ศักยภาพของการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ (MICP) ต่อฐานรากอิฐก่อโบราณ

Potential of microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) on the ancient masonry foundation

ชิษณุพงศ์ ทองหนู[1,*] พรเกษม จงประดิษฐ์[1] ชนา พุทธนานนท์[1] ดนัย เผ่าหฤหรรษ์[2] และ ปิยะฉัตร ฉัตรตันใจ[3]

[1] ศูนย์วิจัยด้านนวัตกรรมการก่อสร้างและระบบโครงสร้างพื้นฐานสำหรับอนาคต ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

[2] ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

[3] ภาควิชาวิศวกรรมโยธา คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี ประเทศไทย

**Corresponding author; E-mail address: chitsanupong.peachy@mail.kmtt.ac.th*

บทคัดย่อ

โบราณสถานกลางแจ้งเผชิญกับการเสื่อมสภาพตามกาลเวลาเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม การเสื่อมสภาพนี้ส่งผลให้เกิดการลดทอนคุณสมบัติของวัสดุ และเสถียรภาพของโครงสร้างโบราณสถาน ซึ่งอาจนำไปสู่การพังทลายของโครงสร้างได้ในที่สุด งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ในฐานรากโบราณสถานที่ประกอบด้วยอิฐและมอร์ตาร์โดยการใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตแคลเซียมคาร์บอเนตจากการย่อยสลายยูเรีย ทำให้เกิดการเชื่อมประสานในรอยแตกหรือเติมเต็มช่องว่างที่ผิววัสดุ โดยวิธีการปรับปรุงคุณภาพฐานรากด้วยวิธีนี้สอดคล้องกับข้อกำหนดของกรมศิลปากรที่ไม่อนุญาติให้มีแรงสั่นสะเทือนในบริเวณโดยรอบพื้นที่ของโบราณสถาน งานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างทดสอบวัสดุอิฐทดแทนจากโรงงานผลิตในจังหวัดพระนครศรีอยุธยาที่ผ่านการรับรองจากกรมศิลปากร และมอร์ตาร์ทดแทนที่ผลิตขึ้นตามคำแนะนำของกรมศิลปากร โดยศึกษาศักยภาพการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ *Lysinibacillus sphaericus* LMG 22257 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตแคลเซียมคาร์บอเนตจากการย่อยสลายยูเรีย ซึ่งจะดำเนินการทดสอบการตกตะกอนในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 18 วัน จากการวิเคราะห์การพัฒนาโครงสร้างจุลภาคที่ผิวของวัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุที่เกิดขึ้นด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และการวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของผิววัสดุด้วยเครื่องมือสแกนพื้นผิวสามมิติ พบว่ามีการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตจนส่งผลให้รอยแตกและรูพรุนที่ผิววัสดุลดลง โดยเหตุนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าการประยุกต์ใช้กระบวนการการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์สามารถปรับปรุงคุณภาพของฐานรากโบราณสถานได้

คำสำคัญ: กระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์, อิฐโบราณ, มอร์ตาร์

Abstract

Historical buildings are located in the open air without protection, which exposes them to deterioration of the constructed materials and eventually results to the structural instability. This study examined the efficacy of microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) in ancient foundations consisting of bricks and mortars. This method of improvement complies with the requirements of the Fine Arts Department that does not allow the vibration around the area of the historical site. The microorganism namely "*Lysinibacillus sphaericus* LMG 22257" was used in this study in which this microorganism was classified as a high potential for calcium carbonate production. Tested bricks (from the factories in Phra Nakhon Si Ayutthaya province) and mortars were made according to the Fine Arts Department's suggestion. In the tests, both bricks and mortars were submerged in solution of microorganism for 18 days. The microstructural development at material's surface was evaluated using a Scanning Electron Microscope, mineral content was determined using an Energy Dispersive X-ray Spectrometer, and change in material's surface depth was evaluated using 3D Optical Surface Profilers. The results revealed that the MICP can allow to provide the reduction in the cracks and pores on the material's surface. Therefore, it can be concluded that the MICP method can be adopted for improving the quality of the ancient foundations.

Keywords: Microbially induced calcium carbonate precipitation, Ancient bricks, Mortar

1. คำนำ

โบราณสถานเป็นมรดกทางวัฒนธรรมอันล้ำค่าที่สมควรได้รับการอนุรักษ์ไว้ แต่อย่างไรก็ตามโบราณสถานเหล่านี้ต้องเผชิญกับผลกระทบทางธรรมชาติเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา รวมไปถึงภัยธรรมชาติต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อเสถียรภาพของโครงสร้างและคุณสมบัติต่างๆ ของโครงสร้างโบราณสถาน ซึ่งอาจนำไปสู่การพังทลายของโครงสร้างได้ในที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของฐานรากที่เป็นส่วนสำคัญที่สุดต่อความมั่นคงของโบราณสถาน งานวิจัยนี้มีความมุ่งเน้นที่จะศึกษาโครงสร้างฐานรากของโบราณสถานเป็นหลัก โดยทั่วไปการปรับปรุงฐานรากของโครงสร้างต่างๆจะให้ความสนใจในการพัฒนาคุณสมบัติของดินเป็นหลัก และใช้ดินเป็นตัวกลางในการปรับปรุงคุณภาพ ในปัจจุบัน การปรับปรุงคุณภาพดินให้ดีขึ้นมักใช้วิธีทางกลหรือเคมีเป็นหลัก สำหรับการปรับปรุงคุณภาพทางเคมี มักจะใช้วัสดุหรือสารเคมีผสมในลงดิน เช่น ปูนขาวหรือปูนซีเมนต์ [1] เพื่อพัฒนาคุณสมบัติของดินให้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม กระบวนการการปรับปรุงคุณภาพทางเคมีนั้นอาจก่อให้เกิดมลพิษในดิน และอาจปล่อยของเสียออกสู่บรรยากาศและสิ่งแวดล้อม ในส่วนของการปรับปรุงคุณภาพทางกลนั้น ส่วนใหญ่มักจะใช้เครื่องจักรกลในการพัฒนาคุณสมบัติดิน เช่น ใช้เครื่องจักรบดอัดในการเพิ่มความหนาแน่นและกำลังของดิน ซึ่งการประยุกต์ใช้วิธีนี้อาจส่งผลกระทบต่อพื้นที่โดยรอบ เช่น แรงสั่นสะเทือนที่อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างเก่าแก่ข้างเคียง มากไปกว่านั้น ด้วยข้อกำหนดของกรมศิลปากรที่ว่าด้วยการไม่อนุญาติให้มีการกระทำใดๆ ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมทั้งสองทางที่ได้กล่าวข้างต้น ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยจึงได้นำแนวคิดการปรับปรุงคุณภาพฐานรากโดยการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ (Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation, MICP) [2] ซึ่งเป็นแนวทางใหม่และกำลังได้รับความนิยมในการปรับปรุงคุณภาพฐานรากสำหรับงานวิศวกรรมโยธา อีกทั้งยังเป็นเทคโนโลยีสะอาดที่ไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมโดยรอบ [3] กระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์คือการทำให้เกิดการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยวิธีทางธรรมชาติ ซึ่งมีส่วนช่วยในการทำหน้าที่เป็นสารยึดเกาะสำหรับอุดช่องว่าง และประสานรอยแตกในวัสดุ รวมไปถึงการเสริมสร้างคุณสมบัติทางวิศวกรรมของวัสดุ เช่น ลดการซึมผ่านของน้ำในทางวิศวกรรมโยธา กระบวนการนี้กำลังได้รับความสนใจอย่างมากไม่เพียงเฉพาะในด้านเทคโนโลยีคอนกรีต แต่ยังรวมถึงในด้านวิศวกรรมธรณีเทคนิคด้วย จากงานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการพัฒนาคุณสมบัติของวัสดุโดยใช้กระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของกระบวนการนี้ในการเพิ่มความแข็งแรงของกำแพงอิฐโบราณ [4] และเสริมสร้างความต้านทานในการกัดกร่อนของดิน [5] ซึ่ง แสดงให้เห็นว่ากระบวนการนี้สามารถนำมาใช้ในการฟื้นฟูโครงสร้างโบราณสถานทางประวัติศาสตร์ที่สำคัญได้

อย่างไรก็ตามการนำกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้กับฐานรากของโครงสร้างประวัติศาสตร์นั้นยังมีความละเอียดอ่อนและต้องได้รับการอนุมัติจากกรมศิลปากร ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้จึงริเริ่มทำการศึกษาขั้นต้นในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการประเมินศักยภาพการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ของอิฐและมอร์ตาร์ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของรากฐานโบราณสถาน โดยที่ตัวอย่างทดสอบนั้นประยุกต์ใช้วัสดุอิฐและวัสดุมอร์ตาร์ทดแทนที่ผลิตโดยโรงงานในจังหวัดอยุธยาที่ได้รับการรับรอง และถูกทำขึ้นตามคำแนะนำจากกรมศิลปากร โดยในการทดสอบจะนำวัสดุอิฐและมอร์ตาร์ไปฝังในดินเพื่อจำลองการปรับปรุงผิวของวัสดุเพื่อให้เป็นไปตามสภาวะจริงของฐากรากโบราณสถานที่อยู่ใต้ระดับพื้น สำหรับตัวอย่างดิน การศึกษานี้นำดินจากบริเวณใกล้เคียงโบราณสถานที่จะผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ แต่ในส่วนของตัวอย่างอิฐและมอร์ตาร์นั้นใช้ตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยที่ศักยภาพการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตจะถูกตรวจสอบผ่านการวิเคราะห์การพัฒนาโครงสร้างจุลภาคที่ผิวของวัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope, SEM) การตรวจสอบหาปริมาณแร่ธาตุที่ผิวของอิฐและมอร์ตาร์โบราณด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Energy Dispersive X-ray Spectrometer, EDS) และวัดความสูงของผิวหน้าวัสดุด้วยเครื่องมือสแกนสามมิติ (3D scan)

2. วัสดุและอุปกรณ์

เนื่องจากอิฐและมอร์ตาร์โบราณมีอยู่อย่างจำกัดและเป็นสิ่งที่ควรแก่การอนุรักษ์ไว้ ดังนั้น ตัวอย่างทดสอบอิฐและมอร์ตาร์ทดแทนจะถูกนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งได้ทำการเตรียมตัวอย่างตามคำแนะนำของกรมศิลปากร

2.1 วัสดุที่ใช้ในการทดสอบ

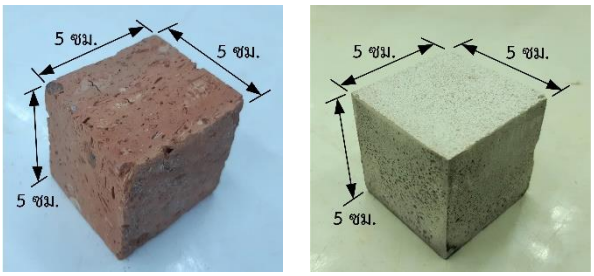
2.1.1 อิฐทดแทน

ตัวอย่างอิฐที่ใช้ทดสอบเป็นอิฐที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างด้วยกรรมวิธีแบบโบราณจากโรงงานผลิตในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา และได้ผ่านการรับรองจากกรมศิลปากร ซึ่งทำจากดินในพื้นที่และถูกเผาที่อุณหภูมิประมาณ 950–1,100 องศาเซลเซียส สำหรับการทดสอบ ตัวอย่างทดสอบอิฐจะถูกทำให้มีขนาดเหมาะสมกับการทดสอบ ซึ่งจะมีขนาด 5 ซม. x 5 ซม. x 5 ซม. ดังแสดงในรูปที่ 1(ก) (ขนาดเดิม 5 ซม. x 15 ซม. x 30 ซม.) เนื่องจากไม่มีมาตรฐานในการเลือกตัวอย่างอิฐสำหรับทดสอบ การศึกษานี้จึงพิจารณาเลือกอิฐที่มีสีและน้ำหนักใกล้เคียงกันมาใช้ในการทดสอบ

2.1.2 มอร์ตาร์ทดแทน

ตัวอย่างทดสอบมอร์ตาร์ทดแทนขนาด 5 ซม. x 5 ซม. x 5 ซม. ดังแสดงในรูปที่ 1(ข) ถูกทำขึ้นตามข้อกำหนดของกรมศิลปากร ซึ่งใช้สัดส่วนการผสมที่เหมาะสำหรับการฟื้นฟูโครงสร้างโบราณสถาน โดยมีอัตราส่วน 1:8:24 โดยน้ำหนักของปูนซีเมนต์ขาว ปูนขาวเปียก (ปูนสูตรดั้งเดิม) และทรายตามลำดับ [6] โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างดังต่อไปนี้

(1) ตรวจสอบอุปกรณ์สำหรับการผสมให้แน่ใจว่าชิ้นส่วนทั้งหมดแห้งสนิท
(2) ใส่น้ำปริมาณ 597 กรัม ลงไปในเครื่องผสม (สำหรับการเตรียมตัวอย่างมอร์ตาร์ 3 ก้อน)



(ก) ตัวอย่างทดสอบอิฐ (ข) ตัวอย่างทดสอบมอร์ตาร์

รูปที่ 1 ตัวอย่างทดสอบวัสดุโบราณสถาน (วัสดุทดแทน)

(3) ใส่ส่วนผสมปูนซีเมนต์ (ปูนซีเมนต์ขาว และปูนขาวเปียก) ลงไปในเครื่องผสมและทำการผสมที่ความเร็วรอบเท่ากับ 1,400 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 วินาที

(4) ขณะทำการปั่นส่วนผสม ค่อยๆ ใส่ทรายลงในภาชนะผสม และดำเนินการปั่นต่ออีก 30 วินาที

(5) หยุดการผสม หลังจากนั้นทำการผสมอีกครั้งด้วยความเร็วรอบปานกลาง (285+10 รอบ/นาที) เป็นเวลา 30 วินาที

(6) หยุดการผสมอีกครั้งและปล่อยให้ปูนพักในภาชนะผสมเป็นเวลา 90 วินาที ในช่วง 15 วินาทีสุดท้ายของช่วงเวลานี้ ให้ขูดส่วนผสมปูนที่ตกค้างในบริเวณด้านข้างภาชนะออกอย่างรวดเร็ว

(7) ทำการผสมอีกครั้งด้วยความเร็วการปั่นปานกลางประมาณ 60 วินาที

2.1.3 ดินที่ใช้ในการทดสอบ

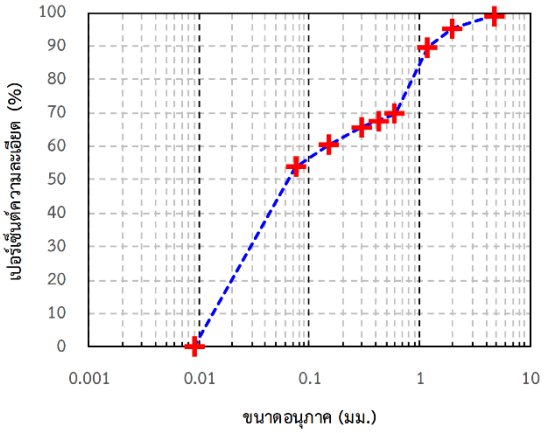
การศึกษานี้ใช้ดินธรรมชาติที่นำมาจากบริเวณใกล้โครงสร้างโบราณสถาน ณ บริเวณประตูชัย จังหวัดลพบุรี ตัวอย่างดินที่ใช้สำหรับทดสอบจะต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อก่อนการทดสอบด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง หลังจากนั้นทำการร่อนดินผ่านตะแกรงเพื่อให้ได้ขนาดคละแสดงดังรูปที่ 2

2.1.4 ชนิดของจุลินทรีย์

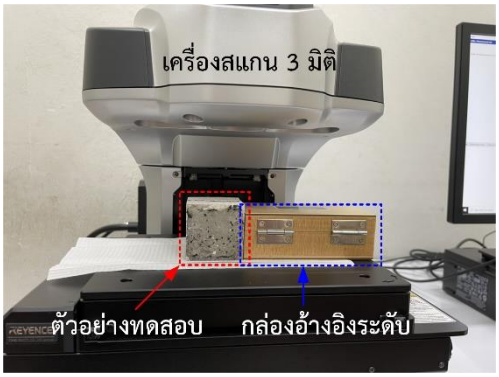
จุลินทรีย์ *Lysinibacillus (L.) sphaericus* LMG 22257 ถูกนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยที่จุลินทรีย์ชนิดนี้ได้รับการยอมรับว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถสูงในการซ่อมแซมรอยแตกของคอนกรีต โดยการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อเติมเต็มอนุภาคทรายและรูพรุนของคอนกรีต นอกจากนี้จุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีความอดทนสูง และสามารถเติบโตภายใต้สภาวะความเป็นด่าง โดยที่ค่า pH ระหว่าง 7 ถึง 9 เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด [7] อีกทั้งจุลินทรีย์นี้ยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่เต็มไปด้วยด้วยแคลเซียมคลอไรด์ซึ่งที่ความเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการจำลองสภาพแวดล้อมของฐานรากโบราณสถาน

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ

2.2.1 ภาชนะสำหรับการทดสอบ



รูปที่ 2 ขนาดคละตัวอย่างทดสอบดิน



รูปที่ 3 การทดสอบสภาพผิวและความสูงของวัสดุด้วยเครื่องมือสแกน 3 มิติ

ภาชนะสำหรับบรรจุตัวอย่างอิฐและมอร์ตาร์มีขนาด 17 ซม. x 17 ซม. x 17 ซม. และทำการเจาะที่ด้านล่างของกล่อง เพื่อติดตั้งวาวล์เปิด-ปิดสำหรับการระบายเชื้อและสารละลายอาหาร

2.2.2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาโครงสร้างผลึกของแคลเซียมคาร์บอเนตในตัวอย่างอิฐและมอร์ตาร์ เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์

2.2.3 เครื่องมือสแกนพื้นผิวแบบ 3 มิติ

เครื่องมือสแกนพื้นผิวแบบ 3 มิติ เป็นเครื่องมือที่สามารถทำการวัดแบบไม่สัมผัสกับตัวอย่าง โดยสามารถตรวจสอบความขรุขระและวัดระดับของพื้นผิวได้ [8] ซึ่งสามารถบันทึกภาพพื้นผิวได้ที่ความละเอียดขนาด 0.1 ไมโครเมตรดังรูปที่ 3

3. วิธีการทดสอบ

3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์และสารละลายเคมี

เพาะเชื้อจุลินทรีย์ในตู้ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที แล้วนำมาผสมกับในสารละลายเคมีที่เป็นอาหาร

หรือตัวเร่งปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตในอัตราส่วนปริมาตร 1 ต่อ 1 โดยที่สารละลายอาหารประกอบไปด้วยผลึกยูเรีย ($CO(NH_2)_2$) ปริมาณ 0.5 โมลาร์ แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ปริมาณ 2.12 กรัมต่อลิตร และแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2.2H_2O$) ปริมาณ 0.5 โมลาร์ จากนั้นเทลงในภาชนะที่เตรียมไว้ตามด้วยจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 โดยที่สารละลายอาหารมีปริมาตรรวมที่ 350 มิลลิลิตร

3.2 ขั้นตอนการทดสอบการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์

รูปที่ 4 แสดงตัวอย่างการทดสอบการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ของอิฐและมอร์ตาร์ โดยที่มีขั้นตอนการทดสอบดังต่อไปนี้

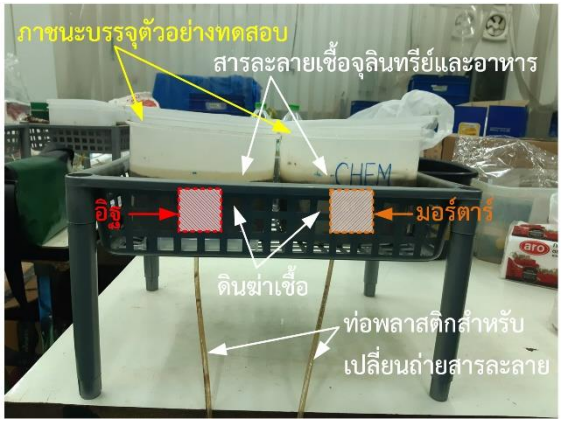
(1) นำตัวอย่างทดสอบอิฐและมอร์ตาร์ที่เตรียมวางลงในภาชนะทดสอบที่ถูกรองพื้นด้วยดินฆ่าเชื้อ
(2) ฝังกลบตัวอย่างทดสอบอิฐและมอร์นาร์ด้วยดินฆ่าเชื้อให้สูงกว่าตัวอย่างทดสอบ 1 ซม. เพื่อเป็นการจำลองโครงสร้างฐานรากใต้ดิน
(3) นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงและสารละลายอาหารเทลงไปในภาชนะทดสอบและขังสารละลายไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการระบายออก
(4) ทำซ้ำขั้นตอนที่ 3 ด้วยวิธีการขังและระบายเชื้อจุลินทรีย์และสารละลายอาหารออก วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลาทั้งสิ้น 18 วัน

3.3 การวิเคราะห์ผล

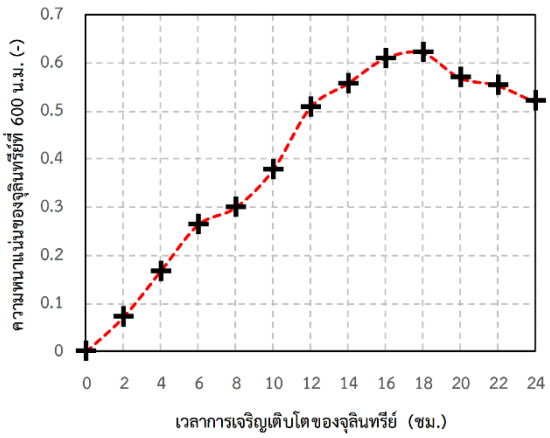
หลังจากการทดสอบเป็นเวลา 18 ปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตและโครงสร้างจุลภาคจะถูกวิเคราะห์และเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดสอบเพื่อแสดงถึงประสิทธิภาพของการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ โดยเครื่องมือทดสอบ SEM, EDS และ 3D Scan

4. ผลการทดสอบ

บทนี้นำเสนอผลการศึกษาศักยภาพของการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตโดยวิธีการตรวจสอบโครงสร้างในระดับจุลภาค ในหัวข้อนี้เริ่มต้นด้วยนำเสนอผลการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพื่อกำหนดเวลาฟักตัวที่เหมาะสม ตามด้วยการวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมของกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ หลังจากดำเนินการทดสอบเสร็จสิ้น จะทำการวิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope, SEM) และหาปริมาณองค์ประกอบแร่ธาตุของตัวอย่างทดสอบโดยใช้สเปกโทรเมตรีรังสีเอกซ์แบบกระจายพลังงานที่ใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Energy Dispersive X-ray Spectrometer, EDS) อีกทั้งยังทำการวิเคราะห์สภาพผิวของอิฐและมอร์ตาร์หลังกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วด้วยเครื่องมือสแกนสามมิติ (3D scan)



รูปที่ 4 การทดสอบกระบวนการตกตะกอนของแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ของตัวอย่างทดสอบอิฐและมาร์ตาร์ที่ถูกฝังกลบด้วยดินฆ่าเชื้อ

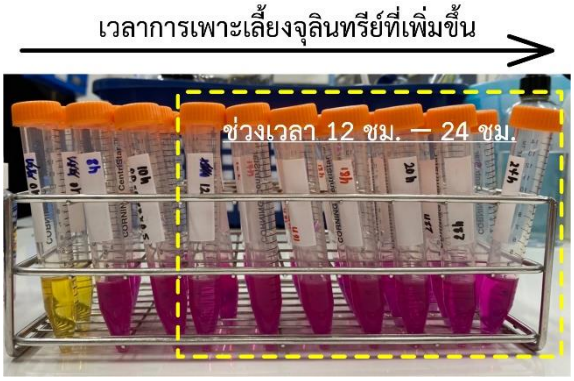


รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ต่อเวลาการเพาะเลี้ยง

4.1 การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

จากการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับดินที่ได้รับการปรับปรุงด้วยการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต โดยใช้จุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 พบว่าระยะเวลาการทดสอบที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6 ถึง 18 วัน [9—11] ดังนั้น การศึกษานี้เริ่มต้นด้วยการหาช่วงเวลาที่เหมาะสมของกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ โดยตรวจสอบที่เวลา 6, 12 และ 18 วัน การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ถูกพิจารณาผ่านค่าความหนาแน่นของจุลินทรีย์ที่ 600 นาโนเมตร (Optical Density at 600 nm, (OD_{600}) และจำนวนจุลินทรีย์ในช่วงเวลาต่างๆ สำหรับเป็นเกณฑ์ในการเลือกเวลาที่เหมาะสมสำหรับการฟักตัวของจุลินทรีย์ก่อนนำไปใช้ในกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต

จากผลการวิเคราะห์ค่า OD_{600} ในแต่ละช่วงเวลาดังแสดงในรูปที่ 5 เผยให้เห็นความหนาแน่นของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตที่เข้าสู่ระยะนิ่งและมี



รูปที่ 6 ความเข้มข้นของเอนไซม์ยูรีเอสที่เหนี่ยวนำโดยจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ที่ยังมีชีวิตตามเวลาการเพาะเลี้ยง

ความเข้มข้นสูงสุดจะพบได้หลังจากผ่านการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 ชม. เป็นต้นไป ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าควรใช้จุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลาตั้งแต่ 12 ชม. ถึง 20 ชม. สำหรับกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์

รูปที่ 6 แสดงความเข้มข้นของเอนไซม์ยูรีเอส ที่เวลา 0 ถึง 24 ชม. จากผลการวิเคราะห์พบว่าความเข้มข้นที่เวลา 12—18 ชม. เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ยูรีเอสด้วย จุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 เมื่อพิจารณาถึงความเหมาะสมสำหรับระยะเวลาในการทำงาน การศึกษานี้จึงเลือกช่วงเวลาการเพาะเลี้ยงเชื่อจุลินทรีย์ที่ 12 ชม. สำหรับใช้ในกระบวนการทดสอบการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์วันละ 2 ครั้ง

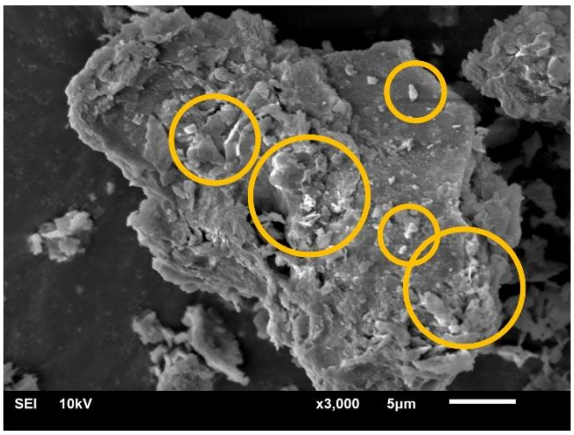
4.2 โครงสร้างจุลภาคของวัสดุ

4.2.1 ภาพถ่ายโครงสร้างจุลภาคของอิฐด้วยเครื่องมือ SEM

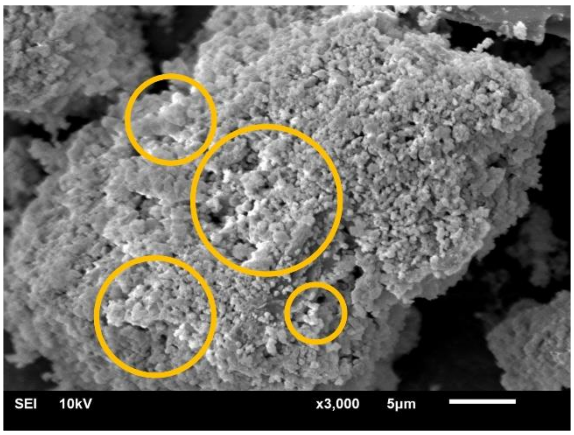
รูปที่ 7 แสดงการพัฒนาโครงสร้างจุลภาคของผงอิฐและมอร์ตาร์ที่สกัดจากความลึก 1 มม. จากตัวอย่างทดสอบหลังกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ จากผลการวิเคราะห์พบว่าอิฐที่ผ่านการปรับปรุงด้วยกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์นั้นแสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนตที่สามารถมองเห็นได้ชัดกว่ามอร์ตาร์ที่ผ่านการปรับปรุงด้วยเงื่อนไขเดียวกัน

4.2.2 ผลการทดสอบปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยเครื่องมือ EDS

การทดสอบนี้ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพื่อสร้างลำแสงอิเล็กตรอนสแกนแบบโฟกัสที่กระตุ้นอะตอมของวัสดุตัวอย่างให้มีการจำแนกประเภทและปริมาณขององค์ประกอบต่าง ๆ โดยเน้นที่ปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตบนพื้นผิวของตัวอย่างหลังกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ เนื่องจากตัวอย่างมอร์ตาร์ที่ใช้ในการทดสอบนี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยแคลเซียมคาร์บอเนตอยู่แล้วจึงเป็นเรื่องยากที่จะตีความผลลัพธ์จากการทดสอบนี้ ดังนั้นในการศึกษานี้จะรายงานผลการวิเคราะห์จากตัวอย่างอิฐเท่านั้น ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยเฉลี่ยของแคลเซียมคาร์บอเนตในผงอิฐที่นำมาจากพื้นผิวของตัวอย่างที่ทดสอบที่ระดับ



(ก) ตัวอย่างทดสอบอิฐ



(ข) ตัวอย่างทดสอบมอร์ตาร์

รูปที่ 7 ภาพกำลังขยายตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตที่ความลึกระดับ 1 มม. ของตัวอย่างทดสอบที่ถูกฝังในดินฆ่าเชื้อหลังการทดสอบเป็นเวลา 18 วัน

ตารางที่ 1 น้ำหนักของแคลเซียมคาร์บอเนตโดยเฉลี่ยบริเวณผิวของอิฐโบราณ (วัสดุทดแทน) หลังการทดสอบ 18 วัน

ตัวอย่างทดสอบ	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเฉลี่ยของแคลเซียมคาร์บอเนต	
	ความลึก 1 มม.	ความลึก 2 มม.
กรณีที่ 1 *	0.42%	0.28%
กรณีที่ 2 **	38.97%	

** อิฐที่ผ่านกระบวนการการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์;*
*** ดินที่ผ่านกระบวนการการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์*

ความลึก 1 มม. และ 2 มม. จากผลการทดสอบในตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบเป็นเวลา 18 วัน พบว่ามีปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตเพิ่มขึ้น โดยที่จะพบปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตที่มากที่ความลึก 1 มม, ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้จุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ในการปรับปรุงวัสดุอิฐสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต

4.2.3 ผลการตรวจสอบการตกตะกอนบนพื้นผิววัสดุด้วยเครื่องมือ 3D Scan

สำหรับการศึกษานี้มีความคาดหวังว่ากระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์จะเหนี่ยวนำการตกตะกอนบนพื้นผิวของตัวอย่าง

ตารางที่ 2 ความสูงของตัวอย่างทดสอบก่อนและหลังกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์

วัสดุทดสอบ	ความสูงของวัสดุ (ไมโครเมตร)		ส่วนต่างความสูงเฉลี่ยที่ผิวหน้าวัสดุ (%)
	ก่อนทดสอบ	หลังทดสอบ	
มอร์ต้าร์ No. 1.4	7578.19	7992.85	9.56
มอร์ต้าร์ No. 1.6	6851.61	7787.03	
อิฐ No. 2.1	5865.41	6481.72	14.45
อิฐ No. 3.2	5503.84	6515.82	

และส่งผลให้ความสูงของตัวอย่างเพิ่มขึ้น และพื้นผิววัสดุมีความราบเรียบมากขึ้นเนื่องจากการประสานรอยแตก จากผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าพื้นผิวของตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์มีค่าความสูงเพิ่มขึ้น โดยที่ตัวอย่างอิฐและมอร์ตาร์มีความสูงเพิ่มขึ้นประมาณ 14.5% และ 9.6% ตามลำดับ

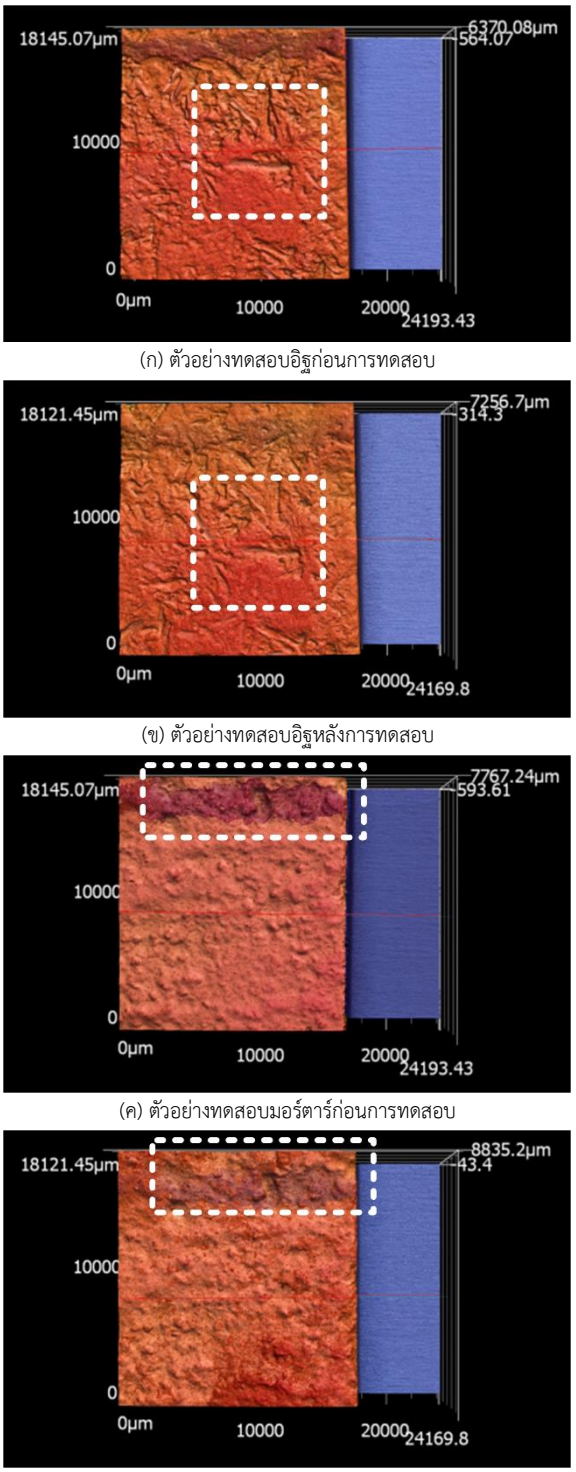
รูปที่ 8 แสดงภาพถ่ายพื้นผิวของตัวอย่างทดสอบก่อนและหลังกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ของอิฐและมอร์ตาร์ จากผลการทดสอบพบว่าพื้นผิวของทั้งสองตัวอย่างทดสอบมีความราบเรียบมากขึ้น เนื่องจากการเติมเต็มช่องว่างของวัสดุด้วยตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของความสูงตัวอย่างดังที่ได้กล่าวข้างต้น ทั้งนี้การเติมเต็มช่องว่างของวัสดุด้วยตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตนั้นมีผลสำคัญอย่างมากต่อการพัฒนาในด้านของกำลังวัสดุ ซึ่งเป็นวัตถุประสงค์หลักในการปรับปรุงฐานรากโบราณสถาน

5. บทสรุป

งานวิจัยนี้ศึกษาถึงศักยภาพของกระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ในการซ่อมแซมผิวของวัสดุ โดยตัวอย่างวัสดุอิฐและมอร์ตาร์โบราณ (ใช้วัสดุทดแทน) และดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อก่อนนำมาทดสอบจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 ถูกนำมาใช้สำหรับการเหนี่ยวนำให้เกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนต จากนั้นทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของวัสดุด้วยเครื่องมือ 3D Scan คำนวณหาปริมาณการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยเครื่องมือ EDS และวิเคราะห์การเกิดผลึกแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยเครื่องมือ SEM ซึ่งสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. จุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 มีศักยภาพในการเหนี่ยวนำให้เกิดตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตในบริเวณพื้นผิวของอิฐและมอร์ตาร์อย่างเห็นได้ชัด
2. กระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์ *L. sphaericus* LMG 22257 สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการปรับปรุงฐานรากโบราณสถานได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ศักยภาพในส่วนของการเติมเต็มช่องว่างของวัสดุ ซึ่งมีผลสำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในด้านกำลังของวัสดุ

ผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่ากระบวนการตกตะกอนแคลเซียมคาร์บอเนตด้วยจุลินทรีย์สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพทางวิศวกรรมของฐานรากโบราณสถานได้ แต่ต้องทำการศึกษาต่อไปในอนาคตเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำไปใช้นอกห้องปฏิบัติการ (สถานที่จริง) และการพัฒนาศักยภาพในด้านกำลังของวัสดุอิฐและมอร์ตาร์โบราณ



(ก) ตัวอย่างทดสอบอิฐก่อนการทดสอบ

(ข) ตัวอย่างทดสอบอิฐหลังการทดสอบ

(ค) ตัวอย่างทดสอบมอร์ตาร์ก่อนการทดสอบ

(ง) ตัวอย่างทดสอบมอร์ตาร์หลังการทดสอบ

รูปที่ 8 ภาพถ่ายพื้นผิวของตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่องมือสแกน 3 มิติ ก่อนและหลังการทดสอบเป็นเวลา 18 วัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ภายใต้ทุนวิจัยพื้นฐานปี 2565 (โครงการ การก่อสร้างขั้นสูงสำหรับ Thailand 4.0

เอกสารอ้างอิง

[1] Verma, H., Ray, A., Rai, R., Gupta, T. and Mehta, N., (2021). Ground improvement using chemical methods: A review. *Heliyon*, 7, pp. e07678.

[2] Zamani, A., Xiao, P., Baumer, T., Carey, T.J., Sawyer, B., DeJong, J.T. and Boulanger, R.W., (2021). Mitigation of liquefaction triggering and foundation settlement by MICP treatment. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 147, pp. 04021099.

[3] Liu, S., Wang, R., Yu, J., Peng, X., Cai, Y. and Tu, B., (2020). Effectiveness of the anti-erosion of an MICP coating on the surfaces of ancient clay roof tiles. *Construction and Building Materials*, 243, pp. 118202.

[4] Mu, B., Gui, Z., Lu, F., Petropoulos, E. and Yu, Y. (2021). Microbial-induced carbonate precipitation improves physical and structural properties of Nanjing ancient city walls. *Materials*, 14, pp. 5665.

[5] Zhang, J., Shi, X., Chen, X., Huo, X. and Yu, Z. (2021). Microbial-induced carbonate precipitation: A review on influencing factors and applications. *Advances in Civil Engineering*, 2021, pp. 9974027.

[6] Leelataviwat, S., Tangchirapat, W., Athisakul, C. and Sahamitmongkol, R. (2018). Development of Engineering Database for Assessment and Structural Health Monitoring of Thailand Historic Structures. Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand, (in Thai).

[7] Wang, J., Souli, Jonkets, H., Boon, N. and De Belie, N. (2017). *Bacillus sphaericus* LMG 22257 is physiologically suitable for self-healing concrete. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, pp. 5101-5114.

[8] Wang, J. (2020). 3D scanning technology application in the imperfect cultural relic. *Journal of Historical Archaeology & Anthropological Sciences*, 5, pp. 2573-2897

[9] Sharma, A. and Ramkrishnan, R. (2016). Study on effect of microbial induced calcite precipitates on strength of fine grained soils. *Perspectives in Science*, 8, pp. 198-202.

[10] Sharma, M., Satyam, N. and Reddy, K.R. (2020). Strength enhancement and lead immobilization of sand using consortia of bacteria and blue-green algae. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 24, pp. 04020049.

[11] Sharma, M., Satyam, N. and Reddy, K.R. (2021). Liquefaction resistance of biotreated sand before and after exposing to weathering conditions. *Indian Geotechnical Journal*, 52, pp. 328-340.