การศึกษามอร์ตาร์ซ่อมแซมตัวเองจากกระบวนการชักนำการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต

Study on Self-healing Mortar Using Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation Process

สทารัชว์ เพียรเฟื่องฟู[1,*] สุมนต์ทิพย์ คงตันจันทร์ฟัก[2] และ ปิติ สุคนธสุขกุล[3]

[1,3] ศูนย์วิจัยวัสดุอาคารและงานก่อสร้าง สาขาวิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพฯ

[2] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพฯ

**Corresponding author; E-mail address: s6301081823026@email.kmutnb.ac.th*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการนำกระบวนการชักนำการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตจากจุลชีพ มาประยุกต์ใช้ในการซ่อมแซมรอยร้าวในมอร์ตาร์ แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์จำนวน 5 สายพันธุ์ จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่ สายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* TISTR 126, *Bacillus megaterium* TISTR 067, *Bacillus sp.* TISTR 658, *Proteus mirabilis* TISTR 100 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยเริ่มงานวิจัยจากการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีปริมาณการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่สูง ปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสสูง และต้องเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรคในมนุษย์ จากการทดสอบจึงสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ของแบคทีเรียข้างต้นได้คือสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* TISTR 126 โดยนำสายพันธุ์ที่มีการผลิตตะกอนดังกล่าวข้างต้น มาประยุกต์ซ่อมแซมรอยร้าวด้วยวิธีการฉีดสารละลายบัฟเฟอร์ สารละลายแขวนลอยแบคทีเรีย และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงในรอยร้าวของมอร์ตาร์ตามลำดับทุกวันเป็นเวลา 28 วัน โดยทำรอยร้าวด้วยแผ่นพลาสติกบางซึ่งมีขนาดของรอยร้าวกว้าง 0.2 มิลลิเมตร หลังจากตัวอย่างมอร์ตาร์ผ่านกระบวนการซ่อมแซมเรียบร้อยแล้ว ทำการทดสอบค่าการดูดซึมน้ำ กำลังรับแรงอัด และสังเกตปริมาณการซ่อมแซมปิดผิวรอยร้าว แสดงผลออกมาเป็นความสัมพันธ์ของค่าที่ทดสอบกับจำนวนวันที่ใช้ในการซ่อมแซมรอยร้าวด้วยแบคทีเรีย

คำสำคัญ: ตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต, การซ่อมแซมรอยร้าว, มอร์ตาร์

Abstract

This study presents the self-healing cracked mortar by applying a microbially induced calcium carbonate precipitation process. First, find the suitable cultivation conditions of 5 pure bacteria strains from the Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), i.e., *Bacillus thuringiensis* TISTR 126, *Bacillus megaterium* TISTR 067, *Bacillus sp.* TISTR 658, *Proteus mirabilis* TISTR 100, and *Staphylococcus aureus* TISTR 118. From the results, *Bacillus thuringiensis* TISTR 126 is promising to be the selected strain in the amount of calcium carbonate crystals, high urease activity, and nonpathogenic. The mortar specimens were pre-cracked by a thin plastic sheet to prepare a 0.2 mm narrow crack width. A pre-cracked sample was treated by injecting buffer solution, bacterial suspended solution, and calcium chloride solution, respectively, directly daily into the crack for 28 days. The observation of crack width has been performed before injection of the solution and after 28 days of treatment, mortar samples were performed for the compressive strength and water absorption test. The results are shown in the case of a relationship between treatment days and tested results.

Keywords: Calcium carbonate, Crack repairing, Mortar

1. ที่มาและความสำคัญ

เนื่องด้วยคอนกรีตเป็นวัสดุที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แต่คอนกรีตมีโอกาสสัมผัสกับสภาพแวดล้อมที่ร้อน/เย็น หรือ เปียก/แห้งสลับกันไปตลอดเวลา อีกทั้งการรับภาระเกินของโครงสร้างที่ก่อให้เกิดความเค้นดึง เป็นผลทำให้โครงสร้างเกิดรอยแตกร้าว [1] ซึ่งส่งผลให้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อโครงสร้าง เช่น สารละลายที่มีองค์ประกอบของคลอไรด์ หรือซัลเฟต เป็นต้น ซึมเข้าสู่ภายในโครงสร้างผ่านรอยร้าวเหล่านี้ได้ง่ายขึ้น [2-3]

แนวทางการซ่อมแซมรอยร้าวในเนื้อคอนกรีตสามารถทำได้โดยการใช้ปูนซีเมนต์สำหรับงานซ่อมแซม เช่น ปูนซีเมนต์ขยายตัว หรือปูนซีเมนต์ไม่หดตัว เป็นต้น แต่วัสดุที่กล่าวมาล้วนมีซีเมนต์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งกระบวนการผลิตปูนซีเมนต์ ปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณสูง [4] ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสาเหตุหนึ่งของภาวะโลกร้อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้ประโยชน์จากกระบวนการชักนำการเกิดตะกอน

แคลเซียมคาร์บอเนตจากจุลชีพ (Microbially induced calcium carbonate precipitation, MICP) ซึ่งเป็นกระบวนการให้แร่ธาตุจากจุลชีพ (Bio-mineralization) [5] ผลผลิตจากกระบวนการเป็นผลึกของแข็งที่มีความสามารถในการเติมเต็มช่องว่าง โดยเรียกผลึกเหล่านี้ว่าไบโอซีเมนต์ (Bio-cement)

ในงานวิจัยนี้เป็นการประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ยูรีเอส (Urease producing bacteria) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา urea hydrolysis สารตั้งต้นจากยูเรีย (Urea) เป็นกรดคาร์บามิก (Carbamic acid) และแอมโมเนีย (Ammonia) ดังสมการที่ (1) [6] ตามธรรมชาติแล้วกรดคาร์บามิก (Carbamic acid) จะเกิดปฏิกิริยา hydrolysis เกิดเป็นกรดคาร์บอนิก (Carbonic acid) และแอมโมเนีย ดังสมการที่ (2) [7]

$$CO(NH_2)_2 + H_2O \rightarrow NH_2COOH + NH_3 \quad (1)$$

$$NH_2COOH + H_2O \rightarrow H_2CO_3 + NH_3 \quad (2)$$

เกิดการปรับสมดุลของกรดคาร์บอนิก และแอมโมเนีย ในน้ำดังสมการที่ (3) และ (4) [8]

$$H_2CO_3 \leftrightarrow HCO_3^- + H^+ \quad (3)$$

$$2NH_3 + 2H_2O \leftrightarrow 2NH_4^+ + 2OH^- \quad (4)$$

เมื่อมีไฮดรอกไซด์ (Hydroxide) เกิดขึ้นทำให้ pH ของสารละลายแขวนลอยแบคทีเรียมีค่าสูงขึ้น และเปลี่ยนสมดุลของไบคาร์บอเนต (Bicarbonate) จึงเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่คือคาร์บอเนต (Carbonate) ดังสมการที่ (5) [9]

$$HCO_3^- + H^+ + 2OH^- \leftrightarrow CO_3^{2-} + 2H_2O \quad (5)$$

การเกิดขึ้นของแอมโมเนียม (Ammonium) ส่งผลให้ pH บริเวณโดยรอบเซลล์สูงขึ้น ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียเปลี่ยนเป็นประจุลบ และเกิดเป็นตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) ดังสมการที่ (6) และ (7) [9]

$$Ca^{2+} + \text{Bacteria cell} \rightarrow \text{Cell-}Ca^{2+} \quad (6)$$

$$\text{Cell-}Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow \text{Cell-}CaCO_3 \quad (7)$$

สำหรับการนำกระบวนการข้างต้นมาประยุกต์ใช้งานนั้นจำเป็นต้องคำนึงถึงความปลอดภัยในการปฏิบัติงานด้วย ซึ่งแบคทีเรียสามารถแบ่งเป็นกลุ่มเสี่ยงออกได้เป็นดังตารางที่ 1 ซึ่งกล่าวถึงระดับความอันตราย การรักษา และการแพร่กระจายของแต่ละกลุ่มเสี่ยง [10]

ตารางที่ 1 กลุ่มเสี่ยงของแบคทีเรีย

Risk Group (RG)	Cause Human Disease	Treat Available	Spread to Community
1	Unlikely	✓	Unlikely
2	Hazard	✓	Unlikely
3	Serious hazard	✓	Risk of spreading
4	Serious hazard	✖	High risk of spreading

SOURCE : (Ivanov, 2019 : 10)

ในงานวิจัยนี้ใช้สายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอสได้ โดยมีข้อมูลพื้นฐานดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ข้อมูลพื้นฐานของแบคทีเรีย

Bacteria strain	Bacteria gram	Risk group
Bacillus thuringiensis TISTR 126 (*B. thuringiensis*)	Positive	1
Bacillus megaterium TISTR 067 (*B. megaterium*)	Positive	1
Bacillus sp. TISTR 658 (*B. sp.*)	Positive	2
Proteus mirabilis TISTR 100 (*P. mirabilis*)	Negative	2
Staphylococcus aureus TISTR 118 (*S. aureus*)	Positive	2

จากกระบวนการข้างต้นที่กล่าวมาหลายงานวิจัยได้ทำการศึกษาผลของการประยุกต์ใช้กระบวนการดังกล่าวในด้านของ การซ่อมแซมรอยร้าวในมอร์ตาร์ โดย Jongvivatsakul, P. และคณะ ซ่อมแซมรอยร้าวด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus sphaericus* LMG 2257 [11] ซึ่งสามารถฟื้นฟูปิดผิวรอยร้าวได้ 80% ที่ความกว้างรอยร้าว 0.4 mm Khaliq, W และ Ehsan, M. B. ศึกษาการประยุกต์ใช้กระบวนการชักนำการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตโดยตรง หรือฝังตัวแบคทีเรียลงในมวลรวมเบา [12] พบว่าการฝังตัวแบคทีเรียลงในมวลรวมเบา ให้ผลในการซ่อมแซมรอยร้าวได้ในระยะยาว Chahal, N. และคณะ ทำการเสริมกำลังอัดด้วย *Sporosarcina pasteurii* [13] ซึ่งสามารถเสริมกำลังรับแรงอัดของคอนกรีตที่ผสมเถ้าลอยได้สูงที่สุดถึง 22% และลดการดูดซึมลง 4 เท่า

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย อันได้แก่สายพันธุ์ดังนี้ *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. sp.*, *P. mirabilis* และ *S. aureus* โดยเริ่มการเพาะเลี้ยงแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (Selective media) Nutrient Broth (NB) ที่ผสมยูเรีย 2 %w/v (NB 13 g/L ผสมกับ urea 20 g/L) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจนใน Multi-stack refrigerated shaking incubator ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลาตามการเจริญเติบโตสูงสุดของแต่ละสายพันธุ์ ส่วนแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนให้บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C ใน Incubator เป็นระยะเวลาการเจริญเติบโตสูงสุดของแต่ละสายพันธุ์ และเก็บไว้ทดลองขั้นถัดไป

2.2 การตรวจสอบปริมาณเอนไซม์ยูรีเอส (Urease)

เป็นการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ยูรีเอส โดยอาศัยหลักการของ Weatherburn [14] ซึ่งเป็นวิธีการในการประมาณปริมาณของแอมโมเนีย (Ammonia) และยูเรีย (Urea) จากของเหลวชีวภาพ ขั้นตอนแรกนำแบคทีเรียที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงในหัวข้อ 2.1 ปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้น

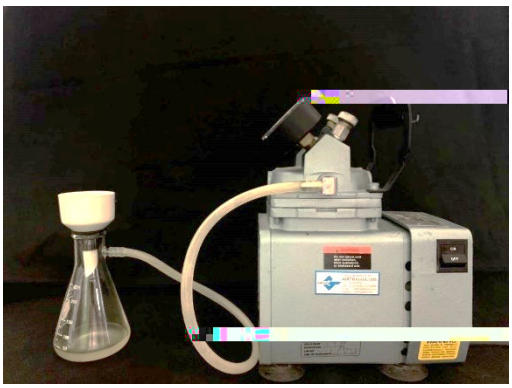
เก็บส่วนใส 250 µL ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก (Centrifuge tube) แล้วเติม potassium phosphate buffer pH 8 ปริมาตร 1 mL และยูเรีย ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2.5 mL นำหลอดทดลองขนาดเล็กดังกล่าวไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย phenol nitroprusside (phenol 5 g ผสมกับ sodium nitroprusside 25 mg ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 mL) ปริมาตร 1 mL และสารละลาย alkaline hypochlorite (sodium hydroxide 2.5 g ผสมกับ sodium hypochlorite (5% available chlorine) 4.2 mL ในน้ำกลั่น 500 mL) ปริมาตร 1 mL แล้วเก็บไว้ต่อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 nm

2.3 การทดสอบปริมาณการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต และการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสม

ทำการเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride solution) ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง Sterile Whatman 0.20 µm โดยแปรเปลี่ยนความเข้มข้นตั้งแต่ 0.10–0.30 M ลงในสารละลายแขวนลอยแบคทีเรีย (Bacterial suspended solution) จากหัวข้อ 2.1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงต่อใน multi-stack refrigerated shaking incubator ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 7 วัน สำหรับแบคทีเรียใช้ออกซิเจน และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 7 วัน สำหรับแบคทีเรียไม่ใช้ออกซิเจน

หลังจากเพาะเลี้ยง 7 วัน นำสารละลายแขวนลอยแบคทีเรีย มากรองด้วยวิธีการกรองแบบสุญญากาศ (Vacuum filtration) โดยใช้กระดาษกรอง Whatman No.5 ที่สามารถกรองอนุภาคขนาดใหญ่กว่า 2.5 µm ซึ่งมีการติดตั้งอุปกรณ์การกรอง ดังรูปที่ 1 แล้วนำกระดาษกรองที่มีตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ผ่านการกรองแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และบันทึกน้ำหนักตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่เกิดขึ้นของแต่ละสายพันธุ์แบคทีเรีย

หลังจากทราบปริมาณเอนไซม์ยูรีเอส และปริมาณตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตแล้ว ทำการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีปริมาณการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่สูง ปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสที่สูง และไม่ก่อโรค



รูปที่ 1 การติดตั้งอุปกรณ์การกรองสุญญากาศ

2.4 การตรวจสอบปริมาณเซลล์ภายใต้ความเป็นด่างเทียบเท่าซีเมนต์

เริ่มต้นการทดสอบโดยการนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วจากหัวข้อ 2.3 มาเพาะเลี้ยงลงในอาหารสำเร็จรูป NB ที่ปรับ pH ตั้งแต่ 10–12.9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 M (Sodium hydroxide solution) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm แสดงผลออกมาเป็นปริมาณเซลล์เทียบกับค่า pH เริ่มต้นของอาหารสำเร็จรูป NB (Blank)

2.5 การเตรียมตัวอย่างมอร์ตาร์

สำหรับมอร์ตาร์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีสัดส่วนน้ำต่อซีเมนต์ที่ 0.5 และมีส่วนผสมดังตารางที่ 3 ซึ่งประกอบไปด้วยตัวอย่างทั้งสิ้น 3 รูปแบบ ได้แก่ 1) ตัวอย่างควบคุม; 2)ตัวอย่างรอยร้าวที่ไม่มีการซ่อมแซม; และ 3)ตัวอย่างรอยร้าวที่มีการซ่อมแซมรอยร้าว; โดยตัวอย่างทดสอบลูกบาศก์มีขนาด 10 cm x 10 cm x 10 cm และมีขนาดของรอยร้าว กว้าง 0.02 cm x ยาว 10 cm x ลึก 0.5 cm โดยสร้างรอยร้าวในขณะที่มอร์ตาร์ยังคงอยู่ในสภาวะสด

ตารางที่ 3 สัดส่วนผสมมอร์ตาร์

Cement (kg/m^3)	Water (kg/m^3)	Fine aggregate (kg/m^3)
568	284	1420

2.6 การซ่อมแซมรอยร้าวในเนื้อมอร์ตาร์

ขั้นตอนการซ่อมแซมรอยร้าวในเนื้อมอร์ตาร์ เริ่มจากการปรับปรุงพื้นผิวของมอร์ตาร์โดยการปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer solution) ซึ่งค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ ขึ้นอยู่กับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย หลังจากการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือก ปิเปตสารละลายแต่ละชนิดปริมาตร 1 mL ได้แก่ สารละลายแขวนลอยแบคทีเรียหยดลงบนรอยร้าว และปิเปตสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมของสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือก ทั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการซ่อมแซมรอยร้าวเป็นจำนวน 28 วัน

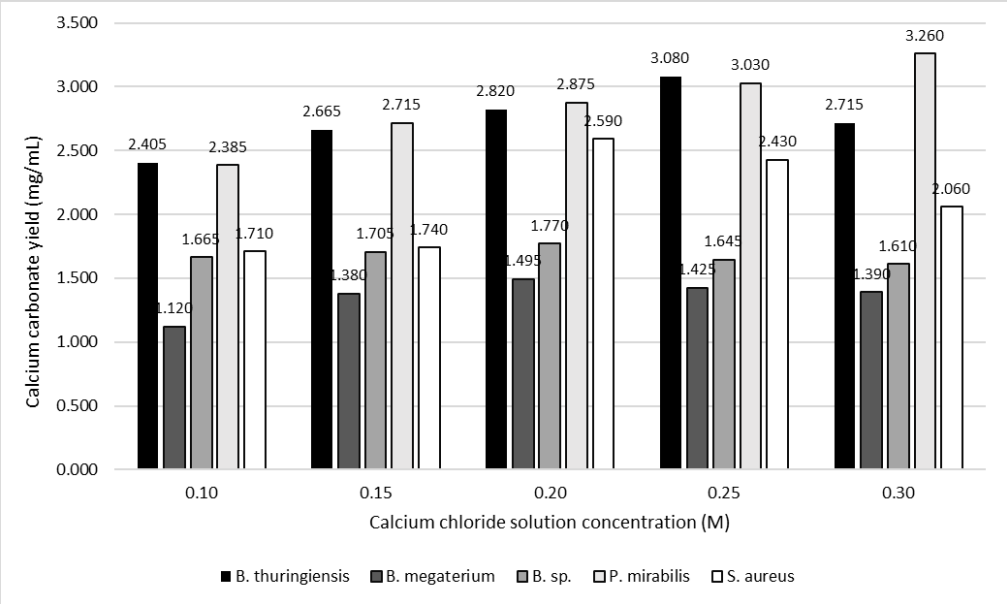
2.7 การทดสอบตัวอย่างมอร์ตาร์

ทดสอบกำลังรับแรงอัดของตัวอย่างมอร์ตาร์ทรงลูกบาศก์ตามมาตรฐาน BS EN 12390-3:2019 [15] จำนวน 9 ตัวอย่าง โดยให้แรงอัดด้านตั้งฉากกับความยาวรอยร้าวของตัวอย่าง และทดสอบการดูดซึมน้ำของตัวอย่างตามมาตรฐาน ASTM C642 [16] จำนวน 9 ตัวอย่าง

3. ผลการทดสอบ

3.1 ปริมาณการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต และเอนไซม์ยูรีเอส

จากรูปที่ 2 แสดงถึงปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตที่ผลิตในช่วงระยะเวลา 7 วันของแต่ละสายพันธุ์ของแบคทีเรียดังนี้ แบคทีเรียสายพันธุ์ *B. thuringiensis* TISTR 126 มีปริมาณการเกิดตะกอนอยู่ที่ 2.405, 2.665, 2.820, 3.080 และ 2.715 mg/mL, *B. megaterium* TISTR 067 มีปริมาณการเกิดตะกอนอยู่ที่ 1.120, 1.380, 1.495, 1.425 และ 1.390 mg/mL, *B. sp.* TISTR 658 มีปริมาณการเกิดตะกอนอยู่ที่ 1.665, 1.705, 1.770, 1.645



รูปที่ 2 ปริมาณตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่เกิดจากแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์

และ 1.610 mg/mL, *P. mirabilis* TISTR 100 มีปริมาณการเกิดตะกอนอยู่ที่ 2.385, 2.715, 2.875, 3.030, 3.260 mg/mL และ *S. aureus* TISTR 118 มีปริมาณการเกิดตะกอนอยู่ที่ 1.710, 1.740, 2.590, 2.430 และ 2.060 mg/mL ที่แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 และ 0.30 M ตามลำดับ

จากผลการทดสอบปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสดังตารางที่ 4 พบว่า *B. thuringiensis* TISTR 126, *B. megaterium* TISTR 067, *B. sp.* TISTR 658, *P. mirabilis* TISTR 100 และ *S. aureus* TISTR 118 มีปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสอยู่ที่ 1722, 456, 522, 2189 และ 722 U/mL ตามลำดับ

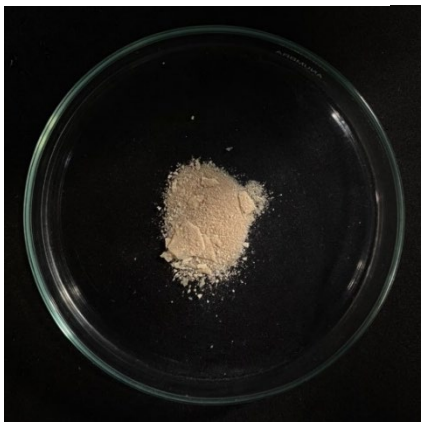
จากผลการศึกษาข้างต้นพบว่า สามารถคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. thuringiensis* TISTR 126 ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 0.25 M โดยมีปริมาณการเกิดตะกอน 3.080 mg/mL และเอนไซม์ยูรีเอส 1722 U/mL อีกทั้งเป็นสายพันธุ์ที่จัดอยู่ใน RG.1 ซึ่งไม่ก่อโรคในมนุษย์ มาดำเนินการวิจัยต่อไป

ตารางที่ 4 ปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสของแต่ละสายพันธุ์แบคทีเรีย

Bacteria species	Urease (U/mL)
B. thuringiensis TISTR 126	1722
B. megaterium TISTR 067	456
B. sp. TISTR 658	522
P. mirabilis TISTR 100	2189
S. aureus TISTR 118	722

3.2 ลักษณะตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต

ลักษณะตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตจากการเกิดตะกอนของสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกคือ *B. thuringiensis* TISTR 126 ดังรูปที่ 3 มีลักษณะตะกอนเป็นผงสีน้ำตาล และบางส่วนมีลักษณะเป็นแผ่นบาง

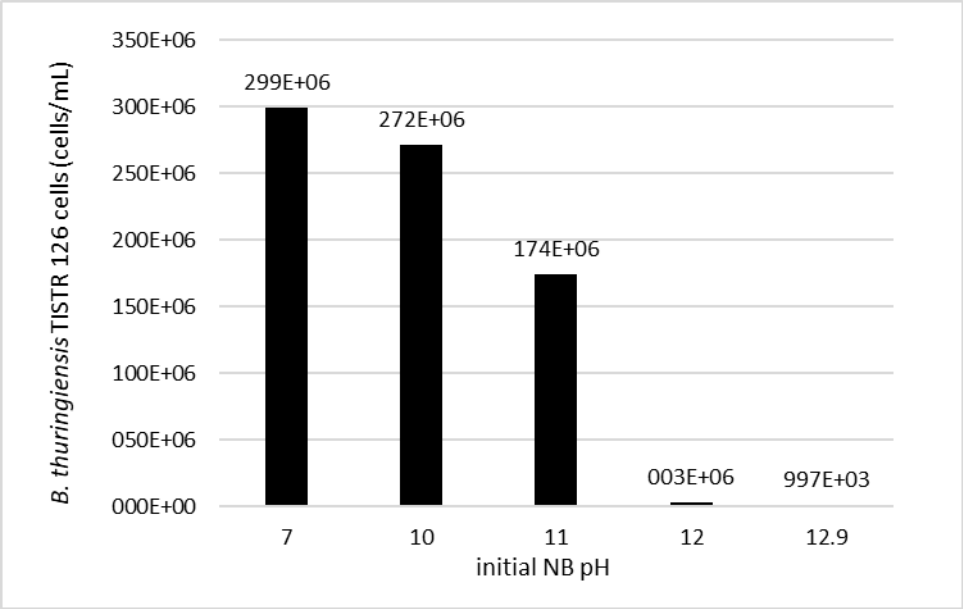


รูปที่ 3 ลักษณะตะกอนจาก *B. thuringiensis*

3.3 ปริมาณเซลล์หลังจากเพาะเลี้ยงภายใต้ความเป็นด่าง

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis* TISTR 126 พบว่าค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อหลังเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์นี้อยู่ในช่วง pH 8.5–9.1

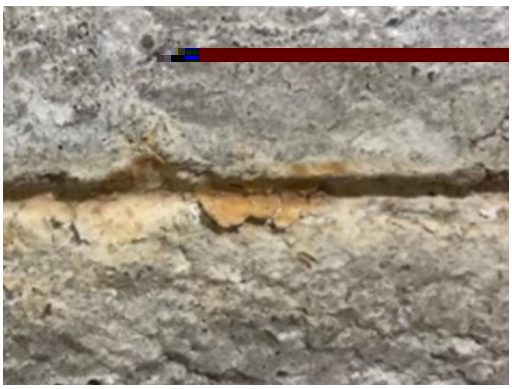
จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *B. thuringiensis* TISTR 126 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสำเร็จรูป NB ที่มี pH เริ่มต้น 7, 10, 11, 12 และ 12.9 มีปริมาณเซลล์สูงกว่า 299, 272, 174, 3 และ 1 ล้าน cells/mL ตามลำดับ ดังรูปที่ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. thuringiensis* TISTR 126 สามารถดำรงชีวิตภายใต้ความเป็นด่างได้ไม่เกิน pH 11 เท่านั้น



รูปที่ 4 ปริมาณเซลล์ *B. thuringiensis* ภายใต้ความเป็นด่างเทียบเท่าซีเมนต์

3.4 ลักษณะพื้นผิวหลังการซ่อมแซมรอยร้าว

หลังจากตัวอย่างผ่านการซ่อมแซมรอยร้าวจำนวน 28 วัน พบว่ามีตะกอนสีน้ำตาลที่มีลักษณะเป็นแผ่นบาง มีการสร้างพันธะที่บริเวณพื้นผิวช่องเปิดรอยร้าวของตัวอย่าง ดังรูปที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบลักษณะตะกอนที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวรอยร้าวกับรูปที่ 3 พบว่าลักษณะตะกอนที่เกิดขึ้นมีความคล้ายคลึงกัน ซึ่งเป็นตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ผลิตจาก *B. thuringiensis* TISTR 126 อีกทั้งยังพบอีกว่าขนาดความลึกของรอยร้าวลดลง เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่มีการซ่อมแซมรอยร้าวดังรูปที่ 6



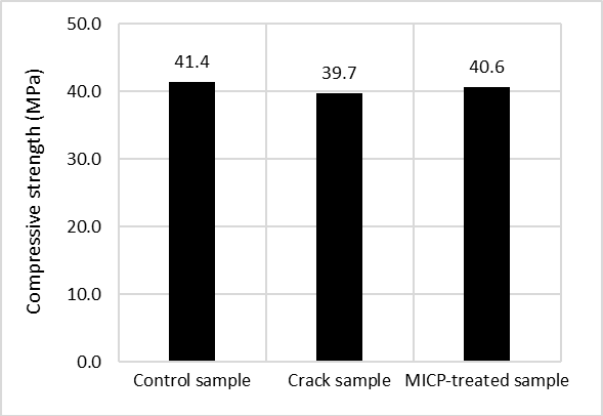
รูปที่ 5 ตัวอย่างมอร์ตาร์หลังซ่อมแซมรอยร้าว 28 วัน



รูปที่ 6 ตัวอย่ามอร์ตาร์ที่ไม่ผ่านการซ่อมแซมรอยร้าว

3.5 การทดสอบกำลังรับแรงอัด

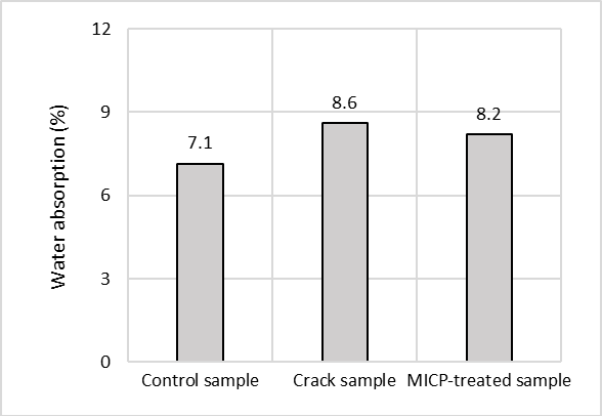
จากผลการทดสอบพบว่าตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการซ่อมแซมรอยร้าว และตัวอย่างที่ผ่านการซ่อมแซมรอยร้าว มีกำลังรับแรงอัดอยู่ที่ 41.4, 39.7 และ 40.6 MPa ตามลำดับ ดังรูปที่ 7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างที่ได้รับการซ่อมแซมรอยร้าวมีกำลังรับแรงอัดที่สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการซ่อมแซมรอยร้าว ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. thuringiensis* TISTR 126



รูปที่ 7 กำลังรับแรงอัดของตัวอย่างมอร์ตาร์

3.6 การทดสอบการดูดซึมน้ำ

จากผลการทดสอบพบว่าตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการซ่อมแซมรอยร้าว และตัวอย่างที่ผ่านการซ่อมแซมรอยร้าว มีค่าการดูดซึมน้ำอยู่ที่ 7.1, 8.6 และ 8.2% ตามลำดับ ดังรูปที่ 8 ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. thuringiensis* TISTR 126



รูปที่ 8 ค่าการดูดซึมน้ำของตัวอย่างมอร์ตาร์

4. สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. thuringiensis* TISTR 126 เป็นสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกเนื่องจาก สามารถผลิตตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต 3.080 mg/mL ปริมาณเอนไซม์ยูรีเอส 1722 U/mL และเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค แต่การนำไปประยุกต์ใช้สายพันธุ์ดังกล่าว มีความสามารถทนสภาพความเป็นด่างได้ไม่เกิน pH 11 เมื่อเทียบกับความเป็นด่างของปูนซีเมนต์ pH 13 จึงเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์ pH 9 ที่เชื้อแบคทีเรียสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในการปรับปรุงพื้นผิวตัวอย่างมอร์ตาร์ก่อน จากการประยุกต์ใช้ในการซ่อมแซมรอยร้าวพบว่า มีตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ผลิตจาก *B. thuringiensis* TISTR 126 สร้างพันธะที่พื้นผิวช่องเปิดรอยร้าว ซึ่งกระบวนการดังกล่าวสามารถลดความเสียหายที่เกิดขึ้นจากรอยร้าวได้ โดยกำลังรับแรงอัดของตัวอย่างที่ไม่ผ่านการซ่อมแซมรอยร้าวเพิ่มขึ้นจาก 39.7 MPa เป็น 40.4 MPa และค่าการดูดซึมน้ำพบว่าลดลงจาก 8.6% เป็น 8.2%

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศาสตราจารย์ ดร. ปิติ สุคนธสุขกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุมนต์ทิพย์ คงตันจันทร์ฟัก ที่ให้คำปรึกษา และแก้ไขในข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ผู้วิจัยตระหนักถึงความทุ่มเทของอาจารย์ และกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

[1] Xu, J., & Wang, X. (2008). Self-healing of concrete cracks by use of bacteria-containing low alkali cementitious material. *Construction and Building Materials*, 167, 1–14.

[2] Aldea, C.-M., Shah, S. P., & Karr, A. (1999). Permeability of cracked concrete. *Materials and Structures*, 32(5), 370–376.

[3] Basheer, L., Kropp, J., & Cleland, D. J. (2001). Assessment of the durability of concrete from its permeation properties: a review. *Construction and Building Materials*, 15(2-3), 93–103.

[4] Andrew, R. M. (2018). Global CO_2 emissions from cement production, *Earth Syst. Sci. Data*, 10, 195–217.

[5] Wang, Z., Zhang, N., Cai, G., Jin, Y., Ding, N., & Shen, D. (2017). Review of ground improvement using microbial induced carbonate precipitation (MICP). *Marine Georesources & Geotechnology*, 35(8), 1135-1146.

[6] Burne, R. A., & Chen, Y.-Y. M. (2000). Bacterial ureases in infectious diseases. *Microbes and Infection*, 2(5), 533–542.

[7] Hammes, F., Boon, N., de Villiers, J., Verstraete, W., & Siciliano, S. D. (2003). Strain-Specific Ureolytic Microbial Calcium Carbonate Precipitation. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4901–4909.

[8] Fujita, Y., Taylor, J. L., Gresham, T. L. T., Delwiche, M. E., Colwell, F. S., McLing, T. L., . . . Smith, R. W. (2008). Stimulation of Microbial Urea Hydrolysis in Groundwater to Enhance Calcite Precipitation. *Environmental Science & Technology*, 42(8), 3025–3032.

[9] Qian, C., Wang, R., Cheng, L., & Wang, J. (2010). Theory of Microbial Carbonate Precipitation and Its Application in Restoration of Cement-based Materials Defects. *Chinese Journal of Chemistry*, 28(5), 847–857.

[10] Ivanov, V., Stabnikov, V., Stabnikova, O., & Kawasaki, S. (2019). Environmental safety and biosafety in construction biotechnology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35 , 26.

[11] Jongvivatsakul, P., Janprasit, K., Nuaklong, P., Pungrasmi, W., & Likitlersuang, S. (2019). Investigation of the crack healing performance in mortar using microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) method. *Construction and Building Materials,* 212, 737–744.

[12] Chahal, N., Siddique, R., & Rajor, A. (2012). Influence of bacteria on the compressive strength, water absorption and rapid chloride permeability of fly ash concrete. *Construction and Building Materials*, 28(1), 351–356.

[13] Khaliq, W., & Ehsan, M. B. (2016). Crack healing in concrete using various bio influenced self-healing techniques. *Construction and Building Materials*, 102, Part 1, 349–357.

[14] Weatherburn, M. W. (1967). Phenol-Hypochlorite reaction for Determination of Ammonia. *Analytical Chemistry*, 39, 971-974.

[15] BS EN 12390-3:2019. *Testing hardened concrete. Compressive strength of specimens.*

[16] ASTM C642-13. *Standard Test Method for Density, Absorption, and Voids in Hardened Concrete.*