

Uso de ceniza de madera y bacterias para mejorar la capacidad de auto reparación en morteros

Use of biomass sand and bacteria to enhance self-healing capacity in mortars

Adonay Pinto^a, Sindy Seara-Paz^b, Belén González-Fonteboa^c, Rosa Antía Villarino-Fernández^d

^a Ingeniero Técnico de Obras Públicas. Estudiante de doctorado. Universidade da Coruña (UDC) adonay.pinto@udc.es

^b Dra. Ingeniera de Caminos, Canales y Puertos. Titular de Universidad. Universidade da Coruña gumersinda.spaz@udc.es

^c Dra. Ingeniera de Caminos, Canales y Puertos. Catedrática de Universidad. Universidade da Coruña bfonteboa@udc.es

^d Graduada en Biología. Estudiante de doctorado. Universidad de Santiago de Compostela (USC) rosaantia.villarino@rai.usc.es

RESUMEN

El estudio analiza el uso de ceniza de madera como elemento portador de bacterias para conseguir *self-healing* en morteros. Aprovechando su naturaleza de residuo y alta porosidad, se consigue mezclas más sostenibles, al disminuir el consumo de árido natural, mientras que sirve como protección para los microorganismos. Los resultados muestran no solo una mayor reparación en fisuras de hasta 350 µm, sino también un aumento de las resistencias a compresión del 18% a 28 días y un 22% a los 60 días, así como una menor absorción capilar de las muestras elaboradas con bacterias.

ABSTRACT

The study explores the use of wood ash as a bacterial carrier to achieve self-healing in mortars. Leveraging its waste nature and high porosity, the approach results in more sustainable mixtures by reducing natural aggregate consumption while providing protection for the microorganisms. The results demonstrate not only enhanced crack repair in fissures up to 350 µm but also an 18% increase in compressive strength at 28 days and 22% at 60 days, as well as reduced capillary absorption in samples containing bacteria.

PALABRAS CLAVE: Ceniza de madera, bacteria, autosellado, lactato de calcio, mortero.

KEYWORDS: Biomass sand, bacteria, self-healing, calcium lactate, mortar.

1. Introducción

El hormigón es el material de construcción más empleado en el mundo gracias en parte a su bajo coste y altas prestaciones. El aumento del uso de este material ha llevado consigo el continuo consumo de su ingrediente clave, el cemento, cuya elaboración genera entre 0.5 y 0.8 toneladas de CO₂ por cada tonelada de cemento [1,2]. A esto, hay que añadir la contaminación y destrucción de ecosistemas que supone la obtención de áridos para generar el material.

Otro aspecto negativo del uso de mezclas de base cemento, es su baja resistencia a tracción. Esta falta de resistencia genera la aparición de fisuras, causadas por retracción, fatiga, sobrecarga, corrosión de la armadura, deformaciones por diferencias de temperatura etc., por las que pueden entrar agentes dañinos a la estructura, comprometiendo su integridad y aumentando los costes de mantenimiento y reparaciones. Además, estas reparaciones suelen tener vidas útiles menores a las de la estructura

original con el 55% de ellas fallando después de los 10 años [3].

Para paliar parte de los efectos generados por el consumo de recursos, mejorar la huella ecológica de las mezclas, numerosos estudios han planteado el uso de residuos de esta u otra industria para disminuir la cantidad de o bien ligante o bien áridos de las mezclas. Entre ellos, se encuentran partículas de neumáticos usados [4], árido reciclado [5] o ceniza procedente de la industria maderera [6].

En cuanto al aumento de la durabilidad de las mezclas y reducir los costes de mantenimiento, algunos investigadores han tratado de imitar los comportamientos de auto reparación o *self-healing* como se conoce en inglés, vistos en la naturaleza. Estos procesos pueden dividirse en autógenos y autónomos. En los autógenos se busca que las propias partículas de cemento sin hidratar que puedan quedar, al entrar en contacto con agua que entre por las fisuras, se hidraten y actúen como material sellante. Los procesos autónomos, son en los que se requiere introducir un agente externo en la mezcla que se encargue del proceso de sellado. Este agente externo pueden ser aditivos cristalinos [7], o incluso microorganismos como hongos [8] o, el más utilizado, bacterias [9].

El proceso sellado utilizando bacterias se produce gracias a la habilidad de ciertos de estos microorganismos a, en las condiciones adecuadas, facilitar la precipitación de carbonato cálcico [10]. Esto se produce gracias a los iones de carbonato que se generan por su actividad metabólica y a la carga negativa que poseen sus membranas, las cuales atraen cationes de calcio disueltos en el agua, formando así centros de nucleación.

La precipitación de carbonato cálcico se ve influenciada por diversos factores, entre los que se encuentra el tipo de bacteria, la ruta metabólica que sigue, el pH de la solución dentro de la fisura, temperatura, contenido de carbono disuelto etc.

Aunque la mayoría de las bacterias que se emplean son alcalófilas y soportan ambientes básicos, no serían capaces de sobrevivir sin protección a los pH tan elevados que se generan en el interior del hormigón, o mismo a los procesos de amasado y fraguado. Es por ello que suelen ser introducidas como esporas en lugar de como células vegetativas, para poder sobrevivir el mayor tiempo posible. Para su introducción pueden añadirse directamente al agua, o emplear métodos de encapsulación para proteger las bacterias con una membrana frágil que permita su ruptura al abrirse una fisura, o inmovilizadas en algún portador protector, como puede ser un árido poroso.

Estos áridos porosos pueden ser materiales fabricados como la perlita o arlita, o residuos procedentes de otras industrias como la ceniza de madera. Este tipo de residuo, también empleado en agricultura como fertilizante, suele terminar en su mayoría en vertederos. La industria de la construcción brinda un nuevo uso pudiéndose emplear para sustituir material cementante usando la fracción más fina, o como sustituto de áridos si se emplean secciones más gruesas.

En este estudio se explora el uso de ceniza de madera proveniente de la incineración de corteza de pino y residuos de la fabricación de madera local como sustituto parcial de arena en morteros. Además, aprovechándose de la alta porosidad y absorción que este residuo posee, se empleará como elemento portador de las bacterias. De esta forma, se unen los dos beneficios antes mencionados: la reducción de consumo de recursos naturales, al sustituir parte del árido por este residuo, y conseguir un elemento portador para las bacterias con las que generar *self-healing* y mejorar la durabilidad de los materiales creados.

2. Material y métodos

2.1 Materiales empleados

Los morteros fueron elaborados con un cemento CEM I 52.5 SR5, filler calizo comercial y arena dolomítica de tamaño 0/4. La ceniza de madera empleada proviene de la combustión de cortezas y demás residuos de la industria maderera local. Para homogeneizar el material y equiparar su tamaño de partícula al de la arena que va a sustituir, se tamiza por el tamiz de 4mm, utilizando solo esa sección 0/4 y descartando el resto para otros usos. La bacteria empleada en este proyecto fue *Bacillus subtilis* ATCC 6633, obtenida de la colección de bacterias de la Universidad de Santiago de Compostela. A fin de obtener esporas, se inocularon placas de LB (Luria-Bernati) agar con una suspensión de bacterias vivas y se incubaron en estufa a 37 °C durante siete días. Esto promueve la generación de esporas a consecuencia de la carencia de nutrientes. Dicho proceso fue verificado a través de la tinción de verde malaquita. Las esporas después son recogidas de las placas, introducidas en tubos estériles con agua destilada para facilitar su extracción y son centrifugadas a 5000g durante 10 min para separarlas del agua y poder ser almacenadas en frío lo más secas posibles. Para su cuantificación se emplea la densidad óptica medida a 600 nm de longitud de onda y se fija un rango de trabajo de 10^6 y 10^7 esporas/cm³ de mortero.

2.2 Preparación de morteros

Se elaboraron dos morteros con composiciones similares para analizar el efecto de los microorganismos en mezclas de base cemento elaboradas con ceniza. Su composición se recoge en la Tabla 1. En primer lugar, se elaboró un mortero de referencia a partir de un mortero convencional al que se le ha sustituido un 30% de la arena por ceniza de madera. A continuación, se elaboró un segundo mortero derivado del primero, en el que se incorporó

lactato de calcio (2% en peso del cemento) y *B. subtilis*. Las esporas se suspendieron en el agua de saturación de los áridos, dejando un lapso de 10 minutos para su absorción por los materiales granulares. Una vez concluido el proceso de absorción, se añade el lactato de calcio, el cemento y filler calizo, procurando obtener una mezcla homogénea. Por último, se añade el agua de amasado.

Tabla 1 Dosificaciones empleadas.

Material (kg/m ³)	REF	BACT
Cemento	630.56	630.56
Filler calizo	282.94	282.94
Arena	620.48	620.48
Ceniza de madera	109.44	109.44
Agua	369.07	369.07
<i>B. subtilis</i> (esporas/cm ³ mortero)	-	9x10 ⁶
Lactato de calcio	-	12.61

2.3 Programa experimental

Se analizó la resistencia a compresión de los morteros conforme a la norma UNE-EN 196-1, mediante secciones de probetas de 160x40x40 mm obtenidas de ensayos de flexión. Esta resistencia se examinó a 1, 28 y 60 días para estudiar la evolución de la resistencia en presencia de microorganismos.

Para el análisis de la carbonatación, se utilizaron probetas de 160x40x40mm. Estas probetas se sometieron a un proceso de curado en agua durante 27 días, a partir del cual se dejaron secar al aire hasta alcanzar una variación de masa entre pesadas a 24 horas menor a 0.1%. Una vez logrado este objetivo, se introdujeron en una cámara a 60% de humedad relativa, 22 °C y 1% de concentración de CO₂ durante 56 días. Finalizado el plazo, se extrajeron las probetas de la cámara, se rompieron mediante ensayo de flexión en tres puntos y se impregnaron con fenolftaleína al 1% para revelar la coloración de las zonas no carbonatadas. El análisis de las áreas carbonatadas se hace utilizando el microscopio óptico DinoLite y el software DinoCapture 2.0 con el que se realizan un total de 5 medidas por

cara y probeta, y se calcula la media de las mismas para obtener así la profundidad de carbonatación.

Se analizó también la absorción por capilaridad de los morteros empleando secciones de probetas cilíndricas de 10 cm de diámetro y 6 cm de altura conforme a la norma UNE 83982. Las probetas, tras ser curadas en agua durante 28 días, se introducen en una estufa a 60 °C hasta conseguir masa constante siguiendo el mismo criterio que para la carbonatación. Tras conseguirlo, se sellan las caras laterales con resina para asegurar que el agua solo penetra por la cara deseada. Tras finalizar el secado de la resina, se introducen en agua sobre una rejilla sumergiendo las probetas tan solo 1cm. Para la toma de medidas, las probetas se sacan, secan ligeramente la superficie con un trapo seco y se pesan para obtener la cantidad de agua absorbida por cada una. Se pesan cada 5 minutos la primera hora del ensayo, luego cada hora hasta las 8 horas y por último, una medida final a las 24 horas. Además, se realizó el modelo de la curva de Hall para calcular la sorptividad, siguiendo la Ecuación 1:

$$WA_c = A + S \times \sqrt{t} - C \times t \quad (1)$$

Donde WA_c representa la cantidad de agua absorbida (mg/mm^2), A y C son constantes, S representa la sorptividad ($\text{mm}/\text{h}^{0.5}$) y t el tiempo (h).

Por último, para evaluar la capacidad de sellado de fisuras de ambas mezclas, se utilizaron probetas de 160 x 40 x 40 mm a las que se le incorporan fibras metálicas para controlar la apertura de fisura sin alcanzar la rotura total de la probeta. Las fisuras se abren empleando el ensayo de flexión con una velocidad de carga de 0.1mm/min. Una vez abierta la fisura, ésta se divide en 10 secciones de 4mm cada una y se descartan los dos exteriores por presentar a menudo, desperfectos. Se fotografían mediante el microscopio óptico DinoLite las 8 secciones restantes y se almacenan en agua las probetas hasta sus próximas medidas, a 28 y 60 días. Las imágenes tomadas son analizadas mediante el

software libre ImageJ, midiendo el área correspondiente a la fisura entre las marcas realizadas y se calcula el porcentaje de sellado empleando la Ecuación 2:

$$\text{Índice de sellado (\%)} = \frac{(A_i - A_f)}{A_i} \times 100 \quad (2)$$

donde A_i representa el área de la fisura inicial y A_f el área de la fisura en el tiempo de la medida.

3. Resultados y discusión

3.1 Resistencia a compresión

En la **Figura 1** se muestran los resultados de resistencia a compresión obtenidos por ambas mezclas. En la medida a un día, apenas se aprecia diferencia entre ambas, mostrando el mortero con bacterias un ligero aumento del 2%. Sin embargo, a 28 días el efecto de las bacterias junto con el lactato de calcio muestra ya sus efectos mejorando el mortero de referencia en un 18.5%, diferencia que se incrementa ligeramente a 60 días pasando a ser del 22%.

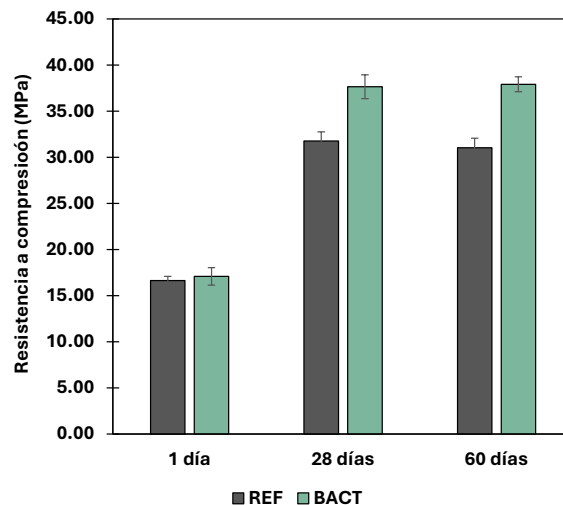


Figura 1 Resultados de resistencia a compresión (MPa).

Debido a que las bacterias son introducidas como esporas absorbidas dentro de las partículas de ceniza, una vez endurecida la mezcla, la limitación de nutrientes, oxígeno y el alto pH del agua presente dentro de los poros evita que estas germinen. Esto facilita su conservación y que, en el futuro, al abrirse una

fisura, pueda actuar generando carbonatos y actuar como núcleos en los que se acumulen dichas precipitaciones. Al estar los especímenes curados en agua y no sometidos a ningún esfuerzo que haya podido causar la formación de fisuras, las bacterias deberían permanecer en su interior en forma de spora sin germinar. Esto nos indica que esta subida de resistencia a compresión no se debe a la acción de las bacterias per se sino más bien al efecto que produce el lactato de calcio. Este efecto positivo en la resistencia a compresión debida al lactato de calcio también ha sido observado en [11].

3.2 Carbonatación

Los resultados de carbonatación muestran en cambio, un peor comportamiento de los morteros como puede apreciarse en la **Figura 2**, en la que se muestran los fragmentos de probetas tras ser rociados con fenolftaleína.

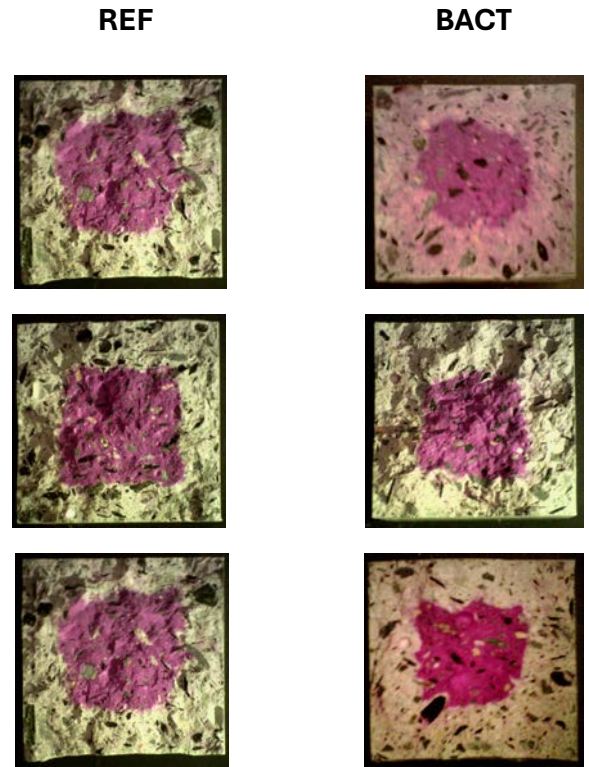


Figura 2 Imágenes de los fragmentos de probeta de REF (izda) y BACT (dcha) tras aplicarles fenolftaleína.

La exposición a ambientes con altos niveles de CO₂ genera la precipitación de carbonato cálcico en morteros. Esta

precipitación se produce por la reacción del CO₂ disuelto en el agua con las distintas fases de estos materiales, siendo la portlandita la principal. Aunque esta precipitación es precisamente el objetivo en los procesos de *self-healing*, también puede generar expansiones volumétricas que crean nuevas micro fisuras, formando canales adicionales de entrada de CO₂ y perpetuando el proceso hacia el interior de las probetas.

En este estudio, la adición de bacterias y lactato incrementó la profundidad de carbonatación pasando de 8.5 mm a 9.6 mm. Esto se debe a que el aporte extra de iones de calcio proporcionados por el lactato, aumenta la cantidad de calcio disponible para la reacción con el CO₂, llevando a una mayor precipitación de carbonato cálcico en entorno confinado, y un peor comportamiento frente a este gas a la concentración analizada del 1%.

3.3 Capilaridad

A diferencia del ensayo anterior, en el ensayo de capilaridad se aprecia una clara mejoría en cuanto al valor de absorción de los morteros, como se muestra en la **Figura 3**. En dicha figura también se presenta la curva del modelo de Hall, cuyos valores se recogen en la **Tabla 2**. El modelo, tanto en el caso del mortero de referencia con en el mortero con bacterias, representa con precisión los valores obtenidos en las mediciones obteniendo un R² > 0.99 en ambos casos.

Tabla 2 Parámetros empleados en el modelo de Hall.

Parámetro	REF	BACT
A	0.000	0.000
S	3.186	2.467
C	0.036	0.002
R ²	0.999	0.999

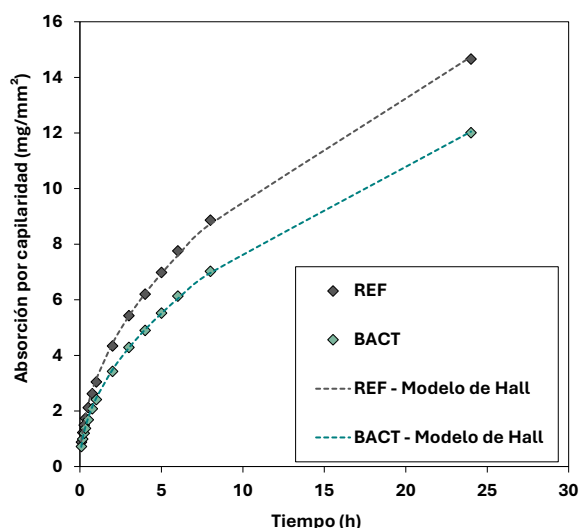


Figura 3 Resultados del ensayo de capilaridad junto con el modelo de Hall.

La introducción de una fuente adicional de calcio junto con el agua extra aportado por la pre-saturación de la ceniza genera un aumento de los productos de hidratación, aumentando la densidad de la matriz y disminuyendo por tanto la cantidad de agua absorbida por capilaridad. Además, la adición de bacterias que actúa no solo aportando iones de carbonato si no como centros de nucleación, reduce todavía más esa absorción obteniendo un valor de absorción a las 24h un 18% inferior a la muestra de referencia.

En cuanto a la sorptividad, se muestra una reducción del 25% pasando de un valor de $3.06 \text{ mm/h}^{0.5}$ de la muestra control ($3.18 \text{ mm/h}^{0.5}$ según el modelo de Hall), a $2.44 \text{ mm/h}^{0.5}$ ($2.46 \text{ mm/h}^{0.5}$ según el modelo de Hall). Estos datos no solo muestran la mejora de esta propiedad usando mediante el uso de bacterias sino también la robustez del modelo empleado.

3.4 Sellado de fisuras

En la Figura 4 se presentan ejemplos de las fotografías tomadas a las fisuras en el momento de su generación y tras 28 y 60 días de curación. Los ejemplos mostrados son puntos en los que el índice de *self-healing* medido coincide o es próximo a la media, dentro del segmento de fisuras de mayor tamaño analizadas, entre 300-

350 μm . No se realizan fotografías intermedias entre los periodos mencionados para evitar el posible desprendimiento de materiales no consolidados al ser sacadas o introducidas de nuevo en el agua.

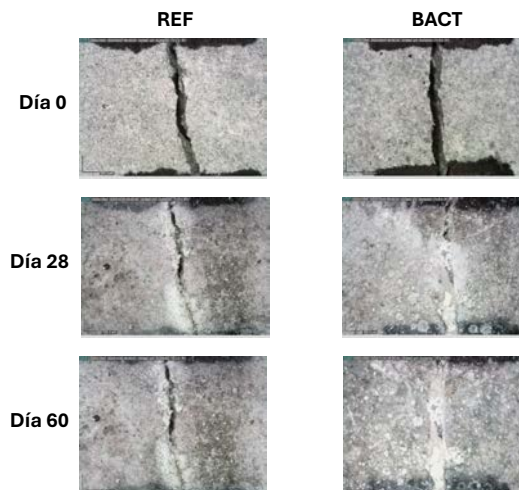


Figura 4 Imágenes del proceso de self-healing.

Los productos generados para sellar las fisuras son cristales blancos de carbonato cálcico. El proceso de deposición en la fisura comienza desde ambas caras, llenándose gradualmente con los cristales como se observa parcialmente en la Figura 4.

A continuación, en la Figura 5 se presentan los resultados del índice de sellado obtenidos para las medias tomadas a 28 días.

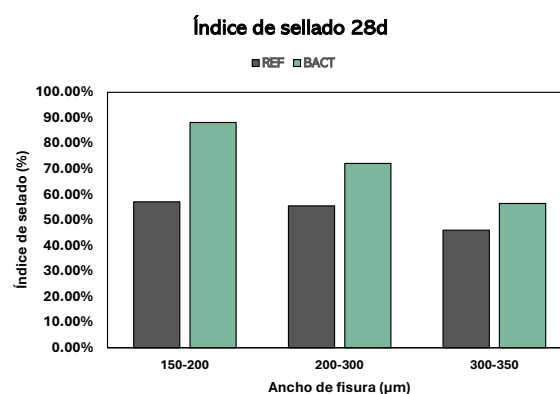


Figura 5 Resultados del índice de sellado a 28 días.

Puede apreciarse como la introducción de microorganismos ayuda a mejorar la capacidad de sellado en todos los rangos de ancho de fisura analizados, obteniendo casi un 90% de sellado

en las fisuras comprendidas entre 150-200 μm . También puede apreciarse una aparente correlación entre ancho de fisura y porcentaje de sellado sobre todo en los morteros elaborados con bacterias, bajando su porcentaje de sellado hasta el 56% para las fisuras de mayor rango. Esto se debe a que, aunque las fisuras de mayor tamaño permiten la entrada de más agua y oxígeno, lo que puede favorecer las condiciones para la actividad microbiana, se necesita una mayor cantidad de carbonato de calcio para cerrarlas. Aunque no es siempre este el caso ya que en las muestras de referencia, este descenso en sellado no se ve tan influenciado por el ancho de fisuras. Estos fenómenos de falta de correlación entre ancho de fisura y porcentaje de sellado han sido observados también en otros estudios [12] donde tampoco se aprecia una clara tendencia entre ancho de fisura y porcentaje de sellado.

En la **Figura 6** se presentan los resultados de porcentaje de sellado analizado tras 60 días de curado.

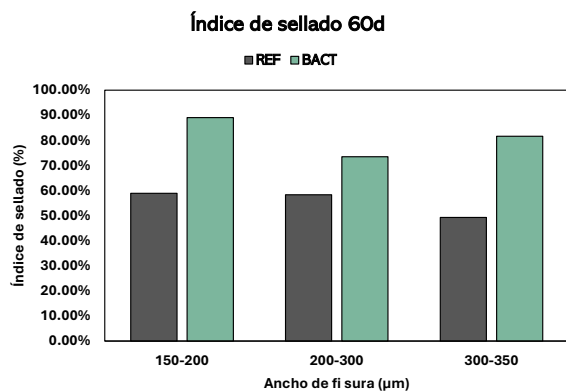


Figura 6 Resultados del índice de sellado a 60 días.

Los resultados a 60 días muestran leves variaciones con respecto a los obtenidos a 28 días lo que nos indica que la mayor parte del proceso de curado se lleva a cabo en ese primer periodo. Tan solo las muestras de BACT en las fisuras de mayor tamaño mostraron una clara mejoría pasando del 57% al 82% mientras que las de referencia en ese mismo segmento pasaron del 46% al 49%.

4. Conclusiones

En este estudio, se ha analizado el efecto de la adición de bacterias junto con lactato de calcio en morteros fabricados con ceniza de madera, evaluando tanto sus características habituales como su capacidad para auto sellar fisuras. Los resultados indican una mejora general en los aspectos estudiados, a excepción de la carbonatación, en el que no se muestran mejoras en los morteros que contienen bacterias ya que el aporte adicional de calcio y bacterias parece tener un efecto negativo, con altas concentraciones de CO_2 como es el 1% empleado en este ensayo, lo que resulta contraproducente para la durabilidad del material.

En contraste, en términos de capilaridad, el efecto es positivo. La precipitación adicional de carbonato cálcico aquí obstruye los poros, impidiendo la penetración del agua y, por tanto, mejorando la resistencia del mortero a la absorción capilar. Este fenómeno es crucial para aumentar la durabilidad del mortero en condiciones húmedas.

La resistencia a compresión también se ve mejorada, aunque en este caso, el efecto es más atribuible al lactato de calcio que a las bacterias. Los resultados muestran mejoras significativas a los 28 y 60 días, mientras que a un día no se aprecian diferencias notables.

Finalmente, en lo que respecta al sellado de fisuras, se observa un notable efecto positivo debido a la presencia de microorganismos. Los resultados demuestran que los morteros con bacterias presentan una mejora en el comportamiento de sellado en todos los anchos de fisura analizados. La mayor parte del sellado se produce en los primeros 28 días, con un aumento notable a los 60 días tan solo en las fisuras de mayor tamaño.

En general, los resultados muestran que la implementación de estas técnicas biotecnológicas puede potenciar los beneficios de utilizar la ceniza de madera como árido, al

tiempo que se mitigan algunas de sus desventajas inherentes. Al integrar innovaciones biológicas con materiales reciclados, se abre una nueva vía para la investigación y desarrollo de materiales de construcción más sostenibles y eficientes.

Agradecimientos

Esta investigación se ha realizado en el marco de los siguientes proyectos: Eco3DConcrete: Diseño de hormigón más sostenible para impresión 3D basado en la reología y control de propiedades a muy cortas edades [PID2020-115433RB-I00], PREHEALING: Diseño de prefabricados de hormigón empleando estrategias sostenibles de auto reparación para incremento de su vida útil [PDC2021-121660-I00] y 3DHealConcrete: Aprovechamiento de sinergias entre las tecnologías de impresión 3D y estrategias de autorreparación con bacterias para el diseño de hormigones sostenibles y durables [TED2021-129757B-I00]. Además, los autores desean agradecer a la Xunta de Galicia (España) su apoyo financiero a través de su programa de contratos, así como al Departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela (USC) por su colaboración y asesoramiento en la obtención y manejo de los microorganismos utilizados en este trabajo.

5. Bibliografía

- [1] S. Chakurkar (Anawkar), K.G. Guptha, Optimization of cement quantity through the engineering of particle size distribution – a sustainable approach, *Results Mater.* 19 (2023) 100408. <https://doi.org/10.1016/j.rinma.2023.100408>.
- [2] Y. Guo, L. Luo, T. Liu, L. Hao, Y. Li, P. Liu, T. Zhu, A review of low-carbon technologies and projects for the global cement industry, *J. Environ. Sci. (China)*. 136 (2024) 682–697. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.01.021>.
- [3] A. Al-Tabbaa, C. Litina, P. Giannaros, A. Kanellopoulos, L. Souza, First UK field application and performance of microcapsule-based self-healing concrete, *Constr. Build. Mater.* 208 (2019) 669–685. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.02.178>.
- [4] R. Di Mundo, S. Seara-Paz, B. González-Fonteboa, M. Notarnicola, Masonry and render mortars with tyre rubber as aggregate: Fresh state rheology and hardened state performances, *Constr. Build. Mater.* 245 (2020) 118359. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.118359>.
- [5] S. Seara-Paz, B. González-Fonteboa, F. Martínez-Abella, D. Carro-López, Long-term flexural performance of reinforced concrete beams with recycled coarse aggregates, *Constr. Build. Mater.* 176 (2018) 593–607. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.05.069>.
- [6] R. Rodríguez-Álvaro, B. González-Fonteboa, S. Seara-Paz, A.J. Tenza-Abril, Wood ash versus expanded clay aggregate as internal curing water reservoirs in high performance concrete, *Mater. Struct. Constr.* 55 (2022). <https://doi.org/10.1617/s11527-022-01963-3>.
- [7] F. Lo Monte, L. Repesa, D. Snoeck, H. Doostkami, M. Roig-Flores, S.J.P. Jackson, A.B. Alvarez, M. Nasner, R.P. Borg, C. Schröfl, M. Giménez, M.C. Alonso, P. Serna, N. De Belie, L. Ferrara, Multi-performance experimental assessment of autogenous and crystalline admixture-stimulated self-healing in UHPFRCCs: Validation and reliability analysis through an inter-laboratory study, *Cem. Concr. Compos.* 145 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2023.105315>.
- [8] N. Khan, H.A. Khan, R.A. Khushnood, M.F. Bhatti, D.I. Baig, Self-healing of recycled aggregate fungi concrete using *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma longibrachiatum*, *Constr. Build. Mater.* 392 (2023) 131910. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2023.131910>.

2023.131910.

- [9] S. Ramachandran, V. Ramakrishnan, S. Bang, Remediation of concrete using micro-organisms, *ACI Mater. J.* 98 (2001) 1–3.
- [10] N. De Belie, J. Wang, Z.B. Bundur, K. Paine, *Bacteria-based concrete*, Elsevier Ltd, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102181-1.00019-8>.
- [11] H.M. Jonkers, A. Thijssen, G. Muyzer, O. Copuroglu, E. Schlangen, Application of bacteria as self-healing agent for the development of sustainable concrete, *Ecol. Eng.* 36 (2010) 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.036>.
- [12] N. Yamasmit, P. Sangkeaw, W. Jitchaijaroen, C. Thongchom, S. Keawsawasvong, V. Kamchoom, Effect of *Bacillus subtilis* on mechanical and self-healing properties in mortar with different crack widths and curing conditions, *Sci. Rep.* 13 (2023) 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34837-x>.