

Influencia de las bacterias en la autocuración del concreto

Influence of Bacteria on Self-Healing Concrete

Sócrates Muñoz-Pérez ^{1a}, Jorge Carlos-Sánchez ^{1b}, Miguel Peralta-Sánchez ^{1c}

¹ Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Urbanismo - Escuela Profesional de Ingeniería Civil, Universidad Señor de Sipan, Perú. Orcid: 0000-0003-3182-8735 ^a, 0000-0002-7537-1602 ^b, 0000-0002-3731-9571 ^c. Correos electrónicos: msocrates@crece.uss.edu.pe ^a, sacarlosjo@crece.uss.edu.pe ^b, saperaltami@crece.uss.edu.pe ^c

Recibido: 12 enero, 2022. Aceptado: 13 noviembre, 2022. Versión final: 15 enero, 2023.

Resumen

El presente documento contempla una reflexión crítica de los avances tecnológicos en ensayos biológicos y químicos que es sometido el concreto mediante la incorporación de bacterias, con el objetivo de conocer los distintos elementos microbianos que poseen propiedades de biomineralización capaces de realizar la autocuración en el concreto, asimismo, se revisaron métodos y aplicaciones de las bacterias en el concreto con el fin de mejorar sus propiedades mecánicas a las diferentes exigencias sometidas las estructuras modernas, y al mismo tiempo contribuir con la reducción de gases dañinos al medio ambiente. En el desarrollo de este manuscrito se revisaron 80 artículos indexados entre los años 2017 al 2021 distribuidos de la siguiente manera, 51 en Scopus, 17 en Ebsco, y 12 en ScieceDirect, señalando y describiendo que el concreto microbiano tiene un enfoque prometedor en un futuro cercano. Los resultados alcanzados con la incorporación de las diferentes bacterias de Bacillus, como son Bacillus subtilis, B. cohnii, B. pasteurii, B. pseudofirmus, B. megaterium entre otros, en diferentes concentraciones de células/ml., mostraron gran efectividad en la cicatrización de grietas, aumentando también la resistencia a la compresión, flexión y tracción en el concreto. Sobre la base de la revisión literaria se concluye que la precipitación microbiana de carbonato de calcio mediante ureólisis en la matriz del concreto, mitiga el agrietamiento, mejora la resistencia, aumenta la durabilidad y, por lo tanto, disminuye los costes en reparación de las estructuras.

Palabras clave: bacterias; bacillus; propiedades mecánicas; elementos microbianos; subtilis; ureólisis; autocuración; células; cicatrización de grietas; agrietamiento; carbonato de calcio.

Abstract

This document contemplates a critical reflection of the technological advances in biological and chemical tests that concrete is subjected to through the incorporation of bacteria, with the aim of knowing the different microbial elements that have biomineralization properties capable of self-healing in concrete. Likewise, the methods and applications of bacteria in concrete were reviewed in order to improve its mechanical properties to the different demands placed on modern structures, and at the same time contribute to the reduction of gases that are harmful to the environment. In the development of this manuscript, 80 articles indexed between the years 2017 to 2021 were reviewed, distributed as follows, 51 in Scopus, 17 in Ebsco, and 12 in ScieceDirect, pointing out and describing that microbial concrete has a promising approach in the future. Near. The results achieved with the incorporation of the different Bacillus bacteria,

such as *Bacillus subtilis*, *B. cohnii*, *B. pasteurii*, *B. pseudofirmus*, *B. megaterium* among others, in different concentrations of cells / ml., Showed great effectiveness in the crack healing, also increasing resistance to compression, bending and traction in concrete. Based on the literary review, it is concluded that the microbial precipitation of calcium carbonate by ureolysis in the concrete matrix mitigates cracking, improves strength, increases durability and, therefore, reduces costs in repairing structures.

Keywords: bacteria; bacillus; mechanical properties; microbial elements; subtilis; ureolysis; self-healing; cells; crack healing; cracking; calcium carbonate.

1. Introducción

El concreto es el material más compacto, sin embargo, es vulnerable agrietarse al endurecerse y es inevitable. Las grietas son debilidades inherentes al concreto que afectan su durabilidad por tal motivo tecnologías anteriores de curación de grietas se han venido desarrollando, como el uso de fibras huecas o microcápsulas introducidas para bloquear materiales poliméricos orgánicos para restaurar grietas en el concreto. Pero todas estas tecnologías anteriores influyeron en las grietas de forma muy limitada y además su empleo son muy costosas y demanda de mucho tiempo. En los últimos años con la creciente tecnología microbiana de autocuración del concreto se está convirtiendo en una alternativa de solución para el tratamiento de grietas, diseñando e incorporando sistemas de autocuración químicos y biológicos en diferentes materiales a base de cemento probando su capacidad de autocuración [1], [2].

El concepto de autocuración microbiana autónoma en el concreto originalmente fue introducido por Jonkers y Schlangen, hoy en día la autocuración microbiana se está considerando principalmente debido a sus propiedades de mejorar la resistencia del concreto, contribuyendo también a la reducción de emisiones de CO₂ al medio ambiente, ya que al no ser necesario su reparación contribuye en la reducción del uso del cemento [3], además el concreto autorreparable es una solución eficaz para minimizar el coste de reparación, rehabilitación y posteriormente, aumentar la vida útil de la estructura [4], [5]. La autocuración proporciona la curación de grietas en el concreto sin ningún tipo de ayuda, es decir, sin intervención humana (trabajo de reparación). Durante los últimos 25 años, la autocuración del concreto se ha investigado exhaustivamente [6].

Las técnicas de autocuración se clasifican en autógenas (tras la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas) o autónomas (utilizando diferentes agentes y sistemas) La autocuración autógena es evidentemente eficaz para reparar grietas menores de 300 µm de ancho, mientras que en los sistemas autónomos puede reparar grietas de mayor ancho. Si bien la mayoría de los agentes curativos tienen una base más química, en la última

década, el uso de bacterias como agente autocurativo mostró una gran capacidad potencial [7], [8], [9].

La aparición de fisuras y grietas en el concreto viene siendo un problema recurrente en estructuras de concreto armado, por tal motivo se ha venido buscando alternativas de solución de autocuración [10]. Cuando las grietas dentro del concreto se vuelven demasiado grandes, el agua, los iones de sulfato y cloruro, etc., ingresan dentro de las matrices del concreto, provocando la corrosión del refuerzo de acero que se produce debido a la exposición del acero con el agua y otras sustancias nocivas afectando a la resistencia y solidez del concreto. En la práctica, las grietas más grandes pueden potencialmente obstaculizar la integridad estructural del concreto y por lo tanto, requiere acción inmediata de reparación para proteger la estructura [11].

El concreto de autorreparación bacteriano viene mostrado ventajas significativas sobre los mecanismos de autorreparación convencionales, como mayor capacidad de curación de grietas, curación repetitiva de grietas durante 50 años, teóricamente (Jonkers y Schlangen 2008). Esas ventajas dependen del uso de cepas de bacterias especiales con características que incluyen en la formación de esporas, alta tolerancia al pH y precipitación mineral inducida por microbios (MICP) [12], [13]. En comparación, las grietas autorreparables en el concreto son beneficiosas y evitan la mayoría de los problemas mencionados anteriormente. Por ejemplo, las grietas autocurativas bloquean la vía de la grieta, evitando la fuga de agua e inhibiendo la entrada de iones agresivos, agua y oxígeno, lo que dificulta la corrosión del refuerzo de acero.

La autocuración del concreto se activa por sí sola al presentarse las grietas [14]. El mecanismo de autocuración ha desarrollado una de las mejores técnicas para rellenar las grietas hasta ahora, en la que se utilizan bacterias como agente autocurativo en la mezcla de concreto o en el mortero de cemento [15]. En otras palabras, el concreto autocurativo podría representar una solución atractiva para mitigar el agrietamiento, aumentar la durabilidad y, por lo tanto, contribuir a disminuir los problemas ambientales relacionados con la

producción y reparación del concreto además disminuir los costes en reparación de las estructuras [16], [17].

El concreto es uno de los materiales más resistentes en la actualidad sin embargo presenta un grave problema de agrietamiento, estas grietas pueden ocurrir en el concreto en todas las etapas de su desarrollo debido a razones como mano de obra deficiente, mezcla inadecuada o agregados de mala calidad, generalmente estas grietas son de menor ancho durante las etapas iniciales y pueden no afectar la estabilidad de la estructura [18], pero a medida que la estructura se somete a más tensión, estas grietas pueden aumentar en ancho y largo y afectar la integridad estructural del concreto [19]. Además, estas grietas sirven como vías de ingreso para el agua y otros químicos nocivos que pueden terminar corroyendo los refuerzos cuando se exponen al aire ambiente, afectando así la estabilidad de la estructura [20], [21]. Como la reparación del concreto no es fácil y requiere mucho dinero en mano de obra, es mejor evitar, mitigar o detener las grietas en las etapas iniciales [22]. Los investigadores utilizaron las características de mineralización de ciertas cepas y les proporcionaron las condiciones adecuadas para formar partículas de carbonato de calcio (CaCO_3), que pudieran adherirse firmemente al concreto para proteger y reforzar la superficie del sustrato. *Bacillus pseudofirmus* y *B. chonii* son dos tipos de bacterias alcalófilas que pueden producir carbonato de calcio cuando están presentes algunas sales de calcio orgánicas [23]. Por ello se hace fundamental el conocimiento del impacto que produce el carbonato de calcio precipitado orgánicamente sobre las propiedades del concreto. Por esta razón, examinaron varios tipos de bacterias debido a su alta competencia y accesibilidad simple. *B. subtilis* Los microorganismos fueron considerados en este examen.

El objetivo del trabajo se centra, en la carbonatación, la resistencia a la compresión y la autocuración de fisuras utilizando diferentes proporciones de *Bacillus subtilis* bacterias y lactato de calcio [24], así mismo los cristales de calcita pueden sellar grietas y así extender la durabilidad del concreto. La precipitación de carbonato de calcio inducida por bacterias es una forma más eficaz de sellar grietas mediante cristales de calcita [25]. El uso de microorganismos *Bacillus alkalophilus* para sobrevivir en forma de esporas en el interior del concreto sin fisuras. Los estudios han demostrado que las esporas bacterianas pueden sobrevivir durante más de 200 años en ambientes secos; por lo tanto, pueden cumplir con los requisitos de obtener estructuras de concretos más duraderas [26]. A la mezcla de concreto se aplican, bacterias a base de lactato de calcio, la resistencia del concreto autocurativo resulta mayor que el concreto típico.

La dimensión de la fisura superior a 0,8 mm es más complicada de parchear, pero puede recuperarse con la precipitación de calcita y el uso de bacterias en las grietas. La calidad del concreto con cenizas volantes puede aumentar, mediante la inclusión de *Bacillus Pasteurii*, que también disminuye la permeabilidad y la porosidad [27].

Una gran comunidad de bacterias tiene la capacidad de precipitar carbonato de calcio a través de diferentes mecanismos o vías. La precipitación de carbonato inducida por microbios MICP, juega un papel importante en la cementación de los sistemas naturales de la tierra, como cuevas, suelos, sedimentos, etc. Inspirados por la capacidad natural de MICP, los investigadores han comenzado a investigar el MICP como un prometedor método autocurativo en la nueva tecnología para estructuras de concreto, que son altamente susceptible al deterioro por microfisuras extensivas [28]. La precipitación de carbonato de calcio inducida microbianamente mediante la hidrólisis de urea es un mecanismo fácilmente controlado en el que las bacterias ureolíticas producen grandes cantidades de carbonatos en un corto período de tiempo. En este mecanismo, la degradación de la urea es catalizada por la enzima ureasa microbiana en carbonato y amonio [29].

En los últimos años, existe un creciente interés en el MICP entre los investigadores de todo el mundo, el creciente interés de los investigadores por el MICP y biocemento puede deberse a una mayor conciencia sobre la sostenibilidad a nivel mundial. Muchos estudios se centran en encontrar o desarrollar materiales y procesos sostenibles que sean amigables con el medio ambiente [30].

Si bien la aplicación de MICP en superficies de concreto es adecuada para reparar grietas superficiales visibles, la aplicación de MICP dentro del concreto ha tenido más éxito en satisfacer las necesidades de la industria de reparación de concreto por sus técnicas más fáciles y prácticas. En este último, los compuestos bacterianos se incorporan a la mezcla de hormigón durante el proceso de mezclado.

A diferencia de las técnicas de revestimiento de superficies, tener los compuestos bacterianos dentro de la mezcla de hormigón inducirá la precipitación de carbonatos dentro del propio hormigón. Este bioconcreto se crea incorporando bacterias ureolíticas en el concreto regular mediante dos formas: (1) las bacterias y sus nutrientes se agregan directamente a las mezclas de hormigón, y (2) las bacterias se encapsulan en un vehículo protector antes de ser mezclado con los materiales del concreto [31], hoy en día se centra más en

la reparación instantánea o la autocuración de grietas que pueden extender la utilidad del concreto.

La autocuración del concreto puede ser provocada por algunos procesos autógenos o inducida por bacterias. En ambos casos, las principales reacciones conducen a la creación de nuevos cristales de carbonato cálcico [32], la implementación del bioconcreto mejora los elementos estructurales alargando su utilidad, reduciendo los costos de reparación y mantenimiento y, por lo tanto, conduce a una disminución de las nuevas obras, lo que también reduce la utilización de materias primas, usada desmedidamente en la elaboración de concretos. Esto finalmente contribuye a una desaceleración de las emisiones de dióxido de carbono a la atmosfera [33].

2. Metodología para la revisión de la literatura

La presente revisión literaria se centró en la de búsqueda de artículos de investigación revisados por expertos y revisiones publicadas en revistas indexadas entre los años de 2017 al 2021, con el fin de disponer con las investigaciones más recientes que reflejen los avances técnicos científicos que se está desarrollando respecto a este tema. Para dicha revisión usó 80 artículos indexados en las bases de datos Scopus, Ebsco y en ScieDirect, los resultados se detallan en la [tabla 1](#) y en la [figura 1](#).

Las cadenas de búsqueda avanzada con palabras clave y y operadores booleanos fue las siguientes: bacteria in concrete AND bacillus subtilis, bacteria AND Self-healing concrete, bacteria in concrete AND compressive strength AND flexural strength, bacteria in concrete AND tensile strength, self-healing AND Methods, y bacteria AND self-healing concrete; el resultado se relaciona en la [tabla 2](#).

Tabla 1. Aporte de artículos por año de publicación en cada base de datos

Base de datos	Años de publicación de los artículos					Total
	2017	2018	2019	2020	2021	
Scopus	3	4	15	21	8	51
Ebsco	1	2	5	7	2	17
ScieDirect	2	3	1	4	2	12
Total	6	9	21	32	12	80

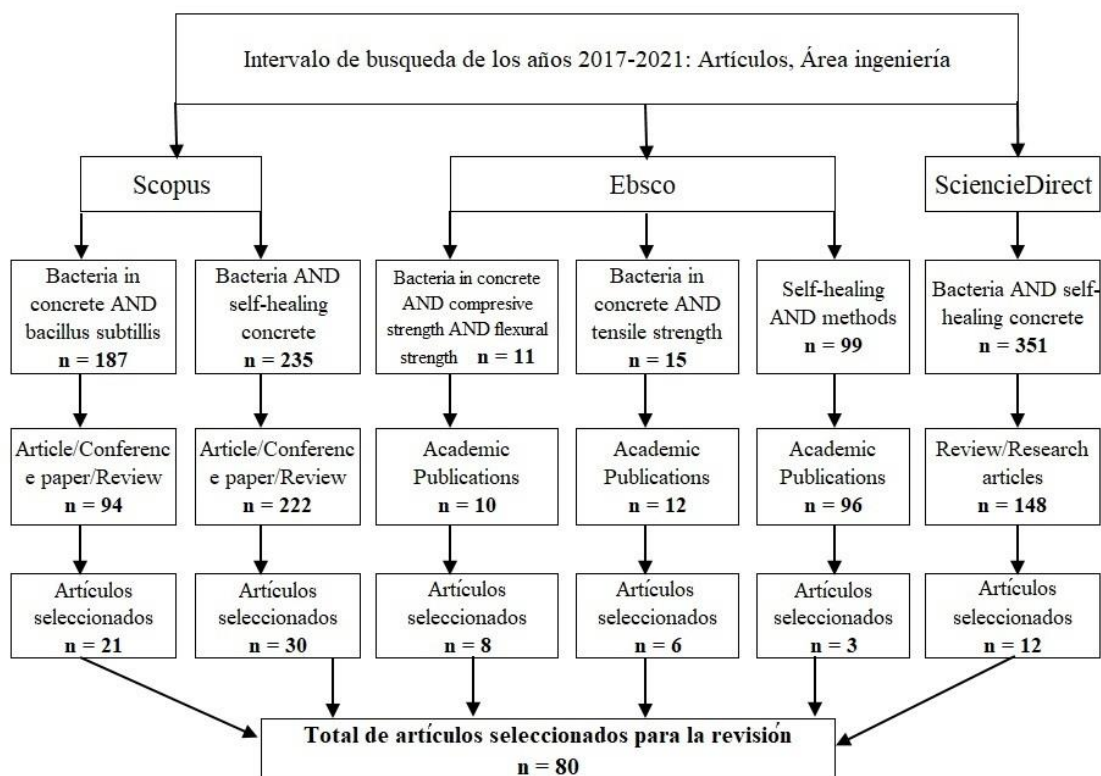


Figura 1. Criterios de búsqueda y selección de artículos. Fuente: elaboración propia.

Tabla 2. Metodología de búsqueda para selección de artículos

Bases de Datos	Palabras Clave / Operadores booleanos	Años de búsqueda	Resultados de búsqueda	Filtros de áreas temáticas		Resultados de filtros	Artículos seleccionados
				Área	Tipo de documentos		
Scopus	Bacteria in concrete AND Bacillus Subtillis	2017-2021	187	Engineering	Article/ Conference paper/ Review	94	21
	Bacteria AND Self-healing concrete		235			222	30
Ebsco	Bacteria in concrete AND compresive strength AND flexural strength		11		Academic publications	10	8
	Bacteria in concrete AND Tensile strength		15			12	6
	Self-healing AND Methods	99	96	3			
SciencieDirect	Bacteria AND Self-healing concrete		351		Review/ research articles	148	12

3. Resultados y discusión

3.1. Influencia de las bacterias en la curación de grietas

El agrietamiento, que es el problema más difícil del hormigón, no sólo reduce las propiedades mecánicas, sino que también pone en peligro la durabilidad y la vida útil del hormigón, en la actualidad, para mejorar la vida útil del hormigón, se incorporan sistemas de autocuración en el hormigón y hacen que el hormigón sea capaz de curar las microfisuras por sí mismo. Un sistema de autocuración que emplea bacterias para curar las microfisuras es un enfoque prometedor [34].

Se utilizaron los agregados ligeros (LWA) impregnados con la solución de *Bacillus pseudofirmus* B-4104 como sistema de autocuración basado en bacterias. Tras el proceso de curación, los resultados obtenidos indicaron que, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)

combinada con la espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS), son los productos cristalinos de curación a nanoescala los que rellenan las microfisuras y acaban por curar las muestras. El producto de curación mostró una buena compatibilidad con la matriz de cemento y una cristalinidad cúbica regular. También, [35], en el caso del mortero con *Bacillus alcalophilus*, con una concentración final en el medio de $2,16 \times 10^9$ células/ml, cultivado en agua destilada, las grietas con una anchura inferior a 200 μm fueron reparadas, y para las grietas con una anchura superior a 400 μm , se redujo en 40%, la reparación de grietas del mortero con bacterias alcanzó el 44% a los 7 días y aumentó de forma constante hasta el 94% a los 28 días, el efecto de reparación del área de los morteros con bacterias y fibras de polipropileno (PP) monofilamento con una longitud de 6 mm, módulo elástico de 3,5 GPa y 38 μm de diámetro, fue mejor que las muestras con bacterias solamente, la tasa de reparación del área de la grieta alcanzó el 58% a los 7 días y aumentó hasta el 96% a los 28 días, la fibra de PP

puede mejorar la eficiencia de autocuración de los morteros mezclados con agentes bacterianos, los cristales se formaron en la fibra y rellenaron las grietas más rápidamente que las grietas sin fibras. Además, Esaker & colaboradores [36], tras 120 días de incubación de la bacteria *Bacillus Subtilis*, las muestras de control (CMS) y las muestras de biomortero (BMS) de incubación, se inspeccionaron visualmente bajo microscopio para evaluar el cierre de la grieta, en las vistas superiores de la superficie de la grieta del BMS, las anchuras de las grietas completamente curadas fueron significativamente mayores en especímenes incubados en agua y en suelo de pH neutro, que las muestras incubadas en alta concentración de sulfato de Calcio y bajo PH del suelo, los resultados de la inspección microscópica de CMS, muestra que la mayoría de las grietas pequeñas (<100 μm) incubadas bajo diferentes condiciones se curaron de forma autógena, como resultado de la exposición a la hidratación secundaria de las partículas de cemento no hidratadas dentro de la zona de la grieta.

Por otro lado, se utilizaron como agentes de autocuración, especies de *Bacillus* de tipo no patógeno, como *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus halodurans*, mediante el estudio microbiológico denominado el proceso de tinción de Gram se identificó que los cuatro cultivos seleccionados son bacterias grampositivas y con forma de bastón, en el caso del medio de composición del hormigón, el *B. halodurans* ha mostrado la tasa de crecimiento más alta y ha mostrado un valor de velocidad de pulso ultrasónico de 4,6 km/s y con un 1,71% de absorción de agua, que es óptimo entre otros cultivos bacterianos, se recomienda el uso de *B. halodurans* como agente autocurativo en los trabajos de reparación del hormigón [37].

La aplicación interna de bacterias y nutrientes en concretos bacterianos agrietados tratados en agua dulce y agua de mar, revela que 5×10^7 células/ml de *B. pasteurii* o *B. sphaericus* fueron más eficaces en el proceso de curación, en agua dulce que los concreto precurados en agua de mar. La grieta de estos especímenes, fue rellenada en su totalidad, con depósitos blancos después de una semana de tratamiento. La matriz curada en agua dulce, preparada con 5×10^5 células de *B. Sphaericus*, mostró una microestructura refinada y homogénea y un crecimiento significativo de cristales de calcita, los cristales son de formas esféricas, cúbicas y romboédricas [38].

La proporción de curación de los especímenes tratados con células vegetativas y nutrientes (CVN) tras 7 días de tratamiento fue del 95%, siendo mayor que el de los especímenes tratados con esporas microencapsuladas y nutrientes (EMN). Asimismo, tras 28 días de tratamiento

las muestras CVN mostraron una curación del 100% del área de la grieta, que fue de nuevo mayor que los especímenes EMN. Los resultados muestran que la curación de grietas es más eficaz por las células vegetativas.

En el caso de las muestras de mortero tratadas con células vegetativas, las células bacterianas recibieron gotas de nutrientes cada día durante todo el proceso de tratamiento, asegurando suficientes nutrientes para que las actividades celulares llevaran a cabo tanto la fisión binaria como los procesos ureolíticos para precipitar el carbonato cálcico. Además, las células vegetativas utilizadas en este estudio eran bacterias en la fase exponencial de su curva de crecimiento bacteriano [39].

Se observaron tres grietas en el hormigón autorregenerativo (se utilizó una especie de bacteria formadora de esporas), la anchura de la grieta N.º 1 era de 0,40-0,50 mm. Las anchuras de la grieta N.º 2 y de la grieta N.º 3 era de 0,35-0,45 mm y 0,20-0,35 mm, respectivamente. Se adoptaron diferentes métodos de curación para las tres grietas. Para la grieta N.º 1, se utilizó la curación por pulverización de agua con un intervalo de tiempo de 24 horas. Las grietas N.º 2 y N.º 3 se curaron cubriendo con arpillera húmeda, sustituidas cada 24 horas, que contenía solución nutritiva y agua, respectivamente.

Los resultados indican que la grieta se puede reparar bien cuando se utilizó la arpillera húmeda con solución nutritiva de curación, y el efecto de autocuración de la grieta mediante el uso de agua pulverizada era malo. El efecto de autocuración de la grieta nº 2 fue el mejor, y se generó una gran cantidad de precipitados blancos en la boca de la grieta. La razón podría atribuirse a que las bacterias necesitaban agua para su reproducción y reacción de mineralización. Mientras tanto, la adición de nutrientes podría promover el crecimiento y la eficiencia de mineralización de las bacterias y aumentar la producción de productos de curación [40], [41].

Se compara la introducción de bacterias de precipitación de calcita, *Bacillus subtilis* KCTC-3135T, *Bacillus cohnii* NCCP-666 y *Bacillus sphaericus* NCCP-313, las bacterias se inmovilizaron en fibras de coco, lino y yute mediante absorción, seguida de la incorporación de las fibras en la matriz de hormigón y transportar esporas bacterianas para la autocuración. Los resultados de las propiedades visuales, microestructurales y mecánicas del hormigón autorregenerativo sugieren que las fibras naturales eran capaces de inmovilizar sustancialmente las esporas bacterianas. Las fibras de lino proporcionaron una mejor protección a las bacterias con una mejor curación de grietas y una recuperación de la resistencia a

la compresión, mientras que las fibras de coco dieron lugar a una mayor resistencia a la compresión. También se observa que *B. sphaericus* NCCP-313 precipitó más carbonato de calcio como producto de curación con una curación uniforme en toda la longitud de las grietas en el hormigón.

En consecuencia, las bacterias inmovilizadas con fibras alcanzaron aproximadamente un 75-85% y un 60-65% de tasas de curación en especímenes preagrietados a los 7 y 28 días, respectivamente [42]. Sin embargo, se sabe poco sobre la aplicación de la aragonita, la otra forma cristalina común del carbonato de calcio, en el bioconcreto, Zhang & colaboradores [43], llevaron a cabo una investigación sistemática de los polimorfos cristalinos y la eficiencia de curación de diferentes cultivos, es decir, dos consorcios microbianos en condiciones anaeróbicas (MC-Aa) y anóxicas (MC-Ao) y bacterias de cultivo puro no urélicas (*Bacillus cohnii*), los resultados mostraron que el agente MC-Ao exhibió los valores máximos de anchura de grieta completamente curada (1,22 mm) después de 28 d de curación [44].

Eligieron un tipo de bacteria resistente a la anhídrida carbónica, la concentración final de bacterias en el medio fue de alrededor de 10^9 células/ml, se prepararon cuatro mezclas, una solución fue sin fibra como control y otras tres mezclas fueron incorporadas con 2 g de fibra de polipropileno (PP1), 2 g de fibra de polipropileno (PP2) y 2,76 g de fibra de alcohol polivinílico (PVA1) (fracción de volumen del 0,73%), respectivamente. Los resultados revelaron que el efecto de reparación del área de los morteros con fibra de PVA fue mejor que otras dos muestras con fibra solamente, el coeficiente de reparación del área de la grieta alcanzó el 44% a los 7 días y fluctuó hasta el 50% a los 28 días, lo que indicaba que la fibra de PVA podía mejorar capacidad de autocuración del mortero [45], [46].

Exploraron el biocarbón, derivado de residuos de madera, como portador de esporas bacterianas de precipitación de carbonato en el mortero de cemento para sellar grietas y recuperar la resistencia y permeabilidad de las muestras curadas, los resultados experimentales muestran que las esporas inmovilizadas con biocarbón combinadas con SAP (polímero superabsorbente) y PP (microfibras de polipropileno) precipitan abundante cantidad de carbonato de calcio, que selló completamente las grietas de hasta 700 μm [47], esta mezcla también mostró la mayor recuperación de la impermeabilidad y la resistencia bajo ambos niveles de precarga, la mejora de la resistencia en un 38% y la reducción de la penetración y la absorción de agua en un 65% y un 70% se observó mediante la inmovilización de las esporas en el biocarbón, en comparación con las esporas añadidas

directamente, de la comparación entre muestras, se encontró que la inclusión de la fibra de PP contribuyó a la recuperación de la resistencia y la impermeabilidad, mientras que el SAP aseguró una mayor precipitación de carbonatos inducida por bacterias [48], [49].

3.2. Influencia de las bacterias en la absorción de agua

Se desarrolló un material cementicio de bajo contenido en álcali, compuesto por cemento de sulfoaluminato de calcio con un 20% de humo de sílice, como portador protector útil para el sistema de autocuración bacteriana basado en la ureólisis en el hormigón, tras la incubación, todas las muestras mostraron una notable reducción de la cantidad de absorción de agua, se encontró una recuperación casi total de la estanqueidad para la serie microbiana después de la incubación que la cantidad de absorción de agua estaba muy cerca de la cantidad antes de la fisuración, las muestras microbianas mostraron el mayor coeficiente de recuperación de la estanqueidad de aproximadamente el 95%, que es aproximadamente 1,5 veces el de las de referencia [50].

Del mismo modo, se desarrolló un sistema de autocuración basado en bacterias mediante la carga de agentes curativos en soportes de ceramita, el análisis de imágenes mostró que las grietas de hasta 273 μm podían ser curadas con una ratio de cierre de grietas del 86% en 28 días, en las series de carga de bacterias y nutrientes, el coeficiente de absorción de agua disminuyó aproximadamente un 27% y la recuperación de la resistencia aumentó aproximadamente un 24% en comparación con la referencia. Los hallazgos indicaron una aplicación prometedora del MICP (precipitación microbiana de CaCO_3) basado en la ureólisis para restaurar las propiedades mecánicas y mejorar la durabilidad del hormigón [51].

Por otro lado, se sintetizó un hidrogel que responde al pH para encapsular esporas bacterianas con el fin de autosellar las grietas del hormigón, las muestras con esporas encapsuladas en hidrogel mostraron la mayor reducción del flujo de agua (81~90%) y la mayor eficacia de sellado de grietas [52].

3.3. Resistencia a la compresión del concreto bacteriano de las bacterias en la absorción de agua

El grado de concentración de células bacterianas influye en el aguante a la fuerza compresiva del bioconcreto, [53] la mejora de la dureza del concreto incorporado con células urea-vegetales de *L. sphaericus* fue de aproximadamente el 4% y el 9% a concentraciones celulares de 5×10^6 y 5×10^7 células/ml, respectivamente,

valores similares se obtuvieron con la cepa de *S. pasteurii*, donde la resistencia del hormigón mejoró en un 7% y un 14%, en comparación con la de las muestras de control, sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron con una concentración de 2×10^7 células/ml, utilizando ambas especies bacterianas, con una mejora máxima e resistencia del 15% y 11%, respectivamente.

En [54] el hormigón con *Bacillus E Coli* y el *Bacillus Subtillis* JC3, inducido a una concentración celular de 10^5 células/ml, mejora las propiedades del hormigón, respecto a las muestras de control, obteniendo una mayor resistencia a la compresión el hormigón con *Bacillus subtilis* JC3. Asimismo [55], incorporando *Bacillus subtilis* en concentraciones de 10^3 , 10^5 y 10^7 células/ml, el mejor resultado se obtuvo con una concentración bacteriana de 10^5 células/ml. Estos resultados se debieron a la reacción del ion carbonato con el ion calcio, producido como consecuencia de la actividad metabólica de las bacterias ureolíticas, induciendo la formación de carbonato cálcico.

Balam [56], sustentan que la mejora del hormigón bacteriano, podría estar vinculada a la actividad de la ureasa, ya que ésta termina esencialmente el proceso, induciendo carbonato de calcio. También [57], develaron que el carbonato de calcio microbiano en el bioconcreto, condujeron a la reducción del espacio de los poros y microgrietas, por consiguiente, mejoraron su resistencia.

Algunos investigadores estudiaron el efecto de tres condiciones de incubación de diferentes bacterias sobre la resistencia a la compresión del concreto, en un entorno de, agua, solución reactiva y suspensión de bacterias, urea y cloruro de calcio, los resultados revelaron que la resistencia a la compresión a las edades de 7, 14 y 28 días para las muestras sumergidas en suspensión de bacterias fue mayor que las sumergidas en agua, donde la resistencia a la compresión de 34,4 MPa para las muestras de 28 días, obteniéndose como resultado aproximadamente un 30% más alto para las muestras sumergidas en bacterias con respecto a las muestras sumergidas en agua, a la misma edad [58], el análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM) y difracción de rayos X en polvo (XRD) reveló la presencia de depósitos de calcita debido a la actividad de *B. pasteurii* en el concreto, aumentando su resistencia a la compresión del casi 40% más que el espécimen de control, la precipitación de calcita con los mismos métodos de análisis han descubierto que *Bacillus megaterium* tiene el potencial de mejorar el aguante a la fuerza compresiva del concreto en un 24% más en comparación a los ensayos de control.

Asimismo, la *B. subtilis* mostró un aumento considerable al aguante a la fuerza compresiva en un 12% más con respecto a las muestras de control, debido a la precipitación de CaCO_3 , la investigación sobre las características del concreto realizada con RHA (Rice Husk Ash) indicó que la inclusión de bacterias (*Bacillus aerius*) puede mejorar su resistencia a la compresión en 10% en todas las edades, debido a la precipitación de la calcita, la *B. sphaericus* tuvo un aumento considerable del aguante a la fuerza compresiva de las muestras de mortero, llegando a un 40% más que las muestras de control [59].

Del mismo modo, se estudió el potencial de las nuevas bacterias precipitadoras de calcita aisladas de suelos aluviales para aumentar el aguante y la dureza del concreto, visualizándose un aumento al aguante de la fuerza compresiva en 1.5 veces en las muestras de hormigón enmendadas con *Lysin bacillus* sp., respecto al hormigón enmendado con *B. megaterium* MTCC 1684 después de 28 días de curado [60], ver figura 2.

Basha & colaboradores [61] estudiaron la resistencia a la compresión de los morteros de cemento mezclado con seis bacterias alcalifílicas (*Bacillus subtilis*, *Brevi bacillus* sp., *P. dendritiformis*, *B. methylotrophicus*, *B. licheniformis*, *S. maltophilia*), aisladas de minas de mica subterráneas de alta alcalinidad, los experimentos mostraron que la adición de aislados alcalifílicos a diferentes concentraciones celulares (10^4 y 10^6 células/ml) mejoraba la resistencia a la compresión del mortero de cemento, *Bacillus subtilis* mostró la mayor resistencia a la compresión (28,61%) del mortero de cemento a 10^4 células/ml en comparación con las de otros cinco aislados alcalifílicos y también el mortero de cemento controlado.

En la tabla 3 se relaciona la resistencia a la compresión del concreto normal y concreto bacteriano.

En [62], se estudió el efecto de la bacteria *Bacillus subtilis* y el lactato de calcio en el rendimiento mecánico del hormigón, la concentración bacteriana de 10^5 células/ml y la adición del 0.5% de lactato de calcio en el hormigón, mejoraron la resistencia a la compresión en todas las edades. Por otro lado, Vijay & colaboradores [63]. Determinaron que el aguante a la fuerza compresiva con *Sparcina pasteurii* acompañado de la bacteria *Bacillus subtilis* en 2×10^7 células/ml fue un 20% más que el concreto sin bacterias como se observó a los 28 días, el cemento fue reemplazado con diferentes concentraciones de cenizas volantes de 10%, 20% y 40% en el mortero, la inclusión de las células bacterianas mejoró la resistencia a la compresión del mortero en un

19%, 14% y 10% respectivamente, comparadas con los ensayos de control.

Los métodos de encapsulación de bacterias repercuten en la eficacia de reparación de las fisuras y en la resistencia del concreto, la encapsulación de bacterias en arcilla expandida es uno de los más usados [64].

Bacterias alcalófilas del género *Bacillus* y de compuestos minerales orgánicos, encapsuladas en arcilla expandida Liapor con un tamaño de partícula entre 1 y 4 mm aplicadas al concreto, mostraron un aumento de resistencia a la compresión después de solo 7 días de curación, sin embargo, la mayor resistencia se consigue a los 63 días, alcanzando una mejora del 40% comparadas con las muestras de control, lo que indica que las muestras autocurables muestran una hidratación a largo plazo, promovida por la presencia de actividad bacteriana [65], analizaron muestras de concreto con esporas de *B. bacillus lentus* encapsuladas en arcilla expandida impregnada con lactato de calcio (1.5%), otras impregnadas con levadura (0.03%) y muestras de control,

a los 28 días de endurecimiento, se obtuvieron 23 MPa, 27 MPa y 21 MPa, respectivamente, al aguantar a la fuerza compresiva, concluyéndose que dicha propiedad aumenta y el medio da un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo bacteriano [66].

3.4. Resistencia a la flexión del concreto bacteriano

La agregación de bacterias y fibras combinadas en el concreto aumenta la resistencia a la flexión en comparación con la adición de fibra solamente, obteniendo hasta 2,9 Mpa en las pruebas de resistencia a la tracción, la fuerza de curación obtenida al combinar fibra y bacterias influyen en la extensión de la vida útil de las estructuras de concreto, las muestras que incorporaron bacterias y fibras mostraron incremento en la resistencia a la flexión, en 34%, y las muestras con fibra solamente, un 29 %, respecto a las muestras de control, la adición de fibra desempeña un papel importante para recuperar la resistencia a la flexión y que la incorporación de bacterias [67].

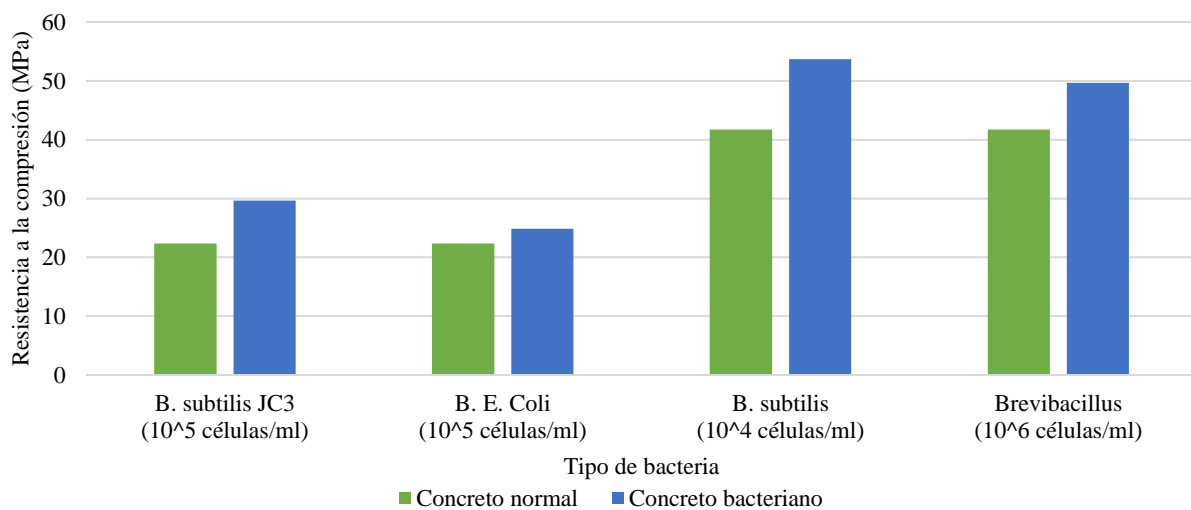


Figura 2. Influencia de las bacterias en la resistencia a la compresión a los 28 días de curado.

Tabla 3. Resistencia a la compresión del concreto normal y concreto bacteriano

Autor	Tipo de bacterias	artículo	Resistencia a la compresión concreto normal			Concreto bacteriano aumento de la resistencia. a la compresión		
			7 días (MPa)	14 días (MPa)	28 días (MPa)	7 días (MPa)	14 días (MPa)	28 días (MPa)
Rajani V Akki et al., 2019	B. subtilis JC3 en 10 ⁵ células/ml	[54]	13.48	19.85	22.34	20.82	26.19	29.64
	B. E. Coli en 10 ⁵ células/ml				18.18	21.89	24.88	
Basha Sreenivasulu et al., 2018	B. subtilis en 10 ⁴ células/ml	[61]	N/D	N/D	41.7	N/D	N/D	53.67
	Brevi bacillus en 10 ⁶ células/ml		N/D	N/D		N/D	N/D	49.66

Jena & colaboradores [68] realizaron pruebas para medir la resistencia a la flexión de los especímenes de concreto después de 7 días, 14 días y 28 días, la comparación de la resistencia a la flexión entre el concreto de control y el concreto bacteriano, es decir, concreto añadido con *Bacillus subtilis*, en comparación con el hormigón de control, la mejora porcentual de la resistencia del hormigón con 10^5 células/ml después de 7, 14 y 28 días es de 37,93%, 34,37% y 29,14%, respectivamente (ver figuras 3 y 4).

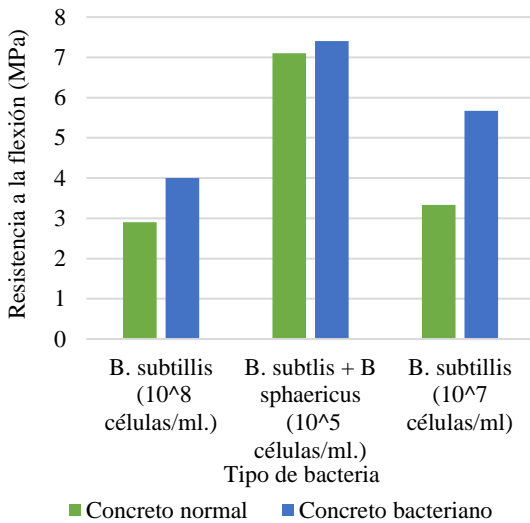


Figura 3. Influencia de las bacterias en la resistencia a la flexión a los 7 días de curado.

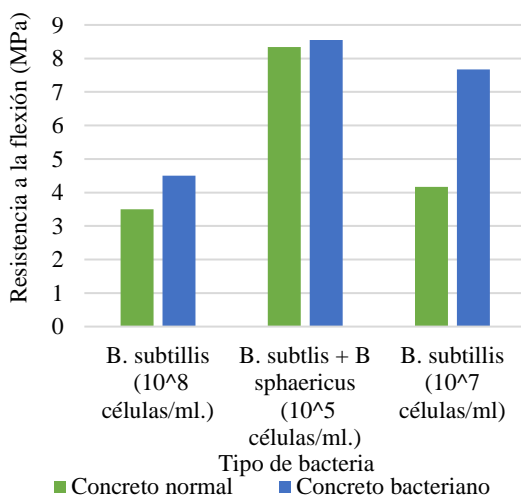


Figura 4. Influencia de las bacterias en la resistencia a la flexión a los 28 días de curado.

Chithambar Ganesh & colaboradores [69], al añadir bacterias *B. Subtilis*, *B. Sphaericus* y fibra en el hormigón, la resistencia a la flexión a los 7, 14 y 28 días es de 8,05

N/mm², 8,63 N/mm² y 9,12 N/mm² y se incrementa en un 13,38 %, 12,52% y 9,35 % del hormigón convencional, respectivamente. Del mismo modo, Vijay & Murmu [70], determinaron que el concreto con adición de fibra de basalto, bacteria *B. subtilis* y lactato de calcio, muestran buenos resultados en el restablecimiento de las propiedades mecánicas del concreto, luego de la precarga (60% de la capacidad de carga, a una edad 28 días), concluyendo que las fibras pueden reducir la anchura de la grieta por acción de puente y las bacterias desarrollan un material de relleno en esa parte de puente, el análisis posterior de XRD, confirma que el material depositado en las grietas es calcita; esta es la razón para mejorar las propiedades de recuperación del concreto.

Manvith Kumar Reddy & colaboradores [71], ensayaron vigas rectangulares con un aparato de doblado de cuatro puntos donde el tramo de carga es 1/3 del tramo de soporte, se observó un aumento del 41% en la resistencia a la flexión en el concreto inoculado con *B. subtilis* (10^7 células/ml) durante 7 días, del mismo modo, se observó un aumento del 45% durante 28 días en comparación con el concreto normal, se seleccionó un grupo de bacterias formadoras de esporas relacionadas con el género *Bacillus subtilis* para su cultivo en una solución de pH elevado. El *B. subtilis* M9 derivado y resistente a los álcalis se aplicó a la prueba de biomineralización, mientras que el mineral precipitado era carbonato de calcio en fase de calcita, según los resultados de XRD y SEM (microscopía electrónica de barrido), con *B. subtilis* M9 como agente de cicatrización, se logró un mayor resultado de autocuración [72].

En la tabla 4 se relaciona la resistencia a la flexión del concreto normal y concreto bacteriano.

3.5. Resistencia tracción del concreto bacteriano

Al convertir la urea en amonio y carbonato, las bacterias ureolíticas como *Bacillus subtilis* puede precipitar CaCO_3 en un clima altamente alcalino localmente, la oxidación de urea-amoniaco eleva el pH y facilita la deposición microbiana de carbonato como cristales de calcita en un ambiente rico en calcio mientras se preserva el pH del concreto favoreciendo a mejorar sus propiedades. La prueba de resistencia a la tracción dividida se llevó a cabo con 3 cubos de concreto convencional los días 7, 14 y 28. Y el promedio de los resultados de la prueba fue de 1.14 MPa, 2.41 MPa y 3.44 MPa. Y los resultados con el concreto bacteriano fueron 1.4 MPa, 2.76 MPa y 4.2 MPa. Podemos ver que el concreto bacteriano tiene una mayor resistencia a la tracción que el concreto convencional [73].

Tabla 4. Resistencia a la flexión del concreto normal y concreto bacteriano

Autor	Tipo de bacterias	Artículo	Resistencia a la flexión concreto normal			Concreto bacteriano aumento de la resistencia. a la flexión		
			7 días (MPa)	14 días (MPa)	28 días (MPa)	7 días (MPa)	14 días (MPa)	28 días (MPa)
Jena et al., 2020	B. subtilis en 10 ⁵ células/ml	[68]	2.9	3.2	3.5	4	4.3	4.5
Chithambar Ganesh et al., 2019	B. subtilis en 10 ⁵ células/ml & Sphaericus en 10 ⁵ cel./ml	[69]	7.1	7.67	8.34	7.4	8.1	8.55
	B. subtilis, B. sphaericus & fibra de polipropileno					8,05	8,63	9,12
Manvith Kumar Reddy et al., 2020	B, subtilis en 10 ⁷ células/ml	[71]	3.33	N/D	4.17	5.67	N/D	7.67

Sin embargo Rohini & Padmapriya, en su investigación, utilizaron Bacteria Bacillus Subtillis del 2% de bacterias como aditivo para mejorar el rendimiento del concreto las muestras convencionales alcanzaron una resistencia promedio a la tracción de 4.3 MPa, 4.68 MPa y 5.0 MPa y los concretos bacterianos con porcentajes del 2% de bacterias lograron una resistencia a la tracción de 5.46 MPa, 5.98 MPa y 6.46 MPa, a los 7, 14 y 28 días respectivamente [74].

Se usaron bacterias, bacillus subtilis y bacillus megaterium en concentraciones de 0.8×10^8 células / ml.

Para mejorar las propiedades mecánicas del concreto, se observó un aumento similar en la resistencia a la tracción para los 2 casos en comparación con el concreto convencional, bacillus subtilis mostró un aumento porcentual del 25,3%, bacillus megaterium mostró un incremento porcentual del 18,29%. El hormigón convencional muestra una resistencia a la tracción de 3,04 MPa después del día 28 de curado, mientras que B. subtilis, B. megaterium y en combinación mostraron una resistencia a la tracción de 4,11 MPa y 3,88 MPa, es decir, el porcentaje de aumento en comparación con el hormigón convencional es de 25,3%, 18,29% respectivamente [75].

Shaheen et al., 2019 & Jafarnia et al., evidenciaron que los resultados con la adición de microbios en cantidades de 2.3×10^8 células/ml. mejoró la aguanete a la tracción de todos los especímenes, los especímenes de control, a los 7 días, alcanzaron 2.37 MPa en su resistencia a la tracción dividida, y siguió aumentando hasta 3,16 MPa a los 28 días de la prueba. En la Mezcla con la adición de B. subtilis alcanzo 2.45 MPa a los 7 días y 3.22 MPa a los 28 días mejorando la resistencia a la tracción dividida hasta un 3,5% y un 2% a los 7 y 28 días de la prueba, respectivamente [76], [77].

Xu et al., usaron partículas de caucho y esporas bacterianas, B. subtilis en proporciones de 3.75×10^{13} células/ ml. La resistencia a la tracción dividida de los concretos bacterianos fueron de 2,55 MPa y 2,44 MPa, a los 14 y 28 días, suponiendo una mejora del 17.5 % y 9.4% con respecto al concreto con caucho normal sin inclusión de bacterias que alcanzaron una resistencia a la tracción de 2.17 MPa y 2.23 MPa respectivamente. Esto puede deberse a que el recubrimiento de alginato de sodio sobre el caucho en el concreto autorreparable puede funcionar como un agente de acoplamiento para mejorar la unión de las partículas de caucho y el cemento [78].

El concreto microbiano a base de bacillus sphaericus está directamente relacionada con el volumen de solución bacteriana hasta 20 ml. A medida que aumenta volumen de solución bacteriana, también aumenta el número de bacterias en la mezcla de concreto. Esto da como resultado una mayor formación de esporas que conduce a una mayor formación de precipitado de calcita que se induce en los poros del concreta matriz, lo que conduce a un mejor aguante a la tracción por rotura del concreto control. Después de la adición de las bacterias, se visualizó que el aguante a la tracción por división aumenta hasta un 8% con respecto al concreto normal. Las muestras arrojaron para los concretos normales una resistencia de 3.25 MPa y 4.51 MPa a los 7 y 28 días de edad, mientras que el concreto bacteriano alcanzó 3.51 MPa y 5.37 MPa alcanzando un incremento de 8% y 19% respectivamente [79]. La concentración de bacterias, bacillus subtilis en suspensión se mantuvo igual a $2,2 \times 10^6$ células / ml. según las proporciones de la mezcla y las condiciones de curado. Se obtuvo 2.55 Mpa en las pruebas de tracción indirecta, en las muestras de concreto sin inclusión de bacterias, a los 28 días de curado, y las muestras con bacterias B. subtilis alcanzó una resistencia a la tracción de 2.90 MPa evidenciando una mejora del 14% con respecto a la muestra control.

El examen de estos resultados muestra que el efecto positivo de las bacterias sobre la resistencia a la tracción no es muy significativo alcanzando solo un aumento de 0.36 MPa. Dado que estas bacterias precipitan de carbonato de calcio cristalizados, que actúan principalmente como selladores, no se puede esperar que mejore las propiedades de tracción del hormigón proyectado tan sustancialmente como las fibras. Sin embargo, ha mejorado la resistencia a la tracción al reducir la porosidad de la matriz [80].

En la [tabla 5](#) se relaciona n los resultados sobre la resistencia a la tracción del concreto normal y concreto bacteriano y en la [figura 5](#) se observa la Influencia de las

bacterias en la resistencia a la tracción a los 7, 14, y 28 días de curado.

4. Conclusiones

La inducción de carbonato de calcio debido a la actividad metabólica de las bacterias ureolíticas en el concreto, conducen a la reducción del espacio de los poros y microgrietas, las bacterias que destacan en su capacidad de precipitación de calcita, son la *B. Sphaericus*, *B. pseudofirmus*, *B. subtilis*, *B. pasteurii* entre otras.

Tabla 5. Resistencia a la tracción del concreto normal y concreto bacteriano

Autor	Tipo de Bacteria	Artículo	Resistencia a la tracción concreto normal			concreto bacteriano aumento de la resistencia a la tracción		
			7 días (MPa)	14 días (MPa)	28 días (MPa)	7 días (MPa)	14 días (MPa)	28 días (MPa)
Pachaiyannan et al., 2020	<i>bacillus subtilis</i>	[73]	1.14	2.41	3.44	1.40	2.76	4.20
Rohini & Padmapriya, 2021	<i>bacillus subtilis</i> en 2% de bacterias	[74]	4.3	4.68	5	5.46	5.98	6.46
Nain et al., 2019	<i>bacillus subtilis</i> en 0.8×10^8 cel./ml.	[75]	N/D	N/D	3.04	N/D	N/D	4.11
	<i>B. megaterium</i> en 0.8×10^8 cel./ml.		N/D	N/D	3.04	N/D	N/D	3.88
Shaheen et al., 2019 & Jafarnia et al., 2020	<i>bacillus subtilis</i> en 2.3×10^8 cel./ml.	[76], [77]	2.37	N/D	3.16	2.45	N/D	3.22
Xu et al., 2019	<i>bacillus subtilis</i> en 3.75×10^{13} cel./ml.	[78]	N/D	2.17	2.23	N/D	2.55	2.44
Shanmuga Priya et al., 2019	<i>bacillus sphaericus</i> 20 ml.	[79]	3.25	N/D	4.51	3.51	N/D	5.37
Kalhari et al., 2017	<i>bacillus subtilis</i> en 2.2×10^6 cel./ml.	[80]	N/D	N/D	2.55	N/D	N/D	2.90

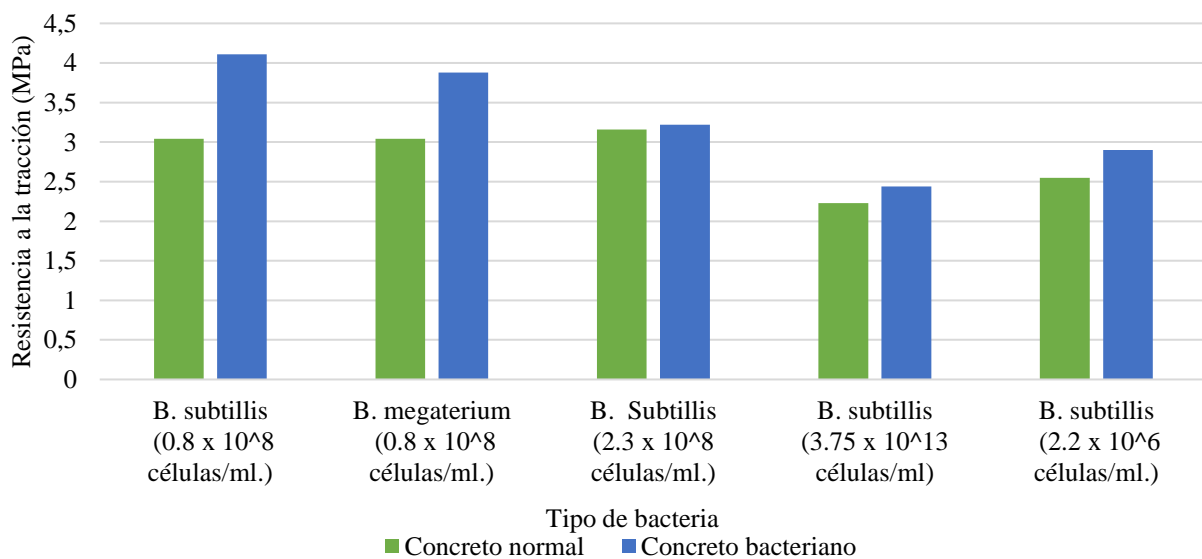


Figura 5. Influencia de las bacterias en la resistencia a la tracción a los 7, 14, y 28 días de curado.

El grado de concentración de células bacterianas en el concreto, influye 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 *B. subtilis*, en diferentes concentraciones en el concreto, la que mejores resultados ha presentado en el incremento de la resistencia, comparado con el concreto patrón.

Adicionar las bacterias sin protección alguna en la matriz del concreto minimiza su supervivencia, la encapsulación bacteriana aumenta la supervivencia de las bacterias, pero al mismo tiempo, las cápsulas, deben ser lo suficientemente fuertes como para soportar el proceso de mezcla del concreto, y lo suficientemente frágiles como para romperse cuando aparezcan grietas, los métodos de encapsulación más prometedores son la microencapsulación a base de melanina, seguida de la arcilla expandida recubierta con una capa de geopolímero.

El concreto bacteriano autocurable, basado en la precipitación microbiana de carbonato de calcio mediante ureólisis, muestra una notable reducción de la cantidad de absorción de agua y mejoran la durabilidad del concreto.

Financiación

No aplica.

Contribución de autores

S. Muñoz-Pérez: Conceptualización, Investigación, Redacción, Revisión y Edición. J. Carlos-Sánchez: Metodología, Investigación, Redacción, Revisión y Edición. M. Peralta-Sánchez: Análisis formal, Investigación, Escritura - Borrador original.

Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional

No aplica.

Declaración de consentimiento informado

No aplica.

Referencias

- [1] T. Zheng, C. Qian, "Self-Healing of Later-Age Cracks in Cement-Based Materials by Encapsulation-Based Bacteria," *Journal of Materials in Civil Engineering*, vol. 32, n° 11, p. 04020341, 2020, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0003437](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0003437)
- [2] M. Fahimizadeh, A. Diane Abeyratne, L. S. Mae, R. K. R. Singh, P. Pasbakhsh, "Biological Self-Healing of Cement Paste and Mortar by Non-Ureolytic Bacteria Encapsulated in Alginate Hydrogel Capsules," *Materials*, vol. 13, no. 17, p. 3711, 2020, doi: <https://doi.org/10.3390%2Fma13173711>
- [3] M. Rauf, W. Khaliq, R. A. Khushnood, I. Ahmed, "Comparative performance of different bacteria immobilized in natural fibers for self-healing in concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 258, p. 119578, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119578>
- [4] M. Zamani, S. Nikafshar, A. Mousa, A. Behnia, "Bacteria encapsulation using synthesized polyurea for self-healing of cement paste," *Construction and Building Materials*, vol. 249, p. 118556, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119578>
- [5] E. Ahn, H. Kim, S.-H. Sim, S. W. hin y M. Shin, "Principles and Applications of Ultrasonic-Based Nondestructive Methods for Self-Healing in Cementitious Materials," *Materials*, vol. 10, n° 3, p. 278, 2017, doi: <https://doi.org/10.3390/ma10030278>
- [6] T. Zheng, C. Qian, "Self-Healing of Later-Age Cracks in Cement-Based Materials by Encapsulation-Based Bacteria," *Journal of Materials in Civil Engineering*, vol. 32, n° 1-10, p. 04020341, 2020, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0003437](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0003437)
- [7] M. Rajczakowska, K. Habermehl-Cwirzen, H. Hedlund, A. Cwirzen, "Autogenous Self-Healing: A Better Solution for Concrete," *Journal of Materials in Civil Engineering*, vol. 31, n° 9, p. 03119001, 2019, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0002764](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0002764)
- [8] M. Seifan, A. Ebrahiminezhad, Y. Ghasemi, A. K. Samani, A. Berenjian, "Amine-modified magnetic iron oxide nanoparticle as a promising carrier for application in bio self-healing concrete" *Biotechnological products and process engineering*, vol. 102, n° 1, pp. 175-184, 2017, doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8611-z>

- [9] L. Tan, B. Reeksting, V. Ferrandiz-Mas, A. Heath, S. Gebhard, K. Paine, "Effect of carbonation on bacteria-based self-healing of cementitious composites," *Construction and Building Materials*, vol. 257, p. 119501, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119501>
- [10] K. K. Maurya, T. Sonker, A. Rawat, "Sustainable concrete construction by microorganism and monitoring using EMI technique: A review," *Materials Today: Proceedings*, vol. 32, pp. 670-676, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.03.169>
- [11] B. Chattopadhyay, "Genetically-enriched microbe-facilitated self-healing nano-concrete," *Smart Nanoconcretes and Cement-Based Materials*, pp. 461-483, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817854-6.00020-9>
- [12] S. Han, I. ang, E. . K. Choi, W. Park, C. Yi. N. Hung, "Bacterial Self-Healing Performance of Coated Expanded Clay in Concrete," *Journal of Environmental Engineering*, vol. 146, no. 7, p. 04020072, 2020, doi: [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001713](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001713)
- [13] T. V. Mullem, E. Gruyaert, R. Caspeepe and N. De Belie, "First Large Scale Application with Self-Healing Concrete in Belgium: Analysis of the Laboratory Control Tests," *Materials*, vol. 13, pp. 1-20, 2020, doi: <https://doi.org/10.3390/ma13040997>
- [14] S. Guzlena, G. Sakale, "Self-healing concrete with crystalline admixture – a review," *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, pp. 660, 2019, doi: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/660/1/012057>
- [15] C. Sonali Sri Durga, N. Ruben, M. Sri Rama Chand, C. Venkatesh, "Performance studies on rate of self-healing in bio concrete," *Materials Today: Proceedings*, vol. 27, pp. 158-162, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.09.151>
- [16] Á. González, A. Parraguez, L. Corvalán, N. Correa, J. Castro, C. Stuckrath, M. González, "Evaluation of Portland and Pozzolanic cement on the self-healing of mortars with calcium lactate and bacteria," *Construction and Building Materials*, vol. 257, p. 119558, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119558>
- [17] A. Soysal, J. Milla, G. M. King, M. Hassan, T. Rupnow, "Evaluating the Self-Healing Efficiency of Hydrogel-Encapsulated Bacteria in Concrete," *Journal of the Transportation Research Board*, p. 0361198120917973, 2020, doi: <https://doi.org/10.1177/0361198120917973>
- [18] S. Bansal, R. K. Tamang, P. Bansal, P. Bhurtel, "Biological Methods to Achieve Self-healing in Concrete," *Advances in Structural Engineering and Rehabilitation*, vol. 38, pp. 63-71, 2019, doi: https://doi.org/10.1007/978-981-13-7615-3_5
- [19] S. Morsali, G. Yucel Isildar, Z. Hamed Zar Gari, A. Tahni, "The application of bacteria as a main factor in self healing concrete technology," *Journal of Building Pathology and Rehabilitation*, vol. 4, no. 1, 2019, doi: <https://doi.org/10.1007/s41024-019-0045-9>
- [20] C. Litina, G. Bumanis, G. Anglani, M. Dude, R. Maddalena, M. Amenta, S. Papaioannou, G. Pérez, J. L. García, Calvo, E. Asensio, R. Beltrán Cobos, F. Tavares, Pinto, A. Augonis, R. Davies, A. Guerrero, M. Sánchez, Moreno, T. Stryzewska, I. Karatasios, J.-M. Tulliani, P. Antonac, D. Bajare, A. Al-Tabbaa, "Evaluation of Methodologies for Assessing Self-Healing Performance of Concrete with Mineral Expansive Agents: An Interlaboratory Study," *Materials*, vol. 14, n° 8, p. 2024, 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/ma14082024>
- [21] S. P. Saridhe, T. Selvaraj, "Microbial precipitation of calcium carbonate in cementitious materials – A critical review," *Materials Today: Proceedings*, vol. 43, pp. 1232-1240, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.762>
- [22] R. Jakubovskis, A. Jankute, J. Urbonavicius y V. Gribniak, "Analysis of mechanical performance and durability of self-healing biological concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 260, p. 119822, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119822>
- [23] M. Gao, J. Guo, H. Cao, H. Wang, X. Xiong, R. Krastev, K. Nie, H. Xu, L. Liu, "Immobilized bacteria with pH-response hydrogel for self-healing of concrete," *Journal of Environmental Management*, vol. 261, p. 110225, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110225>

- [24] K. Vijay, M. Murmu, "Effect of calcium lactate and *Bacillus subtilis* bacteria on properties of concrete and self-healing of cracks," *Int. J. Structural Engineering*, vol. 10, no. 3, pp. 217-231, 2020.
- [25] Z. Prošek, P. Ryparová, P. Tesárek, "Application of Bacteria as Self-Healing Agent for the Concrete and Microscopic Analysis of the Microbial Calcium Precipitation Process," *Key Engineering Materials*, vol. 846, pp. 237-242, 2020.
- [26] L. Jiang, G. Jia, C. Jiang, Z. Li, "Sugar-coated expanded perlite as a bacterial carrier for crack-healing concrete applications," *Construction and Building Materials*, vol. 232, p. 117222, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.117222>
- [27] P. Kumar Jogi, T. Vara Lakshmi, "Self healing concrete based on different bacteria: A review," *Materials Today: Proceedings*, vol. 43, pp. 1246-1252, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.765>
- [28] S. Mondal, A. (Dey) Ghosh, "Review on microbial induced calcite precipitation mechanisms leading to bacterial selection for microbial concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 225, pp. 67-75, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.122>
- [29] S. Joshi, S. Goyal, A. Mukherjee y M. S. Reddy, "Microbial healing of cracks in concrete: a review," *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, vol. 44, n° 11, pp. 1551-1525, 2017.
- [30] S. C. Chuo, S. F. Mohamed, S. H. Mohd Setapar, A. Ahmad, M. Jawaid, W. A. Wani, A. A. Yaqoob y M. N. Mohamad Ibrahim, "Insights into the Current Trends in the Utilization of Bacteria for Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation," *Materials*, vol. 13, n° 21, p. 4993, 2020.
- [31] Y. Su, T. Zheng, C. Qian, "Application potential of *Bacillus megaterium* encapsulated by low alkaline sulphoaluminate cement in self-healing concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 273, p. 121740, 2020.
- [32] P. Ryparová, P. Tesárek, H. Schreiberová and Z. Prošek, "The effect of temperature on bacterial self-healing processes in building materials," *Development of Materials Science in Research and Education (DMSRE29)*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/726/1/012012>
- [33] P. Singh, I. Kaur, N. Singh, "A review of different bacteria carriers used in self-healing mechanism," *Materials Today: Proceedings*, vol. 32, pp. 995-960, 2020.
- [34] S. Lu, M. Chen, Y. Dang, L. Cao, J. He, J. Zhong, "Bacterial self-healing cement-based materials: Mechanism at nanoscale," *AIP Advances*, vol. 9, n° 10, p. 105312, 2019.
- [35] Y. Su, C. Qian, Y. Rui, J. Feng, "Exploring the coupled mechanism of fibers and bacteria on self-healing concrete from bacterial extracellular polymeric substances (EPS)," *Cement and Concrete Composites*, vol. 116, p. 103896, 2021.
- [36] M. Esaker, O. Hamza, A. Souid, D. Elliott, "Self-healing of bio-cementitious mortar incubated within neutral and acidic soil," *Materials and Structures*, vol. 54, no. 96, 2021, doi: <https://doi.org/10.1617/s11527-021-01690-1>
- [37] C. S. Sri Durga, N. Ruben, M. Sri Rama Chand, M. Indira, C. Venkatesh, "Comprehensive microbiological studies on screening bacteria for self-healing concrete," *Materialia*, vol. 15, p. 101051, 2021.
- [38] K. M. Osman, F. M. Taher, A. Abd EL-Tawab, A. S. Faried, "Role of different microorganisms on the mechanical characteristics, self-healing efficiency, and corrosion protection of concrete under different curing conditions," *Journal of Building Engineering*, vol. 41, p. 102414, 2021.
- [39] J. Intarasoontron, W. Pungrasmi, P. Nuaklong, P. Jongvivatsakul, S. Likitlersuang, "Comparing performances of MICP bacterial vegetative cell and microencapsulated bacterial spore methods on concrete crack healing," *Construction and Building Materials*, vol. 302, p. 124227, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.124227>
- [40] C. Qian, T. Zheng, X. Zhang and Y. Su, "Application of microbial self-healing concrete: Case study," *Construction and Building Materials*, vol. 290, p. 123226, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.123226>
- [41] P. Ryparova, Z. Prošek, H. Schreiberová, P. Bílý, P. Tesárek, "The role of bacterially induced calcite precipitation in self-healing of cement paste," *Journal of Building Engineering*, vol. 39, p. 102299, 2021.

- [42] M. Rauf, W. Khaliq, R. A. Hushnood, I. Ahmed, "Comparative performance of different bacteria immobilized in natural fibers for self-healing in concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 258, p. 119578, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119578>
- [43] J. Zhang, C. Zhao, A. Zhou, C. Yang, L. Zhao, Z. Li, "Aragonite formation induced by open cultures of microbial consortia to heal cracks in concrete: Insights into healing mechanisms and crystal polymorphs," *Construction and Building Materials*, vol. 224, pp. 815-822, 2019.
- [44] M. Pourfallahi, A. Nohegoo-Shahvari, M. Salimizadeh, "Effect of direct addition of two different bacteria in concrete as self-healing agent," *Structures*, vol. 28, pp. 2646-2660, 2020.
- [45] J. Feng, Y. Su, C. Qian, "Coupled effect of PP fiber, PVA fiber and bacteria on self-healing efficiency of early-age cracks in concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 228, p. 116810, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.116810>
- [46] H. W. Kua, S. Gupta, A. N. Aday, W. V. Srubar, "Biochar-immobilized bacteria and superabsorbent polymers enable self-healing of fiber-reinforced concrete after multiple damage cycles," *Cement and Concrete Composites*, vol. 100, pp. 35-52, 2019, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2019.03.017>
- [47] S. Gupta, H. W. Kua, S. D. Pang, "Healing cement mortar by immobilization of bacteria in biochar: An integrated approach of self-healing and carbon sequestration," *Cement and Concrete Composites*, vol. 86, pp. 238-254, 2018.
- [48] J. Xu, X. Wang, "Self-healing of concrete cracks by use of bacteria-containing low alkali cementitious material," *Construction and Building Materials*, vol. 167, pp. 1-14, 2018.
- [49] M. Alazhari, T. Sharma, A. Heath, R. Cooper y K. Paine, "Application of expanded perlite encapsulated bacteria and growth media for self-healing concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 160, pp. 610-619, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.11.086>
- [50] J. Xu, X. Wang, "Self-healing of concrete cracks by use of bacteria-containing low alkali cementitious material," *Construction and Building Materials*, vol. 167, pp. 1-14, 2018.
- [51] J. Xu, X. Wang, B. Wang, "Biochemical process of ureolysis-based microbial CaCO₃ precipitation and its application in self-healing concrete," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 102, n° 7, pp. 3121-3132, 2018.
- [52] J. Wang, A. Mignon, G. Trenson, S. Van Vlierberghe, N. Boon N. De Belie, "A chitosan-based pH-responsive hydrogel for encapsulation of bacteria for self-sealing concrete," *Cement and Concrete Composites*, vol. 93, pp. 309-322, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2018.08.007>
- [53] H. Amer Algaifi, S. Abu Bakar, A. Rahman Mohd. Sam, M. Ismail, A. Razin Zainal Abidin, S. Shahir, W. Ali Hamood Altowayti, "Insight into the role of microbial calcium carbonate and the factors involved in self-healing concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 254, p. 119258, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119258>
- [54] V. A. Rajani, S. K. Sunil, S. Jitendra, M. Dhananjay, "Compressive strength of bacterial concrete by varying concentrations of E.Coli and JC3 bacteria for Self-Healing Concrete," *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*, vol. 9, n° 1, pp. 3659-3661, 2019.
- [55] H. Rong, G. Wei, G. Ma, Y. Zhang, X. Zheng, L. Zhang and R. Xu, "Influence of bacterial concentration on crack self-healing of cement-based materials," *Construction and Building Materials*, vol. 244, p. 118372, 2020.
- [56] N. Hosseini Balam, D. Mostofinejad, M. Eftekhar, "Effects of bacterial remediation on compressive strength, water absorption, and chloride permeability of lightweight aggregate concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 145, pp. 107-116, 2017.
- [57] R. Siddique, A. Jameel, M. Singh, D. Barnat-Hunek, Kunal, A. Ait-Mokhtar, R. Belarbi, A. Rajor, "Effect of bacteria on strength, permeation characteristics and micro-structure of silica fume concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 142, pp. 92-100, 2017.
- [58] O. Hamza, M. Esaker, D. Elliott, A. Souid, "The effect of soil incubation on bio self-healing of cementitious mortar," *Materials Today Communications*, vol. 24, p. 100988, 2020.

- [59] S. Farhadi, S. Ziadloo, "Self-Healing Microbial Concrete - A Review," *Materials Science Forum*, vol. 990, pp. 8-12, 2020, doi: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.990.8>
- [60] R. Vashisht, S. Attri, D. Sharma, A. Shukla, G. Goel, "Monitoring biocalcification potential of *Lysinibacillus* sp. isolated from alluvial soils for improved compressive strength of concrete," *Microbiological Research*, vol. 207, pp. 226-231, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.010>
- [61] S. Basha, L. K. Lingamgunta, J. Kannali, S. K. Gajula, R. Bandikari, S. Dasari, V. Dalavai, P. Chinthala, P. Gundala, P. Kutagolla, V. K. Balaji, "Subsurface endospore-forming bacteria possess bio-sealant properties," *Scientific Reports*, vol. 8, n° 1, 2018.
- [62] P. Reddy, B. Kavyateja, "Experimental Study on Strength Parameters of Self Repairing Concrete," *Annales de Chimie: Science des Matériaux*, vol. 43, n° 5, pp. 305-310, 2019.
- [63] K. Vijay, M. Murmu, S. V. Deo, "Bacteria based self healing concrete – A review," *Construction and Building Materials*, vol. 152, pp. 1008-1014, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.07.040>
- [64] S. S. Lucas, C. Moxham, E. Tziviloglou, H. Jonkers, "Study of self-healing properties in concrete with bacteria encapsulated in expanded clay," *Science and Technology of Materials*, vol. 30, pp. 93-98, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.stmat.2018.11.006>
- [65] L. Dembovska, D. Bajare, A. Korjakins, D. Toma, E. Jakubovica, "Preliminary research for long lasting self-healing effect of bacteria-based concrete with lightweight aggregates," 2019, doi: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/660/1/012034>
- [66] W. Pungrasmi, J. Intarasoontron, P. Jongvivatsakul, S. Likitlersuang, "Evaluation of Microencapsulation Techniques for MICP Bacterial Spores Applied in Self-Healing Concrete," *Scientific Reports*, vol. 9, n° 1, 2019.
- [67] J. Feng, Y. Su, C. Qian, "Coupled effect of PP fiber, PVA fiber and bacteria on self-healing efficiency of early-age cracks in concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 228, p. 116810, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.116810>
- [68] S. Jena, B. Basa, C. Panda, N. K. Sahoo, "Impact of *Bacillus subtilis* bacterium on the properties of concrete," *Materials Today: Proceedings*, vol. 32, pp. 651-656, 2020.
- [69] A. Chithambar Ganesh, M. Muthukannan, R. Malathy, C. Ramesh Babu, "An Experimental Study on Effects of Bacterial Strain Combination in Fibre Concrete and Self-Healing Efficiency," *KSCCE Journal of Civil Engineering*, vol. 23, n° 10, pp. 4368-4377, 2019, doi: <https://doi.org/10.1007/s12205-019-1661-2>
- [70] K. Vijay, M. Murmu, "Self repairing of concrete cracks by using bacteria and basalt fiber," *SN Applied Sciences*, vol. 1, n° 11, 2019.
- [71] C. Manvith Kumar Reddy, B. M. D. Ramesh, K. Reddy, "Influence of bacteria *Bacillus subtilis* and its effects on flexural strength of concrete," *Materials Today: Proceedings*, vol. 33, pp. 4206-4211, 2020.
- [72] J. Feng, B. Chen, W. Sun, Y. Wang, "Microbial induced calcium carbonate precipitation study using *Bacillus subtilis* with application to self-healing concrete preparation and characterization," *Construction and Building Materials*, vol. 280, p. 122460, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.122460>
- [73] P. Pachaivannan, C. Hariharasudhan, M. Mohanasundram, M. Anitha Bhavani, "Experimental analysis of self healing properties of bacterial concrete," *Materials Today: Proceedings*, vol. 33, pp. 3148-3154, 2020.
- [74] I. Rohini, R. Padmapriya, "Effect of bacteria *Bacillus subtilis* on e-waste concrete," *Materials Today: Proceedings*, vol. 42, pp. 465-474, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.192>
- [75] N. Nain, R. Surabhi, N. Yathish, V. Krishnamurthy, T. Deepa, S. Tharannum, "Enhancement in strength parameters of concrete by application of *Bacillus* bacteria," *Construction and Building Materials*, vol. 202, pp. 904-908, 2019.
- [76] N. Shaheen, R. A. Khushnood, W. Khaliq, H. Murtaza, R. Iqbal, M. H. Khan, "Synthesis and characterization of bio-immobilized nano/micro inert and reactive additives for feasibility investigation in self-healing concrete," *Construction and Building Materials*, vol. 226, pp. 492-506, 2019.

- [77] M. S. Jafarnia, M. K. Saryazdi, S. M. Moshtaghioun, “Use of bacteria for repairing cracks and improving properties of concrete containing limestone powder and natural zeolite,” *Construction and Building Materials*, vol. 242, p. 118059, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.118059>
- [78] H. Xu, J. Lian, M. Gao, D. Fu, Y. Yan, “Self-Healing Concrete Using Rubber Particles to Immobilize Bacterial Spores,” *Materials*, vol. 12, n° 14, p. 2313, 2019, doi: <https://doi.org/10.3390/ma12142313>
- [79] T. Shanmuga Priya, N. Ramesh, A. Agarwal, S. Bhusnur, K. Chaudhary, “Strength and durability characteristics of concrete made by micronized biomass silica and Bacteria-Bacillus sphaericus,” *Construction and Building Materials*, vol. 226, pp. 827-838, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.172>
- [80] H. Kalhori, R. Bagherpour, “Application of carbonate precipitating bacteria for improving properties and repairing cracks of shotcrete,” *Construction and Building Materials*, vol. 148, pp. 249-260, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.05.074>