

Preparation of bioadditives for construction: Application of *Bacillus subtilis* in the self-repair of concrete

Dana Alessandra Alhuay Coaguila¹; Esther Joni Vargas Chang²; Eduardo Yupanqui Apolinario³; Sol Angel Rodríguez Carrillo⁴; José Miguel Gonzales Rivasplata⁵

¹Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, N00217517@upn.pe

²Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, esther.vargas@upn.pe

³Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Industrial, Universidad Privada del Norte, Perú, N00429472@upn.pe

⁴Departamento de Ciencias, Universidad Privada del Norte, Lima, Perú, sol.rodriguez@upn.edu.pe

⁵Escuela de Posgrado, Universidad Ricardo Palma, Perú, 202312678@urp.edu.pe

Abstract– The present study proposes the use of the bacterium *Bacillus subtilis* as an innovative solution to improve the self-healing properties of concrete with a design strength of $F'c$ 210 kg/cm². Microbiological analyses were performed with the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*, along with quality controls of the materials used in the mixture (fine and coarse aggregates). Likewise, mechanical compression and bending tests were carried out on different types of concrete specimens (cylindrical and prismatic) to analyze their ability to self-repair fissures and cracks. The results demonstrated a crack width repair of up to 1.41 mm over a 36-day period. In addition, it was determined that as the curing days increase, the structure is strengthened, increasing its resistance. In summary, the bioprecipitation of calcium carbonate by the bacterium *Bacillus subtilis* in concrete $F'c$ 210 kg/cm², is emerging as a sustainable and efficient solution for the self-repair of fissures and cracks in urban and industrial concrete structures.

Keywords– Bioprecipitation, *Bacillus subtilis*, concrete, self-healing cracks, self-healing concrete.

Preparación de bioaditivos para la construcción: Aplicación de *Bacillus subtilis* en la autorreparación del concreto

Dana Alessandra Alhuay Coaguila¹; Esther Joni Vargas Chang²; Eduardo Yupanqui Apolinario³; Sol Angel Rodríguez Carrillo⁴; José Miguel Gonzales Rivasplata⁵

¹Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, N00217517@upn.pe

²Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad Privada del Norte, Perú, esther.vargas@upn.pe

³Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Industrial, Universidad Privada del Norte, Perú, N00429472@upn.pe

⁴Departamento de Ciencias, Universidad Privada del Norte, Lima, Perú, sol.rodriguez@upn.edu.pe

⁵Escuela de Posgrado, Universidad Ricardo Palma, Perú, 202312678@urp.edu.pe

Resumen– El presente estudio plantea el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como una solución innovadora para mejorar las propiedades autorreparadoras del concreto con una resistencia de diseño de $F'c$ 210 kg/cm². Se realizaron análisis microbiológicos con la bacteria gram positiva *Bacillus subtilis*, junto con los controles de calidad de los materiales empleados en la mezcla (agregados finos y gruesos). Así mismo, se efectuaron ensayos mecánicos de compresión y flexión en diferentes tipos de probetas de concreto (cilíndricas y prismáticas) para analizar su capacidad de autorreparación de fisuras y grietas. Los resultados demostraron una reparación de ancho de grieta de hasta 1.41 mm en un periodo de 36 días. Además, se determinó que a medida que se incrementan los días de curado, la estructura se fortalece incrementando su resistencia. En conclusión, la bioprecipitación de carbonato de calcio por la bacteria *Bacillus subtilis* en el concreto $F'c$ 210 kg/cm², se perfila como una solución sostenible y eficiente para la autorreparación de fisuras y grietas en estructuras de concreto urbanas e industriales.

Palabras clave-- bioprecipitación, *Bacillus subtilis*, concreto, autorreparación de grietas, concreto autorreparable.

I. INTRODUCCIÓN

El concreto es uno de los materiales de construcción más utilizados en el mundo debido a sus excelentes propiedades mecánicas. Sin embargo, su principal limitación radica en el agrietamiento, un problema recurrente que compromete su durabilidad y desempeño estructural [1]. Estas grietas actúan como vías de ingreso para agentes agresivos como el agua y otros químicos nocivos, los cuales aceleran la corrosión de los refuerzos internos y reducen la vida útil del concreto [2]. Comúnmente, el mantenimiento y la reparación de estas grietas se han basado en el uso de materiales químicos como resinas epóxicas, polímeros acrílicos y siliconas. No obstante, estos productos presentan varias desventajas, como una baja compatibilidad con el concreto, costos elevados y un impacto ambiental significativo [3].

Ante esta problemática, diversos estudios han explorado la biomineralización como una solución innovadora y sostenible. Este proceso consiste en la capacidad de ciertos microorganismos de inducir la formación de minerales a través de sus actividades metabólicas [4]. Así mismo, evaluaciones previas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) han verificado la formación de calcita en el concreto con bacterias

incorporadas, lo que respalda la efectividad de este mecanismo [5]. Además, se ha evidenciado que estas bacterias pueden adaptarse a entornos altamente alcalinos, como el concreto, donde continúan precipitando calcita [6].

La precipitación de calcita inducida por bacterias (BCP) se presenta como una alternativa ecológica, sostenible y rentable para mitigar diversos problemas en el ámbito de la ingeniería y el medio ambiente [7]. Entre los microorganismos utilizados, destaca la *Bacillus subtilis* (BS), una bacteria que ha sido incorporada en el concreto con el propósito de facilitar la reparación de fisuras y grietas. Estudios previos desarrollados por la Ref. [8], han evaluado el comportamiento de la bacteria *Bacillus subtilis* en diferentes medios inmersivos, como arcilla expandida (AE), perlita expandida (PE) y silicato de sodio (SS), demostrando que la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la AE resultó tener una mayor resistencia a la compresión, alcanzando 53.1 MPa a los 35 días, la PE y SS lograron 42.5 MPa y 40.4 MPa respectivamente, también, reportaron que la AE mostró mayor capacidad de autorreparación, evidenciando una fisura sellada de 0.57 mm, superior a la reparación observada en las otras dos mezclas de PE y SS. Así mismo, un estudio realizado en vigas de concreto autorreparables utilizó *Bacillus subtilis* a una concentración del 3%, mostrando un incremento en la capacidad de carga de la viga del 20,2% y una reducción de la deflexión en un 15,7%, en comparación con las muestras de control sin bacterias [9]. También, se llevaron a cabo estudios con la bacteria *Bacillus subtilis*, inmovilizándola en biocarbón de bagazo molido para optimizar la precipitación de carbonato de calcio (CaCO₃) en el concreto, reportando una mejora del 23,18% en la resistencia a la compresión tras 56 días de curado, logrando un sellado completo en el 100% de los casos [10]. Además, se empleó la bacteria *Bacillus subtilis* junto con una fuente de calcio en la elaboración de cubos de concreto con distintas concentraciones de células bacterianas, evidenciando una mejora notable en la resistencia a la compresión, alcanzando los valores más altos con una concentración de 1×10^5 células/ml, lo que resultó en incrementos del 27%, 26%, 14% y 13% a los 7, 14, 28 y 56 días de curado, respectivamente [11]. Según los estudios reportados por la Ref. [2], menciona que la concentración de células bacterianas en el concreto influye directamente en la eficacia de

la reducción de grietas y del espacio de los poros, mejorando sus propiedades mecánicas como la resistencia a la compresión, flexión y tracción, siendo la bacteria *Bacillus subtilis*, en diferentes concentraciones en el concreto, la que mejores resultados ha presentado en el incremento de la resistencia, comparado con el concreto patrón. Por otra parte, se han evidenciado que la combinación de bacterias y fibras de acero en el concreto mejora significativamente su capacidad de autorreparación, logrando una eficiencia de curación del 87 % a los 28 días. Así mismo se ha observado que el proceso de cicatrización depende del ancho de las grietas, aquellas de 0,36 mm presentan una recuperación más rápida, mientras que grietas de 0,38 mm y 0,42 mm muestran una tasa de curación más lenta. Además, el análisis de difracción de rayos X (XRD) realizado en el precipitado pulverulento blanco presente en la muestra agrietada confirmó la presencia de carbonato de calcio (CaCO₃). En este proceso, las bacterias facilitaron la precipitación de distintos minerales, entre los cuales se identificaron calcita (Ca), aragonito (AR) y vaterita (Va) [12]. Así mismo, el análisis de la morfología cristalina reveló que las bacterias desempeñan un papel fundamental en la nucleación mineral, facilitando la formación y el desarrollo de cristales en su entorno celular [13].

En conclusión, la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en el concreto contribuye a su fortalecimiento y autorreparación al promover la formación controlada de carbonato de calcio (CaCO₃). Este proceso no solo mejora la resistencia a la compresión y flexión, sino que también prolonga la vida útil de las estructuras brindándole características de autorreparación.

El presente estudio tiene como objetivo analizar el impacto de la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en concreto con una resistencia a la compresión de 210 kg/cm² evaluando sus propiedades mecánicas, en términos de resistencia a la compresión y flexión, así como su capacidad de autorreparación en fisuras y grietas.

II. METODOLOGÍA

A. Materiales y equipos

Lactato de calcio pentahidratado, Agar Triptona Soja (TSA), cepa de bacteria *Bacillus subtilis*, incubadora, balanza analítica, microscopio, estereoscopio, estufa, tamices, agregados finos, agregados gruesos, arcilla expandida, cemento tipo I, equipo de resistencia de compresión y flexión.

B. Activación de la cepa *Bacillus subtilis*

Se elaboró un protocolo modificado de encapsulación con arcilla expandida. Para la activación de la cepa *Bacillus subtilis* [8], se utilizaron los siguientes pasos:

1) Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo de *Bacillus subtilis* se tomó 1 mL de la cepa de prueba y se diseminó con espátula de drigalsky en una placa Petri conteniendo agar TSA, para posteriormente la placa Petri incubarse a 37 °C por 24 horas.

2) Activación de la cepa

Se activó la cepa transfiriendo 15 mL de solución de *Bacillus subtilis* en esporas y se diluye hasta 150 mL con medio líquido TSA contenido en un matraz de 250 mL e incubando en agitación constante a 37 °C a 200 r.p.m por 24 horas.

3) Preparación de diluciones

Se preparó una batería de 6 tubos de ensayo conteniendo 9 mL de medio líquido TSA, al primer tubo se le agregó 1 mL de la cepa contenida en el matraz y se agitó usando un Vortex a 220 r.p.m.

4) Siembra en medios de cultivo

Se inoculó 1 mL de cada una de las diluciones en placas Petri con medio TSA, a continuación, se diseminó el inóculo con una espátula de drigalsky y se incubó las placas a 37 °C por 24 horas. Se prepararon diluciones sucesivas para los siguientes 5 tubos a fin de obtener las siguientes concentraciones: 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ y 10⁻⁶.

5) Recuento de colonias

Después del periodo de incubación se seleccionaron las placas que contenían entre 30 y 300 colonias para asegurar un conteo preciso.

6) Cálculo de las unidades formadoras de colonia

Para calcular el número total de UFC/mL se utilizó la ecuación "(1)", presentada a continuación:

$$UFC/mL = \frac{(N^{\circ} \text{ Colonias}) \times Dil}{Vol.Semb} \dots\dots\dots (1)$$

Donde:

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonia / mL en placa

N° Colonias: Número de colonias contadas en placa

Dil: Inversa de la dilución

Vol. Semb: Volumen sembrado en placa

C. Control de calidad de agregados finos y gruesos

La calidad de los agregados tanto como finos y gruesos se determinó mediante análisis granulométricos, contenido de humedad, peso unitario compactado-suelto, peso específico y absorción. Los ensayos realizados permitieron hacer el diseño de mezcla (210kg/cm²) para las probetas cilíndricas y prismáticas tanto para concreto convencional como concreto incorporado con *Bacillus subtilis*.

D. Preparación de probetas cilíndricas, prismáticas tradicionales e incorporadas con *Bacillus subtilis*

Se realizó el diseño de mezcla para obtener valores para las proporciones del concreto. La preparación de probetas se deberá realizar con los estándares de calidad establecidos para su correcta elaboración. Cada capa debe estar distribuida de manera uniforme, compactada con una varilla de fierro lisa y realizar golpes con un martillo de goma alrededor de cada capa

para liberar vacíos que hayan podido quedar atrapadas en la mezcla.

E. Propiedades mecánicas y curado de concreto

Se realizó pruebas mecánicas del concreto en compresión descrito en la NTP 339.034 y resistencia a la flexión según la ASTM C78 a las probetas de concreto en distintos tiempos (7 días, 14 días, 42 días). Por otro lado, se evaluó la autorreparación de las grietas y fisuras, mediante el pie de rey digital se obtuvo las dimensiones en milímetros (mm).

III. RESULTADOS

A. Evaluación de *Bacillus subtilis*

Se realizó la activación de la bacteria *Bacillus subtilis* usando el protocolo mencionado en la sección B de metodología, ello se encuentra esquematizado en la Fig.1.

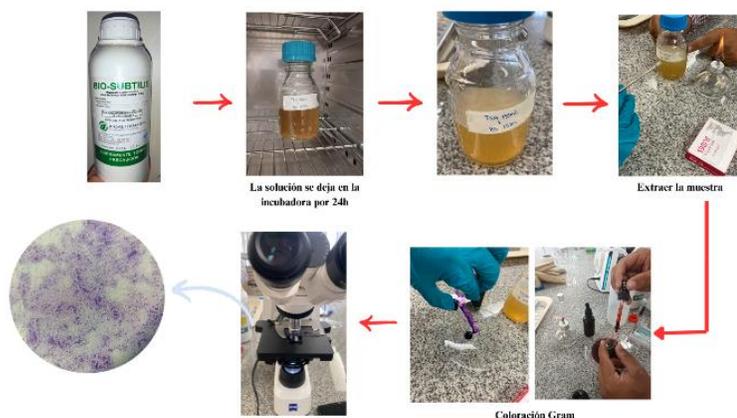


Fig.1. Esquema del protocolo de activación de la bacteria *Bacillus subtilis*. (Elaboración propia)

1) Coloración Gram

Se llevó a cabo la coloración para evidenciar experimentalmente la morfología de un bacilo gram positivo, utilizando un microscopio con un objetivo de 100X como se observa en la Fig. 2.

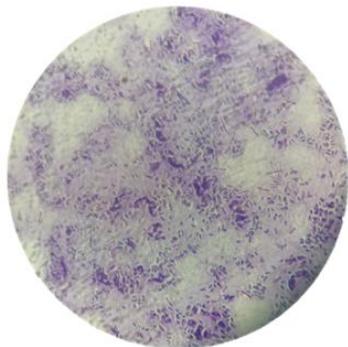


Fig.2. Coloración Gram de *Bacillus subtilis*, observada con microscopio de objetivo 100X.

2) Pruebas de crecimiento en placa

Posterior a la activación de la bacteria, se preparó una batería de seis tubos de ensayos estériles para acondicionar las diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} mL, adicionando 1 mL de solución cultivada a 37°C por 24 horas en la primera dilución con el fin de preparar las diluciones antes mencionadas, posteriormente los tubos de ensayo de diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} se realizó el plaqueo de 1 mL de solución en el medio sólido (TSA) por duplicado incubándose finalmente por 24 horas a 37°C , como se observa en la Fig.3.

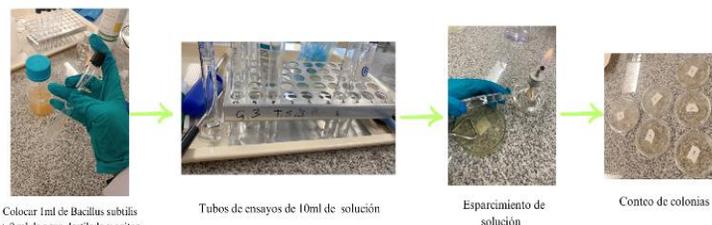


Fig.3. Esquema de evaluación de Placas en medio de TSA con cultivo de *Bacillus subtilis*. (Elaboración propia)

Se realizó el conteo de colonias para poder cuantificar el crecimiento bacteriano de *Bacillus subtilis*. En diluciones con 1×10^{-4} , 1×10^{-5} y 1×10^{-6} se registró un conteo de colonias promedio de 4000, 320 y 200 colonias, respectivamente. Para la prueba experimental empleamos la dilución cuya concentración bacteriana se encuentra dentro de los parámetros definidos para el conteo estándar resultando 2×10^8 UFC/mL de bacterias *Bacillus subtilis* activadas listas para la incorporación, resultante de la cantidad de cepa *Bacillus subtilis* empleada para la prueba, obteniendo el resultado de la siguiente manera; se tomaron las placas de la dilución 10^{-6} ya que estas contenían entre 30 y 300 colonias, luego se calculó las UFC/mL en esa dilución de la siguiente manera: dilución (10^{-6}), placa 1 (170 colonias), placa 2 (230 colonias), concluyendo en la media de 200 colonias en placa, ello se reemplaza en la ecuación (1).

$$UFC/mL = \frac{(200) \times 10^6}{1ml} = 2 \times 10^8 UFC/mL$$

B. Pruebas de control de calidad de agregados finos y gruesos

Las pruebas realizadas permitieron evaluar las características de los agregados finos y gruesos para poder asegurar la calidad de ello. Este análisis técnico garantiza tanto el cumplimiento de la norma técnica peruana como la optimización de recursos mediante los siguientes ensayos:

1) Análisis granulométrico de agregados finos y gruesos

Según la NTP 400.012, este ensayo permite evaluar la distribución de los tamaños de las partículas de los agregados mediante tamices, como se muestra en la Fig. 4.



Fig. 4. Tamizado de agregados finos (arena) y gruesos (piedra). (Elaboración propia)

Finalmente, se concluyó que los resultados obtenidos durante el ensayo cumplen con la Norma Técnica Peruana (NTP 400.012).

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	20.30	4.07	4.07	95.93
N° 08	2.36	78.98	15.85	19.92	80.08
N° 16	1.18	91.22	18.30	38.22	61.78
N° 30	0.60	85.30	17.11	55.34	44.66
N° 50	0.30	87.40	17.54	72.87	27.13
N° 100	0.15	78.40	15.73	88.60	11.40
N° 200	0.075	33.90	6.80	95.41	4.59
FONDO		22.90	4.59	100.00	0.00
TOTAL		498.40	100.00	-	

Elaboración propia

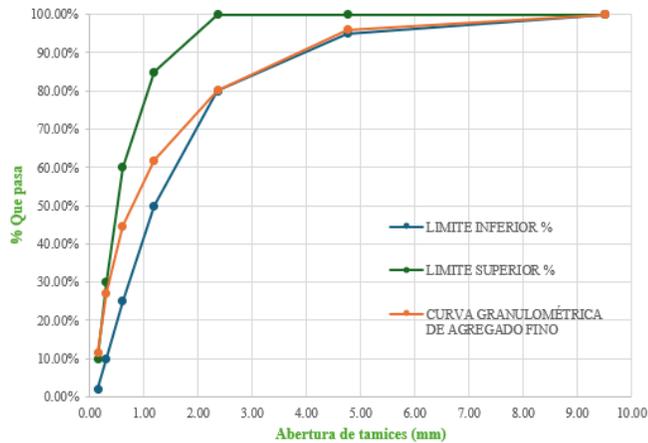


Fig. 5. Análisis granulométrico de agregado fino. (Elaboración propia)

Respecto a los datos obtenidos, el módulo de fineza del agregado fino es de 2.79.

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	0.00	0.00	0.00	100.00
3/4"	19.00	231.20	4.63	4.63	95.37
1/2"	12.50	2771.80	55.48	60.11	39.89
3/8"	9.50	1619.60	32.42	92.52	7.48
# 4	4.75	364.90	7.30	99.83	0.17
FONDO		8.70	0.17	100.00	0.00
TOTAL		4996.20	100.00	-	

Elaboración propia

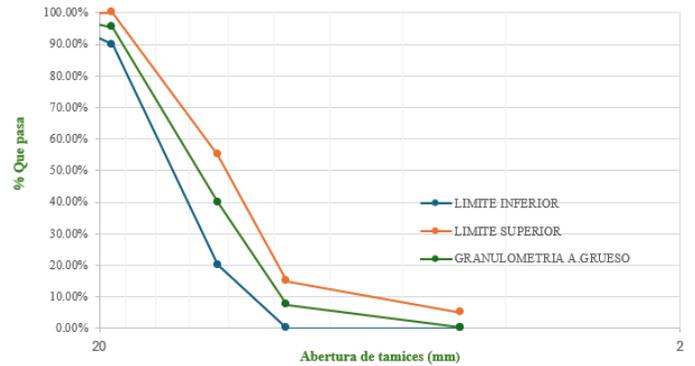


Fig. 6. Análisis granulométrico de agregado grueso. (Elaboración propia)

Respecto a los datos obtenidos, el módulo de fineza del agregado grueso es de 6.97.

TABLA 3
ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO DE ARCILLA

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	0.00	0.00	0.00	100.00
N° 08	2.36	8.60	2.15	2.15	97.85
N° 16	1.18	105.00	26.30	28.46	71.54
N° 30	0.60	85.50	21.42	49.87	50.13
N° 50	0.30	62.50	15.66	65.53	34.47
N° 100	0.15	87.40	21.89	87.42	12.58
N° 200	0.075	27.10	6.79	94.21	5.79
FONDO		23.10	5.79	100.00	0.00
TOTAL		399.20	100.00	-	

Elaboración propia

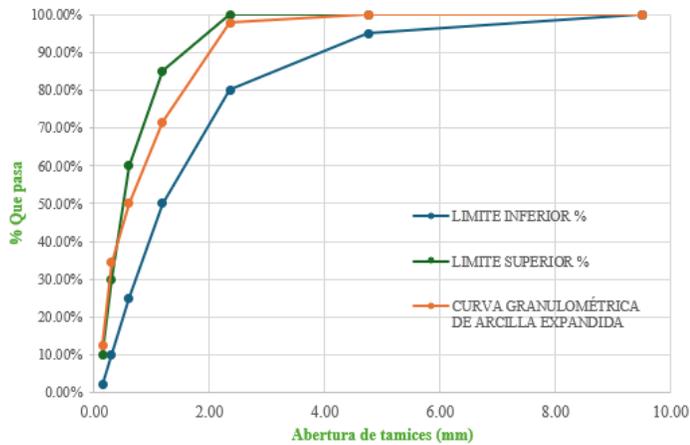


Fig. 7. Análisis granulométrico de arcilla expandida. (Elaboración propia)

2) Contenido de Humedad

En el contenido de humedad de los agregados tales como grueso, fino y de la arcilla es esencial debido a que verifica la porosidad de los materiales para así poder garantizar una correcta relación agua-cemento (a/c) en el diseño de mezcla, así como se presenta en la Fig. 8, de acuerdo con el procedimiento establecido en la NTP 339.185.



Fig. 8. Ensayo de humedad de agregados finos, gruesos y arcilla expandida. (Elaboración propia)

TABLA 4

ANÁLISIS DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AGREGADO FINO

Descripción	Prueba 1 (%)	Prueba 2 (%)	Promedio (%)
Humedad de agregado fino	0.40	0.18	0.29
Humedad de agregado grueso	0.20		

Elaboración propia

3) Peso unitario de los agregados

Sean sueltos o compactados permiten calcular los vacíos entre partículas. Este ensayo es esencial debido a que influye en las propiedades mecánicas del concreto, tal como se establece en la NTP 400.017.

TABLA 5

ANÁLISIS DE PORCENTAJE DE HUMEDAD DE AGREGADO GRUESO

Peso Unitario	Prueba A (Kg/m ³)
Agregado fino suelto	1482.24
Agregado fino compactado	1853.80
Agregado grueso suelto	1708.38
Agregado grueso compactado	1593.83

Elaboración propia

4) Peso específico y absorción

El peso específico es la relación de la masa entre su volumen que ocupa el agregado, tal como se muestra en la Fig. 9 y Fig. 10. Por otro lado, el ensayo absorción determina el cambio de masa de un material debido al agua absorbida tras un tiempo definido de inmersión, en comparación con la muestra seca, tal como se detalla en las normas, NTP 400.022 y NTP 400.021, que establecen los procedimientos para ambos ensayos.



Fig. 9. Peso específico y absorción de agregado fino. (Elaboración propia)



Fig. 10. Peso específico y absorción de agregado grueso. (Elaboración propia)

TABLA 6

PESO ESPECÍFICO Y ABSORCIÓN DE AGREGADOS

Peso Específico y absorción	Peso específico de masa (gr/cm ³)	Peso específico de SSS (gr/cm ³)	Peso específico aparente (gr/cm ³)	Absorción (%)
Agregado Fino	2.65	2.67	2.69	0.50
Agregado grueso	2.67	2.70	2.74	0.90
Arcilla Expandida	1.41	1.42	1.42	0.50

Elaboración propia

C. *Diseño de mezcla y elaboración de probetas cilíndricas y prismáticas*

El diseño de mezcla de los agregados finos, gruesos y del cemento fue realizado conforme a la metodología establecida por el Comité ACI 211, para la elaboración de un concreto 210 kg/cm², en la cual se encuentran recopilados en la Tabla 7.

TABLA 7
RECOPIACIÓN DE DATOS DE AGREGADOS FINOS Y GRUESOS

FC	210 kg/cm ²
Slump	4"
Peso Específico de Cemento Sol tipo I	3140 kg/cm ³
Características arena	
Peso específico seco	2653 kg/m ³
Módulo de finiza	2.79
Absorción	0.50%
Humedad	0.29%
Agua	1000 kg/cm ³
Características de piedra	
Tamaño máximo	3/4"
Peso específico seco	2671 kg/m ³
Peso unitario compactado seco	1594 kg/m ³
Absorción	0.90%
Humedad	0.20%
Módulo de finiza	6.97

Elaboración propia

TABLA 8
VOLUMEN DE AGUA EN MEZCLA ELABORADA POR EL COMITÉ ACI 211.1-91

Asentamiento	Agua, en 1/m ³ , para los tamaños más nominales de agregado grueso y consistencia indicados.							
	3/8"	1/2"	3/4"	1"	1 1/2"	2"	3"	6"
Concretos 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	...
Concretos 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 9
RELACIÓN AGUA-CEMENTO CON RESPECTO A LA RESISTENCIA A COMPRESIÓN (F°C) ELABORADA POR EL COMITÉ ACI 211.1-91

Resistencia a Compresión a los 28 Días, kg/cm ² (MPa)	Relación agua-material cementante en masa	
	Concreto sin aire incluido	Concreto con aire incluido
450 (45)	0.38	0.30
400 (40)	0.42	0.34
350 (35)	0.47	0.39
300 (30)	0.54	0.45
250 (25)	0.61	0.52
200 (20)	0.69	0.60
150 (15)	0.79	0.70

El volumen del cemento tipo I es la interpolación indicada en la TABLA 9, al cual da como resultado 0.5484m³, equivalente a 373.81kg, con un volumen total de 0.12m³. De manera similar, el volumen de agregado grueso determinado en la interpolación es de 0.621 m³, resultando en un volumen absoluto de 0.371 m³.

Los volúmenes obtenidos en m³ son: agua 0.205m³, cemento 0.12m³, piedra 0.371m³, aire 0.02 m³ y arena 0.285m³. En la TABLA 10 se detalla los datos correspondientes mediante el volumen absoluto y el peso específico.

TABLA 10
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	3140	374
Piedra Seca	0.371	2671	990
Arena seca	0.285	2653	757
Aire	0.02	-	-

Elaboración propia

A partir de los datos obtenidos se elabora la TABLA 11 donde se presenta la relación entre la absorción y la humedad de los agregados.

TABLA 11
CORRECCIÓN POR ABSORCIÓN Y HUMEDAD DE LOS AGREGADOS

Piedra húmeda pesara	990Kg	1.00200	992Kg
Arena húmeda pesara	757Kg	1.00290	759Kg
Balace de agua en la piedra	0.0020	0.0090	-0.007000
Contribución agua piedra	992Kg	-0.007000	-6.94298Kg
Balace de agua en la arena	0.00290	0.0050	-0.00210
Contribución agua arena	759Kg	-0.0021	-1.59438Kg

Elaboración propia

La mezcla final del diseño de mezcla se requiere 214kg.

A partir de los datos obtenidos, los agregados tanto como gruesos como finos, cemento y agua, se establece el diseño final de mezcla, como se detalla en la TABLA 12.

TABLA 12
PROPORCIÓN DE MATERIALES PARA EL DISEÑO DE MEZCLA

Materiales	Cantidad (Kg)
Agua	214
Cemento tipo I	374
Piedra húmeda	992
Arena húmeda	759
Aire	-
Total	2338

Elaboración propia

Las cantidades utilizadas para probetas cilíndricas de 6x12” y probetas prismáticas se detallan en la TABLA 13 y TABLA 14, respectivamente.

TABLA 13
CANTIDAD UTILIZADA PARA PROBETAS CILÍNDRICAS DE 6X12”

Materiales	Volumen 0.022 m ³		Error al 15%
Cemento tipo I	374Kg	8.06	9.27 Kg/m ³
Agua	214Kg	4.60	5.29 Kg/m ³
Agregado Fino	759Kg	16.37	18.82 Kg/m ³
Agregado Grueso	992Kg	21.38	24.59 Kg/m ³

Elaboración propia

Se realizó 4 probetas tradicionales cilíndricas.

TABLA 14
CANTIDAD UTILIZADA PARA PROBETAS PRISMÁTICAS (VIGAS)

Material	Volumen 0.039 m ³		Error al 25%
Cemento tipo I	374Kg	14.65	18.32 Kg/m ³
Agua	214Kg	8.37	10.46 Kg/m ³
Agregado Fino	759Kg	29.76	37.20 Kg/m ³
Agregado Grueso	992Kg	38.88	48.60 Kg/m ³

Elaboración propia

Se realizó 3 probetas tradicionales prismáticas.

En el presente estudio, se realizó la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* mediante la arcilla expandida para el diseño de mezcla 210kg/cm², como se indica en la Fig. 11.

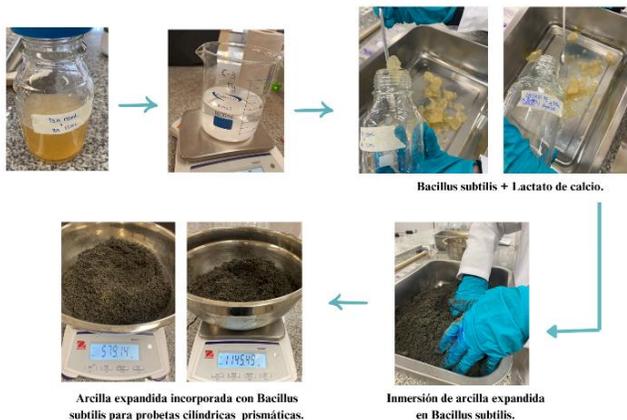


Fig. 11. Esquema de incorporación de *Bacillus subtilis* a la arcilla expandida. (Elaboración propia)

Se utilizó 135ml de cultivo caldo de Agar Triptona Soja (TSA) + 15ml de *Bacillus subtilis*, en un frasco el cual fue activado como indica la metodología. Así mismo, se preparó lactato de calcio como fuente de alimento 0.1M en 500ml de agua destilada.

Los datos presentados en la TABLA 13, se emplearon de la misma manera para las probetas incorporadas, manteniendo un total de 4 probetas. Sin embargo, en las probetas incorporadas, se añadió el 1% de arcilla expandida con *Bacillus subtilis* de la masa total, al cual sería 579.14 g.

Asimismo, para las probetas prismáticas incorporadas, se utilizó el diseño basado en la TABLA 14, considerando un total

de 3 probetas. Se incorporó el 1% de la masa total, lo que equivale a 1145.49 g de arcilla con *Bacillus subtilis*.

Cabe resaltar que, para las 2 incorporaciones de probetas cilíndricas y prismáticas, se utilizó un total de 150ml de *Bacillus subtilis* activadas (2.0 x 10⁸ UFC/ml) + 528 ml de lactato de calcio a 0.1 M.

D. Evaluación de propiedades mecánicas y curación del concreto

Las pruebas de compresión y flexión son fundamentales para analizar el comportamiento del concreto sometido a fuerzas, asegurando que cumpla con los parámetros de seguridad y durabilidad. Por esta razón se llevaron a cabo ensayos de compresión y flexión tanto para las probetas tradicionales como en las probetas incorporadas con *Bacillus subtilis*.

TABLA 15
RESISTENCIA DE COMPRESIÓN DE PROBETAS TRADICIONALES

Muestra	Día	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (kg)	Fc (Kg/ cm ²)	Tipo de falla
Tradi-1	7	9.9	20.6	3.74	254.1	Tipo 3
Tradi-2	14	15.1	30.6	13.13	288.3	Tipo 5
Tradi-3	42	15.1	30.4	13.1	321.7	Tipo 3

Elaboración propia

TABLA 16
RESISTENCIA DE COMPRESIÓN DE PROBETAS INCORPORADAS CON *BACILLUS SUBTILIS*

Muestra	Día	Diámetro (cm)	Altura (cm)	Peso (kg)	Fc (Kg/ cm ²)	Tipo de falla
Incorp-1	7	15.2	30.4	12.9	232.2	Tipo 5
Incorp-2	14	15.1	30.9	13.06	273.4	Tipo 4
Incorp-3	42	15	30.6	12.95	336.5	Tipo 4

Elaboración propia

Se puede observar, en las Tabla 15 y Tabla 16, que las probetas de 7 y 14 días tuvieron una disminución de resistencia de 8.62% y 5.17% respectivamente. Sin embargo, en el día 42 hubo un incremento de resistencia de 4.60%, dando un resultado positivo para las probetas incorporadas con *Bacillus subtilis*.

En cuanto al tipo de falla, según la NTP 339.034, nos indica que el Tipo 3, se distingue por grietas verticales que llegan a ambas bases y conos mal formados, indicando una distribución irregular de la carga o que el concreto tenía una debilidad estructural en el concreto. Por otro lado, el tipo 4, la fractura ocurre en una dirección diagonal dentro del cilindro de concreto sin que haya grietas en la base. Finalmente, el tipo 5 se caracteriza por fracturas en los lados de las bases, tanto en la parte superior como en la inferior, siendo común en probetas con cabezales mal adheridos.

TABLA 17
RESISTENCIA A LA FLEXIÓN DE PROBETAS TRADICIONALES

Muestra	Días	Largo (cm)	Ancho (cm)	Altura (cm)	Peso (kg)	F _c (Kg/cm ²)	Falla
Tradi-A	7	56.2	15.8	15.8	31.56	52.7	Punto medio
Tradi-B	14	56	15.3	15.3	31.52	55.1	Punto medio

Elaboración propia

TABLA 18
RESISTENCIA A LA FLEXIÓN DE PROBETAS INCORPORADAS CON *BACILLUS SUBTILIS*

Muestra	Día	Largo (cm)	Ancho (cm)	Altura (cm)	Peso (kg)	F _c (Kg/cm ²)	Falla
Incorp-A	7	56.2	15.4	15.7	31.46	13.5	Punto medio
Incorp-B	14	56	15.4	15.6	31.3	60.2	Punto medio

Elaboración propia

Se visualiza en la TABLA 17 y TABLA 18 que, la resistencia a la flexión disminuyó significativamente en los primeros 7 días, dando un registro de 74.36%, mientras que a los 14 días hubo un incremento 9.26%, al cual se considera un resultado positivo.

Además de los valores obtenidos de la resistencia de la compresión y flexión, se analizó el patrón de grietas de dichas probetas luego de los ensayos, en la Fig. 12 se observa grietas, las cuales serán monitoreadas durante varios días.

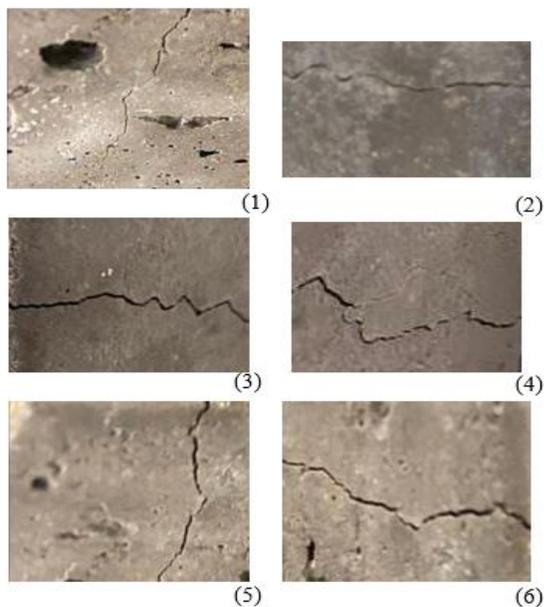


Fig. 12. Fotografías de grietas en probetas con incorporación de *Bacillus subtilis* que oscila entre 0.45mm a 1.41mm. (Elaboración propia)

Las probetas sometidas a compresión y flexión en el día 7, presentaron algunas grietas debido a la carga aplicada. Sin embargo, a los 36 días se observó resultados favorables, en la cual se visualizó autorreparación en las grietas resultado de la precipitación de calcita, así como se observa en la Fig. 13.



Fig. 13. Fotografías de grietas autorreparadas con *Bacillus subtilis* mediante la precipitación de calcita. (Elaboración propia)

Las mediciones de las respectivas grietas se realizaron con el apoyo de una regla digital pie de rey para obtener una precisión en las mediciones de sus anchos y su longitud, así como se muestra en la Fig. 14.

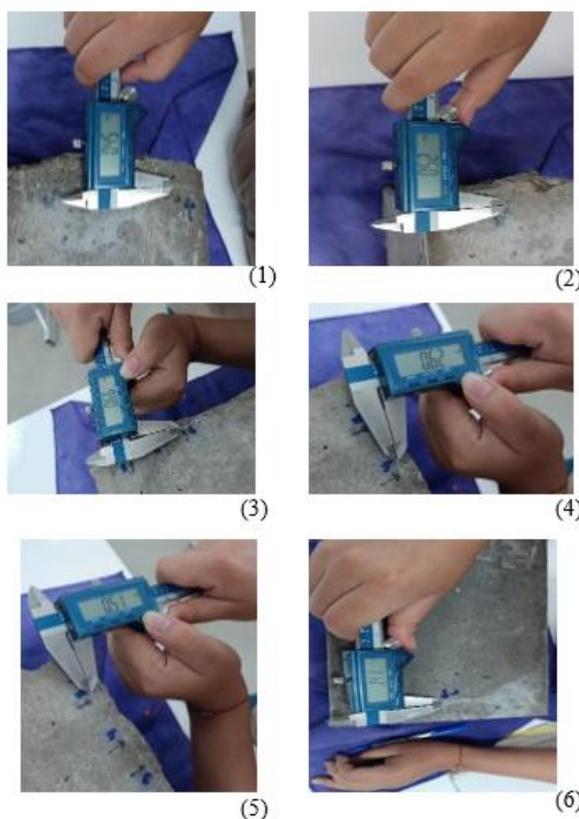


Fig. 14. Fotografías de medición de ancho y largo de grietas en probetas incorporadas con *Bacillus subtilis*. (Elaboración propia)

Se realizó las mediciones correspondientes de cada grieta de las probetas registrando las dimensiones de cada una. Los datos obtenidos corresponden a su ancho y longitud de cada grieta identificada, al cual se detallan en la TABLA 19.

TABLA 19
DIMENSIONES DE GRIETAS AUTORREPARADAS CON *BACILLUS SUBTILIS*

Nro de Grieta	Ancho (mm)	Longitud (mm)
1	0.45	35.78
2	0.52	30.95
3	0.66	11.54
4	0.62	12.91
5	0.51	14.03
6	1.41	64.33

Elaboración propia

Se identificó que el menor ancho de reparación es de la grieta (1) con un ancho de 0.45mm y 35.78 mm de longitud. Por otro lado, la grieta con mayor dimensión de reparación es (6) con un ancho de 1.41mm y 64.33mm de longitud.

E. ANÁLISIS DE COSTO DE REPARACIÓN

Se realizó un análisis comparativo entre tres reparadores comerciales y la mezcla biológica con *Bacillus subtilis*. Los 3 reparadores comerciales considerados fueron: Sikadur-52, Sikadur-35 Hi- Mod LV, Sikacryl-150 teniendo un costo de S/220.00 por litro, S/475.00 por kg/l y S/30.90 por ml respectivamente, todos con capacidad para sellar grietas de hasta 5 mm. En contraste, la mezcla con bacterias, compuesta por *Bacillus subtilis* tuvo un costo total de S/50.00, permitiendo la reparación de grietas de hasta 1.41 mm, tal como se observa en la TABLA 20.

TABLA 20
ANÁLISIS DE COSTO DE REPARADORES

Descripción	Reparadores	Precio	Contenido	Uso	Costo Total	Ancho máximo
Aditivo	SIKADUR-52	S/220	1kg	1L	S/220	5mm
	SIKADUR-35 Hi- Mod LV	S/475	3Kg	1.10Kg/l	S/475	5mm
Sellador	Sikacryl-150	S/30.90	300ml	300ml	S/30.90	5mm
Mezcla con bacterias de <i>Bacillus subtilis</i>	Frasco de <i>Bacillus subtilis</i>	S/41	1L	15mL (S/.0,62)	S/50	1.41mm
	Lactato de calcio	S/50	50g	16.18g (S/.16,18)		
	TSA	S/200	500g	8g (S/.3,20)		
	Arcilla expandida	S/15	1Kg	2Kg (S/.30,0)		

Elaboración propia

IV. DISCUSIÓN

Se realizó una evaluación microbiológica utilizando *Bacillus subtilis* en el medio de cultivo TSA incubando las muestras a 37°C para favorecer el crecimiento bacteriano. Posteriormente, se realizó la coloración de Gram, confirmando la presencia de bacilos Gram positivos. En las pruebas de crecimiento en placa, se obtiene la concentración de 2×10^8 UFC/mL, posterior a la activación de la bacteria.

En cuanto al diseño de mezcla, se añadió la bacteria *Bacillus subtilis* a la arcilla expandida. Se llevaron a cabo los ensayos correspondientes siguiendo la Norma Técnica Peruana NTP 400.012, dado que la arcilla fue previamente triturada. La dosificación utilizada fue del 1% de arcilla respecto a la masa total de la mezcla. Este diseño de mezcla fue desarrollado para una resistencia de 210kg/cm² con el objetivo de reparar las fisuras y grietas. Para ello, se utilizó el Método ACI, preparando tanto concreto tradicional como concreto con *Bacillus subtilis* (BS). Los resultados obtenidos para las probetas cilíndricas fueron: cemento 9.27 kg, agua 5.29 kg, agregado fino 18.82 kg, agregado grueso 18.82 kg y arcilla 579.14 g. Para las probetas prismáticas, se utilizaron: cemento 18.32 kg, agua 10.46 kg, agregado fino 37.20 kg, agregado grueso 48.60 kg y arcilla 1145.49 g. Cabe resaltar que, para las 2 incorporaciones de probetas cilíndricas y prismáticas, se utilizó un total de 150ml de *Bacillus subtilis* (2.0×10^8 UFC/mL) + 528 ml de lactato de calcio a 0.1 M.

Respecto a las propiedades mecánicas del concreto con incorporación de *Bacillus subtilis*, se evidenció que la resistencia a la compresión presenta una disminución promedio del 6.9% en las dos primeras semanas. Sin embargo, en los 42 días se obtuvo un incremento de resistencia de 4.60%, lo que indica una mejora significativa en comparación con las probetas tradicionales. De manera similar, se observó en la resistencia de flexión, dando una disminución significativa en la primera semana, mientras que en la segunda semana hubo un incremento de 9.26%. Al contrario, estudios de la Ref. [11], indican que los aumentos más significativos se detectaron a una concentración celular de 1×10^5 células/ml, con incrementos en la resistencia de un 27%, 26%, 14% y 13% a los 7, 14, 28 y 56 días de curado, respectivamente.

En las probetas sometidas a compresión y flexión en el día 7, se detectaron grietas. Sin embargo, a los 36 días se observó autorreparaciones menores o iguales a 1.41mm, evidenciando la bioprecipitación de calcita. No obstante, la investigación realizada por la Ref. [14], reportó un proceso mediante el cual los microorganismos generan carbonato de calcio para potenciar la capacidad de autocuración en las estructuras con resultados alentadores de esta tecnología. Así mismos estudios realizados 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, según lo reportado por el estudio [15]. Por otro lado, una investigación sobre la combinación de *Bacillus megaterium* y *Sporosarcina pasteurii*, pertenecientes a la familia de *Bacillus subtilis*, demostró la capacidad de reparación de grietas de hasta 0.85 mm en un período de 28 días, logrando un 75.32% de efectividad en la reparación, con una reducción de la permeabilidad al agua del 90.61% [16]. Este contraste sugiere que la capacidad de reparación del concreto con bacterias no depende únicamente del tamaño de la fisura o grieta inicial, sino también de factores como la concentración

bacteriana en el concreto y el método de incorporación considerado por cada estudio realizado.

V. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio evidencian el potencial de *Bacillus subtilis* como un agente de autorreparación en concreto, logrando el sellado efectivo de grietas de hasta 1.41 mm, lo que representa un avance significativo respecto a estudios previos donde la biocementación se ha reportado eficaz para grietas de hasta 0.85 mm [16]. La incorporación de *Bacillus subtilis* en el concreto de F^c 210 kg/cm² ha demostrado ser una alternativa viable y sostenible para la autorreparación de fisuras y grietas, con análisis microbiológicos que confirmaron una alta viabilidad celular, facilitando la bioprecipitación de calcita como mecanismo principal de sellado.

En las probetas sometidas a compresión y flexión evaluadas a los 7 días, se observaron grietas, sin embargo, tras 36 días, se registró un rango de reparación de 0.45 mm a 1.41 mm, lo que respalda la efectividad del proceso de autorreparación. Aunque en las primeras semanas se evidenció una ligera disminución en la resistencia mecánica, los ensayos demostraron una recuperación progresiva, con un incremento del 4.60% en la resistencia a la compresión a los 42 días y un aumento del 9.26% en la resistencia a la flexión a los 14 días. Estos resultados evidencian el potencial del concreto autorreparable para mejorar la durabilidad y desempeño estructural en condiciones reales. Si bien la biotecnología aplicada al concreto ha demostrado ser efectiva en la reparación de grietas, es fundamental considerar su uso dentro de un enfoque estructural integral. Por ello, futuras investigaciones deben enfocarse en evaluar la durabilidad de las grietas reparadas a largo plazo, especialmente bajo condiciones de carga y factores ambientales adversos, además de analizar la resistencia mecánica post-reparación para determinar si la zona tratada recupera propiedades similares al concreto original o si requiere refuerzos adicionales para evitar fallas futuras.

Este enfoque no solo representa un avance en la ingeniería, sino también una contribución significativa hacia la sostenibilidad en la industria de la construcción. Al reducir la necesidad de reparaciones tradicionales y prolongar la vida útil de las estructuras, el uso de *Bacillus subtilis* para la autorreparación del concreto puede disminuir los costos de mantenimiento y reducir el impacto ambiental de los proyectos. Además, esta tecnología abre nuevas posibilidades para el diseño de infraestructuras más resistentes, autosuficientes y ecológicas, alineándose con las tendencias globales de sostenibilidad y eficiencia en el sector de la construcción.

AGRADECIMIENTO

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

REFERENCIAS

[1] M. P. Smitha, D. Suji, M. Shanthy and A. Adesina, "Application of bacterial biomass in biocementation process to enhance the mechanical

and durability properties of concrete," *Cleaner Materials*, vol. 3, p. 100050, ene. 2022, <https://doi.org/10.1016/j.clema.2022.100050>.

[2] S. P. Muñoz-Pérez, J. Carlos-Sánchez, y M. Peralta Sánchez, "Influencia de las bacterias en la autocuración del concreto", *Revista. UIS ingenierías.*, vol. 22, n.º 1, pp. 69–86, ene. 2023, doi:<https://doi.org/10.18273/revuin.v22n1-2023007>.

[3] 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](https://doi.org/10.5614/j.eng.technol.sci.2022.54.3.5).

[4] 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](https://doi.org/10.1186/s13568-020-01111-6).

[5] A. R. Djameluddin, 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](https://doi.org/10.21660/2024.115.4160).

[6] 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](https://doi.org/10.1080/01490451.2023.2211077).

[7] 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](https://doi.org/10.1155/2023/2613209).

[8] 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](https://doi.org/10.21041/ra.v12i1.559).

[9] 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](https://doi.org/10.3390/ma15217506).

[10] 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](https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2021.104334).

[11] A. A. Akindahansi, 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](https://doi.org/10.1007/s41024-021-00112-7).

[12] R. Anbazhagan, K. Arunachalam, and S. Arunachalam, "Self-healing evaluation of bacteria grouted light weight aggregate concrete containing rice husk ash and steel fibers," *Revista de la construcción*, vol. 23, no. 1, pp. 16–30, 2024, doi: [10.7764/rdlc.23.1.16](https://doi.org/10.7764/rdlc.23.1.16).

[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](https://doi.org/10.22201/icat.24486736e.2020.18.5.1280).

[14] 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](https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.107986).

[15] 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.job.2024.109669](https://doi.org/10.1016/j.job.2024.109669).

[16] 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/slfdb.20231112](https://doi.org/10.11660/slfdb.20231112).