

## Mejoramiento de concretos por adición de microorganismos marinos Improving concretes by addition of marine microorganisms

K. D. Peña-Santoyo <sup>a,b,\*</sup>, R. López-Alcántara <sup>c</sup>, B. A. García-Gual <sup>b</sup>, B. A. Bessichy-Portugal <sup>a</sup>,  
A. Bermúdez-Torres <sup>b</sup> & A. Bonilla-Clavel <sup>a</sup>

<sup>a</sup> División de Ingeniería y Tecnología, Universidad Tecnológica de Cancún, 77565 Cancún, Quintana Roo, México.

<sup>b</sup> Escuela Internacional de Ingeniería, Universidad Anáhuac Cancún, 77565 Cancún, Quintana Roo, México.

<sup>c</sup> Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Autónoma de Campeche, 24039 San Francisco de Campeche, Campeche, México.

### Resumen

Se investigó el potencial uso en bioconcretos de 11 aislados microbianos marinos obtenidos de muestras de agua, sedimentos y fragmentos de un edificio deteriorado en una playa de la costa de Quintana Roo, México; mediante observaciones cualitativas de ureólisis en un medio altamente salino, se obtuvieron resultados positivos en 7 aislados. El aislado con mayor actividad (PTMO4-B2) fue utilizado para formular muestras de concreto con cemento, arena, grava y cultivo microbiano líquido en proporción cultivo/cemento 0.7:1. Para las muestras control se utilizó agua en vez de cultivo microbiano. Las muestras de concreto demostraron menor absorción de agua con respecto al control (sin cultivo microbiano), así como un coeficiente de sorptividad significativamente menor. La adición del microorganismo también demostró proveer a los concretos capacidad de autorreparación en observaciones cualitativas con grietas artificiales. Esta formulación promete ser una buena alternativa como tratamiento para prevenir y mitigar daños estructurales en construcciones expuestas al ambiente adverso de la costa del Caribe mexicano, siendo un aditivo sustentable proveniente del mismo ambiente.

**Palabras Clave:** Microorganismo marino, bioconcreto, absorción de agua, coeficiente de sorptividad, autorreparación.

### Abstract

Potential use in bioconcretes of 11 marine microbial isolates obtained from water, sediment and fragments of a deteriorated building in a beach in the coast of Quintana Roo, Mexico, was investigated; through qualitative ureolysis observations in a high-salt medium, positive results were obtained in 7 isolates. The highest activity isolate (PTMO4-B2) was used to formulate concrete samples with cement, sand, gravel and the liquid microbial culture with a culture/cement ratio of 0.7:1. For control samples, water was used instead of microbial culture. Concrete samples demonstrated less water absorption regarding the control ones (without microbial culture), as well as a significantly lower sorptivity coefficient. Addition of microorganisms demonstrated providing the concretes self healing capacity in qualitative observations with artificial cracks. This formulation promises being a good alternative as preventing and mitigating treatment against structural damage in buildings exposed to adverse environments of the coast of the Mexican Caribbean, being a sustainable additive obtained from the same environment.

**Keywords:** Marine microorganism, bioconcrete, water absorption, sorptivity coefficient, self healing.

### 1. Introducción

La Península de Yucatán posee características únicas en el mundo. Sus condiciones climáticas, hidrográficas y edafológicas hacen de la construcción y la preservación de los inmuebles un verdadero reto de ingeniería. No obstante, dichas condiciones han sido comprendidas en otros momentos de la historia, por civilizaciones que poseían un mejor

entendimiento de la interacción entre los materiales de construcción y el ambiente, lo cual ha llevado a diversos grupos multidisciplinarios a desarrollar propuestas de conservación de construcciones basadas en aquellos conocimientos ancestrales (Herrera & Videla, 2004; Straulino *et al.*, 2013; Ley-Paredes *et al.*, 2018).

El proceso de biocementación provee una alternativa sustentable para mejorar las propiedades mecánicas y

\*Autor para la correspondencia: [kdpena@utcanuncun.edu.mx](mailto:kdpena@utcanuncun.edu.mx)

**Correo electrónico:** [kdpena@utcanuncun.edu.mx](mailto:kdpena@utcanuncun.edu.mx) (Kermin Dayan Peña-Santoyo), [rutlopez@uacam.mx](mailto:rutlopez@uacam.mx) (Ruth López-Alcántara), [blanca.garciagu@anahuac.mx](mailto:blanca.garciagu@anahuac.mx) (Blanca Azucena García-Gual), [22333125@utcanuncun.edu.mx](mailto:22333125@utcanuncun.edu.mx) (Brian Alexis Bessichy-Portugal), [alejandr4.bt@gmail.com](mailto:alejandr4.bt@gmail.com) (Alejandra Bermúdez-Torres), [23333098@utcanuncun.edu.mx](mailto:23333098@utcanuncun.edu.mx) (Adrián Bonilla-Clavel)

fisicoquímicas del concreto comúnmente utilizado con fines de construcción. Este se logra gracias a la precipitación de carbonato de calcio como reacción secundaria de la actividad biológica de microorganismos con capacidad ureolítica (MICP, «*microbiologically induced calcium carbonate precipitation*»). El carbonato de calcio ayuda a llenar los poros del concreto tras su maduración, así como a rellenar posibles grietas e imperfecciones, siempre y cuando los microorganismos cuenten con lo necesario para llevar a cabo su actividad (fuente de carbono, nitrógeno, calcio y urea) (Vijay et al., 2017; Iqbal et al., 2021).

Sin embargo, actualmente este proceso presenta diversas dificultades para ser aplicado en construcciones reales, pues, la relación entre los factores bioquímicos y fisicoquímicos en los posibles bioconcretos forma una red de interacciones que se tienen que optimizar para lograr productos significativos desde el punto de vista industrial; algunos ejemplos son: la composición de los nuevos minerales formados en función de la forma de administración del biológico, y el impacto de ello en las propiedades mecánicas del concreto (Shanmuga et al., 2019); las características de la cepa microbiana a utilizar, así como su viabilidad bajo diferentes métodos de inmovilización (Shaheen et al., 2019); la importancia de los coadyuvantes que se tienen que aplicar al bioconcreto para asegurar la viabilidad celular y su impacto en las propiedades mecánicas (Nguyen et al., 2019); y las condiciones químicas que se pueden generar por la actividad microbiana y que podrían llegar a estar relacionadas con procesos de corrosión (Karimi & Mostofinejad, 2020). Además, la ureólisis no es el único mecanismo bioquímico para generar precipitación de calcita, pues la precipitación de sales de calcio como el lactato de calcio ( $\text{Ca}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2$ ) ha demostrado poseer un grado de factibilidad similar sin la formación de subproductos indeseables como el amonio (Wong et al., 2024).

Esta investigación tuvo como objetivo la obtención de, al menos un aislado microbiano marino con capacidad ureolítica, halófilo y alcalófilo; para proponerlo como alternativa de tratamiento preventivo a concretos, mejorando su desempeño en cuanto a la absorción de agua y posible capacidad de autorreparación en las condiciones climáticas adversas de la Península de Yucatán.

## 2. Material y métodos

Entre septiembre de 2024 y abril de 2025, se obtuvieron muestras de agua, sedimento y fragmentos de construcciones deterioradas frente al mar en la costa de Quintana Roo, México; a partir de las cuales se generaron cultivos microbianos enriquecidos, y posteriormente microorganismos aislados con las características deseables para probar su potencial para formular concretos microbianos.

### 2.1. Enriquecimiento y aislamiento de cultivos microbianos

Se obtuvieron muestras de agua y sedimento de una playa de Quintana Roo, México, en la cual existe una construcción altamente deteriorada por las condiciones adversas de la costa del Caribe; de igual manera se obtuvieron muestras de fragmentos de dichos edificios. Todas las muestras fueron tomadas con la mayor asepsia posible, en tubos cónicos de 50

mL estériles (agua y sedimentos), así como en bolsas de nylon estériles (fragmentos); se resguardaron a 4 °C para su traslado al laboratorio en donde continuaron en refrigeración hasta su uso.

Se preparó medio de cultivo líquido estéril en matraces Erlenmeyer de 125 mL de la siguiente manera: 8 g/L de caldo nutritivo con 20 g/L de urea adicionada estéril por filtración (utilizando filtros de PTFE de tamaño de poro 0.22 µm). Antes de su esterilización, el medio de cultivo fue ajustado a un pH de 8.4. Este medio inicial (CNU) fue utilizado para enriquecer aproximadamente 5 g de cada muestra de fragmentos y sedimentos, así como 5 mL de la muestra de agua. El enriquecimiento se llevó a cabo con 25 mL de CNU por muestra en agitación a 100 RPM en un agitador orbital a 25 °C por 72 horas.

Se preparó medio de cultivo sólido estéril en placas Petri con una composición similar a CNU, pero adicionando 18 g/L de agar bacteriológico después del ajuste de pH. De cada muestra de cultivo enriquecido se tomaron 100 µL para realizar diluciones seriadas en microtubos de 2 mL estériles con solución 0.8% de NaCl estéril. Cada placa Petri fue inoculada con 100 µL de la dilución de cultivo enriquecido  $\times 10^{-7}$ . Los cultivos sólidos fueron incubados a 25 °C durante 72 horas. Posteriormente, se sembraron colonias definidas de cada dilución en medio CNU sólido fresco con el objetivo de purificar los aislados. Una vez obtenidos cultivos puros, se utilizó una colonia de cada uno para inocular medio CNU líquido fresco e incubar en agitación a 100 RPM y 25 °C durante 24 a 72 horas. Se obtuvo la biomasa celular de cada cultivo líquido puro por centrifugación en tubos cónicos estériles de 15 mL a 4000 RPM durante 12 minutos. El paquete de biomasa celular de cada aislado se recuperó por decantación del sobrenadante, se resuspendió en solución de glicerol al 30% estéril y se mantuvo en congelación a -20 °C hasta su uso.

### 2.2. Actividad ureolítica halófila

Se preparó medio de cultivo CNU líquido estéril para cribar la actividad ureolítica y capacidad de crecimiento halófilo de cada aislado microbiano marino mediante una observación cualitativa. Se realizó una modificación al medio de cultivo reportado por Stabnikov et al. (2013): 8 g/L de caldo nutritivo, 100 g/L de NaCl, 12 mg/L de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 5 mg/L de rojo fenol y 20 g/L de urea adicionada estéril por filtración (utilizando filtros de PTFE de tamaño de poro 0.22 µm). Con este medio selectivo adaptado (CNU-RF), el rojo fenol actuó como indicador de aumento de pH por la posible liberación de iones amonio y carbonato, gracias a la hidrólisis de urea por actividad microbiana, generando un viraje de color amarillo/naranja a rosa/rojo brillante. Además, la alta concentración de NaCl en el medio de cultivo permitió identificar aquellos aislados halófilos, al poder sobrevivir en un medio de cultivo con una salinidad casi tres veces más alta que la del mar.

Cada aislado microbiano marino fue inoculado desde congelación, en medio de cultivo CNU sólido e incubado por 72 horas a 25 °C, posteriormente, una colonia de cada aislado fue utilizada para inocular por duplicado 8 mL de medio de cultivo líquido CNU-RF en tubos con tapa-rosca y se incubaron a 25 °C durante 24 a 96 horas, registrando los virajes

de color cada 24 horas de manera cualitativa. También se incubó un tubo con medio de cultivo CNU-RF sin inocular como control.

Un aislado microbiano marino fue seleccionado para determinación de morfología celular mediante tinción y observación microscópica a 100x. El mismo fue inoculado en medio de cultivo CNU líquido estéril e incubado durante 72 horas previo a su adición a concretos.

### 2.3. Muestras de concreto microbiano, ensayos de absorción de agua y autorreparación

Se formularon muestras cúbicas de concreto utilizando cemento Portland ordinario, arena con un tamaño de grano de aproximadamente 0.075 mm y grava con un tamaño de grano de aproximadamente 9.5 mm. La proporción cemento/arena/grava fue de 1:2:3. Se añadió cultivo líquido del aislado microbiano seleccionado con 72 horas de incubación, en proporción agua/cemento 0.7:1. Los especímenes se realizaron en moldes de 10 × 10 × 10 cm, se compactaron y dejaron fraguar por 6 días. También se prepararon especímenes control utilizando agua destilada en lugar de cultivo líquido.

Se llevó a cabo un ensayo de absorción de agua mediante una modificación al método de Achal *et al.* (2011). Las muestras de concreto (tres de concreto microbiano y tres de control) fraguadas fueron desmoldadas y recubiertas con impermeabilizante comercial a base de polisiloxano excepto por una de sus caras, se dejaron secar hasta obtener peso constante a temperatura ambiente, y se sumergieron en recipientes con 10 mm de agua con la cara no recubierta hacia abajo, de forma constante por 168 horas. Se pesaron en intervalos regulares (0 min., 15 min., 30 min., 1 h, 1.5 h, 3 h, 5 h, 8 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h, 144 h y 168 h). Los especímenes se removían del recipiente, se secaban con un paño húmedo y se pesaban, para después ser sumergidos de nuevo.

Se graficó la absorción de agua por unidad de área transversal de la muestra en función del tiempo para cada tipo de muestra (microbiano y control) para identificar visualmente posibles diferencias en las tendencias de absorción de agua hacia los concretos. Adicionalmente, se determinó el coeficiente de sorptividad,  $k$  ( $\text{cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1/2}$ ) usando la expresión:

$$Q/A = k\sqrt{t} \quad (1)$$

Donde  $Q$  es la cantidad de agua absorbida ( $\text{cm}^3$ );  $A$  el área transversal del espécimen que estuvo en contacto con el agua ( $\text{cm}^2$ ) y  $t$  el tiempo (s). Se graficó  $Q/A$  contra la raíz cuadrada del tiempo para calcular  $k$  como la pendiente de la relación lineal de la variable dependiente en función de la independiente, en la región donde la absorción fue más pronunciada, esto es, durante las primeras 6 horas de absorción, de acuerdo con la norma internacional ASTM C1585, en donde se detectaría la tasa inicial de absorción de agua (ASTM, 2004).

Por último, se realizó un análisis cualitativo de autorreparación de grietas, mediante una modificación del método reportado por Shaheen *et al.* (2019), en muestras cilíndricas que contenían mezclas similares de concreto (microbiano y control), con diámetro de 7.5 cm y 15 cm de largo. Tras el fraguado, las muestras fueron desmoldadas y se

les aplicó una carga puntual hasta lograr fracturas visibles de 1 a 3 mm de grosor, sin llegar al colapso. Las muestras fracturadas fueron sumergidas 72 horas en medio de cultivo caldo nutritivo 8 g/L y posteriormente se sumergieron en agua destilada, mientras fueron monitoreadas a los 7, 14 y 21 días. Se observaron y midieron las fracturas y depósitos salinos que las rellenaron en el transcurso del experimento.

### 2.4. Tratamiento de datos y análisis estadístico

Los experimentos de absorción de agua se realizaron por triplicado. Los datos fueron tratados y graficados en Excel y analizados con el software STATGRAPHICS Centurion XVI.I mediante ANOVA, y comparación de medias por el método de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Cultivos enriquecidos y purificación de aislados microbianos marinos

Las muestras de agua (Ag1), sedimento (Sed1 y PTMO2), y fragmentos de construcciones deterioradas de 3 sitios distintos (PTMO1, PTMO3 y PTMO4) resultaron en un cultivo enriquecido deseable (se utilizó una absorbancia superior a 0.8 a 600 nm como indicador de alta densidad de crecimiento microbiano). La razón principal para continuar con la purificación de aislados microbianos fue la posible disminución de la actividad ureolítica y, en consecuencia, de la prospección para biocementación de cultivos enriquecidos, como se ha demostrado en estudios que utilizaron protocolos similares, en los que los subcultivos mostraron una reducción de hasta 20 veces la actividad ureolítica con respecto al enriquecimiento inicial (Stabnikov *et al.*, 2013); este comportamiento, aunque no fue demostrado en el presente estudio, es un área del conocimiento aún en desarrollo dentro de la ecología microbiana, y puede tener múltiples factores involucrados, como la hidrografía y las sucesiones ecológicas (Gilbert *et al.*, 2012).

A partir de los cultivos enriquecidos, se obtuvieron 11 aislados microbianos marinos por métodos de dilución seriada y estriado cruzado en placas Petri. Las observaciones morfológicas preliminares realizadas a dichos cultivos se registraron en la Tabla 1. Otra observación importante fue que, a partir de las 48 horas de incubación, la cámara de cultivo emitió un olor intenso característico del amoníaco. Este hallazgo sugiere de manera cualitativa, que pudo haber ocurrido hidrólisis de la urea presente en el medio de cultivo CNU sólido en al menos uno de los cultivos, aunque no se realizaron ensayos específicos en esta etapa para confirmar esta actividad. Esto es consistente con procesos de aislamiento de microorganismos de muestras similares (suelo principalmente) con el objetivo de utilizarlos como biocementadores (Achal & Pan, 2010).

### 3.2. Observación cualitativa de ureólisis halófila

Tras la observación cualitativa de actividad ureolítica halófila, utilizando el medio de cultivo líquido CNU-RF, siete

Tabla 1. Origen de aislamiento y observaciones morfológicas de aislados microbianos marinos

Cultivo de origen	Muestra de origen	Aislado	Crecimiento a partir de	Forma y color
Ag1	Agua de mar, playa	Ag1-I5	24 horas	Aplanada con protuberancia al centro, de bordes irregulares, blanca amarillenta
		Ag1-N3	48 horas	Ligeramente convexa, redonda, naranja
		Ag1-A3	72 horas	Convexa, redonda, blanca amarillenta
PTMO1	Fragmentos, edificio expuesto deteriorado	PTMO1-I2	24 horas	Aplanada, de bordes irregulares, blanca
PTMO2	Sedimento con materia orgánica, playa	PTMO2-I2	24 horas	Aplanada, de bordes irregulares, blanca
		PTMO2-N2	72 horas	Aplanada, redonda, naranja
PTMO3	Fragmentos y arena circundante, pilares expuestos deteriorados	PTMO3-R1	48 horas	Aplanada, redonda, blanca
		PTMO3-N2	24 horas	Aplanada, redonda, naranja
		PTMO3-I3	24 horas	Aplanada, bordes irregulares, blanca
PTMO4	Fragmentos, edificio expuesto deteriorado	PTMO4-I4	48 horas	Aplanada, de bordes irregulares, blanca translúcida
		PTMO4-B2	48 horas	Aplanada, bordes irregulares, blanca

aislados (PTMO2-N2, PTMO3-R1, PTMO1-I2, PTMO2-I2, PTMO3-I3, PTMO4-I4 y PTMO4-B2) presentaron, en diferentes intensidades, viraje de color del medio de cultivo de naranja pálido a rosa brillante. En la Tabla 2 se presentan dichas observaciones, en donde la escala cualitativa mediante asteriscos (\*) representa niveles de intensidad de color (1 asterisco = rosa opaco, aumento bajo de pH, 2 asteriscos = rosa brillante, aumento medio de pH, 3 asteriscos = fucsia brillante, aumento alto de pH); el símbolo (↓) indica que el cultivo disminuyó el pH del medio de cultivo al virar de naranja pálido a amarillo brillante. Los cultivos marcados con el símbolo (!) indican que el duplicado de la observación no fue consistente. En la Figura 1 se presentan cuatro ejemplos de observaciones positivas y negativas, junto a sus respectivos cultivos en medio sólido CNU; se observa ausencia de actividad en el aislado Ag1-I5, disminución de pH en el aislado Ag1-N3, aumento medio de pH (\*\*) en el aislado PTMO2-I2 y aumento alto de pH (\*\*\*) en el aislado PTMO4-B2.

Estos hallazgos son consistentes con lo reportado en estudios similares sobre el aislamiento y caracterización de microorganismos con capacidad biocementante, cuya actividad ureolítica, medida a través de observaciones cualitativas como la presente, o cuantitativas, define en gran medida el potencial de las cepas para su aplicación en concretos microbianos, pues asegura un suministro estable de iones carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) que puede ser aprovechado para reaccionar con los iones de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) presentes en el concreto para precipitar carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (Achal *et al.*, 2009; Achal & Pan, 2011; Stabnikov *et al.*, 2013; Shanmuga *et al.*, 2019).

A la luz de los anteriores resultados, se propuso al aislado microbiano marino PTMO4-B2 como prospecto ideal para aplicaciones en biocementación, por su alta capacidad ureolítica, halófila y alcalófila; esto le permitiría sobrevivir en las condiciones extremas que suponen los concretos a formular. La observación morfológica bacteriana realizada mediante la tinción de Gram reveló que se trataba de un bacilo Gram-positivo, mientras que su morfología colonial es aplanada, de bordes irregulares, blanca-amarillenta, al crecer a partir de las 48 horas en medio CNU sólido a 25 °C. De acuerdo con algunas investigaciones sobre biocementación y formulación de bioconcretos, las especies de bacilos Gram-positivos de los géneros *Bacillus* y *Sporosarcina*, los cuales poseen una morfología similar al microorganismo no identificado objeto del presente estudio, y que han demostrado actividad biológica similar a la aquí reportada; han sido igualmente aisladas de fuentes naturales con características similares a las fuentes de aislamiento mencionadas en esta investigación (suelo alcalino, concreto) (Achal & Pan, 2011; Kim *et al.*, 2016). De confirmarse que el aislado microbiano PTMO4-B2 pertenece a alguno de los géneros antes mencionados, se podría contrastar su actividad con la que han demostrado otros microorganismos considerados modelo en este bioproceso (Achal *et al.*, 2011; Achal *et al.*, 2013; Shaheen *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2019; Karimi & Mostofinejad, 2020).

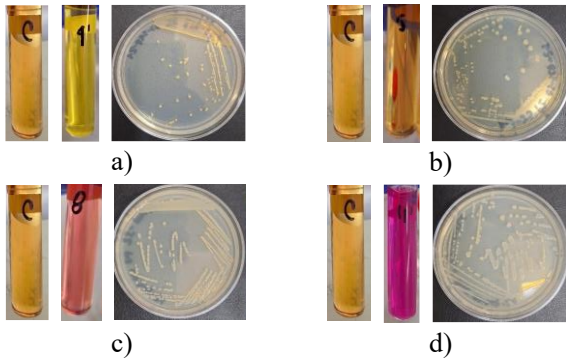


Figura 1. Observación cualitativa de ureólisis halófila y morfología colonial en cultivo sólido para cuatro aislados microbianos: a) Ag1-N3, b) Ag1-I5, c) PTMO2-I2 y d) PTMO4-B2

Tabla 2. Observaciones cualitativas de viraje de color de cultivos microbianos en medio líquido CNU-RF

Cultivo	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Ag1-I5	-	-	-	-
Ag1-N3	-	-	-	- (↓)
Ag1-A3	-	-	-	-
PTMO1-I2	*	**	***	***
PTMO2-I2	-	* (!)	** (!)	** (!)
PTMO2-N2	*	**	**	**
PTMO3-R1	* (!)	** (!)	** (!)	** (!)
PTMO3-N2	-	- (↓)	- (↓)	- (↓)
PTMO3-I3	**	**	***	***
PTMO4-I4	* (!)	** (!)	** (!)	** (!)
PTMO4-B2	***	***	***	***

### 3.3. Absorción de agua y autorreparación de concretos microbianos

Los especímenes de concreto microbiano obtenidos presentaron las siguientes masas iniciales y densidades: microbiano 1 (masa 1875 g, densidad 1.875 g/cm<sup>3</sup>), microbiano 2 (masa 1809 g, densidad 1.809 g/cm<sup>3</sup>) y microbiano 3 (masa 1873 g, densidad 1.873); los especímenes de concreto control presentaron: control 1 (masa 1782 g, densidad 1.782 g/cm<sup>3</sup>), control 2 (masa 1896 g, densidad 1.896 g/cm<sup>3</sup>) y control 3 (masa 1568 g, densidad 1.568 g/cm<sup>3</sup>).

La absorción de agua de las muestras de concreto microbiano fue menor que las de concreto control, demostrado mediante la ganancia de masa de agua por unidad de área transversal en función del tiempo del experimento. En la Figura 2 se puede observar esta tendencia característica de absorción de agua en ambos tipos de muestra (control y microbiano). Aunque las masas máximas de las muestras parecen estar separadas por una diferencia de cerca de 3 kg/m<sup>2</sup>, la tasa inicial de absorción de agua del concreto microbiano en

la región de incremento más pronunciado (0-8 h) parece presentar un comportamiento más suavizado con respecto al control, lo cual pudo ser demostrado mediante el cálculo de los coeficientes de sorptividad ( $k$ ). En la Tabla 3 y Figura 3 se presentan los coeficientes de sorptividad calculados para cada muestra de concreto, mediante el análisis gráfico basado en la ecuación (1). Este análisis es habitual en estudios sobre permeabilidad y absorción de agua en concretos, así como en investigaciones que examinan su relación con propiedades como la porosidad y la resistencia mecánica, o su dependencia de factores experimentales como la dosificación de la mezcla y los regímenes de secado y curado. Su validez se sustenta en su amplia adopción en la práctica, respaldada por normas internacionales (Zhuang *et al.*, 2022; Medeiros-Junior *et al.*, 2019). El ANOVA para estos coeficientes por tipo de muestra resultó en un valor- $p = 0.001$  para la razón- $F = 75.62$  con un nivel de confianza del 95%, lo que indica que hay una diferencia significativa entre los dos tipos de muestra. Las medias de cada tratamiento fueron comparadas mediante el método de mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher, resultando en una diferencia significativa de  $1.83 \times 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{1/2}$  entre el par de medias control-microbiano, con un nivel de confianza del 95%.

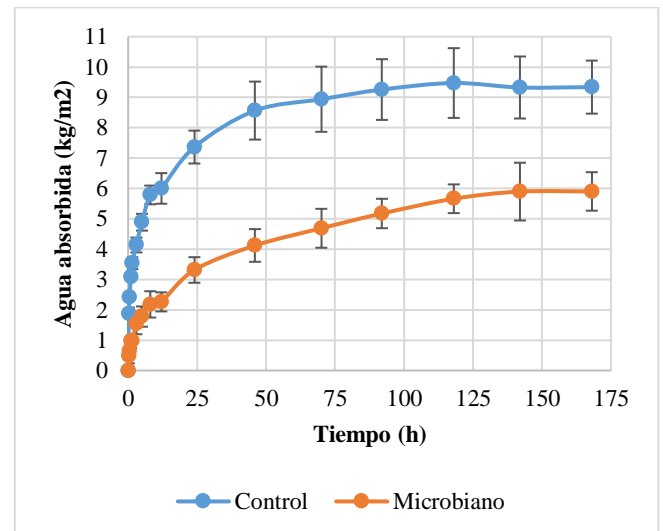


Figura 2. Absorción de agua por unidad de área transversal de muestras de concreto en función del tiempo

Las magnitudes del coeficiente de sorptividad ( $k$ ) en ambos tipos de muestra osciló entre  $1.0 \times 10^{-3}$  y  $3.3 \times 10^{-3} \text{ cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{1/2}$ , lo cual concuerda con los valores obtenidos en estudios similares como el de Wang *et al.* (2014), quienes reportan valores entre  $10^{-5}$  y  $10^{-3} \text{ m/s}$ . Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron consistentes con investigaciones previas, revelando la profunda complejidad que supone la formulación de concretos microbianos, pudiendo estar involucrados factores como la proporción de agregados y agua en la mezcla, tiempo y temperatura de fraguado, disponibilidad de nutrientes requeridos para la activación de los microorganismos, forma de inmovilización de los mismos al interior de los espacios intersticiales del concreto, entre otras variables que es necesario optimizar. Al respecto, De Muynck *et al.* (2008), al encontrar comportamientos de absorción de agua igual de variables en los recubrimientos de concretos con biomasa de *Bacillus sphaericus*, propusieron la posibilidad de que el proceso se vea afectado por la presencia de la materia

orgánica en los poros del material, así como por la porosidad intrínseca e incluso los tipos de cristal formados en el nuevo biomaterial, lo cual, a su vez, está íntimamente relacionado con las fuentes de calcio disponibles. Por otro lado, los decrementos notables de las tasas de absorción de agua medidas mediante coeficientes de sorptividad en bioconcretos, también podrían estar explicados por la presencia de otros materiales requeridos por las bacterias para realizar su actividad biológica (urea, medio de cultivo y fuentes externas de calcio); por lo que el entendimiento de la interacción de los microorganismos en el nuevo micro-ambiente, es crucial (Siddique & Chahal, 2011).

Tabla 3. Coeficientes de sorptividad ( $k$ ) calculados para cada muestra de concreto mediante análisis gráfico

Tipo de muestra	Coeficiente de sorptividad, $k$ ( $\text{cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{1/2}$ ) $\times 10^{-3}$
Control 1	3.2 <sup>a</sup>
Control 2	2.9 <sup>a</sup>
Control 3	3.3 <sup>a</sup>
Microbiano 1	1.6 <sup>b</sup>
Microbiano 2	1.3 <sup>b</sup>
Microbiano 3	1.0 <sup>b</sup>

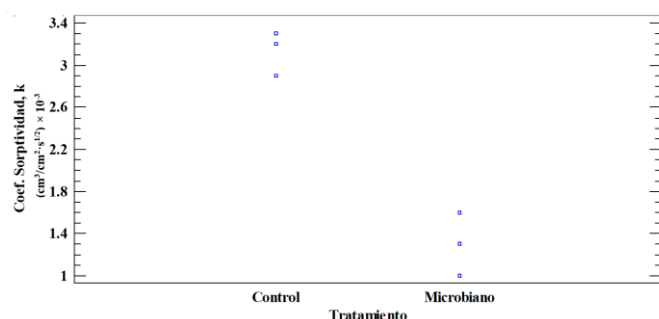


Figura 3. Coeficientes de sorptividad ( $k$ ) calculados para cada tratamiento mediante análisis gráfico

Por otro lado, en las probetas de concreto mostradas en la Figura 4, se observaron agregados de color blanco en las zonas más bajas de las grietas formadas. Estos agregados parecen cicatrizar las grietas y, en algunos casos rellenar los poros abiertos del concreto, en contraste con las probetas control donde no hubo formación de mineral en el tiempo de experimentación. Si bien esta observación no descarta la posibilidad de rasgos típicos de formación mineral no asociada con la actividad microbiana, podría sugerir cierta similitud con procesos de autorreparación, reconociendo que su confirmación requiere análisis complementarios, por ejemplo, microscopía, difracción de rayos X o espectroscopía. Al respecto, Wang *et al.* (2014), al encontrar procesos de autorreparación similares al observado en el presente estudio, resaltaron la importancia de las condiciones de incubación de estos materiales durante la prueba, indicando que las muestras que estuvieron en un proceso de curado sumergido en agua, o en ciclos húmedo-seco, presentaron las mayores tasas de autorreparación. Esto nuevamente resalta la necesidad de comprender a fondo los mecanismos a través de los cuales los microorganismos involucrados, y las condiciones ambientales, generan nuevos biomateriales.

Estas primeras observaciones sobre la capacidad biocementante del aislado microbiano marino PTMO4-B2, así

como la posibilidad de mejorar las propiedades fisicoquímicas de concretos adicionados con el microorganismo, hacen de este bioproceso una alternativa viable en busca de prácticas de construcción sustentables y más compatibles con el ambiente en el que se pretenden implementar los materiales; esto concuerda con diversas revisiones científicas como Hernández-Piedrazul *et al.* (2022), quienes han propuesto la necesidad de optimizar los diversos factores asociados con la utilización de bioconcretos para mitigar daños estructurales en construcciones, logrando un balance de los aspectos técnicos y económicos, al menos desde el punto de vista académico.

#### 4. Conclusiones

En esta investigación se sentaron las bases para el proceso de producción a escala laboratorio de un aislado microbiano marino proveniente de construcciones deterioradas frente a la costa del Caribe mexicano, así como su aplicación como agente biocementante en concretos, para prevenir y mitigar daños estructurales por acción biológica del microorganismo. Fue evidente la mejora de la propiedad fisicoquímica de absorción de agua en el nuevo biomaterial formulado, con respecto a los materiales sin biológico, e igualmente se identificaron los primeros indicios del potencial del microorganismo para lograr la autorreparación y llenado de poros en los concretos a los que se adicione. Esto es de gran relevancia en la industria de la construcción, ya que, eventualmente, se podría llegar a desplazar el uso de aditivos inorgánicos no compatibles con el ambiente, a la vez que se alarga la vida útil de los inmuebles. En etapas posteriores de este proyecto, se propone estudiar aspectos fisiológicos y moleculares del microorganismo (crecimiento y actividad ureolítica en presencia de diferentes concentraciones de sales y pH, viabilidad celular en concretos de diferentes formulaciones, requerimientos nutricionales y nutrientes alternativos, etc.), así como su identificación taxonómica por técnicas de biología molecular. Por otro lado, otras propiedades fisicoquímicas y mecánicas deben ser evaluadas en los concretos formulados (resistencia a la compresión, porosidad, penetración de cloruros, etc.); así como la determinación de la composición química de los agregados formados en las grietas artificiales, por técnicas instrumentales como difracción de rayos X. A la par de lo anterior, se deberán realizar ensayos de autorreparación en distintas condiciones e incluso en el ambiente real, como en construcciones expuestas a las condiciones adversas de la costa de la Península de Yucatán.

#### Agradecimientos

Agradecemos especialmente a la Universidad Tecnológica de Cancún y a la Universidad Anáhuac Cancún por permitir el uso de sus instalaciones, así como la aportación de material para el desarrollo del proyecto. De igual manera se agradece a las y los técnicos de taller y laboratorio, Ing. Ulises Domínguez, Ing. Paola Montiel, Ing. Gabriela Koh y Antonio López; así como al estudiante Christian Frauenfelder.

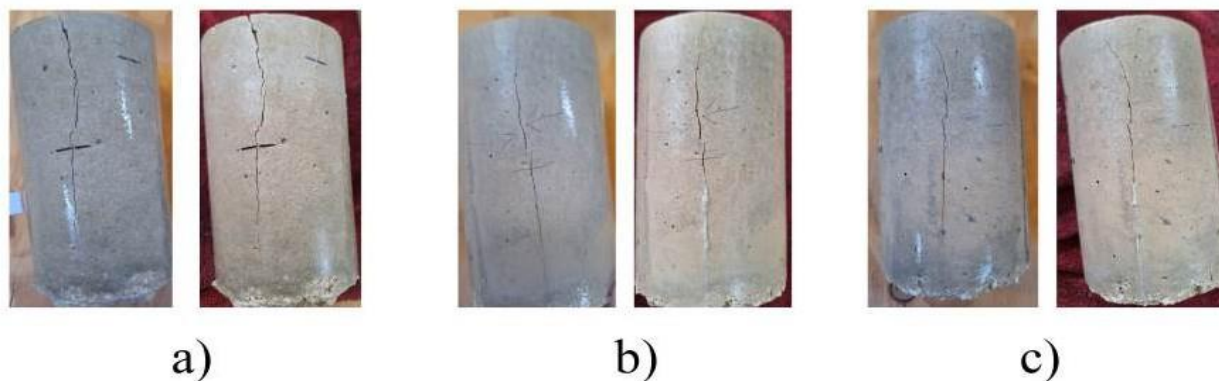


Figura 4. Capacidad de autorreparación de grietas artificiales en concretos a) control; b) y c) microbianos tras 3 días de curado en medio líquido CNU y 21 días de curado en agua

## Referencias

- Achal, V., & Pan, X. (2011). Characterization of Urease and Carbonic Anhydrase Producing Bacteria and Their Role in Calcite Precipitation. *Current Microbiology*, 62:894-902. DOI 10.1007/s00284-010-9801-4
- Achal, V., Mukherjee, A., & Basu, P. C. (2009). Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*. *Journal of Industrial Microbial Biotechnology*, 36: 433-438. DOI 10.1007/s10295-008-0514-7
- Achal, V., Mukherjee, A., & Reddy, M. S. (2011). Microbial Concrete: Way to Enhance the Durability of Building Structures. *Journal of Materials in Civil*, 23(11):730-734. DOI: 10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0000159
- Achal, V., Mukherjee, A., & Reddy, M. S. (2013). Biogenic treatment improves the durability and remediates the cracks of concrete structures. *Construction and Building Materials*, 48:1-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2013.06.061>
- ASTM C1585. (2004). Standard Test Method for Measurement of Rate of Absorption of Water by Hydraulic Cement Concretes.
- De Muynck, W., Debrouwer, D., De Beile, N., & Verstraete, W. (2008). Bacterial carbonate precipitation improves the durability of cementitious materials. *Cement and Concrete Research*, 38: 1005-1014. doi:10.1016/j.cemconres.2008.03.005
- Gilbert, J. A., Steele, J. A., Caporaso, J. G., Steinbruck, L., Reeder, J., Temperton, B., . . . Field, D. (2012). Defining seasonal marine microbial community dynamics. *The ISME Journal*, 6: 298-308.
- Hernández-Piedrazul, E., Castañeda-Robles, I. E., & Lizárraga-Mendiola, L. (2022). El bioconcreto como agente reparante en estructuras de concreto. *Pádi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 10(2): 176-183. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10iEspecial2.8667>
- Herrera, L. K., & Videla, H. A. (2004). The importance of atmospheric effects on biodeterioration of cultural heritage constructional materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 125-134. doi:10.1016/j.ibiod.2004.06.002
- Iqbal, D., Wong, L., & Kong, S. (2021). Bio-Cementation in Construction Materials: A Review. *Materials*, 14,2175. <https://doi.org/10.3390/ma14092175>
- Karimi, N., & Mostofinejad, D. (2020). *Bacillus subtilis* bacteria used in fiber reinforced concrete and their effects on concrete penetrability. *Construction and Building Materials*, 117051. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.117051>
- Kim, H. J., Eom, H. J., Park, C., Jung, J., Shin, B., Kim, W. Park, W. (2016). Calcium Carbonate Precipitation by *Bacillus* and *Sporosarcina* Strains Isolated from Concrete and Analysis of the Bacterial Community of Concrete. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 26(3): 540-548
- Ley-Paredes, V. J., Cervantes-Uc, J. M., Pérez-Pacheco, E., Ríos-Soberanis, C. R., & Wakayama, S. (2018). Physicochemical and mechanical study of Mayan Archeological stony constructive materials. *Journal of Applied Research and Technology*, 16: 287-298.
- Medeiros-Junior, R. A., Munhoz, G. S., Medeiros, M. H. F. (2019), Correlations between water absorption, electrical resistivity and compressive strength of concrete with different contents of pozzolan, *Revista ALCONPAT*, 9 (2), pp. 152 – 166, DOI: <http://dx.doi.org/10.21041/ra.v9i2.335>
- Nguyen, T., Ghorbel, E., Fares, H., & Cousture, A. (2019). Bacterial self-healing of concrete and durability assessment. *Cement and Concrete Composites*, 103340. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2019.103340>
- Shaheen, N., Arsalan, R., Khaliq, W., Murtaza, H., Iqbal, R., & Humza, 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*, 492-506. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.202>
- Shanmuga, T., Ramesh, N., Agarwal, A., Bhusnur, S., & Chaudhary, K. (2019). Strength and durability characteristics of concrete made by micronized biomass silica and Bacteria-*Bacillus sphaericus*. *Construction and Building Materials*, 827-838. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.07.172>
- Siddique, R., & Chahal, N. K. (2011). Effect of ureolytic bacteria on concrete properties. *Construction and Building Materials*, 25: 3791-3801. doi:10.1016/j.conbuildmat.2011.04.010
- Stabnikov, V., Jian, C., Ivanov, V., & Li, Y. (2013). Halotolerant, alkaliphilic urease-producing bacteria from different climate zones and their application for biocementation of sand. *World Journal of Microbial Biotechnology*, 29:1453-1460. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1309-1>
- Straulino, L., Sedov, S., Michelet, D., & Balanzario, S. (2013). Weathering of carbonate materials in ancient Maya constructions (Río Bec and Dzibanché): Limestone and stucco deterioration patterns. *Quaternary International*, 87-100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.quaint.2013.06.019>
- Vijay, K., Murmu, M., & Deo, S. V. (2017). Bacteria based self healing concrete – A review. *Construction and Building Materials*, 152: 1008-1014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.07.040>
- Wang, J. Y., Soens, H., Verstraete, W., & De Beile, N. (2014). Self-healing concrete by use of microencapsulated bacterial spores. *Cement and Concrete Research*, 56: 139-152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cemconres.2013.11.009>
- Wong, P. Y., Mal, J., Sandak, A., Luo, L., Jian, J., & Pradhan, N. (2024). Advances in microbial self-healing concrete: A critical review of mechanisms, developments, and future directions. *Science of the Total Environment*, 947: 174553. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174553>
- Zhuang, S., Wang, Q., & Zhang, M. (2022). Water absorption behaviour of concrete: Novel experimental findings and model characterization. *Journal of Building Engineering*, 53:104602. <https://doi.org/10.1016/j.job.2022.1046>