



FACULTAD DE CIENCIAS FINANCIERAS Y CONTABLES

**INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE BACTERIAS BACILLUS SUBTILIS EN LA
AUTOREPARACIÓN DE GRIETAS DEL CONCRETO**

Línea de investigación:

Construcción sostenible y sostenibilidad ambiental del territorio

Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Ingeniería Civil

Autor

Quintanilla Anyaipoma, Douglas Arturo

ORCID: 0000-0003-0607-656X

Asesor

Valencia Gutiérrez, Andrés Avelino

ORCID: 0000-0002-8873-189X

Jurado

Malpartida Canta, Romel

Tello Malpartida, Omar Demetrio

Romero Ríos, David

Lima - Perú

2025



INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE BACTERIAS BACILLUS SUBTILIS EN LA AUTOREPARACIÓN DE GRIETAS DEL CONCRETO

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	4%
2	repositorio.usm.cl Fuente de Internet	2%
3	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	2%
4	www.cienciacierta.uadec.mx Fuente de Internet	1%
5	revistas.uis.edu.co Fuente de Internet	1%
6	"La bioprecipitación de carbonato de calcio por la biota nativa como un método de restauración.", 'Latin America Journals Online' Fuente de Internet	1%
7	www.researchgate.net Fuente de Internet	1%
8	1library.co Fuente de Internet	1%
9	ria.utn.edu.ar Fuente de Internet	1%
10	kupdf.net Fuente de Internet	1%
11	repositorio.unc.edu.pe Fuente de Internet	1%



ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO

INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE BACTERIAS BACILLUS SUBTILIS EN LA
AUTOREPARACIÓN DE GRIETAS DEL CONCRETO

Líneas de Investigación:
Construcción Sostenible y Sostenibilidad ambiental del territorio

Tesis para optar el Grado Académico de:
Doctor en Ingeniería Civil

Autor:
Quintanilla Anyaipoma, Douglas Arturo

ORCID: 0000-0003-0607-656X

Asesor:
Valencia Gutiérrez, Andrés Avelino
ORCID: 0000-0002-8873-189X

Jurado:
Malpartida Canta, Romel
Tello Malpartida , Omar Demetrio
Romero Ríos, David

Lima - Perú

2025

DEDICATORIA

A Dios, quien me brindó sabiduría y salud

A la memoria de mis padres

A mis hijos Dáneri Ana y Duglas Liam, y

A mis familiares y amigos.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento a los
Docentes del Doctorado en Ingeniería Civil
de la Universidad Nacional Federico Villareal
por compartir sus conocimientos,
y a la Universidad Nacional del Altiplano
por el apoyo brindado.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
I.INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	5
1.2. Descripción del problema	8
1.3. Formulación del problema	8
1.3.1. Problema general	8
1.3.2. Problemas específicos.....	8
1.4. Antecedentes	9
1.4.1. Antecedentes Internacionales.....	9
1.4.2. Antecedentes Nacionales	13
1.5. Justificación de la investigación	14
1.5.1. Fundamento.....	14
1.5.2. Justificación de la Investigación	15
1.5.3. Importancia de la Investigación	17
1.6. Limitaciones y delimitaciones	18
1.6.1. Limitaciones.....	18
1.6.2. Delimitaciones	18
1.7. Objetivos de la investigación	19
1.7.1. Objetivo general.....	19
1.7.2. Objetivos específicos	19
1.8. Hipótesis	20
1.8.1. Hipótesis general.....	20
1.8.2. Hipótesis específicas.....	20
II.MARCO TEÓRICO.....	22
2.1. Base teórica.....	22
2.1.1. Patologías del concreto	22
2.1.2. Variables que intervienen en la autoreparación biológica	24
2.2. Componentes del concreto	26
2.2.1. Cemento	26

2.2.2.	El agregado para concreto.....	27
2.2.3.	Agua.....	28
2.2.4.	Adiciones	29
2.2.5.	Proporciones de la mezcla de concreto	29
2.3.	Componente biológico	30
2.3.1.	Bacteria	30
2.3.2.	Fuente de calcio	33
2.3.3.	Esporulación de bacterias	33
2.3.4.	Biom mineralización	34
2.3.5.	Biomimetismo.....	35
2.3.6.	Precipitación de calcita inducida por microbios (MICP).....	37
2.3.7.	Medios protectores/ encapsulado	39
2.4.	Selección de bacteria para el presente estudio	40
2.4.1.	Descripción de las bacterias motivo del estudio	42
2.4.1.1.	Bacillus subtilis.....	42
2.5.	Componente de variable dependiente	43
2.5.1.	Autoreparación/autocuración del concreto	43
2.5.2.	La autoreparación autógena o natural	44
2.5.3.	Autoreparación autónoma del concreto con bacterias	46
2.5.3.1.	Procesos químicos en la biom mineralización del carbonato de calcio	47
2.5.4.	Factores que afectan la autoreparación del concreto	49
2.5.4.1.	Concentración de bacterias	49
2.5.4.2.	Condiciones de temperatura.....	50
2.5.4.3.	Condiciones de humedad para la autoreparación.....	50
2.5.4.4.	Influencia de los nutrientes	51
2.5.5.	Mecanismo de los materiales auto reparadores experimentales	52
2.5.6.	Condiciones para la autoreparación	53
2.5.7.	Comportamiento mecánico del bioconcreto	55
2.6.	Base Filosófica.....	56
2.7.	Estado de Arte.....	57
2.8.	Marco conceptual.....	59
2.8.1.	Influencia	59
2.8.2.	Bacteria	59
2.8.3.	Bacillus subtilis.....	59

2.8.4. Precipitación del carbonato de calcio (CaCO ₃) por bacterias	60
2.8.5. Concreto	60
2.8.6. Grietas	60
2.8.7. Autoreparación.....	61
2.8.8. Biomineralización	61
2.8.9. Sellado autónomo.....	61
2.8.10. Sellado autógeno	61
III.MÉTODO	62
3.1. Tipo y nivel de la investigación	62
3.2. Población y muestra	63
3.3. Operacionalización de variables.	66
3.4. Instrumentos.....	67
3.5. Procedimientos.....	67
3.6. Análisis de datos	69
3.7. Consideraciones éticas	116
IV.RESULTADOS	118
V.DISCUSIÓN DE RESULTADOS	125
VI.CONCLUSIONES.....	130
VII. RECOMENDACIONES.....	132
VIII. REFERENCIAS	135
IX. ANEXOS	149
Anexo A: Matriz de Consistencia	149
Anexo B: Instrumento de recolección de datos	152
Anexo C: Resumen de los estudios en aplicaciones experimentales de los 19 Artículos..	156
Anexo D: Cuadro base de datos para determinar el autosellado autónomo	158
Anexo E: Base para procesamiento de datos	159

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Tipos y causas de fisuras	23
Figura 2 Distribución de fallos según la etapa del proceso constructivo.....	24
Figura 3 Descripción general del método experimental utilizado	25
Figura 4 Dosificaciones de los compuestos	27
Figura 5 Agregados gruesos.....	28
Figura 6 Caracterización de las bacterias.....	31
Figura 7 Esquema de la pared celular de las bacterias grampositivas y gramnegativas.....	32
Figura 8 Crecimiento y reproducción de bacterias	33
Figura 9 Desarrollo de endosporas	34
Figura 10 Precipitación Ureolysis impulsada calcita.....	38
Figura 11 Micrografías electrónicas de barrido	39
Figura 12 Microencapsulación, fisuras y SEM.....	40
Figura 13 Bacillus Subtilis.....	43
Figura 14 Definición de autocuración/reparación de concreto	44
Figura 15 Autoreparación autógena y precipitación de CaCO_3	45
Figura 16 Diagrama esquemático de biomineralización.....	46
Figura 17 Principios básicos comunes de los materiales autorreparables	52
Figura 18 Evolución de autocurado de grietas.....	54
Figura 19 Máquina universal para prueba de flexión que genera grietas medias.....	55
Figura 20 Distribución de publicaciones en el campo del hormigón autocurativo.....	64
Figura 21 Publicaciones en el campo del hormigón autocurativo a base de bacterias	65
Figura 22 Relación de las fuentes de referencia utilizadas en el estudio.....	65
Figura 23 Fases involucradas en la síntesis de INMP	70

Figura 24 Mecanismo de trabajo del mortero de autocuración con fibra celulosa	73
Figura 25 Fibras usadas en los ensayos	76
Figura 26 Análisis de barrido SEM de muestras pre craqueadas a 28 días	79
Figura 27 Observación SEM del área de grietas y productos de autocuración	81
Figura 28 Concentración celular control y análisis.....	83
Figura 29 SEM y EDX de muestra de concreto con contornos marcados.....	92
Figura 30 Diagrama de flujo experimental para absorción de agua por fisura.....	94
Figura 31 SEM de una porción de EP con aumentos de 100X y 2000X.....	96
Figura 32 Esquema de la configuración experimental para medición de grietas	98
Figura 33 Cicatrización de grietas de biohormigón.....	101
Figura 34 Análisis microscópico de las muestras irregular y cuboidal	106
Figura 35 Micrografías FESEM.....	109
Figura 36 Micrografías FESEM de IONPs.....	111
Figura 37 Sellamiento autónomo de figuras por tipo de protección.....	120
Figura 38 Comparación entre la adicción de bacterias y sin bacterias	122
Figura 39 Correlación entre temperatura y reparación de fisuras.....	123
Figura 40 Variación de resistencia a la comprensión por tipo de mezcla.....	124

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Orígenes de fallas en obras de concreto a partir del número de casos.....	5
Tabla 2 Características bioquímicas y formación de cristales a las 24 y 48h.....	41
Tabla 3 Operacionalización de variables	66
Tabla 4 Data del artículo 01 – Variable I. y Variable D.....	71
Tabla 5 Data del artículo 02 – Variable I. y Variable D.....	74
Tabla 6 Data del artículo 03 – Variable I. y Variable D.....	77
Tabla 7 Data del artículo 04 – Variable I. y Variable D.....	80
Tabla 8 Data del artículo 05 – Variable I. y Variable D.....	82
Tabla 9 Data del artículo 06 – Variable I. y Variable D.....	84
Tabla 10 Data del artículo 07 – Variable I. y Variable D.....	86
Tabla 11 Data del artículo 08 – Variable I. y Variable D.....	88
Tabla 12 Data del artículo 09 – Variable I. y Variable D.....	90
Tabla 13 Data del artículo 10 – Variable I. y Variable D.....	92
Tabla 14 Data del artículo 11 – Variable I. y Variable D.....	94
Tabla 15 Data del artículo 12 – Variable I. y Variable D.....	96
Tabla 16 Data del artículo 13 – Variable I. y Variable D.....	99
Tabla 17 Data del artículo 14 – Variable I. y Variable D.....	102
Tabla 18 Data del artículo 15 – Variable I. y Variable D.....	104
Tabla 19 Data del artículo 16 – Variable I. y Variable D.....	107
Tabla 20 Data del artículo 17 – Variable I. y Variable D.....	109
Tabla 21 Data del artículo 18 – Variable I. y Variable D.....	112
Tabla 22 Data del artículo 19 – Variable I. y Variable D.....	114
Tabla 23 Revisión de componente bacteriano <i>Basilo subtilis</i> para autocuración de grietas .	115
Tabla 24 Prueba de normalidad Shapiro Wilks	118

Tabla 25 Prueba inferencial Wilcoxon	119
Tabla 26 Auto sellado autónomo de grietas.....	121

RESUMEN

El concreto es el material más utilizado en la construcción a nivel mundial debido a su buena resistencia a la compresión, sin embargo, la tracción es propenso a agrietarse, y, si no son tratados oportunamente, el concreto presenta alteraciones de durabilidad, disminución de la vida útil, efectos de sustentabilidad, y todo esto se convierte en un círculo vicioso, por tanto, un problema pendiente de solución. **Objetivo:** Evaluar la influencia de esporas *Basillus Subtilis* protegidas y no protegidas, en el autocurado de grietas y el incremento de la resistencia a la compresión del concreto, a partir de un análisis documental de experimentos al respecto. **Método:** El estudio es un diseño de enfoque cuantitativo, analítico, retrospectivo, documental y transversal, con una preselección de 250 artículos y se seleccionó 19 artículos, los que constituyen la población, la información extraída de variables constituyó la data para el presente estudio. **Resultados:** Para el auto sellado autónomo se encontró en promedio 379 μ m y 605 μ m para bacterias aplicadas directamente y bacterias protegidas respectivamente, y el auto sellado autógeno resultó 116.6 μ m. La variación de la resistencia a la compresión del concreto con aplicación directa y protegida de esporas *Bacilos Subtilis* resultó 14.90 % y 17.16%, para una concentración bacteriana de 10E+5. **Conclusiones:** Se concluye que, la adición de bacterias *Basillus Subtilis* produce sellado autógeno significativo cuando están protegidas, y con la aplicación directa se obtiene sellados similares a los protegidos con agregado ligero y fibras. Además, se produce una variación positiva de la resistencia a la compresión.

Palabras clave: Autoreparación, grietas, sellado, autógeno sellado, autónomo biomineralización.

ABSTRACT

Concrete is the most widely used material in the construction of infrastructure works worldwide since it has special molding and handling characteristics, high compressive strength, fire resistance, low cost, and high performance compared to materials that serve the same purpose.

Objective: To determine the influence of protected and unprotected *Bacillus subtilis* spores on the self-curing of cracks and the increase in the compressive strength of concrete, based on a documentary analysis of experiments in this regard. **Method:** The study is a quantitative, analytical, retrospective, documentary, and cross-sectional design approach, with a pre-selection of 250 articles and 19 articles were selected, which constitute the population, the information extracted from independent variables (dosage), and the dependent variables (self-repair) constituted the data for the present study. **Results:** For autonomous self-sealing an average of 379 μ m and 605 μ m was found for directly applied and protected bacteria respectively, and autogenous self-sealing resulted in 116.6 μ m. The variation of the compressive strength of concrete with direct and protected application of *Bacillus subtilis* spores resulted in 14.90% and 17.16%, for a bacterial concentration of 10E+5. **Conclusions:** Tukuchikun kay bacterias *Basillus Subtilis* yapasqa kaqqa huk significativo sellado autógeno kaqta ruwan mayk'aqchus hark'asqa kanku, chanta kay aplicación directa kaqwan sellokuna rikch'akuq kay agregado ligero kaqwan chanta fibras kaqwan jark'asqa kaqwan tarikunku. Chaymantapas, allin variación nisqa kallpa de compresión nisqapiqa rikurinmi.

Key words: Self, healing, cracks, autogenous sealing, self-sealing, biomineralization.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el concreto es el material más utilizado en la construcción de infraestructura a nivel mundial debido a sus propiedades especiales como fácil conformado y procesamiento, resistencia a alta presión, excelente resistencia al fuego, bajo precio y excelente desempeño en comparación con otros materiales que cumplen el mismo propósito estructural. Sin embargo, la mayor desventaja es que tiene baja resistencia a la tracción y es propenso a agrietarse (Merchán, 2020).

Sin embargo, la desventaja es que la producción en masa tiene un impacto negativo en el medio ambiente. Los ingredientes clave, cemento y áridos, se producen y extraen en grandes cantidades y deben transportarse a distancias considerables, lo que aumenta el consumo de energía, las emisiones de gases de efecto invernadero y la degradación del paisaje. La producción de cemento (Portland Clinker) representa aproximadamente el 7 % de las emisiones antropogénicas globales de CO₂, principalmente debido a la producción de carbonato de calcio (CaCO₃) durante la sinterización de piedra caliza y arcilla a temperaturas de 1,500 °C. (Jonkers et al., 2010); así mismo, la producción de otros componentes del hormigón, como agua, masillas, accesorios, etc. implica un alto consumo energético adicional. Por tanto, una forma de reducir el consumo de hormigón es alargar la vida útil de la estructura evitando su sustitución prematura, y, los mecanismos que contribuyen a prolongar la vida útil de las estructuras de hormigón hacen que el material no solo sea sostenible, sino también sustentable.

Los agrietamientos no tratados inmediatamente representan problemas y por ende necesita reparaciones ya que el concreto presenta alteraciones de durabilidad, disminución de la vida útil, efectos de sustentabilidad, y todo esto se convierte en un círculo vicioso por tanto

un problema actualmente pendiente de solución. En tales circunstancias, el mecanismo de autocuración del hormigón ha sido desarrollado en los últimos años y consiste en la precipitación de carbonato cálcico inducida por cierto tipo de bacterias protegidas en microcápsulas de diversas sustancias (Jonkers et al., 2010); además, se tienen reportes de diferentes países que hacen investigación en ciencia de los materiales; es así que Lakshmi (2016) evaluó la efectividad de la cepa bacteriana de tipo B. *Subtilis* jc3 durante el proceso de precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3), llegando a observar en las pruebas de laboratorio la reducción del ancho de las fisuras en las siguientes dimensiones: 0.5mm a 0.42 mm, 0.45mm a 0.4 mm y 0.22mm a 0.15 mm, todo ello en 100 días.

La gestión de daños es un concepto alternativo a la prevención de daños, y se basa en el principio de que los daños en las estructuras son tolerables siempre que se curen o se puedan rectificar a tiempo (Schmets et al., 2007). Uno de esos conceptos de gestión de daños es el hormigón que se autocura, este concepto se inspira en gran medida en el mecanismo de curación de algunos seres vivos, que puede curarse a sí mismo hasta cierto nivel de daño liberando agentes biológicos en los puntos heridos.

Una forma de abordar estas limitaciones y garantizar que el concreto siga siendo un material autorreparable con el tiempo es encapsular y proteger las bacterias sin afectar las propiedades del concreto ni los depósitos de carbonato de calcio. Se han estudiado diferentes métodos de protección contra bacterias en mezclas de concreto: agregado de arcilla expandida (LWA) (Jonkers, et al., 2010) microcápsulas a base de melanina (Wang et al., 2012) tierra de diatomeas (Op.cit.), gel de sílice y poliuretano (PU) en tubos de vidrio (Op.cit.), nano plaquetas de grafito (GNP) (Khaliq y Ehsan, 2016) e hidrogel (Wang, et al., 2014).

En este contexto, una buena alternativa para reparar grietas y fisuras consiste en consignar la precipitación de calcita inducida microbianamente (MICP) mediante la inclusión de bacterias, sin embargo, la autoreparación solo pueden medirse mediante experimentos de laboratorio, que pueden ser costosos y que consumen bastante tiempo. Por ello, el presente estudio investigará la influencia de la inclusión de bacterias *Basillus subtilis* en la eficiencia de la autoreparación del concreto, a partir de información extraídos de artículos científicos y usando como herramienta métodos predictivos de la Estadística Clásica.

El procedimiento seguido en la presente investigación fue el siguiente: a) Se seleccionaron artículos que mencionaban estudios experimentales sobre la autoreparación bacteriana de grietas de concreto que considere información sobre: el diseño de la mezcla, la introducción y adición de aditivos de cemento, bacilos del género *B. subtilis* y sus nutrientes, temperatura y condiciones de curado, y los resultados: autosellado, cambio de resistencia a la compresión. b) Se generó un resumen de cada artículo utilizado para crear base de datos. c) Se creó una base de datos de resultados de pruebas experimentales obtenidos de artículos científicos destinados a investigar la autoreparación de las grietas del hormigón mediante la adición de la bacteria Basilo *B. Subtilis*. Esto es válido ya que, para las variables independientes y dependientes, en los experimentos se emplean materiales (concreto y componente bacteriano), equipos (para medir el sellado su composición química e imágenes, resistencia a la compresión) y procedimientos estandarizados, y, d). Las unidades de datos fueron uniformizadas, los datos brutos recopilados de artículos y publicaciones que pueden procesarse mediante una matriz de datos deben estar en las mismas unidades de medida. Además, cuando se ajusta el modelo, es necesario normalizarlo para que tengan el mismo tamaño y algunos no se vean afectados más que otros. (Chandwani y Allaire, 2018). El preprocesamiento o la normalización de datos elimina el potencial de sesgo en múltiples modelos de regresión lineal

al transformar todos los datos de entrada y salida cambiando la escala o las unidades. (Chandwani, 2015).

Los resultados encontrados son: Para la influencia del tipo de mezcla (hormigón y mortero) en la capacidad de sellado de grietas, no presenta un impacto relevante desde el punto de vista estadístico según los datos obtenidos en la prueba aplicada. De este modo, se puede inferir que el efecto del *Bacillus subtilis* en la precipitación de CaCO_3 , es comparable en ambas mezclas, sin una variación sustancial en su desempeño en el sellado de grietas.

En cuanto al sellado autónomo, se observa que las nano partículas de hierro presentan una media de (1,098 μm), lo que indica un mayor sellado autónomo en comparación con la protección de agregado ligero tiene una media más baja (321.17 μm), y con fibras un sellado de una media de 395 μm , estas muestran un rendimiento intermedio. En tanto el autosellado mediante la aplicación directa de bacterias resulta una media de media de 379 μm .

Entre la temperatura de curado y el sellamiento autónomo de fisuras en las mezclas de concreto, se ha encontrado una correlación positiva moderada (Spearman = 0.55), lo cual sugiere que las temperaturas de curado más altas favorecen la actividad de *Bacillus subtilis* y la consecuente precipitación de CaCO_3 , mejorando el sellado de fisuras.

Para la variación de resistencia a la compresión (VRC%) en función del tipo de aplicación de *Bacillus subtilis* en concreto, comparando la aplicación directa con la protegida, los resultados indican que la aplicación protegida presenta una mayor media (17.16%) en comparación con la aplicación directa, que tiene una media de 14.90%.

En consecuencia, se concluye que, la adición de bacterias *Bacillus Subtilis* produce sellado autógeno significativo cuando están protegidas, y con la aplicación directa se obtiene

sellados similares a los protegidos con agregado ligero y fibras. Además, se produce una variación positiva de la resistencia a la compresión.

1.1. Planteamiento del problema

Actualmente, el concreto armado es el material más utilizado en la construcción de infraestructura a nivel mundial debido a sus propiedades especiales como fácil conformado y procesamiento, resistencia a alta presión, excelente resistencia al fuego, bajo precio y excelente desempeño en comparación con otros materiales. Mismo propósito. Sin embargo, la mayor desventaja es que tiene baja resistencia a la tracción y es propenso a agrietarse (Merchan, 2000)

El estudio más serio efectuado en Europa, referente a estadística de fisuras o agrietamientos en las edificaciones de concreto, que tiene vigencia, a la fecha, en todas las latitudes es el presentado por Calavera (2008), en su libro «Patología de estructuras de concreto armado y pre tensado»; este estudio estadístico es fruto de 10,000 informes de fallos del Bureau Seguritas, efectuados entre los años 1968 y 1978; a continuación, en la Tabla 1 se indican los orígenes de las fallas o defectos en obras de concreto, que conducen a su inhabilitación:

Tabla 1

Orígenes de fallas en obras de concreto a partir del número de casos

Causa	Cantidad
1.- Falla por grietas y fisuras	49%
2.- Falla por corrosión de armadura	13%
3.- Falla por deformaciones	16%
4.- Falla por rotura del concreto	9%
5.- Falla por ataque químico y otros	6%
6.- Otros	17%

Nota: Se observa que las fisuras son la causa de la mayor cantidad de fallas, 49 %. (Calavera, 2008)

Los agrietamientos no tratados inmediatamente representan problemas y por ende necesita reparaciones ya que el concreto presenta alteraciones de durabilidad, disminución de

la vida útil, efectos de sustentabilidad, y todo esto se convierte en un círculo vicioso por tanto un problema actualmente pendiente de solución (Merchan, 2000).

En general, las reparaciones del concreto hechas por el hombre son más aplicables para las grietas grandes las que generalmente se han incrementado en el tiempo los cuales tienen costos de operación relativamente altos, es así que, En Europa, los recursos destinados a obras de renovación aumentan hasta la mitad del presupuesto anual de construcción (Cailleux y Pollet 2009); En los EE.UU., el costo anual de reparar, proteger y rehabilitar estructuras de hormigón de propiedad pública se estima entre 18 y 21 mil millones de dólares.

Desde un punto de vista ambiental, la producción de cemento representa el 7% de las emisiones globales de CO₂ debido a la fusión de piedra caliza y arcilla a las temperaturas de aproximadamente 1,500 °C necesarias para su producción (Jonkers et al., 2010); lo mismo con el agua, empastes, accesorios, etc. La producción de otros componentes de hormigón consume grandes cantidades de energía adicional, como por ejemplo una forma de reducir el consumo de hormigón es prolongar la vida útil de la estructura evitando el reemplazo prematuro.

En general, cuando se detectan grietas en el concreto, son reparados por el hombre mediante compuestos selladores intervenidos exteriormente, que son procedimientos aplicables para reparar las grietas grandes, además son riesgosos, y tienen costos de operación relativamente altos. No obstante, es prácticamente difícil reparar grietas y fisuras profundas, además, si estas son estructuras de concreto subterráneas e infraestructuras a gran escala (Wang et al., 2014) por ello, para reparar oportunamente las grietas y fisuras, se planteó un enfoque innovador y prometedor, consistente en la reparación automática, mediante el uso de bacterias encapsuladas adicionadas al concreto, denominado también concreto biológico o bioconcreto.

El mecanismo de autoreparación del hormigón ha sido mejorado de un tiempo a esta parte, considerando la precipitación de carbonato de calcio y con la inducción por algunos tipos

de bacterias protegidas en microcápsulas de materiales diferentes (Jonkers y Schlangen, 2008); se tienen reportes de diferentes países que hacen investigación en ciencia de los materiales; es así que (Meera y Cheriyan, 2016) evaluó la efectividad de la cepa bacteriana de tipo *B. subtilis jc3* durante el proceso de precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3), llegando a observar en las pruebas de laboratorio la reducción del ancho de las fisuras en las siguientes dimensiones: 0.50 a 0.42 mm, 0.45 a 0.40 mm y 0.22 a 0.15 mm, todo ello en cien días.

Rauf et al. (2020) demostró la efectividad del uso de fibras naturales, para transportar la adición de esporas bacterianas *Bacillus subtilis KCTC-3135 T*, habiendo logrado cerrar grietas mediante precipitación de carbonato de calcio y mejorado la resistencia a la compresión.

Álvaro González de la Pontificia Universidad Católica de Chile, en su experimentación con la bacteria *Bacillus Pseudofirmus*, determinó que la eficiencia óptima para el proceso de autocuración era a una temperatura de 23 °C. (González et al., 2018).

En tal sentido y, teniendo en cuenta el incremento de obras de infraestructura en todos los países orientados a mejorar la calidad de vida de la humanidad, las que, son generalmente medidos de acuerdo la cantidad de producción y consumo de cemento, han influido, para que en las dos últimas décadas se impulsen investigaciones referidas a la autocuración de grietas y fisuras en obras de concreto, teniendo como objetivo principal obtener obras más duraderas y así contribuir a disminuir el uso de cemento.

En este contexto, una buena alternativa para reparar grietas y fisuras consiste en la precipitación de calcita inducida microbianamente (MICP), mediante la inclusión de bacterias, sin embargo, la autoreparación solo pueden medirse mediante experimentos de laboratorio, que pueden ser costosos y que consumen bastante tiempo.

Por ello, el presente estudio investigará la influencia de la inclusión de Bacterias *Bacillus subtilis* en la eficiencia de la autoreparación del concreto, a partir de información extraída de artículos científicos y usando como herramienta métodos de la Estadística Clásica.

1.2. Descripción del problema

En las construcciones de concreto, debido a factores estructurales y no estructurales se producen grietas por donde ingresan agentes externos que los deterioran. Prolongar la vida útil junto con los supuestos de la construcción sostenible y el desarrollo innovador de tecnologías de nano materiales biológicos inteligentes que cura sus propias grietas es un reto. Ante las situaciones mostradas en el párrafo anterior se plantea estudiar la influencia que tiene la inclusión de bacterias *Bacillus subtilis* encapsuladas, en la autoreparación de grietas del concreto, mediante la precipitación de carbonato de calcio, y, determinados mediante Estadística Clásica.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema general

¿De qué manera influyen la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana?

1.3.2. Problemas específicos

- a. ¿Cuál es la influencia del tipo de mezcla en el auto sellado autónomo y autogeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente?

- b. ¿Cuál es la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, ¿en el auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana?
- c. ¿Cuál es la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas directamente a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas, debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana?
- d. ¿En qué proporción el auto sellado autónomo debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, mejora respecto al auto sellado autógeno de grietas debido a la precipitación de CaCO_3 ?
- e. ¿De qué manera influye la temperatura de curado en el autosellado Autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO_3 debido a la actividad metabólica bacteriana?
- f. ¿Cuál es la influencia del tipo de mezcla en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana?
- g. ¿De qué manera influye la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto, en la variación de la resistencia a la compresión?

1.4. Antecedentes

1.4.1. Antecedentes Internacionales

En la investigación de Dhami et al. (2013) aislaron cinco cepas bacterianas ureolíticas capaces de inducir la precipitación de carbonato de calcio de suelos calcáreos sobre la base de la producción de ureasa, anhidrasa carbónica, sustancias extra poliméricas y biopelícula. Los

aislados bacterianos se identificaron como *Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis* y *Lysinibacillus fusiformis* según el análisis de rRNA 16S. Los polimorfos de carbonato de calcio producidos por varios aislados bacterianos se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido, microscopía de barrido láser, difracción de rayos X, y espectroscopia infrarroja de transmisión de Fourier. Se observó una precipitación específica de formas de carbonato de calcio a partir de diferentes aislados bacterianos, según el tipo de polimorfo precipitado, la tecnología de MICP se puede aplicar para la remediación de varios materiales de construcción.

Tziviloglou et al. (2016) informó que, la innovadora tecnología de hormigón autorreparable permite que el material repare las microgrietas abiertas que pueden poner en peligro la durabilidad de la estructura, debido a la entrada de gases y líquidos agresivos. Se han desarrollado varios conceptos de hormigón autocurativo, con el objetivo de recuperar la estanqueidad tras la fisuración. Entre ellos, el hormigón autocurativo a base de bacterias ha mostrado resultados prometedores con respecto a la mejora del rendimiento del sellado de grietas. En este estudio, el agente curativo a base de bacterias se incorpora en agregados livianos y se mezcla con mortero fresco, de esta manera, se mejora la curación autónoma del hormigón y, al agrietarse, el material es capaz de recuperar la estanqueidad al agua. El estudio se centra en la investigación del efecto del agente cicatrizante cuando se incorpora a la matriz del mortero y la evaluación de la recuperación de la estanqueidad a los líquidos tras el agrietamiento y la exposición a dos regímenes de cicatrización diferentes (inmersión en agua y ciclos húmedo-seco) mediante pruebas de permeabilidad al agua.

Shaheen et al. (2018) informó, que las reparaciones son esenciales para preservar las estructuras de concreto y evitar que los químicos entren a través de grietas y hendiduras. La precipitación microbiana de calcita es un enfoque único para la reparación de fracturas y una forma sostenible de reducir los gases de efecto invernadero (GEI) antropogénicos al tiempo

que se conservan los recursos naturales. En este estudio, *Bacillus subtilis* se utiliza para la reparación de grietas internas del hormigón debido a su alta tolerancia al pH y su capacidad de formar esporas. Para garantizar la supervivencia a largo plazo de los microorganismos, se utilizó un método de inmovilización utilizando polvo de piedra caliza antes de añadir a la matriz de cemento. La capacidad de autocuración de *B. subtilis* estuvo orientada al periodo de recuperación de la resistencia mecánica tras la rotura: 3, 7, 14 y 28 días. Para investigar la microestructura y las propiedades de los precipitados curados, se realizaron micrografías y análisis químicos y térmicos después de un período de curado de 28 días, que revelaron características distintas de los precipitados de calcita.

El estudio realizado por Wang et al. (2012) se determinó que las esporas bacterianas se encapsularon primero en hidrogeles y luego se incorporaron a las muestras para investigar su eficacia curativa; la precipitación de CaCO_3 mediante esporas encapsuladas en hidrogel mostraron una clara superioridad de autocuración: el ancho máximo de grieta curada fue de aproximadamente 0.5 mm y la permeabilidad al agua disminuyó en un 68 % en promedio; otros especímenes en series no bacterianas tenían un ancho máximo de grietas curadas de 0–0.3 mm y la permeabilidad al agua promedio se redujo solo en un 15–55 %. La eficiencia de curado de grietas se corroboró con exámenes de SEM y difracción de rayos X. (Wang, et al., 2012).

El estudio efectuado por Rauf et al. (2020) indica, que los portadores de compuestos, además, del tipo de bacteria para la precipitación de calcita inducida por microbios, son igualmente importantes en el hormigón autocurativo. El estudio investigó la posible utilización de fibras naturales: fibra de coco, lino, y yute, para transportar esporas bacterianas para la autocuración en el hormigón. Se efectuó la comparación de precipitación de calcita al introducir bacterias: *Bacillus subtilis* KCTC-3135 T, *Bacillus cohnii* NCCP-666, y *Bacillus sphaericus* NCCP-313, al concreto, junto con compuesto de lactato de calcio pentahidratado y urea como nutrientes orgánicos. Los resultados obtenidos de las propiedades visuales,

microestructurales y mecánicas del hormigón autorreparable muestran que las fibras naturales pueden inmovilizar las esporas bacterianas. La fibra de lino mejoró la cicatrización de heridas y restableció la resistencia a la compresión, brindando una mejor protección contra las bacterias, mientras que la fibra de coco aumentó la resistencia a la compresión. Además, se observó que *B. Sphaericus* NCCP-313 depositaba más carbonato de calcio como producto de curación, curando uniformemente a lo largo de toda la grieta del concreto. Por tanto, las bacterias inmovilizadas con fibra lograron tasas de curación de entre 75-85 % en especímenes pre agrietados de 7 días, y, de 60-65 % en 28 días

Estudios realizados por Mao (2019), que introdujo un nuevo tipo de hidrogel reticulado por alginato, quitosano y iones de calcio, observó que la adición de quitosano mejoró las propiedades de hinchamiento del alginato de calcio, como también observó una respuesta de pH opuesta al alginato de calcio cuando el contenido de quitosano en la solución alcanzó una adición de 1.0 % de quitosano en perlas de hidrogel, se observó un aumento del 10.28 % de la resistencia a la compresión y un aumento del 13.79 % de la resistencia a la flexión. Los resultados revelan propiedades de autocuración de los hormigones. Se observó una grieta curativa de 4 cm de largo y 1 mm de ancho al usar cemento PO325, con la adición de esporas bacterianas ($2.54 - 3.07 \times 10^5$) células/cm³, en concreto encapsulado por hidrogel que no contiene quitosano (Mao et al., 2019).

El estudio efectuado por Fenga et al. (2021), se planteó como objetivo desarrollar un nuevo hormigón autocurativo a base de bacterias del género *Bacillus* mediante un mecanismo de precipitación de carbonato de calcio inducido. Se seleccionó al *Bacillus Subtilis* que es una bacteria formadora de esporas en cultivo de una solución de pH elevado. El *Bacillus Subtilis* M9 resistente a álcalis se aplicó para la prueba de biomineralización, en tanto que, el mineral precipitado fue carbonato de calcio en fase de calcita de acuerdo con los resultados de difracción de rayos X (XRD) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Con *B. Subtilis* M9

como agente curativo. Las muestras de vigas de hormigón autorreparables se prepararon incorporando fibras de alcohol polivinílico, además se utilizó un agente incorporador de aire para producir microporos en la mezcla de pasta de cemento para suministrar nichos para los microbios. Se realizó una prueba de flexión de 3 puntos para formar grietas de 0.3 mm de ancho en el fondo de la viga. Luego después de 28 días de curado, las microgrietas se curaron de forma autónoma con rellenos de precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3) debido a la actividad metabólica de las bacterias. Las pruebas SEM posteriores implicaron que la calcita es la fase mineral dominante con algunas huellas bacterianas en la superficie del cristal. Además, la resistencia a la flexión de la viga autorreparada sometida a flexión repetida se incrementó en aproximadamente un 14 % en comparación con la resistencia a la flexión residual. (Fenga et al., 2021).

1.4.2. Antecedentes Nacionales

Alarcón (2019) en su trabajo de tesis de grado, de la Universidad Nacional de Cajamarca, indica: La investigación experimental tuvo por objetivo la autoreparación de grietas del concreto con la adición de bacterias sin ningún recubrimiento (no encapsuladas) aplicadas directamente a la mezcla del concreto, para luego medir la magnitud del sellado de las grietas. Para este efecto aislaron 17 cepas bacterianas con presencia de endosporas, de las cuales sometieron a experimentación a dos (*Paenibacillus lactis* y *Bacillus firmus*). Los resultados obtenidos fueron de 2mm para el primero y 1mm para el segundo esto a los 28 días. Y concluye, “Quedando determinada la influencia de la incorporación del aditivo bacteriano, siendo positiva en el proceso de reparación de la fisuración controlada del concreto y su resistencia mecánica ya que mejoran considerablemente dichos parámetros”

1.5. Justificación de la investigación

1.5.1. Fundamento

La gestión de daños es un concepto alternativo a la prevención de daños, y se basa en el principio de que los daños en las estructuras son tolerables siempre que se curen o se puedan rectificar a tiempo (Schmets et al., 2007). Uno de esos conceptos de gestión de daños es el hormigón que se autocura, este concepto se inspira en gran medida en el mecanismo de curación de algunos seres vivos, que puede curarse a sí mismo hasta cierto nivel de daño liberando agentes biológicos en los puntos heridos. Varios investigadores en materiales de construcción y otros campos se han centrado en nuevos materiales cementantes y nuevas formas de producción de hormigón que prolongan su vida útil, proponiendo avances que reducen la necesidad de construir más infraestructura mediante el uso de estos materiales de esta manera. Ayuda a reducir el aumento del calentamiento global.

En este aspecto, la microbiología ha propuesto la utilización de bacterias para la elaboración o el mejoramiento de materiales de Ingeniería. Es así como la década de 1990, (Gollapudi et al., 1995) sugirió utilizar bacterias para inducir la precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3) para reparar grietas. La reacción de carbonatación se basa en el principio de obtención de carbonato de calcio mediante la reacción del dióxido de carbono (CO_2) inmerso en el ambiente con los residuos de la reacción química generada durante el proceso de endurecimiento del concreto con la reacción de hidratación del hidróxido de calcio de la mezcla de concreto, produciendo carbonato calcio y agua o humedad como se puede ver en la siguiente ecuación:



Es decir, la reparación por medio de bacterias radica en la precipitación de carbonato de calcio (piedra caliza) (Irwan, et al., 2016). Existe también otros mecanismos de obtener la precipitación de carbonato de calcio con el mismo objetivo.

La aplicación del agente de autoreparación de manera directa en la mezcla, no produce resultados esperados debido a que las bacterias son afectadas por el pH del concreto, que es alrededor de 13, y lo que se requiere para que las bacterias no mueran es que el pH esté alrededor de 9. Por otro lado, un gran porcentaje de bacterias no sobrevive al proceso de mezcla y, a medida que sus poblaciones disminuyen con el tiempo, el producto pierde eficacia.

Una forma de abordar estas limitaciones y garantizar que el concreto siga siendo un material autorreparable con el tiempo es encapsular y proteger las bacterias sin afectar las propiedades del concreto ni los depósitos de carbonato de calcio. Se han estudiado diferentes métodos de protección contra bacterias en mezclas de concreto. agregado de arcilla expandida (LWA) (Jonkers et al., 2010) microcápsulas a base de melanina (Wang et al., 2012) tierra de diatomeas (Op.cit.), gel de sílice y poliuretano (PU) en tubos de vidrio (Op.cit.), nano plaquetas de grafito (GNP) (Khaliq y Ehsan, 2016) e hidrogel (Wang et al., 2014).

De acuerdo con las consideraciones expuestas, prácticamente los últimos diez años la experimentación se hace mediante esporas bacterianas protegidas, y también las aplicaciones de campo en obras reales.

1.5.2. Justificación de la Investigación

Las grietas, han sido y seguirán siendo un problema no resuelto totalmente, más aún, cuando su ubicación no es accesible para un tratamiento directo como en estructuras de puentes, obras hidráulicas etc., además, si su aplicación se hace costoso, motivo por el cual, la bioreparación usando bacterias es un tema que en los últimos años está siendo abordado en seminarios y congresos internacionales.

Los sistemas de tratamiento de grietas mediante encapsulado químico, no son asequibles para construcciones convencionales por la complejidad en su fabricación y costo, o por sus efectos nocivos para la durabilidad del concreto, como es el caso del uso de Gel de sílice, que tiende a producir vacíos cuando pierde humedad y también afecta la resistencia del material.

La aparición de grietas es producto de varios factores que se presentan durante el proceso constructivo y en el periodo de servicio de la estructura. El evitar las grietas mediante tratamientos químicos es posible haciendo uso de una clase de producto para cada tipo de patología del concreto, por lo cual hará más costoso.

La alternativa de emplear esporas bacterianas encapsuladas para curar grietas en concreto resulta prometedora, por un lado, porque las bacterias están en todas partes y su producción industrial será asequible, más aún, si se tiene en cuenta que las bacterias que se usan son inocuas. De otro lado, la producción de material para el encapsulado es también accesible e incluso actualmente es usado en otros sectores como la agricultura, finalmente, porque las esporas pueden estar latentes por mucho tiempo y solo requieren de humedad para activarse. En consecuencia, por todas las razones expuestas se justifica el uso de bacterias encapsuladas como una tecnología novedosa y efectiva.

La necesidad de profundizar en el conocimiento del concreto, componentes y adiciones como en el presente caso bacterias del género bacilo como variable independiente y, la reparación automática de grietas producto de fenómenos biológicos como variable dependiente, surge de la necesidad que tiene el investigador en analizar a fondo como ocurre, mediante explicaciones científicas debidamente sustentadas, teniendo en cuenta que el hombre recién empieza a conocer los secretos de la naturaleza con ayuda del biomimetismo y equipos que permiten estudiar el funcionamiento a nivel molecular y atómico.

1.5.3. Importancia de la Investigación

El problema de las grietas en las construcciones de concreto actualmente tiene aspectos pendientes de solucionar, los cuales, afectan la vida útil de las obras.

El presente estudio pretende reforzar la orientación referido a tipos de bacterias, para lograr una mayor eficiencia en los resultados de curación de grietas del concreto y futuras aplicaciones.

El proceso de producción de cemento requiere alta energía con calor extremo, lo que libera emisiones intensivas (Jiangac et al., 2016).

Se requieren alrededor de 4.7 millones de unidades térmicas británicas (BTU) de energía para producir una tonelada de cemento, por lo tanto, una tonelada de cemento produce casi una tonelada de CO₂, en este sentido, la reparación temprana de grietas y fisuras mediante el uso de bacterias contribuirá en el incremento de la vida útil de las estructuras y consecuentemente menor uso de cemento y disminución de la contaminación.

A diferencia de otros estudios de hormigón autorreparable externamente, en este caso el material debería poder hacerlo desde el interior debido a la presencia de esporas bacterianas protegidas que se activan cuando el hormigón se raja, y no requiere la intervención humana.

La importancia del empleo de bacterias en usos futuros por los beneficios para la industria de producción de materiales, quienes, entrarían a competir ofreciendo alternativas innovadoras, y para la industria de la construcción una nueva alternativa eficiente para mejorar la durabilidad de las obras, fundamentalmente en las que hay presencia de humedad.

Además, es importante la participación de la comunidad académica esencialmente la ingeniería civil, con el apoyo de otras disciplinas como la biología y la química, a fin, de aportar soluciones a las patologías del concreto.

1.6. Limitaciones y delimitaciones

1.6.1. Limitaciones

El tema autoreparación del concreto mediante la inclusión de bacterias encapsuladas es relativamente nuevo en nuestro medio, por ello, en las universidades y centros de investigación hay escasez de expertos en el tema, y los estudios que son escasos, están referidos a experimentos donde las bacterias son incluidas directamente a la mezcla de concreto cuya alcalinidad está alrededor de pH 13, medio en el cual, la mayoría de las bacterias mueren, por esta razón, los estudios en otras latitudes, como Europa y Asia, que son la referencia, antes de introducir las bacterias al concreto los protegen.

La crisis global causada por la nueva cepa de coronavirus que atraviesa la humanidad afecta a todos los sectores e instituciones en su normal funcionamiento, de ahí que, el sistema universitario también ha sido alterado en su normal desarrollo académico, administrativo y de investigación, entre otros, no disponer a laboratorios.

1.6.2. Delimitaciones

El tema motivo de estudio, se encuentra a nivel experimental en laboratorios en diferentes latitudes, y también se está haciendo experimentación en proyectos reales con resultados prometedores, los mismos que fueron reportados en diversos artículos científicos en revistas indexadas, que fueron usados como fuentes de consulta ya que nos dan una idea clara del estado del arte.

Por tal motivo, la presente investigación se enfocará al análisis y evaluación de informes de experimentos a nivel de laboratorio de Artículos indexados referidos a la influencia de la adición del *Bacillus subtilis* para la autoreparación del concreto para obras de infraestructura, en dos aspectos: relleno de grietas y resistencia a la compresión.

1.7. Objetivos de la investigación

1.7.1. *Objetivo general*

El objetivo general de estudio es el siguiente:

Evaluar la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas a la mezcla de concreto, en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana a través de un análisis documental de experimentos.

1.7.2. *Objetivos específicos*

- a. Evaluar la influencia del tipo de mezcla en el auto sellado autónomo y autógeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente.
- b. Evaluar la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
- c. Determinar la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas directamente a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas, debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
- d. Determinar en qué proporción el auto sellado autónomo debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, mejora respecto al auto sellado autógeno de grietas debido a la precipitación de CaCO_3 .

- e. Evaluar de qué manera influye la temperatura de curado en el autosellado autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO_3 debido a la actividad metabólica bacteriana.
- f. Evaluar la influencia del tipo de mezcla en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
- g. Evaluar de qué manera influye la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto, en la variación de la resistencia a la compresión.

1.8. Hipótesis

1.8.1. Hipótesis general

La adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas, aplicadas a la mezcla de concreto, influye significativamente en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión del concreto debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.

1.8.2. Hipótesis específicas

- a. El tipo de mezcla influye significativamente en el auto sellado autónomo y autógeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente.
- b. La adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, influye significativamente en el

auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.

- c. No tiene hipótesis.
- d. No tiene hipótesis.
- e. La temperatura de curado influye significativamente en el autosellado Autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO_3 debido a la actividad metabólica bacteriana.
- f. El tipo de mezcla influye significativamente en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
- g. La adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto, influye significativamente en la variación de la resistencia a la compresión.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Base teórica

2.1.1. Patologías del concreto

Durante su ciclo de vida, el hormigón puede presentar defectos o daños que cambien su comportamiento y estructura interna. Esto puede ser innato ya que existe por diseño o construcción. Otros pueden haber aparecido en algún momento de su vida útil. Los signos de daño estructural incluyen grietas, rajaduras, manchas, decoloración, hinchazón, pérdida de masa u otros tipos de daño. A continuación, se resume estas causas de los tipos de daños en el concreto de acuerdo con (Porto, 2005).

- Daños causados por factores externos: erosión, ataque por heladas, ácidos, sulfatos, álcalis, carbonatos y cloruros.
- Daño intrínseco al hormigón: compresión, tensión, flexión, corte, cizallamiento, torsión, perforación, asentamiento plástico, contracción.
- Daños causados por medidas de emergencia: incendio, terremoto, impacto, deslizamiento de tierra, hundimiento, gravedad y otras condiciones.
- Desde los inicios del uso del cemento portland, uno de los principales problemas en las construcciones de concreto son las grietas y fisuras, esto, debido a su baja resistencia a la tracción.

Estas patologías, pueden presentarse en las siguientes circunstancias:

- Grietas y fisuras del concreto en estado fresco, originado por retracción plástica o asiento de la estructura.

- Grietas y fisuras en concreto endurecido, motivado por acciones de elementos estructurales (flexión, corte, torsión, tracción) y exposición ambiental (cambio térmico, retracción por secado, ataque por sulfatos, corrosión).

Las grietas y fisuras visibles Figura 1, pueden ocurrir cuando se sobrepasa el límite de resistencia a la tracción del concreto, este tipo de patología, se relacionan frecuentemente con un fácil acceso de sustancias y soluciones de carácter agresivo, que, al ingresar en la matriz del concreto, afecta incluso a sus componentes estructurales, trayendo consigo graves problemas relacionados con el deterioro de la estructura (Abou et al., 2001).

Figura 1

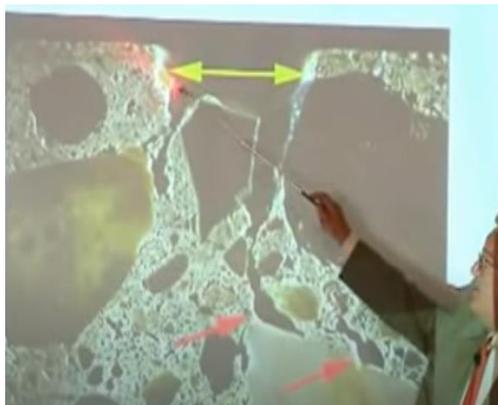
Tipos y causas de fisuras



(a) Grieta y fisura.



(b) Grietas y fisuras, proceso de deterioro



(c) Fisura al microscopio



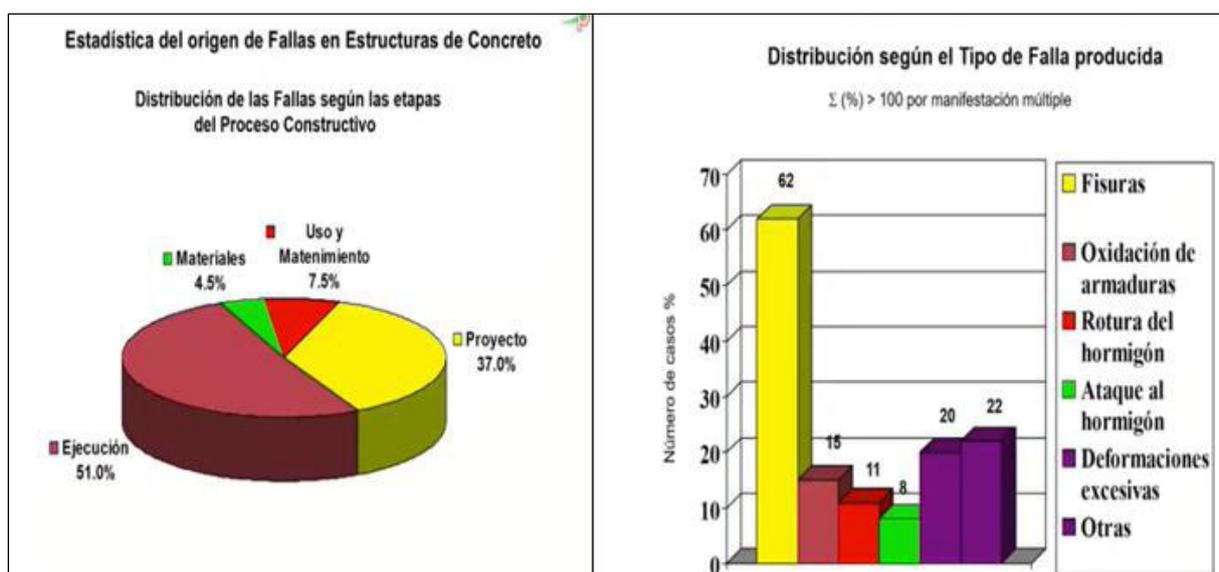
(d) Fisuras y grietas reparadas.

Nota: Guía de especificación para el tratamiento de fisuras en el concreto.

Calavera (2008) en su libro, “Patología de Estructuras de Concreto Armado y Pretensado” presenta el estudio estadístico de 10,000 informes de fallos (fallo: finalización de la capacidad de un elemento para desempeñar la función requerida) del Bureau Seguritas, efectuados entre los años 1968 y 1978. Encontró que, el 37 % de los fallos se produjeron por errores en el proyecto, y el 51 % por deficiencias en la etapa de construcción. De otro lado, el tipo de fallo predominante fueron fisuras con 60 % de ocurrencia. En virtud de los resultados (Figura 2), se concluye que el estudio de las grietas y fisuras es fundamental.

Figura 2

Distribución de fallos según la etapa del proceso constructivo



Nota: Los gráficos fue tomado del libro Patología de Estructuras de Hormigón Armado y pretensado (pp.25,32), por Calavera (2005) INFOPRINT, S.A. (Abou, et al. 2001)

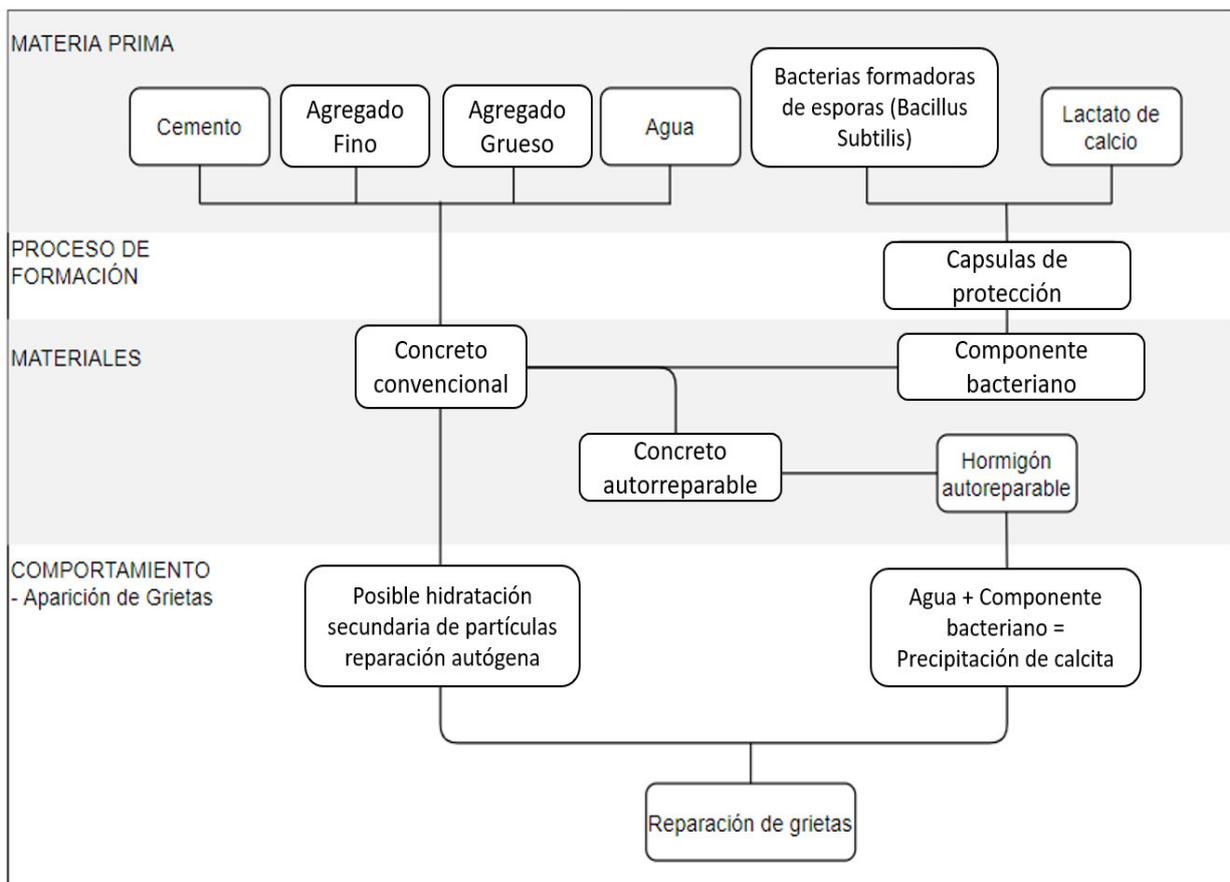
2.1.2. Variables que intervienen en la autoreparación biológica

A partir del objetivo del presente estudio, se tienen las variables independientes, conformadas por las componentes de concreto (cemento, agregados, adiciones, agua y temperatura), además la componente biológica (bacterias, nutrientes, material de encapsulado), y, de otro lado la autoreparación de las fisuras del concreto como variable dependiente.

A partir de las variables que intervienen en el proceso se desarrolla el marco teórico, y para mejor comprensión, se presenta el diagrama en la Figura 3.

Las pruebas experimentales de autoreparación de grietas en concreto mediante la adición de bacterias encapsuladas que se estudia, son a partir de informes de *Artículos de Investigación* referidos al tema, los cuales contienen datos de las variables indicados en el párrafo anterior. En la Figura 3, se muestra además la secuencia que siguen los experimentos.

Figura 3
Descripción general del método experimental utilizado



Nota: Se presenta una descripción general del método experimental de los estudios que se considerarán en la presente investigación.

2.2. Componentes del concreto

2.2.1. *Cemento*

“Son conglomerantes hidráulicos, esto es, materiales artificiales de naturaleza inorgánica y mineral, que finamente molidos y convenientemente amasados con agua forman pastas que fraguan y endurecen a causa de las reacciones de hidrólisis e hidratación de sus constituyentes, dando lugar a productos hidratados mecánicamente resistentes y estables, tanto al aire como en el agua” (Introducción a la Fabricación y Normalización del Cemento portland: Publicaciones de la Universidad de Alicante España, (Sanjuán y Chinchón, 2014). Este endurecimiento hidráulico se debe principalmente a la formación de silicatos cálcicos hidratados y de aluminatos hidratados como resultado de la reacción entre el agua y los constituyentes del cemento.

“El cemento portland se produce por la pulverización del Clinker, el cual consiste principalmente en silicatos de calcio hidráulicos; el Clinker también contiene algunos aluminatos de calcio y ferro aluminatos de calcio y una o más formas de sulfato de calcio (yeso) que se muele juntamente con el Clinker para la fabricación del producto final. Los materiales usados para la producción del cemento portland deben contener cantidades apropiadas de los compuestos de calcio, sílice, alúmina, y hierro. Durante la fabricación, se hace análisis químico frecuente de todos los materiales para garantizarse una calidad y uniforme del cemento” (Navarro, 2016).

En la Figura 4 se aprecia los límites de los componentes en la fabricación del cemento que son de aplicación global, cuyas variaciones producen los diferentes tipos de cemento que se producen.

Figura 4

Dosificaciones de los compuestos

<ul style="list-style-type: none"> • Módulo hidráulico (poco usado) $MH = \frac{CaO}{SiO_2 + Al_2O_3 + Fe_2O_3}$	<ul style="list-style-type: none"> • Módulo silíceo $Ms = \frac{SiO_2}{Al_2O_3 + Fe_2O_3}$
<ul style="list-style-type: none"> • Estándar de cal $SIC = \frac{100CaO}{2,8SiO_2 + 1,1Al_2O_3 + 0,7Fe_2O_3}$	<ul style="list-style-type: none"> • Módulo de fundentes $Mf = \frac{Al_2O_3}{Fe_2O_3}$
$1,7 < MH < 2,3$ $SIC > 90$	$1,8 < Ms < 3$ $1,8 < Mf < 2,8$

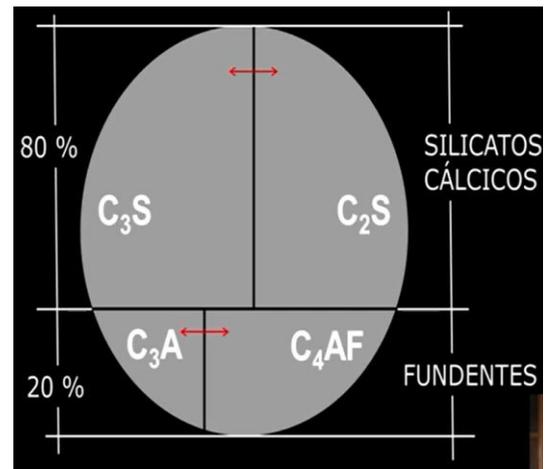
(a) Dosificación del crudo del cemento de base Portland para la correcta dosificación de crudo se determinan los porcentajes en peso de los compuestos químicos de las materias primas.

Fuente: (Navarro, 2016).

2.2.2. El agregado para concreto

El agregado pétreo es el componente principal del concreto hidráulico y del concreto asfáltico. Sus propiedades afectan las propiedades del hormigón fresco y endurecido. También es importante reducir los costes del hormigón. Los áridos para hormigón tienen como finalidad controlar los cambios volumétricos (cambios de volumen debido a los procesos de endurecimiento, endurecimiento y secado de la mezcla de hormigón), contribuyendo a la resistencia final del material y reduciendo los costes de producción. (Es una masilla adecuada para la mezcla ya que reduce la pasta de cemento por metro cúbico.

“La importancia del uso del tipo y de la calidad correctos del agregado (áridos) no se puede subestimar, los agregados fino y grueso ocupan cerca del 60 % al 75 % del volumen del concreto (70 al 85 % de la masa) e influyen fuertemente en las propiedades tanto en estado fresco como endurecido, en las proporciones de la mezcla y en la economía del concreto” (Navarro, 2016).



(b) Influencia de los silicatos tricálcico y silicato bicálcico en la obtención de resistencia.

Figura 5
Agregados gruesos



Fuente: (Navarro,2016).

En países que no tienen sus propios estándares para materiales de construcción (cemento, concreto), se utilizan estándares que cumplen con los estándares extranjeros o los estándares de la Asociación Estadounidense para Ensayos y Materiales en cuanto a calidad y condiciones de uso. Los materiales se abrevian como (American Society for Testing and Materials), normas ASTM u otras normas internacionales basadas en influencias geográficas o de otro tipo. En general, las normas para el cemento y el hormigón son comparables internacionalmente y tienen unidades de medida radicalmente diferentes.

2.2.3. Agua

El agua de la mezcla de hormigón interviene en la reacción de hidratación del cemento. Este monto deberá ser determinado de acuerdo al proyecto. Esto se debe a que el exceso que no interfiere con la hidratación del cemento se evapora y crea huecos en el concreto, lo que reduce la resistencia. Se puede estimar que por cada litro de exceso de agua de amasado se pierden 2 kg de cemento de la mezcla. Sin embargo, si se reduce excesivamente el agua, se convierte en una mezcla seca, lo que hace que sea muy difícil y complicado su uso para curar cemento no hidratado. Por lo tanto, es muy importante ajustar con precisión el volumen de agua.

Se deben evaluar las propiedades del agua del concreto para asegurar que no cause reacciones adversas en la mezcla. Por lo tanto, se deben realizar análisis físico-químicos para

garantizar la calidad. De hecho, un indicador sencillo es la potabilidad del agua, que determina si es apta para su uso en mezclas.

2.2.4. Adiciones

“La ceniza volante, la escoria granulada, el humo de sílice (sílice activada, microsílíce) y las puzolanas naturales, tales como esquistos calcinados, arcilla calcinada o metacaolinita, son materiales que, cuando usados juntamente con el cemento portland o el cemento adicionado, contribuyen para la mejoría de las propiedades del concreto endurecido, debido a sus propiedades hidráulicas o ambas” (Steven, 2004).

El empleo de adiciones al concreto, iniciado después de la segunda guerra mundial e impulsado desde la década del 70. Son subproductos de procesos industriales, cuyo objeto es mejorar la conservación del medio ambiente y ofrecer beneficios a las propiedades del concreto.

2.2.5. Proporciones de la mezcla de concreto

“El proceso de determinación de las características requeridas del concreto y que se puedan especificar se llama diseño de mezcla. Las características pueden incluir: (1) propiedades del concreto fresco, (2) propiedades mecánicas del concreto endurecido y (3) la inclusión, exclusión o límites de ingredientes específicos”. Después de seleccionar sus especificaciones, podemos proporcionarle mezclas basadas en datos de campo o de laboratorio. Dado que la mayoría de las propiedades deseadas del hormigón endurecido dependen principalmente de la calidad de la pasta de cemento, el primer paso para fabricar hormigón es seleccionar un material de agua-cemento que cumpla con la resistencia y durabilidad requeridas. La mezcla de hormigón debe ser lo más sencilla posible. Esto se debe a que cantidades excesivas de material generalmente dificultan el mantenimiento del concreto. Sin

embargo, los ingenieros del hormigón no deben pasar por alto la tecnología moderna del hormigón. (Navarro, 2016)

En el presente estudio se hará uso de los indicadores de las proporciones de mezcla obtenidos en la literatura revisada de investigaciones experimentales. Puntualmente las siguientes:

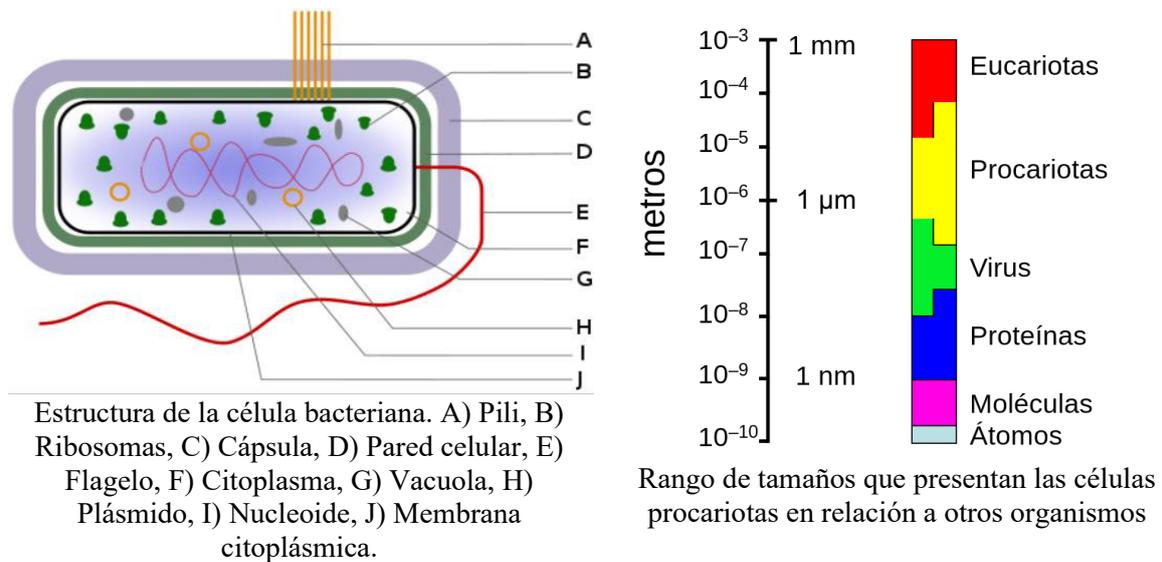
- Composición del concreto (cemento, agregado fino, agregado grueso y adiciones) los que se expresan en peso, parámetros que se deben homogeneizar para su desarrollo en la base de datos.
- Composición de mortero (cemento, agregado fino y adiciones) a los cuales se darán el mismo tratamiento al indicado en el acápite anterior. La relación agua-material cementante: es la masa de agua dividido entre la masa del cemento más adiciones, si hubiera.

2.3. Componente biológico

2.3.1. *Bacteria*

Las bacterias son procariontas unicelulares. En otras palabras, las células diferenciadas por membrana no tienen núcleo, por lo que el material genético se distribuye libremente en el citoplasma. Su longitud varía de 0.5 a 5.0 μm . Estos organismos vivos son los más comunes en la Tierra y pueden adoptar diversas formas, incluidos filamentos, bolas (cocos), bastones (bacilos), sacacorchos (vibrios) y espirales (espirilla) (Tortora, 2007) (Ver Figura 6).

Figura 6
Caracterización de las bacterias



Fuente: (Yang, 2011).

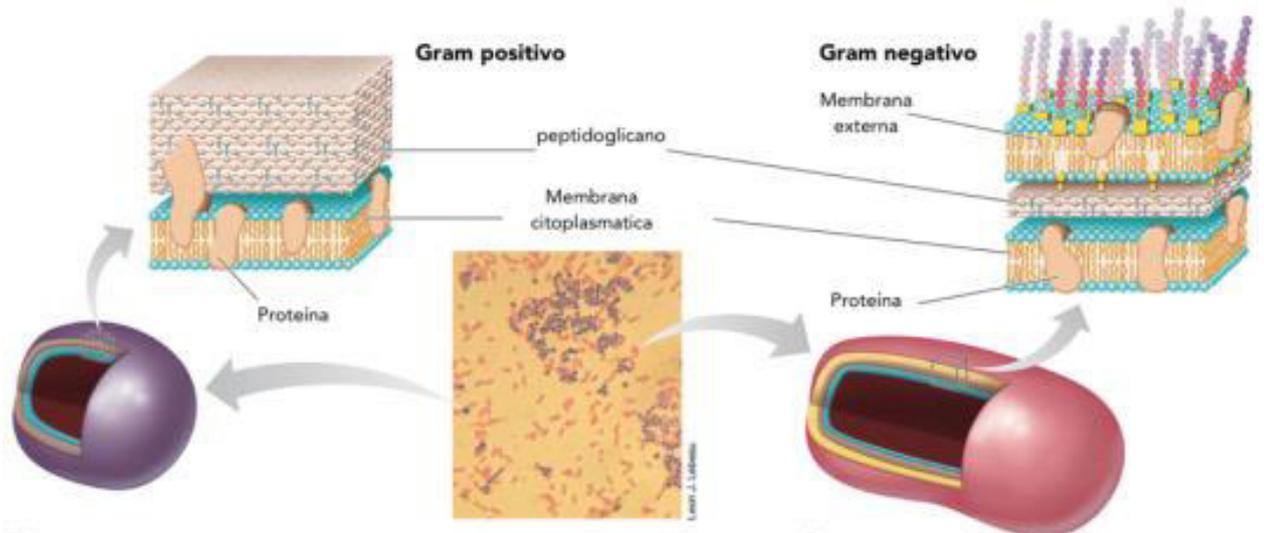
El hecho de que se considere su uso en hormigón autoendurecible se debe a que puede soportar condiciones muy extremas que otras formas de vida microscópicas no pueden soportar, como el entorno del producto y las reacciones químicas en el hormigón. Algunas bacterias existen como esporas, que contienen el material genético y las sustancias necesarias para vivir, en algunos casos, entre 50 y 200 años (Yang, 2011).

Las bacterias analizadas, de acuerdo con la forma de su estructura que conlleva la envoltura celular, pueden clasificarse en dos tipos: grampositivas y gramnegativas.

Para bacterias *Gram* positivas: a) una pared celular formada por una membrana citoplasmática y una gruesa capa de peptidoglicano que rodea la parte frontal; b) La pared celular está unida a la membrana citoplasmática mediante moléculas de ácido lipoteicoico. (c) La capa de peptidoglicano es muy resistente a estas bacterias y es responsable de la retención del color durante la tinción de Gram. Las células gramnegativas, por otro lado, tienen una segunda membrana lipídica fuera de la pared celular y la capa de peptidoglicano es mucho más delgada.

Figura 7

Esquema de la pared celular de las bacterias grampositivas y gramnegativas



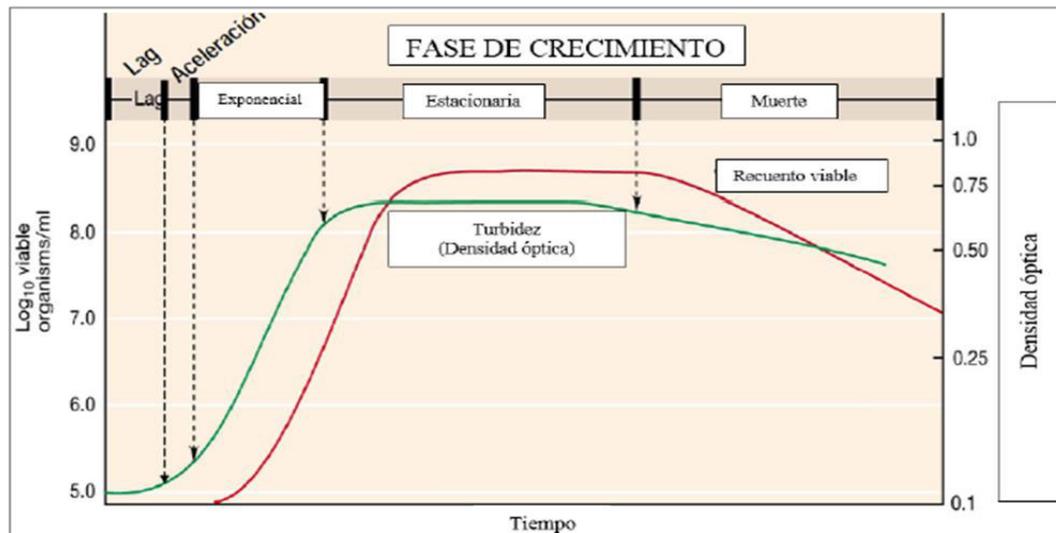
Fuente: (Madigan, 2015).

Las paredes celulares grampositivas que contienen una gran cantidad de peptidoglicano se combinan con los llamados polímeros secundarios, lo que aumenta la densidad de carga electronegativa de la pared, lo que las hace extremadamente duraderas y altamente resistentes a una variedad de condiciones ambientales adversas. La pared celular Gram-negativa contiene poco peptidoglicano y ningún polímero secundario, pero está compuesta por una capa externa del lípido lipopolisacárido (LPS) altamente aniónico. Como resultado, la superficie Gram negativa es altamente electronegativa y puede interactuar con los solutos. ion metálico (Schultze, 1996).

De otro lado, cada bacteria es capaz de crecer en un rango de temperatura, y de acuerdo a esto se pueden clasificar en: *Psicrófilas* (entre -10 a 25 °C), *Mesófilas* (entre 15 a 45 °C), y *Termófilas* (entre 45 y 100 °C). (Fontalvo, 2012).

La acidez y alcalinidad (pH) en la cual se desarrollan las bacterias también las identifican, es así que, pueden ser: *Acidófilas* (pH entre 2-6), *Alcalófilas* (pH entre 8-12), y *Neutrófilas* (entre 6.5 – 7.5). (Fontalvo, 2012).

Figura 8
Crecimiento y reproducción de bacterias



Nota: Lag: Fase de latencia, Log: Fase exponencial o logarítmica de crecimiento balanceado, Fase estacionaria, Fase de muerte celular. (Schultze et al., 1996).

El crecimiento bacteriano implica que la célula se divida en dos células hijas mediante un proceso llamado reproducción asexual bacteriana o fisión nuclear. Conceptualmente, las células crecen hasta el doble de su tamaño original y luego se dividen. Las células hijas resultantes son genéticamente idénticas a la célula original, por lo que la población bacteriana se duplica y crece exponencialmente. (Fontalvo, 2012).

2.3.2. Fuente de calcio

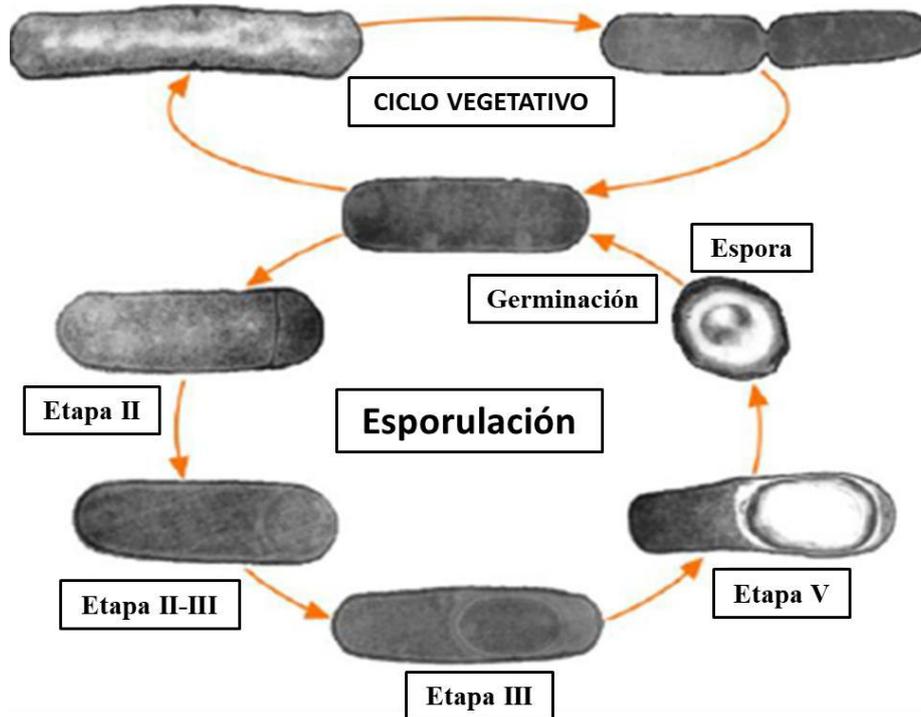
Es necesaria la incorporación de calcio en el ambiente de la bacteria para que se produzca la oxidación del carbono. Las fuentes de calcio utilizadas para la autoreparación del hormigón con bacterias son bastante variadas; se puede encontrar autores que utilizan alginato de calcio ($(\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{CaO}_{12})_n$), acetato de calcio ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Ca}$), lactato de calcio ($\text{CaC}_6\text{H}_{10}\text{O}_6$), formiato de calcio ($\text{Ca}(\text{HCOO})_2$) y nitrato de calcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$).

2.3.3. Esporulación de bacterias

Las bacterias en condiciones adversas perciben cambios en su entorno y se adaptan. Cuando se agotan los nutrientes preferidos, algunas bacterias pueden migrar y recuperar los

nutrientes o producir enzimas que utilizan fuentes alternativas. Este complejo proceso de desarrollo a menudo comienza en respuesta a una deficiencia de nutrientes y permite que las bacterias produzcan células latentes y altamente resistentes para preservar el material genético de las células en momentos de estrés extremo.

Figura 9
Desarrollo de endosporas



Fuente: (Lowenstam, 1981).

Las endosporas pueden resistir el estrés ambiental que normalmente mata las bacterias. Estas tensiones incluyen altas temperaturas, alta radiación ultravioleta, deshidratación, daño químico y destrucción de enzimas. Se ha descubierto que hay bacterias que pueden permanecer inactivas hasta 200 años y luego convertirse en células vivas si existen condiciones favorables de humedad y nutrición.

2.3.4. Biomineralización

Con el objeto de entender el concepto “biomineralización” se debe saber que es un proceso de formación de minerales por microorganismos, que es una maravilla creada por la

naturaleza (Castro et al., 2018). La formación de minerales biológicamente controlada a menudo altera el medio ambiente con efectos incontrolados que son productos del metabolismo bacteriano. Esquema de formación del cuerpo bacteriano y carbonato cálcico. La precipitación de minerales se produce mediante la combinación exitosa de iones cargados positiva y negativamente que se encuentran en las paredes celulares. (Seifan et al., 2016). Estas estructuras orgánicas-inorgánicas se producen por una extracción selectiva y absorción de iones del ambiente llegando a tener un alto grado de organización.

Se ha encontrado dos formas de proceso de biomineralización. El primero es un proceso que se encuentra en muchos animales y controlado por una matriz orgánica. Es decir, existe un entorno en el que los iones relevantes ingresan activamente al cuerpo y afectan la cristalización y el crecimiento (salamandra, fractura). El tipo de mineral, la orientación de los ejes cristalinos y su microestructura están determinados genéticamente. El segundo proceso importante de formación de minerales se caracteriza en algunas especies de bacterias y algas por la formación de grandes cantidades de minerales extracelulares y/o intercelulares sin el desarrollo de una matriz orgánica (Lowenstam, 1981).

En diferentes trabajos con biohormigón se han descubierto diversas bacterias, pero lo que tienen en común es el término biomineralización. Esto significa que estos microorganismos pueden producir biominerales como productos del metabolismo. Según las últimas investigaciones, estos minerales se utilizan para cubrir grietas con un ancho de fisura de 0 a 8 mm, según investigaciones más recientes (Alshalif et al., 2016).

2.3.5. *Biomimetismo*

La naturaleza es la mayor diseñadora de la Tierra y los humanos pueden aprender mucho de ella si sólo le prestan atención. El significado de esta palabra se deriva de la palabra BIOS, que significa vida, imitación e imitación, y es una nueva ciencia que resuelve los

problemas humanos estudiando las mejores ideas de la naturaleza e imitando sus diseños y procesos (Benyus y García, 2012).

Desde entonces, muchos diseñadores, ingenieros, biólogos y otros científicos han seguido esta línea de pensamiento y han creado una amplia gama de productos, desde trenes con frentes aerodinámicos parecidos a los de los pájaros hasta estructuras, sensores y redes neuronales ligeros y duraderos. Principios de física, química, mecánica, ciencia de materiales, control y muchas otras áreas que reconocemos como ciencia y tecnología. Los procesos de la naturaleza se extienden desde lo nano y micro hasta lo macro y mega. Los archivos de sistemas vivos encapsulan y almacenan información, la codifican en los genes de una especie y la transmiten de generación en generación mediante la autorreplicación.

La biomimética es una ciencia basada en la investigación que tiene como objetivo encontrar soluciones prácticas a las necesidades humanas imitando patrones, sistemas, procesos y elementos naturales. El objetivo es identificar y analizar el comportamiento complejo de los organismos vivos, integrándolos en nuevas tecnologías y aportando soluciones a problemas ya resueltos en la naturaleza. (Benyus y García, 2012).

En este contexto, la biomímesis pretende modelar utilizando mecanismos de biomineralización para obtener materiales con estructuras y funciones específicas. En la ingeniería tradicional, los materiales son estáticos, en contraparte de los materiales biológicos que evolucionan en base a su medio ambiente y sus posibilidades de adaptación.

Por ejemplo, cuando se rompe un hueso, se forma un coágulo de sangre que se convierte en un callo de cartílago, que luego sufre un proceso de regeneración vascular y calcificación para eventualmente restaurar la función ósea. (Marsell y Einhorn, 2011). Esta clase de fenómenos han inspirado la fabricación de materiales inteligentes dentro de la ingeniería, como el concreto autorreparable.

2.3.6. *Precipitación de calcita inducida por microbios (MICP)*

La precipitación de calcita inducida microbianamente se refiere a la formación de carbonato de calcio a partir de una solución sobresaturada debido a la presencia de células bacterianas y actividades bioquímicas. (Bosak, 2011).

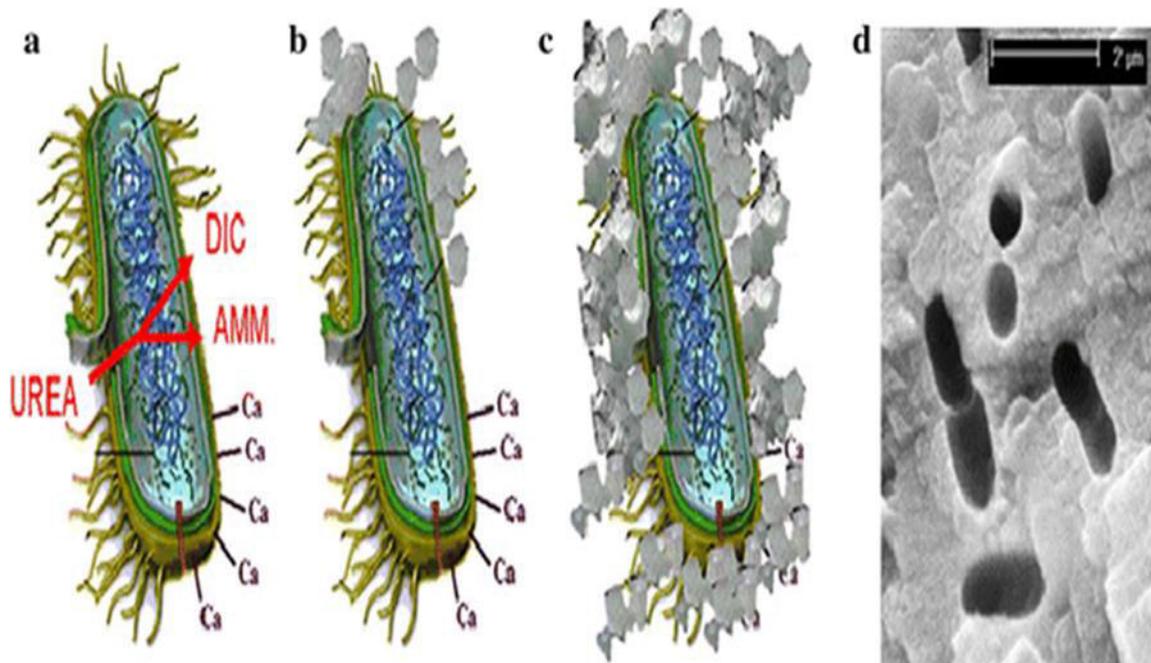
Durante la MICP, los organismos pueden secretar uno o más productos metabólicos (CO_3^{2-}) que reaccionan con iones (Ca^{2+}) en el medio ambiente, lo que resulta en la posterior precipitación de minerales. Previamente, se propuso que la formación de precipitación de carbonato de calcio ocurriera a través de diferentes mecanismos como la fotosíntesis (Thompson y Ferris, 1990).

La precipitación de carbonato cálcico (CaCO_3) es un proceso sencillo y fácilmente controlable de MICP que puede producir altas concentraciones de CaCO_3 en un período corto de tiempo (Dhami et al., 2013). Para este propósito, la ureasa influye en el proceso químico asociado con la formación de biominerales a través de cuatro factores como el pH, las concentraciones de carbono inorgánico disuelto, las concentraciones de calcio y la disponibilidad de sitios de nucleación.

Los primeros tres factores influyen en la concentración de iones carbonato (CO_3^{2-}) (es decir, estado de saturación), mientras que el último factor (es decir, disponibilidad de sitios de nucleación) depende de las bacterias y su medio para la formación continua y estable de carbonato de calcio (Phillips et al., 2013).

Las células bacterianas en su superficie exterior tienen grupos cargados negativamente que captan cationes divalentes (p. Ej., Ca^{2+} , Mg^{2+}) uniéndolos a sus superficies celulares a pH neutro, lo que conforma los sitios de nucleación ideales para la deposición de calcita. Para luego, el catión unido (iones metálicos) reacciona con aniones (carbonato) para formar carbonato cálcico en forma insoluble (Figura 10); (Rodríguez et al., 2012).

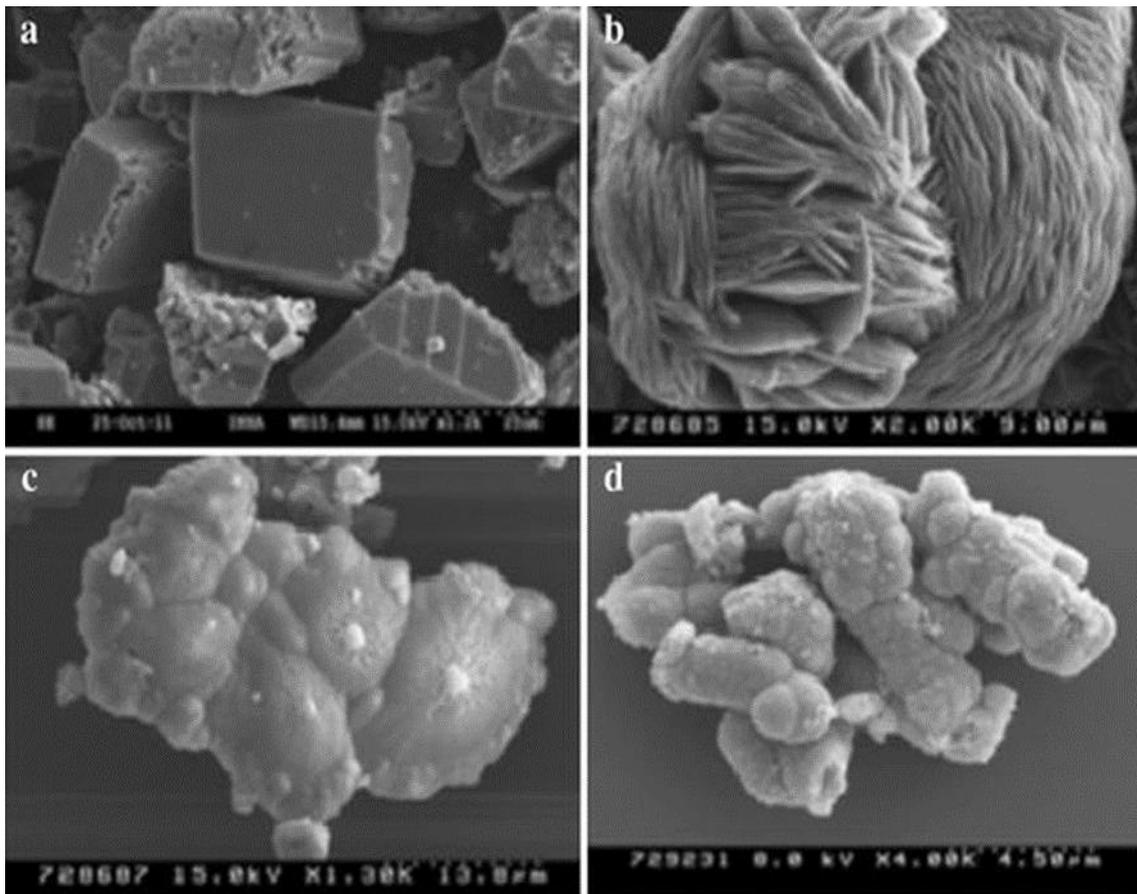
Figura 10
Precipitación Ureolysis impulsada calcita



Fuente: (Muyneck, et al. 2010).

En el proceso MICP, distintas fuentes de calcio inducen cristal con formas diferentes, Por ejemplo: (a) el acetato de calcio induce una forma de lechuga o laminar, (una forma metaestable de CaCO₃) compuesta de vaterita; (b) cuando es inducida por cloruro de calcio siendo característica de la forma más estable de CaCO₃ (calcita) una forma romboédrica; (c) mientras que el lactato de calcio y el gluconato de calcio inducen una forma más compleja que conduce al crecimiento de vaterita con forma esférica y (d) otras fuentes de calcio también indujeron una forma diferente de CaCO₃ (Gorospe et al., 2013).

Figura 11
Micrografías electrónicas de barrido



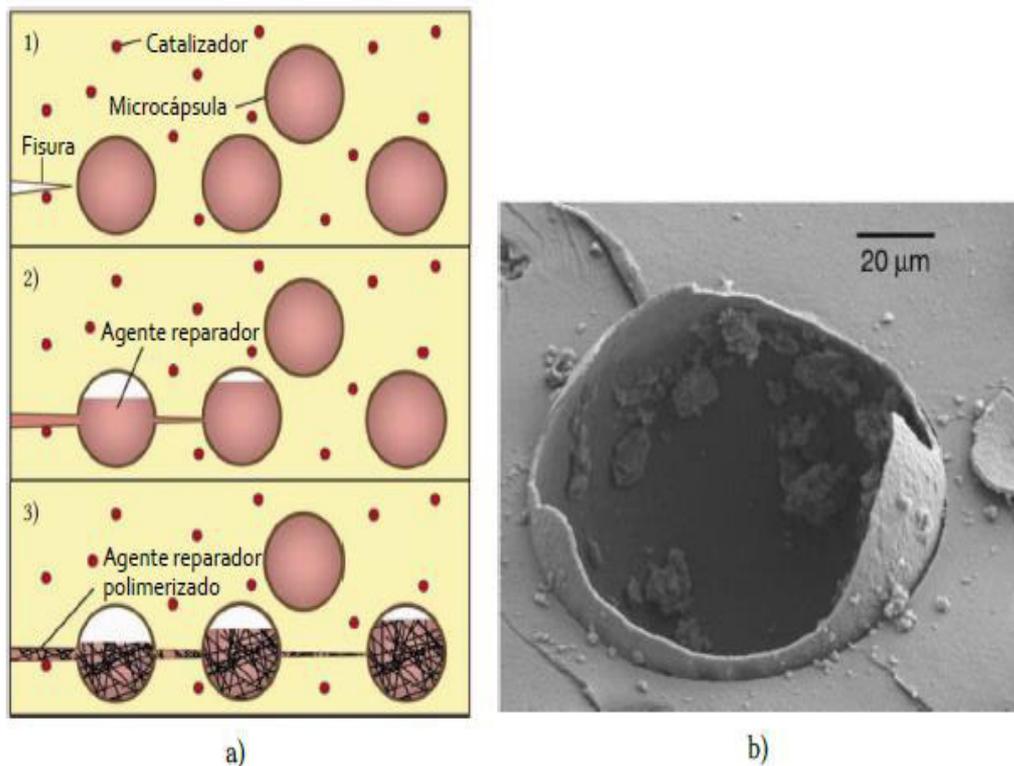
Nota: Micrografías electrónicas de barrido que muestran los efectos de diferentes fuentes de calcio sobre la forma de los cristales formados. **a)** un cloruro de calcio, **b)** acetato de calcio, **c)** lactato de calcio, **d)** gluconato de calcio. (Gorospe, et al. 2013).

2.3.7. Medios protectores/ encapsulado

Los estudios experimentales han investigado la encapsulación utilizando materiales protectores como tierra de diatomeas, hidrogeles, arcilla expandida porosa en cápsulas tubulares, gel de sílice y poliuretano. Todo esto permite introducir un gran grupo de microorganismos en la mezcla de hormigón, porque protege bien el hormigón del ambiente alcalino del hormigón. Se sabe que el gel de sílice protege contra las bacterias, ayudándolas a conservar la actividad enzimática (Wang et al., 2012). En este sentido, para el funcionamiento correcto de un material autorreparable, y poder sellar las grietas en el concreto, se debe emplear partículas protectoras de bacterianas, las cuales se denominan encapsulado, de manera

mantener su vida durante más tiempo hasta el momento que se produzca las grietas y entren en acción.

Figura 12
Microencapsulación, fisuras y SEM



Nota: **a)** concepto de la microencapsulación: (1) Formación de la fisura en la matriz, (2) la fisura alcanza y rompe las microcápsulas, vertiendo el agente reparador en la fisura por capilaridad, (3) el agente reparador contacta con el catalizador y comienza la polimerización que une las fisuras, y **b)** imagen del SEM de una microcápsula rota. (Gorospe, et al.2013).

2.4. Selección de bacteria para el presente estudio

Desde hace una década se viene estudiando diferentes cepas bacterianas del género *Bacillus* como agente de biorreparación de grietas en concreto, debido a que tienen la capacidad de producir carbonato de calcio (CaCO_3) como producto de actividades metabólicas como la hidrólisis de la urea, reducción de sulfatos y la fotosíntesis (Hammes y Verstraete, 2002).

De acuerdo con el estudio efectuado por Páramo et al. (2015) se basó en el aislamiento de 30 tipos diferentes de bacterias (principalmente *Bacillus*) previamente identificadas mediante métodos microbiológicos y moleculares a partir de biopelículas adherentes en el

Palacio de Chapultepec en la Ciudad de México. Se realizaron diferentes técnicas para la identificación y detección de la formación de biopelículas y su cuantificación, ensayo de ureasa y extracción de cristales de carbonato de calcio de cajas de Petri que contienen LB 0.2% de carbonato de calcio. Los cristales fueron analizados mediante difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido. Los resultados muestran que todos los buenos formadores de biopelículas también son ventajosos en términos de deposición de carbonatos, centrándose en las cepas IIS4 (*Bacillus megaterium*), IS5 (*Bacillus subtilis*) y IIS9b (*Bacillus subtilis*), 21 (*Pantoea agglomerans*) y IIS5 (*Bacillus simplex*). Los cristales resultantes fueron principalmente calcita (99 %).

Tabla 2

Características bioquímicas y formación de cristales a las 24 y 48h

Cód.	Identidad	Formación de biopelícula (UFC/mL)	Actividad de ureasa (h)	Bioprecipitación de CaCO ₃ (%)			Punto Muestreado al que pertenece		
				Calcita	Aragonita	Whewellita	I	II	III
IS4	<i>Bacillus subtilis</i>	1.3E8 ± 0.0971*	SCEM	99.17	0.63	0.20	X		
IS5	<i>Bacillus subtilis</i>	4.8E7 ± 0.0388**	5 días	99.15	0.69	0.16	X		
IIS9b	<i>Bacillus subtilis</i>	5.2E8 ± 0.1186**	BCEM	98.97	0.74	0.29			X
IS3	<i>Bacillus subtilis</i>	6.6E7 ± 0.0397**	48 horas	99.27	0.73	0.00	X		
IIS10	<i>Bacillus subtilis</i>	4.9E7 ± 0.2157*	BCEM	99.49	0.41	0.10			X
IS16	<i>Bacillus subtilis</i>	9.4E7 ± 0.2143*	48 horas	99.49	0.51	0.00		X	
IIS15a	<i>Bacillus subtilis</i>	2.34E7 ± 0.0636*	BCEM	99.26	0.59	0.15		X	
IIS5	<i>Bacillus simplex</i>	1.0E7 ± 0.0368*	5 días	99.01	0.99	0.00			X
31	<i>Bacillus simplex</i>	4.8E7 ± 0.0388**	5 días	99.12	0.60	0.28			X
IS6	<i>B. megaterium</i>	2.2E7 ± 0.007*	BCEM	99.35	0.55	0.10			X
IS6	<i>Pantoea agglomerans</i>	1.1E7 ± 0.0024**	SCEM	99.13	0.67	0.20	X		
21	<i>Pantoea agglomerans</i>	2.0E7 ± 0.0029**	16 horas	99.50	0.34	0.16		X	

* Mejores aislados en cuanto a formar biopelículas a las 24 horas en microplaca.

** Mejores aislados en cuanto a formar biopelículas a las 48 horas en microplaca.

BCEM: Buen crecimiento en el medio sin cambio de coloración a los 8 días.

SCEM: No se observó crecimiento en el medio utilizado a los 8 días de incubación.

Nota: Se presenta las características bioquímicas y de formación de cristales de los aislamientos formadores biopelículas a las 24 y 48h. (Páramo, et al. 2015).

En consecuencia, teniendo en cuenta los resultados del comportamiento del *Bacillus subtilis* que tiene buena capacidad para precipitar carbonato de calcio, como aparece en la Tabla 2. Además, de acuerdo con los estudios de (Barabesi et al., 2007). Que especificó en la revisión de la literatura que varias subespecies de *Bacillus subtilis* involucrado en la precipitación de calcita tienen un rendimiento prometedor. Por otro lado, Méndez et al. (2004) y Budde et al. (2006) mencionan que para *Bacillus subtilis* las condiciones de baja temperatura inducen en muchos casos los factores de transcripción involucrados en el proceso de esporulación, lo que favorece más aún el proceso de adaptación en ambientes severos.

Por estas consideraciones, la bacteria *Subtilis* es motivo del presente estudio, además su probable aplicación en obras de infraestructura a más de 4,200 m s.n.m.

2.4.1. Descripción de las bacterias motivo del estudio

2.4.1.1. Bacillus subtilis

La bacteria *Bacillus subtilis* fue una de las primeras bacterias estudiadas, 1972, también se conoce como bacilo de heno o bacilo de pasto (Joshi et al., 2016). Ha sido clasificada históricamente como un aerobio obligado, aunque existe evidencia de que es un aerobio facultativo. *Bacillus subtilis* se considera como la bacteria mejor estudiada y un organismo modelo para estudiar la replicación de los cromosomas bacterianos y la diferenciación celular (Joshi et al., 2016).

Se ha encontrado que resiste el ambiente hostil del concreto, puede tolerar hasta 80 °C a partir de la formación de endospora, ofrece resistencia contra pH alto, puede permanecer hibernada dentro del concreto por 200 años hasta que obtenga el ambiente adecuado, el nutriente a base de peptona añadidos junto con contenido bacteriano mejora la producción de calcita. (Meera y Cheriyan, 2016).

Figura 13
Bacillus Subtilis



Fuente: (Naik et al., 2009), recuperado en diciembre 2021 de:
<https://www.americanbiosystems.com/productos/microorganismos-de-alimentacion-directa/bacillus-subtilis-fermentation-product/?lang=es>

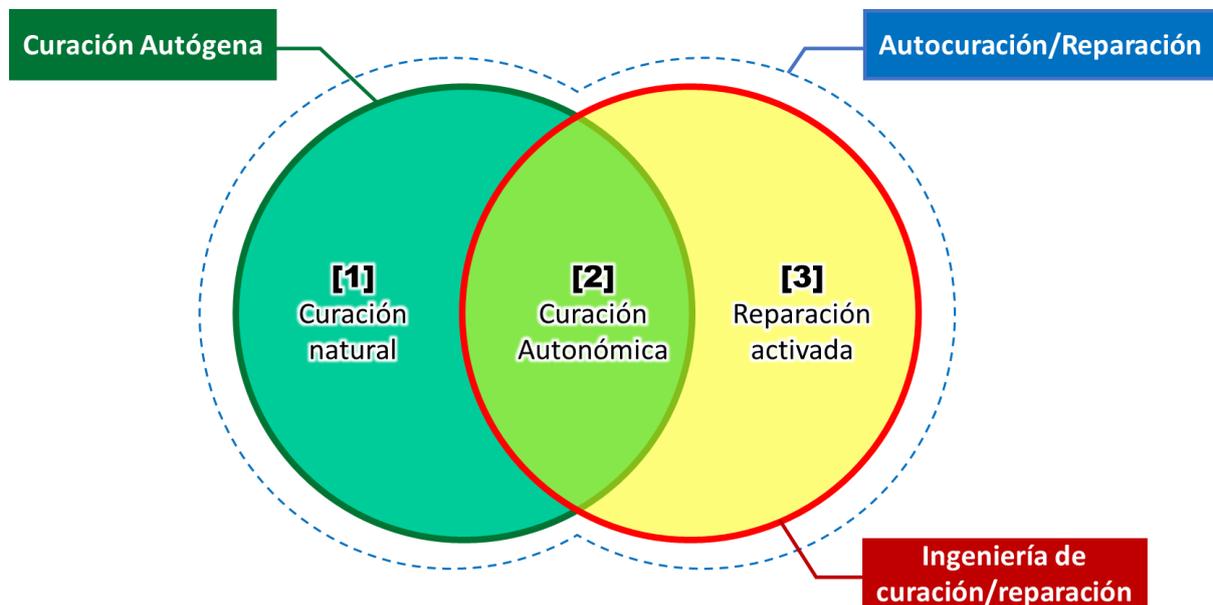
2.5. Componente de variable dependiente

2.5.1. Autoreparación/autocuración del concreto

Los métodos para solucionar problemas relacionados con las grietas en el hormigón se dividen en tratamiento pasivo y tratamiento activo. Los tratamientos pasivos sólo pueden reparar grietas y desgarros superficiales, mientras que los métodos activos pueden reparar grietas y desgarros tanto externos como internos.

Para aumentar la durabilidad del hormigón y evitar la penetración de sustancias agresivas en el interior, se puede utilizar el procesamiento manual, cubriendo el exterior con sustancias químicas y a base de polímeros. También puedes rociar o espolvorear selladores sobre las grietas visibles. Estos selladores generalmente consisten en productos químicos como resinas epoxi, caucho clorado, ceras, acrílicos y poliuretanos.

Figura 14
Definición de autocuración/repación de concreto



Nota: Clasificación y diagrama de Venn de la autocuración/repación de fisuras. (Igarashi et al., 2009).

Algunas limitaciones de estos tratamientos son su comportamiento variable a las acciones del medio ambiente, los cuales se incrementan por las contracciones y dilataciones del concreto, aumentando también el costo (Igarashi et al., 2009).

Las curaciones/repaciones activas, también llamadas autoreparación, se divide en tres tipos: la reparación autógena o natural, la curación autónoma y la reparación activada (Figura 14).

2.5.2. *La autoreparación autógena o natural*

Esta trata de la capacidad que tiene para llenar, rellenar y formar un sellado de las grietas y poros del concreto de manera espontánea, es una cualidad inherente del concreto. Se produce mediante la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas en la fase de curado, debido, al bloqueo de la trayectoria de flujo por las impurezas del agua, y, por la formación de cristales de calcita (Huang et al., 2016). La reacción de carbonatación se basa en el principio de que el

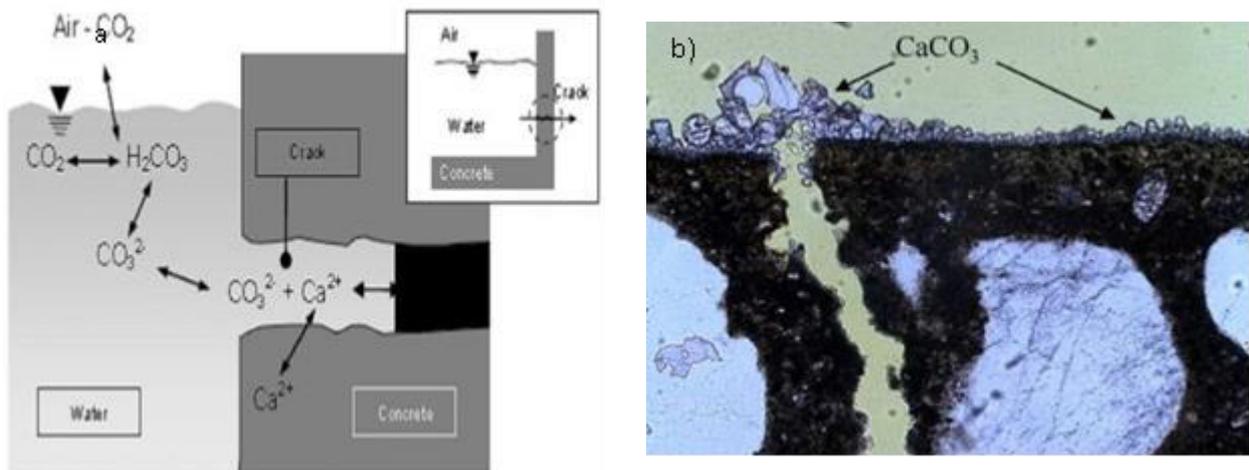
dióxido de carbono sumergido en el ambiente y los residuos de la reacción química durante el endurecimiento del hormigón reaccionan con el hidróxido de hidróxido para obtener carbonato de calcio. agua o humedad del ambiente como se puede ver en la siguiente ecuación:



Este fenómeno ocurre cuando el CO_2 del aire se disuelve conjuntamente con las partículas de agua (Ecuación 2-2), y los iones CO_3^{2-} se disuelven en las grutas cerca de los iones de calcio del concreto Ca^{2+} , posteriormente se crea la reacción y se precipita el carbonato de calcio $CaCO_3$, que repara las grietas y fisuras del concreto. Ecuaciones (2-2) y (2-3). (Ver Figura 15)



Figura 15
Autoreparación autógena y precipitación de $CaCO_3$



Nota: a) Autoreparación autógena debido a la precipitación del carbonato de calcio en presencia de agua y CO_2 disuelto. b) Precipitación de $CaCO_3$ encontrada en la superficie de la grieta. (Nishiwaki, et al.2012).

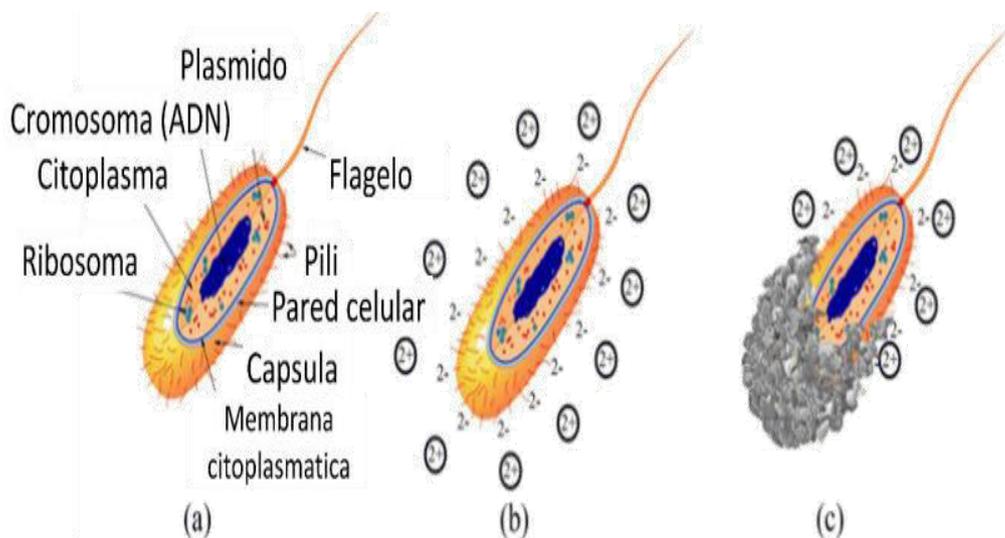
2.5.3. Autoreparación autónoma del concreto con bacterias

En diferentes artículos se menciona una variedad de bacterias que utilizan biohormigón. Comparten el término biomineralización, es decir, microorganismos que pueden producir nanopartículas de carbonato de calcio como subproducto de su metabolismo. (Ver Figura 16) (Alshalif et al., 2016)

El bioconcreto tiene tres componentes: microorganismos capaces de MICP, nutrientes e iones de calcio que forman materiales cementosos (Achal et al., 2016).

El mecanismo de autocuración/repación en las estructuras de concreto se basa en la utilización de bacterias del género *bacillus*, que mediante un proceso metabólico es capaz de inducir la precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3), lo cual sella grietas y fisuras. (Hammes y Verstraete, 2002)

Figura 16
Diagrama esquemático de biomineralización



Nota: a) Estructura de la bacteria. b) Presencia de cargas negativas en la pared celular y presencia de cargas positivas en el mineral del ambiente. c) Producción del biomineral y sus medios de unión a la pared celular. (Producción de carbonato de calcio en el cuerpo de concreto) (Alshalif, et al.2016).

La formación de minerales impulsada biológicamente suele cambiar el medio ambiente como un efecto incontrolado producto del metabolismo de las bacterias. El cuerpo de las

bacterias y diagrama esquemático de la formación de carbonato de calcio se pueden observar en la Figura 16, La precipitación del mineral se produce mediante la fusión exitosa de los iones cargados positivamente y las cargas negativas situadas en la pared celular (Seifan et al., 2016)

En la Figura 16 vemos el diagrama esquemático de biomineralización (Seifan et al., 2016) a) Estructura de la bacteria. b) Presencia de cargas negativas en la pared celular y presencia de cargas positivas en el mineral del ambiente. c) Producción del biominerales y sus medios de unión a la pared celular. (Producción de carbonato de calcio en el cuerpo de concreto).

2.5.3.1. Procesos químicos en la biomineralización del carbonato de calcio

Se dice que la precipitación de carbonato de calcio es una reacción de bacterias en medios concentrados. El primer producto sólido cubre la superficie del cuerpo bacteriano y se fusiona para formar una capa sólida. Todas estas pequeñas partículas se combinan para formar una estructura "precrystalina". Estas estructuras van creciendo y progresivamente muestran estructuras cristalinas (Castanier et al., 1999).

De acuerdo con el ítem anterior, se ha establecido la necesidad de incorporar calcio en el ambiente de la bacteria para provocar la producción de carbonato de calcio (CaCO_3). Hay muchas fuentes diferentes de calcio o nutrientes que las bacterias utilizan en la autocuración del hormigón. Se pueden identificar acetato de calcio, lactato de calcio, formiato de calcio, nitrato de calcio, etc. Comparamos agentes autocurativos producidos por bacterias con tres fuentes de calcio: lactato, formiato y nitrato de calcio. A continuación, se detallan las reacciones químicas para la biomineralización del carbonato de calcio proporcionando:

- a) Mediante lactato de calcio. La conversión metabólica bacteriana mediante lactato de calcio $Ca(C_3H_5O_2)_2$, se produce mediante la reacción (2-4), proceso en el cual las bacterias actúan solo como catalizadores.



Se observa que, una molécula de lactato de calcio $Ca(C_3H_5O_2)_2$ reacciona con 7 moléculas de (O_2), lo que produce cinco moléculas de dióxido de carbono ($5CO_2$), cinco moléculas de agua (H_2O) y una molécula de carbonato de calcio ($CaCO_3$). (Jonkers et al., 2010)

- b) Mediante acetato de calcio. Otra vía de producción de carbonato de calcio es mediante la conversión del acetato de calcio en carbonato de calcio, de acuerdo con las reacciones siguientes:



Una molécula de acetato de calcio reacciona con cuatro moléculas de dióxido, resultando 2 iones de calcio, más cuatro moléculas de dióxido de carbono, más dos moléculas de agua, y dos moléculas de ion hidróxido, reacción (2-5). Del resultado se produce la reacción de una molécula de dióxido de carbono más una molécula de ion hidróxido, resultando una molécula de ion hidróxido de carbonato, reacción (2-6). Finalmente, dos moléculas de ion hidróxido de carbonato se unen con dos iones de calcio, dando como resultado, una molécula de dióxido de carbono más una molécula de agua y una molécula de carbonato de calcio, reacción (2-7) (Jonkers et al., 2010), de otro lado, de acuerdo a los mismos autores, la precipitación del carbonato de calcio se ha investigado extensamente

tanto en entornos naturales como en laboratorios en condiciones definidas, sin embargo, los mecanismos exactos de precipitación permanecen sin resolver.

2.5.4. Factores que afectan la autoreparación del concreto

2.5.4.1. Concentración de bacterias

Las concentraciones elevadas de células bacterianas, de 10^6 Células/ml a 10^8 células/ml, incrementan la cantidad de precipitación de calcita por MICP, a través de aumentos en la concentración de ureasa para la hidrólisis de urea, Por tanto, la hidrólisis de urea tiene una relación directa con las concentraciones de células bacterianas (Okwadha y Li, 2010).

Las células bacterianas sirven como sitios de nucleación para la precipitación de CaCO_3 , porque la disponibilidad del sitio de nucleación y un entorno alcalino es muy importante para las precipitaciones de calcita (Stocks et al., 1999).

Los estudios de la Universidad de Ghent, revelaron que la concentración de bacterias debería ser superior a 10^6 células/ml para obtener una cantidad considerable de precipitación de carbonato de calcio (Tziviloglou et al., 2016).

No se ha logrado definir con claridad la cantidad óptima de bacterias que se deben insertar en la mezcla. Según algunos autores con altas concentraciones de bacterias (6×10^8 esporas por cm^3) la resistencia a la compresión puede disminuir hasta en un 10%, lo cual traería más desventajas que beneficios a la aplicación de bacterias en el hormigón (Jonkers y Schlangen, 2008).

En consecuencia, en virtud de los resultados al respecto, los experimentos consideran diferentes concentraciones de bacterias con el objeto de obtener la más eficiente autoreparación del concreto, lo cual será considerado en la investigación.

2.5.4.2. Condiciones de temperatura

Referente a la temperatura para la producción de carbonato de calcio (Fujita, 2011) investigaron la velocidad cinética de la ureasa y la dependencia de la temperatura para la precipitación ureolítica de Ca CO_3 por el *B. pasteurii* cuando la temperatura aumentó de 10 y 20 °C, la actividad de la ureasa aumentó 10 veces. De otro lado, cuando la temperatura se incrementó de 15 a 29 °C, la actividad de ureasa se incrementó 5 veces.

Las mayores reacciones enzimáticas, como la hidrólisis de urea por ureasa dependen de la temperatura óptima que favorece los rangos de hidrólisis de la ureasa, se encuentra entre 20 y 37 °C (Okwadha y Li, 2010), Sin embargo, las reacciones enzimáticas para una producción óptima están influenciadas por el medio ambiente. condiciones y la concentración de reactivos en el sistema (Anbu, 2016).

Los experimentos en laboratorio son efectuados para diferentes temperaturas en las que tratan de obtener valores con mejor rendimiento en comportamiento mecánico e hidráulico.

La humedad a la cual se someten las probetas en laboratorio generalmente es dos: Un grupo de especímenes son sumergidos durante todo el experimento, y otro grupo es sometido a condiciones intermitentes de sumergido y al aire. De igual forma tratando siempre de encontrar las condiciones para lograr el mejor resultado.

2.5.4.3. Condiciones de humedad para la autoreparación

La presencia de agua es fundamental para que precipite el carbonato cálcico. El agua despierta a las bacterias de su estado latente, inicia el proceso de formación de calcita y reacciona con la difusión de oxígeno para provocar reacciones de oxidación. Sin embargo, desde un punto de vista práctico, no todas las estructuras de hormigón pueden sumergirse en agua. Esto significa que el agua se mezcla a mano para permitir que las

bacterias reparen las grietas y el hormigón pierde su sensación de autocuración. Los materiales deben utilizar el agua disponible en el entorno de manera que no sea necesaria la intervención humana. Puede mojarse o llover.

A modo de simular esta situación se sometió a los especímenes con el agente de autoreparación a tres condiciones: totalmente sumergidos (Water curing), a ciclos de mojado secado, en donde se mantuvieron 12 horas sumergidos en agua y 12 horas fuera (*Wet-dry cycles curing*), y un tercer grupo en que estuvo en un ambiente con una humedad relativa del 90% (Wet curing).

2.5.4.4. Influencia de los nutrientes

Dado que los nutrientes son la principal fuente de energía para las bacterias, es muy importante proporcionar nutrientes adecuados y suficientes para las bacterias productoras de calcita. Los nutrientes se suministran a las bacterias durante la etapa de cultivo y la etapa de colado o tratamiento del hormigón según la aplicación específica. Los nutrientes comunes para las bacterias incluyen CO₂, N, P, K, Mg, Ca y Fe (Mitchell y Santamarina, 2005).

Rodriguez et. al. (2012) observaron una eficiencia reducida de la deposición de carbonato de calcio con una precipitación de carbonato bacteriano muy rápida y también observaron que los cristales romboédricos de calcita mostraron un efecto de consolidación muy bueno en comparación con los pequeños cristales de calcita. Se han realizado numerosas investigaciones sobre la precipitación de calcita utilizando diferentes fuentes de calcio como el cloruro de calcio, lactato de calcio, glutamato de calcio, acetato de calcio, y nitrato de calcio. Se ha informado que el lactato de calcio es una buena opción porque comienza a disolverse durante el proceso de mezcla y no

interfiere con el tiempo de fraguado del concreto (Jonkers & Schlangen, 2008). Sin embargo, el cloruro de calcio como fuente de calcio no es ideal porque los iones de cloruro pueden ser dañinos para el refuerzo del hormigón

A pesar de ello, se necesitan más estudios para identificar los efectos de los diferentes tipos de nutrientes y productos metabólicos utilizados para el crecimiento de microorganismos calcificantes y su influencia en la supervivencia, el crecimiento, la biopelícula y la formación de cristales.

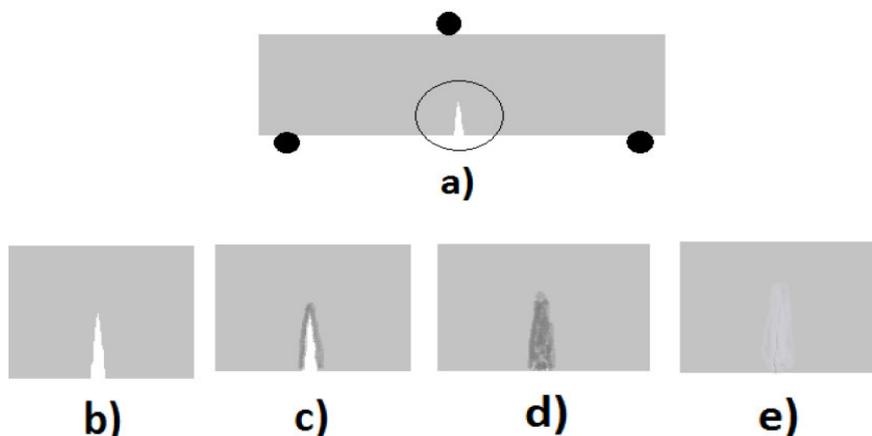
2.5.5. *Mecanismo de los materiales auto reparadores experimentales*

Como condición previa, es fundamental contar con la presencia de un componente fluido (agua) dentro del sistema para poder iniciar una acción de autoreparación en un material (Zwaag, et al., 2010).

El proceso de autoreparación de diferentes materiales artificiales como metales, cerámica, polímeros, materiales compuestos, etc. se basa en el mismo principio general común y conceptos implícitos, incluso si tienen propiedades y características intrínsecas diferentes. La Figura 17, se muestra los principios básicos comunes de las propiedades de autoreparación de diferentes clases de materiales. El procedimiento paso a paso es el siguiente (Hager, 2010):

Figura 17

Principios básicos comunes de los materiales autorreparables



Nota: (a) la mecánica la carga induce una grieta; (b) vista de la grieta; (c) se induce una "fase dinámica"; (d) cierre del crack por la "fase móvil"; (e) inmovilización después curación. (Hager, 2010).

- a) Como etapa inicial, se forma una grieta en el material debido a la carga mecánica u otra causa, como se muestra en la Figura 17 (a)(b).
- b) De acuerdo con el principio general de mecanismos de agrietamiento, se genera una “fase dinámica” como se muestra en la Figura 17 (c), que se desencadena por la ocurrencia de un daño o por estímulos externos. En consecuencia, el transporte del agente reparador tiene lugar hacia el sitio dañado y, el daño se puede eliminar como se muestra en la Figura 17 (d). Esto se logra mediante interacciones físicas o enlaces químicos en la sección dañada. Una vez que se produce la reparación con propiedades mecánicas restauradas, el material previamente dinámico se inmoviliza nuevamente, como se muestra en la Figura 17 (Hager, 2010).

2.5.6. Condiciones para la autoreparación

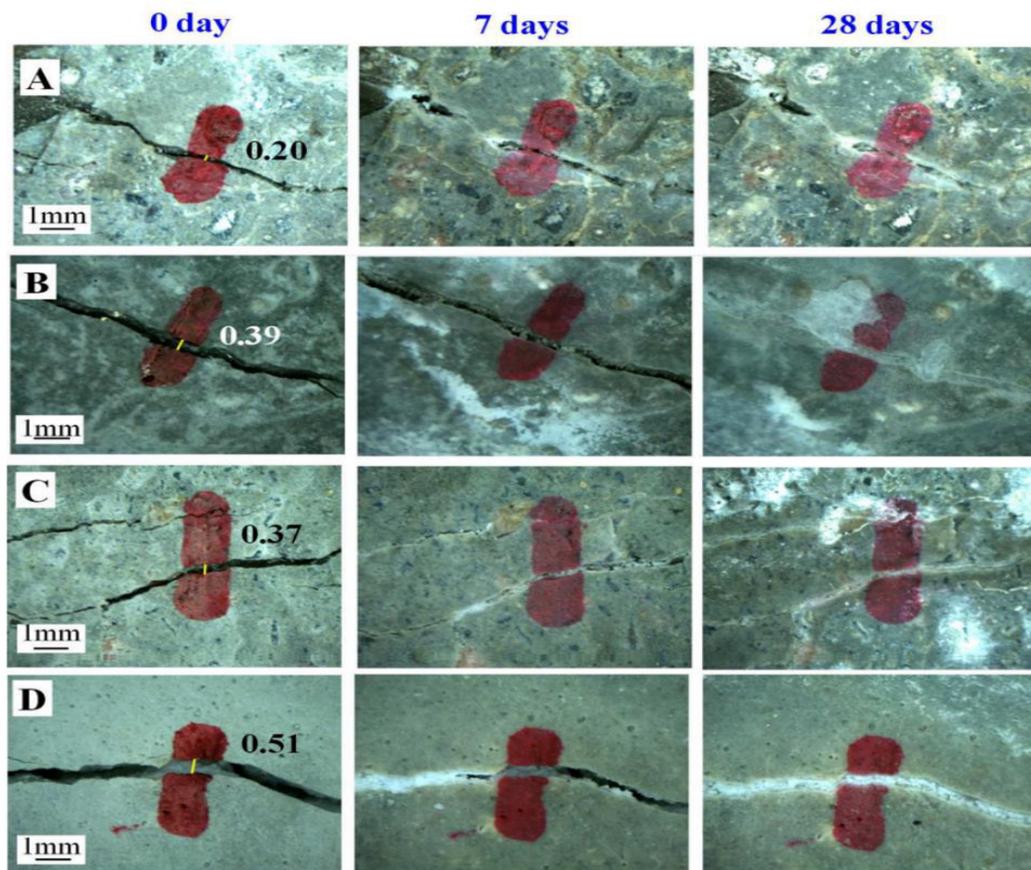
Del estudio y análisis de la literatura para asegurar la autoreparación, se deben cumplir cinco criterios generales. Estas condiciones necesarias para que ocurra la reparación de las grietas se detallan a continuación:

- a. Presencia de agua: Todos los estudios realizados hasta el momento indicaron que la presencia de agua es fundamental para facilitar la reparación de las grietas (Qian, 2010).
- b. Presencia de especies químicas: las concentraciones adecuadas de ciertas especies químicas críticas, esencialmente iones de carbonato o iones de bicarbonato e iones de calcio disueltos libres, juegan un papel importante para exhibir mecanismos de reparación (Zwaag, 2007).
- c. Ancho de la grieta: el ancho de la grieta controlado es otra condición. En realidad, está asociado con la eficiencia de la reparación en materiales cementosos. El ancho de la

grieta para diferentes condiciones de reparación cae por debajo de $150\ \mu\text{m}$ y preferiblemente por debajo de $50\ \mu\text{m}$ (Yang, 2009).

- d. Presión del agua: la autoreparación no ocurrirá si el agua fluye rápidamente a través de la grieta. Por lo que la altura de carga de agua no debe ser demasiado grande y para un cierto ancho de fisura, esta condición está influenciada por la relación entre la altura del agua y el espesor de la estructura (Schlangen, 2006).
- e. Grieta estable: Para garantizar que una grieta no se deteriore nuevamente, la grieta debe estar en una condición estable y el ancho de la grieta debe mantenerse constante o variar muy lentamente con el tiempo (Zhanga et al., 2017). En la Figura 18, se aprecia el sellado de grietas.

Figura 18
Evolución de autocurado de grietas



Fuente: (Zhanga, et al. 2017) Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete.

2.5.7. *Comportamiento mecánico del bioconcreto*

En los últimos años se han propuesto varios métodos para la evaluación de la autocuración. Además del método específico utilizado en cada grupo de investigación, se han realizado algunos esfuerzos internacionales hacia la estandarización, en el contexto del comité RILEM (TC 221-SHC activo de 2005 a 2013). Sin embargo, hasta la fecha, no se han publicado estándares para probar la autocuración en hormigón.

Figura 19

Máquina universal para prueba de flexión que genera grietas medias



Nota: Máquina universal para prueba de flexión de tres puntos con velocidad de deformación controlada utilizada para generar una grieta en el medio de las muestras. (Souid, 2019).

El comportamiento a la flexión de los materiales concreto de base biológica fue evaluado por Sierra (2014). Después de agrietar y curar, las mezclas con agente curativo con componente biológica muestran una recuperación ligeramente mejor tanto la resistencia a la flexión como la capacidad de deflexión de las mezclas de control sin agente curativo de base biológica.

2.6. Base Filosófica

Históricamente, el diseño de estructuras de hormigón se ha basado en la resistencia mecánica. Estos recursos nos permitieron tener una estructura que soportaba adecuadamente nuestra carga de servicios. Sin embargo, se han identificado problemas relacionados con el entorno en el que se ubica la estructura. Era necesario estudiar las causas del desgaste y resolver problemas prácticos. Surgieron varias preguntas: ¿Cómo prevenir daños al hormigón? ¿Cómo se elimina la corrosión? ¿Cómo conseguir hormigón duradero? ¿Cómo podemos construir puentes o pavimentos que resistan satisfactoriamente condiciones agresivas? ¿Cómo se pueden evitar los costos de mantenimiento regular en estructuras marinas o en ambientes agresivos? ¿Cómo se crean suelos industriales que resistan cargas extremas? De ahí se derivó el interés de estudiar la relación y los factores que interactúan entre el concreto y su entorno; la rama de la tecnología del concreto que resuelve estos problemas prácticos es la durabilidad del concreto (Hernández y Mendoza, 2005). En este contexto, gran parte de las patologías tienen que ver con el agrietamiento del concreto.

La alternativa de emplear esporas bacterianas encapsuladas para curar grietas en concreto, resulta prometedora, por un lado porque las bacterias están en todas partes y su producción industrial será asequible más aún si se tiene en cuenta que las bacterias que se usan son inocuas, de otro lado la producción de material para el encapsulado es también accesible e incluso actualmente es usado en otros sectores como la agricultura, finalmente porque las esporas pueden estar latentes por mucho tiempo y solo requieren de humedad. En consecuencia, por todas las razones expuestas se justifica el uso de bacterias encapsuladas como una tecnología novedosa y efectiva.

La necesidad de profundizar en el conocimiento del concreto, componentes y adiciones como en el presente caso bacterias del género bacilo como variable independiente y la

reparación automática de grietas producto de fenómenos biológicos como variable dependiente, surge de la necesidad que tiene el investigador en analizar a fondo como ocurre mediante explicaciones científicas debidamente sustentadas, teniendo en cuenta que el hombre recién empieza a conocer los secretos de la naturaleza con ayuda de equipos que permiten conocer el funcionamiento a nivel molecular y atómico.

2.7. Estado de Arte

Adolphe et al. (1990) son los pioneros en la incorporación de la precipitación de carbonato de calcio para la restauración de superficies de piedra ornamental. Obtuvieron la patente de esta técnica conocida como “bioconcreto de calcita o biodeposición”, y esta patente caducó en 2010. Hoy en día, este biomaterial se conoce como bioconcreto. El bioconcreto se puede definir como el hormigón preparado mediante la adición de bacterias con capacidad de precipitación inducida de carbonato cálcico (MICP), y ayuda a sellar las grietas que aparecen en el mismo, lo que se caracteriza por ser una propiedad de autoreparación

Así, el bioconcreto se considera una de las tecnologías más ecológicas y económicas para disminuir emisiones de dióxido de carbono y el costo de mantenimiento, además, las reparaciones podrían minimizarse. El bioconcreto tiene tres componentes: microorganismos capaces de precipitar carbonato de calcio, nutrientes, e iones de calcio que forman materiales cementosos (Achal et al., 2015). El bioconcreto está ganando atención debido a su característica de autocuración y la mejora de las propiedades mecánicas y de durabilidad de las estructuras de hormigón. Varios estudios informaron la autocuración de grietas (< 0.5 mm) por *Bacillus cohnii*, *B. pseudofirmus*, *B. subtilis*, *B. alkalinitrilicus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Diaphorobacter nitroreducens* (Jonkers, 2007).

En las últimas dos décadas, la incorporación de un proceso metabólico bacteriano conocido como precipitación de carbonato de calcio inducida por microbios (MICP) ha surgido

como un método alternativo para reducir el costo y el impacto ambiental. La producción de bioconcreto se basa en la adición de bacterias con la capacidad de inducir la formación de minerales (biomineralización) a partir de la matriz del cemento. Este proceso se ve facilitado por la entrada de agua, dióxido de carbono y otras sustancias químicas como sulfato de calcio, acetato de calcio, entre otros (Achal et al., 2015), ayudan en cura y mejora las propiedades físicas y mecánicas de la estructura de concreto.

Wang (2014) informó que al encapsular bacterias en material cementoso de endurecimiento rápido y bajo álcali, el cemento de sulfoaluminato de calcio aumentó la relación de recuperación de la resistencia a la compresión y la estanqueidad al agua en un 84 y 50%, respectivamente, pero se encontró que la actividad ureolítica era menor en las esporas encapsuladas que en las esporas libres.

Fenga et al. (2021) informaron que el *Bacillus subtilis* M9 resistente a álcalis se aplicó para la prueba de biomineralización, en tanto que, el mineral precipitado fue carbonato de calcio en fase de calcita de acuerdo con los resultados de difracción de rayos X (XRD) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras de vigas de hormigón autorreparables se prepararon incorporando fibras de alcohol polivinílico, además se utilizó un agente incorporador de aire para producir microporos en la mezcla de pasta de cemento para suministrar nichos para los microbios. Se realizó una prueba de flexión de 3 puntos para formar grietas de 0.3 mm de ancho en el fondo de la viga. Luego después de 28 días de curado, las microgrietas se curaron de forma autónoma con rellenos de precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3) debido a la actividad metabólica de las bacterias.

En 2015, una pequeña parte de un canal de agua en Ecuador fue la primera construcción de concreto autorreparable en el campo utilizando agregados livianos que contienen un agente curativo bacteriano (Sierra et al., 2014). La sección transversal del canal tenía un tamaño de 1

× 1 m y un espesor de 100 mm, cinco meses después de la colada, no se detectaron signos de agrietamiento.

El hormigón autocurativo es un concepto que recientemente ha recibido mucha atención; por lo tanto, existen muchos grupos de investigación que actualmente se están enfocando en desarrollar materiales cementosos que puedan reparar grietas por sí mismos, y, en estas circunstancias las universidades peruanas tienen que iniciar a investigar este tema con el objeto de aportar a disminuir las emisiones de dióxido de carbono al medio ambiente, que un tema prioritario a nivel global.

2.8. Marco conceptual.

2.8.1. Influencia

El efecto, efecto o cambio que una cosa provoca en otra. (En este estudio, el efecto se define como: Efecto, consecuencia o cambio en el comportamiento del concreto endurecido y fisurado cuando está húmedo, como resultado de la adición de *Bacillus subtilis* durante la preparación de mezclas de concreto).

2.8.2. Bacteria

Las bacterias son procariotas unicelulares. Es decir, al no existir un núcleo celular diferenciado por membrana, su material genético se distribuye libremente en el citoplasma. Tienen un tamaño que puede ir entre 0.5 y 5.0 μm de longitud, estos seres vivos son los más abundantes del planeta y puede presentar diversas formas: filamentos, esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios) y hélices (espirilos) (Tortora et al., 2007).

2.8.3. *Bacillus subtilis*

El *Bacillus subtilis*, fue una de las primeras bacterias estudiadas, 1972, también se conoce como bacilo de heno o bacilo de pasto (Joshi et al., 2016).

Se ha encontrado que resiste el ambiente hostil del concreto, puede tolerar hasta 80°C a partir de la formación de endospora, ofrece resistencia contra PH alto, puede permanecer hibernada dentro del concreto por 200 años hasta que obtenga el ambiente adecuado, y, el nutriente a base de peptona añadidos junto con contenido bacteriano mejora la producción de calcita. (Meera y Cheriyan, 2016).

Además, por abundar en cultivos sobre los 4,000 m s.n.m., y, por ser no ureolítica no daña al refuerzo del concreto.

2.8.4. *Precipitación del carbonato de calcio (CaCo₃) por bacterias*

La formación de minerales biológicamente controlada a menudo altera el medio ambiente debido a los efectos incontrolados del metabolismo bacteriano. El cuerpo de las bacterias y el esquema de formación del carbonato de calcio. La precipitación del mineral se produce mediante la fusión exitosa de los iones cargados positivamente y las cargas negativas situadas en la pared celular (Seifan et al., 2016).

2.8.5. *Concreto*

Son conglomerantes hidráulicos, esto es, materiales artificiales de naturaleza inorgánica y mineral, que finamente molidos y convenientemente amasados con agua forman pastas que fraguan y endurecen a causa de las reacciones de hidrólisis e hidratación de sus constituyentes, dando lugar a productos hidratados mecánicamente resistentes y estables, tanto al aire como en el agua (Yepes et al., 2009).

2.8.6. *Grietas*

Las grietas, ocurren cuando se sobrepasa el límite de resistencia a la tracción del concreto, este tipo de patología, se relacionan frecuentemente con un fácil acceso de sustancias y soluciones de carácter agresivo, que, al ingresar en la matriz del concreto, afecta incluso a sus componentes estructurales, trayendo consigo graves problemas relacionados con el deterioro de la estructura (Abou et al., 2001).

2.8.7. Autoreparación

El mecanismo de autocuración/reparación en las estructuras de concreto se basa en la utilización de bacterias del género *bacillus*, que mediante un proceso metabólico es capaz de inducir la precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3), lo cual sella grietas y fisuras. (Hammes y Verstraete, 2002). Y, como consecuencia del sellado de grietas, se produce una recuperación de la resistencia mecánica del concreto.

Para el presente estudio, la autoreparación tiene dos componentes: El sellado de grietas, y la resistencia a la compresión.

2.8.8. Biomineralización

Es la formación de minerales biológicamente controlada, a menudo altera el medio ambiente con efectos incontrolados que son productos del metabolismo bacteriano. La precipitación de minerales se produce mediante la combinación exitosa de iones cargados positiva y negativamente que se encuentran en las paredes celulares. (Seifan, 2016).

2.8.9. Sellado autónomo

Es el sellado de grietas y fisuras del biohormigón producto del metabolismo de bacterias que produce carbonato de calcio. Comparten el término biomineralización, es decir, microorganismos que pueden producir nanopartículas de carbonato de calcio como subproducto de su metabolismo. (Alshalif, 2016)

2.8.10. Sellado autógeno

Se produce mediante la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas en la fase de curado, debido, al bloqueo de la trayectoria de flujo por las impurezas del agua, y, por la formación de cristales de calcita (Huang et al., 2016)

III. MÉTODO

3.1. Tipo y nivel de la investigación

- **De acuerdo con el propósito y la orientación**

El presente estudio, de acuerdo con el propósito es pura o básica, y de acuerdo con la orientación corresponde a una investigación cuantitativa.

- **De acuerdo con el tipo de fuente de recolección de datos**

La investigación será documental, la base de datos será obtenida de artículos de investigación que contenga resultados experimentales referidos a reparación de grietas mediante la inclusión de bacterias.

- **De acuerdo con la direccionalidad**

El presente estudio es retrospectivo, debido a que la información se obtendrá de los artículos publicados en revistas indexadas, y es transversal porque los especímenes o unidades de control han sido medidas una sola vez.

- **De acuerdo con la cantidad de variables por analizar**

El presente estudio es analítico, debido a que cuenta con más de dos variables por analizar y evaluar, los cuales serán estudiados en cada uno de los artículos publicados en revistas indexadas, que nos darán una idea clara de las características alcanzadas por el concreto en estudios diferentes, pero con objetivos semejantes al presente, esto nos ayudará a generar las conclusiones.

- **De acuerdo con el nivel de la investigación**

El presente trabajo de investigación corresponde al nivel de investigación correlacional-predictivo. La investigación analizará la relación de variables independientes y dependientes de resultados experimentales correspondientes a la autoreparación de grietas, y predictivo, porque se analizará el comportamiento futuro en base a información actual.

- **Diseño de la investigación**

El diseño de la presente investigación es no experimental y documental. Teniendo en cuenta el propósito de la investigación que es: Determinar la influencia de la adición de bacterias *Bacillus Subtilis* en la autoreparación del concreto, previa una revisión, se seleccionó 19 artículos de revistas indexadas, que contenga información referida a las variables de estudio además cumpla con los siguientes requisitos:

- Los estudios experimentales seleccionados, deben ser reproducibles.
- Las variables de estudio deben estar de acuerdo con el propósito de la investigación, y deben ser continuas,
- Los experimentos reportados en los artículos de investigación deben contener, grupo de control y grupo experimental.
- Mediante el análisis de la información, se planteó:
 - Evaluar la información de diversos estudios primarios, que permitan analizar la consistencia de los resultados.
 - Integración de los estudios, y la posterior obtención de información global de los resultados aportados por cada uno de ellos.
 - Incrementar el poder y la precisión de estimación, así como la consistencia y generalización de los resultados.

3.2. Población y muestra

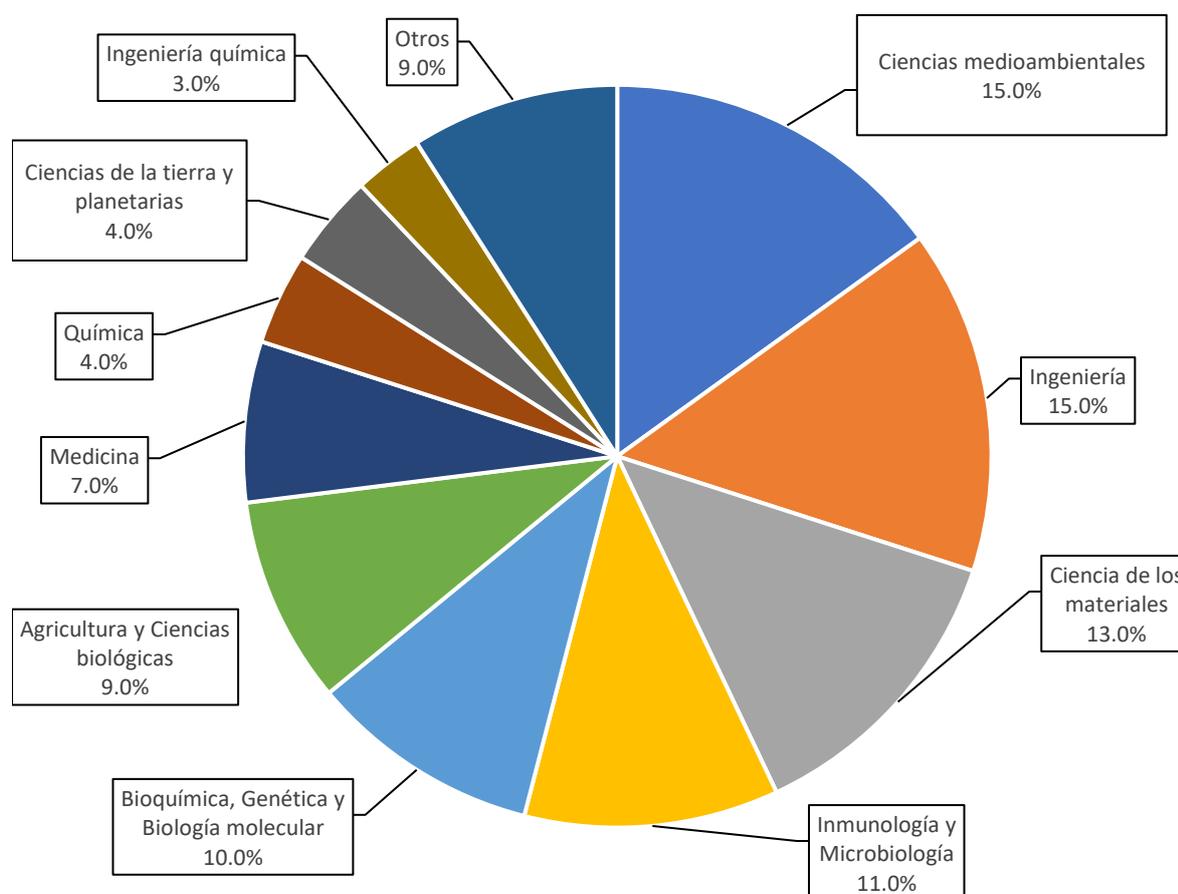
Población. La población para la presente investigación está conformada por todas las unidades de estudio de especímenes experimentales, realizados en relación con la autoreparación del concreto con adición de *Bacillus subtilis*, extraídos de 19 Artículos de Investigación seleccionadas de revistas indexadas.

Para este propósito, se ha realizado una búsqueda de artículos científicos

relacionados con la adición de bacterias al concreto, y se obtuvo 223 Artículos orientados a diferentes especialidades de ingeniería y biología que estudian el tema de bioconcreto, Figuras 20 y 22, seleccionando 150 registros para estudio específico, en base a la proyección (Figura 21) de trabajos al 2023.

Figura 20

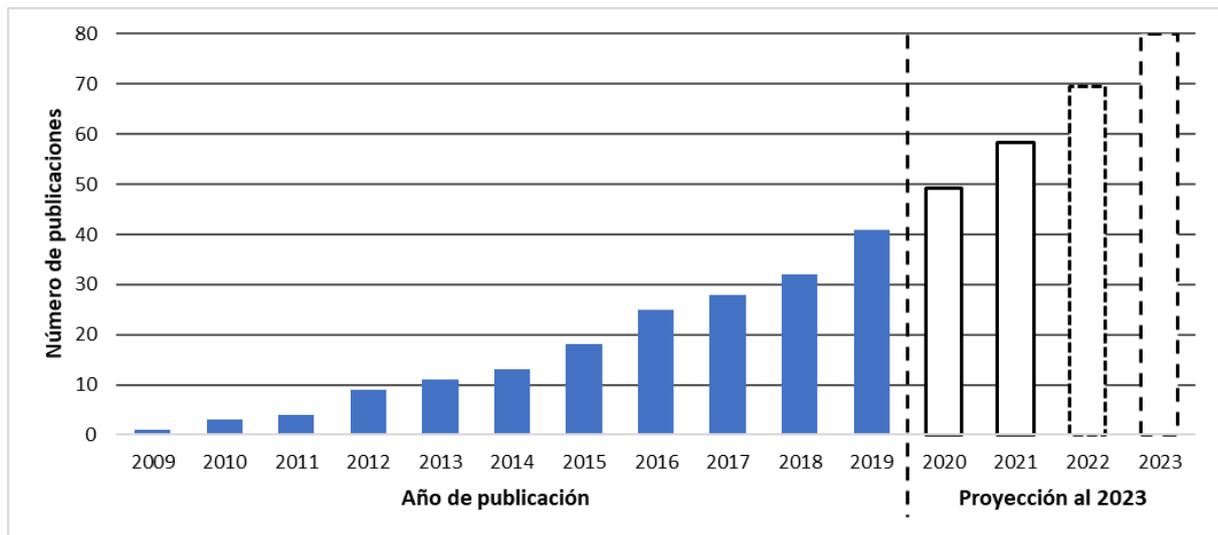
Distribución de publicaciones en el campo del hormigón autocurativo



De esta cantidad, 111 artículos tienen título y contenido referidos a reparación de grietas en diferentes aplicaciones de obras de infraestructura, y, finalmente, luego de análisis exhaustivo fueron 19 los artículos seleccionados que contienen información sobre autoreparación de grietas del concreto con adición de bacteria *Bacillus subtilis* como agente reparador, como se aprecia en la Figura 22. Se presentan diversos reportes de la información verificada.

Figura 21

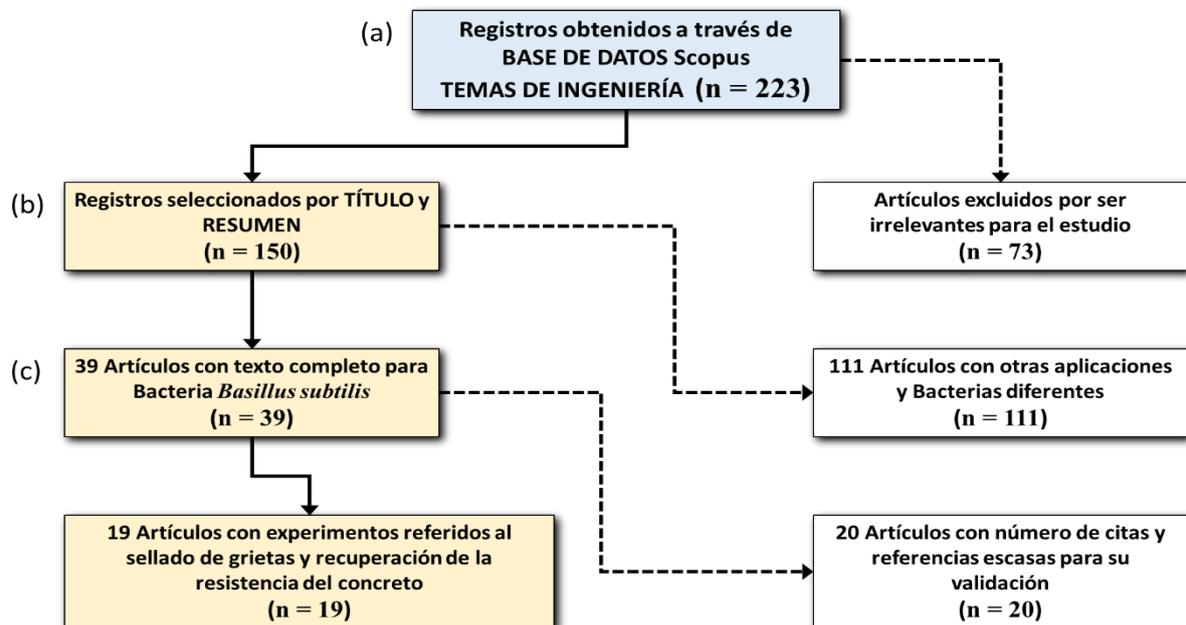
Publicaciones en el campo del hormigón autocurativo a base de bacterias



Fuente: Adaptado y proyectado en base al trabajo de (Rajczakowska et al., 2019).

Figura 22

Relación de las fuentes de referencia utilizadas en el estudio



Nota: (a) Fuente: Scopus, a 10 de julio de 2017 (palabras clave que aparecen en el título, resumen y palabras clave: "Bacteria + Concreto"); (b) Artículos publicados en revistas sobre hormigón bacteriano desde 2001; (c) Secuencia de selección de 19 Artículos para el estudio.

Por lo que la rigurosidad del estudio esta basado en la cantidad de investigaciones analizadas y descartadas.

Tamaño muestral

- El muestreo es por conveniencia, además, no probabilístico y no aleatorio. La técnica es utilizada para crear muestras de acuerdo con la facilidad de acceso, y la disponibilidad de documentos que contengan información para formar parte de la muestra.
- El tamaño de la muestra en el presente estudio corresponde al 100 % de la población seleccionada (223 artículos), y serán motivo de análisis los especímenes experimentales estudiados en los 19 artículos de investigación seleccionados.

3.3. Operacionalización de variables.

Título: “Influencia de la adición de bacterias *Bacillus Subtilis* en la autoreparación de grietas del concreto”.

Tabla 3

Operacionalización de variables

OBJETIVOS	Variables Principales			
	Variables independientes		Variable dependiente	
	X: Adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> encapsulada y no protegida		Y: Autoreparación del concreto	
	Dimensiones de X		Dimensiones de Y	
Objetivo General Evaluar la influencia de la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> protegidas y no protegidas a la mezcla de concreto, en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la prestación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana a través de un análisis documental de experimentos.	Mezcla de concreto (Hormigón o Mortero), con adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> encapsulada, o sin protección.		Y1: Relleno de grietas Y2: Propiedades mecánicas.	
	Indicadores de X	Valor final de X	Indicadores de Y	Valor final de Y
	X1: Concentración de bacterias B, <i>Subtilis</i> . X2: Agente precursores En % del peso de cemento. X3: Relación agua/cemento X4: Relación cemento agregado X5: Tiempo de curado	Cel/mM % Coeficiente Coeficiente Horas	Y1: Ancho de relleno de grietas. Y2: Variación de resistencia a compresión.	μm %
Objetivo 1	Evaluar la influencia del tipo de mezcla en el auto sellado autónomo y autógeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente.			
Objetivo 2	Evaluar la influencia de la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo			

	de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
Objetivo 3	Determinar la influencia de la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> aplicadas directamente a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas, debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
Objetivo 4	Determinar en qué proporción el auto sellado autónomo debido a la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, mejora respecto al auto sellado autógeno de grietas debido a la precipitación de CaCO_3 .
Objetivo 5	Evaluar de qué manera influye la temperatura de curado en el autosellado autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO_3 debido a la actividad metabólica bacteriana.
Objetivo 6	Evaluar la influencia del tipo de mezcla en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.
Objetivo 7	Evaluar de qué manera influye la adición de bacterias <i>Bacillus subtilis</i> aplicadas a la mezcla de concreto, en la variación de la resistencia a la compresión.

3.4. Instrumentos

En la presente investigación, el instrumento son los 19 artículos, seleccionados luego de un detallado estudio y evaluación, estos artículos, son producto de investigaciones experimentales efectuadas por universidades y entidades de reconocido prestigio, deben estar publicadas en revistas indexadas. Además, el instrumento que se presenta en el Anexo-B, se sustenta con:

- Título y nombres de autores del artículo.
- Centro de investigación, lugar y fecha.
- Número de citas y referencias de la revista, y número de publicaciones del autor/autores.
- Resumen de la información relevante.

3.5. Procedimientos

El procedimiento que seguirá la presente investigación es la siguiente:

- a) Se seleccionará artículos referidos a investigaciones experimentales sobre autoreparación bacteriana de grietas en el concreto, las que deben contener

información sobre componentes del concreto e inclusión de bacterias encapsuladas de la especie *Bacillus subtilis*, y sus correspondientes nutrientes, temperatura y condiciones de curado, además los resultados: autosellado de grietas, resistencia a compresión.

- b) Se realizará un resumen de cada uno de los artículos utilizados para la creación de estas bases de datos.
- c) Se preparará una base de datos construida con resultados de ensayos experimentales obtenidos a partir de los artículos de acuerdo al cuadro de variables.
- d) Se homogeneizará las de unidades de datos. Los datos brutos recopilados de los artículos seleccionados, para su procesamiento deberán estar en las mismas unidades de medida.
- e) Se analizará los datos en dos etapas: La primera descriptiva, con el objeto de analizar tendencias y patrones de cada variable, y una segunda etapa inferencial, en búsqueda de relaciones causa efecto y tendencias del comportamiento del conjunto, usando como herramienta la estadística clásica.

A) Diseño de contrastación de las hipótesis

El diseño del contraste de una hipótesis está referido siempre a dos posibilidades, H_0 , denominado hipótesis nula, se refiere a los resultados entre los grupos son similares, y se traduce a la idea no hay efecto. Y de otro lado, una hipótesis alternativa o del investigador denotada por H_1 , que es la que se aceptará si se rechaza la hipótesis nula.

El procedimiento seguido para la contratación de la hipótesis, es la planteada por Fisher. Que consta de cinco pasos: plantear el sistema de hipótesis, establecer el nivel de significancia, elegir del estadístico de prueba, interpretación del p-valor calculado, y tomar una decisión estadística.

3.6. Análisis de datos

En base a las matrices de datos, se procedió a codificarlos, tabularlos y utilizar herramientas estadísticas para analizar los resultados, contrastar las hipótesis y establecer conclusiones. Todo lo mencionado será realizado en el software libre R. (R Core Team, 2021).

Para el procesamiento estadístico de la información obtenida, se comprobarán los supuestos de normalidad que son: la prueba de Shapiro wilks para determinar la normalidad de los datos ($p \text{ value} > 0.10$). Así como también se aplicará la prueba de Bartlett para determinar la homogeneidad de varianza ($p \text{ value} > 0.10$). De no cumplir estos supuestos se aplicará pruebas no paramétricas.

Para determinar las relaciones entre variables se aplicó la prueba no paramétrica de correlación de Spearman, debido a que los datos no presentan normalidad, y se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, en virtud a que es una prueba robusta, en tanto los residuos no se distribuyeran con normalidad.

A) Análisis de artículos científicos

Para la presente investigación se ha considerado la cantidad de 19 artículos científicos analizados en forma detallada, en base a los cuales se analizarán los resultados propuestos, por lo que se presentan dichos artículos a modo de resumen.

Artículo 01: Síntesis y caracterización de aditivos nano/micro inertes y reactivos bioinmovilizados para investigar su viabilidad en hormigones autorreparables (Shaheen et al., 2019).

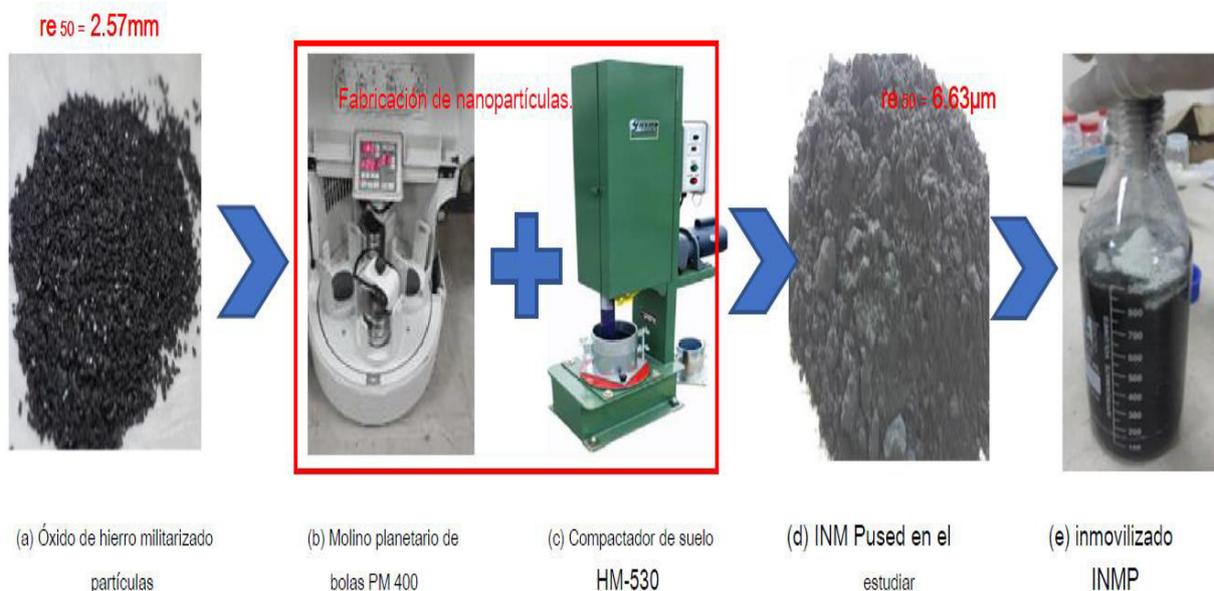
En este artículo, se analiza dos enfoques de introducción de esporas bacterianas *Bacillus subtilis* en la mezcla de concreto autocurativo mediante inducción directa e inmovilización, para determinar experimentalmente el sellado autónomo y autógeno de grietas. Además, para la evaluación de la inmovilización, se utilizaron dos medios, a saber: nano / micro partículas de óxido de hierro (INMP) y nano / micro partículas de bentonita (BNMP).

Los medios de inmovilización de las esporas *Bacilo Subtilis* en nano/micropartículas de óxido de hierro (INMP), se usaron como medios protectores para la intrusión de *B. Subtilis* dentro del concreto debido a su biocompatibilidad y fuerte capacidad de adsorción. La concentración de bacterias empleada en el experimento fue de $2,3 \times 10^8$ UFC/cm³, se usó como precursor lactato de calcio en 3.4 % del peso del cemento.

El concreto se diseñó para una resistencia de 28 Mpa, con relación agua/cemento de 0.40, relación cemento / agregado total de 0.244 y curado sumergido en agua a 25 °C durante 24 horas.

Muestra de control (CM) designó la formulación de referencia sin inclusión de bacterias, mientras que la Mezcla "A" contenía esporas de *B. subtilis* transmitidas a través del agua de mezcla. La mezcla "B" y la mezcla "C" también contenían microbios de *B. subtilis* inmovilizados en INMP y BNMP.

Figura 23
Fases involucradas en la síntesis de INMP



En el presente experimento, las muestras se precraquearon hasta el 85% de su resistencia a la compresión para obtener grietas medidas utilizando un microscopio HC-2950,

y analizar el rendimiento de autocuración. Las muestras pre agrietadas fueron sometidas a curado sumergido de 28 días durante el período de evaluación.

Los resultados de autocuración fueron: de 310 μm a 1,200 μm obtenido del promedio de tres réplicas, para la mezcla "B", de 150 μm a 440 μm obtenido del promedio de tres réplicas, para la mezcla "A" con adición directa de esporas bacterianas, y de 40 μm a 90 μm obtenido del promedio de tres réplicas, para la autocuración autógena de la muestra de control.

La variación de las resistencias a la compresión del concreto para tres réplicas, se calcularon a los 3, 7 y 28 días. Los resultados fueron: incremento en 15.6% de resistencia para la mezcla "B", disminución de la resistencia en 9.4% para la mezcla "C", e incremento en 8.1% para la mezcla "A", estos a los 28 días teniendo como referencia la muestra de control. Además, para controlar la eficiencia de la autocuración se emplearon, la microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), la difracción de rayos X (XRD), la fluorescencia de rayos X (XRF) y el análisis termogravimétrico (TGA).

A continuación, en la Tabla 4 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 4

Data del artículo 01 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido (micropartículas de óxido de hierro "INMP")	Protegido (micropartículas de óxido de hierro "INMP")	Aplicación directa
Suspensión para Bac: (cultivo Bacteriano) (L/m ³)	5.90	5.90	5.90
Concentración (bac/ml)	2.3*10E+8	2.3*10E+8	2.3*10E+8
Adición (L/m ³)	5.90	5.90	5.90
Componente Hormigón			
Relación agua: cemento (A/C)	0.40	0.4	0.4

Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.244	0.244	0.244
Nutriente: en % del peso de cemento (medio portador)	3.4	3.4	3.4
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	25	25	25
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24

	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Sellado de Grietas (μm)			
Pre-agrietado a los 3 días	110	-	80
Pre-agrietado a los 7 días	310	-	150
Pre-agrietado a los 28 días	1,200	90	440
muestra de control 28 días (CM)	90	90	90
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	15.6	9.4	8.1

Artículo 02: Fibra de celulosa como portadora de bacterias en mortero: Cuantificación de la autocuración mediante UPV (Singh, 2020).

Realizaron un estudio experimental de un mortero autocurativo con bacterias *Bacillus subtilis* inmovilizados en fibra de celulosa, que producen carbonato de calcio (CaO_3), los cuales se encargan de sellar las grietas producto de fuerzas de tracción o contracción del concreto. El sellado de grietas disminuye el flujo de agua u otros fluidos con lo cual se mejora la durabilidad del concreto, además mejora su resistencia a la compresión.

En este estudio se utilizó la cepa 168 de *Bacillus subtilis*, y cultivada en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Victoria, Canadá. La composición del medio utilizada para el crecimiento del cultivo bacteriano fue peptona 5 g/litro, NaCl 5 g/litro y extracto de levadura 3 g/litro. Y el cultivo fue incubado a 35 °C con agitación a 200 rpm durante 72 h.

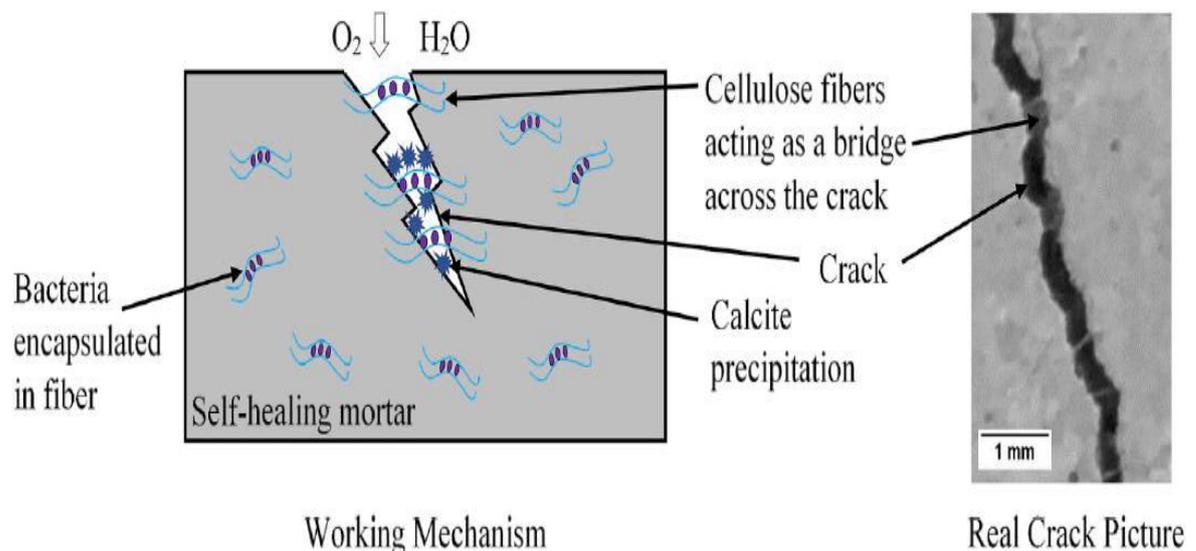
La capacidad de absorción de agua de las fibras de celulosa se encuentra alrededor del 85% valor considerado alto, hecho que mejora el curado interno y ayudando en el mecanismo de auto sellado, dado que las fibras de celulosa tienen una alta resistencia a los álcalis, protegen a las bacterias del ambiente alcalino del concreto y proporcionarían sitios de nucleación para la MICP.

Se designó la formulación de referencia sin adición de bacterias denominada muestra de control (CM), mientras que la Mezcla "A" contenía esporas de *B. subtilis* añadidas al agua de mezcla directamente. Las mezclas "B" y "C" también contenían *B. subtilis* inmovilizados en nano micro partículas de hierro (INMP) y nano micro partículas de bentonita (BNMP), La concentración bacteriana fue igual a 1.3×10^7 bacterias/cm³ de mortero de cemento absorbido en fibras de celulosa (0.5 % del volumen de mortero) y el nutriente lactato de calcio igual a 4.5 % del peso del cemento.

Las muestras se precraquearon hasta el 85 % de su resistencia a la compresión, en cuyas grietas se analizaron el rendimiento de autocuración, muestras que fueron nuevamente sometidas a curado sumergido de 28 días y los resultados de autocuración estuvieron entre 280 μm y 450 μm , y la curación autógena estuvo en el rango de 160 μm y 110 μm .

Figura 24

Mecanismo de trabajo del mortero de autocuración con fibra celulosa



La mezcla de mortero investigadas con relación agua/cemento igual a 0.50, agregado/cemento de 3.00, y temperatura de curado de 23.2 °C durante 24 horas, cuya resistencia a la compresión de tres réplicas para cada especificación se midió utilizando una máquina de prueba de compresión MCC8 conforme a los estándares de prueba ASTM C-39. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de -22 %, y -33%. A continuación, en la Tabla 5 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 5

Data del artículo 02 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Componente Bacteriano		
Protección	Protegido (material de inmovilización fibra de microcelulosa)	Curado con nutrientes + bacterias (NO CONSIDERADO)
Concentración (bac/ml)	1.3*10 ⁷	1.3*10 ⁷
Adición (L/m ³)	5.5	5.5
Componente Mortero		
Relación agua: cemento (A/C)	0.5	0.5
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.33	0.33
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	4.5	4.5
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	23.2	23.2
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Sellado de Grietas (µm)		
Pre-agrietado a los 14 días	450	380
Pre-agrietado a los 28 días	280	400
muestra de control 28 días (CM)	160	160
Variación de la Resistencia		
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	-33	-22

Artículo 03: Comportamiento comparativo de diferentes bacterias inmovilizadas en fibras naturales para la autocuración del hormigón (Rauf, 2020).

En el estudio se hizo uso de fibras naturales (fibra de coco, fibra de linaza y fibra de yute) como refuerzo y como portadores protectores para la inmovilización de la bacteria *Bacillus subtilis* procedente de la cepa KCTC-3135 T cultivado en los mismos medios TSA y TSB, con la finalidad de que las fibras inmovilizadas de las bacterias eran capaces de realizar una acción de curación de grietas en el concreto.

En este estudio se utilizó el *Bacillus subtilis* procedente de la cepa KCTC-3135 T, obtenido de la Colección Nacional de Cultura de Pakistán (NCCP), el Centro Nacional de Investigación Agrícola, Islamabad, Pakistán. Las cepas se cultivaron en agar tripticasa de soja (TSA, Oxoid TM) placas y posteriormente cultivadas en caldo de tripticasa de soja (TSA, Oxoid TM) a 30 °C por 24 horas. Para la esporulación, las células se cultivaron en TSB con MgSO₄ · 7H₂O (1.01 Mm), KCL (13.4 Mm), FeSO₄ (0.001 Mm), Ca (NO₃) (1.0 Mm) y MnCl₂ (0.01 Mm) con un pH 7.0 durante 6 días a 30 °C como describe Ahmed. Las esporas se cosecharon por centrifugación (centrifuge 5702, Eppendorf) a 4400 rpm durante 15 minutos.

El medio portador fue diseñado para inducir la auto curación basada en bacterias en la mezcla de concreto mediante el uso de fibras naturales como portadores adecuados para CaCO₃ formando bacterias efectivamente resistentes a ambientes de pH alto en concreto y determinar su efectividad para lograr la curación de grietas en el concreto. Las bacterias se inmovilizaron y protegieron en fibras de coco, fibra de linaza y fibra de yute mediante sorción, seguido de la incorporación de fibras en la matriz de hormigón.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de fibras naturales (fibras de coco, fibra de linaza y fibra de yute) inmovilizadas con la bacteria *Bacillus*

subtilis procedente de la cepa KCTC-3135 T en la matriz de hormigón. La concentración bacteriana utilizada fue de $10E+8$ bacterias/ml para cada fibra. La cantidad de solución utilizada fue de 13 L/m^3 en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 4.4 % del peso del cemento.

El precraqueado alcanzan hasta el 60 - 65% de la resistencia a la compresión final de las muestras cilíndricas. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación del 60 – 65% de la superficie promedio (0.5 mm).

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.45 y una relación agregado-cemento de 0.215. La temperatura de curado fue de $24 \text{ }^\circ\text{C}$ y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 18.6% a 36.6%. La norma utilizada para la prueba de resistencia a la compresión fue ASTM C 39.

Figura 25
Fibras usadas en los ensayos



Flax

Jute

A continuación, en la Tabla 6 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio

Tabla 6

Data del artículo 03 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido en fibra de coco (4.6kg/m³)	Protegido en fibra de linaza (1.2kg/m³)	Protegido en fibra de Yute (1.5kg/m³)
Concentración (bac/ml)	6*10E+8	6*10E+8	6*10E+8
Adición (L/m ³)	13	13	13
Componente Hormigón			
Relación agua: cemento (A/C)	0.45	0.45	0.45
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.215	0.215	0.215
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	4.4	4.4	4.4
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	25	25	25
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Sellado de Grietas (µm)			
Pre-agrietado a los 7 días	500	500	600
Pre-agrietado a los 28 días	400	400	500
muestra de control 28 días (CM)	200	200	200
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	36.6	25.4	18.6

Artículo 04: Curación de grietas en hormigón mediante diversas técnicas de autocuración bioinfluenciadas (Khaliq y Ehsan, 2016).

El estudio experimental tuvo como finalidad determinar una técnica óptima de autocuración y comparar los cambios en la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis*, mediante aplicación directa, compuestos portadores como es el agregado ligero (LWA) y nano plaquetas de granito (GNP).

En el estudio la solución bacteriana fue preparada y tratada específicamente para asegurar la formación de esporas en un laboratorio de microbiología controlada, la bacteria *Bacillus subtilis* fue seleccionada porque tiene la capacidad de formar esporas cuando se somete a condiciones desfavorables, esta formación de esporas proporciona su protección contra la alta presión mecánica y el entorno alcalino, por lo que es la selección ideal.

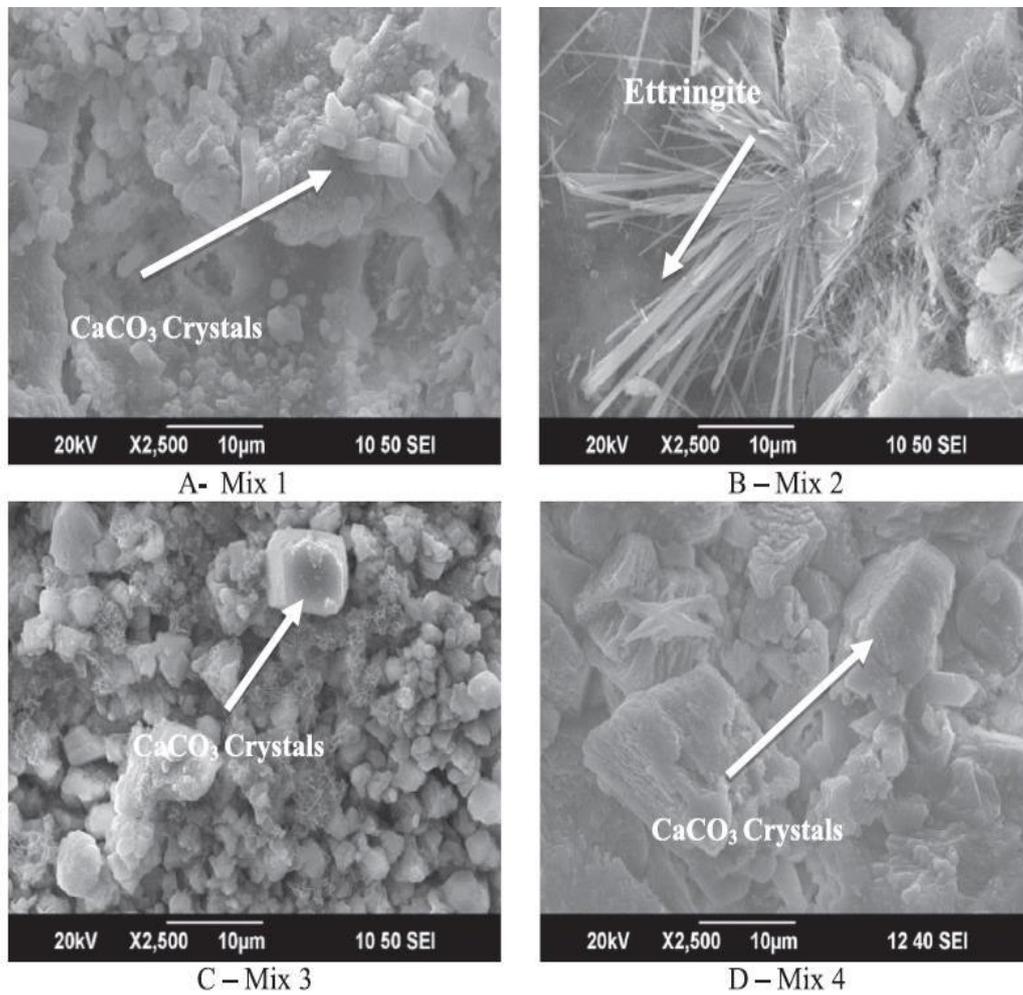
En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de autocuración. las bacterias se aplicaron mediante aplicación directa y protegidas por compuestos portadores como es el agregado ligero (LWA) y nano plaquetas de granito (GNP), seguido de la incorporación de fibras en la matriz de hormigón.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa y protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 3×10^8 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 6.33 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 4.9 % del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra que tenía LWA alcanza el 12 % de la resistencia a la compresión final en comparación con las otras muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación máxima de 0.52 mm de la superficie promedio. El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.4 y una relación agregado-cemento de 0.202. La temperatura de curado fue de 23 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 4.2 % a 11.3 %.

Figura 26

Análisis de barrido SEM de muestras pre craqueadas a 28 días



A continuación, en la Tabla 7 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 7

Data del artículo 04 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido en agregado ligero (LWA)	Protegido en agregado ligero (GNP)	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	3*10E+8	3*10E+8	3*10E+8
Adición (L/m ³)	6.33	6.33	6.33
Componente Hormigón			
Relación agua: cemento (A/C)	0.4	0.4	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.202	0.244	0.244
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	4.9	4.9	4.9
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	23	23	23
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Sellado de Grietas (µm)			
Pre agrietado a los 7 días	610	800	370
Pre agrietado a los 14 días	590	415	210
Pre agrietado a los 28 días	520	380	155
muestra de control 28 días (CM)	50	50	50
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	11.3	9.4	4.2

Artículo 05: Autocuración bacteriana del hormigón y evaluación de su durabilidad (Nguyen 2019).

La investigación se enfoca en la aplicación de la bacteria **Bacillus** con la finalidad evaluar la eficacia de la tecnología de autocuración bacteriana, para mejorar tanto la resistencia a la compresión del concreto así como reparar micro grietas abiertas en el concreto por CaCO₃.

La bacteria utilizada en este estudio se obtuvo de la Universidad de Cergy Pontoise en Francia, la bacteria *Bacillus subtilis* 5,265 células T fueron cultivadas y preparadas aeróbicamente a 37 ° C en 100 ml de medio de tripticasa de soja (TS) y luego incubado durante

24 h. Es importante destacar que no se empleó ningún material portador para las bacterias, la aplicación se realizó directamente sobre el concreto, resaltando la simplicidad y eficacia del enfoque utilizado.

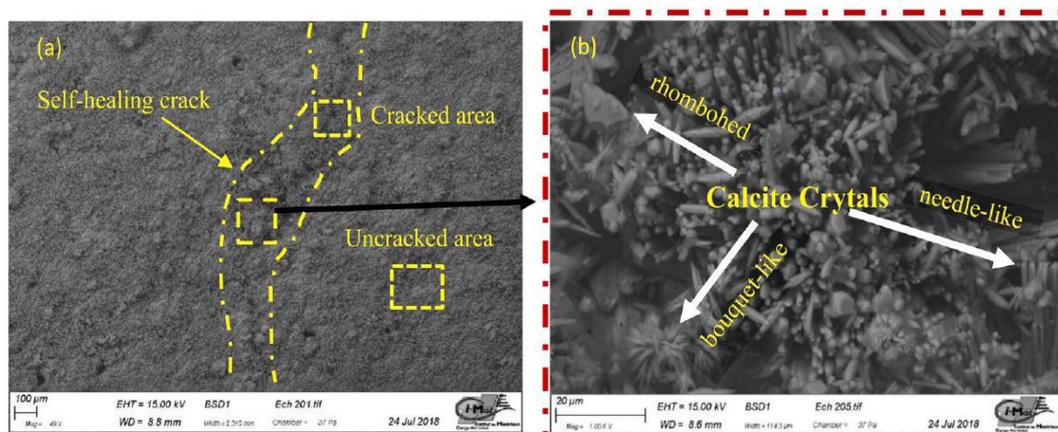
La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^8 bacterias/ml para nuestra muestra. La cantidad de solución utilizada fue de 2.73 L/m^3 en peso del cemento. El nutriente utilizado fue peptona.

El precraqueado alcanzan un aumento significativo de la resistencia a la compresión final de la muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación del 60 % de la superficie promedio. A los 44 días el ancho de la superficie de la grieta de $400 \mu\text{m}$ se llenó completamente.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.62 y una relación agregado-cemento de 0.16. La temperatura de curado fue de $30 \text{ }^\circ\text{C}$ y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida fue de 14.5 %.

Figura 27

Observación SEM del área de grietas y productos de autocuración



A continuación, en la Tabla 8 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 8

Data del artículo 05 – Variable I. y Variable D.

VARIABLE IND.	
Muestra 1	
Componente Bacteriano	
Protección	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1*10E+8
Adición (L/m3)	2.73
Componente Hormigón	
Relación agua: cemento (A/C)	0.62
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.16
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	30
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24
VARIABLE DEP.	
Muestra 1	
Sellado de Grietas (µm)	
Pre-agrietado a los 28 días	300
muestra de control 28 días (CM)	120
Variación de la Resistencia	
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	14.5

Artículo 06: Curación de grietas en hormigón mediante diversas técnicas de autocuración bioinfluenciadas (Rao et al., 2017).

La investigación tiene como objetivo determinar la resistencia, durabilidad y autoreparación del concreto mediante la utilización de la bacteria *Bacillus subtilis* JC3, posteriormente denominado hormigón microbiano que puede reparar sus grietas por sí mismo sin intervención humana y haría que el hormigón sea más duradero y sostenible.

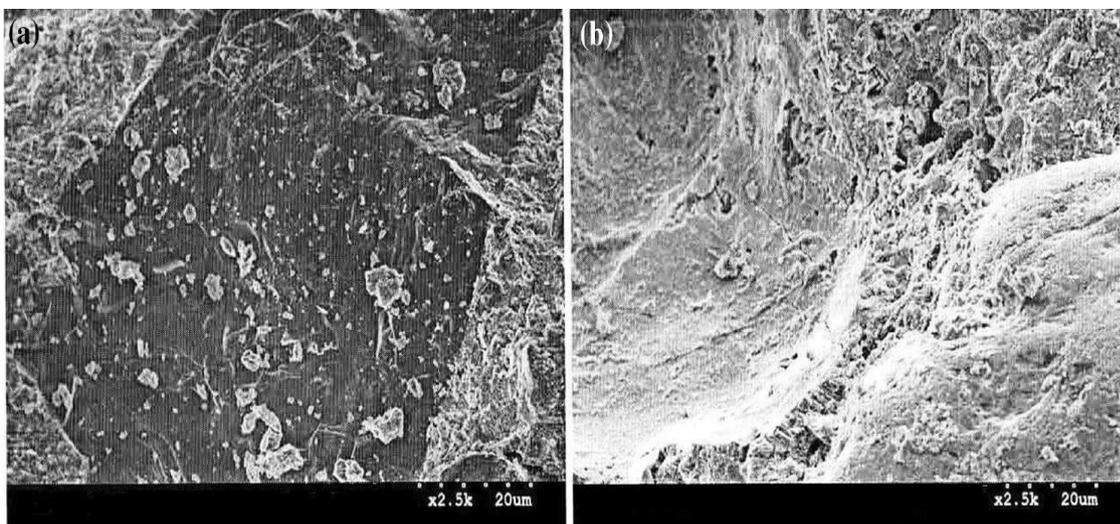
En cuanto al tipo de bacilo, se trata específicamente de *Bacillus subtilis* JC3, una bacteria formadora de esporas aeróbicas alcalifílicas. Esta cepa es una bacteria del suelo, cultivada en laboratorio, aislada, depositada, posterior mente cultivada en agua destilada en el Laboratorio de descubrimiento de bacterias en JNTUH Hyderabad.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón mediante aplicación directa, esta bacteria tiene la capacidad de formar una endospora protectora resistente, lo que permite al organismo soportar condiciones ambientales extremas.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 20 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio.

El precraqueado de la muestra mejora la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positiva de la superficie promedio.

Figura 28
Concentración celular control y análisis



El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.52 y una relación agregado-cemento de 0.172. La temperatura de curado fue de 23 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 5.51 % a 11.99 %.

A continuación, en la Tabla 9 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 9

Data del artículo 06 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Componente Bacteriano				
Protección	Aplicación directa	Aplicación directa	Aplicación directa	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1*10E+4	1*10E+5	1*10E+6	1*10E+7
Adición (L/m3)	20	20	20	20
Componente Hormigón				
Relación agua: cemento (A/C)	0.52	0.52	0.52	0.52
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.172	0.172	0.172	0.172
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)				
Temperatura de curado (C°)	23	23	23	23
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24	24
	VARIABLE INDEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Variación de la Resistencia				
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	11.99	16.15	10.43	5.51

Artículo 07: Investigación experimental sobre la resistencia del hormigón bacteriano con *Bacillus subtilis* y árido de polvo de piedra triturada basada en la velocidad de impulsos ultrasónicos (Prasad y Lakshmi, 2020).

Este trabajo realiza un estudio experimental con la finalidad de curar las grietas en el concreto con diferentes porcentajes de la bacteria *Bacillus subtilis*, así mismo, determinar los cambios en la resistencia a la compresión del concreto.

En el estudio se utilizaron bacterias *Bacillus subtilis* que se cultivaron en un laboratorio en Hyderabad, India. El cultivo de microorganismos se aisló y se mantuvo constantemente en agar nutritivo inclinado, esta configuración se sostiene a una temperatura de 37 °C y se

colocaron en un agitador orbital a 125 rpm, peptona a 5 g/Lt, NaCl a 5 g/Lt y extracto de levadura a 3 g/Lt. Se utilizaron para el crecimiento del cultivo de bacterias.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de autocuración. la bacteria se aplicó mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como el polvo de piedra triturada, seguido de la incorporación en la matriz de hormigón.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^5 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 19.5 L/m³, 39 L/m³ y 58.5 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio.

El precraqueado de la muestra mejora hasta un 10% la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positiva de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.45 y una relación agregado-cemento de 0.2. La temperatura de curado fue de 26 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 5 % a 17 %.

A continuación, en la Tabla 10 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 10
Data del artículo 07 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido polvo de piedra triturada	Protegido polvo de piedra triturada	Protegido polvo de piedra triturada
Concentración (bac/ml)	1*10E+5	1*10E+5	1*10E+5
Adición (L/m ³)	19.5	39	58.5
Componente Mortero			
Relación agua: cemento (A/C)	0.45	0.45	0.45
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.2	0.2	0.2
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)			
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	26	26	26
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	9	17	5

Artículo 08: Estudio experimental de los parámetros de resistencia del hormigón autorreparable (Reddy y Kavyateja, 2019).

El estudio tiene como objetivo mejorar la resistencia de compresión del concreto autorreparable mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis* que ayuda a la producción de carbonato de calcio en el concreto, mediante aplicación directa.

En cuanto a los detalles del estudio, se utilizaron esporas en polvo de *Bacillus subtilis*, obtenidas de *Retron probiotics Pvt Ltd, Vijayawada*. Para el cultivo de las bacterias, se empleó un caldo nutritivo compuesto por extracto de levadura, NaCl, peptona, extracto de carne de vacuno y agua destilada con un pH de 7.0.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón mediante aplicación directa, esta bacteria tiene la capacidad de formar una endospora protectora resistente, lo que permite al organismo soportar condiciones ambientales extremas.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 3.94 L/m^3 y 1.97 L/m^3 en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio en proporción de 1 % y 0.5 % del peso del cemento respectivamente.

El precraqueado de la muestra mejora la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positiva de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.4 y una relación agregado-cemento de 0.207. La temperatura de curado fue de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 5.3 % a 16.5 % y 3.7 % a 11.1 % respectivamente.

A continuación, en la Tabla 11 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 11
Data del artículo 08 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Aplicación directa	Aplicación directa	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1*10E+4	1*10E+5	1*10E+6
Adición (L/m3)	3.94	3.94	3.94
Componente Mortero			
Relación agua: cemento (A/C)	0.4	0.4	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.207	0.207	0.207
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	1	1	1
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	22	22	22
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	5.9	16.5	5.3

Artículo 9: Evaluación de la resistencia y durabilidad del hormigón autocurable a base de bacterias (Meera et al., 2016).

El estudio tiene como finalidad evaluación de la resistencia y durabilidad del hormigón autocurativo a base de bacterias, específicamente investigando el efecto de la bacteria *Bacillus subtilis* en la resistencia del hormigón. Además, busca determinar la cantidad óptima de contenido bacteriano que debe agregarse para lograr la máxima resistencia.

En el estudio se utilizaron bacterias *Bacillus subtilis* JC3 que se cultivaron en un laboratorio recolectada en la universidad Agrícola de Kerala en Mannuthy. El cultivo puro se aisló de la muestra de suelo y se mantendría constantemente en agar nutritivo inclinado. La bacteria luego forma colonias blancas secas irregulares en el agar nutritivo, siempre que sea necesario se debe inocular una colonia del cultivo en un caldo nutritivo de 25 ml en un matraz

cónico de 100 ml y el ambiente de crecimiento se mantendrá a una temperatura de 37 °C y se coloca en un agitador orbital de 125 rpm.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón mediante aplicación directa, esta bacteria tiene la capacidad de formar una endospora protectora resistente, lo que permite al organismo soportar condiciones ambientales extremas.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^3 , 1×10^4 bacterias/ml p y 1×10^5 bacterias/ml para cada caso. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio.

El precraqueado de la muestra alcanza el 42 % de la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positiva de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.5 y una relación agregado-cemento de 0.416. La temperatura de curado fue de 20 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 5.06 % a 42.54 %.

A continuación, en la Tabla 12 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 12

Data del artículo 09 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Componente Bacteriano				
Protección	Aplicación directa	Aplicación directa	Aplicación directa	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1*10E+3	1*10E+4	1*10E+5	1*10E+6
Componente Hormigón				
Relación agua: cemento (A/C)	0.5	0.5	0.5	0.5
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.416	0.416	0.416	0.416
Temperatura de curado (C°)	20	20	20	20
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Variación de la Resistencia				
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	5.06	40.01	42.54	5.06

Artículo 10: Mejora de las propiedades del hormigón de áridos gruesos reciclados mediante el uso de bacterias (Sahoo et al., 2016).

El estudio tiene como finalidad evaluar la mejora de las propiedades del agregado grueso reciclado (RCA) con la adición de bacterias específicamente investigando el efecto de la bacteria *Bacillus subtilis* en el concreto. Para determinar de la resistencia, durabilidad y autocuración del concreto.

En el presente estudio la solución bacteriana *Bacillus subtilis* (MTCC.736), se recogió del Instituto de Tecnología Microbiana (IMTECH), Chandigarh, India, y se mantuvo constantemente en agar nutritivo inclinado. Se tomó una sola colonia del cultivo y se inoculó en caldo nutritivo y se incubó a 37 ° C con agitación constante a 150 rpm. La composición del medio del caldo de nutrientes utilizado para el cultivo de rutina.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón mediante aplicación directa, esta bacteria tiene la capacidad de formar una endospora protectora resistente, lo que permite al organismo soportar condiciones ambientales extremas.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^3 , 1×10^6 , 1×10^7 bacterias/ml para cada caso. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio.

El precraqueado de la muestra alcanza el 20 % de la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positiva de la superficie promedio.

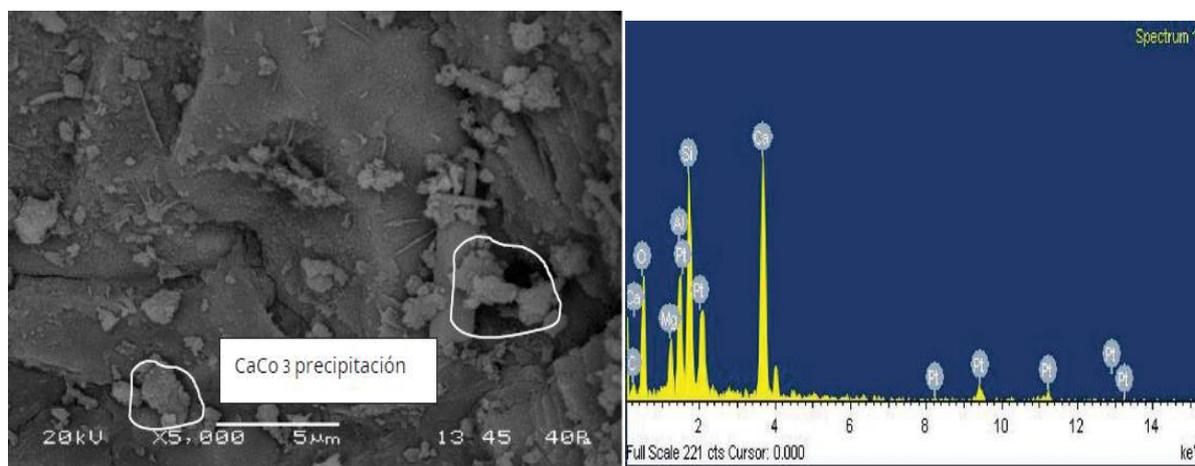
El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.5 y una relación agregado-cemento de 0.219. La temperatura de curado fue de 27 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 12.84 % a 20.93 %.

A continuación, en la Tabla 13 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 13
Data del artículo 10 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Aplicación directa	Aplicación directa	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1*10E+3	1*10E+6	1*10E+7
Componente Hormigón			
Relación agua: cemento (A/C)	0.5	0.5	0.5
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.219	0.219	0.219
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	27	27	27
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	12.84	20.93	16.7

Figura 29
SEM y EDX de muestra de concreto con contornos marcados



Artículo 11: Análisis de Biomineralización y Efecto de Aceleración de la Hidratación en Hormigón Autorreparable utilizando *Bacillus subtilis natto* (Nguyen et al., 2022).

El artículo científico tiene como finalidad determinar la autocuración durabilidad y la resistencia a la compresión del mortero mediante la incorporación de bacterias,

específicamente *Bacillus subtilis*, mediante aplicación protegida, compuestos portadores como es el agregado ligero (LWA).

En el presente estudio, se utilizó el grampositivo *Bacillus subtilis natto*, obtenido del laboratorio Yuzo Takahashi Laboratory Co (Yamagata, Japón). la bacteria *Bacillus subtilis* fue seleccionada porque tiene la capacidad de formar esporas cuando se somete a condiciones desfavorables.

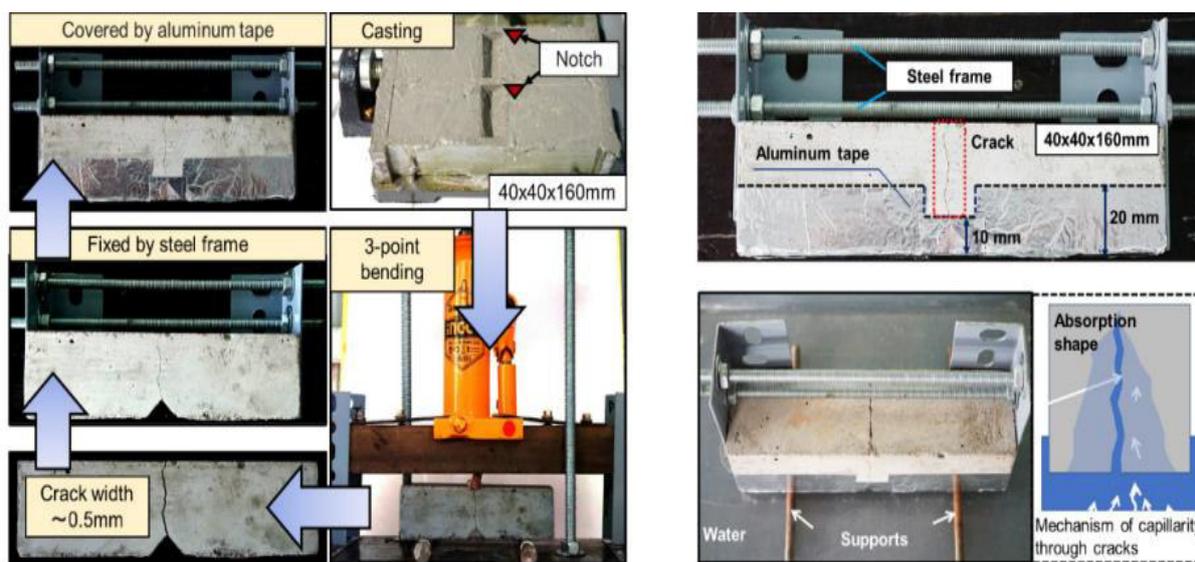
En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de auto curación. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como es el agregado ligero (LWA), seguido de la incorporación en la matriz de mortero. La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de mortero mediante aplicación protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^7 bacterias/ml para nuestro caso. La cantidad de solución utilizada fue de 19.98 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 5.4 % del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra obtiene una considerable resistencia a la compresión final en nuestra muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación máxima de 1.5 mm de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.4 y una relación agregado-cemento de 0.24. La temperatura de curado fue de 23.2 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida de 51 %.

Figura 30

Diagrama de flujo experimental para absorción de agua por fisura



A continuación, en la Tabla 14 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 14

Data del artículo 11 – Variable I. y Variable D.

VARIABLE IND.	
Muestra 1	
Componente Bacteriano	
Protección	Protegido en agregado ligero (LWA)
Concentración (bac/ml)	1*10E+7
Adición (L/m ³)	19.98
Componente Mortero	
Relación agua: cemento (A/C)	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.24
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	5.4
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	23.2
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24
VARIABLE DEP.	
Muestra 1	
Sellado de Grietas (µm)	
Pre-agrietado a los 28 días	1500
Variación de la Resistencia	
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	51

Artículo 12: Análisis de matrices cementosas autorreparadoras con bacterias *Bacillus subtilis* (Muller et al., 2022).

El artículo tiene como finalidad evaluar el potencial de autocuración y resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis* AP91, mediante aplicación protegida, compuestos portadores como es el agregado ligero encapsulado en perlita expandida (EP).

En el presente estudio la bacteriana *Bacillus subtilis* cepa AP91, utilizada fue proporcionada por la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, filial de Campinas. El cultivo in vitro se realizó en caldo Luria Bertani (LB) que contenía 10 g/L de triptona, 5 g/L de extracto de levadura y 5 g/L de cloruro de sodio en agua desionizada. Este caldo se ha utilizado para cultivar adecuadamente *Bacillus subtilis*. Se colocó un volumen de 100 mL de caldo LB en dos matraces Erlenmeyer de 250 mL cada uno y se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 min. Después de la esterilización, cada matraz se inoculó y los cultivos se incubaron en un agitador orbital a 165 rpm y 37 °C (98,6 °F) durante 24 h.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de mortero y se determinó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de autocuración. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como es el agregado ligero encapsulado en perlita expandida (EP), seguido de la incorporación en la matriz de mortero.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa y protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 18.5 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 3.7 % del peso del cemento.

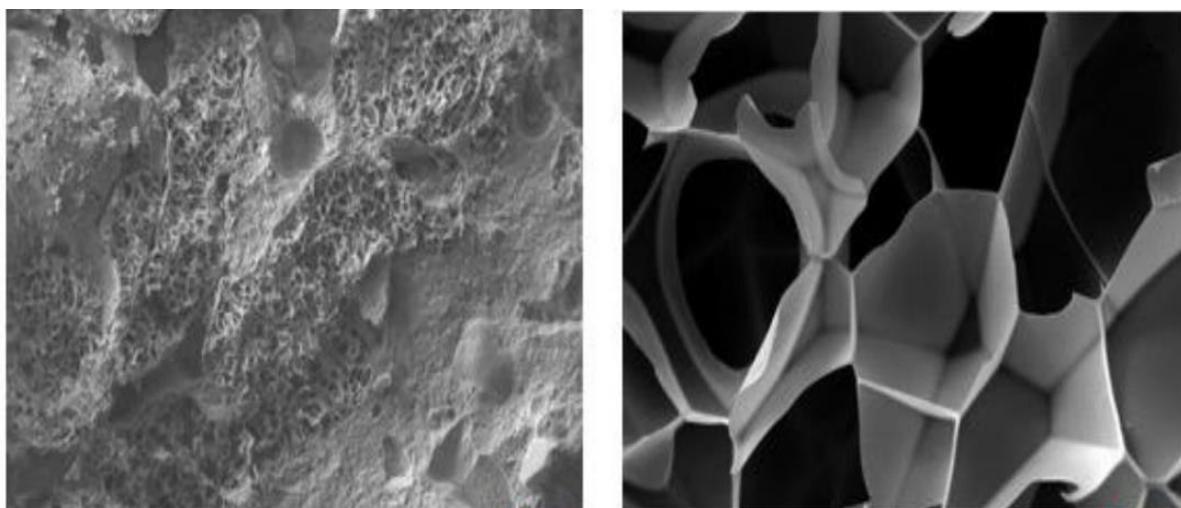
El precraqueado de la muestra de PE alcanza el 20 % de la resistencia a la compresión final en comparación con las otras muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo

completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación de 0.46 mm de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.37 y una relación agregado-cemento de 1.0. La temperatura de curado fue de 23 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 10.26 % a 20 %.

Figura 31

SEM de una porción de EP con aumentos de 100X y 2000X



A continuación, en la Tabla 15 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 15

Data del artículo 12 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido en agregado ligero (Perlita Expandida)	Protegido en agregado ligero (Perlita Expandida)	Protegido en agregado ligero (Perlita Expandida)
Concentración (bac/ml)	1*10E+6	1*10E+7	1*10E+8
Adición (L/m ³)	18.5	18.5	18.5
Componente Mortero			

Relación agua: cemento (A/C)	0.37	0.4	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	1	1	1
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	3.7	3.7	3.7
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	23	23	23
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
VARIABLE DEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Sellado de Grietas (µm)			
Pre agrietado a los 28 días	460	220	200
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	20	20	10.26

Artículo 13: Síntesis de bagazo carbonizado pirolítico para inmovilizar *Bacillus subtilis*; aplicación en la curación de microfisuras y propiedades de fractura del hormigón (Kanwal, 2022).

El artículo tiene como finalidad determinar la autoreparación y los cambios en la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis* (BS), mediante aplicación directa y compuestos portadores como es el Biocarbón molido de Bagaso.

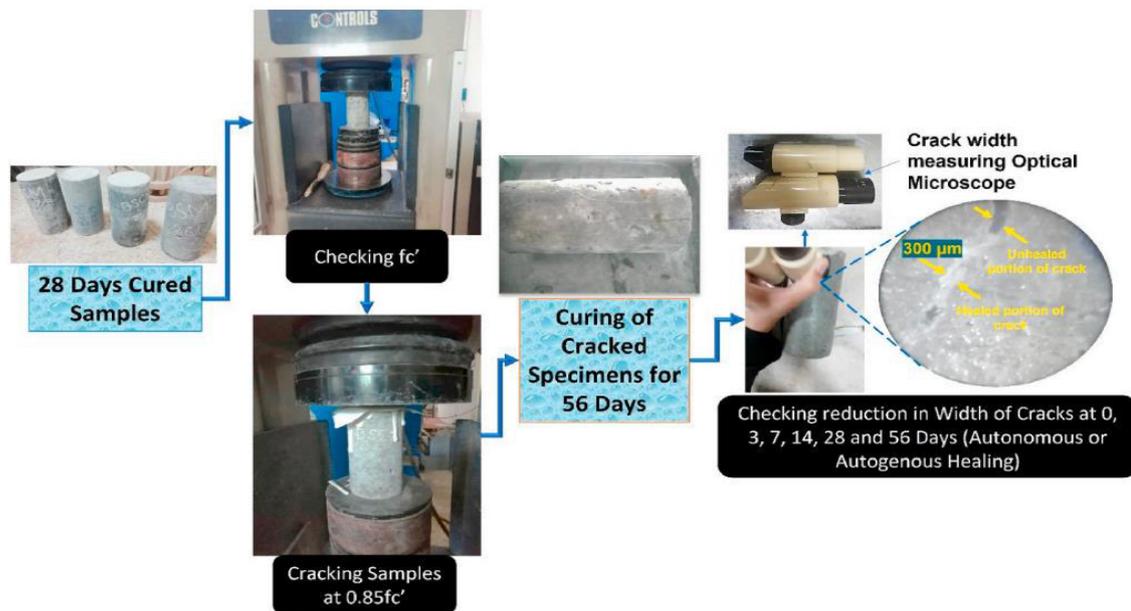
En el estudio, se utilizó la bacteria *Bacillus subtilis* (BS), se sembraron en placas recubiertas con medio de agar seguido de su incubación durante 24 horas a 37 °C. La inoculación se lleva a cabo en Caldo Triptona Soya (TSB) para un crecimiento exponencial en células BS. El proceso de esporulación involucró los nutrientes de FeSO₄(0,001 mM), MgSO₄·7H₂O (1.01 mM), KCl (13.4 mM), Ca(NO₃)₂(1 mM) y MnCl₂(0,01 mM), en solución de TSB bacteriana seguido de reincubación a la temperatura mencionada junto con agitación a 175 rpm durante 4 días.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de auto

curación. las bacterias se aplicaron mediante aplicación directa y protegidas por compuestos portadores como es el Biocarbón molido de Bagaso. seguido de la incorporación en la matriz de hormigón.

Figura 32

Esquema de la configuración experimental para medición de grietas



La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa y protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 1.2×10^3 , 1.2×10^7 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 10.28 L/m^3 en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 4.0 % del peso del cemento.

El precrackeado de la muestra alcanzó el 23.18 % de la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de sellado máxima de 100 % y 68 % respectivamente de la superficie promedio ($500 \mu\text{m} - 800 \mu\text{m}$).

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.4 y una relación agregado-cemento de 0.21. La temperatura de curado fue de $23 \text{ }^\circ\text{C}$ y el tiempo de curado fue

de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 13.08 % a 23.28 %.

A continuación, en la Tabla 16 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 16
Data del artículo 13 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Componente Bacteriano		
Protección	Protegido con Biocarbón molido de bagaso	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1.2*10E+6	1.2*10E+7
Adición (L/m ³)	10.28	10.28
Componente Hormigón		
Relación agua: cemento (A/C)	0.4	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.21	0.21
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	4	4
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	23	23
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24
	VARIABLE INDEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Sellado de Grietas (µm)		
Pre-agrietado a los 14 días	350	300
Pre-agrietado a los 28 días	500	400
muestra de control 28 días (CM)	100	100
Variación de la Resistencia		
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	23.28	13.08

Artículo 14: Biohormigón autocurable con *Bacillus subtilis* encapsulado en nanopartículas de óxido de hierro (Mahmood et al., 2022).

El presente artículo tiene como finalidad determinar la autoreparación y la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis*, mediante aplicación protegida encapsulado en nanopartículas de óxido de hierro (IONPs).

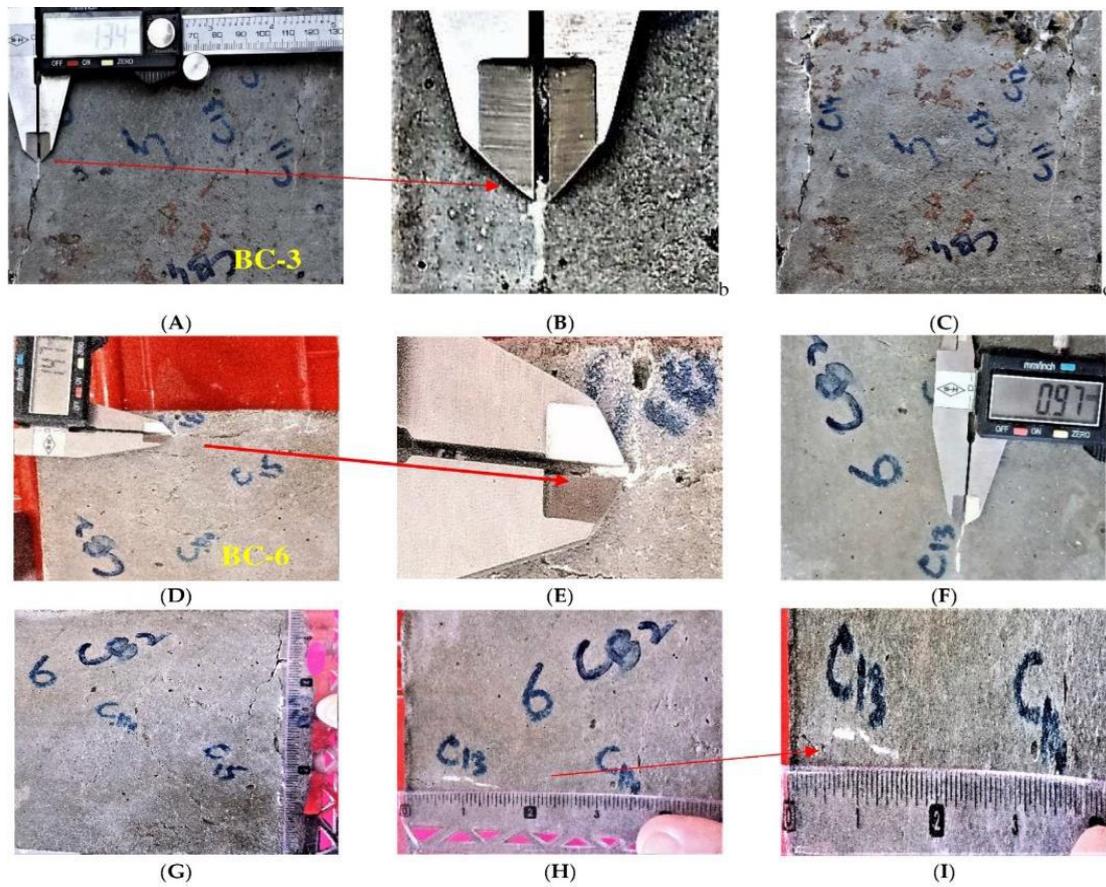
El micro organismo *Bacillus Subtilis* fue seleccionado para este estudio. *Bacillus Subtilis* se obtiene, aísla y cultiva del suelo en la Universidad COMSATS en Abbottabad, Pakistán. La muestra de suelo se tomó de un vertedero de verduras frescas. Se tomó un peso de 5 g de la muestra de suelo en 25 mL de TBS, se suspendió y se diluyó al factor de dilución específico. Luego se sembró en TSA y se incubó durante 24 h a 37°C. La técnica utilizada para el aislamiento de bacterias fue la técnica de placa de rayas. Comenzó con sembrar suspensiones de suelo tratadas térmicamente en agar con base mineral de aldohexosa en un matraz cónico. Se añadió otro al agua hasta 1 L, y la escala de pH se ajustó a siete.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de autocuración. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como el encapsulado de nanopartículas de óxido de hierro (IONPs), seguido de la incorporación en la matriz de hormigón.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa y protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 2.8×10^3 , 2.8×10^6 y 2.8×10^9 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 25.8 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 4.8 % del peso del cemento.

El precrackeo de la muestra alcanza un 25.9 % de la resistencia a la compresión final de la muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación máxima de 1.71 mm de la superficie promedio.

Figura 33
Cicatrización de grietas de biohormigón



El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.42 y una relación agregado-cemento de 0.25. La temperatura de curado fue de 20 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 14% a 25.97%.

A continuación, en la Tabla 17 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 17

Data del artículo 14 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido con Nanopartículas de óxido de hierro	Protegido con Nanopartículas de óxido de hierro	Protegido con Nanopartículas de óxido de hierro
Concentración (bac/ml)	2.8*10E+3	2.8*10E+6	2.8*10E+9
Adición (L/m ³)	25.8	25.8	25.8
Componente Hormigón			
Relación agua: cemento (A/C)	0.42	0.42	0.42
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.25	0.25	0.25
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	4.8	4.8	4.8
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	20	20	20
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Sellado de Grietas (µm)			
Pre-agrietado a los 14 días	970	1035	1155
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	14	19.9	25.97

Artículo 15: Autocuración de hormigón con bacterias comerciales mediante permeabilidad al agua y a los cloruros (Doostkami et al., 2022).

El artículo tiene como finalidad determinar la autoreparación y la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis*, mediante aplicación Protegida en Tierra de Diatomeas (DE), es una roca sedimentaria silícea, producto de diatomeas fosilizadas.

En el presente estudio la solución bacteriana fue preparada y tratada en un laboratorio de microbiología controlada, la bacteria *Bacillus subtilis* fue seleccionada porque tiene la

capacidad de formar esporas cuando se somete a condiciones desfavorables, esta formación de esporas proporciona su protección contra la alta presión mecánica y el entorno alcalino, por lo que es la selección ideal.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de hormigón y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de auto curación. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como en Tierra de Diatomeas (DE), seguido de la incorporación en la matriz de hormigón.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 5.3×10^{10} bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 7.5 L/m³ y 15 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 2.68 % y 5.36 % respectivamente del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra alcanzo 10.56 % de la resistencia a la compresión final de la muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación máxima de 300 µm de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.66 y una relación agregado-cemento de 0.15. La temperatura de curado fue de 20 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de -13.45 % a 10.56 %.

A continuación, en la Tabla 18 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 18
Data del artículo 15 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Componente Bacteriano		
Protección	Protegido con B-S encapsulado en tierra de diatomeas	Protegido con B-S encapsulado en tierra de diatomeas
Concentración (bac/ml)	5.3*10E+10	5.3*10E+10
Adición (L/m3)	7.5	15
Componente Hormigón		
Relación agua: cemento (A/C)	0.66	0.66
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.15	0.15
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	2.68	5.36
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	20	20
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Sellado de Grietas (µm)		
Pre-agrietado a los 28 días	300	200
Variación de la Resistencia		
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	10.56	-13.45

Artículo 16: Diatomita y zeolita Na-X como transportadores de bacterias en morteros cementosos autorreparadores (Janek et al., 2022).

El artículo tiene como finalidad determinar la autoreparación y recuperación de la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus Subtilis*, mediante aplicación Protegida como materiales portadores la Diatomita y zeolita Na-X.

En el presente estudio se utilizó la bacteria *Bacillus Subtilis* KP17 (colección de cepas propias). Inicialmente, las bacterias se cultivaron en el medio de esporulación Difco (DSM), es un medio complejo estándar utilizado para la producción de endosporas de alto rendimiento. La bacteria se incubó a 37 °C y 150 RPM a una fase logarítmica media OD600 ~ 0.5. Luego, el cultivo se diluyó en una proporción de 1:10 en agua precalentada (37 °C) Medio DSM (250 ml) y luego se incubó durante 48 h. A continuación, el cultivo se centrifugó (10 min a 10,000

xg) y el precipitado se lavó con 200 ml de agua fría (4° C) agua destilada estéril. El cultivo se centrifugó nuevamente y el sedimento se resuspendió en 200 ml de agua destilada fría y se dejó a 4 °C durante la noche.

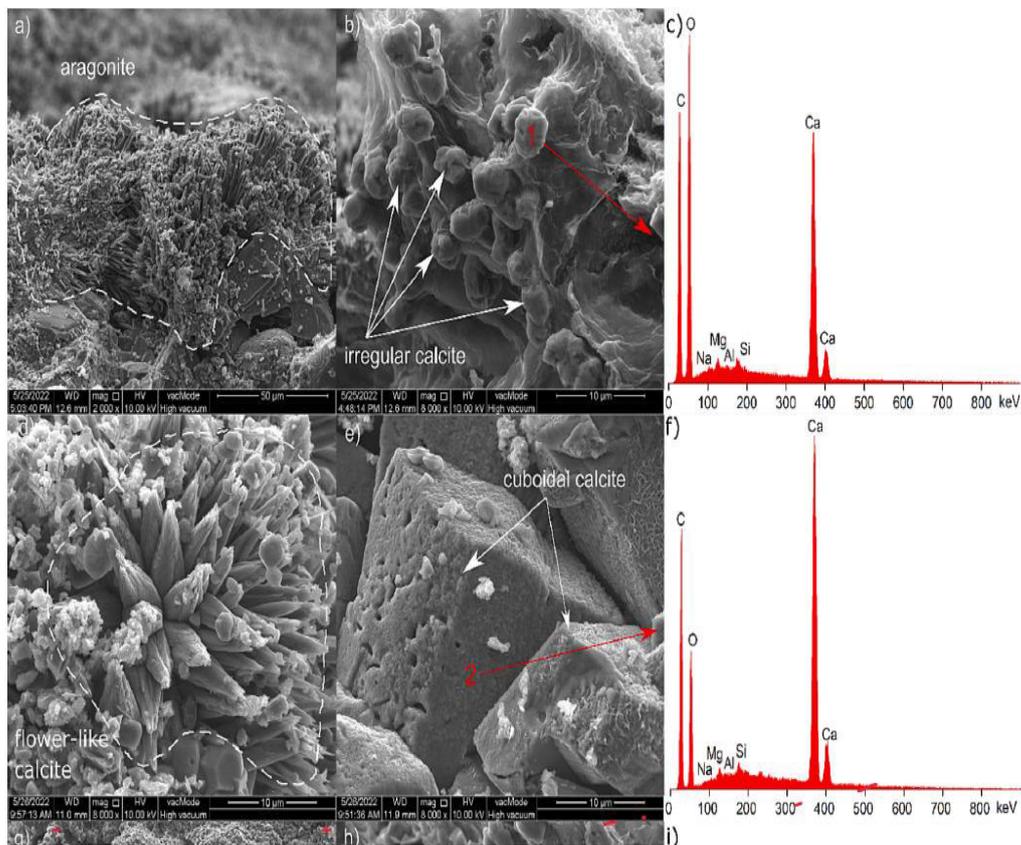
En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de mortero y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de auto curación. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas como materiales portadores la Diatomita y zeolita Na-X, seguido de la incorporación en la matriz de mortero.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de mortero mediante aplicación protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 4.97×10^6 , 2.33×10^8 , 1.44×10^7 y 2.81×10^7 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 22.5 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 10 % del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra alcanzo el 22.9 % de la resistencia a la compresión de la muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación de 51.0 % y 45.9 % respectivamente de la superficie promedio.

Figura 34

Análisis microscópico de las muestras irregular y cuboidal



El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.5 y una relación agregado-cemento de 0.33. La temperatura de curado fue de 20 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de -16.9 % a 21.1 %.

A continuación, en la Tabla 19 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 19
Data del artículo 16 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Componente Bacteriano				
Protección	Protegido con BS. Tie. Diatomita	Protegido con BS. Tie. Diatomita	Protegido con BS. Zeolita Na-X	Protegido con BS. Zeolita Na-X
Concentración (bac/ml)	4.97*10E+6	2.33*10E+8	1.44*10E+7	2.81*10E+7
Adición (L/m ³)	22.5	22.5	22.5	22.5
Componente Mortero				
Relación agua: cemento (A/C)	0.5	0.5	0.5	0.5
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.33	0.33	0.33	0.33
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	10	10	10	10
Temperatura de curado (C°)	20	20	20	20
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE			
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Sellado de Grietas (µm)				
Pre agrietado a los 28 días	280	300	154	340
muestra de control 28 días (CM)	124	124	124	124
Variación de la Resistencia				
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	-16.9	7.9	2.5	21.1

Artículo 17: Mortero cementoso bioinspirado, autorreparador y autodetector que utiliza *Bacillus subtilisin* movilizado en plaquetas grafitadas (Khushnood et al., 2022).

El artículo tiene como finalidad determinar la autoreparación y los cambios en la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente *Bacillus subtilis* (BS), mediante aplicación directa y compuestos portadores como nano/microplaquetas de grafito conductoras inertes (GNMP).

En el estudio, se utilizó la bacteria *Bacillus subtilis* (BS), se tiene una colección de cultivos tipo americano (ATCC) número 11,774. El cultivo genuino ATCC se fabrica bajo la certificación ISO 9001:2008. El caldo nutritivo utilizado para bacterias consiste en polvo de

lab-lemco 1.0 g/l, extractos de levadura 2.0 g/l, peptona 5.0 g/l y cloruro de sodio 5.0 g/l con un pH de 7.4 ± 0.2 @ 25 °C. Todos los cultivos se incuban aeróbicamente a 37° C durante 24 h con agitación a 250 rpm.

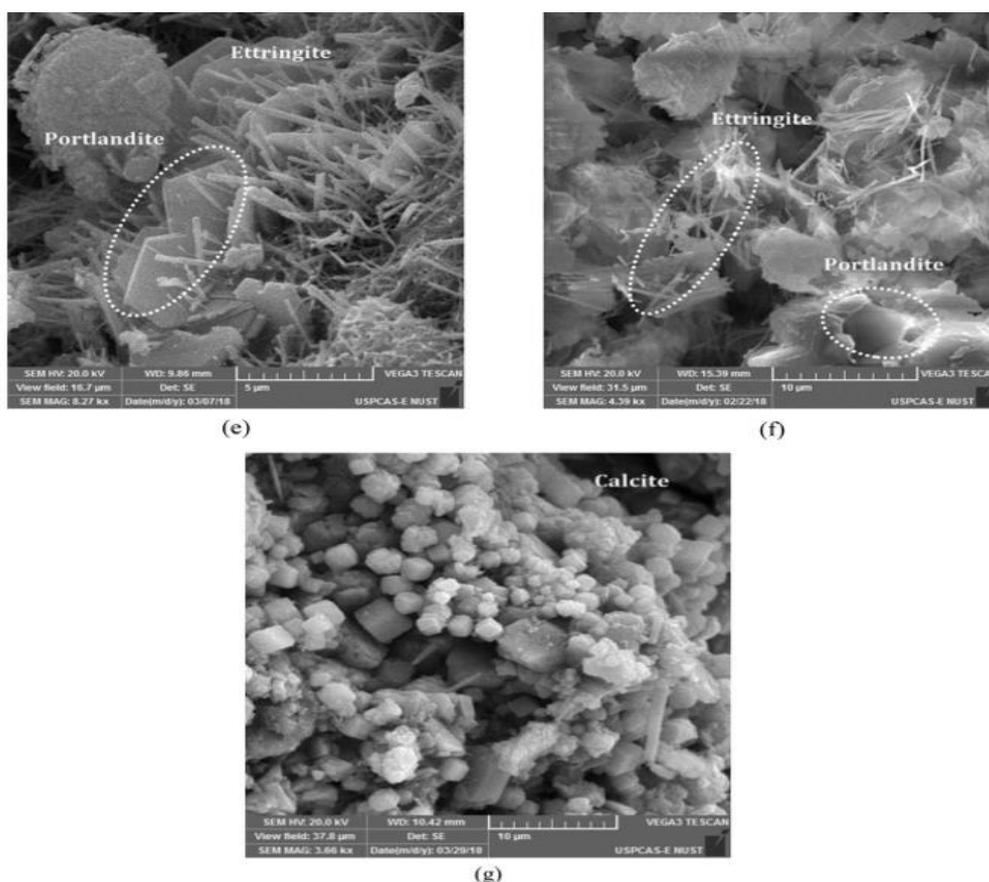
En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de mortero y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de autocuración. las bacterias se aplicaron mediante aplicación directa y protegidas por compuestos portadores como nano/microplaquetas de grafito conductoras inertes (GNMP), seguido de la incorporación en la matriz de mortero.

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa y protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 1.2×10^7 y 1.2×10^6 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 10.2 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 0.884% del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra alcanzo una recuperación del 80.5 % de la resistencia a la compresión final de las muestras. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de sellado máxima de 1.3 mm de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.45 y una relación agregado-cemento de 0.48. La temperatura de curado fue de 25 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 32.2 % a 34.0 %.

Figura 35
Micrografías FESEM



A continuación, en la Tabla 20 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 20
Data del artículo 17 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Componente Bacteriano		
Protección	Protegido con Subtilis con nano/microplaquetas de grafito	Aplicación directa
Concentración (bac/ml)	1.2*10E+6	1.2*10E+7
Adición (L/m3)	10.2	10.2
Componente Mortero		
Relación agua: cemento (A/C)	0.45	0.45
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.48	0.48
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	0.884	0.884
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	25	25

Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE	
	Muestra 1	Muestra 2
Sellado de Grietas (μm)		
Pre-agrietado a los 14 días	565	-
Pre-agrietado a los 28 días	1130	600
muestra de control 28 días (CM)	100	100
Variación de la Resistencia		
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	34	32.2

Artículo 18: Mortero cementoso autorreparador bioinspirado mediante *Bacillus subtilis* inmovilizado en nano/microaditivos (Khushnood et al.,2018).

El estudio experimental tiene como finalidad determinar la autocuración de grietas del mortero y los cambios en la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente del microorganismo grampositivo *Bacillus subtilis*, mediante aplicación de compuestos portadores como el nano óxido de hierro (IONP), polvo de roca Caliza (LSP) y Arena Silíceo micrométrica (OPC).

En el estudio, se utilizó la bacteria *Bacillus subtilis* (BS), tiene el número 11,774 de la American Type Culture Collection (ATCC), que generalmente se fabrica con la certificación ISO 9001:2008. Las *B. subtilis* utilizadas en el estudio se revivieron a partir de reservas de glicerol. Se añadió una solución de 1.0 ml de solución madre congelada de glicerol a 5.0 ml de solución salina al 0.9 % esterilizada en autoclave. A continuación, se siguió el protocolo estándar. Se inoculó una cantidad de 15 ml de caldo de lisogenia (LB) (5.0 g de triptón, 2.0 g de caldo de grano de tilo (LG) y 5.0 g de NaCl en 1000 ml de agua) con colonias frescas de la cepa *B. subtilis* e incubado durante 6–8 h a 37 °C con agitación a 200 r/min. Se añadió una solución de 2.5 ml de medio LB inoculado en 500 ml de DSM y se incubó durante 4 días a 37 °C con agitación a 200 r/min. Las células se sedimentaron a 9000 r/min durante 20 min a 4 °C.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de mortero y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de auto

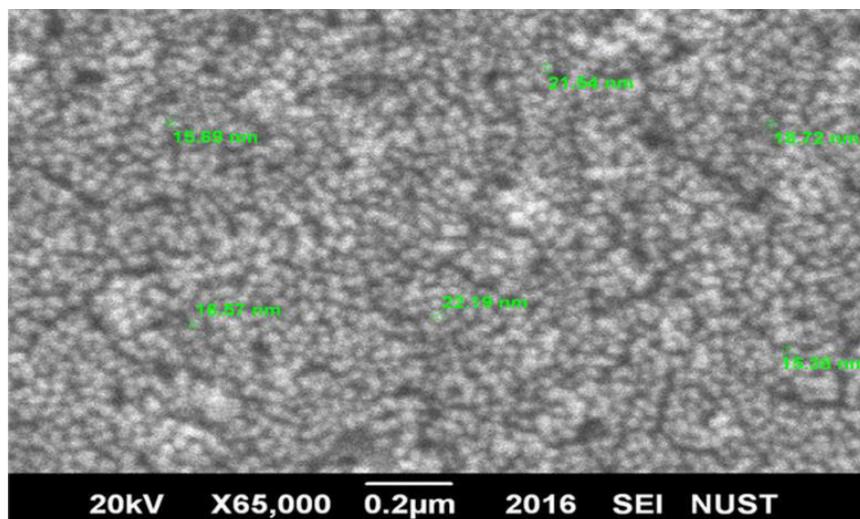
curación. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como el nano óxido de hierro (IONP), polvo de roca Caliza (LSP) y Arena Silíceica micrométrica (OPC).

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 6.3×10^6 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 7.6 L/m^3 en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 2.01 % del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra alcanzo el 23 % de la resistencia a la compresión final de la muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positivo de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.4 y una relación agregado-cemento de 0.66. La temperatura de curado fue de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida estuvo en el rango de 1.20 % a 23.0 %.

Figura 36
Micrografías FESEM de IONPs



A continuación, en la Tabla 21 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 21

Data del artículo 18 – Variable I. y Variable D.

	VARIABLE INDEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Componente Bacteriano			
Protección	Protegido con OPC- Arena silicea micrométrica	Protegido con IONP- Nano óxido de hierro	Protegido con LSP- polvo de roca caliza
Concentración (bac/ml)	6.3*10E+6	6.3*10E+6	6.3*10E+6
Adición (L/m ³)	7.6	7.6	7.6
Componente Mortero			
Relación agua: cemento (A/C)	0.4	0.4	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.66	0.66	0.66
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	2.01	2.01	2.01
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	20	20	20
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24	24	24
	VARIABLE DEPENDIENTE		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Variación de la Resistencia			
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	17.1	23	1.2

Artículo 19: Polvo calizo bioinmovilizado para la curación autónoma de sistemas cementosos: Un estudio de viabilidad (Shaheen et al., 2018).

El estudio experimental tiene como finalidad determinar la autocuración intrínseca de grietas del mortero y los cambios en la resistencia a la compresión del concreto mediante la incorporación de bacterias, específicamente del *Bacillus subtilis*, mediante aplicación de compuesto portador como el Polvo de roca Caliza (LSP).

En el estudio, se utilizó la bacteria *Bacillus subtilis* (BS), fue revivido a partir de reserva de glicerol. Se mezcló 1 ml de glicerol congelado con 5 ml de solución salina esterilizada en

autoclave al 0.9 %, es, esta solución se extendió sobre medio de agar con un hisopo de algodón y se incubó durante 24 horas. Caldo de nutrición utilizado para *B. subtilis* era caldo Luria estándar (LB) que consistía en 5 g de triptona, 5 g de NaCl y 2 g de caldo LG en 1,000 ml de agua destilada. La incubación se realizó durante 6 a 8 horas a 37 °C, mientras se agita a 200 rpm; después de eso, se inocularon 15 ml de LB en una colonia satirizada de *B. subtilis*, es una bacteria alcalifílica grampositiva que tiene características de esporulación y puede sobrevivir durante períodos prolongados.

En este estudio, se introdujeron muestras de bacterias en la matriz de mortero y se investigó el efecto de las bacterias a través de diferentes portadores sobre su capacidad de autocuración. las bacterias se aplicaron mediante aplicación protegidas por compuestos portadores como el Polvo de roca Caliza (LSP).

La formulación utilizada en el experimento consistió en la incorporación de la bacteria *Bacillus subtilis* en la matriz de hormigón mediante aplicación directa y protegida. La concentración bacteriana utilizada fue de 6×10^6 bacterias/ml para cada caso. La cantidad de solución utilizada fue de 7.6 L/m³ en peso del cemento. El nutriente utilizado fue una solución de lactato de calcio igual a 2.01 % del peso del cemento.

El precraqueado de la muestra alcanzo el 11.5 % de la resistencia a la compresión final de la muestra. El tiempo de curado fue de 28 días y se mantuvo completamente sumergido en agua durante todo el período de curado. Obteniendo un resultado de curación positiva de la superficie promedio.

El tipo de concreto utilizado tiene una relación agua-cemento de 0.4 y una relación agregado-cemento de 0.66. La temperatura de curado fue de 20 °C y el tiempo de curado fue de 28 días. La variación de resistencia a la compresión obtenida de 3.5 %.

A continuación, en la Tabla 22 se presenta un reporte resumen de los hallazgos para fines del presente estudio.

Tabla 22
Data del artículo 19 – Variable I. y Variable D.

VARIABLE IND.	
Muestra 1	
Componente Bacteriano	
Protección	Protegido con polvo de piedra caliza (LSP)
Concentración (bac/ml)	6*10E+6
Adición (L/m3)	7.6
Componente Mortero	
Relación agua: cemento (A/C)	0.4
Relación cemento: agregado total (C/Agr)	0.66
Nutriente: en % del peso de cemento (Lactato de Calcio)	2.01
Tipo de curado sumergido en agua (C°)	20
Tipo de curado sumergido en agua (h)	24
VARIABLE DEP.	
Muestra 1	
Variación de la Resistencia	
Variación de resistencia a compresión a los 28 días (%)	3.5

Sistematización de la información

A partir de los datos de 19 artículos seleccionados y analizados, los resultados obtenidos para la autocompresión y el cambio en la resistencia a la compresión se sistematizan, procesan, presentan y discuten a continuación. Con base en los datos obtenidos, se evaluaron las propiedades de autocierre de fisuras prefisuradas curadas en agua a una temperatura promedio de 23°C durante 28 días. Los cambios en la resistencia a la compresión se determinaron añadiendo esporas bacterianas protegidas y no protegidas a muestras de control curadas durante 28 días en agua a una temperatura promedio de 23°C.

La síntesis de los datos analizados se presenta en la Tabla 23, la que nos ayudará a determinar los análisis estadísticos y conclusiones del estudio.

Tabla 23*Revisión de componente bacteriano Basilo subtilis para autocuración de grietas*

Autor/Fuente de referencia	Concentración (UFC)	Temperatura Curado(°C)	Bacterias Protegidas	Máximo (µm)	VCR2 8
(Shaheen, et al., 2019) [a]	2.3*10E+8	25	Inmo. (INMP)	1,200	15.16
(Shaheen, et al., 2019) [b]	2.3*10E+8	25	Inmo. (INMP)	90	9.4
(Shaheen, et al., 2019) [c]	2.3*10E+8	25	Aplicación Directa	440	8.1
(Singh y Gupta, 2020)	1.3*10 ⁷	23.5	Fibra Celulosa	280	-33
(Rauf, et al., 2020) [a]	6*10E+8	25	Fibra de Coco	400	36.6
(Rauf, et al., 2020) [b]	6*10E+8	25	Fibra de Linaza	400	25.4
(Rauf, et al., 2020) [c]	6*10E+8	25	Fibra de Yute	500	18.6
(Khaliq y Ehsan 2016) [a]	3*10E+8	23	Agregado Ligero (LWA)	520	11.3
(Khaliq y Ehsan 2016) [b]	3*10E+8	23	Agregado Ligero (GNP)	380	9.4
(Khaliq y Ehsan 2016) [c]	3*10E+8	23	Aplicación Directa	155	4.2
(Nguyen, et al., 2019)	1*10E+8	30	Aplicación Directa	300	15.1
(Rao, Reddy, y Sasikala, 2017)	1*10E+8	23	Aplicación Directa	-	11.99
(Rao, Reddy, y Sasikala, 2017)	1*10E+5	23	Aplicación Directa	-	16.15
(Rao, Reddy, y Sasikala, 2017)	1*10E+6	23	Aplicación Directa	-	10.43
(Rao, Reddy, y Sasikala, 2017)	1*10E+7	23	Aplicación Directa	-	5.51
(Prasad y Lakshmi, 2020) [a]	1*10E+5	26	Polvo de Piedra	-	9
(Prasad y Lakshmi, 2020) [a]	1*10E+5	26	Polvo de Piedra	-	17
(Prasad y Lakshmi, 2020) [a]	1*10E+5	26	Polvo de Piedra	-	5
(Prasad y Lakshmi, 2020) [b]	1*10E+5	26	Aplicación Directa	-	7
(Prasad y Lakshmi, 2020) [b]	1*10E+5	26	Aplicación Directa	-	14
(Prasad y Lakshmi, 2020) [b]	1*10E+5	26	Aplicación Directa	-	2.3
(Reddy y Kavyateja, 2019) [a]	1*10E+4	22	Aplicación Directa	-	5.9
(Reddy y Kavyateja, 2019) [a]	1*10E+5	22	Aplicación Directa	-	16.5
(Reddy y Kavyateja, 2019) [a]	1*10E+6	22	Aplicación Directa	-	5.3
(Reddy y Kavyateja, 2019) [b]	1*10E+4	22	Aplicación Directa	-	3.7
(Reddy y Kavyateja, 2019) [b]	1*10E+4	22	Aplicación Directa	-	11.1
(Reddy y Kavyateja, 2019) [b]	1*10E+4	22	Aplicación Directa	-	7.4
(Meera y Subha 2016)	1*10E+3	20	Aplicación Directa	-	5.06
(Meera y Subha 2016)	1*10E+3	20	Aplicación Directa	-	40.01
(Meera y Subha 2016)	1*10E+3	20	Aplicación Directa	-	42.54
(Meera y Subha 2016)	1*10E+3	20	Aplicación Directa	-	5.06

Autor/Fuente de referencia	Concentración (UFC)	Temperatura Curado(°C)	Bacterias Protegidas	Máximo (µm)	VCR2 8
(Sahoo, et al., 2016)	1*10E+3	27	Aplicación Directa	-	12.84
(Sahoo, et al., 2016)	1*10E+6	27	Aplicación Directa	-	20.93
(Sahoo, et al., 2016)	1*10E+7	27	Aplicación Directa	-	16.7
(Nguyen, et al., 2022)	1*10E+7	23.2	Agregado Ligero (LWA)	1,500	51
(Muller, et al., 2022)	1*10E+6	23	Agregado Ligero	460	20
(Muller, et al., 2022)	1*10E+6	23	Agregado Ligero	220	20
(Muller, et al., 2022)	1*10E+6	23	Agregado Ligero	200	10.26
(Kanwal, et al., 2022)	1.2*10E+6	23	Biocarbón molido de bagaso	500	23.28
(Kanwal, et al., 2022)	1.2*10E+7	23	Aplicación Directa	400	13.08
(Kanwal, et al., 2022)	1.2*10E+6	23	Nanopartículas de óxido de hierro	970	14
(Kanwal, et al., 2022)	1.2*10E+7	23	Nanopartículas de óxido de hierro	1,035	19.9
(Kanwal, et al., 2022)	1.2*10E+7	23	Nanopartículas de óxido de hierro	1,155	25.97
(Doostkami, et al., 2022)	5.3*10E+10	20	B.S. en tierra de diatomea	300	10.56
(Doostkami, et al., 2022)	5.3*10E+10	20	B.S. en tierra de diatomea	200	-13.45
(Janek, et al., 2022)	4.97*10E+6	20	B.S. en tierra de diatomea	280	-16.9
(Janek, et al., 2022)	4.97*10E+6	20	B.S. en tierra de diatomea	300	7.9
(Janek, et al., 2022)	4.97*10E+6	20	BS. Zeolita Na-X	154	2.5
(Janek, et al., 2022)	4.97*10E+6	20	BS. Zeolita Na-X	340	21.1
(Khushnood, et al., 2022) [a]	1.2*10E+6	25	GNMP-immobilizado	1,130	34
(Khushnood, et al., 2022) [b]	1.2*10E+7	25	Aplicación Directa	600	32.2
(Khushnood, et al., 2018)	6.3*10E+6	20	OPC-Arena silicea micrométrica	-	17.1
(Khushnood, et al., 2018)	6.3*10E+6	20	IONP-Nano óxido de hierro	-	23
(Khushnood, et al., 2018)	6.3*10E+6	20	LSP- polvo de roca caliza	-	1.2
(Shaheen, et al., 2018)	6*10E+6	20	LSP-Polvo de piedra caliza	-	3.5

3.7. Consideraciones éticas

En la presente investigación las consideraciones éticas estarán referidos básicamente a la autoría de la información que se utilice, lo cual será escrupulosamente respetada y puesta de

manifiesto en el trabajo de investigación. De otro lado los resultados de artículos de investigación utilizados serán estrictamente citados y usados con fines académicos y de investigación.

IV. RESULTADOS

Resultados por objetivos específicos

En primer término, se hace la aclaración que la data procesada no cumple con una distribución normal efectuada mediante La prueba de normalidad Shapiro-Wilks, en consecuencia, se aplicó pruebas no paramétricas como la de Wilcoxon, Kruskal-Wallis, Dunn, y Bonferroni, El resultado de las pruebas estadísticas se presenta en el ANEXO

Resultado. OE-1: Evaluar la influencia del tipo de mezcla en el auto sellado autónomo y autogeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente.

Los resultados obtenidos a partir de la prueba inferencial de Wilcoxon rank sum test, con un estadístico W de 119.5 y un valor p de 0.7707335, no permiten rechazar la hipótesis nula, lo cual sugiere que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el tipo de mezcla (hormigón y mortero) en cuanto al auto sellado autónomo y autógeno de grietas debido a la adición de *Bacillus subtilis* y la posterior precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y sellado debido a la hidratación complementaria, respectivamente.

Tabla 24

Prueba de normalidad Shapiro Wilks

Categoría	N
Válido	30
Perdidos	0.00
Total	30
Estadístico	0.848
p value	0.00057

Tabla 25Prueba inferencial **Wilcoxon**

Prueba	Estadístico W	p value
Wilcoxon rank sum test	119.5	0.7707335

Nota: Resultados de la prueba de normalidad Shapiro Wilks, y la prueba inferencial Wilcoxon.

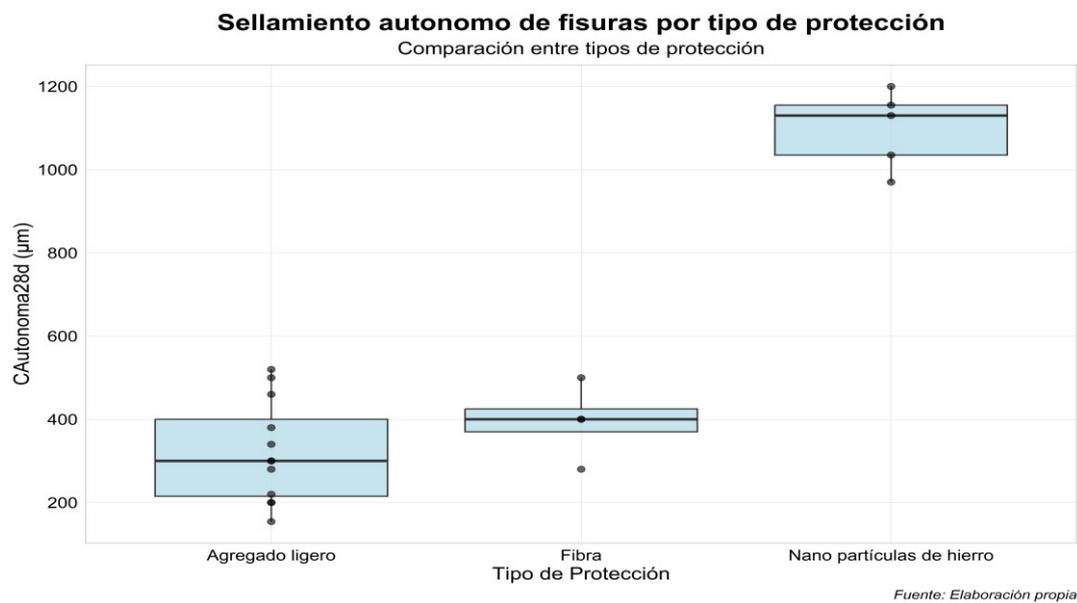
Resultado. OE-2: Evaluar la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO₃ producto de la actividad metabólica bacteriana.

La prueba de normalidad Shapiro-Wilks ($p = 0.00078$) sugiere que los datos no siguen una distribución normal, por lo que se aplicó una prueba no paramétrica de Wilcoxon. El valor p de la prueba Wilcoxon ($p = 0.7707335$) indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa en el sellado autónomo de fisuras entre los tipos de protección evaluados: agregado ligero, fibras.

En cuanto a los estadísticos descriptivos, se observa los siguientes valores de autosellado autónomo: para protección con nano partículas de hierro media y mediana de (1,098 μm y 1,130 μm), para el agregado ligero media y mediana de (321.17 μm y 300 μm), y para la protección con fibras, media y mediana de (395 μm y 400 μm), respectivamente. como se observa en la figura 37.

Figura 37

Sellamiento autónomo de fisuras por tipo de protección



Nota: Sellamiento autónomo de fisuras para basillus protegidos en agragado ligero, fibras, y nano partículas de hierro

Resultado. OE-3: Determinar la influencia de la adición de bacterias *Bacillus subtilis* aplicadas directamente a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas, debido a la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.

Los valores descriptivos indican una mediana de 400 μm y una media de 379 μm , para el sellamiento autónomo de fisuras en concreto con la aplicación directa de *Bacillus subtilis*, sin protección adicional.

Resultado. OE-4: Determinar en qué proporción el auto sellado autónomo debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de

concreto, mejora respecto al auto sellado autógeno de grietas debido a la precipitación de CaCO_3 .

Los resultados se muestran en la tabla 25 y figura 38 siguientes,

Tabla 26

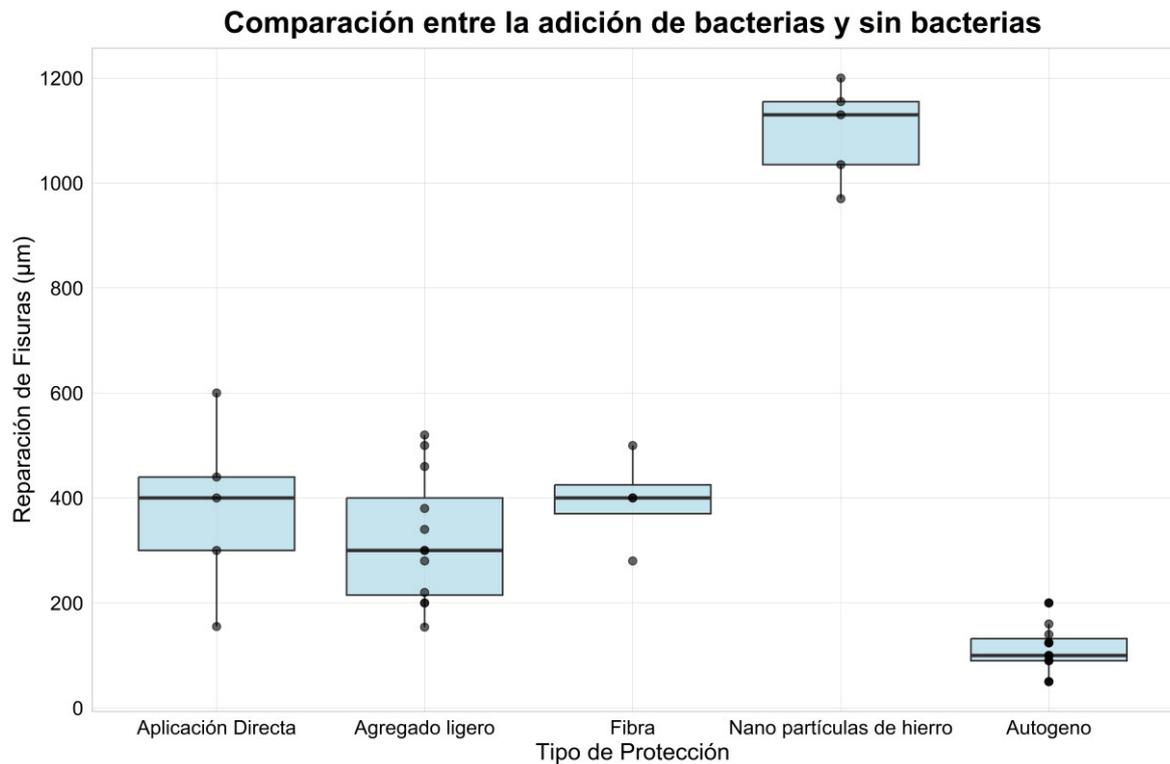
Auto sellado autónomo de grietas

Comparación	Estadístico Z	p valor ajustar	sinp valor ajustado (Bonferroni)
Agregado ligero - Aplicación	-0.3606	0.7183	1.00
Directa			
Agregado ligero - Autógeno	3.6213	0.0002	0.0029
Aplicación Directa -			
Autógeno	3.0386	0.0023	0.0237
Agregado ligero - Fibra	-0.5505	0.5819	1.00
Aplicación Directa - Fibra	-0.1876	0.8511	1.00
Autógeno - Fibra	-3.0051	0.0026	0.0265
Agregado ligero - Nano	-2.1377	0.0325	0.3253
partículas de hierro			
Aplicación Directa - Nano	-	0.13474	1.00
partículas de hierro	1.4956446	62929270	
Autógeno - Nano partículas	-	0.00000	0.00000
de hierro	4.9206221	08626956	8
Fibra - Nano partículas de	-	0.2215	1.00
hierro	1.2224720		

Nota: Comparación múltiple de medias prueba de DUNN con ajuste de Bonferroni

Figura 38

Comparación entre la adicción de bacterias y sin bacterias



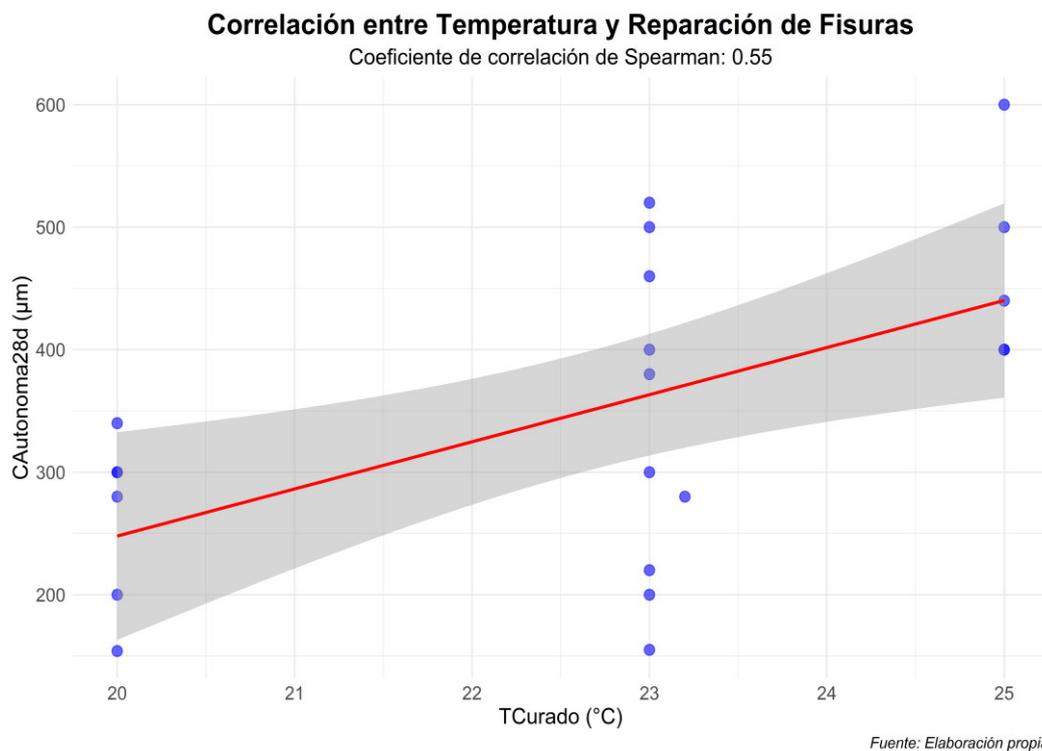
Nota. La media del autosellado autónomo para la: aplicación directa 379 μm, agregado ligero 321 μm, fibra 395 μm, nano partículas de hierro 1,098 μm. Y para el sellado autógeno 117 μm.

Resultado. OE-5: Evaluar de qué manera influye la temperatura de curado en el autosellado Autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO_3 debido a la actividad metabólica bacteriana.

De acuerdo a los resultados que se muestra en el gráfico, hay una correlación positiva moderada (Spearman = 0.55) entre la temperatura de curado y el sellamiento autónomo de fisuras en las mezclas de concreto. Es decir cuando la temperatura se incrementa, el autosellado también incrementa.

Figura 39

Correlación entre temperatura y reparación de fisuras

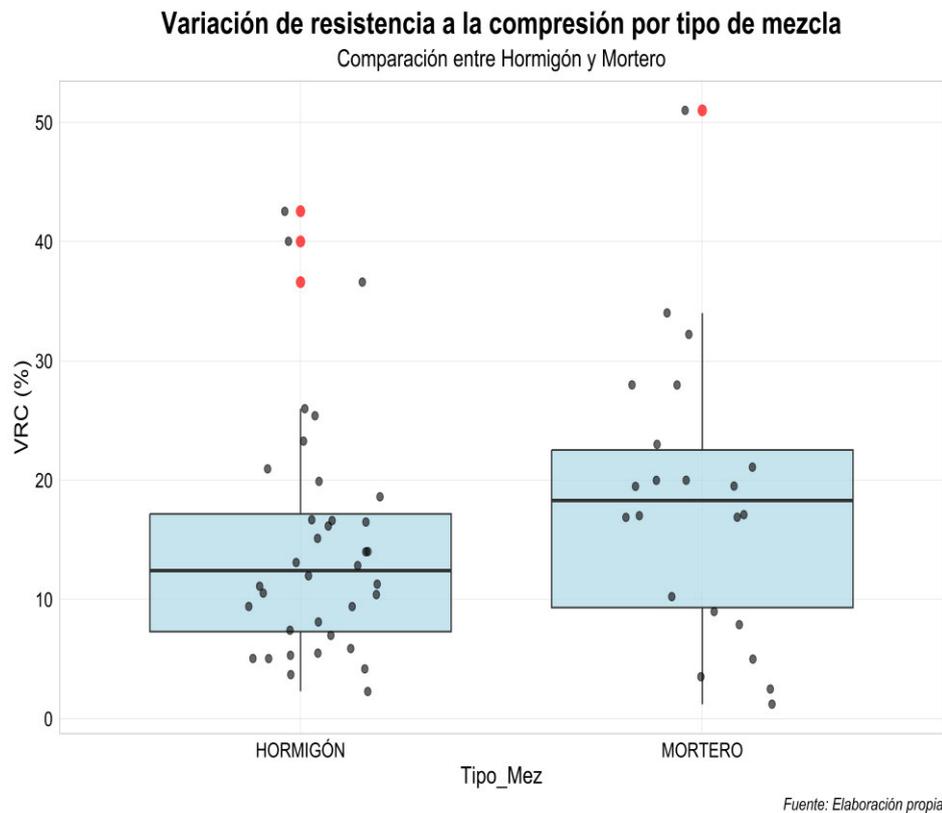


Resultado. OE-6: Evaluar la influencia del tipo de mezcla en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO_3 producto de la actividad metabólica bacteriana.

El gráfico compara la variación de resistencia a la compresión (VRC%) entre hormigón y mortero. Los estadísticos descriptivos muestran que el mortero presenta una mayor media (18.34%) y mediana (18.30%) en comparación con el hormigón, cuya media es de 14.49% y la mediana de 12.41%. Esto sugiere que el mortero tiene un mejor desempeño en términos de aumento de resistencia a la compresión.

Figura 40

Variación de resistencia a la compresión por tipo de mezcla



Resultado. OE-7: Evaluar de qué manera influye la adición de bacterias *Bacillus subtilis* protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, en la variación de la resistencia a la compresión.

Los resultados descriptivos para la variación de resistencia a la compresión (VRC%) indican que la aplicación de basillus Subtilis protegida presenta una mayor media (17.16%) y mediana (17.00%) en comparación con la aplicación directa, que tiene una media de 14.90% y una mediana de 13.08%.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio examina el comportamiento del concreto autocurativo al incorporar *Bacillus subtilis* y cómo diferentes métodos de protección influyen en su capacidad para sellar fisuras. Los experimentos demostraron que la precipitación de carbonato de calcio (CaCO_3) es crucial en el autosellado, dependiendo de la actividad metabólica de las bacterias y las condiciones ambientales.

Se observó que la protección con nano partículas de hierro produce más CaCO_3 que otros métodos, como los agregados ligeros o las fibras. Además, las condiciones de curado, especialmente la temperatura, son esenciales para maximizar la actividad de *Bacillus subtilis* y mejorar la resistencia del concreto.

En resumen, el estudio destaca la importancia de investigar el concreto autocurativo con *Bacillus subtilis*, enfatizando que el método de aplicación y el tipo de protección son clave para el éxito del autosellado. Se sugiere a los profesionales considerar estas variables para mejorar la durabilidad de las estructuras de concreto.

a) Nanopartículas de hierro como método de protección

El desempeño superior de las nanopartículas de hierro en comparación con los otros métodos de protección destaca varios puntos importantes. En primer lugar, el encapsulamiento efectivo de las bacterias en las nanopartículas de hierro probablemente permite una liberación más controlada de las esporas bacterianas, lo que mejora la eficiencia del autosellado. Las nanopartículas, debido a su tamaño extremadamente pequeño, pueden dispersarse de manera uniforme dentro de la matriz del concreto, facilitando que las bacterias actúen directamente en el sitio de las fisuras.

Este resultado es coherente con estudios previos, que han sugerido que las nanopartículas proporcionan una barrera física más robusta contra las condiciones agresivas

del concreto, como el pH alto y la falta de nutrientes, prolongando la viabilidad de las bacterias durante el tiempo necesario para que realicen su actividad de autosellado (Wang, Belie, & Verstraete, 2012). Además, la alta densidad de la superficie de las nanopartículas de hierro puede mejorar la adherencia de las bacterias a las fisuras, lo que a su vez acelera la precipitación de CaCO_3 .

Por otro lado, los resultados también sugieren que el mayor rendimiento de las nanopartículas de hierro puede estar vinculado a la conductividad térmica del material, que puede haber favorecido la actividad metabólica de las bacterias durante el proceso de curado. La temperatura del concreto durante el curado es un factor crucial para optimizar la reacción de hidrólisis de urea, que es el proceso que permite la formación de carbonato de calcio. Este hallazgo coincide con lo reportado por Okwadha y Li (2010), quienes señalaron que las temperaturas óptimas para la actividad de *Bacillus subtilis* se encuentran entre los 20°C y 37°C , un rango en el que las nanopartículas de hierro parecen desempeñar un papel favorable.

b). Agregado ligero y fibras naturales

Los métodos alternativos de protección bacteriana, como el agregado ligero y las fibras naturales, también mostraron resultados positivos, aunque con un rendimiento inferior en comparación con las nanopartículas de hierro. El agregado ligero, por ejemplo, ofrece beneficios en términos de reducción de peso del concreto y mejora en la trabajabilidad de la mezcla, pero su mayor porosidad podría haber limitado su efectividad en el encapsulamiento de las bacterias. Esto podría explicarse porque, aunque el agregado ligero tiene la capacidad de proteger a las bacterias del entorno hostil del concreto, su naturaleza porosa podría haber permitido que se produjeran filtraciones de agua o aire, disminuyendo la eficacia del autosellado.

Además, la mayor cantidad de material utilizado en el agregado ligero en comparación con las nanopartículas de hierro podría haber dificultado la movilidad de las bacterias, lo que resulta en una menor cantidad de CaCO_3 precipitado en las fisuras. El hecho de que la media de sellado para el agregado ligero (321.17 μm) sea significativamente menor que la de las nanopartículas de hierro (1,098 μm) refuerza esta hipótesis. Sin embargo, estos resultados también subrayan el potencial del agregado ligero como una opción viable cuando se buscan otros beneficios complementarios, como la reducción de peso y el aislamiento térmico, que son deseables en ciertas aplicaciones de construcción.

En el caso de las fibras naturales, los resultados obtenidos (media de 395 μm y mediana de 400 μm) sugieren un comportamiento intermedio en términos de sellado de fisuras. Las fibras, debido a su flexibilidad y capacidad de dispersión, pueden ayudar a cerrar las fisuras mecánicamente, lo que complementa la acción bacteriana de autosellado. Sin embargo, el menor rendimiento en comparación con las nanopartículas de hierro puede atribuirse a la estructura física de las fibras, que puede haber limitado la cantidad de bacterias que pudieron encapsularse de manera efectiva. Las fibras, al ser materiales más grandes y menos densos que las nanopartículas, podrían haber interferido en la distribución homogénea de las bacterias dentro del concreto, resultando en un sellado menos eficiente.

c) Aplicación directa de *Bacillus subtilis*

En cuanto a la aplicación directa de *Bacillus subtilis* sin protección adicional, los resultados fueron sorprendentes. La media de sellado de 379 μm y la mediana de 400 μm indican que, a pesar de la ausencia de un método de protección, la bacteria fue capaz de autosellar las fisuras de manera comparable a los métodos protegidos con agregado ligero y fibras naturales. Este hallazgo es significativo, ya que sugiere que la aplicación directa de *Bacillus subtilis* puede ser una alternativa viable en ciertos contextos donde la protección

bacteriana no sea una prioridad o cuando se desee reducir los costos asociados con el uso de materiales adicionales.

No obstante, es importante señalar que, si bien la aplicación directa muestra buenos resultados a corto plazo, su durabilidad a largo plazo podría verse comprometida. Las bacterias, al no estar encapsuladas, están más expuestas a las condiciones hostiles del concreto, como el alto pH y la falta de nutrientes. Aunque *Bacillus subtilis* ha demostrado ser capaz de sobrevivir en el concreto durante largos periodos gracias a su capacidad de formar esporas, la falta de protección podría reducir su viabilidad y, por ende, su capacidad de autosellado en el futuro.

d) Comparación del autosellado autónomo y autógeno

Una parte esencial de este estudio fue comparar el autosellado autónomo inducido por *Bacillus subtilis* con el autosellado autógeno, que ocurre naturalmente en el concreto debido a la hidratación de partículas de cemento no hidratadas. Los resultados mostraron que el autosellado autógeno, con una media de 116.63 μm , tiene un desempeño significativamente inferior al autosellado autónomo. Esto es consistente con investigaciones previas, que han señalado que el autosellado autógeno, aunque es un fenómeno presente en la mayoría de los concretos, depende en gran medida de factores como la composición de la mezcla, la proporción de agua-cemento, y las condiciones de curado.

El autosellado autógeno es, en esencia, un proceso pasivo que se basa en la capacidad inherente del cemento para formar productos de hidratación que pueden llenar pequeñas fisuras. Sin embargo, este proceso es limitado y, generalmente, insuficiente para sellar grietas más grandes o para garantizar la durabilidad a largo plazo del concreto. Por esta razón, los métodos de autosellado autónomo, que involucran la adición de bacterias, ofrecen una solución mucho más efectiva y duradera, ya que la actividad metabólica de las bacterias permite la

formación de CaCO_3 de manera controlada y sostenida, lo que resulta en un sellado más completo y duradero.

e). Implicaciones para futuras investigaciones

A la luz de los resultados obtenidos, es evidente que las nanopartículas de hierro ofrecen un método de protección bacteriana altamente efectivo para mejorar el autosellado de fisuras en concreto. Sin embargo, los métodos alternativos, como el agregado ligero y las fibras naturales, también tienen sus ventajas en términos de costos y otras propiedades complementarias del concreto. La aplicación directa de *Bacillus subtilis* sin protección adicional, aunque menos efectiva en términos de durabilidad, presenta una opción económica y fácil de implementar.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1. En conclusión, la adición de bacterias *Bacillus subtilis* en mezclas de concreto, ya sea protegidas o aplicadas directamente, ha demostrado ser una técnica eficaz para el autosellado autónomo de fisuras. Las bacterias protegidas, especialmente con nanopartículas de hierro, ofrecen el mejor desempeño en términos de sellado, superando a otros métodos como la protección con agregados ligeros o fibras. No obstante, la aplicación directa de las bacterias, aunque ligeramente menos efectiva, también proporciona un sellado comparable a estos métodos de protección. Además, se ha comprobado que la adición de *Bacillus subtilis* incrementa de manera significativa la resistencia a la compresión del concreto, independientemente del método de aplicación.
- 6.2. Para concluir, se ha encontrado que el tipo de mezcla utilizada (ya sea hormigón o mortero) no tiene una influencia significativa en el proceso de autosellado autónomo ni en el autosellado autógeno. Tanto el hormigón como el mortero presentan un comportamiento similar en cuanto a la capacidad de sellar fisuras, lo que sugiere que la adición de bacterias *Bacillus subtilis*, junto con su capacidad para precipitar CaCO_3 , no se ve afectada por el tipo de mezcla. Este hallazgo es especialmente importante, ya que ofrece flexibilidad en la selección de materiales para proyectos específicos sin comprometer los beneficios del autosellado bacteriano.
- 6.3. En conclusión, los resultados también indican que el autosellado autónomo, cuando se utiliza protección con nanopartículas de hierro, muestra una eficiencia notablemente mayor que el autosellado autógeno. La proporción de incremento del autosellado autónomo frente al autógeno es significativamente superior, con un 969% de mejora al

utilizar nanopartículas de hierro, lo que resalta la efectividad de este método avanzado en comparación con agregados ligeros y fibras. Estos métodos menos efectivos aún ofrecen incrementos del 275% y 286%, respectivamente, mientras que la aplicación directa de bacterias logra un incremento del 298%, lo que demuestra su viabilidad en diversas situaciones.

6.4. En conclusión, la temperatura de curado del concreto juega un papel clave en la eficacia del autosellado autónomo, ya que temperaturas más altas favorecen la actividad metabólica de las bacterias y, por ende, la precipitación de CaCO_3 . Este fenómeno se observa en las mezclas que utilizaron fibras, donde la temperatura de curado más elevada resultó en mejores valores de sellado. Esto subraya la importancia de controlar las condiciones de curado para maximizar los beneficios del autosellado bacteriano.

6.5 Finalmente, el análisis de la variación de la resistencia a la compresión (VRC%) confirma que la adición de bacterias *Bacillus subtilis* produce mejoras notables en la resistencia del concreto. Aunque tanto el hormigón como el mortero responden de manera similar a la adición de bacterias, la protección de estas bacterias durante su aplicación resulta en un incremento superior en la resistencia a la compresión. La aplicación protegida alcanza una media del 17.16%, mientras que la aplicación directa, aunque efectiva, alcanza una media de 14.90%. Esto refuerza la idea de que, para obtener resultados óptimos en términos de resistencia estructural, es recomendable proteger las bacterias durante su aplicación en el concreto.

VII. RECOMENDACIONES

- 7.1. Se recomienda realizar una serie de estudios experimentales adicionales que se centren en la adición directa de esporas de *Bacillus subtilis* a la mezcla de concreto. La finalidad de estos estudios es no solo validar los resultados obtenidos en investigaciones previas, sino también establecer un marco de referencia más sólido que permita generar resultados homogéneos y predecibles en diversas condiciones de aplicación. Estos experimentos deberían contemplar diferentes dosis de adición de esporas, así como explorar la interacción de las bacterias con los distintos componentes de la mezcla de concreto, como el tipo de cemento, los agregados y los aditivos. A través de este enfoque, se podría optimizar el rendimiento del autosellado, identificando las combinaciones más efectivas que maximicen tanto la precipitación de carbonato de calcio como la resistencia a la compresión. Además, es esencial documentar meticulosamente los protocolos experimentales y los resultados obtenidos para facilitar la replicabilidad de los estudios y la comparación entre diferentes enfoques.
- 7.2. Asimismo, se recomienda realizar experimentos controlados que varíen las temperaturas de curado del concreto en un rango de entre 10°C y 20°C. La investigación de cómo estas variaciones de temperatura afectan tanto el proceso de autosellado como las propiedades mecánicas del concreto es crucial. Al simular condiciones de curado que reflejen escenarios del mundo real, se logrará una mejor comprensión de cómo la temperatura influye en la actividad metabólica de *Bacillus subtilis* y en la eficacia de la precipitación de carbonato de calcio. Este tipo de investigación no solo proporcionará datos valiosos para el diseño experimental futuro, sino que también ofrecerá información crítica para la implementación práctica en proyectos de construcción. Se sugiere que estos experimentos se realicen en condiciones controladas y también en ambientes reales, para obtener una

visión completa del comportamiento del concreto con adición bacteriana bajo diferentes condiciones.

- 7.3. Por otra parte, es fundamental promover la estandarización de los experimentos en el ámbito académico y científico, con el objetivo de disminuir la variabilidad de los resultados y acelerar el proceso de transferencia de tecnología al campo de la construcción. Esta estandarización debe incluir la creación de protocolos claros y reproducibles que guíen a los investigadores en la realización de pruebas. Al establecer lineamientos específicos para el diseño experimental, la preparación de mezclas y la evaluación de resultados, se facilitará la comparación de datos entre diferentes estudios y se podrá consolidar un cuerpo de conocimiento más robusto en torno al autosellado bacteriano. Además, la colaboración entre instituciones académicas y centros de investigación puede ayudar a fomentar la creación de estándares internacionales que beneficien a la comunidad científica en su conjunto.
- 7.4. Finalmente, dado el carácter multidisciplinario del tema, se recomienda la formación de equipos de investigación compuestos por profesionales de diversas especialidades, como Ingeniería Civil, Biología, Química y Ciencia de Materiales. La colaboración entre estas disciplinas es crucial para abordar la problemática del autosellado de una manera integral. Los ingenieros civiles aportarán conocimientos sobre las propiedades y el comportamiento del concreto en diversas condiciones de carga y clima, mientras que los biólogos y químicos podrán profundizar en los aspectos microbiológicos y químicos del proceso de precipitación de carbonato de calcio. Esta sinergia no solo enriquecerá la investigación, sino que también facilitará el desarrollo de nuevos materiales y técnicas innovadoras que mejoren la durabilidad y sostenibilidad del concreto. Se sugiere que estas colaboraciones se formalicen mediante la creación de proyectos de investigación conjuntos y programas

de capacitación interdisciplinaria que fortalezcan las capacidades de todos los involucrados en el proceso.

VIII. REFERENCIAS

- Achal, V., Mukherjee, A., Kumari, D., y Zhang, Q. (2015). Biomineralization for Sustainable Construction – A Review of Processes and Applications. *Earth-Science Reviews*, 148, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2015.05.008>
- Adolphe, J., Loubiere, J., Paradas, J., y Soleilhavoup, F. (1990). *Paris Patente n° EP0388304B1*.
- Alarcón, E. (2019). *Influencia de la incorporación del aditivo bacteriano en la reparación del proceso de fisuración controlada del concreto*. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Alshalif, A., Irwan, J., Othman, N., y Anneza, L. (2016). Isolation of Sulphate Reduction Bacteria (SRB) to Improve Compress Strength and Water Penetration of Bio-Concrete. *MATEC Web of Conferences*, 47, 01016. [doi:https://doi.org/10.1051/mateconf/20164701016](https://doi.org/10.1051/mateconf/20164701016)
- Anbu, P., Kang, C., Shin, Y.-J., y So, J. (2016). Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. *Springer*, 5. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1869-2>
- Barabesi, C., Galizzi, A., Mastromei, G., y Rossi, M. (2007). Bacillus subtilis Gene Cluster Involved in Calcium Carbonate Biomineralization. *ResearchGate*.
- Benyus, J., y García, A. (2012). *Biomimesis innovaciones inspiradas por la naturaleza*. España: Tusquets-Dialnet.
- Bosak, T. (2011). Calcite Precipitation, Microbially Induced. *Encyclopedia of Geobiology*, 223–227. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9212-1_41
- Budde, I., Steil, L., Scharf, C., Völker, U., y Bremer, E. (2006). Adaptation of Bacillus subtilis to growth at low temperature: a combined transcriptomic and proteomic appraisal. *Microbiology*, 152(3), 831–853. <https://doi.org/10.1099/MIC.0.28530-0>

- Cailleux, E., y Pollet, V. (2009). Investigations on the development of self-healing properties in protective coatings for concrete and repair mortars. *2nd international conference on self-healing materials*, 120.
- Calavera, J. (2008). *Patología de Estructuras de Hormigón Armado y Pretensado*. Intemac.
- Castanier, S., Métayer, G., Perthuisot, y Jean, P. (1999). Ca-carbonates precipitation and limestone genesis — the microbiogeologist point of view. *Sedimentary Geology*, 126(1-4), 9-23. [https://doi.org/10.1016/S0037-0738\(99\)00028-7](https://doi.org/10.1016/S0037-0738(99)00028-7)
- Castro, M., Lopez, C., Garcia, S., Narayanasamy, R., Fajardo, G., Herrera, H., y Balagurusamy, N. (2018). Improved strength and durability of concrete through metabolic activity of ureolytic bacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 21451–21458. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9347-0>
- Chacón, V. (2017). Análisis de la resistencia del concreto utilizando bacterias del género bacillus y biopolímeros como bioreparador. *Universidad Nacional de Cajamarca*.
- Chandwani, A., y Allaire, C. (2018). Properties prediction of environmentally friendly ultra-high-performance concrete using artificial neural networks. *European Journal of Environmental and Civil Engineering*.
- Chandwani, V. (2015). Modeling slump of ready mix concrete using genetic algorithms assisted training of Artificial Neural Networks. *Expert Systems with Applications*.
- Ctuckrath, R. (2013). Auto-reparación del hormigón: mejorarla por medio de la precipitación de carbonato de calcio. *Pontificia Universidad Católica de Chile Conference Paper*.
- Cohen, J., Cohen, P., West, S., y Aiken, S. (2002). *Applied multiple regression/correlation analysis for the behavioral sciences* (3rd Edition ed.). New York: Behavioral Sciences, Mathematics & Statistics, Social Science. <https://doi.org/10.4324/9780203774441>

- Cooper, T. (2017). Alkaliphilic Bacillus species show potential application in concrete crack repair by virtue of rapid spore production and germination then extracellular calcite formation. *SFAM*.
- Core Team, R. (2018). A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.r-project.org/>
- De la Garza, J., Morales, B., y Gonzalez, B. (2013). Analisis estadístico multivariante. *McGraw Hill*, 712.
- Dhami, N, Reddy, M., y Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonate polymorphs by the bacterial strains isolated from calcareous sites. *Environmental Microbiology and Engineering*, 23(5), 707-714.
<https://doi.org/10.4014/jmb.1212.11087>
- Dhami, N, Reddy, M., y Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Front Microbiol*, 4, 1-13.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00314>
- Doostkami, H., Estacio, J. , Formagini, S., Roig, M., y Serna, P. (2022). Self-healing of concrete containing commercial bacteria by means of water and chlorides permeability. *MATEC Web of Conferences, Concrete Solutions 2022 – 8th International Conference on Concrete Repair, Durability & Technology*(361), 1-8.
<https://doi.org/10.1051/mateconf/202236105010>
- Eirini, Z. (2017). *Bio-based Self-healing Mortar: An Experimental and Numerical Study*.
- Fenga, J., Chen, B., Sun, W., y Wang, Y. (2021). Microbial induced calcium carbonate precipitation study using Bacillus subtilis with application to self-healing concrete preparation and characterization. *Construction and Building Materials*, 280, 122460.
<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.122460>

- Fontalvo, J. (2012). *Manual de prácticas de laboratorio: Microbiología general y aplicada*. Unimagdalena.
- Fujita, Y., Ferris, F., Lawson, R., Colwell, F., y Smith, R. (2011). Subscribed Content Calcium Carbonate Precipitation by Ureolytic Subsurface Bacteria. *Geomicrobiology Journal*, 17(4), 305-318. doi:<https://doi.org/10.1080/782198884>
- Gollapudi, U., Knutson, C., Bang, S., y Islam, M. (1995). A new method for controlling leaching through permeable channels. *Chemosphere*, 30(4), 695-705. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)00435-W](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)00435-W)
- González, Á., Parraguez, C., Corvalan, L., Correa, N., y Stuckrath, C. (2018). Hormigón autorreparable con bacterias para la infraestructura vial. En P. U. Chile (Ed.). Arica.
- Gorospe, C., Han, S.-H., Kim, S., Park, J., Kang, C., Jeong, J., y So, J. (2013). Effects of different calcium salts on calcium carbonate crystal formation by *Sporosarcina pasteurii* KCTC 3558. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 903–908. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0030-0>
- Hager, M. (2010). *Self-Healing Materials*. <https://doi.org/10.1002/adma.201003036>.
- Hammes, F., y Verstraete, W. (2002). Key roles of pH and calcium metabolism in microbial carbonate precipitation. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 1, 3–7. <https://doi.org/10.1023/A:1015135629155>
- Hernández, O., y Mendoza, C. (2005). Durabilidad e infraestructura: retos e impacto socioeconómico. *Ingeniería. Investigación y Tecnología*, 3(1), 57-70.
- Huang, H., Ye, G., Qian, C., y Schlangen, E. (2016). Self-healing in cementitious materials: Materials, methods and service conditions. *Materials and Design*(92), 499-511. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2015.12.091>

- Igarashi, S.-i., Kunieda, M., y Nishiwaki, T. (2009). Technical Committee on Autogenous Healing Cementitious Materials. *Conference on Construction Materials-Technical Committee Reports*, 91-102.
- Irwan, J., Anneza, L., Othman, N., Alshalif, A. F., Zamer, M., y Teddy, T. (2016). Calcium lactate addition in bioconcrete : Effect on compressive strength and water penetration. *MATEC Web of Conferences*, 78, 01027-01033. <https://doi.org/10.1051/matecconf/20167801027>
- Janek, M., Fronczyk, J., Pyzik, A., Szeląg, M., Panek, R., y Franus, W. (2022). Diatomite and Na-X zeolite as carriers for bacteria in self-healing cementitious mortars. *Construction and Building Materials*, 343, 128103. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2022.128103>
- Jiangac, J., Lu, Z., Niu, Y., Li, y Zhang, Y. (2016). Study on the preparation and properties of high-porosity foamed concretes based on ordinary Portland cement. *Materials & Design*, 92, 949-959. doi:<https://doi.org/10.1016/j.matdes.2015.12.068>
- Jonkers, H. (2007). Self Healing Concrete: A Biological Approach. *Self Healing Materials-Springer Series*, 100, 195–204. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6250-6_9
- Jonkers, H., y Schlangen, E. (2008). Development of a bacteria-based self healing concrete. *Construction Materials*, 425-430. doi:<http://dx.doi.org/10.1201/9781439828410.ch72>
- Jonkers, H., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., y Schlangen, E. (2010, February). Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecological Engineering*, 36(2), 230-235.
- Jonkers, H., Thijssen, A., Muyzer, G., Copuroglu, O., Schlangen, y Erik. S. (2010). Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecological Engineering*, 36(2), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.036>

- Jonkers, H., Thijssen, A., Muyzer, G., Oguzhan, C., y Schlangen, E. (2010). Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete. *Ecological Engineering*, 36(2), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.036>
- Joshi, A., Kumthekar, M., y Ghodake, V. (2016). Bacillus Subtilis Bacteria Impregnation in Concrete for Enhancement in Compressive Strength. *International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)*, 3(5), 1229-1234.
- Kanwal, M., Khushnood, R., Khaliq, W., Wattoo, A., y Shahid, T. (2022). Synthesis of pyrolytic carbonized bagasse to immobilize Bacillus subtilis; application in healing micro-cracks and fracture properties of concrete. *Cement and Concrete Composites*, 126, 104334. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2021.104334>
- Khaliq, W., y Ehsan, M. (2016). Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. *Construction and Building Materials*, 102(1), 349-357. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.11.006>
- Khaliq, W., y Ehsan, M. (2016). Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. *Construction and Building Materials*, 102(1), 349-357. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.11.006>
- Khushnood, R., Arif, A., Zafar, A., Hassan, T., y Akif, M. (2022). Bio-inspired self-healing and self-sensing cementitious mortar using Bacillus subtilis immobilized on graphitic platelets. *Construction and Building Materials*, 316, 125818. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.125818>
- Khushnood, R., Din, S., Shaheen, N., Ahmad, S., y Zarrar, F. (2018). Bio-inspired self-healing cementitious mortar using Bacillus subtilis immobilized on nano-/micro-additives. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, 30(1), 3-15. <https://doi.org/10.1177/1045389X18806401>

- Lowenstam, H. (1981). Minerals formed by organisms. *UNITE Science - MINERALS FORMED BY ORGANISMS*, 211(4487), 1126-1131.
<https://doi.org/10.1126/science.7008198>
- Madigan, T., Martinko, J., y Bender, K. (2015). *Brock biología de los microorganismos*. Santiago de Compostela: EDITORIAL PEARSON.
- Mahmood, F., Rehman, S., Jameel, M., Riaz, N., Javed, M. F., Salmi, A., y Awad, A. (2022). Self-Healing Bio-Concrete Using *Bacillus subtilis* Encapsulated in Iron Oxide Nanoparticles. *Materials*, 15(21), 7731. doi:<https://doi.org/10.3390/ma15217731>
- Mao, L., Lu, Y., Cui, M., Miao, S., y Gao, Y. (2019). Design of gel structures in water and oil phases for improved delivery of bioactive food in March 2019. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), 1651-1666.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1587737>
- Marsell, R., y Einhorn, T. (2011). The biology of fracture healing. *Injury*, 42(6), 551-555.
<https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.03.031>
- Meera, C., y Cheriyan, E. (2016). Durability and Self- Healing Behaviour of Bacterial Impregnated Concrete. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 5(8), 14887-14892.
<http://dx.doi.org/10.15680/IJRSET.2016.0508111>
- Meera, C., y Subha, V. (2016). Strength and durability assessment of bacteria based self-healing concrete. *IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering (IOSR-JMCE)*, 1-7.
- Méndez, M., Orsaria, L., Philippe, V., Pedrido, M. , y Grau, R. (2004). Novel roles of the master transcription factors Spo0A and sigmaB for survival and sporulation of *Bacillus subtilis* at low growth temperature. *J Bacteriol*, 186(4), 989-1000.
<https://doi.org/10.1128/jb.186.4.989-1000.2004>

- Merchán, F. (2020). Ciencia y técnica en la sociedad del siglo XXI. (II) Interrelaciones. *Torre de los Lujanes*(75), 255-272.
- Mitchell, J., y Santamarina, J. (2005). Biological Considerations in Geotechnical Engineering. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131(10). [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)1090-0241\(2005\)131:10\(1222\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-0241(2005)131:10(1222))
- Mondal, S., y Ghosh, A. (. (2018). Investigation into the optimal bacterial concentration for compressive strength enhancement of microbial concrete. *Construction and Building Materials*, 183, 202-214. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.06.176>
- Muller, V., Pacheco, F., Macedo Carvalho, C., Fernandes, F., Valiati, V. H., Espinosa Modolo, R. C., . . . Tutikian, B. F. (2022). Analysis of cementitious matrices self-healing with bacillus bacteria. *IBRACON Estrut. Mater.*, 15(4), 1-17. <https://doi.org/10.1590/S1983-41952022000400004>
- Muynck, D., Belie, D., y Verstraete, W. (2010). Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. *Ecological Engineering*, 36(2), 118-136. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.02.006>
- Naik, B., Shashikala, J., y Krishnamurthy, Y. (2009). Study on the diversity of endophytic communities from rice (*Oryza sativa* L.) and their antagonistic activities in vitro. *Microbiological Research*, 164(3), 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.12.003>
- Navarro, F. (2016). *Modelos predictivos de las características prestacionales de hormigones fabricados en condiciones industriales*. [Tesis doctoral no publicada]. Universitat Politècnica de València. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/67272>
- Navneet, A. (2011). Calcium carbonate precipitation by different bacterial strains. *Department of Biotechnology and Environmental Sciences*.

- Neville, A. (1999). Tecnología del Concreto, 1ª edición. *Instituto Mexicano del Cemento y del Concreto*, 185-200.
- Nguyen, N. , Kei-ichi, I., y Chizuru, K. (2022). Biomineralization analysis and hydration acceleration effect in self-healing concrete using *Bacillus subtilis* Natto. *Journal of Advanced Concrete Technology*, 20(10), 609-623. <https://doi.org/10.3151/jact.20.609>
- Nguyen, T., Ghorbel, E., Fares, H., y Cousture, A. (2019). Bacterial self-healing of concrete and durability assessment. *Cement and Concrete Composites*, 104, 103340. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2019.103340>
- Nishiwaki, T., Marina, M., Mihashi, H., y Kikuta, T. (2012). Experimental Study on Self-Healing Capability of FRCC Using Different Types of Synthetic Fibers.
- Okwadha, D., y Li, J. (2010). Optimum conditions for microbial carbonate precipitation. *Chemosphere*, 81(9), 1143-1148. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.066>
- Páramo, L., Narváez, J., y Ortega, B. (2015). La bioprecipitación de carbonato de calcio por la biota nativa como un método de restauración. *Nexo Revista Científica*, 28(1), 25–40. <https://doi.org/10.5377/nexo.v28i01.1779>
- Phillips, A., Gerlach, R., Lauchnor, E., Mitchell, A., Cunningham, A., y Spangler, L. (2013). Engineered applications of ureolytic biomineralization: a review. *Biofouling*, 29(6), 715-733. doi:<https://doi.org/10.1080/08927014.2013.796550>
- Porto, J. (2005). *Manual de Patologías en las Estructuras de Hormigón Armado*. Universidad de Coruña.
- Prasad, C., y Lakshmi, T. (2020). Experimental investigation on bacterial concrete strength with *Bacillus subtilis* and crushed stone dust aggregate based on ultrasonic pulse velocity. *Materials Today: Proceedings*, 27(2), 1111-1117. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.478>

- Qian, S. , Zhou, J., y Schlangen, E. (2010). Influence of curing condition and precracking time on the self-healing behavior of Engineered Cementitious Composites. *Cement and Concrete Composites*, 32(9), 686-693. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2010.07.015>
- Quinn, G., y Keough, M. (1991). Repeated Measures Analysis of Variance: A Comment on Beal and Khamis (1990). *JSTOR*, 93(1), 200-202. doi:<https://doi.org/10.2307/1368630>
- Rajczakowska, M., Habermehl, K., y Hedlund, H. (2019). Autogenous Self-Healing: A Better Solution for Concrete. *ASCE*.
- Rao, M. , Reddy, V., y Sasikala, C. (2017). Performance of Microbial Concrete Developed Using Bacillus Subtilus JC3. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series A*, 98, 501–510. <https://doi.org/10.1007/s40030-017-0227-x>
- Rauf, M., Khaliq, W., Khushnood, R., y Ahmed, I. (2020). Comparative performance of different bacteria immobilized in natural fibers for self-healing in concrete. *Construction and Building Materials*, 258, 119578. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.119578>
- Reddy, P., y Kavyateja, B. (2019). Experimental Study on Strength Parameters of Self Repairing Concrete. *International Information and Engineering Technology Association*, 43(5), 305-310. <https://doi.org/10.18280/acsm.430505>
- Rodriguez, C., Jroundi, F., Schiro, M., y Ruiz, E. (2012). Influence of Substrate Mineralogy on Bacterial Mineralization of Calcium Carbonate: Implications for Stone Conservation. *Appl Environ Microbiol*, 78(11), 4017–4029. <https://doi.org/10.1128%2FAEM.07044-11>
- Sahoo, K. , Arakha, M., Sarkar, P., Robin, D., y Jha, S. (2016). Enhancement of properties of recycled coarse aggregate concrete using bacteria. *International Journal of Smart and Nano Materials*, 7(1), 22-38. <https://doi.org/10.1080/19475411.2016.1152322>

- Sanjuán, M. , y Chinchón, S. (2014). *Introducción a la Fabricación y Normalización del Cemento portland*. España: Universidad de Alicante. Obtenido de URI: <http://hdl.handle.net/10045/45347>
- Sarmah, A., y Samani, A. (2018). Mechanical properties of bio self-healing concrete containing immobilized bacteria with iron oxide nanoparticles. *Appl. Microbiol. Biotech*, 4489-4498.
- Schlangen, E., Heide, N., y Breugel, K. (2006). Crack healing of early age cracks in concrete. *Measuring, Monitoring and Modeling Concrete Properties*, 273–284. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5104-3_32
- Schmets, J., Zaken, G., y Zwaag, S. (2007). *Self Healing Materials: An Alternative Approach to 20 Centuries of Materials Science January*. Delft: University of Technology, Springer.
- Schultze, S., Fortin, D., Davis, B., y Beveridge, T. (1996). Mineralization of bacterial surfaces. *Chemical Geology*, 132(1-4), 171-181. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(96\)00053-8](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(96)00053-8)
- Seifan, M., Samani, A., y Berenjian, A. (2016). Bioconcrete: next generation of self-healing concrete. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 2591-2602. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7316-z>
- Shaheen, N., Khushnood, R., y Din, S. (2018). Bioimmobilized Limestone Powder for Autonomous Healing of Cementitious Systems: A Feasibility Study. *Smart Buildings and Construction Materials*, 2018, 7049121. <https://doi.org/10.1155/2018/7049121>
- Shaheen, N., Khushnood, R., Khaliq, W., Murtaza, H., Iqbal, R., y Khan, M. (2019). Synthesis and characterization of bio-immobilized nano/micro inert and reactive additives for feasibility investigation in self-healing concrete. *Construction and Building Materials*, 226, 492-506. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.202>

- Sierra, M., Jonkers, H., y Schlangen, E. (2014). Characterization of sustainable bio-based mortar for concrete repair. *Construction and Building Materials*, 67(C), 344-352. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.01.012>
- Singh, H., y Gupta, R. (2020). Cellulose fiber as bacteria-carrier in mortar: Self-healing quantification using UPV. *Journal of Building Engineering*, 28, 101090. <https://doi.org/10.1016/j.jobbe.2019.101090>
- Souid, A., Esaker, M., Elliott, D., y Hamza, O. (2019). Experimental data of bio self-healing concrete incubated in saturated natural soil. Data in brief. *Data in Brief*, 26, 104394-26. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104394>
- Steven, H., Kosmatka, T., Kerkhoff, B., y Panarese, W. (2004). *Diseño y control de mezclas de concreto*. México: Portland Cement Association.
- Stocks, S., Galinat, J. K., y Bang, S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), 1563-1571. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6)
- Thompson, J., y Ferris, F. (1990). Cyanobacterial precipitation of gypsum, calcite, and magnesite from natural alkaline lake water. *GeoScienceWorld*, 18(10), 995–998. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1990\)018%3C0995:CPOGCA%3E2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1990)018%3C0995:CPOGCA%3E2.3.CO;2)
- Tortora, G., Funke, B. R., y Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología 9a EDICIÓN*. Ed. Médica Panamericana.
- Tziviloglou, E., Tittelboom, K., Palin, D., Wang, J., Sierra-Beltrán, M. G., Erşan, Y. Ç., . . . Belie, N. (2016). Bio-Based Self-Healing Concrete: From Research to Field Application. (M. v. Hager, Ed.) *Self-healing Materials. Advances in Polymer Science*, 237, 345–385. https://doi.org/10.1007/12_2015_332
- Wang, J. (2014). Application of hydrogel encapsulated carbonate precipitating bacteria for approaching a realistic self-healing in concrete. *Constr. Build. Mater*, 110-119.

- Wang, J., Belie, N. , y Verstraete, W. (2012). Diatomaceous earth as a protective vehicle for bacteria applied for self-healing concrete. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 39(4), 567–577. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-1037-1>
- Wang, J., Mignon, A., y Snoeck, D. (2015). Application of modified-alginate encapsulated carbonate producing bacteria in concrete: a promising strategy for crack self-healing. *Frontiers in Microbiology*.
- Wang, J., Soens, H., Verstraete, W., y Belie, N. (2014). Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. *Cement and Concrete Research*, 56, 139-152. <https://doi.org/10.1016/j.cemconres.2013.11.009>
- Wang, J., Tittelboom, K., Belie, N. D., y Verstraete, W. (2012). Use of silica gel or polyurethane immobilized bacteria for self-healing concrete. *Construction and Building Materials*, 26(1), 532-540. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2011.06.054>
- Xu, H., Lian, J., Gao, M., Fu, D., y Yan, Y. (2019). Self-Healing Concrete Using Rubber Particles to Immobilize Bacterial Spores. *Materials*, 2313.
- Xu, J., y Yao, W. (2010, October). Conductive mortar as anode material for cathodic protection of steel in concrete. *Journal of Wuhan University of Technology*, 25, 883–888. <https://doi.org/10.1007/s11595-010-0113-0>
- Yang, Y., Lepech, M., Yang, E., y Li, V. (2009). Autogenous healing of engineered cementitious composites under wet–dry cycles. *Cement and Concrete Research*, 39(5), 382-390. <https://doi.org/10.1016/j.cemconres.2009.01.013>
- Yang, Z., Hollar, J., He, X., Shi, y Xianming. (2011). A self-healing cementitious composite using oil core/silica gel shell microcapsules. *Cement and Concrete Composites*, 33(4), 506–512. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2011.01.010>
- Yepes, V., Díaz, J., Gonzalez-Vidosa, F., y Alcalá, J. (2009). Statistical Characterization of Prestressed Concrete Road Bridge Decks. *Revista de la Construcción*, 8(2), 95-109.

- Zhanga, J., Liu, Y., Feng, T., Zhou, M., Zhao, L., Zhou, A., y Li, Z. (2017). Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete. *Construction and Building Materials*, 148, 610-617. doi:<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.05.021>
- Zhanga, J., Liu, Y., Feng, T., Zhou, M., Zhao, L., Zhou, A., y Li, Z. (2017). Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete. *Construction and Building Materials*, 148, 610-617. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.05.021>
- Zhanga, J., Liu, Y., Feng, T., Zhou, M., Zhao, L., Zhou, A., y Li, Z. (2017). Immobilizing bacteria in expanded perlite for the crack self-healing in concrete. *Construction and Building Materials*, 15.
- Zwaag, B., Staal, W., Hochstenbach, R., Poot, M., Spierenburg, H., Jonge, M., . . . Burbach, J. (2010). A co-segregating microduplication of chromosome 15q11.2 pinpoints two risk genes for autism spectrum disorder. *American Journal of Medical Genetics, Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 153B(4), 960–966. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31055>
- Zwaag, V. d. (2007). *Self Healing Materials*. Springer Series in Materials Science.

IX. ANEXOS

Anexo A: Matriz de Consistencia

Influencia de la Adición de Bacterias Bacillus Subtilis en la Autoreparación de Grietas del Concreto				
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	Variables Principales	
<p>Problema General.</p> <p>¿De qué manera influyen la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión debido a la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar la influencia de la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas a la mezcla de concreto, en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la prestación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana a través de un análisis documental de experimentos.</p>	<p>Hipótesis principal</p> <p>La adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas, aplicadas a la mezcla de concreto, influye significativamente en la autoreparación de grietas y mejora de la resistencia a la compresión del concreto debido a la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana.</p>	<p>Variables independientes</p> <p>X: Adición de bacterias Bacillus Subtilis encapsulada</p>	<p>Variable dependiente</p> <p>Y: Autorreparación del concreto</p>
			<p>Dimensiones de X</p> <p>X1: Número de Bacteria B. Subtilis X2: Agente reparador</p>	<p>Dimensiones de Y</p> <p>Y1: Relleno de grietas Y2: Propiedades mecánicas.</p>
<p>Problemas específicos</p> <p>a. ¿Cuál es la influencia del tipo de mezcla en el auto sellado autónomo y autogeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente?</p> <p>b. ¿Cuál es la influencia de la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, ¿en el auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana?</p>	<p>Objetivos específicos</p> <p>a. Evaluar la influencia del tipo de mezcla en el auto sellado autónomo y autogeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente.</p> <p>b. : Evaluar la influencia de la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>c. Determinar la influencia de la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas directamente a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas, debido a la precipitación de CaCO3</p>	<p>Hipótesis específicas</p> <p>a. El tipo de mezcla influye significativamente en el auto sellado autónomo y autogeno de grietas en el concreto, debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas a la mezcla de concreto a causa de la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana, y, debido a la hidratación de las partículas de cemento no hidratadas, respectivamente.</p> <p>b. La adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas en: agregado ligero, fibras, y nano partículas de hierro, aplicadas a la mezcla de concreto, influye significativamente en el auto sellado autónomo de grietas en el concreto debido a la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>c. No tiene hipótesis.</p> <p>d. : No tiene hipótesis.</p>	<p>Indicadores de X</p> <p>Valor final de X</p>	<p>Indicadores de Y</p> <p>Valor final de Y</p>
			<p>X1: Concentración de bacterias B, Subtilis. X2: Agente reparador (adición del 2% a 8% del peso de cemento)</p>	<p>Y1: Ancho de relleno de grietas. Y2: Resistencia a compresión.</p>

<p>c. ¿Cuál es la influencia de la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas directamente a la mezcla de concreto, en el auto sellado autónomo de grietas, debido a la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana?</p> <p>d. ¿En qué proporción el auto sellado autónomo debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, mejora respecto al auto sellado autógeno de grietas debido a la precipitación de CaCO3?</p> <p>e. ¿De qué manera influye la temperatura de curado en el autosellado Autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO3 debido a la actividad metabólica bacteriana?</p> <p>f. : ¿Cuál es la influencia del tipo de mezcla en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana?</p> <p>g. ¿De qué manera influye la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas a la mezcla de concreto, en la variación de la resistencia a la compresión?</p>	<p>producto de la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>d. Determinar en qué proporción el auto sellado autónomo debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, mejora respecto al auto sellado autógeno de grietas debido a la precipitación de CaCO3.</p> <p>e. Evaluar de qué manera influye la temperatura de curado en el autosellado autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO3 debido a la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>f. Evaluar la influencia del tipo de mezcla en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>g. Evaluar de qué manera influye la adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas a la mezcla de concreto, en la variación de la resistencia a la compresión..</p>	<p>e. La temperatura de curado influye significativamente en el autosellado Autónomo de grietas en el concreto, producto de la precipitación de CaCO3 debido a la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>f. El tipo de mezcla influye significativamente en la variación de la resistencia a la compresión del concreto, debido a la adición de bacterias Bacillus subtilis protegidas y no protegidas aplicadas a la mezcla de concreto, a causa de la precipitación de CaCO3 producto de la actividad metabólica bacteriana.</p> <p>g. La adición de bacterias Bacillus subtilis aplicadas a la mezcla de concreto, influye significativamente en la variación de la resistencia a la compresión..</p>	
---	---	---	--

METODOLOGÍA
 Tipo de investigación: Puro o básico, cuantitativo. Nivel: Correlacional-predictivo.
 Diseño: No experimental– Documental.
 Población: 100%. Todos los artículos específicos seleccionados (15 Artículos)
 Muestra: 100%. Todos artículos específicos seleccionados (15 Artículos)
 Muestreo: No Probabilístico-Por conveniencia

Anexo B: Instrumento de recolección de datos

Datos de los artículos de investigación seleccionados para concretar el propósito del estudio						
Nro	Título	Autores	Año	Revista/Institución	Citas	Referencias
1	Synthesis and characterization of bio-immobilized nano-inert and reactive additives for feasibility research in self-curing concrete Síntesis y caracterización de aditivos bio inmovilizados nano inertes y reactivos para la investigación de viabilidad en hormigón autocurante	Nafeesa Shaheen, Rao Arsalan Khushnood, Wasim Khaliq, Habib Murtaza, Rafay Iqbal, Muhammad Humza Khan.	2019	Construcción y materiales de construcción 226 (2019) 492–506 página de inicio de la revista: www.elsevier.com/locate/conbuildmat Universidad Nacional de Ciencias y Tecnología (NUST), Sector H-12, Islamabad 44000, Pakistán	18	85
2	Cellulose fiber as a carrier of bacteria in mortar-quantification of self-healing by UPV Fibra de celulosa como portador de bacterias en el mortero- cuantificación de autocuración mediante UPV	Harshbab Singh, Rishi Gupta	2020	Journal of Building Engineering 28 (2020) 101090 Disponible revista Página de inicio: http://www.elsevier.com/locate/jobee Departamento de Ingeniería Civil, Universidad de Victoria, 3800 Finnerty Road, Victoria, BC, V8P 5C2, Canadá	36	50
3	Comparative performance of different bacteria immobilized on natural fibers for self-healing in concrete Rendimiento comparativo de diferentes bacterias inmovilizadas en fibras naturales para la autocuración en hormigón	Momina Rauf, Wasim Khaliq, Rao Arsalan Khushnood, Iftikhar Ahmed si	2020	Construcción y materiales de construcción 258 (2020) 119578 página de inicio de la revista: http://www.elsevier.com/locate/combuildmat Universidad Nacional de Ciencias y Tecnología (NUST), Islamabad, Pakistán	74	68
4	The healing of cracks in concrete using various self-healing techniques with biological influence La curación de grietas en el hormigón utilizando diversas técnicas de autocuración con influencia biológica	Wasim Khaliq, Muhammad Basit Ehsan	2016	Construcción y materiales de construcción 102 (2016) 349–357 página de inicio de la revista: www.elsevier.com/localizar/conbuildmat Universidad Nacional de Ciencias y Tecnología (NUST), Islamabad, Pakistán	189	27
5	Bacterial self-healing of concrete and durability evaluation Auto curación bacteriana del hormigón y evaluación de durabilidad	Thanh Ha Nguyen, Elhem Ghorbel, Hanaa Fares, Annelise Cousture.	2019	Compuestos de cemento y concreto 104 (2019) 103340 revista Página de inicio: www.elsevier.com/locate/cemconcomp Universidad de Cergy Pontoise, 5 Mail Gay Lussac, Neuville, Oise, 95031, Francia	51	66

6	Performance of microbial concrete developed with Bacillus Subtilis JC3 Rendimiento del hormigón microbiano desarrollado con Bacillus Subtilis JC3	MV Seshagiri Rao, V. Srinivasa Reddy & Ch. Sasikala	2017	Journal of the Institution of Engineers (India): Series A Consulte esta publicación en: https://www.researchgate.net/publication/320392361 Universidad Tecnológica Jawaharlal Nehru Escuela de Ingeniería de Hyderabad, India	42	13
7	Experimental investigation on bacterial concrete strength with Bacillus subtilis and crushed stone dust aggregate based on ultrasonic pulse velocity Investigación experimental sobre la resistencia bacteriana del hormigón con Bacillus subtilis y agregado de polvo de piedra triturada basado en la velocidad del pulso ultrasónico	C. Venkata Shiva Rama Prasada,, TVS Vara LakshmiB	2020	Instituto de Tecnología Vignana Bharathi (autónomo), Aushapur, Ghatkesar, RR District, Hyderabad, Telangana 501301, India https://www.researchgate.net/publication/339296758 DO - 10.1016/j.matpr.2020.01.478	44	13
8	Research on the optimal bacterial concentration to improve the compressive strength of microbial concrete Investigación sobre la concentración bacteriana óptima para mejorar la resistencia a la compresión del hormigón microbiano	Sandip Mondal, Aparna (Dey) Ghosh		Departamento de Ingeniería Civil, Instituto Indio de Ciencia y Tecnología de la Ingeniería, Shibpur, Howrah 711103, Bengala Occidental, India https://doi.org/10.1016/J.CONBUILDMAT.2018.06.176 DOI:10.1016/J.CONBUILDMAT.2018.06.176	118	27
9	Experimental study on resistance parameters of self-healing concrete Estudio experimental sobre parámetros de resistencia del hormigón autorreparable	Panga Narasimha Reddy, Bode Venkata Kavyateja	2019	Annales de Chimie - Science des Matériaux Vol. 43, No. 5, octubre de 2019, págs.305-310 Página de inicio de la revista: http://iieta.org/journals/acsm Instituto Nacional de Tecnología, Srinagar, Cachemira, India	45	31
10	Evaluation of strength and durability of bacteria-based self-healing concrete Evaluación de resistencia y durabilidad del hormigón autocurativo a base de bacterias	Meera, C. M., & Subha, V.	2016	<i>Universidad de Ciencia y Tecnología de Cochin</i> www.iosrjournals.org e-ISSN: 2278-1684, p-ISSN: 2320-334X,	17	12
11	Improvement of the properties of recycled coarse aggregate concrete through the use of Bacteria	Kirti Kanta Sahoo, Manoranjan Arakha, Pradip Sarkar,	2016	Consulte esta publicación en: https://www.researchgate.net/publication/298730756 http://dx.doi.org/10.1080/19475411.2016.1152322	29	56

	Mejora de las propiedades del hormigón de áridos gruesos reciclado mediante el uso de Bacterias	Robin Davis P, y Suman Jha		Instituto Nacional de Tecnología Rourkela, Rourkela, India.		
12	Biomining Analysis and Hydration Acceleration Effect in Self-healing Concrete using Bacillus subtilis natto Análisis de Biomineralización y Efecto de Aceleración de la Hidratación en Concretos Autor generables usando Bacillus subtilis natto	NNT Huynh, K. Imamoto y C. Kiyohara	2022	JO - Journal of Advanced Concrete Technology .VL - Vol. 20 DO - 10.3151/jact.20.609 https://www.researchgate.net/publication/364060427 Ho Chi Minh City University of Technology	12	54
13	Analysis of self-repairing cementitious matrices with bacillus bacteria Análisis de matrices cementosas autorreparables con bacilo bacterias	V. Müller et al.	2022	Rev. IBRACON Estrut. Mate., vol. 15, núm. 4, e15404, 2022, https://doi.org/10.1590/S1983-41952022000400004 Universidade do Vale do Rio do Sinos Basil. Programa de Pós-graduação Instituto Brasileiro do Concreto (IBRACON), Av. Queiroz Filho, 1700		73
14	Synthesis of pyrolytic charred bagasse to immobilize Bacillus subtilis; application in the healing of microcracks and fracture properties of concrete Síntesis de bagazo carbonizado pirólítico para inmovilizar Bacillus subtilis; aplicación en la curación de micro fisuras y propiedades de fractura del hormigón	maria kanwala, Rao Arsalan Khushnooda*, Wasim Jaliqa, Abdul Ghafar Wattoob,C, Tauseef ShahidC	2022	Cement and Concrete Composites Volume 126, February 2022, 104334 https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2021.104334 NUST Institute of Civil Engineering (NICE Technology and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 315201, China	46	79
15	Self-Healing Bio-Concrete Using Bacillus subtilis Encapsulated in Iron Oxide Nanoparticles. Materials Bioconcreto autorreparable Bacillus subtilis Encapsulado en Nanopartículas de Óxido de Hierro	Mahmud, F.; Kashif Ur Rehman, S.; Jameel, M.; Riaz, N.; Javed, MF; Salmi, A.; Awad,	2022	DOI: 10.3390/ma15217731 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36363323/ Departamento de Ingeniería Civil, COMSATS University Islamabad, Abbottabad Campus, Abbottabad 22060, Pakistán	16	63

16	<p>Self-regeneration of concretes with commercial bacteria through water and chloride permeability</p> <p>Autoregeneración de hormigones con bacterias comerciales mediante permeabilidad al agua y a los cloruros</p>	<p>HesamDoostkami1*, Javier de Jesús Estacio Cumberbatch1,</p>	2022	<p>MATEC Web Conf. Volume 361, 2022</p> <p>https://doi.org/10.1051/mateconf/202236105010</p> <p>Universidad Politécnica de València, Instituto de Ciencia y Tecnología del Hormigón, Valencia, España,</p>	4	18
17	<p>Diatomite and zeolite Na-X as carriers of bacteria in mortars self-healing cementitious</p> <p>Diatomita y zeolita Na-X como portadores de bacterias en morteros cementosos autoregenerables</p>	<p>Martyna Janek,Joanna Fronczyk,Adam Pyzik,Maciej Szeląg,Rafał Panek,Wojciech Franus</p>	2022	<p>Received 29 March 2022, Revised 3 June 2022, Accepted 9 June 2022, Available online 14 June 2022, Version of Record 14 June 2022.</p> <p>https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2022.128103</p> <p>Universidad Tecnológica de Lublin, Facultad de Ingeniería Civil y Arquitectura, 40 Nadbystrzycka Str., 20-618 Lublin, Polonia</p>	21	40
18	<p>Bio-inspired, self-healing and self-detecting cementitious mortar using Bacillus Subtilis immobilized in graphitized platelets</p> <p>Mortero cementoso bioinspirado, autorreparador y auto detector que utiliza Bacillus Subtilis inmovilizado en plaquetas grafitadas</p>	<p>Rao Arsalan Khushnood, Ajmal Arif, Nafeesa Shaheen, Ahmad Gul Zafar,Talal Hassan, Muhammad Akif.</p>	2021	<p>Received 11 August 2021, Revised 6 November 2021, Accepted 22 November 2021, Available online 10 December 2021, Version of Record 10 December 2021.</p> <p>https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.125818</p> <p>NUST Institute of Civil Engineering (NICE), School of Civil and Environmental Engineering (SCEE), National University of Sciences and Technology (NUST), Sector H-12, Islamabad 44000, Pakistan</p>	16	84
19	<p>Self-healing cementitious mortar bioinspired based on Bacillus subtilis Immobilized in nano-/micro-additives</p> <p>Mortero cementoso autorreparador bioinspirado a base deBacillus subtilis inmovilizado en nano-/micro-aditivos</p>	<p>Rao Arsalan Khushnood1, Siraj ud din2, Nafeesa Shaheen2, Sayyad Ahmad1y Filza Zarrar3</p>	2019	<p>Revista de sistemas y estructuras de materiales inteligentes,2019, vol. 30(1) 3–15</p> <p>https://doi.org/10.1155/2018/7049121</p> <p>Smart Buildings and Construction Materials</p>	35	50

Anexo C: Resumen de los estudios en aplicaciones experimentales de los 19 Artículos

N	Artículo	Citas	Tipo mezcla. Protección	Concentración Células/ml	Ensayo in situ	Autosellado. Variación de resistencia	Institución
1	(Shaheen, et al., 2019)	18	Micropartículas de óxido de hierro	2.3*10E+8	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Politécnico de Torino, Italia
2	(Singh & Gupta, 2020)	36	Fibras de micro celulosa	1.3*10 ⁷	X UPV	VRC (%) Sellado (µm)	Universidad de Victoria, Canadá
3	: (Rauf, Khaliq, Khushnood, & Ahmed, 2020)	74	-Fibra de coco -Fibra de linaza -Fibra de yute	6*10E+8	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Universidad de C&T-Pakistan
4	(Khaliq & Ehsan, 2016)	189	-Agregado ligero -Aplicación directa	3*10E+8	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	(NUST), Islamabad, Pakistán
5	(Nguyen, Ghorbel, Fares, & Cousture, 2019)	51	-Aplicación directa	1*10E+8-	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Universidad de Cergy Pontoise, Francia
6	: (Rao, Reddy, & Sasikala, 2017)	42	-Aplicación directa	1*10E+5	X SEM	-VRC (%) ----- -	Institución de Ingenieros (India)
7	: (Prasad & Lakshmi, 2020)	44	Polvo de piedra	1*10E+5	UPV SEM	VRC (%) -----	Instituto de Tecnología, India
8	(S. Mondal, A. Ghosh, 2018)	118	-Aplicación directa	1*10E+4 1*10E+5 1*10E+6	XRD SEM	VRC (%) -----	Indian Institute of Engineering
9	(Reddy & Kavyateja, 2019)	45	-Aplicación directa	1*10E+4 1*10E+5 1*10E+6	X X	VRC (%) -----	Instituto Nal. Tec. de Srinagar
10	(Meera & Dr. Subha, 2016)	53	-Aplicación directa	1*10E+3 1*10E+6 1*10E+7	XRD SEM	VRC (%) -----	Universidad Tecnológica India
11	(Sahoo, Arakha, Sarkar, Robin, & Jha, 2016)	51	-Agregado ligero	1*10E+7	X X	VRC (%) -----	Institute of Technology Rourkela https://tus.elsevierpure.com/en/organizations/tokyouniversityofscience

12	Huynh, N. N. T., Imamoto, K. I., & Kiyohara, C. (2022).	12	-Perlita expandida	1*10E+6 1*10E+7 1*10E+8	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Tokio University of Science
13	: (Muller, et al., 2022)	73	-Biocarbon -Aplicación directa	1.2*10E+6 1.2*10E+7	X SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Engenharia Civil, São Leopoldo, RS, Brasil
14	(Kanwal, Khushnood, Khaliq, Wattoo, & Shahid, 2022)	46	Nanopartículas de hierro	2.8*10E+3 2.8*10E+6 2.8*10E+9	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Instituto, Islamabad, Pakistan
15	Kashif, et al.,2022)	16	Tierra de diatomea	5.3*10E+10 5.3*10E+10	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	King Khalid University, Abha Arabia
16	(Doostkami, Estacio Cumberbatch, Formagini, Roig- Flores, & Serna, 2022)	5	-Tierra de diatomea -Zeolita	4.97*10E+6 2.33*10E+8 1.44*10E+7	XRD SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Universitat Politècnica de València.España
17	(Janek, et al., 2022)	21	Nano plaquetas de grafito	1.2*10E+6 1.2*10E+7	X SEM	VRC (%) Sellado (µm)	Universidad Tecnológica de Lublin,Polonia
18	(Khushnood, Arif, Zafar, Hassan, & Akif, 2022)	17	-Nano partículas hierro -Polvo de roca	6.3*10E+6	FRX X	VRC (%) -----	University of Sciences and Technology. Pakistan
19	(Khushnood, Din, Shaheen, Ahmad, & Zarrar, 2018)	35	-Nano partículas hierro	6.0*10E+6	FESE M	VRC (%) -----	Politecnico di Torino, Turin, Italy

Anexo D: Cuadro base de datos para determinar el autosellado autónomo

Tabla

Cuadro base de datos para determinar el autosellado autónomo

Tipo_Mez	AC	C/Agre	Protección	Abacterias	Tcurado	#Bacterias	CAutónomo28d
1	0.40	0.244	1	5.90	25.00	2.3E+08	1200.00
1	0.40	0.244	2	5.90	25.00	2.3E+08	440.00
1	0.45	0.215	1	13.00	25.00	6.0E+08	400.00
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Tabla

Cuadro base de datos para determinar el autosellado autógeno

Tipo_Mez	A/C	C/Agre	Protección	Tcurado	CAutogeno28d
1	0.40	0.244	1	25.00	90.00
2	0.50	0.330	1	23.20	160.00
1	0.45	0.215	1	25.00	200.00
-----	-----	-----	-----	-----	-----

Tabla

Cuadro base de datos para determinar la variación de la resistencia a la compresión

Tipo_Mez	AC	C/Agre	Protección	Abacterias	Tem_Curado	Bacterias	VRC
1	0.40	0.244	1	5.90	25.00	2.3E+08	16.60
1	0.40	0.244	2	5.90	25.00	2.3E+08	8.10
2	0.50	0.330	1	5.50	23.20	1.3E+07	33.00
1	0.45	0.215	1	13.00	25.00	6.0E+08	18.60
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Tabla

Número de datos considerados en el análisis estadístico, corresponde a los especímenes experimentales sometidos a pruebas y a los promedios mínimo de tres pruebas.

Prueba experimental	Número de especímenes	Promedio de especímenes
Autosellado autónomo	93	31
Autosellado autógeno	57	19
Variación de la resistencia	177	59

Anexo E: Base para procesamiento de datos

DATOS:

Tipo mezcla	Relación A/C	Relación C/Agre	Tipo Protección	ABacterias	Tem Curado	#Bacteris (UFC)	CAutónomo28d	Tipo de Aplicación
1.00	0.40	0.244	1.00	5.90	25.00	230000000.00	1200.00	Nano partículas de hierro
1.00	0.40	0.244	1.00	5.90	25.00	230000000.00	90.00	Atípico
1.00	0.40	0.244	2.00	5.90	25.00	230000000.00	440.00	Aplicación directa
2.00	0.50	0.330	1.00	5.50	23.20	13000000.00	280.00	Fibra
1.00	0.45	0.215	1.00	13.00	25.00	600000000.00	400.00	Fibra
1.00	0.45	0.215	1.00	13.00	25.00	600000000.00	400.00	Fibra
1.00	0.45	0.215	1.00	13.00	25.00	600000000.00	500.00	Fibra
1.00	0.40	0.202	1.00	6.33	23.00	300000000.00	520.00	Agregado ligero
1.00	0.40	0.202	1.00	6.33	23.00	300000000.00	380.00	Agregado ligero
1.00	0.40	0.202	2.00	6.33	23.00	300000000.00	155.00	Aplicación directa
1.00	0.52	0.190	2.00	2.73	23.00	100000000.00	300.00	Aplicación directa
2.00	0.40	0.330	2.00	---	27.00	1000.00	520.00	Aplicación directa
2.00	0.40	0.330	2.00	---	27.00	100000.00	800.00	No cumple
2.00	0.40	0.330	2.00	---	27.00	10000000.00	1200.00	No cumple
2.00	0.40	0.240	1.00	19.98	23.20	60000000.00	1500.00	Atípico
2.00	0.37	1.000	1.00	18.50	23.00	3000000.00	460.00	Agregado ligero
2.00	0.37	1.000	1.00	18.50	23.00	30000000.00	220.00	Agregado ligero

2.00	0.37	1.000	1.00	18.50	23.00	300000000.00	200.00	Agregado ligero
1.00	0.40	0.210	1.00	10.28	23.00	1200000.00	500.00	Agregado ligero
1.00	0.40	0.210	2.00	10.28	23.00	1200000.00	400.00	Aplicación directa
1.00	0.42	0.250	1.00	25.80	20.00	2800.00	970.00	Nano partículas de hierro
1.00	0.42	0.250	1.00	25.80	20.00	2800000.00	1035.00	Nano partículas de hierro
1.00	0.42	0.250	1.00	25.80	20.00	2800000000.00	1155.00	Nano partículas de hierro
1.00	0.66	0.150	1.00	7.50	20.00	53000000000.00	300.00	Agregado ligero
1.00	0.66	0.150	1.00	15.00	20.00	53000000000.00	200.00	Agregado ligero
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	4970000.00	280.00	Agregado ligero
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	23300000.00	300.00	Agregado ligero
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	14400000.00	154.00	Agregado ligero
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	28100000.00	340.00	Agregado ligero
2.00	0.45	0.480	1.00	10.20	25.00	1200000.00	1130.00	Nano partículas de hierro
2.00	0.45	0.480	2.00	10.20	25.00	1200000.00	600.00	Aplicación directa

Tipo mezcla	Relación A/C	Relación C/Agre	Tipo Protección	TCurado	CAutógeno28d
1.00	0.40	0.244	1.00	25.00	1200.00

Tipo mezcla	Relación A/C	Relación C/Agre	Tipo Protección	TCurado	CAutógeno28
				25.00	90.00
				25.00	90.00
				25.00	90.00

					23.20	160.00
					25.00	200.00
					25.00	200.00
					25.00	200.00
					23.00	50.00
					23.00	50.00
					23.00	50.00
					23.00	140.00
					23.00	100.00
					23.00	100.00
					20.00	124.00
					20.00	124.00
					20.00	124.00
					20.00	124.00
					25.00	100.00
					25.00	100.00

Tipo mezcla	Relación A/C	Relación C/Agre	Tipo Protección	ABacterias	TCurado	#Bacteris (UFC)	VRC.28d
1.00	0.40	0.244	1.00	5.90	25.00	230000000.00	16.60
1.00	0.40	0.244	1.00	5.90	25.00	230000000.00	9.40
1.00	0.40	0.244	2.00	5.90	25.00	230000000.00	8.10
2.00	0.50	0.330	1.00	5.50	23.20	13000000.00	-33.00
1.00	0.45	0.215	1.00	13.00	25.00	600000000.00	36.60
1.00	0.45	0.215	1.00	13.00	25.00	600000000.00	25.40
1.00	0.45	0.215	1.00	13.00	25.00	600000000.00	18.60
1.00	0.40	0.202	1.00	6.33	23.00	300000000.00	11.30
1.00	0.40	0.202	1.00	6.33	23.00	300000000.00	9.40
1.00	0.40	0.202	2.00	6.33	23.00	300000000.00	4.20
1.00	0.52	0.190	2.00	2.73	23.00	100000000.00	15.10

1.00	0.52	0.172	2.00	20.00	23.00	10000.00	11.99
1.00	0.52	0.172	2.00	20.00	23.00	100000.00	16.15
1.00	0.52	0.172	2.00	20.00	23.00	1000000.00	10.43
1.00	0.52	0.172	2.00	20.00	23.00	10000000.00	5.51
2.00	0.45	0.200	1.00	19.50	26.00	100000.00	9.00
2.00	0.45	0.200	1.00	39.00	26.00	100000.00	17.00
2.00	0.45	0.200	1.00	58.50	26.00	100000.00	5.00
1.00	0.45	0.200	2.00	19.50	26.00	100000.00	7.00
1.00	0.45	0.200	2.00	39.00	26.00	100000.00	14.00
1.00	0.45	0.200	2.00	58.50	26.00	100000.00	2.30
2.00	0.40	0.330	2.00	---	27.00	1000.00	16.90
2.00	0.40	0.330	2.00	---	27.00	100000.00	28.00
2.00	0.40	0.330	2.00	---	27.00	10000000.00	19.50
1.00	0.40	0.207	2.00	3.94	22.00	10000.00	5.90
1.00	0.40	0.207	2.00	3.94	22.00	100000.00	16.50
1.00	0.40	0.207	2.00	3.94	22.00	1000000.00	5.30
1.00	0.40	0.207	2.00	1.97	22.00	10000.00	3.70
1.00	0.40	0.207	2.00	1.97	22.00	100000.00	11.10
1.00	0.40	0.207	2.00	1.97	22.00	1000000.00	7.40
1.00	0.50	0.416	2.00	---	20.00	1000.00	5.06
1.00	0.50	0.416	2.00	---	20.00	10000.00	40.01
1.00	0.50	0.416	2.00	---	20.00	100000.00	42.54
1.00	0.50	0.416	2.00	---	20.00	1000000.00	5.06
1.00	0.50	0.219	2.00	---	27.00	1000.00	12.84
1.00	0.50	0.219	2.00	---	27.00	1000000.00	20.93
1.00	0.50	0.219	2.00	---	27.00	10000000.00	16.70
2.00	0.40	0.240	1.00	19.98	23.20	60000000.00	51.00

2.00	0.37	1.000	1.00	18.50	23.00	3000000.00	20.00
2.00	0.37	1.000	1.00	18.50	23.00	30000000.00	20.00
2.00	0.37	1.000	1.00	18.50	23.00	300000000.00	10.26
1.00	0.40	0.210	1.00	10.28	23.00	1200000.00	23.28
1.00	0.40	0.210	2.00	10.28	23.00	1200000.00	13.08
1.00	0.42	0.250	1.00	25.80	20.00	2800.00	14.00
1.00	0.42	0.250	1.00	25.80	20.00	2800000.00	19.90
1.00	0.42	0.250	1.00	25.80	20.00	2800000000.00	25.97
1.00	0.66	0.150	1.00	7.50	20.00	53000000000.00	10.56
1.00	0.66	0.150	1.00	15.00	20.00	53000000000.00	-13.45
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	4970000.00	-16.90
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	23300000.00	7.90
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	14400000.00	2.50
2.00	0.50	0.330	1.00	22.50	20.00	28100000.00	21.10
2.00	0.45	0.480	1.00	10.20	25.00	1200000.00	34.00
2.00	0.45	0.480	2.00	10.20	25.00	1200000.00	32.20
2.00	0.40	0.660	1.00	7.60	20.00	6300000.00	17.10
2.00	0.40	0.660	1.00	7.60	20.00	6300000.00	23.00
2.00	0.40	0.660	1.00	7.60	20.00	6300000.00	1.20
2.00	0.40	0.570	1.00	7.60	25.00	6000000.00	3.50