



ความหลากหลายและความสามารถในการผลิตสารของราที่แยกได้จากเจดีย์ ในอุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา

Diversity and the ability in substance production of Fungi isolated from pagodas of Ayutthaya Historical Park

สุจิตกัลยา มฤครัฐอินแปลง^{1*} และปาริฉัตร พิมพา¹

¹สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา
จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000

*Corresponding Author, E-mail: sujidkanlaya@gmail.com

บทคัดย่อ

ราเป็นจุลินทรีย์ชนิดเส้นสายซึ่งเป็นเซลล์ชนิดยูแคริโอต พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและจัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพทางชีววิทยาของโบราณสถาน วัดคู่ประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความหลากหลายและความสามารถในการผลิตสารที่ส่งผลต่อค่า pH ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ของราที่แยกจากเจดีย์ที่ตั้งอยู่ในพื้นที่อุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา 5 แห่ง คือ วัดมหาธาตุ วัดราชบูรณะ วัดพระราม วัดพระศรีสรรเพชญ์ และพระราชวังโบราณ โดยศึกษาจุลินทรีย์บนพื้นผิวซากโบราณสถานภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ปริมาณราทั้งหมดด้วยการนับจำนวนตามวิธีมาตรฐาน แยกราให้บริสุทธิ์โดยใช้อาหาร potato dextrose agar วัดความสามารถในการผลิตสารที่ส่งผลต่อค่า pH ในอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งศึกษาความหลากหลายของราที่แยกได้ ผลการศึกษาพบว่า เมื่อศึกษาจากจากโบราณสถานทั้ง 5 แห่ง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบจุลินทรีย์ที่หลากหลายชนิด ผลการศึกษาปริมาณราทั้งหมด พบว่า ในตัวอย่างดินจะมีปริมาณราทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างจากพื้นผิวของโบราณสถาน เมื่อแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ โดยใช้อาหาร potato dextrose agar สามารถแยกราบริสุทธิ์ได้ 74 ไอโซเลต ศึกษาความสามารถในการผลิตสารของราตัวแทน 25 ไอโซเลต โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่า ทุกไอโซเลตผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นกรด ยกเว้นไอโซเลต RB07 ผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของราตัวแทน 25 ไอโซเลต พบว่า ราเหล่านั้นสร้างสปอร์ที่มีสีต่างๆ ที่หลากหลาย เช่น สีขาว สีดำ สีน้ำตาลเข้ม สีเขียวและสีเทา เมื่อจำแนกสายพันธุ์ราเบื้องต้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสปอร์ พบว่า มีราสกุลต่างๆ ที่พบในงานวิจัยนี้ เช่น *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., และ *Curvularia* sp.

ABSTRAT

Fungi is the filamentous microorganism with eukaryotic cell. The fungi were found in environment and played role in the biodeterioration of historic ruins. The aim of this research was to study diversity and ability in producing substances affected to the pH of cultured broth of fungi which isolated from five historic ruins pagodas of Ayutthaya historical park including of Wat Mahathat, Wat Rat Cha burana, Wat Phra Ram, Wat Phra Sri Sanphet and Ancient Palace. The samples were studied using many methods consisting with using scanning electron microscope (SEM). A standard method was employed to count all the amount of the total fungi. Pure fungi were isolated by using potato dextrose agar. Ability in producing substances that affect the pH of culture broth of the fungi was also studied, together with the diversity differentiated. The finding revealed the diversity of microorganism on the surface of five sample's ruins when studied by using SEM. The amount of total fungi in soil samples was higher than those from the surface sample. The results of using potato dextrose agar could isolate the fungi 74 pure cultures. Representatives of 25 isolates were taken the ability in producing substance that affect the pH of cultured broth and analyzed morphological study. The result found that all isolates produced acidic substances excepted for RB07 could produce alkaline substances. Furthermore, they were many colors of spore production such as white, black, dark-brown, green and gray. Identification the fungi was carried out using morphological characteristics and spore arrangement. The results revealed that fungi belong to 3 genera including *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., and *Curvularia* sp..

คำสำคัญ: ความหลากหลายทางชีวภาพ การเสื่อมสภาพทางชีววิทยา เชื้อรา ซากโบราณสถาน
อุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา

Keywords: Biodiversity, Biodeterioration, Fungi, Ruins, Ayutthaya Historical Park

บทนำ

อุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา เป็นสถานที่ที่มีความสำคัญด้านประวัติศาสตร์ทั้งในระดับโลกและในระดับประเทศ ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการของสหประชาชาติว่าด้วยอนุสัญญาคุ้มครองมรดกโลกให้เป็นมรดกโลกทางด้านวัฒนธรรม เมื่อวันที่ 13 ธันวาคม พ.ศ. 2534 ภายในบริเวณอุทยานประวัติศาสตร์แห่งนี้ มีโบราณสถานและโบราณวัตถุที่มี

เอกลักษณ์โดดเด่น ซึ่งได้รับความนิยมสูงจากนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและชาวต่างประเทศ ในปัจจุบันโบราณสถานและโบราณวัตถุเหล่านั้นเกิดการเสื่อมสภาพไปมาก ทั้งนี้สาเหตุของการเสื่อมสภาพนั้นเกิดขึ้นได้จากปัจจัยที่หลากหลาย เช่น จากสิ่งแวดล้อมจากการเกิดจุดอ่อนตัวในตัวเอง จากการทำกิจกรรมต่างๆ ของคน สัตว์ พืช สาหร่ายขนาดใหญ่และสาหร่ายขนาดเล็ก (Suihko et al., 2007; Gadd, 2007) และ

อีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญไม่แพ้กันคือ ปัจจัยที่เกิดจากจุลินทรีย์ (Jimenez, 1997; Anna et al., 2004)

การเสื่อมสภาพของสิ่งก่อสร้างประเภทต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสถาปัตยกรรมใหม่ๆ หรือสิ่งก่อสร้างมาตั้งแต่สมัยโบราณ เช่น การเปลี่ยนแปลงสี การถูกกัดกร่อน การโน้มเอียงของสิ่งก่อสร้าง ล้วนทำให้สิ่งก่อสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติไปจากเดิม หากพบว่าสาเหตุของการเสื่อมสภาพเหล่านั้นเกิดจากปฏิกิริยาของสิ่งมีชีวิต จะเรียกการเสื่อมสภาพนั้นว่า การเสื่อมสภาพทางชีววิทยา (biodegradation) (Hueck, 1968) และเรียกสิ่งมีชีวิตที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเสื่อมสภาพว่า ไบโอดีเทอริโอเจน (biodegrader) (Kumer et al., 1999)

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม การเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จัดว่าเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลให้แหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์เกิดการเปลี่ยนแปลง จุลินทรีย์จัดเป็นไบโอดีเทอริโอเจนที่ทำให้โบราณสถานเกิดการเสื่อมสภาพได้อย่างช้าๆ (Gadd, 2007) โดยจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ ซึ่งอยู่ในรูปของสปอร์ที่ปะปนมากับฝุ่นละอองหรือไอน้ำ เมื่อจุลินทรีย์เหล่านั้นตกลงไปบนโบราณสถาน ก่อรูปกับการมีสภาวะที่เหมาะสมและระยะเวลาที่เพียงพอ จุลินทรีย์จะเจริญและเพิ่มจำนวนบนโบราณสถานได้ ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อการเสื่อมสภาพของโบราณสถานมีทั้ง แบคทีเรีย รา และสาหร่ายขนาดเล็ก การเสื่อมสภาพที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่สามารถสังเกตเห็นได้โดยง่ายคือ การเปลี่ยนแปลงสี การเกิดคราบต่างๆ รวมทั้งการสึกกร่อนของพื้นผิววัสดุที่ใช้ในการก่อสร้าง

รา (fungi) จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ชนิดของเซลล์เป็นแบบยูแคริโอต (Eukaryotic cell) มีทั้งที่เซลล์เป็นเส้นสายและเป็นเซลล์เดี่ยว ราบางชนิดมีบทบาทเป็นผู้

ย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตอื่น (saprophytes) โดยการสร้างเอนไซม์และหลั่งออกมานอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายสารต่างๆ จากนั้นราจะดูดซึมสารอาหารต่างๆ เพื่อใช้ในการเจริญ และมักมีการผลิตสารต่างๆ ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมเป็นกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดซิตริก กรดทาทาริก ฯลฯ จากการใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน การเจริญของเส้นใยราจะเกิดขึ้นที่บริเวณส่วนปลายของเส้นใยจะยืดยาวออกไปเรื่อยๆ (hyphal tip growth) (Elizabeth, 1996) หากรามีการเจริญรวมกลุ่มกันมากๆ จะสามารถมองเห็นเส้นใยได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้โดยทั่วไปราจะสร้างสปอร์เพื่อใช้ในการสืบพันธุ์ ซึ่งสปอร์ของรา นอกจากจะทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีแล้วยังมีสีต่างๆ มากมายหลากหลายสี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของรา เช่น ราสกุล *Penicillium* sp. มักสร้างสปอร์สีเขียว ในขณะที่ราสกุล *Aspergillus* sp. และ *Rhizopus* sp. มักสร้างสปอร์สีดำ (Alexopoulos and Mims, 1996) เป็นต้น

ราเป็นสาเหตุให้โบราณสถานเสื่อมสภาพได้ โดยที่ในสภาพแวดล้อมทั่วไป ไม่ว่าจะเป็นในอากาศหรือในดินจะมีเชื้อราหลายชนิดที่ปะปนอยู่ทั้งในรูปสปอร์และเส้นใยรา เมื่อชิ้นส่วนเหล่านี้ของราตกไปบนโบราณสถาน จากนั้นบริเวณดังกล่าวมีสปอร์ที่เหมาะสมต่อการเจริญและมีระยะเวลาที่นานพอ ราจะใช้วัสดุก่อสร้าง พวก อิฐ หรือ ไม้ ที่มีกัมมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ รวมทั้งสารอินทรีย์อื่นๆ ที่อยู่บนโบราณสถานจำพวกซากของสิ่งมีชีวิตอื่น มาเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยราจะผลิตเอนไซม์และปล่อยออกมานอกเซลล์เพื่อใช้ในการย่อยสลายสารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เป็นสารที่มีโมเลกุลเล็ก เพื่อให้สามารถดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ ส่งผลให้ราเจริญเพิ่มจำนวน และหากมีราเจริญเป็นจำนวนมากจะสร้างได้ทั้งเส้นใยและ

สปอร์ปกคลุมบนพื้นผิวของโบราณสถาน ซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ทั้งนี้เส้นใยและสปอร์ของราจะมีสีต่างๆ เช่น สีดำ สีน้ำตาล สีส้ม สีขาว สีเขียว ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อสีของโบราณสถาน คือทำให้สีของโบราณสถานที่รานั้นเจริญอยู่เปลี่ยนแปลงในทิศทางที่ไม่ต้องการ นอกจากนี้รบบางชนิดเมื่อมีการเจริญ จะสามารถผลิตสารเมตาบอไลต์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดอินทรีย์ต่างๆ กรดมักมีฤทธิ์ในการกัดกร่อน จะส่งผลต่อโครงสร้างและพื้นผิวของโบราณสถานได้ (Pandey et al., 2011)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของรา และความสามารถในการผลิตสารที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ของราที่แยกจากโบราณสถาน ในเขตอุทยานประวัติศาสตร์ศรีอยุธยา ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นแนวทางให้ทราบความหลากหลายของรา และทราบถึงความสามารถของราในการผลิตสารซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ซึ่งผู้วิจัยจะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาแนวทางในการยับยั้งและป้องกันรา ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อโบราณสถาน เพื่อประโยชน์ในการอนุรักษ์โบราณสถานให้คงอยู่และใช้งานได้ยาวนานยิ่งขึ้น

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. สถานที่เก็บตัวอย่าง

อุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา ตั้งอยู่ที่พิกัด 14.36°N 100.57 °E ในงานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างจากโบราณสถาน 5 แห่ง ได้แก่ วัดมหาธาตุ วัดราชบูรณะ วัดพระศรีสรรเพชญ์ วัดพระราม และพระราชวังโบราณ สภาพภูมิอากาศโดยทั่วไปของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาเป็นแบบร้อน ระดับอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดทั้งปีอยู่ที่ 32.4°C เดือนเมษายนเป็นเดือนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยสูงที่สุดคืออยู่ที่ระดับ 35.9°C ส่วน

อุณหภูมิต่ำที่สุดเฉลี่ยตลอดทั้งปีอยู่ที่ 21.9°C โดยในเดือนมกราคม เป็นเดือนที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำที่สุดอยู่ที่ระดับ 17.0°C ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยตลอดทั้งปี 1,423.8 มิลลิเมตร เดือนที่มีฝนตกที่จำนวนวันมากที่สุดคือเดือนสิงหาคม ในงานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างในเดือนกันยายน

2. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากพื้นผิวของโบราณสถาน โดยตำแหน่งที่เก็บคือบริเวณกึ่งกลางจากด้านซ้าย ขวา ที่ระดับความสูงจากพื้นดิน 150 เซนติเมตร ทางด้านทิศตะวันออก และด้านทิศตะวันตก ด้วยการ swab บนพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร เก็บลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย 0.1 % peptone water ปลอดเชื้อ ส่วนตัวอย่างดิน เก็บที่ระดับความลึก 5-10 เซนติเมตร ประมาณ 20 กรัม ในถุงเก็บตัวอย่างปลอดเชื้อ นำกลับมาตรวจวิเคราะห์ทันที ณ ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา

3. การศึกษาตัวอย่างซากโบราณสถานด้วยกล้อง SEM

เตรียมตัวอย่างขนาดให้มีขนาดเหมาะสมแล้วนำไปผ่านกระบวนการดูความชื้น จากนั้นนำไปติดบน stub เคลือบด้วยอนุภาคทองคำ แล้วตรวจสอบตัวอย่างภายใต้กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5410LV

4. การตรวจสอบจำนวนราทั้งหมด

เจือจางตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ แบบลดลำดับส่วน (serial dilution) จนได้ระดับค่าความเจือจาง เป็น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} ดูตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจาง ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงใน Yeast and Mold Count Plate (บริษัท 3M) ปฏิบัติตามข้อแนะนำของบริษัท แล้วบ่มที่

อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวน โคลนีที่เกิดขึ้น แล้วคำนวณหาจำนวนราทั้งหมด

5. การแยกราเป็นเชื้อบริสุทธิ์

นำตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางแล้ว มาเกลี่ย (spread plate) บนจานอาหารแข็ง PDA จากนั้นนำไป บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบโคลนีของราที่เจริญทุกวัน โดยเมื่อพบว่ามีเชื้อราเจริญให้เขี่ยส่วนเส้นใยราไปวาง บนจานอาหาร PDA จานใหม่ทันที ทำจนกระทั่งได้เชื้อ ราบริสุทธิ์ เก็บราที่บริสุทธิ์แล้วไว้ในหลอดอาหารแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

6. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหาร เลี้ยงเชื้อ (Beata and Agata, 2009)

เลี้ยงราที่ต้องการทดสอบความสามารถในการผลิตสารของเชื้อราด้วยอาหารเหลวสูตรกลูโคส (glucose broth) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย beef extract 3.0 กรัม peptone 5.0 กรัม glucose 10 กรัม เดมอินดิเคเตอร์ bromothymol blue เข้มข้นร้อยละ 1.6 ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ในอาหาร 1 ลิตร ปรับ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.8 บ่มในเครื่อง เขย่าแบบ rotary shaker โดยควบคุมอุณหภูมิที่ระดับ 30°C และความเร็ว 200 รอบต่อนาที วัดค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อบ่มครบ 5 วัน

7. การศึกษาโคลนีของรา

ใช้อุปกรณ์ตัดเส้นใยรา (cork borer) มาตรฐาน ขนาด 3" จะะบริเวณปลายเส้นใยราที่ต้องการทดสอบ วางลงกึ่งกลางผิวหน้าอาหาร malt extract agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน สังเกต โคลนี สีสปอร์พร้อมทั้งบันทึกภาพ

8. การศึกษาเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำรามามาเพาะเลี้ยงบนแผ่นสไลด์ (slide culture) โดยใช้อาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 วัน จากนั้นนำแผ่นสไลด์มาย้อมด้วย lacto phenol cotton blue แล้วตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์

บันทึกภาพลักษณะต่างๆ เช่น เส้นใย สปอร์ การ จัดเรียงตัวของสปอร์

ผลการวิจัย

1. ลักษณะตัวอย่างที่ศึกษา

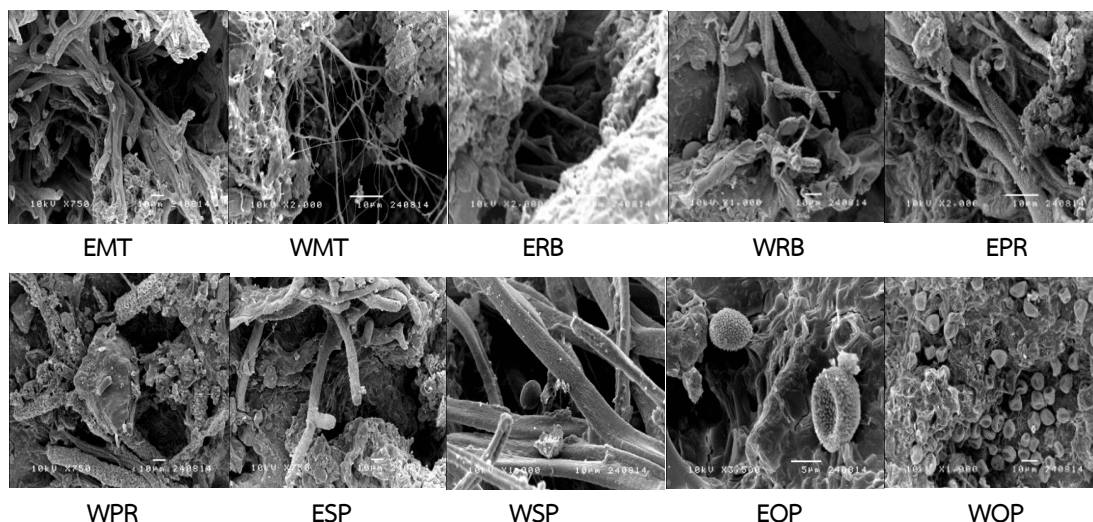
จากการลงพื้นที่เพื่อเก็บตัวอย่างสำหรับ ตรวจสอบทางจุลชีววิทยาของโบราณสถานทั้ง 5 แห่ง คือ วัดมหาธาตุ (MT) วัดราชบูรณะ (RB) วัดพระศรีสรรเพชญ์ (SP) วัดพระราม (PR) และพระราชวังโบราณ (OP) พบว่า พื้นผิวของโบราณสถาน ปรากฏลักษณะของไบโอฟิล์ม (biofilm) ที่มีลักษณะคล้ายกันดังรูปที่ 1 ทั้งนี้ สีที่พบ มากที่สุดและจัดว่าเป็นสีหลักของไบโอฟิล์มที่ปกคลุม พื้นผิวของโบราณสถานทั้ง 5 แห่ง คือสีดำ สีเทา และ สีเทา ส่วนไบโอฟิล์มสีอื่นๆ พบว่ามีปะปนบ้างเล็กน้อย เช่น สีเหลือง สีน้ำตาลเข้ม สีขาว สีเขียว และพบว่าไบ โอฟิล์มที่ปรากฏบนผิวของโบราณสถานที่อยู่ด้านทิศ ตะวันออกและอยู่ทางด้านทิศตะวันตก ไม่มีความ แตกต่างกัน



รูปที่ 1 สีของไบโอฟิล์มบนโบราณสถาน

2. ผลการศึกษาไบโอฟิล์มของซากโบราณสถาน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากการนำชิ้นส่วนอิฐซึ่งเป็นซาก ตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนได้ผลดังรูป
โบราณสถาน จากโบราณสถานทั้ง 5 แห่ง ที่ตั้งอยู่ใน ที่ 2
บริเวณอุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา



รูปที่ 2 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ของตัวอย่างซากโบราณสถาน

EMT: วัดมหาธาตุด้านทิศตะวันออก WMT: วัดมหาธาตุด้านทิศตะวันตก

ERB: วัดราชบูรณะด้านทิศตะวันออก WRT: วัดราชบูรณะด้านทิศตะวันตก

EPR: วัดพระรามด้านทิศตะวันออก WPR: วัดพระรามด้านทิศตะวันตก

ESP: วัดพระศรีสรรเพชญ์ด้านทิศตะวันออก WSP: วัดพระศรีสรรเพชญ์ด้านทิศตะวันตก

EOP: พระราชวังโบราณด้านทิศตะวันออก WOP: พระราชวังโบราณด้านทิศตะวันตก

จากรูปที่ 2 ตัวอย่างจากวัดมหาธาตุ ทั้งด้าน
ทิศตะวันออก (EMT) และทิศตะวันตก (WMT) พบว่า
ผิวของตัวอย่างจะถูกกัดกร่อนและมีการเจริญของ
จุลินทรีย์ที่หลากหลาย พบโครงสร้างของเส้นใยราที่
แห้งและขาดน้ำ

สำหรับตัวอย่างที่เก็บจากวัดราชบูรณะ (WRB,
ERB) พบว่า ผิวของตัวอย่างจะถูกกัดกร่อน พบว่ามี
เส้นใยราที่เจริญแทรกตัวในวัสดุ พบโครงสร้างของ
สาหร่ายขนาดเล็กเจริญบนผิวเป็นจำนวนมาก ซึ่ง
ลักษณะภายใต้กล้อง SEM ของตัวอย่างจากวัดพระรามมี
ลักษณะเหมือนกันกับตัวอย่างที่ได้จากทั้งสองวัดตามที่
กล่าวมาแล้ว ในขณะที่ตัวอย่างจากวัดพระศรีสรรเพชญ์

(ESP, WSP) พบว่า พื้นผิวของวัสดุเกิดการกัดกร่อน
เล็กน้อย มีชิ้นส่วนของจุลินทรีย์พวงสาหร่ายขนาดเล็ก
ที่มีลักษณะขาดความชื้น แต่พบว่ามีจุลินทรีย์ที่มี
ลักษณะเป็นเส้นใยสั้นๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลม
และ ท่อนสั้น ในตัวอย่างจากสถานที่แห่งนี้แต่มีปริมาณ
น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บมาจาก
โบราณสถานจากวัดอื่นๆ ส่วนตัวอย่างจาก
พระราชวังโบราณ (EOP, WOP) พบมีการเจริญของ
จุลินทรีย์บนผิวของวัสดุ รวมทั้งมีการเจริญแบบแทรก
เข้าไปในโครงสร้างของวัสดุ เช่นกัน แต่จากภาพจะเห็นว่า
รูปร่างสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่พบส่วนมากจะมี
รูปร่างกลม และพบที่มีรูปร่างขดเกลียว ซึ่งจุลินทรีย์

เหล่านี้เป็นพวงสาหร่ายขนาดเล็ก และในตัวอย่างนี้พบ พวงสาหร่ายขนาดเล็กนี้เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้ เนื่องจาก โบราณสถานแห่งนี้ไม่ค่อยมีนักท่องเที่ยวมาเที่ยวชม มากนัก และพบว่าภายในบริเวณนี้มีความชื้นสูง ซึ่ง สภาพดังกล่าวเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายเป็น

อย่างดี และการที่ไม่ค่อยมีนักท่องเที่ยวมารบกวน สภาพแวดล้อมดังกล่าวด้วย

3. ผลการศึกษาจำนวนรา

ผลการศึกษาจำนวนราทั้งหมดจาก โบราณสถานได้ผลดังตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 จำนวนราทั้งหมดของตัวอย่างพื้นผิวจากโบราณสถานในอุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา

รหัส	รายละเอียด	จำนวนราทั้งหมด (CFU/ml)
MT1	อิฐ/ตะวันออก	$5.1 \pm 0.10 \times 10^2$
MT2	อิฐ/ตะวันตก	$1.8 \pm 0.05 \times 10^4$
RB1	อิฐ/ตะวันออก	$1.1 \pm 0.30 \times 10^2$
RB2	อิฐ/ตะวันตก	$4.3 \pm 0.22 \times 10^3$
SP1	อิฐ/ตะวันออก	$3.7 \pm 0.10 \times 10^2$
SP2	อิฐ/ตะวันตก	$4.8 \pm 0.05 \times 10^2$
PR1	อิฐ/ตะวันออก	$3.7 \pm 0.05 \times 10^2$
PR2	อิฐ/ตะวันตก	$4.8 \pm 0.31 \times 10^2$
OP1	อิฐ/ตะวันออก	$2.2 \pm 0.21 \times 10^3$
OP2	อิฐ/ตะวันตก	$2.7 \pm 0.08 \times 10^2$

ตารางที่ 2 จำนวนราทั้งหมดของตัวอย่างดินจากโบราณสถานในอุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา

รหัส	รายละเอียด	จำนวนราทั้งหมด (CFU/ml)
MT3	ดิน/ตะวันออก	$6.2 \pm 0.15 \times 10^4$
MT4	ดิน/ตะวันตก	$2.1 \pm 0.15 \times 10^4$
RB3	ดิน/ตะวันออก	$3.2 \pm 0.20 \times 10^4$
RB4	ดิน/ตะวันตก	$8.5 \pm 0.32 \times 10^4$
SP3	ดิน/ตะวันออก	$4.5 \pm 0.15 \times 10^6$
SP4	ดิน/ตะวันตก	$2.0 \pm 0.12 \times 10^6$
PR3	ดิน/ตะวันออก	$7.1 \pm 1.00 \times 10^5$
PR4	ดิน/ตะวันตก	$9.9 \pm 3.05 \times 10^5$
OP3	ดิน/ตะวันออก	$5.2 \pm 0.20 \times 10^5$
OP4	ดิน/ตะวันตก	$1.9 \pm 0.15 \times 10^6$

จากข้อมูลในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 พบว่า จำนวนราทั้งหมดของตัวจากจากพื้นผิวจะมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนราทั้งหมดจากตัวอย่างดิน ทั้งนี้เนื่องจากโดยทั่วไปดินมักเป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรียหรือรา (สมศักดิ์, 2528) เพราะในดินมีสารที่จัดว่าเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของพวกสิ่งมีชีวิตที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (chemotrophs) (Tortora et al., 2007) ทั้งนี้รวมถึงแม้ว่าจะจัดว่าเป็นพวกผู้ย่อยสลาย (saprophyte) แต่เราจัดเป็นพวกที่ต้องการสารอินทรีย์เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเติบโตซึ่งในดินจะพบสารอินทรีย์มากกว่าที่พื้นผิวของโบราณสถานอยู่แล้ว จึงทำให้ปริมาณของราที่พบในดินสูงกว่าจำนวนราที่พื้นผิว

จากข้อมูลในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบจำนวนราที่พบจากตัวอย่างที่เก็บจากทิศตะวันออกและทิศตะวันตกทั้งจากดินและจากพื้นผิวของโบราณสถานพบว่าจำนวนเชื้อที่พบไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ผู้วิจัยคาดว่าจำนวนเชื้อที่พบด้านทิศตะวันตกน่าจะมากกว่าทิศตะวันออกเพราะมีระยะเวลาในการรับแสงแดดที่ยาวนานอุณหภูมิของวัตถุจะสูงกว่า เชื้อที่พบน่าจะน้อยกว่าด้วย ซึ่งควรศึกษาเพิ่มเติมว่าอุณหภูมิและความชื้นแสงในบริเวณโบราณสถาน

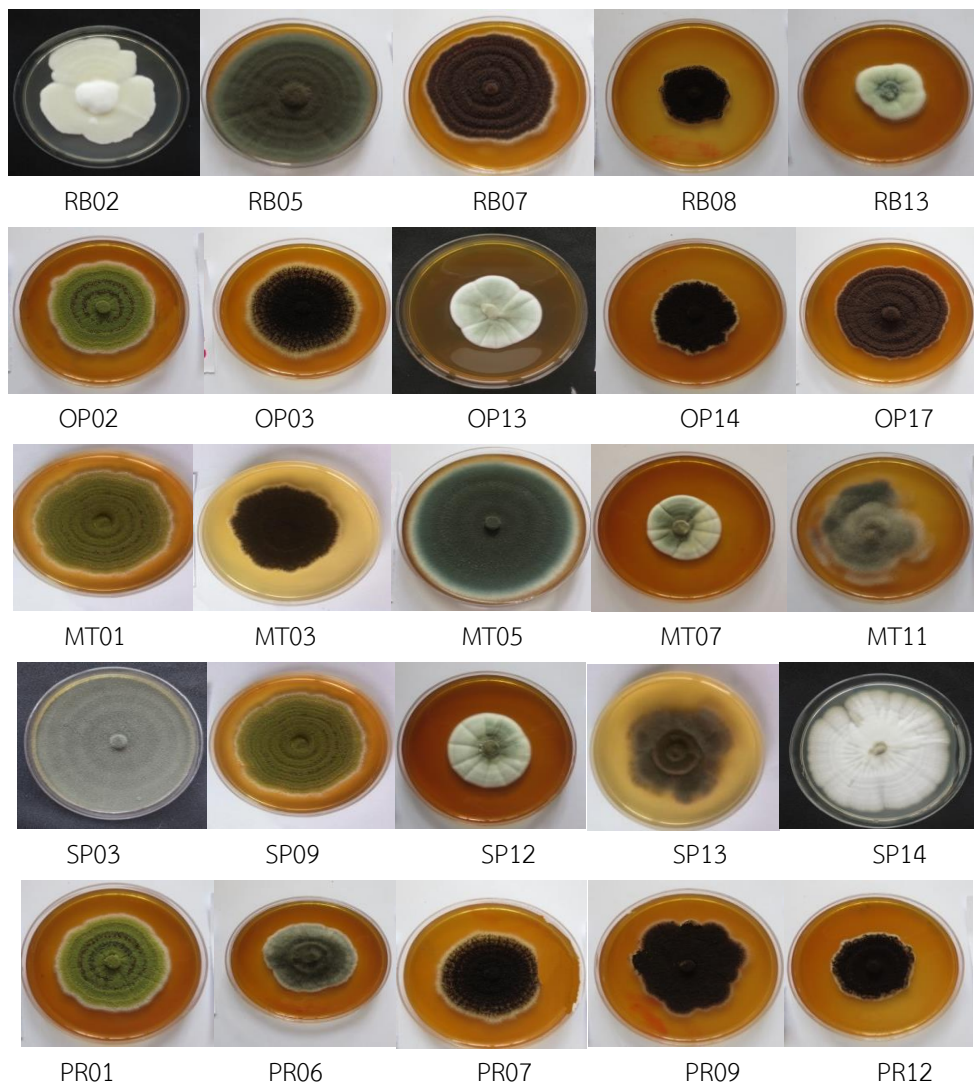
เหล่านั้นมีรูปแบบใดส่งผลกระทบต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์หรือไม่ต่อไป

4. ผลการแยกราบริสุทรี

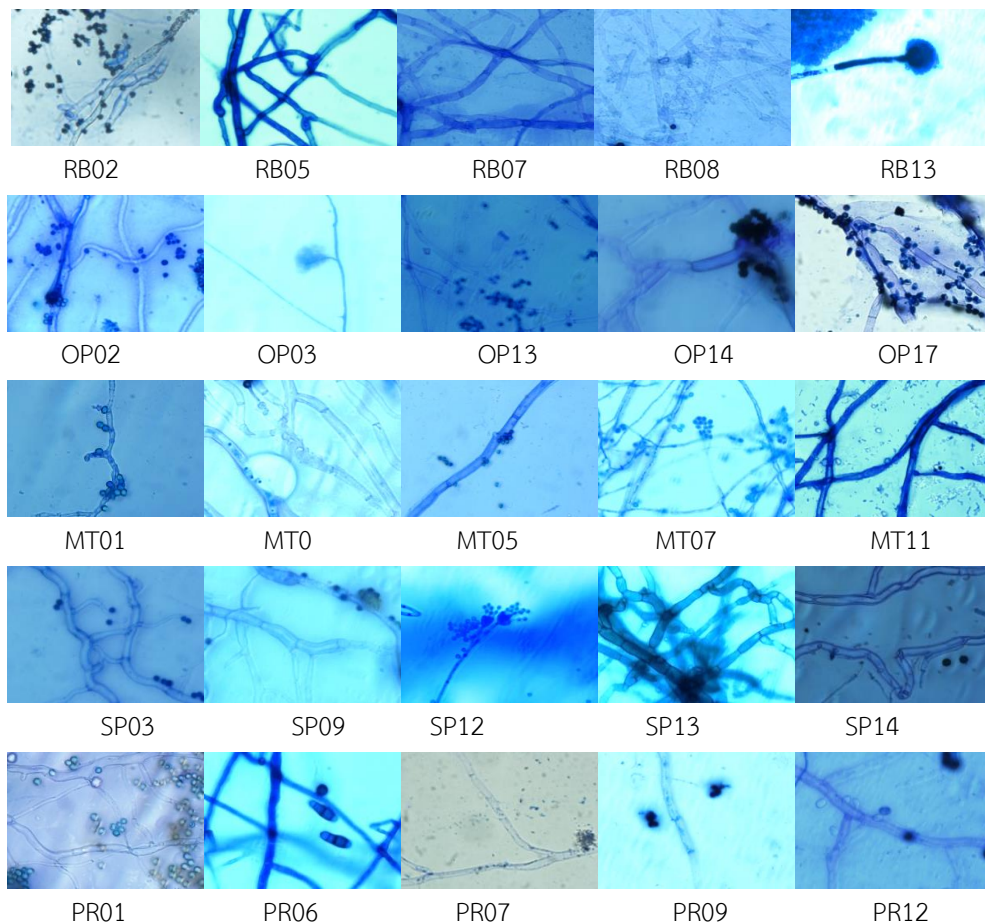
ในงานวิจัยนี้แยกเชื้อโดยการใช้อาหารแข็งสูตร PDA สามารถแยกเชื้อราบริสุทรี ได้ทั้งสิ้น 74 ไอโซเลต ทั้งนี้เชื้อราบริสุทรีที่แยกได้ มีอัตราการเจริญบนอาหารแข็ง PDA ที่แตกต่างกัน บางไอโซเลตใช้ระยะเวลาในการเจริญเต็มจานเพาะเชื้อมาตรฐาน 2-3 วัน ขณะที่บางไอโซเลตใช้เวลานาน 5-7 วัน และพบว่าบางไอโซเลตไม่สามารถเจริญเต็มจานเพาะเชื้อได้ถึงแม้ว่าจะใช้เวลานานกว่า 14 วัน และพบว่าราที่แยกได้มีการสร้างสปอร์และเส้นใยที่มีหลายสี เช่น สีดำ สีน้ำตาลเข้ม สีขาว สีเขียว และสีเทา ซึ่งสีของเส้นใยราและสีของสปอร์ราที่พบล้วนส่งผลโดยตรงต่อการเสื่อมสภาพของโบราณสถานด้านที่ทำให้สีของโบราณสถานที่มีราเหล่านี้เจริญอยู่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านสีไปจากสีเดิม

5. ผลการศึกษาพื้นฐานวิทยาของรา

เมื่อคัดเลือกตัวแทนเชื้อราบริสุทรีที่แยกได้จากโบราณสถานแต่ละแห่ง แห่งละ 5 ไอโซเลต โดยวิธีการสุมตัวอย่าง มาศึกษาการเจริญบนอาหาร Malt extract agar เส้นใยและโครงสร้างสปอร์ของเชื้อจากการเพาะเลี้ยงบนแผ่นสไลด์ ได้ผลดังรูปที่ 3 และรูปที่ 4



รูปที่ 3 โคโลนีและการสร้างสปอร์ของราเมื่อเพาะบนอาหาร Malt extract agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน



รูปที่ 4 ลักษณะเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

ผลจากการศึกษาสัณฐานวิทยาของราตัวแทน ทั้ง 25 ไอโซเลต พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงรบบนจานเพาะเชื้อ จะมีราที่หลากหลายชนิดโดยมีสีของเส้นใยและสีของสปอร์ที่แตกต่างกัน รวมทั้งขนาดของโคโลนีก็แตกต่างกัน แต่พบว่าราที่สร้างสปอร์สีน้ำตาลเข้ม และสีเขียว จะพบได้มากที่สุด และผลจากการศึกษารูปร่างและโครงสร้างการจัดเรียงตัวของสปอร์ราภายใต้กล้องจุลทรรศน์สามารถจำแนกชนิดราเบื้องต้นได้ กล่าวคือ SP12 จัดอยู่ในสกุล *Penicillium* OP02 จัดอยู่ในสกุล *Aspergillus* และ RP06 จัดอยู่ในสกุล *Curvularia* เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษารายละเอียดการเพาะเลี้ยงบนแผ่นสไลด์ใน

งานวิจัยนี้ พบว่าบางไอโซเลตโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสปอร์ราไม่สมบูรณ์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยใช้อาหาร PDA ซึ่งเป็นอาหารทั่วๆ ไปรวมทั้งระยะเวลาในการเพาะเชื้อจะใช้เวลาเท่ากันทั้งหมด ทั้งนี้จากข้อมูลของการเพาะรบบนจานเพาะเชื้อพบว่าราแต่ละไอโซเลตมีอัตราการเจริญที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการเพาะบนเลี้ยงบนแผ่นสไลด์อาจใช้เวลานานเกินไปสำหรับราที่มีอัตราการเจริญเร็ว ทำให้โครงสร้างต่างๆ ไม่สมบูรณ์ จึงไม่สามารถจำแนกชนิดราในเบื้องต้นได้

6. ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ เปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้ผลดังตาราง
เชื้อ นำเชื้อราตัวแทน 25 ไอโซเลต มาทดสอบ ที่ 3
 ความสามารถในการผลิตสารที่ส่งผลต่อการ

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

รหัส	pH		ผลต่าง
	เริ่มต้น	สุดท้าย	
RB02	5.75	4.63	1.21
RB03	5.75	3.29	2.46
RB07	5.75	6.02	- 0.27
RB08	5.75	4.44	1.31
RB13	5.75	5.03	0.72
OP02	5.91	4.49	1.40
OP03	5.91	1.01	1.90
OP13	5.91	3.04	2.87
OP14	5.75	2.15	3.60
OP17	5.75	3.45	2.30
MT01	6.16	4.67	1.21
MT03	6.16	5.20	0.96
MT05	6.16	4.96	1.20
MT07	6.16	5.77	0.39
MT11	5.91	5.81	0.10
SP03	5.91	5.18	0.73
SP09	5.91	4.44	1.47
SP12	5.91	5.73	0.18
SP13	5.91	5.69	0.05
SP14	5.91	4.05	1.86
PR01	5.35	4.47	0.88
PR06	5.35	3.09	2.66
PR07	5.35	4.01	1.34
PR09	5.35	4.26	1.09
PR12	5.35	3.22	2.13

จากตารางที่ 3 พบว่าตัวแทนราทั้ง 25 เป็นค่า เพราะค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม การที่ราซึ่งแยกจากโบราณสถานเหล่านี้สามารถ
 ไอโซเลต ผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นกรด เพราะทำให้ค่า pH ผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดหรือต่างได้ ล้วนส่งผลต่อการ
 ของอาหารลดลง ยกเว้นไอโซเลต RB07 ผลิตสารที่มีฤทธิ์

กักร่อนวัสดุที่ใช้ในการก่อสร้าง จากตารางที่ 3 พบว่ามีเชื้อที่ผลิตสารที่ฤทธิ์เป็นกรดที่มีความเข้มข้นสูง เช่น ไอโซเลต OP14 ซึ่งควรศึกษาถึงวิธีการที่จะยับยั้งราเหล่านี้ไม่ให้มีการเจริญบนพื้นผิวของโบราณสถาน

7. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

เชื้อราจัดได้ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ส่งผลกระทบต่อ การเสื่อมสภาพทางชีววิทยาของสถาปัตยกรรมต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งของโบราณสถาน ซึ่งเชื้อราทำให้เกิดการเสื่อมสภาพโดยตรง คือ การทำให้โบราณสถานมีสีที่แตกต่างไปจากสีดั้งเดิมที่เนื่องมาจากการเจริญของเชื้อรา โดยการสร้างเส้นใยและสปอร์ที่มีสี ในงานวิจัยนี้เมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตสารโดยใช้อาหารเหลวที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ราส่วนมากผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Beata และ Agata (2009) ที่พบว่าราจะผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์เป็นกรดทั้งในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและอาหารที่มีวัสดุก่อสร้างชนิดต่างๆ ที่ใช้แทนกลูโคส ด้านความหลากหลายของราที่พบในงานวิจัยนี้ ศึกษาโดยสุ่มเชื้อราตัวแทน 25 ไอโซเลต และจำแนกเบื้องต้น พบว่า มีสกุลราที่พบอย่างน้อยสามสกุล คือ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Curvularia* ทั้งนี้มีบางสกุลที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Suihko, และคณะ. (2007) ซึ่งได้แยกและจำแนกชนิดของราจากตัวอย่างผิวนุสาวรีย์ในประเทศสกอตแลนด์ ซึ่ง ก่อสร้าง ด้วย หินอ่อน พบราอยู่ในสกุล *Acremonium*, *Cladosporium*, *Penicillium* และ *Phialophora* ซึ่งสกุลของราที่พบมีความแตกต่างจากราที่พบในงานวิจัยนี้ แต่ที่พบเป็นสกุลร่วมมีเพียงสกุลเดียว คือ *Pencillium* ทั้งนี้เนื่องมาจากสภาพภูมิอากาศของสกอตแลนด์ (อุณหภูมิเฉลี่ย 7-9°C) แตกต่างจากสภาพภูมิอากาศของจังหวัดพระนครศรีอยุธยา (อุณหภูมิเฉลี่ย 21-32 °C) เป็น

อย่างมากซึ่งส่งผลโดยตรงต่อชนิดของราที่พบ รวมทั้งเนื่องมาจากวัสดุที่ใช้ในการก่อสร้างที่แตกต่างกัน ส่งผลให้สกุลของราแตกต่างกัน ในขณะที่จากงานวิจัยของ Panday, et al. (2011) ที่สำรวจเชื้อราจากโบราณสถาน Gwalior Fort ในประเทศอินเดีย พบว่ามีสายพันธุ์ของราที่พบจำนวนมาก ถึง 19 สายพันธุ์ ได้แก่ *Alternaria* sp, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. niger*, *Beauveria* sp., *Bipolaris* sp., *Curvularia* sp., *Cochliobolus* sp., *Cladosporium* sp., *Chaetomium* sp., *Conidiobolus* sp., *Crysosporium* sp., *Drechslera* sp., *Exserohilum* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Sepedonium* sp., *Scopulariopsis* sp., *Trichothecium* sp., *Torula* sp. และ *Ulocladium* sp. ซึ่งในงานวิจัยนี้ผลการวิจัยมีความสอดคล้องกันด้านชนิดของสายพันธุ์ราที่พบ เนื่องมาจากสภาพภูมิอากาศของประเทศอินเดียและประเทศไทยไม่แตกต่างกันมาก อย่างไรก็ตามชนิดของราที่พบในงานวิจัยนี้พบว่ามีสกุลราที่แตกต่างกันเพียงสามสกุลเนื่องจากการจำแนกในเบื้องต้น ซึ่งหากได้จำแนกโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพิ่มเติม อาจพบสกุลราจำนวนมากขึ้นได้ จากการตรวจสอบพื้นผิวดตัวอย่างโบราณสถานด้วยกล้อง SEM ก็เป็นข้อมูลที่ช่วยยืนยันได้อย่างชัดเจนว่ามีจุลินทรีย์เจริญบนโบราณสถานและใช้พื้นผิวของโบราณสถานเป็นแหล่งที่อยู่ได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาหาแนวทางในการป้องกันหรือยับยั้งไม่ให้จุลินทรีย์เจริญ โดยที่วิธีการที่ใช้ต้องไม่ส่งผลกระทบต่อโบราณสถาน เพื่อที่จะให้โบราณสถานซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งมรดกทางวัฒนธรรมของชาติจะได้คงอยู่และยืดอายุการใช้งานให้ยาวนานขึ้น

8. เอกสารอ้างอิง

สมศักดิ์ วังโน. (2528). จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช. หน้า 13-32.

Anna, A. G., Jeroen, H., Thomas, D., Gonzalez-Delvalle, M., Wolfgang, E. k., Leonila, L., Karin, P., Saiz-Jimenez, C. and Jean, S. (2004). Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins church (Greene-Kreinsen, Germany). *International Biodeterioration & Biodegradation* 53: 13-24.

Alexopoulos, C. J., and Mims, C. W. (1996). *Introductory Mycology*. (3). New York: John Wiley & Sons, Inc. pp. 1-39.

Beata, G. and Agata, C. (2009). The ability of filamentous fungi to produce acids on building materials. *Annals of Microbiology* 59(4): 807-813.

Elizabeth, M. L. (1996). *Fundamentals of the fungi*. (4) Prentice Hall International. p. 8.

Gadd, G. M. (2007). Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycology Research* 111: 3-49.

Hueck, H. J. (1968). *The biodeterioration of materials. An appraisal, biodeterioration of materials.*

New York: Elsevier Publishing Co, Ltd. pp. 1-29.

Jimenez, C. S. (1997). Biodeterioration & biodegradation: the role of microorganisms in the removal of pollutants deposited on historic buildings. *International journal of Biodeterioration & Biodegradation* 40(2-4): 225-232.

Kumer R. and Kumer A. V. (1999). Biodeterioration of stone in tropical environment: An overview. *The Getty Conservation Institute*. pp. 9-17.

Pandy, A. K., Archana, S., Preeti, B., Sarsaiya, S. and Awashi, A. K. (2011). Diversity of monument deterioration-causing fungi at Gwalior fort (M.P.) India. *Annals of Environmental Science* 5: 35-40.

Suihko, M. L., Alakomi, H. L., Gorbushina, A., Fortune, I., Marquardt, J. and Saarela, M. (2007). Characterization of aerobic bacterial and fungal microbiota on surfaces of historic Scottish monuments. *Systematic and Apply Microbiology* 30: 494-508.

Tortora, G. J., Funke, B. R. and Case, C. L. (2007). *Microbial metabolism. In Microbiology and introduction*. (9). San Francisco: Pearson Education, Inc. pp. 144-146.

