilo, asimismo, se evaluó la actividad de BS en diferentes pH (1, 4, 7, 10 y 13) a 37°C durante 7 días, observando mayor bioprecipitación en medios alcalinos (pH 10 y 13). Por otro lado, en la evaluación fisicoquímica, se empleó espectrofotometría UV-VIS para analizar los bioprecipitados secos a diferentes pH, encontrando que la longitud de onda de máxima absorbancia de los precipitados fluctúa entre los 203 y 205 nm en la región UV. Ello se debe a la vibración C=O presentes en el carbonato. Adicionalmente, el pico mostrado tiene similitud con CaCOR comercial [16], confirmando el proceso de bioprecipitación.

El diseño de mezcla se desarrolló en base al método ACI. Para la incorporar la BS y CaLac·5H$_2$O se utilizó la AE como un medio de encapsulamiento y transporte, aprovechando su estructura porosa para alojar tanto el microorganismo como el nutriente. Se consider un 5% de AE respecto al peso total del cemento. Los resultados obtenidos de dicho diseño de mezcla son: cemento 6.03 kg, agua 3.548 kg, agregado fino 13.471 kg, agregado grueso 16.583 kg, arcilla 317 g (bacterias BS 50 mL y 250 mL de CaLac·5H$_2$O a 10mM) para probetas cilíndricas. Por otro lado, las probetas prismáticas se prepararon de; cemento 6.1786 kg, agua 3.636, agregado fino 13.804 kg, agregado grueso 16.994 kg, arcilla 325g (bacteria BS 100 mL y 500 mL de CaLac·5H$_2$O a 10 mM). La variación en la concentración de BS y CaLac·5H$_2$O se debe a su volumen de cada tipo de probetas y a la necesidad de asegurar una adecuada disponibilidad del nutriente para activar el metabolismo bacteriano, lo cual es importante para el proceso de precipitación de $CaCO_3$.

Respecto a los ensayos de resistencia a la compresión y flexión, se observó que, a los 7 días, el concreto convencional presentó un 5.88% más de resistencia a la compresión en comparación con el concreto incorporado con *BS*. No obstante, ambos se mantienen dentro de un rango permisible, evidenciando un impacto positivo. Sin embargo, respecto a la flexión a pesar de los 7 primeros días, se obtuvo un impacto negativo. A pesar de que se añadió el mismo porcentaje de AE en las probetas. Por otro lado, en la fabricación de cubos de concreto con diferentes concentraciones de células bacterianas, se observó una mejora significativa en la resistencia a la compresión de los cubos de hormigón con la adición de bacterias. Los mayores incrementos se observaron a una concentración celular de 1x10^5 células/mL, con aumentos de resistencia del 27%, 26%, 14% y 13% a los 7, 14, 28 y 56 días de curado, respectivamente [11].

Los cubos en los cuales se evaluó la autorreparación del concreto incorporado con *BS* contaba con fisuras desde 0.10 mm a 1.0 mm en donde se observa en el día 2 indicios del proceso de autorreparación tomando como evidencia de su completa reparación en el séptimo día en las muestras (A) y (B), evidenciando la presencia de bioprecipitación de calcita, utilizando como fuente de carbohidrato y calcio al CaLac·5H$_2$O en cual se agregó en una solución 10mM. Mientras que, en las muestras (C) y (D), donde las fisuras presentaban mayores anchos 1.00 y 0.8 mm, respectivamente, el proceso de autorreparación no se completó en 7 días. Sin embargo, en un estudio reciente del año 2024 se ha investigado el proceso en el que los microorganismos inducen la producción de $CaCO_3$ para mejorar las capacidades de autocuración de las estructuras. Aunque los estudios experimentales han mostrado resultados prometedores en laboratorio, la implementación práctica de esta tecnología enfrenta obstáculos [17]. Por otro lado, en un estudio publicado en el año 2024 se realizaron pruebas hasta el agotamiento de la autorreparación en fisuras menores o igual a 0.2 mm de ancho, contando con una eficacia de la autocuración disminuida a medida que envejecen. Después de 28 días, la tasa de reparación del área disminuye significativamente. Pasados los 60 días, el agente autocurativo ya no tiene efecto reparador, según informa el estudio [18]. La bacteria *BS* demostró su capacidad efectiva de autorreparación en concreto F'c 210 kg/cm2, desde los primeros días, con una completa reparación observada en el séptimo día. Sin embargo, la efectividad del proceso disminuye con el tiempo, según indican otros estudios.

Los resultados obtenidos evidencian el potencial de la bioprecipitación como un mecanismo innovador para la autorreparación del concreto, sin embargo, su aplicación práctica aún requiere mayor investigación. En particular, comprender la dinámica de precipitación del $CaCO_3$ y los parámetros que regulan su formación resulta clave para optimizar la capacidad de autorreparación, por ello, la evaluación de cepas bacterianas bioprecipitadorass y resistentes a condiciones adversas es fundamental para la optimización de la incorporación de bacterias en el concreto.

V. Conclusión

La bacteria *BS* muestra mayor actividad y bioprecipitación en medios alcalinos, especialmente a pH 10 y 13, según las pruebas microbiológicas. Así mismo, en la evaluación fisicoquímica por espectrofotometría demuestra la bioprecipitación de $CaCO_3$ en condiciones alcalinas.

En el diseño de mezcla de concreto, se utilizó AE, cumpliendo con los requisitos de la norma técnica peruana (NTP 400.012) a pesar de un alto porcentaje de absorción se utilizó el 5% de la masa del cemento por AE en la elaboración del concreto de diseño F'c 210 kg/cm2, incorporando la bacteria *BS* en el diseño de concreto F'c 210 kg/cm² evaluando su efecto en la resistencia a la compresión, flexión y autorreparación.

El concreto autorreparable de F'c 210 kg/cm2 incorporado con *BS* evidenció un efecto positivo en la reparación de fisuras menores o igual a 0. 15mm de ancho.

En cuanto a sus propiedades mecánicas, el concreto con *BS* presentó una reducción del 5.88% en la resistencia a la compresión en comparación con el concreto convencional. Además, en la prueba de flexión, se registró un impacto negativo, lo que indica que la inclusión de *BS* puede comprometer ciertas características estructurales del material.

En conclusión, la incorporación de *BS* facilitó la autorreparación de fisuras en el concreto, logrando una reparación completa en fisuras de hasta 0.15 mm de grosor, observada a los 7 días en los cubos de ensayo. Estos resultados demuestran el potencial de la bacteria para mejorar la durabilidad del concreto al sellar fisuras pequeñas y contribuir a su impermeabilidad. Sin embargo, a pesar de los efectos positivos en la autorreparación, es necesario continuar con estudios adicionales para explorar otros métodos de incorporación de diferentes microorganismos bioprecipitadores. Este enfoque genera altas expectativas dentro de la comunidad científica y la industria de la construcción, como una posible solución innovadora a la problemática de las grietas en las estructuras de concreto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Privada del Norte por el apoyo financiero.

REFERENCES

[1] Y. Meng, Y. Wang, X. Xu, Y. Ding, Z. Cai, and B. Tian, "Experimental study on crack self-healing of hydraulic concrete with mixed microorganisms," Journal of Hydroelectric Engineering, vol. 42, no. 11, pp. 126–135, Nov. 2023, doi: 10.11660/slfdxb.20231112.

[2] C. Orozco and I. J. A. Urbino, "Self-Healing of Cracks in Concrete using Bacillus cibi with Different Encapsulation Techniques," Journal of Engineering and Technological Sciences, vol. 54, no. 3, p. 220305, May 2022, doi: 10.5614/j.eng.technol.sci.2022.54.3.5.

[3] H. Ferral-Pérez, M. Galicia-García, B. Alvarado-Tenorio, A. Izaguirre-Pompa, and M. Aguirre-Ramírez, "Novel method to achieve crystallinity of calcite by Bacillus subtilis in coupled and non-coupled calcium-carbon sources," AMB Express, vol. 10, no. 1, Sep. 2020, doi: 10.1186/s13568-020-01111-6.

[4] A. R. Djamaluddin, T. Harianto, and A. Arsyad, "SOIL MECHANICAL CHARACTERISTICS IMPROVEMENT WITH BACTERIAL BIOCEMENTATION TECHNOLOGY," International Journal of GEOMATE, vol. 26, no. 115, Mar. 2024, doi: 10.21660/2024.115.4160.

[5] S. Fazelikia, S. A. Abtahi, M. Kargar, and M. Jafarinia, "Microbial Induced Calcite Precipitation (MICP) Potential of Ureolytic Bacillus sp. Isolated from the Soil of Eroded Ecosystems for Stabilizing and Improving the Fertility of Eroded Soils," Geomicrobiology Journal, vol. 40, no. 6, pp. 569–581, May 2023, doi: 10.1080/01490451.2023.2211077.

[6] P. Baidya, B. K. Dahal, A. Pandit, and D. R. Joshi, "Bacteria-Induced Calcite Precipitation for Engineering and Environmental Applications," Advances in Materials Science and Engineering, vol. 2023, pp. 1–25, Jun. 2023, doi: 10.1155/2023/2613209.

[7] M. Huaynalaya Rashuaman, J. A. Herradda Montagne, H. M. Jiménez Yabar, and J. M. Zapata Samata, "Influencia de la bacteria Bacillus Subtilis en la reparación de fisuras en concretos con a/c de 0.45 y 0.50," TecnoHumanismo, vol. 4, no. 2, pp. 16–30, 2024, doi: 10.53673/th.v4i2.264.

[8] G. G. Salem, V. V. Galishnikova, S. M. Elroba, N. I. Vatin, and M. Kharun, "Finite Element Analysis of Self-Healing Concrete Beams Using Bacteria," Materials, vol. 15, no. 21, p. 7506, Oct. 2022, doi: 10.3390/ma15217506.

[9] M. Kanwal, R. A. Khushnood, W. Khaliq, A. G. Wattoo, and T. Shahid, "Synthesis of pyrolytic carbonized bagasse to immobilize Bacillus subtilis; application in healing micro-cracks and fracture properties of concrete," Cement and Concrete Composites, vol. 126, p. 104334, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.cemconcomp.2021.104334.

[10] I. C. R. Devia, "Autocuración del concreto a partir de la encapsulación DEL Bacillus Subtilis en un biopolímero de almidón.," Repositorio - Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales UDCA. https://repository.udca.edu.co/entities/publication/87410668-003f-4da5-a072-c5b04b98bd7b .

[11] A. A. Akindahunsi, S. M. Adeyemo, and A. Adeoye, "The use of bacteria (Bacillus subtilis) in improving the mechanical properties of concrete," Journal of Building Pathology and Rehabilitation, vol. 6, no. 1, Jun. 2021, doi: 10.1007/s41024-021-00112-7.

[12] N. Schwantes-Cezario et al., "Potential of cave isolated bacteria in self-healing of cement-based materials," Journal of Building Engineering, vol. 45, p. 103551, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.jobe.2021.103551.

[13] H. F. Pérez and M. G. García, "Bioprecipitation of calcium carbonate by Bacillus subtilis and its potential to self-healing in cement-based materials," Journal of Applied Research and Technology, vol. 18, no. 5, Oct. 2020, doi: 10.22201/icat.24486736e.2020.18.5.1280.

[14] S. Ul Islam and S. A. Waseem, "Strength retrieval and microstructural characterization of Bacillus subtilis and Bacillus megaterium incorporated plain and reinforced concrete," Construction and Building Materials, vol. 404, p. 133331, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2023.133331.

[15] F. Pacheco et al., "Análise da autorregeneração de matrizes cimentícias através de diferentes métodos de inserção de soluções químicas e bacterianas," Revista ALCONPAT, vol. 12, no. 1, pp. 32–46, Jan. 2022, doi: 10.21041/ra.v12i1.559.

[16] C. Matei, D. Berger, A. Dumbrava, M. D. Radu, and E. Gheorghe, "Calcium carbonate as silver carrier in composite materials obtained in green seaweed extract with topical applications," Journal of Sol-Gel Science and Technology, vol. 93, no. 2, pp. 315–323, Feb. 2020, doi: 10.1007/s10971-019-05145-6.

[17] S. P. Bhutange, M. V. Latkar, and S. Muhammad, "A review on the potential challenges in the application of biocementation in cement-based materials, possible solutions and way forward," Materials Today Communications, vol. 38, p. 107986, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.mtcomm.2023.107986.

[18] S. Rajadesingu, N. Palani, K. C. Mendonce, P. Vijayakumar, P. Monisha, and S. Ayyadurai, "State-of-the-art review on advancements of eco-friendly bacterial-infused self-healing concrete for sustainable constructions," Journal of Building Engineering, vol. 91, p. 109669, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.jobe.2024.109669.