

การศึกษาการเก็บกลับคืนทองคำจากขยะอิเล็กทรอนิกส์โดยการใช้จุลินทรีย์

สายพันธุ์ *Chromobacterium violaceum*



นางสาวจรรุรัตน์ แดงทน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมทรัพยากรธรณี ภาควิชาวิศวกรรมเหมืองแร่และปิโตรเลียม

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

ปีการศึกษา 2556

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตที่ส่งมาที่สำนักงานวิทยานิพนธ์ที่ส่งมาทางบัณฑิตวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

A STUDY OF GOLD RECOVERY FROM E-WASTE BY BIOLEACHING

USING CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM



Miss Jarurat Dangton

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Engineering Program in Georesources Engineering

Department of Mining and Petroleum Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการเก็บกลับคืนทองคำจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ โดยการใช้จุลินทรีย์ สายพันธุ์ <i>Chromobacterium violeceum</i>
โดย	นางสาวจารุรัตน์ แดงทน
สาขาวิชา	วิศวกรรมทรัพยากรธรณี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ขวัญชัย สีเผ่าพันธุ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตต์สิน สีहनนท์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ดาวลัย วิวรรณเดชะ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ขวัญชัย สีเผ่าพันธุ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตต์สิน สีहनนท์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ภิญโญ มีชำนะ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.ฉัตรชัย สมศิริ)

จารุรัตน์ แดงทน : การศึกษาการเก็บกลับคืนทองคำจากขยะอิเล็กทรอนิกส์โดยการใช้จุลินทรีย์ สายพันธุ์ *Chromobacterium violaceum*. (A STUDY OF GOLD RECOVERY FROM E-WASTE BY BIOLEACHING USING CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร.ขวัญชัย ลิเฝ้าพันธุ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร.ประภคิต์สิน สีहनนท์, 72 หน้า.

ปัจจุบันขยะอิเล็กทรอนิกส์มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นทุกปี และในขยะเหล่านี้มีทองคำเป็นส่วนประกอบอยู่ เพราะทองคำมีคุณสมบัติในการนำกระแสไฟฟ้าได้ดีที่สุด จึงทำให้สามารถเก็บกลับคืนทองคำจากขยะอิเล็กทรอนิกส์เหล่านี้ได้ วิธีการต่างๆในการเก็บกลับคืนทองคำจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ได้ถูกพัฒนาอย่างต่อเนื่อง และการชะละลายด้วยแบคทีเรียเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกทั้งยังเป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำ *Chromobacterium violaceum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้ถูกนำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ โดยสามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้สูงสุดประมาณ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria Bertani (LB) การศึกษาการเก็บกลับคืนทองคำครั้งนี้ได้ทำการทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ที่สภาวะควบคุม pH 9 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ความหนาแน่นของตัวอย่าง 0.5% โดยน้ำหนัก และชะละลายทองคำจากตัวอย่างบดละเอียดของแผงวงจรคอมพิวเตอร์ที่หมดอายุการใช้งาน (Electronic Scrap Materials, ESM) ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองได้เตรียมเป็น 2 ประเภท คือ ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการละลายทองแดง (Untreated ESM) ที่มีปริมาณทองคำและทองแดงเท่ากับ 0.22% และ 33.6% ตามลำดับ และตัวอย่างที่ผ่านการละลายทองแดง (Treated ESM) ที่มีปริมาณทองคำและทองแดงเท่ากับ 0.21% และ 3.67% ตามลำดับ เปรียบเทียบการชะละลาย 2 วิธี คือการชะละลายด้วยแบคทีเรีย 1 ขั้นตอน และการชะละลายด้วยแบคทีเรีย 2 ขั้นตอน เป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่า การชะละลายทองคำจากตัวอย่างที่ผ่านการละลายทองแดง (Treated ESM) สามารถเก็บกลับคืนทองคำได้มากกว่าการชะละลายจากตัวอย่างที่ไม่ผ่านการละลายทองแดง (Untreated ESM) และการชะละลายแบบ 2 ขั้นตอนจากตัวอย่างที่ผ่านการละลายทองแดง (Treated ESM) มีประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำที่ดีที่สุดคือ 13.62% (1.43 มิลลิกรัมต่อลิตร) เนื่องจากปริมาณทองแดงที่มีมากในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการละลายทองแดงนั้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและบริโกลไซยาไนด์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ส่งผลทำให้การละลายทองคำลดลง นอกจากนี้เพื่อที่จะศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำ จึงได้ทำการทดลองเติมอาหารแบบต่อเนื่องในชุดการทดลองการชะละลาย 2 ขั้นตอน เพื่อรักษาความเข้มข้นของไซยาไนด์และประชากรแบคทีเรียไว้ในระหว่างขั้นตอนการชะละลาย ผลการทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการสังเคราะห์ไซยาไนด์และจำนวนประชากรแบคทีเรียนั้นอยู่ในระดับที่เพิ่มสูงขึ้น และประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำเพิ่มขึ้นเป็น 30.28% (3.18 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ภาควิชา วิศวกรรมเหมืองแร่และปิโตรเลียม ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา วิศวกรรมทรัพยากรธรณี ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ปีการศึกษา 2556 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5470500721 : MAJOR GEORESOURCES ENGINEERING

KEYWORDS: BIOLEACHING / E-WASTE / GOLD RECOVERY / CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM

JARURAT DANGTON: A STUDY OF GOLD RECOVERY FROM E-WASTE BY BIOLEACHING USING CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM. ADVISOR: ASSOC. PROF. QUANCHAI LEEPOWPANTH, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. PRAKITSIN SIHANONTH, 72 pp.

Nowadays, the enormous amount of e-waste has been generated and increasing every year. Gold is used in electronic components because of its excellent conducting property, a large amount of gold can be recovered from e-waste. Various methods for the recovery of gold from e-waste have been developed. Bioleaching is the alternative offering environmental friendly and comparatively low cost of recovery. In this study, cyanogenic bacteria strains *Chromobacterium violaceum* which is capable of synthesizing cyanide at about 60 mg/l was used in Luria Bertani Broth (LB). The experiment was carried out in an incubator shaker at 30 °C and pH 9 in LB medium with shaking speed 200 rpm. Pulp density was maintained at 0.5% by weight of Electronic Scrap Materials (ESM). Bioleaching was carried out in 1-step and 2-step bioleaching with Cu Treated ESM (0.21% Au, 3.67% Cu) and Cu Untreated ESM (0.22% Au, 33.6% Cu) for 7 days. The results showed that bioleaching from Treated ESM demonstrated higher recovery (13.62%) than the Untreated ESM. 2-step bioleaching from Treated ESM showed the highest recovery at 13.62% (1.43 mg/L). This is due to the fact that copper in ESM can retard bacterial growth and consume some cyanide generated, therefore inhibiting gold recovery. In order to improve the recovery, media addition in 2-step bioleaching to maintain cyanide concentration and bacterial population during leaching was experimented. The results revealed that gold recovery was increased to 30.28% (3.18 mg/L) due to substantial higher cyanide production and bacterial population.

Department: Mining and Petroleum Engineering Student's Signature

Advisor's Signature

Field of Study: Georesources Engineering Co-Advisor's Signature

Academic Year: 2013

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากหลายหน่วยงาน นอกจากนี้ยังได้รับความช่วยเหลือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์จากบุคคลหลายฝ่าย ดังนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ขวัญชัย สีเผ่าพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก เป็นอย่างสูง ที่คอยให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการแก้ปัญหา ให้ข้อเสนอแนะ และแก้ไขข้อผิดพลาดตลอดระยะเวลาในการทำงานวิจัย นอกจากนี้ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ให้ข้อคิดในการดำเนินชีวิตตลอดจนการทำงานในอนาคต และคอยกำลังใจในการแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นอยู่เสมอ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ประกิตติสิน สีहनนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ในการอนุเคราะห์เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ ตลอดจนคำปรึกษาและเพิ่มพูนความรู้ทางด้านจุลชีววิทยา อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ซึ่งประกอบด้วย รศ.ดร. ดาวัลย์ วิวรรณระเดช รศ.ดร. ภิญโญ มีชานะ ผศ.ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์ และ ดร.ฉัตรชัย สมศิริ สำหรับข้อเสนอแนะและคำแนะนำต่างๆเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ บุคลากรในภาควิชาเหมืองแร่และปิโตรเลียมทุกท่าน สำหรับคำแนะนำ และอำนวยความสะดวกต่างๆ ระหว่างที่ศึกษาและทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ในการอนุเคราะห์เครื่องมือและห้องปฏิบัติการทางด้านจุลชีววิทยา ซึ่งทำให้สามารถดำเนินการวิจัยได้อย่างสะดวกและสำเร็จลุล่วงด้วยดีมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ สถานีรีไซเคิล วงษ์พาณิชย์ สุวรรณภูมิ (บริษัท จำกัด) ในความอนุเคราะห์ตัวอย่างคอมพิวเตอร์ที่หมดอายุการใช้งาน เพื่อใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณ เพื่อน รุ่นพี่ และรุ่นน้อง ทั้งนิสิตปริญญาโทและปริญญาตรีทุกคน สำหรับความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจ มาตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ เพื่อน รุ่นพี่ และรุ่นน้อง ชมรมค่ายอาสาพัฒนา คณะวิทยาศาสตร์ทุกคน

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ น้องสาว และน้องชาย ที่คอยให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน เป็นที่พึ่งพิงอันอบอุ่น และเป็นกำลังใจสำคัญที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงในที่สุด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....	1
1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ปรีทศน์วรรณกรรม	4
2.1 ขยะอิเล็กทรอนิกส์.....	4
2.1.1 ทองคำในขยะอิเล็กทรอนิกส์.....	5
2.2 กระบวนการในการเก็บกลับคืนทองคำ	5
2.2.1 การชะละลายด้วยไซยาไนด์.....	6
2.2.2 การชะละลายด้วยเฮไลต์.....	7
2.2.3 การชะละลายด้วยไทโอยูเรีย.....	8
2.2.4 การชะละลายด้วยไทโอซัลเฟต.....	9
2.3 การชะละลายโดยทางชีวภาพ (Bioleaching).....	10
2.3.1 กลไกการออกซิเดชันโลหะซัลไฟด์ด้วยแบคทีเรียประเภท Sulphur Oxidizing Bacteria	11
2.3.2 การประยุกต์ใช้วิธีชะละลายโดยทางชีวภาพในทางปฏิบัติ	12
2.4 แบคทีเรีย	14
2.5 ปัจจัยสำคัญในการชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรีย.....	15
2.5.1 สารอาหาร.....	15
2.5.2 ออกซิเจน	15

2.5.3 ค่าความเป็นกรดเบส.....	15
2.5.4 อุณหภูมิ.....	16
2.5.5 การเตรียมตัวอย่าง.....	17
2.5.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
บทที่ 3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย.....	20
3.1 อุปกรณ์.....	20
3.2 เคมีภัณฑ์.....	21
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	22
3.3.1 การเตรียมตัวอย่าง.....	22
3.3.1.1 การเตรียมแบคทีเรีย.....	22
3.3.1.2 การเตรียมตัวอย่าง Electronic Scrap Material, ESM.....	23
3.3.2 การชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย.....	23
3.3.2.1 การชะละลาย 1 ขั้นตอน (1-step bioleaching).....	23
3.3.2.2 การชะละลาย 2 ขั้นตอน (2-step bioleaching).....	24
3.3.3 การชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรียแบบเติมอาหารต่อเนื่อง.....	24
3.3.4 การวิเคราะห์ผล.....	24
3.3.4.1 จำนวนประชากรแบคทีเรีย.....	24
3.3.4.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์.....	25
3.3.5 การเตรียมสารละลาย.....	25
3.3.6 ภาพการดำเนินงานวิจัย.....	26
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	32
4.1 การเตรียมตัวอย่าง.....	32
4.1.1 ปริมาณโลหะในตัวอย่าง ESM.....	32
4.1.2 การเจริญของแบคทีเรียและการสร้างไซยาไนด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว.....	33
4.2 การชะละลาย 1 ขั้นตอน (1-step bioleaching).....	36
4.2.1 การเจริญของแบคทีเรีย.....	36
4.2.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์.....	37

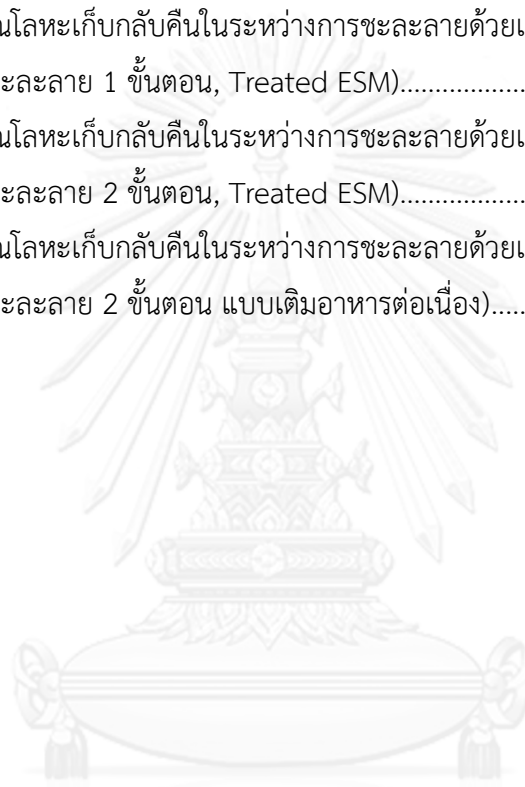
4.3 การชะละลาย 2 ขั้นตอน (2-step bioleaching).....	39
4.3.1 การเจริญของแบคทีเรีย	39
4.3.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์	40
4.4 ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำโดยแบคทีเรีย.....	42
4.5 การชะละลายทองคำแบบเติมอาหารต่อเนื่อง	44
4.5.1 การเจริญของแบคทีเรีย	44
4.5.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์	45
4.5.3 ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนโลหะโดยแบคทีเรีย	47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	49
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	49
5.2 ข้อเสนอแนะงานวิจัย.....	50
รายการอ้างอิง	52
ภาคผนวก.....	54
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	55
ภาคผนวก ข เทคนิคและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	57
ภาคผนวก ค ข้อมูลดิบ	60
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	72

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างสัดส่วนขององค์ประกอบต่างๆ ในคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคลและโทรศัพท์มือถือ ..	4
ตารางที่ 2.2 ค่าคงที่ความเสถียรของสารเชิงซ้อนทองคำ	10
ตารางที่ 2.3 โรงงานชะละลายทองแดงด้วยจุลินทรีย์ในเชิงพาณิชย์	13
ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณทองคำ และทองแดงในตัวอย่าง ESM	32
ตารางที่ ค.1 จำนวนประชากรแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB	60
ตารางที่ ค.2 จำนวนประชากรแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ที่มีการเติมอาหารต่อเนื่อง	61
ตารางที่ ค.3 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (ชุดควบคุม)	61
ตารางที่ ค.4 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 1 ขั้นตอน)	62
ตารางที่ ค.5 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 2 ขั้นตอน)	63
ตารางที่ ค.6 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง)	64
ตารางที่ ค.7 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ในอาหารเหลว	65
ตารางที่ ค.8 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (ชุดควบคุม)	66
ตารางที่ ค.9 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 1 ขั้นตอน, Untreated ESM)	67
ตารางที่ ค.10 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 1 ขั้นตอน, Treated ESM)	67
ตารางที่ ค.11 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 2 ขั้นตอน, Untreated ESM)	68
ตารางที่ ค.12 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 2 ขั้นตอน, Treated ESM)	68
ตารางที่ ค.13 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง, ชุดควบคุม)	69
ตารางที่ ค.14 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ (การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง)	69

ตารางที่ ค.15 ปริมาณโลหะในตัวอย่าง ESM	70
ตารางที่ ค.16 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย (การชะละลาย 1 ขั้นตอนที่ Untreated ESM)	70
ตารางที่ ค.17 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย (การชะละลาย 2 ขั้นตอนที่ Untreated ESM)	70
ตารางที่ ค.18 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย (การชะละลาย 1 ขั้นตอนที่ Treated ESM).....	71
ตารางที่ ค.19 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย (การชะละลาย 2 ขั้นตอนที่ Treated ESM).....	71
ตารางที่ ค.20 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย (การชะละลาย 2 ขั้นตอนที่ แบบเติมอาหารต่อเนื่อง).....	71



สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 การเจริญของ <i>Chromobacterium violaceum</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง	14
รูปที่ 2.2 ความสัมพันธ์ของความเป็นกรดต่างกับการแตกตัวของไซยาไนด์	16
รูปที่ 2.3 การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ โดยสัมพันธ์กับอุณหภูมิ	17
รูปที่ 3.1 ชิ้นส่วนโลหะจากส่วนต่างๆ ของแผงวงจรหลักของคอมพิวเตอร์ที่ใช้งานวิจัย	26
รูปที่ 3.2 การบัดแผงวงจรหลักของคอมพิวเตอร์ด้วยเครื่องบัดชนิด Vibratory cup mill	27
รูปที่ 3.3 การคัดขนาด ESM ด้วยตะแกรงขนาด -75 ไมครอน	27
รูปที่ 3.4 ESM ที่สามารถผ่านรูตะแกรงถูกนำมาใช้ในงานวิจัย	28
รูปที่ 3.5 ESM ที่มีขนาดใหญ่กว่า 75 ไมครอน (นำมาบดละเอียดซ้ำอีกครั้ง)	28
รูปที่ 3.6 การเตรียม Treated ESM โดยละลาย ESM ด้วยกรดไนตริก	29
รูปที่ 3.7 ลักษณะโคโลนีของ <i>Chromobacterium violaceum</i> ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ LB	29
รูปที่ 3.8 อุปกรณ์พื้นฐานที่ใช้ในทางจุลชีววิทยา และการทดลองในตู้เขี่ยเชื้อ	30
รูปที่ 3.9 เครื่องเขี่ยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที	30
รูปที่ 3.10 ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนการเติม ESM จากขั้นตอนการชะละลายโลหะ แบบ (ก) การชะละลาย 1 ขั้นตอน และ (ข) การชะละลาย 2 ขั้นตอน	31
รูปที่ 3. 11 การเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไซยาไนด์ด้วยวิธีไตเตรท (ก่อนเติมอินดิเคเตอร์-สีของอินดิเคเตอร์ก่อนการไตเตรท-สีที่จุดยุติ)	31
รูปที่ 4.1 กราฟแสดงการเจริญและการสร้างไซยาไนด์ของ <i>Chromobacterium violaceum</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB บนเครื่องเขี่ยควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ pH 9	35
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงจำนวน <i>Chromobacterium violaceum</i> ในระหว่างการชะละลายโลหะ จาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน	36
รูปที่ 4. 3 กราฟแสดงความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่ผลิตโดย <i>Chromobacterium violaceum</i> ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน	37
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงจำนวน <i>Chromobacterium violaceum</i> ในระหว่างการชะละลายโลหะ จาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน	39
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่ผลิตโดย <i>Chromobacterium violaceum</i> ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน	40
รูปที่ 4.6 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดงจากตัวอย่าง ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน และการชะละลาย 2 ขั้นตอน	43

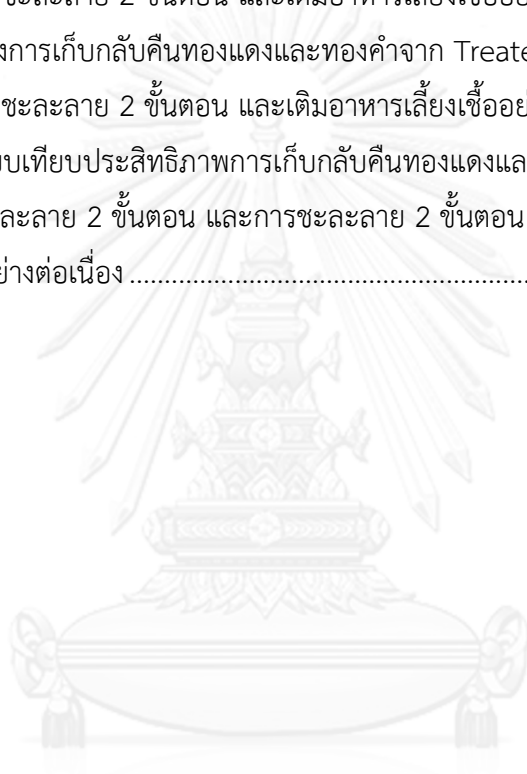
รูปที่ 4.7 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำจากตัวอย่าง ESM
 ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน และการชะละลาย 2 ขั้นตอน..... 43

รูปที่ 4.8 กราฟแสดงจำนวน *Chromobacterium violaceum* ในระหว่างการชะละลายโลหะ จาก
 Treated ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน และเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง.. 46

รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความเข้มข้นของไซยาไนด์ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก Treated ESM
 ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน และเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง 46

รูปที่ 4.10 กราฟแสดงการเก็บกลับคืนทองแดงและทองคำจาก Treated ESM
 ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน และเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง 48

รูปที่ 4.11 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดงและทองคำ
 โดยการชะละลาย 2 ขั้นตอน และการชะละลาย 2 ขั้นตอน ที่มีการเติมอาหาร
 เลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง 48



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา

ขยะอิเล็กทรอนิกส์ (Waste from Electrical and Electronic Equipment, WEEE) หรือที่รู้จักกันในชื่อ e-waste ได้กลายเป็นส่วนหนึ่งของขยะแข็งในเขตเทศบาลที่เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในปัจจุบัน โดยแต่ละปีจะมีมากถึง 20-50 ล้านตันต่อปี และไม่ใช่เพียงประเทศพัฒนาแล้วเท่านั้นที่เป็นต้นตอของขยะอิเล็กทรอนิกส์เหล่านี้ ในทวีปเอเชียมีการทิ้งขยะประเภทนี้ในปริมาณ 12 ล้านตันต่อปี เพราะความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีที่รวดเร็วทำให้อายุการใช้งานของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์น้อยลง อาทิเช่น คอมพิวเตอร์ในประเทศที่พัฒนาแล้วในปีพ.ศ. 2540 อายุการใช้งานเฉลี่ยที่ 6 ปี แต่ลดลงเป็น 2 ปีในปีพ.ศ. 2548 และมีแนวโน้มลดลงต่อเนื่อง โทรศัพท์มือถือและอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์อื่นๆ มีแนวโน้มเช่นเดียวกัน และสิ่งที่มีผลตามมาเนื่องมาจากการเพิ่มปริมาณขยะเหล่านี้คือการปนเปื้อนของสารพิษจากส่วนประกอบที่เป็นโลหะหนักต่างๆ ทั้งโลหะพื้นฐานและโลหะมีค่า

โลหะพื้นฐานและโลหะมีค่าเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ใช้ในการผลิตอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ โดยเฉพาะในส่วนของแผงวงจรพิมพ์ ที่มีโลหะมีค่าเช่นทองคำและแพลทินัมเป็นส่วนประกอบ การแยกสกัดและการนำกลับมาใช้ใหม่จึงเป็นแนวทางที่สำคัญในการจัดการกับปัญหาขยะอิเล็กทรอนิกส์ที่เพิ่มมากขึ้น โดยในปัจจุบันเหล่านี้อาจเรียกได้ว่าเป็น “แร่ทุติยภูมิ” (secondary ore) สำหรับการแยกโลหะมีค่า หากเทียบปริมาณต่อน้ำหนักแล้ว แหล่งแร่ทุติยภูมินี้มีทองคำมากกว่าในแหล่งแร่ตามธรรมชาติ ทำให้มีการพัฒนากระบวนการในการแยกสกัดโลหะมีค่าเหล่านี้ออกมา ทั้งนี้ต้องพิจารณาถึงความคุ้มทุนและวิธีการที่ลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนด้วยสารพิษ

กระบวนการทางกายภาพและทางเคมีในการแยกสกัดเอาโลหะมีค่าเช่นทองคำออกจากสินแร่ในเหมืองทองคำส่วนใหญ่ใช้วิธีการลดขนาดสินแร่ (grinding) และการชะละลายทองคำด้วยสารละลายไซยาไนด์ (cyanide leaching) จากนั้นดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (activated carbon adsorption) และทำให้บริสุทธิ์ด้วยการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (electro-winning) และกระบวนการทางโลหวิทยา (metallurgical process) ในส่วนของแหล่งแร่ทุติยภูมิก็เช่นเดียวกัน ชิ้นส่วนของขยะอิเล็กทรอนิกส์ถูกนำมาแยกและสกัดเอาเฉพาะส่วนของโลหะมีค่าด้วยกระบวนการดังกล่าว แต่ด้วยปริมาณของแหล่งแร่ที่ยังมีจำกัดเมื่อเทียบกับสินแร่ปฐมภูมิ และชนิดของส่วนประกอบที่หลากหลาย ทั้งพลาสติก โลหะ และเซรามิก ทำให้ต้นทุนในกระบวนการนั้นสูงมากทั้งเครื่องมือและสารเคมี อีกทั้งจำเป็นต้องคำนึงถึงกรรมวิธีในการจัดการของเสียอันตรายซึ่งถือว่าเป็นประเด็นสำคัญ

จึงมีการพัฒนาการแยกสกัดเอาโลหะมีค่าที่ใช้ต้นทุนน้อยกว่า เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และง่ายต่อการจัดการ การชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรียจึงเป็นทางเลือกที่ถูกพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง

การชะละลายด้วยแบคทีเรีย (Bioleaching) มีการนำมาปรับใช้ในระดับอุตสาหกรรมเหมือนแร่มานานและยังคงถูกพัฒนาประสิทธิภาพมาอย่างต่อเนื่อง แต่เพราะขยะอิเล็กทรอนิกส์นั้นแตกต่างจากสินแร่ตามธรรมชาติด้วยองค์ประกอบที่หลากหลายและมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องอาศัยการออกแบบกระบวนการที่เหมาะสม จุลินทรีย์ที่มีความสามารถถูกนำมาใช้หลากหลายสายพันธุ์ ทั้งแบคทีเรียและรา โดยแต่ละสายพันธุ์มีการนำไปใช้งานที่แตกต่างกันไปเพราะความสามารถที่หลากหลายและเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวในการสร้างเอนไซม์ที่แตกต่างกัน

Cyanogenic bacteria เป็นกลุ่มแบคทีเรียสร้างไซยาไนด์ที่นิยมนำมาใช้ในการชะละลายโลหะทองคำ ยกตัวอย่างเช่น *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Chromobacterium violaceum* โดยมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า *C.violaceum* สามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้มากถึง 60 ppm ในเวลา 5 วัน และละลายทองคำจากแผงวงจรอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic Material Scrap, ESM) ได้ถึง 70% (0.716 mg/L) ที่ความเข้มข้น 1%w/v ทั้งนี้ประสิทธิภาพของแบคทีเรียนั้นยังขึ้นอยู่กับสภาวะที่เหมาะสมหลายประการ ทั้งอาหารที่ใช้ในการเพาะเชื้อ อุณหภูมิที่ใช้บ่ม ปริมาณออกซิเจน ปริมาณไซยาไนด์ที่ถูกผลิต ความหนาแน่นของโลหะหนักในระบบ เป็นต้น โดยทองแดงเป็นโลหะที่ทำปฏิกิริยากับไซยาไนด์ได้เร็ว ทองแดงในปริมาณมากจึงเป็นอุปสรรคให้การชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรียไม่เต็มประสิทธิภาพ และช่วงเวลาในการเริ่มปฏิกิริยาก็มีความสำคัญต่อการผลิตไซยาไนด์และการเพิ่มประชากรของแบคทีเรียด้วย ดังนั้นสิ่งที่สำคัญคือการออกแบบกระบวนการที่เหมาะสมเพื่อประสิทธิภาพสูงสุดในการชะละลาย

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อพัฒนาการออกแบบกระบวนการการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรียจากชิ้นส่วนอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ใช้แล้ว เพื่อให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้นโดยการกำจัดปัจจัยที่เป็นอุปสรรคในที่นี้คือทองแดง และเพื่อวิเคราะห์ขั้นตอนการชะละลายด้วยแบคทีเรียที่เหมาะสม

1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย

- 1) ศึกษาผลกระทบของทองแดงในชิ้นส่วนขยะอิเล็กทรอนิกส์ที่มีต่อการสังเคราะห์ไซยาไนด์และการเจริญของแบคทีเรีย
- 2) ศึกษาผลกระทบของเวลาในการเติมตัวอย่าง ที่มีต่อการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย
- 3) ศึกษาประสิทธิภาพการชะละลายทองคำจากการเติมอาหารอย่างต่อเนื่อง

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยชิ้นนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาการชะละลายทองคำจากซากขยะอิเล็กทรอนิกส์ จากชิ้นส่วนแผงวงจรคอมพิวเตอร์โดยใช้ตัวอย่างที่ไม่ผ่านและผ่านการลดปริมาณทองแดง โดยการชะละลายทองคำจากตัวอย่างดังกล่าวด้วยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Chromobacterium violaceum* โดยออกแบบขั้นตอนการทดลองเป็นการเติมตัวอย่างในการทดลองการชะละลาย 1 ขั้นตอน (1-step bioleaching) และ 2 ขั้นตอน (2-step bioleaching) ในสภาวะควบคุมอุณหภูมิและการเขย่าและใช้เวลาทดลอง 7 วัน นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการเติมสารอาหารต่อเนื่องในการทดลองการชะละลาย 2 ขั้นตอน เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการชะละลายทองคำ มีการวิเคราะห์ปริมาณประชากรแบคทีเรีย ความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย และความเข้มข้นของทองคำตามระยะเวลาการทดลองเพื่อศึกษาพฤติกรรมของการชะละลายของแบคทีเรียและประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนของทองคำ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำที่เพิ่มขึ้นหลังจากการเตรียมตัวอย่างที่มีปริมาณทองแดงลดลง
- 2) ทราบถึงประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมตัวอย่างในช่วงเวลาที่เหมาะสม
- 3) ทราบถึงประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่องในระหว่างการทดลอง

บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

2.1 ขยะอิเล็กทรอนิกส์

อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่ถูกผลิตขึ้นมาเพื่ออำนวยความสะดวกของมนุษย์นั้น เมื่อหมดอายุการใช้งานหรือเข้าสู่ยุคแห่งการเปลี่ยนแปลงเทคโนโลยี อุปกรณ์เหล่านี้จึงกลายเป็น “ขยะอิเล็กทรอนิกส์” ในภาษาอังกฤษมีการเรียกในหลายชื่อ โดยมีชื่ออย่างเป็นทางการคือ Waste of Electronic or Electrical Equipment, WEEE หรือที่รู้จักกันโดยทั่วไปคือ e-waste ในชิ้นส่วนของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์มักมีองค์ประกอบของโลหะหลายชนิดทั้งทองแดง อลูมิเนียม และเหล็ก รวมทั้งโลหะมีค่า เช่น ทองคำ หรือธาตุในกลุ่มแพลทินัม โดยโลหะจะถูกห่อหุ้มหรือรวมอยู่กับองค์ประกอบที่เป็นพลาสติกหรือเซรามิก (Hoffmann, 1992)

เทคโนโลยีที่ก้าวหน้าอย่างรวดเร็วทำให้อายุการใช้งานของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์สั้นลง ส่งผลให้แต่ละปีมีขยะเหล่านี้เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในประเทศที่พัฒนาแล้วและประเทศกำลังพัฒนา ในทวีปเอเชีย ประเทศที่มีขยะอิเล็กทรอนิกส์มากที่สุดคือประเทศจีน โดยมีรายงานว่าที่ประเทศจีนมีคอมพิวเตอร์ทิ้งต่อปีประมาณ 4,480,000 ตัน (Terazono, 2006) ในขณะที่ประเทศอังกฤษมีขยะที่เป็นชิ้นส่วนของแผ่นวงจรพิมพ์คอมพิวเตอร์ประมาณ 50,000 ตันต่อปี (Goosey, 2002) (Kellner, 2002)

ตัวอย่างองค์ประกอบของคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคลและโทรศัพท์มือถือแสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์ทั้ง 2 ชนิดมีส่วนประกอบที่เป็นโลหะ ได้แก่ ทองแดง อลูมิเนียม และโลหะมีค่าอื่นๆ และองค์ประกอบที่เป็นอโลหะ ได้แก่ พลาสติก นอกจากนี้ยังพบว่าสัดส่วนของโลหะมีค่าเช่นทองคำ เงิน จะมีอยู่มากในโทรศัพท์มือถือเมื่อเปรียบเทียบกับคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างสัดส่วนขององค์ประกอบต่างๆ ในคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคลและโทรศัพท์มือถือ (Jirang Cui, 2008)

องค์ประกอบ	คอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล	โทรศัพท์มือถือ
อโลหะ		
พลาสติก	10.90-22.99%	40%
แก้ว	24.88%	15%
โลหะ		
เหล็ก	20%	5%
ทองแดง	7%	13%

องค์ประกอบ	คอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล	โทรศัพท์มือถือ
อะลูมิเนียม	14%	1%
ตะกั่ว	6%	0.3%
นิกเกิล	0.85%	0.1%
เงิน	189 ppm	1,380 ppm
ทองคำ	16 ppm	350 ppm
พลาตาเดียม	3 ppm	210 ppm

2.1.1 ทองคำในขยะอิเล็กทรอนิกส์

จากองค์ประกอบของโลหะทั้งหมดที่ในชิ้นส่วนของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ทั้งหมด ทองคำ (Au) ถือเป็นโลหะที่มีมูลค่ามากที่สุดในท้องตลาด ราคาทองในเดือนเมษายนปีค.ศ. 2014 อยู่ที่ประมาณ 1,300 ดอลลาร์สหรัฐต่อออนซ์ หรือประมาณ 40,000 บาท ในขณะที่เงินมีมูลค่าอยู่ที่ 20 ดอลลาร์สหรัฐต่อออนซ์ หรือประมาณ 600 บาท ("The London Bullion Market Association (LBMA),") เมื่อผลิตภัณฑ์อิเล็กทรอนิกส์เหล่านี้หมดอายุการใช้งานและกลายเป็นกองขยะขนาดใหญ่ ทองคำที่เป็นส่วนประกอบเพียงเล็กน้อยจึงมีปริมาณที่ถูกทิ้งให้สูญเปล่ามากขึ้น จากราคาทองคำที่สูงกว่าโลหะพื้นฐานอื่นๆ หลายเท่าตัว ทำให้การเก็บกลับคืนทองคำจากอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์เป็นที่น่าสนใจ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณทองคำจากแหล่งต่างๆ พบว่ามีปริมาณทองคำในสินแร่ 0.5 ถึง 13.5 กรัมต่อตัน (Korte et al., 2000) แต่ในซากอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์มีความเป็นไปได้ที่จะมีทองคำปะปนอยู่ถึง 10-1000 กรัมต่อตัน ขึ้นอยู่กับชนิดของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ประกอบกับขยะอิเล็กทรอนิกส์ที่มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ทำให้การเก็บกลับคืนทองคำอาจมีความคุ้มค่ากว่าการแยกทองคำจากสินแร่ โดยทองคำพบได้ในชิ้นส่วนอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่เกี่ยวข้องกับการเชื่อมต่อวงจร เพราะคุณสมบัติในการเป็นสื่อนำไฟฟ้าได้ดีที่สุด การเลือกทองคำจะทำให้อายุการใช้งานของเครื่องเหล่านี้ยาวนาน

2.2 กระบวนการในการเก็บกลับคืนทองคำ

ขั้นตอนหลักในกระบวนการแยกโลหะด้วยวิธีทางโลหะวิทยาสารละลายประกอบด้วย การชะละลายของโลหะที่เป็นของแข็งด้วยกรดหรือด่างประเภทต่างๆ (การชะด้วยไฮยาไนต์ การชะด้วยฮาไลต์ การชะด้วยไทโอยูเรีย และการชะด้วยไทโอซัลเฟต) สารละลายที่ได้จะถูกแยกหรือทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีต่างๆ เช่น การตกตะกอนสารมลทินออกไป การสกัดด้วยตัวทำละลาย การดูดซับและ

การแลกเปลี่ยนประจุ เพื่อแยกและทำให้โลหะที่ต้องการเข้มข้นขึ้น จากนั้นสารละลายที่เหลือจะถูกนำไปผ่านกระบวนการแยกด้วยไฟฟ้า (Electro refining process) หรือกระบวนการรีดักชันทางเคมี หรือการตกผลึกเพื่อนำโลหะกลับมา โดยในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะการชะละลายด้วยสารเคมี

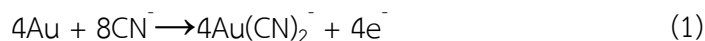
2.2.1 การชะละลายด้วยไซยาไนด์

ไซยาไนด์นับเป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญมากในปัจจุบัน เนื่องจากการนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในงานวิศวกรรมหลายสาขา โดยเฉพาะในกิจกรรมทางด้านวิศวกรรมโลหการมีการใช้ไซยาไนด์มากที่สุดในการสกัดทองคำจากแร่ โดยสารละลายไซยาไนด์จะทำหน้าที่ในการแยกโลหะทองคำในแร่เป็นสารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อนในรูปของสารละลายทำให้สามารถแยกออกมาจากมลทินที่ไม่ละลายได้

ไซยาไนด์สามารถเกิดขึ้นได้เองในธรรมชาติ และมนุษย์ก็สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้ด้วย ไฮโดรเจนไซยาไนด์เป็นสารเคมีชนิดแรกในกลุ่มไซยาไนด์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น เป็นแก๊สที่ไม่มีสี มีกลิ่นขมคล้ายเมล็ดอัลมอนด์ และนำไปใช้เป็นสารเริ่มต้นในการสังเคราะห์สารประกอบไซยาไนด์อื่นๆต่อไป โดยทั่วไปไฮโดรเจนไซยาไนด์มักถูกสังเคราะห์ขึ้นจากการทำปฏิกิริยาของแอมโมเนีย (NH_3) และแก๊สธรรมชาติ (แก๊สมีเทน, CH_4) ในสถานะที่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิประมาณ $1200\text{ }^\circ\text{C}$ โดยใช้แพลทินัม (platinum, Pt) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในแต่ละปีอัตราการผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์อยู่ที่ประมาณ 1.4 ล้านตันต่อปี โดย 13% ของปริมาณนี้ถูกนำไปสังเคราะห์โซเดียมไซยาไนด์ และนำไปใช้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับโลหะ เช่น การทำเหมืองแร่ทองคำ การชุบโลหะ และเครื่องประดับ ส่วนที่เหลืออีก 87% นำไปใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในชีวิตประจำวัน

แหล่งกำเนิดไฮโดรเจนไซยาไนด์ตามธรรมชาติจะอยู่ในรูปของสารประกอบที่มีลักษณะคล้ายน้ำตาลที่เรียกว่า amygdalin ซึ่งพบได้ในผลไม้ ผัก เมล็ด และถั่วต่างๆ เช่น แอปริคอต พีช ถั่วอก ข้าวโพด มะม่วงหิมพานต์ เซอร์รี่ มันฝรั่ง และถั่วเหลือง เป็นต้น (Logsdon และคณะ, 1999) พีชแต่ละชนิดและส่วนต่างๆ ของพีชนั้น มีปริมาณไซยาไนด์แตกต่างกัน โดยเมื่อโครงสร้างของเซลล์พีชที่มีไซยาไนด์เป็นองค์ประกอบถูกทำลาย ไซยาไนด์จะถูกไฮโดรไลซิสอย่างรวดเร็ว กลายเป็นแก๊สไฮโดรเจนไซยาไนด์ที่มีพิษ ดังนั้นการบริโภคพีชประเภทนี้จึงเป็นที่รู้จักกันดีว่าเป็นแหล่งผลิตไซยาไนด์ที่อาจเป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ได้ นอกจากนี้สิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่ไม่ใช่พืชก็สามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้ เช่น รา แบคทีเรีย ตะขาบ กิ้งกือ แมลงเต่าทอง และผีเสื้อ เป็นต้น

การละลายทองคำโดยใช้สารละลายไซยาไนด์ถูกคิดค้นครั้งแรกในปี 1783 โดยนักเคมีชาวสวีเดนชื่อ Carl Wilhelm Scheele ไซยาไนด์เป็นตัวทำละลายของทองคำที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเหมืองแร่เป็นเวลานานกว่าหนึ่งศตวรรษแล้วโดยกลไกของการละลายทองคำในสารละลายไซยาไนด์จะใช้กระบวนการทางไฟฟ้าเป็นสำคัญ ปฏิกิริยาทั้งหมดเป็นดังนี้



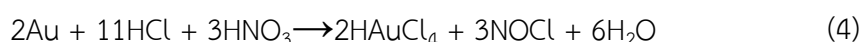
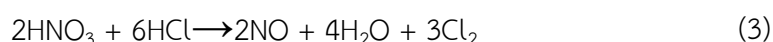
Dorin และ Woods ได้ศึกษาผลกระทบของค่าพีเอชที่มีต่ออัตราการละลายของโลหะมีค่า (ทองคำ เงิน แพลเลเดียม และแพลทินัม) ซึ่งผลการศึกษาแสดงว่า การละลายสูงสุดของโลหะมีค่าในสารละลายไซยาไนด์สามารถเกิดขึ้นได้ที่พีเอช 10-10.5 และอันดับความไวของโลหะในกลุ่มนี้คือ ทองคำ > เงิน > แพลเลเดียม > แพลทินัม

มีปัญหาทางสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจากเหมืองทองคำ เช่น การปนเปื้อนของสารเคมีที่ใช้ชะละลายโลหะในแม่น้ำและน้ำใต้ดิน ที่ทำให้เกิดความกังวลต่อการใช้ไซยาไนด์เป็นสารชะละลาย ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาและนำเสนอการอื่นในการทดแทนการใช้ไซยาไนด์ ซึ่งในทางปฏิบัติ ตัวทำละลายประเภทไทโอยูเรียและไทโอซัลเฟตถูกนำมาใช้เป็นสารทดแทนมากที่สุด

2.2.2 การชะละลายด้วยเฮไลต์

สารเฮไลต์จำพวก ฟลูออรีน คลอรีน ไอโอดีน และแอสทาทีน มีการนำมาใช้เพื่อละลายทองคำมาอย่างช้านานก่อนระบบที่ใช้ไซยาไนด์ ฮาโลเจนทั้งหมด (ยกเว้นฟลูออรีนและแอสทาทีน) ได้ถูกทดสอบและนำมาใช้ในการสกัดทองคำ โดยทองคำจะทำปฏิกิริยาจากกับคลอไรด์ โบรไมด์ และไอโอดีน ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน Au (I) และ Au (II) โดยขึ้นอยู่กับสภาวะของสารละลาย อย่างไรก็ตามในกลุ่มสารเฮไลต์นั้นมีเพียงคลอรีนหรือคลอไรด์เท่านั้นที่ถูกนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรม อัตราการเกิดคลอรีนชัน (Chlorination) จะเกิดได้ดีในสภาวะที่มีค่าพีเอชต่ำ ระดับคลอไรด์และคลอรีนสูง อุณหภูมิสูงและพื้นที่ผิวของแร่มาก

ตัวทำละลายแบบเก่า สำหรับละลายทองคำและโลหะกลุ่มแพลทินัมคือ กรดกัดทอง (aqua regia) ซึ่งเป็นสารผสมระหว่างกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 ส่วนต่อกรดไนตริกเข้มข้น 1 ส่วน โดยปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในการชะด้วยกรดกัดทอง ดังสมการ

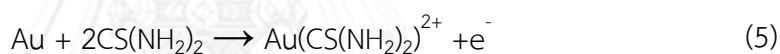


การชะละลายทองคำด้วยคลอรีนหรือกรดกัดทองนั้น ในทางปฏิบัติทำได้ยากกว่าการสกัดด้วยไซยาไนด์เนื่องจากเหตุผล 2 ประการดังนี้

- 1) การสกัดด้วยคลอรีนต้องใช้อุปกรณ์ที่ทำจากเหล็กกล้าไร้สนิม (stainless steel) พิเศษและอุปกรณ์หุ้มยางที่สามารถต้านทานสภาวะการกัดกร่อนที่สูงของกรดและการออกซิไดซ์ได้
- 2) แก๊สคลอรีนมีความเป็นพิษสูงและจะต้องได้รับการควบคุมเพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงต่อการเกิดปัญหาด้านสุขภาพ

2.2.3 การชะละลายด้วยไทโอยูเรีย

สารไทโอยูเรียจัดเป็นสารประกอบอินทรีย์ซัลเฟอร์ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายยูเรีย มีสูตรเคมีคือ $(CS(NH_2)_2)$ การวิจัยเกี่ยวกับการใช้ไทโอยูเรียซึ่งใช้เป็นสารสกัดทองคำนั้นได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก ในการเก็บกลับคืนหรือสกัดทองคำจากสินแร่ในสภาวะที่เป็นกรด ไทโอยูเรียสามารถละลายทองคำและเกิดสารประกอบเชิงซ้อนประจุบวก (cationic complex) โดยปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและสามารถสกัดทองได้ถึง 99% ปฏิกิริยาที่ขั้วแอโนดแสดงดังสมการ



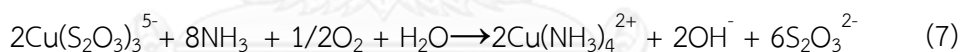
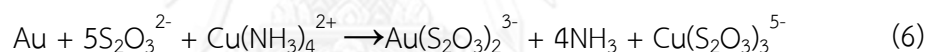
นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษารายงานว่า อัตราการชะละลายทองคำนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไทโอยูเรีย ค่าพีเอชและออกซิแดนซ์ และการใช้เหล็กเฟอร์ริกในกรดซัลฟิวริกเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดโดยเหล็กเฟอร์ริกจะจับยึดไทโอยูเรียในสารเชิงซ้อนเหล็กไทโอยูเรีย

การเปรียบเทียบกระบวนการชะละลายด้วยไซยาไนด์และไทโอยูเรีย ในการฟื้นฟูสภาพทองคำจากสินแร่ทองที่สกัดได้ยาก พบว่ากระบวนการชะละลายด้วยไทโอยูเรียทำการชะทองคำได้ 75% แต่ต้องใช้ไทโอยูเรียและเฟอร์ริกซัลเฟตในปริมาณมาก ทำให้ไม่คุ้มค่าในเชิงเศรษฐกิจ ถึงแม้ว่าไทโอยูเรียจะสามารถใช้เป็นรีเอเจนต์ชะละลายทองคำได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ก็ยังคงมีการนำไปใช้น้อยในเชิงการค้าเนื่องด้วยปัจจัย 3 ประการดังนี้

- 1) ไทโอยูเรียมีราคาแพงกว่าไซยาไนด์
- 2) ต้องใช้สารไทโอยูเรียในกระบวนการสกัดทองคำเป็นปริมาณสูง เนื่องจากไทโอยูเรียถูกออกซิไดซ์ในสารละลายได้ง่าย
- 3) ขั้นตอนการเก็บกลับคืนทองคำให้กลับคืนมาอย่างมีประสิทธิภาพนั้นยังอยู่ในขั้นพัฒนา

2.2.4 การชะละลายด้วยไทโอซัลเฟต

ไทโอซัลเฟต ($S_2O_3^{2-}$) เป็นสารเคมีที่นำมาใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมภาพถ่ายและอุตสาหกรรมยา และได้ถูกนำมาใช้เป็นสารทดแทนไซยาไนด์ โดยเชื่อว่าการละลายทองคำในสารละลายแอมโมเนียคัลไทโอซัลเฟต (ammoniacal thiosulfate) เป็นการทำปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมีที่มีคิวพริกไอออน (cupric ion) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา มีการศึกษาถึงกลไกของการเร่งปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมีของการชะละลายทองคำโดยแอมโมเนียคัลไทโอซัลเฟต โดยนักวิจัยได้อธิบายว่า กลุ่มไอออน $Cu(NH_3)_4^{2+}$ ที่อยู่ในสารละลายได้รับอิเล็กตรอนบนส่วนแคโทดของผิวหน้าทองคำและถูกรีดิวซ์ไปเป็น $Cu(NH_3)_2^+$ ในขณะเดียวกันแอมโมเนียหรือไทโอซัลเฟตไอออนจะทำปฏิกิริยากับ Au^+ บนผิวหน้าแอโนดของทองคำและเข้ามาในสารละลายเพื่อเกิดเป็น $Au(NH_3)_2^+$ หรือ $Au(2O_3)_2^{3-}$ โดย $Cu(NH_3)_2^+$ จะเปลี่ยนเป็นไอออน $Cu(S_2O_3)_2^{5-}$ และเช่นเดียวกันกับ $Au(NH_3)_2^+$ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ $S_2O_3^{2-}$ จากนั้นทั้งไอออน $Cu(S_2O_3)_2^{5-}$ และ $Cu(NH_3)_2^+$ ในสารละลายจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็น $Cu(NH_3)_4^{2+}$ กับออกซิเจน ปฏิกิริยาหลักที่ขั้วแอโนดจะขึ้นกับความเข้มข้นสัมพัทธ์ของกลุ่มไอออนในสารละลาย บทบาทของไอออนคอปเปอร์ (II) ในการออกซิเดชันโลหะทองคำให้เป็นไอออนทอง (Au^+) สามารถเขียนเป็นสมการอย่างง่ายได้ตามสมการ



ตารางที่ 2.2 แสดงค่าคงที่ความเสถียร (stability constant) ของไทโอซัลเฟต เทียบกับสารเชิงซ้อนทองคำอื่นๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารเชิงซ้อนทองคำไทโอซัลเฟตนั้นค่อนข้างเสถียรทันทีที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม สภาวะเบส (alkaline) ก็จำเป็นสำหรับการป้องกันการสลายตัวของไทโอซัลเฟตเนื่องจากกรด โดยการควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วงจุดบัฟเฟอร์แอมโมเนีย (pH 9.25 ที่ 25 องศาเซลเซียส) เพื่อให้แน่ใจว่ามีแอมโมเนียเพียงพอสำหรับละลายทองแดงให้กลายเป็นสารเชิงซ้อนทองแดง (II) – แอมโมเนีย ความเสถียรของไทโอซัลเฟตจะลดลงที่อุณหภูมิสูงขึ้นและค่าพีเอชต่ำ ดังนั้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 9-10 จึงเป็นช่วงที่เหมาะสมเนื่องจากเป็นช่วงพีเอชที่สารไทโอซัลเฟตมีแนวโน้มที่จะสลายตัวน้อยลงและสารเชิงซ้อนทองแดง (II) – แอมโมเนียก็มีความเสถียรด้วย

ปัญหาที่สำคัญที่สุดของการชะละลายด้วยไทโอซัลเฟตคือต้องใช้รีเอเจนต์ดังกล่าวเป็นปริมาณสูงระหว่างการชะละลาย ทำให้มีโอกาสสูญเสียไทโอซัลเฟตมากถึง 50% ในสารละลายแอมโมเนียคัลไทโอซัลเฟตที่มีทองแดงเป็นสารออกซิแดนซ์ นอกจากนี้ อัตราการเกิดปฏิกิริยาก็เกิดช้า แม้ว่าจะ

สามารถทำให้เกิดอัตราการชะละลายที่ยอมรับได้ ปัจจุบันวิธีการนำทองคำกลับคืนมาจากสารละลายที่ชะด้วยไทโอซัลเฟตยังมีกระบวนการที่ซับซ้อนและราคาสูง

ตารางที่ 2.2 ค่าคงที่ความเสถียรของสารเชิงซ้อนทองคำ

กลุ่มไอออนทองคำ	ความเสถียร $\log K^+$
$\text{Au}(\text{CN})_2^-$	38.3
$\text{Au}(\text{SCN})_2^-$	16.98
$\text{Au}(\text{SCN})_4^-$	10
AuCl_4^-	25.6
$\text{Au}(\text{NH}_3)_2^+$	26, 13
$\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$	26.5, 28

2.3 การชะละลายโดยทางชีวภาพ (Bioleaching)

ในทศวรรษที่ผ่านมา ในแวดวงอุตสาหกรรมวัสดุและอุตสาหกรรมแร่ การเก็บกลับคืนโลหะด้วยเทคโนโลยีทางชีวภาพนับว่าประสบความสำเร็จมาก เนื่องจากบริษัทต่างชาติขนาดใหญ่หลายแห่งให้ความสนใจเทคโนโลยีใหม่นี้ การทำความเข้าใจในกระบวนการทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องในการบำบัดโลหะนั้น มีผู้สนใจทำการศึกษาไว้มากกว่า 20 ปีแล้ว ในปัจจุบัน การวิจัยและพัฒนา กำลังอยู่ระหว่างการดำเนินการกับโลหะต่างๆ หลายชนิด อาทิ ทองแดง นิกเกิล โคบอลต์ สังกะสี ทองคำ และเงิน อย่างไรก็ตาม สำหรับการรีไซเคิลทองคำและเงินนั้น จะใช้การชะละลายด้วยแบคทีเรียเพียงเพื่อขจัดโลหะซัลไฟด์ที่ปะปนอยู่ออกจากสินแร่ที่มีโลหะมีค่า ก่อนนำไปทำการบำบัดด้วยไซยาไนด์ จุลินทรีย์ทั้งหมดจะใช้โลหะเพื่อทำหน้าที่ในเชิงโครงสร้างหรือทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา วิธีการที่จุลินทรีย์ทำปฏิกิริยากับโลหะจะขึ้นอยู่กับว่าสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นจุลินทรีย์ประเภทโปรแคริโอท (Prokaryote) หรือจุลินทรีย์ประเภทยูแคริโอท (Eukaryote) ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสองประเภทนั้นมีความสามารถในการสร้างพันธะกับไอออนโลหะที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมภายนอกเข้ากับพื้นผิวของเซลล์ หรือสามารถส่งโลหะเหล่านั้นเข้าสู่เซลล์เพื่อทำหน้าที่ระหว่างเซลล์ต่างๆ (Intercellular function) การทำปฏิกิริยากันของโลหะและจุลินทรีย์นี้จะทำให้เกิดความเป็นไปได้ในการรีไซเคิลโลหะแบบเลือก (Selective) หรือแบบไม่เลือก (Non-selective) ได้

กระบวนการดูดซับทางชีวภาพเป็นปฏิกิริยาทางกายภาพเคมีแบบไม่รุนแรง ระหว่างหมู่ที่มีรละลาย ซึ่งสามารถใช้ได้กับทั้งสิ่งมีชีวิตที่ยังมีชีวิตและประจุบนผิวหน้าของจุลินทรีย์กับไอออนในสารไม่มีชีวิต จุลินทรีย์จำนวนมาก เช่น สาหร่าย แบคทีเรีย ยีสต์ และราเส้นใย สามารถสะสมโลหะหนัก

และโลหะมีค่าได้อย่างรวดเร็ว กระบวนการดูดซับทางชีวภาพให้ข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับวิธีแบบเก่าที่ใช้ อาทิ ต้นทุนการดำเนินการต่ำ ใช้ปริมาณสารเคมีหรือกากชีวภาพ (Biological Sludge) น้อยที่สุด และมีประสิทธิภาพสูงสุดในการขจัดความเป็นพิษของน้ำทิ้ง (Effluent)

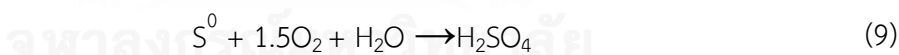
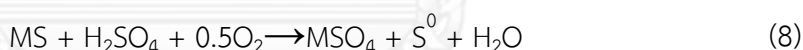
การเก็บกลับคืนโลหะด้วยเทคโนโลยีชีวภาพมีกระบวนการที่เกี่ยวข้อง 2 กระบวนการ คือ การชะละลายทางชีวภาพ (Bioleaching) และการดูดซับทางชีวภาพ (Biosorption) การชะละลายด้วยจุลินทรีย์ประสบความสำเร็จในการนำไปใช้เพื่อเก็บกลับคืนโลหะจากซัลไฟด์ของโลหะพื้นฐานและโลหะมีค่า โดยการใช้ปฏิกิริยาที่มีแบคทีเรียเป็นตัวช่วย การสกัดโลหะต่างๆ เช่น โคบอลต์ (Co) โมลิบดีนัม (Mo) นิกเกิล (Ni) ตะกั่ว (Pb) และสังกะสี (Zn) จากสินแร่ที่มีซัลไฟด์โดยใช้การชะละลายด้วยจุลินทรีย์นั้น มีความเป็นไปได้ในทางเทคนิค อย่างไรก็ตามปัจจุบันมีเพียงโลหะทองแดงและทองคำเท่านั้นที่มีการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมในสัดส่วนที่มีนัยสำคัญด้วยวิธีการนี้

2.3.1 กลไกการออกซิเดชันโลหะซัลไฟด์ด้วยแบคทีเรียประเภท Sulphur Oxidizing

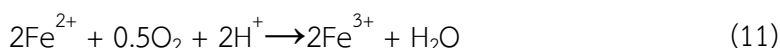
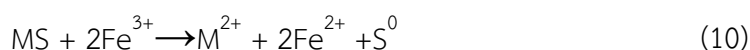
Bacteria

กลไกการชะละลายโลหะซัลไฟด์ด้วยแบคทีเรียประเภท Sulphur oxidizing bacteria โดยทั่วไปมีกลไกที่จุลินทรีย์จะสามารถเพิ่มอัตราการชะละลายโลหะจากสินแร่ได้ 2 แบบ คือ

1) กลไกทางตรง จุลินทรีย์จะออกซิไดซ์โลหะซัลไฟด์โดยตรงในสภาวะที่เป็นกรด และกลายเป็นโลหะซัลเฟตที่ละลายน้ำได้ ซึ่งสามารถแสดงด้วยปฏิกิริยาอย่างง่ายตามสมการ



2) กลไกทางอ้อม จุลินทรีย์จะออกซิไดซ์เหล็กเฟอร์รัส (Fe^{2+}) และกลายเป็นเหล็กเฟอร์ริก (Fe^{3+}) ซึ่งเหล็กเฟอร์ริกที่ได้จะเป็นตัวทำหน้าที่ออกซิไดซ์โลหะซัลไฟด์ให้กลายเป็นโลหะซัลเฟตที่ละลายน้ำได้และยังได้ผลิตภัณฑ์เป็นเหล็กเฟอร์รัสซึ่งก็จะถูกเปลี่ยนกลับไปเป็นเหล็กเฟอร์ริกอีกครั้ง สามารถแสดงด้วยปฏิกิริยาอย่างง่ายดังสมการ



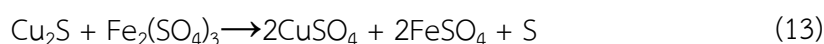
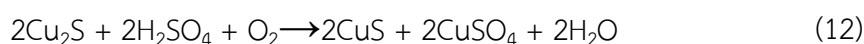
มีการศึกษาการชะละลายโลหะซัลไฟด์ด้วยแบบที่เรียโดยวิธีการชะละลายทางอ้อมพบว่าโลหะซัลไฟด์จะถูกชะด้วยกลไกการเกิดปฏิกิริยา 2 แบบ คือ เส้นทางการไอซัลเฟต และเส้นทางการพอลิซัลไฟด์ โดยทั่วไปการละลายจะสำเร็จได้ด้วยการผสมผสานกันของกระบวนการเข้าทำปฏิกิริยาของโปรตรอนและกระบวนการออกซิเดชัน เส้นทางการเกิดปฏิกิริยาจะกำหนดโดยประเภทของแร่ธาตุกลุ่มต่างๆ อย่างไรก็ตาม โครงสร้างผลึกจะไม่ได้เป็นตัวกำหนดเส้นทางการละลาย

2.3.2 การประยุกต์ใช้วิธีชะละลายโดยทางชีวภาพในทางปฏิบัติ

การชะละลายด้วยวิธี heap leaching หรือ dump leaching และวิธี stirred-tank leaching สามารถนำวิธีการชะละลายด้วยจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ได้เพื่อเก็บกลับคืนโลหะมีค่าและโลหะพื้นฐาน ซึ่งกระบวนการชะด้วยวิธี heap leaching หรือ dump leaching นั้น มีการนำมาใช้สำหรับควบคุมการละลายสินแร่ทองแดงเกรดต่ำที่มีแร่ทุติยภูมิ (secondary minerals) เช่น โคเวลไลต์ (covellite, CuS) เป็นเวลาประมาณ 40 ปี เทคนิคการชะละลายด้วยจุลินทรีย์นี้มาจากหลักการของการไหลเวียนน้ำและอากาศผ่านกองแร่ (heap of ores) ที่แตกเป็นก้อนหยาบๆ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มการออกซิเดชันของแร่กลุ่มซัลไฟด์ สำหรับการชะละลายด้วยจุลินทรีย์แบบ stirred -tank leaching ในระดับอุตสาหกรรมก็มีการนำมาใช้กันเป็นเวลานานกว่า 20 ปี ซึ่งการชะละลายด้วยจุลินทรีย์แบบ stirred-tank ในปัจจุบัน ส่วนมากจะใช้กับแร่ทองที่สกัดได้ยากซึ่งปนอยู่ในหัวแร่อาร์เซนไพไรต์ (arsenopyrite: FeAsS) ซึ่งได้จากการลอยแร่แล้ว โดยทองคำที่ถูกดักอยู่ในซัลไฟด์จะถูกปล่อยออกมาโดยใช้การออกซิเดชันทางชีวภาพ (biooxidation) ของหัวแร่ และจากนั้นทองคำจะถูกรีไซเคิลกลับคืนมาโดยการบำบัดด้วยวิธีเดิมที่ปฏิบัติกันมา

การชะละลายด้วยวิธี heap leaching โดยใช้จุลินทรีย์เพื่อเก็บกลับคืนทองแดงนั้น ได้กลายเป็นวิธีปฏิบัติทั่วไปในอุตสาหกรรมแล้ว ซึ่งพบว่าตั้งแต่ พ.ศ. 2523 เป็นต้นมา มีการชะละลายทองแดงด้วยจุลินทรีย์แล้วอย่างน้อย 13 โรงงาน ดังแสดงในตารางที่ 2.3

โรงงานชะละลายทองแดงด้วยจุลินทรีย์ดังแสดงในตารางที่ 2.3 เป็นโรงงานที่ทำการเก็บกลับคืนทองแดงจากแร่ซาลโคไซต์ โดยทองแดงจะถูกชะออกจากซาลโคไซด์ด้วยกรด ได้เป็นโคเวลไลต์หรือด้วยเหล็กเพอร์ริกที่เกิดจากการออกซิเดชันเหล็กเพอร์ไรต์โดยจุลินทรีย์ ดังแสดงในสมการ



จากนั้นแร่โคเวลไลต์จะถูกชะละลายด้วยเหล็กเฟอร์ริก ดังสมการ



ตารางที่ 2.3 โรงงานชะละลายทองแดงด้วยจุลินทรีย์ในเชิงพาณิชย์

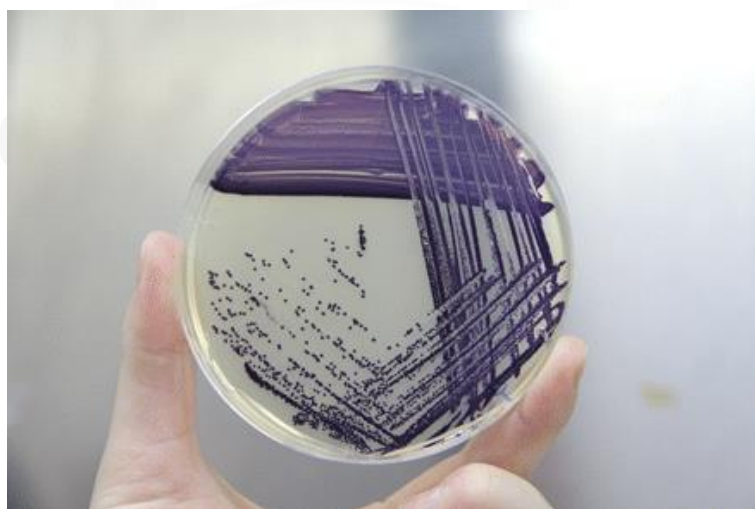
โรงงานและที่ตั้ง	ขนาด: สิ้นแร่ ตัน/วัน	ปีที่ดำเนินการ (พ.ศ.)
Lo Aguirree, Chile	16,000	2523-ปัจจุบัน
Gunpowder's Mammoth Mine, Australia	(in situ)	2534-ปัจจุบัน
Mt. Leyshon, Australia	1,370	2535-2540
Cerro Colorado, Chile	16,000	2536-ปัจจุบัน
Girilambone, Australia	2,000	2536-จบ
Ivan-Zar, Chile	1,500	2537-ปัจจุบัน
Quebrada Blanca, Chile	17,300	2537-ปัจจุบัน
Andacollo, Chile	10,000	2539-ปัจจุบัน
Dos Amigos, Chile	3,000	2539-ปัจจุบัน
Cerro Verde, Peru	32,000	2539-ปัจจุบัน
Zaldivar, Chile	20,000	2541-ปัจจุบัน
S&K Copper, Myanmar	18,000	2541-ปัจจุบัน
Equatorial Tonopah, USA	24,500	2543-2544

ในการสกัดแร่ทองคำที่สกัดได้ยาก (refractory gold ores) ซึ่งมีอนุภาคทองคำละเอียดอยู่ร่วมกับแร่ของซัลไฟด์ เช่น อาร์เซนไพไรต์ ไพไรต์ และไพโรไทต์ โดยใช้จุลินทรีย์นั้น ได้รับการพัฒนาในระดับที่น่าไปใช้ในอุตสาหกรรมแล้ว และการชะละลายด้วยวิธี tank-leaching จำนวนมากก็กำลังจะนำไปใช้ในประเทศแอฟริกาใต้ บราซิล และออสเตรเลีย แร่ทองคำที่สกัดได้ยากเป็นแร่ที่ไม่ตอบสนองต่อกระบวนการที่ใช้ไซยาไนด์ชะละลายโดยตรง และต้องใช้ในการสลายเมทริกซ์ของแร่ซัลไฟด์ (mineral sulfide matrix) ก่อนที่จะทำการสกัดทองคำออกมาได้ ซึ่งการชะละลายด้วยจุลินทรีย์เป็นวิธีการใหม่และใช้พลังงานต่ำสำหรับการสลายเมทริกซ์ของแร่ซัลไฟด์ได้ โดยปกติกระบวนการที่ใช้ไซยาไนด์โดยตรง จะสามารถเก็บกลับคืนทองคำได้น้อยกว่า 50% หากไม่มีการเตรียมวัสดุก่อน (pretreatment) แต่หากทำการเตรียมวัสดุก่อนโดยวิธีการชะด้วยจุลินทรีย์แล้ว พบว่าสามารถสกัดทองคำได้มากกว่า 95% โดยขึ้นกับองค์ประกอบของสินแร่และขอบเขตของการเตรียมวัสดุ

โรงงานที่ชะละลายด้วยวิธี stirred-tank bioleaching เซิงพาณิชย์แห่งแรกเกิดขึ้นในปี พ.ศ. 2529 โดยมีกระบวนการเตรียมหัวแร่ทองคำที่มีซัลไฟด์ด้วยการชะละลายด้วยจุลินทรีย์ เพื่อให้สามารถรีไซเคิลทองคำกลับมาได้มากขึ้น โดยทั่วไปโรงงานแยกทองคำที่สกัดได้ยากจะทำให้เป็นสเลอรี (slurry) ที่มีความหนาแน่น 15-20% และสเลอรีนั้นจะถูกบ่อนอย่างต่อเนื่องไปยังเตาปฏิกรณ์ปฐมภูมิ (primary reactor) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะเจริญในเตาปฏิกรณ์ทุติยภูมิที่มีขนาดเล็กลงและเรียงต่อกันเป็นชุด ซึ่งการออกแบบนี้จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการออกซิไดซ์ซัลไฟด์โดยการลดการลัดวงจร (short-circuit) ของอนุภาคซัลไฟด์ ซึ่งเวลาที่ใช้ทั้งหมดในวงจรนี้คือประมาณ 4-6 วัน โดยบริษัท Newmont Mining Corporation ได้สร้างโรงงาน biooxidation heap แห่งแรกขึ้นในปี พ.ศ.2542 ซึ่งก่อนทำการออกซิเดชันทางชีวภาพสามารถสกัดแร่ทองคำที่สกัดได้ยากได้ 30-39% และหลังจากทำการออกซิเดชันทางชีวภาพแล้วจะได้ทองคำเพิ่มขึ้นเป็น 49-61%

2.4 แบคทีเรีย

Chromobacterium violaceum เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบ ที่สามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติทั้งสภาวะปกติและในสภาวะที่ไม่ปกติ เช่นการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ค่าพีเอช แหล่งอาหาร และพลังงาน รังสีต่างๆ เป็นต้น โดยส่วนมากเจริญอยู่ในดินและน้ำของพื้นที่เขตร้อนชื้น เป็นแบคทีเรียรูปร่างแบบกึ่งกลมกึ่งแท่ง (coccobacillus) สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มียอกซิเจน (facultative bacteria) เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะโคโลนีเป็นสีม่วงเข้มค่อนข้างดำ เป็นเพราะแบคทีเรียสายพันธุ์นี้สังเคราะห์สารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่ชื่อว่าไวโอเลซิน (violacein) ซึ่งเป็นสารสีม่วงที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดได้ (Strong, 1944)



รูปที่ 2.1 การเจริญของ *Chromobacterium violaceum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง

(Ke et al., 2012)

2.5 ปัจจัยสำคัญในการชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรีย

ประสิทธิภาพในการชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปัจจัยที่หลากหลายเนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตจึงมีความไวต่อสภาวะแวดล้อม ปัจจัยที่สำคัญจึงเป็นปัจจัยที่เกี่ยวกับการเจริญของแบคทีเรียเสียส่วนใหญ่ อาทิเช่น แหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิในการเจริญ ค่าความเป็นกรดต่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น ทั้งนี้การที่แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ จะส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์สารต่างๆ ได้อย่างเต็มที่เช่นกัน

2.5.1 สารอาหาร

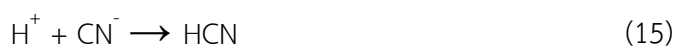
การเจริญและการสังเคราะห์สารโดยแบคทีเรียอย่างมีประสิทธิภาพขึ้นอยู่กับแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนที่แบคทีเรียได้รับ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียควรอุดมไปด้วยสารอาหารที่แบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ต้องการ สำหรับ *Chromobacterium violaceum* เป็นแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์สารได้หลายชนิดเช่น ไวโอเลซิน สำหรับการสังเคราะห์ไซยาไนด์ จำเป็นต้องมีไกลซีนอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม

2.5.2 ออกซิเจน

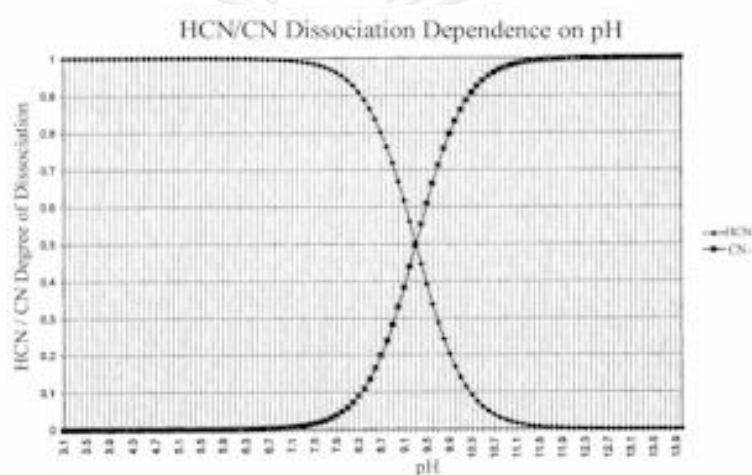
ออกซิเจนเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญในการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตไม่ว่าแม้กระทั่งแบคทีเรีย โดยพื้นฐานแล้ว *Chromobacterium violaceum* เป็นแบคทีเรียชนิด facultative bacteria คือสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน แต่จากการศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์ไซยาไนด์พบว่า ออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญในการการสังเคราะห์ไซยาไนด์ (Castric, 1975) และนอกจากนี้ยังพบว่าออกซิเจนมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการชะละลายทองคำอีกด้วย โดยออกซิเจนละลายน้ำที่มากพอทำให้ประสิทธิภาพการชะละลายทองคำดีขึ้น (Kita, 2006) อย่างไรก็ตามปริมาณออกซิเจนควรมีอยู่อย่างพอเหมาะ หากมีปริมาณมากเกินไปอาจส่งผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ไซยาไนด์หรือเอนไซม์ไฮโดรเจนไซยาไนด์ซินเทส (HCN synthase, HCS) (Castric et al., 1981)

2.5.3 ค่าความเป็นกรดเบส

ไฮโดรเจนไซยาไนด์มีค่าคงที่การแตกตัว (pKa) เท่ากับ 9.4 โดยที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ในสารละลายจะมากขึ้นแปรผันตามค่าความเป็นกรดเบส (Haque, 1992)



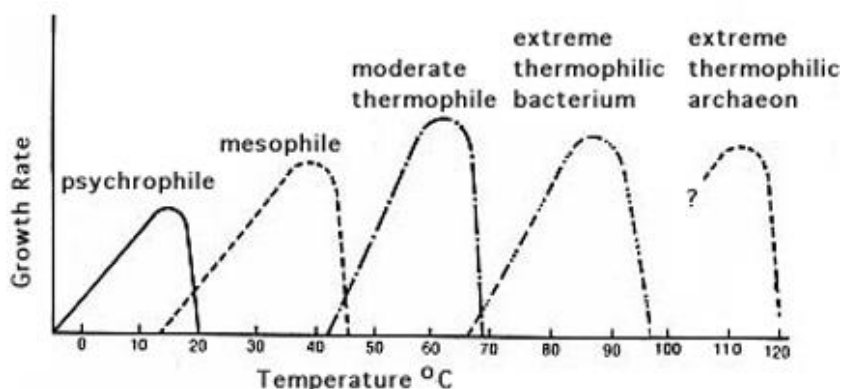
จากสมการข้างต้น หากอยู่ในสถานะที่เป็นกรดคือมีปริมาณ H^+ มาก สมการจะเลื่อนไปทางขวา นั่นหมายถึงในสถานะนี้ไซยาไนด์จะปรากฏในรูปของ HCN ซึ่งเป็นก๊าซที่มีความอันตราย การควบคุมการชะละลายด้วยไซยาไนด์ในระดับอุตสาหกรรมนั้นจะควบคุมค่าพีเอชที่ประมาณ 10.3 เพื่อป้องกันการสูญเสียไซยาไนด์จากการระเหย อย่างไรก็ตาม ในการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย จำเป็นต้องคำนึงถึงค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียด้วยเช่นกัน โดยทั่วไปแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในค่าพีเอชประมาณ 7-8 แต่ที่สถานะนี้ จะเห็นว่าค่าพีเอชนอกจากจะมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียและการสร้างไซยาไนด์แล้ว ยังส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารตั้งต้นในสารละลายอีกด้วย อันมีผลต่อการชะละลายทองคำ



รูปที่ 2.2 ความสัมพันธ์ของความเป็นกรดต่างกับการแตกตัวของไซยาไนด์ (Patko., 2000)

2.5.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีของเอนไซม์ซึ่งมีผลกระทบไปยังการเจริญของแบคทีเรีย โครงสร้างการทำงานของเอนไซม์และโปรตีนในเซลล์แบคทีเรียแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์เจริญได้ดีในสถานะที่อุณหภูมิเหมาะสม หากอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงไปจากช่วงนั้นจะส่งผลให้แบคทีเรียมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปอุณหภูมิสูงเกินไปจะส่งผลกระทบต่อแบคทีเรียมากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (Caldwell, 1995)



รูปที่ 2.3 การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ โดยสัมพันธ์กับอุณหภูมิ (Todar.)

การชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรียนี้ อุณหภูมิมีผลต่อการระเหยของ HCN และความคงตัวของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโลหะและไซยาไนด์ในสารละลาย ปัจจัยเหล่านี้ยังต้องคำนึงถึงการเจริญของแบคทีเรียด้วยเช่นกัน โดย *Chromobacterium violaceum* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส จัดอยู่ในกลุ่ม mesophile (Buchanan, 1975) โดยในงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการชะละลายด้วยแบคทีเรียชนิดนี้ทำได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส

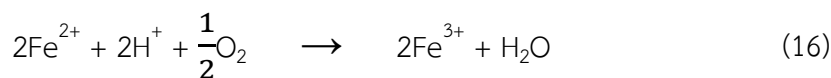
2.5.5 การเตรียมตัวอย่าง

เนื่องจากขยะอิเล็กทรอนิกส์มีองค์ประกอบพื้นฐานที่แตกต่างกันไปตามชนิดของอุปกรณ์ บางชนิดมีพลาสติกมาก บางชนิดเป็นเซรามิก และบางชนิดเป็นโลหะเสียส่วนใหญ่ นอกจากนี้ ปริมาณทองคำหรือโลหะมีค่าอื่นๆ ก็มีปริมาณมากน้อยแตกต่างกัน การเตรียมตัวอย่างจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเตรียมความพร้อมให้ตัวอย่างและเพื่อให้การชะละลายทองคำเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพด้วย

1) Bio-oxidation

เป็นกระบวนการออกซิไดซ์แร่ในน้ำโดยแบคทีเรียที่บริโภคซัลเฟอร์เพื่อกำจัดส่วนประกอบที่เป็นซัลเฟอร์ มักใช้ในเหมืองแร่ทองคำที่สินแร่เป็นแร่จำพวกซัลไฟด์ (sulfide mineral) เนื่องจากไซยาไนด์สามารถละลายซัลเฟอร์ได้ดีว่าทองคำ ส่งผลให้สิ้นเปลืองไซยาไนด์เกินความจำเป็น

นอกจากซัลเฟอร์แล้วยังสามารถใช้แบคทีเรียหลากหลายสายพันธุ์เพื่อบริโภคธาตุชนิดอื่นๆได้อีกด้วย เช่น การใช้ *A. ferrooxidans* ในการเตรียมตัวอย่างชิ้นส่วนของขยะอิเล็กทรอนิกส์ก่อนนำมาเข้าขั้นตอนการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย ซึ่งหลังการทำ bio-oxidation แล้วพบว่าส่วนประกอบที่เป็นทองแดง อลูมิเนียม นิกเกิลและทองคำลดลง ในขณะที่เหล็กเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากแบคทีเรียมีความสามารถในการเปลี่ยนเฟอร์รัสไอออนเป็นเฟอร์ริกไอออนได้ ดังสมการ



2) Pressure oxidation

เป็นกระบวนการใช้ออกซิเจนและความร้อนภายใต้สภาวะที่แรงดันสูง และสภาวะความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมเพื่อออกซิไดซ์ซัลเฟอร์ออกไป

3) Roasting

เป็นกระบวนการเผาไล่ซัลเฟอร์โดยใช้ความร้อนและอากาศ ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมาก แต่ในขณะเดียวกันปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทำให้มีก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในปริมาณมากถูกปลดปล่อยออกสู่บรรยากาศ จึงจำเป็นต้องบำบัดก๊าซพิษด้วยการฉีดสเปรย์น้ำ ทำให้เกิดกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เป็นผลพลอยได้

4) Chemical oxidation

เป็นกระบวนการใช้สารเคมีในการออกซิไดซ์แร่ ธาตุที่ไม่จำเป็นจะถูกกำจัดออก เช่นการใช้กรดไนตริกออกซิไดซ์ทองแดงโดยไม่ทำให้ปริมาณทองคำลดลง

2.5.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Tran และคณะ (2011) ได้ศึกษาการแยกสกัดทองคำและทองแดงจากแผ่นวงจรพิมพ์ของโทรศัพท์มือถือโดยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Chromobacterium violaceum* ตัวอย่างแผ่นวงจรพิมพ์ที่ใช้แล้วนำมาตัดด้วยกรรไกรให้ได้ขนาด 1x1 ตารางมิลลิเมตร เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบแล้วพบว่ามีปริมาณทองแดงอยู่ประมาณ 34.5% และทองคำ 0.025% การทดลองนี้ทำบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความหนาแน่นของตัวอย่าง 15 กรัมต่อลิตร ที่ค่า pH แปรผันตั้งแต่ 8-11 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YP ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการสร้างไซยาไนด์ของแบคทีเรียทำได้ดีที่ค่า pH สูง ประมาณ 9-11 และที่ pH 11 มีประสิทธิภาพการแยกสกัดทองคำได้ดีที่สุด โดยพบว่าทองคำสามารถละลายในสารละลายได้เพิ่มขึ้นจากเดิม 7.78% หรือ 0.225 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 10.8% หรือ 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีทองแดงละลายเพิ่มขึ้นจาก 4.9% หรือ 419 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 11.4% หรือ 879 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 8 วัน ค่า pH เพิ่มขึ้นจาก 8 ไปเป็น 11 และเมื่อเพิ่มค่าออกซิเจนละลายน้ำด้วยการเติม 0.004% (v/v) H_2O_2 ลงไปในสารละลายพบว่าประสิทธิภาพการสกัดโลหะเพิ่มขึ้น โดยทองแดงมีค่าการละลายเพิ่มขึ้นไปเป็น 24.6% หรือ 1743 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ pH 10 เวลา 8 วัน

ความเป็นกรดต่างมีผลโดยตรงต่อการเจริญของแบคทีเรียและการผลิตไซยาไนด์ โดยแบคทีเรียสามารถผลิตไซยาไนด์ได้มากในช่วง pH ที่สูงประมาณ 9-11 ส่วนการเติม H_2O_2 ลงในสารละลายทำให้ปริมาณออกซิเจนในสารละลายมากเกินไป ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย โดยการที่มีออกซิเจนละลายน้ำมากเกินไปทำให้ประชากรแบคทีเรียลดลงและผลิตไซยาไนด์ได้น้อยลงด้วย นอกจากนี้ในการทดลองยังพบว่าค่าออกซิเจนละลายน้ำมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดทองแดงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีผลต่อการแยกสกัดทองคำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณทองแดงที่มีมากเกินไปส่งผลยับยั้งประสิทธิภาพในการสกัดทองคำนั่นเอง

Pham Van Anh และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการชะละลายทองคำโดยแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Chromobacterium violaceum* และ *Pseudomonas fluorescens* และใช้ตัวอย่างจากแผงวงจรอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic Scrap Material, ESM) บดละเอียดที่ขนาดต่ำกว่า 75 ไมครอน พบว่ามีปริมาณทองคำเริ่มต้นอยู่ที่ประมาณ 4.872 กรัมต่อกิโลกรัม และทองแดง 28.32 กรัมต่อกิโลกรัม ทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ขณะเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่ 30 องศาเซลเซียส พบว่าไซยาไนด์ถูกผลิตออกมามากที่สุดโดย *C. violaceum* ที่ความหนาแน่น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ pH 10 หลังจากนั้นไซยาไนด์ที่วัดได้มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว อาจมีสาเหตุมาจากการระเหยระหว่างการทดลองหรือการบริโภคของแบคทีเรียเอง โดย *C. violaceum* สามารถเปลี่ยนรูปของไซยาไนด์ให้เป็นเบตาไซยาโนอะลานีน (β -cyanoalanine) และกรดแอมโมไซยาโนแอลฟาอะมิโนบิวทายริก (γ -cyano- α -aminobutyric acid) ระหว่างการเจริญในช่วง stationary phase (Knowles, 1976) และ death phase (Rodgers, 1978) ในส่วนของ *P. fluorescens* สามารถใช้ไซยาไนด์เป็นแหล่งไนโตรเจนโดยการเปลี่ยนรูปของไซยาไนด์ไปเป็นแอมโมเนีย (Harris, 1983) และ (Rollinson, 1987) นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลกระทบของปริมาณโลหะที่มีต่อการเจริญและการสร้างไซยาไนด์ของแบคทีเรีย โดยออกแบบการทดลองเป็นสองขั้นตอน คือการเติม ESM ในขั้นตอนการเริ่มต้นการทดลอง (การชะละลาย 1 ขั้นตอน หรือ 1-step bioleaching) และการเติมหลังจากผ่านช่วง log phase ของแบคทีเรียแล้ว 12 ชั่วโมง (การชะละลาย 2 ขั้นตอน หรือ 2-step bioleaching) นอกจากนี้ยังมีการแปรผันปริมาณของตัวอย่างที่เป็นโลหะตั้งแต่ 0.5-8% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลการทดลองพบว่าในสภาวะที่มีปริมาณโลหะหนักปะปนสูง จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและการสร้างไซยาไนด์จากแบคทีเรียด้วยเช่นกัน การเติม ESM หลังจากช่วง log phase ของแบคทีเรียไปแล้วนั้น ให้ประสิทธิภาพการชะละลายทองคำได้ดีกว่า เนื่องจากไม่มีโลหะหนักมายับยั้งการเติบโตและการเพิ่มประชากรของแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังสามารถผลิตไซยาไนด์ออกมาได้อย่างเต็มที่ จึงมีไซยาไนด์ในปริมาณมากพอต่อประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับการทดลองที่ความเข้มข้นเดียวกัน

บทที่ 3

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

- 1) ตู้เขี่ยเชื้อ ISSCO รุ่น BV-124, บริษัท International Science Supply Co., Ltd., Thailand, รุ่น Clean, รุ่น V3-4 บริษัท Triwork 2000 Co., Ltd., Thailand
- 2) ตู้ดูดอากาศ รุ่น A-3S บริษัท Eyela, Japan
- 3) ตู้แช่เย็นจุดเยือกแข็งต่ำ (Deep Freezer) อุณหภูมิ -70 บริษัท Forma Scientific, USA
- 4) ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) บริษัท Memmert, Germany
- 5) ตู้อบแห้ง รุ่น UE 600 และรุ่น UL 80 บริษัท Memmert Co., Ltd., Germany
- 6) เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Controlled Environment Incubator Shaker) รุ่น Innova 2300 บริษัท New Brunswick Scientific Co., Inc., Edison, N.J., USA
- 7) เครื่องชั่ง รุ่น PG 2002-S, รุ่น PB 3002 บริษัท Mettler Toledo Co., Ltd., Switzerland
- 8) เครื่องปั่นผสม (Vortex Genie2) รุ่น G-560E บริษัท Science Industries Inc., USA
- 9) เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (Digital pH meter) รุ่น Seveneasy บริษัท Mettler Toledo Co., Ltd., Switzerland
- 10) เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น SS-325 และรุ่น WS-315 บริษัท Tomy Seiko, Ltd., Japan และรุ่น HV-25, บริษัท Hirayama, Co., Ltd., Japan
- 11) เครื่องบดสารด้วยแรงสั่น (Vibratory Cup Mill)
- 12) บิวเรต (Burette) ขนาด 25 มิลลิลิตร พร้อมขาตั้ง
- 13) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 10, 100, 1000 ไมโครลิตร และ 10 มิลลิลิตร บริษัท Gilson, France
- 14) กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 บริษัท Whatman International Ltd., England
- 15) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 100, 250, 500, 1000 มิลลิลิตร
- 16) หลอดทดลอง (Test tube) ขนาด 20 มิลลิลิตร
- 17) จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

3.2 เคมีภัณฑ์

- 1) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) บริษัท Merck, Germany
- 2) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) บริษัท Cargo Erba Reagents, Italy
- 3) โซเดียมไซยาไนด์ (NaCN) บริษัท Cargo Erba Reagents, Italy
- 4) ซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO₃) บริษัท Merck, Germany
- 5) กรดไนตริกเข้มข้น (Nitric Acid) บริษัท Merck, Germany
- 6) กรดไฮโดรคลอริก (HCl) บริษัท Merck, Germany
- 7) อะซีโตน (Acetone) บริษัท Merck, Germany
- 8) อาหารเลี้ยง LB สำเร็จรูปชนิดผง บริษัท Himedia, India
- 9) ผงสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) บริษัท Labscan Asia, Co., Ltd., Ireland
- 10) ผงวุ้น (Agar) บริษัท Difco Laboratories, USA
- 11) อินดิเคเตอร์ (p-dimethylaminobenzal-rhodanine) บริษัท Himedia, India
- 12) 70% และ 95% แอลกอฮอล์ (Alcohol)
- 13) กลีเซอรอล (Glycerol) บริษัท Sigma-Aldrich Pte Ltd, Singapore

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

3.3.1.1 การเตรียมแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ *Chromobacterium violaceum* (ATCC 12472) ได้จาก Korean Collection for Type Cultures (KCTC) ประเทศเกาหลี นำเข้ามาในรูปของเซลล์แห้งแบบเยือกแข็ง (Lyophilization)

เซลล์ชนิดแห้งนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Nutrient Broth (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มในตู้เขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนแปลงของอาหารที่เกิดขึ้นโดยสีของอาหารเหลวเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีม่วงเนื่องจากเอนไซม์ไวโอเลซิน และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อบนอาหารแข็ง NA (ภาคผนวก ก) ด้วยวิธี Spread plate และ Streak Plate technique (ภาคผนวก ข)

1) วัดการเจริญของแบคทีเรียและการสังเคราะห์ไซยาไนด์

แบคทีเรียที่เจริญเป็นโคโลนีเดี่ยวบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA นำมาเพิ่มจำนวนโดยการ cấyเชื้อด้วยวิธี Aseptic technique (ภาคผนวก ข) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria Bertani Broth (LB) (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อ บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนแบคทีเรียทุกๆ 2 ชั่วโมง ตามวิธีในข้อ 3.3.4.1 เพื่อวิเคราะห์กราฟการเจริญ (Growth Curve) และวัดความเข้มข้นของไซยาไนด์ทุกๆ 2 ชั่วโมงเช่นกัน ตามวิธีในหัวข้อ 3.3.4.2 โดยผลการทดลองที่ได้ใช้เป็นชุดควบคุมเพื่อเปรียบเทียบกับจำนวนแบคทีเรียและความเข้มข้นของไซยาไนด์ในระหว่างการชะละลายทองคำที่มีการเติมตัวอย่าง ESM

2) หัวเชื้อแบคทีเรียสำหรับการชะละลายทองคำจากตัวอย่าง ESM

การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียเพื่อใช้ในขั้นตอนการชะละลายทองคำจากตัวอย่าง ESM เตรียมโดยการ cấyเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ปลอดเชื้อ บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.1.2 การเตรียมตัวอย่าง Electronic Scrap Material, ESM

ชิ้นส่วนของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือส่วนของแผงวงจรคอมพิวเตอร์ที่เป็นแผงวงจรหลัก (mainboard) ที่หมดอายุการใช้งานแล้ว โดยได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทวงษ์พาณิชย์สาขาสุวรรณภูมิ คัดเลือกเฉพาะส่วนที่เป็นโลหะจากแผงวงจรดังแสดงในรูปที่ 3.1

ชิ้นส่วนโลหะที่แยกออกมานำมาบดละเอียดด้วยเครื่องบดสารด้วยแรงสั่น (Vibratory Cup Mill) คัดแยกขนาดของตัวอย่างด้วยตะแกรงคัดขนาดโดยคัดเฉพาะส่วนที่มีขนาดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 75 ไมโครเมตร เพื่อใช้ในการทดลองและเรียกตัวอย่างนี้ว่า Electronic Scrap Material หรือ ESM ตัวอย่างที่ได้ขนาดแล้วนำมาแบ่งเป็น 2 ประเภทดังนี้

1) ตัวอย่างที่ผ่านการละลายทองแดง (Untreated ESM)

ชั่งตัวอย่าง ESM 10 กรัม ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่ตู้อบอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

2) ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการละลายทองแดง (Treated ESM)

ชั่งตัวอย่าง ESM 10 กรัม ละลายด้วย 65% กรดไนตริก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 200 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าจะเกิดก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง จนกระทั่งสารละลายกลายเป็นใสไม่มีสี กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่ตู้อบอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

ตัวอย่างทั้ง 2 ประเภทนำไปวิเคราะห์ปริมาณทองแดงและทองคำด้วยการละลายในสารละลายกรดกัดทอง (aqua regia) และวิเคราะห์หาความเข้มข้นด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Spectrometry (ICP) (ภาคผนวก ข)

3.3.2 การชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย

3.3.2.1 การชะละลาย 1 ขั้นตอน (1-step bioleaching)

ชั่งตัวอย่าง ESM 1 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 PSI อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อได้อาหารที่ปลอดเชื้อแล้วจึงเติมหัวเชื้อแบคทีเรียที่บ่มไว้แล้วลงไปปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลาทั้งหมด 7 วัน โดยแยกเป็น 2 การชุดทดลองสำหรับตัวอย่าง ESM ทั้ง 2 ประเภท

3.3.2.2 การชะละลาย 2 ขั้นตอน (2-step bioleaching)

ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 200 มิลลิลิตร และซังตัวอย่าง ESM 1 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 PSI อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ นำมาเติมหัวเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงไปปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำ ESM ที่ปลอดเชื้อแล้วเช่นกันเติมลงไป บ่มต่อในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 7 วัน โดยแยกเป็น 2 การชุดทดลองด้วยตัวอย่าง ESM ทั้ง 2 ประเภท

ในระหว่างการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน วันละ 10 มิลลิลิตรเพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่า pH นับจำนวนแบคทีเรีย ความเข้มข้นของไซยาไนด์ ปริมาณทองคำและทองแดงที่ถูกชะละลาย ตามวิธีในหัวข้อ 3.3.4 ทั้งนี้ผลการทดลองนำไปเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM

3.3.3 การชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรียแบบเติมอาหารต่อเนื่อง

การทดลองเป็นการประยุกต์จากวิธีการแบบ การชะละลาย 2 ขั้นตอน และใช้ตัวอย่าง Treated ESM ในการทดลอง โดยเริ่มจากเตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 200 มิลลิลิตร และซังตัวอย่าง Treated ESM 1 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 PSI อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ นำมาเติมหัวเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงไปปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำ Treated ESM ที่ปลอดเชื้อแล้วเติมลงไป บ่มต่อในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 7 วัน โดยมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 10 มิลลิลิตรเพิ่มลงไปชุดการทดลองทุกวัน วันละ 1 ครั้ง

ในระหว่างการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน วันละ 10 มิลลิลิตรเพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่า pH นับจำนวนแบคทีเรีย ความเข้มข้นของไซยาไนด์ ปริมาณทองคำและทองแดงที่ถูกชะละลาย ตามวิธีในหัวข้อ 3.3.4 ทั้งนี้ผลการทดลองนำไปเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM

3.3.4 การวิเคราะห์ผล

3.3.4.1 จำนวนประชากรแบคทีเรีย

การทดลองนี้ใช้วิธีการนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (viable plate counts) ในการประมาณจำนวนประชากรของแบคทีเรียระหว่างการทดลอง โดยเทคนิคที่เรียกว่า Spread plate technique คือใช้วิธีการเจือจางเป็นลำดับส่วนด้วยอัตราส่วน 1:9 โดยปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร เลือกที่ความเจือจางเหมาะสมแก่การนับปริมาณ

100 ไมโครลิตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งด้วยแท่งแก้วรูปตัว L ปลอดเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกเฉพาะที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนีจากนั้นคำนวณกลับด้วยความลำดับการเจือจางที่ใช้ หน่วยที่ได้เป็น Colony Forming per Unit (CFU ต่อมิลลิลิตร)

3.3.4.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์

การวิเคราะห์หาปริมาณไซยาไนด์ใช้การไทเทรตด้วยสารละลาย AgNO_3 ตามวิธีของ EPA Method 9014

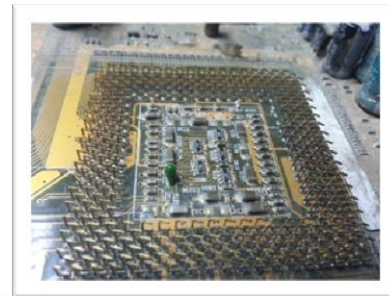
3.3.5 การเตรียมสารละลาย

- 1) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.25 N ชั่ง NaOH 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร
- 2) สารละลายโซเดียมไซยาไนด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3) สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 0.0192 N ละลาย AgNO_3 3.27 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ทดสอบความเข้มข้นสารละลายให้ได้ 1 มิลลิลิตรเทียบเท่ากับ 1 มิลลิกรัมไซยาไนด์
- 4) อินดิเคเตอร์ : ชั่ง 20 มิลลิกรัมของ *p*-dimethylaminobenzal-rhodanine ละลายในอะซีโตน 100 มิลลิลิตร

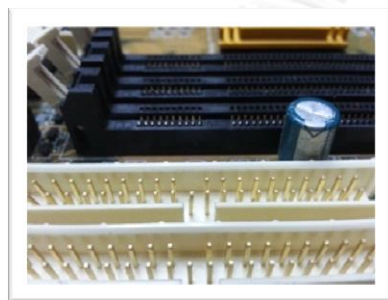
3.3.6 ภาพการดำเนินงานวิจัย



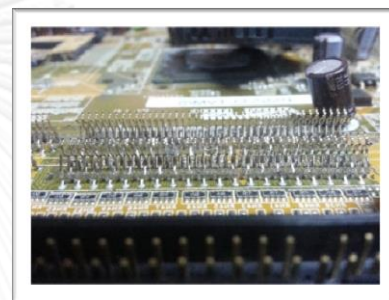
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

รูปที่ 3.1 ชิ้นส่วนโลหะจากส่วนต่างๆ ของแผงวงจรหลักของคอมพิวเตอร์ที่ใช้งานวิจัย



รูปที่ 3.2 การบดผงวงจรหลักของคอมพิวเตอรืด้วยเครื่องบดชนิด Vibratory cup mill



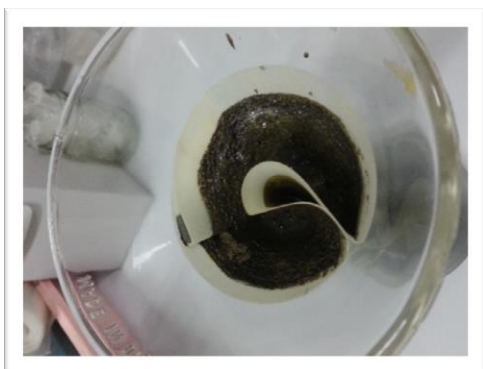
รูปที่ 3.3 การคัดขนาด ESM ด้วยตะแกรงขนาด -75 ไมครอน



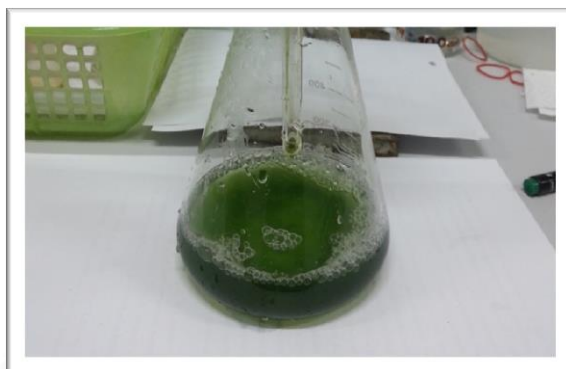
รูปที่ 3.4 ESM ที่สามารถผ่านรูตะแกรงถูกนำมาใช้ในงานวิจัย



รูปที่ 3.5 ESM ที่มีขนาดใหญ่กว่า 75 ไมครอน (นำมาบดละเอียดซ้ำอีกครั้ง)

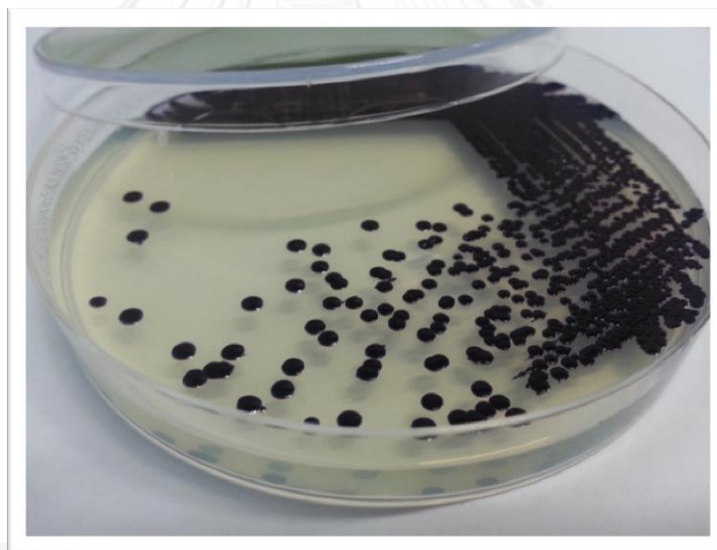


(ก)



(ข)

รูปที่ 3.6 การเตรียม Treated ESM โดยละลาย ESM ด้วยกรดไนตริก



รูปที่ 3.7 ลักษณะโคโลนีของ *Chromobacterium violaceum* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ LB



รูปที่ 3.8 อุปกรณ์พื้นฐานที่ใช้ในทางจุลชีววิทยา และการทดลองในตู้เปียเชื้อ



รูปที่ 3.9 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.10 ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนการเติม ESM จากขั้นตอนการชะละลายโลหะ
แบบ (ก) การชะละลาย 1 ขั้นตอน และ (ข) การชะละลาย 2 ขั้นตอน



รูปที่ 3.11 การเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไซยาไนด์ด้วยวิธีไทเตรท
(สีที่จุดยุติ-สีของอินดิเคเตอร์ก่อนการไทเตรท-ก่อนเติมอินดิเคเตอร์)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

4.1.1 ปริมาณโลหะในตัวอย่าง ESM

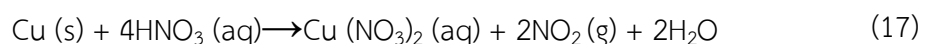
ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ ชิ้นส่วนจากแผงวงจรคอมพิวเตอร์ที่หมดอายุการใช้งาน คัดเลือกเฉพาะส่วนที่เป็นโลหะที่เป็นขาเชื่อมต่อชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์ในส่วนต่างๆทั่วทั้งแผงวงจร หลังจากนำตัวอย่าง ESM ที่ผ่านการคัดขนาดเล็กลงกว่า 75 ไมโครเมตร วิเคราะห์ปริมาณโลหะทองคำ และทองแดงด้วยวิธี ICP ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณทองคำ และทองแดงในตัวอย่าง ESM

	Metals Content (%)	
	Au	Cu
Untreated ESM	0.22	33.6
Treated EMS	0.21	3.67

ตัวอย่าง ESM ที่ยังไม่ผ่านการละลายทองแดงด้วยกรดไนตริกพบว่า มีปริมาณทองคำ 0.22% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาถือว่าปริมาณทองคำอยู่ในระดับที่สูง (คิดเป็น 2,200 ส่วนในล้านส่วน) อาจเนื่องจากการคัดเลือกตัวอย่างเป็นการแยกด้วยมือ และชิ้นส่วนที่ใช้ในการทดลองคัดเลือกมาเฉพาะขาพินและส่วนประกอบที่เป็นโลหะที่มีทองคำเป็นองค์ประกอบแน่นอน ทำให้ตัวอย่างที่ได้เฉพาะเจาะจงว่าเป็นโลหะ ไม่มีองค์ประกอบของวัสดุอื่น เช่น พลาสติก เซรามิก หรืออื่นๆปะปน สำหรับทองแดงพบว่ามีอยู่ 33.6% เป็นสัดส่วนที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยที่ผ่านมา โดยเมื่อเปรียบเทียบกับการรายงานของ Phan Van Ahn, 2009 มีปริมาณทองแดงประมาณ 25.39% ของ ESM เพราะทองแดงเป็นโลหะที่มีปริมาณมากที่สุดในการประกอบอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์โดยทั่วไป

ตัวอย่าง ESM ที่ผ่านขั้นตอนการลดปริมาณทองแดง โดยการย่อยละลายทองแดงด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 65% พบว่าปริมาณทองคำมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยมีปริมาณ 0.21% ของตัวอย่าง ในขณะที่ทองแดงมีสัดส่วนลดลงอย่างมาก เหลือเพียง 3.67% ของตัวอย่าง ในระหว่างการย่อยสลายทองแดงด้วยกรดไนตริกนั้น จะสังเกตเห็นก๊าซสีน้ำตาล มีกลิ่นฉุน ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างทองแดงและกรดไนตริก และเกิดเป็นก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ ตามสมการที่ (17)



หลังจากทำปฏิกิริยาจนกระทั่งไม่มีก๊าซสีน้ำตาลเกิดขึ้นอีก เจือจางด้วยน้ำกลั่นสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอมฟ้า เนื่องมาจากปฏิกิริยาการแทนที่ของน้ำโดยรอบ Cu^{2+} ทำให้ในขั้นตอนนี้ทองแดงถูกละลายออกจากตัวอย่าง ESM ในขณะที่ทองคำอยู่ในปริมาณที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก เนื่องจากคุณสมบัติของทองแดงที่ไม่ทำปฏิกิริยากับกรดไนตริกหรือกรดใดๆ แต่จะสามารถละลายได้ในกรดผสมระหว่างกรดไนตริกและกรดซัลฟิวริกหรือที่เรียกว่ากรดกัดทองเท่านั้น

ปริมาณโลหะที่วิเคราะห์ได้นี้นำไปใช้เป็นค่าโลหะเริ่มต้นเพื่อคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนโลหะจากการชะละลายด้วยแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป

4.1.2 การเจริญของแบคทีเรียและการสร้างไซยาไนต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

ก่อนที่จะนำแบคทีเรียไปใช้เพื่อการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์นั้น จำเป็นต้องทดสอบคุณสมบัติและการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ไม่มีการเติม ESM เพื่อใช้เป็นชุดควบคุมเปรียบเทียบกับกรทดลองที่มีการเติม ESM โดยทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ควบคุมที่ค่าพีเอช 9 ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที สังเกตเห็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มมีความขุ่นหลังจากเวลาผ่านไปประมาณ 3 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มกลายเป็นสีม่วงและเข้มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 14 ชั่วโมง แสดงว่า *C. violaceum* มีการเพิ่มจำนวนและมีสร้างไวโอเลซิน ซึ่งเป็นพิกเมนต์สีม่วงออกมาภายนอกเซลล์ จากนั้นนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธี viable plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง โดยเลือกนับจำนวนที่มีโคโลนีตั้งแต่ 30-300 โคโลนี วิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียต่อปริมาตรโดยการคำนวณจากลำดับความเจือจางที่ใช้ ผลที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.1

หลังจากเติมหัวเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 1% ปริมาตรต่อปริมาตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ามีแบคทีเรียเริ่มต้นที่ 4.17×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตรและเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 8 เป็นต้นไป โดยนับจำนวนได้ 4.56×10^{11} CFU ต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นประชากรลดลงในชั่วโมงที่ 20 โดยการเจริญของแบคทีเรียนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ช่วงด้วยกันดังนี้

1) Lag phase

ชั่วโมงที่ 0-2 เป็นช่วงเวลาที่แบคทีเรียปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ ในช่วงนี้ยังไม่มี การเพิ่มจำนวนหรืออาจมีน้อยมาก โดยเป็นช่วงที่แบคทีเรียเตรียมองค์ประกอบที่จำเป็นในการแบ่งเซลล์ ในช่วงนี้มีจำนวนแบคทีเรียประมาณ $4.17 \times 10^6 - 5.12 \times 10^6$ CFU ต่อมิลลิลิตร

2) Log phase

คือชั่วโมงที่ 2-8 เป็นช่วงเวลาที่แบคทีเรียแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวน โดยการเพิ่มจำนวนจะเป็นไปแบบทวีคูณ ทำให้บางครั้งอาจเรียกช่วงนี้ว่า Exponential phase เนื่องจากแบคทีเรียต้องใช้

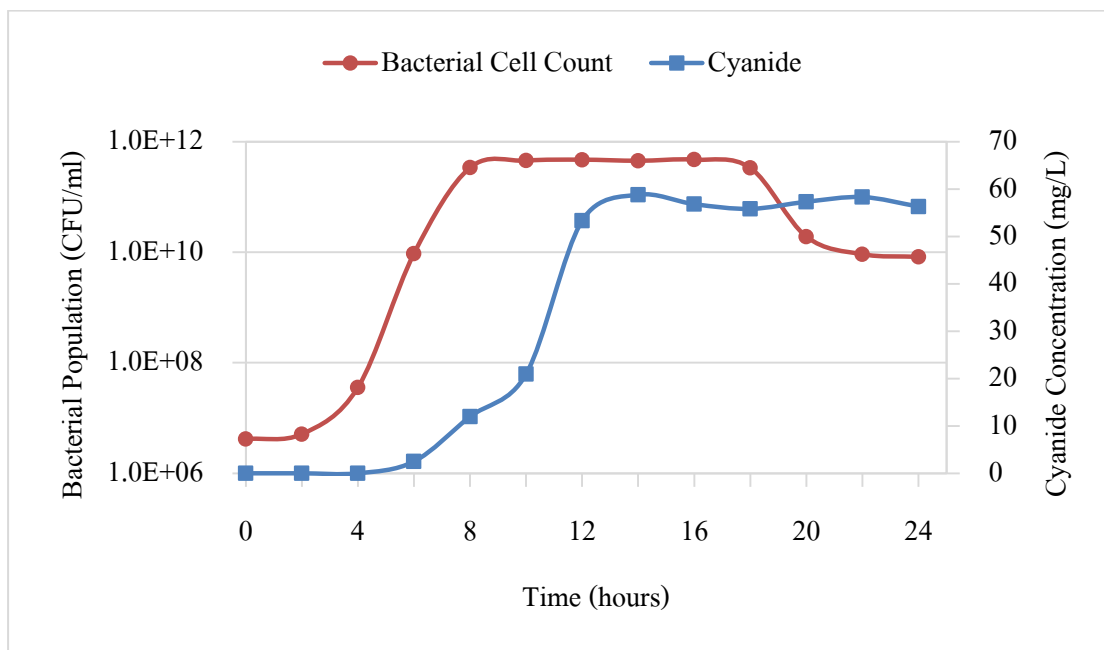
สารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นในการเพิ่มจำนวน ทำให้ช่วงนี้อาหารจะถูกบริโภคไปอย่างรวดเร็ว สวนทางกับจำนวนแบคทีเรียที่มีเพิ่มขึ้น โดยในชั่วโมงที่ 2 แบคทีเรียมีจำนวนประมาณ 5.12×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ภายใน 6 ชั่วโมงเพิ่มจำนวนขึ้นมาถึง 3.40×10^{11} CFU ต่อมิลลิลิตร กราฟที่ได้จะเป็นลักษณะสูงชันขึ้นมาอย่างชัดเจนก่อนที่จะเริ่มคงที่เพื่อเข้าสู่ช่วงถัดไป

3) Stationary phase

คือชั่วโมงที่ 8-18 เป็นช่วงเวลาที่มียจำนวนแบคทีเรียค่อนข้างคงที่อยู่ที่ประมาณ 4.53×10^{11} CFU ต่อมิลลิลิตร ในช่วงนี้แบคทีเรียยังคงมีการแบ่งตัวแต่ในขณะเดียวกันก็เริ่มมีการตายของแบคทีเรียเกิดขึ้นด้วย แต่การเพิ่มจำนวนและการตายอาจเกิดขึ้นในอัตราที่ใกล้เคียงกัน ทำให้จำนวนแบคทีเรียที่วัดได้มีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่

4) Death phase

คือชั่วโมงที่ 18 เป็นต้นไป แบคทีเรียเริ่มลดลงจาก 3.37×10^{11} CFU ต่อมิลลิลิตรเหลือเพียง 8.27×10^9 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24 และมีแนวโน้มลดลงอีกอย่างต่อเนื่อง ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเริ่มหมดลง ในขณะเดียวกันสารต่างๆที่แบคทีเรียขับออกจากเซลล์มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น และเป็นพิษต่อเซลล์ ส่งผลให้เกิดการตายเพิ่มมากขึ้นและยับยั้งการแบ่งเซลล์ อัตราการตายสูงกว่าอัตราการเพิ่มจำนวน ส่งผลให้กราฟที่ได้ลดลงอย่างเห็นได้ชัด



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงการเจริญและการสร้างไซยาไนด์ของ *Chromobacterium violaceum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ pH 9

C. violaceum สามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์และปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ไซยาไนด์ที่ถูกสร้างวิเคราะห์ด้วยวิธีการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรททุกๆ 2 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 4.1

ไซยาไนด์เริ่มตรวจจับได้หลังจากเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 2.49 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นความเข้มข้นสูงสุดที่ได้คือประมาณ 60 มิลลิกรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 14 ซึ่งตรงกับช่วง stationary phase ของแบคทีเรีย โดยทั่วไปจะพบไซยาไนด์สังเคราะห์ออกมามากที่สุดในช่วง early stationary phase (Knowles, 1976) และไซยาไนด์ที่สังเคราะห์โดย *C. violaceum* มีความเข้มข้นสูงสุดโดยประมาณ 45 มิลลิกรัมต่อลิตร (Lawson et al., 1999) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB

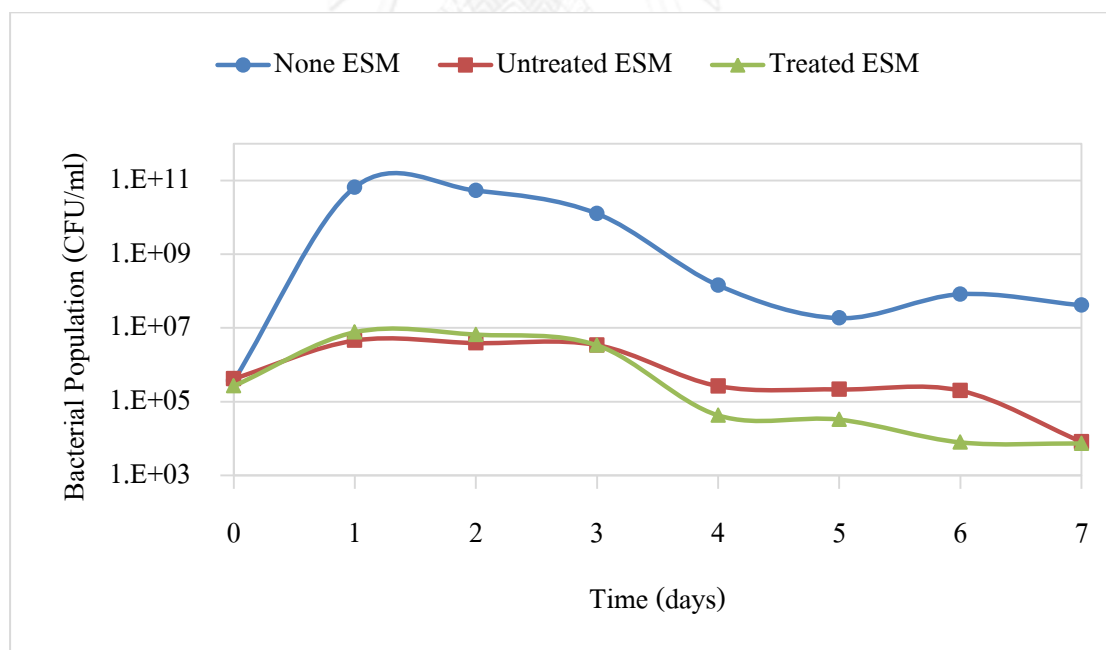
หลังจากแบคทีเรียสังเคราะห์ไซยาไนด์ออกมาเต็มที่แล้ว ไซยาไนด์จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในการทดลองยังไม่พบช่วงที่มีการลดลงของไซยาไนด์ คาดว่าเป็นช่วงหลังจาก 24 ชั่วโมง เป็นต้นไป เนื่องจากไซยาไนด์ที่ถูกสังเคราะห์โดยแบคทีเรีนี้อาจมีการระเหยในระหว่างการทดลอง เพราะการทดลองทำบนเครื่องเขย่าเพื่อเติมอากาศ เป็นผลให้ไซยาไนด์มีโอกาสระเหยไปในระหว่างเวลานี้ นอกจากนี้ *C. violaceum* ยังสามารถบริโภคไซยาไนด์โดยเปลี่ยนไซยาไนด์ให้อยู่ในรูปของเบตาไซยาโนอะลานีนและกรดแอมมาไซยาโนแอลฟาอะมิโนบิวทริก

4.2 การชะละลาย 1 ขั้นตอน (1-step bioleaching)

4.2.1 การเจริญของแบคทีเรีย

การวิเคราะห์จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากตัวอย่าง ESM ทั้ง 2 ชนิดคือ Untreated ESM และ Treated ESM ด้วยวิธี การชะละลาย 1 ขั้นตอน คือมีการเติมแบคทีเรียและ ESM พร้อมกันตั้งแต่เริ่มต้น วิเคราะห์ผลทุกวันเป็นเวลาทั้งหมด 7 วันโดยทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM จำนวนแบคทีเรียที่ได้แสดงในรูปที่ 4.2

ในการทดลองที่ไม่มีการเติม ESM แบคทีเรียสามารถเจริญและแบ่งตัวได้เต็มที่มากกว่า โดยแบคทีเรียตรวจวัดได้สูงสุดประมาณ 6.58×10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร จากเริ่มต้นวันแรกที่มีอยู่ 3.65×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการเติม ESM ทั้ง 2 ชนิด แบคทีเรียเจริญได้มากที่สุดเพียง 4.54×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชุดการทดลองของ Untreated ESM และ 7.65×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ในชุดการทดลองของ Treated ESM และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 พบว่าเหลือแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่น้อยมาก

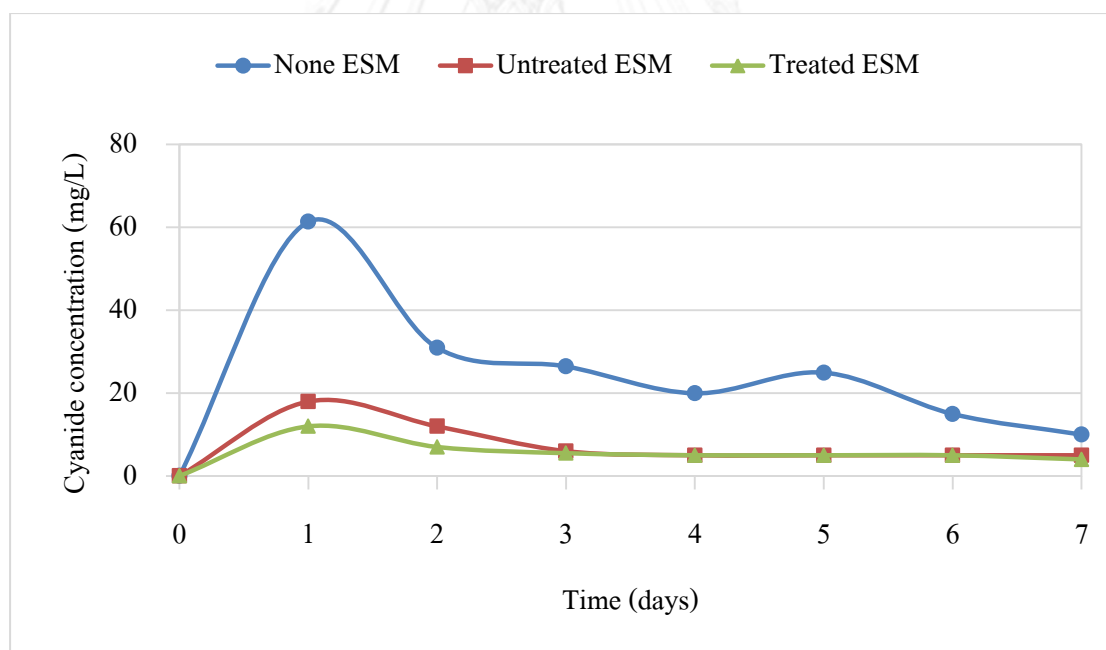


รูปที่ 4.2 กราฟแสดงจำนวน *Chromobacterium violaceum* ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน

4.2.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์

วิเคราะห์หาความเข้มข้นของไซยาไนด์ด้วยการไตเตรทกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท จากตัวอย่างชุดการทดลองการชะละลายทองคำจาก ESM โดยการชะละลาย 1 ชั้นตอน ทุกๆ 1 วัน เป็นเวลาทั้งหมด 7 วัน ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4. 3

ความเข้มข้นสูงสุดของไซยาไนด์ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM คือ 61.48 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการทดลองผ่านไป 1 วัน ปริมาณไซยาไนด์ลดลงอย่างรวดเร็ว เหลือเพียง 30.41 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 พบความเข้มข้นของไซยาไนด์เพียง 9.97 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น ปริมาณไซยาไนด์ที่เกิดขึ้นจากการทดลองที่เติมตัวอย่างที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันมากนัก ความเข้มข้นไซยาไนด์ที่วิเคราะห์ได้สูงสุดเพียง 18.28 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 11.96 มิลลิกรัมต่อลิตรจาก Untreated ESM และ Treated ESM ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีไซยาไนด์เหลือที่ความเข้มข้นประมาณ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 4. 3 กราฟแสดงความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่ผลิตโดย *Chromobacterium violaceum* ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ชั้นตอน

การชะละลาย 1 ขั้นตอน เป็นการชะละลายด้วยแบคทีเรียที่มีการเติมตัวอย่าง ESM และแบคทีเรียลงไปในการเลี้ยงเชื้อเหลวพร้อมกันตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง โลหะหนักที่เป็นองค์ประกอบของ ESM โดยเฉพาะทองแดงที่มีสัดส่วนมากที่สุด ส่งผลต่อการเจริญของแบคทีเรียอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปราศจาก ESM มีการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย ซึ่งส่งผลกระทบต่อปริมาณไซยาไนด์ที่สังเคราะห์โดยแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ด้วยเช่นกัน

แบคทีเรียโดยทั่วไปแล้วไม่สามารถเจริญอยู่ได้ในสภาวะที่มีโลหะหนักปะปนอยู่ในปริมาณที่สูงเกินไป โดยทองแดงสามารถทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียที่มีชั้นไขมันเป็นองค์ประกอบทำให้เกิดช่องว่างขึ้น และเมื่อชั้นที่ห่อหุ้มเซลล์มีช่องโหว่ ของเหลวภายในเซลล์รั่วไหลออกมาสู่ภายนอกด้วยความไม่สมดุลด้วยแรงดันของภายในและนอกเซลล์ไม่ปกติ จึงเกิดภาวะเซลล์แห้งและตายในที่สุด นอกจากนี้ทองแดงยังสามารถทำลายโครงสร้างที่เป็นโปรตีน อันเป็นส่วนประกอบของเซลล์แบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ถึงแม้จะมีแร่ธาตุ แหล่งอาหารและแหล่งพลังงานอยู่อย่างเพียงพอก็ตาม (Manzl, 2004)

ทองแดงเป็นโลหะที่สามารถถูกชะละลายได้ด้วยไซยาไนด์ การที่มีทองแดงในตัวอย่างอยู่มากจึงเป็นสาเหตุให้ไซยาไนด์ถูกใช้ไปกับการปฏิกิริยากับทองแดงด้วยเช่นกัน เมื่อไซยาไนด์ซึ่งมีปริมาณจำกัดบางส่วนจับกับทองแดงไปแล้วจึงไม่สามารถจับกับทองคำได้อีก และทองคำที่มีสัดส่วนน้อยมากในตัวอย่างจึงไม่ถูกชะละลายออกมาอย่างเต็มประสิทธิภาพ

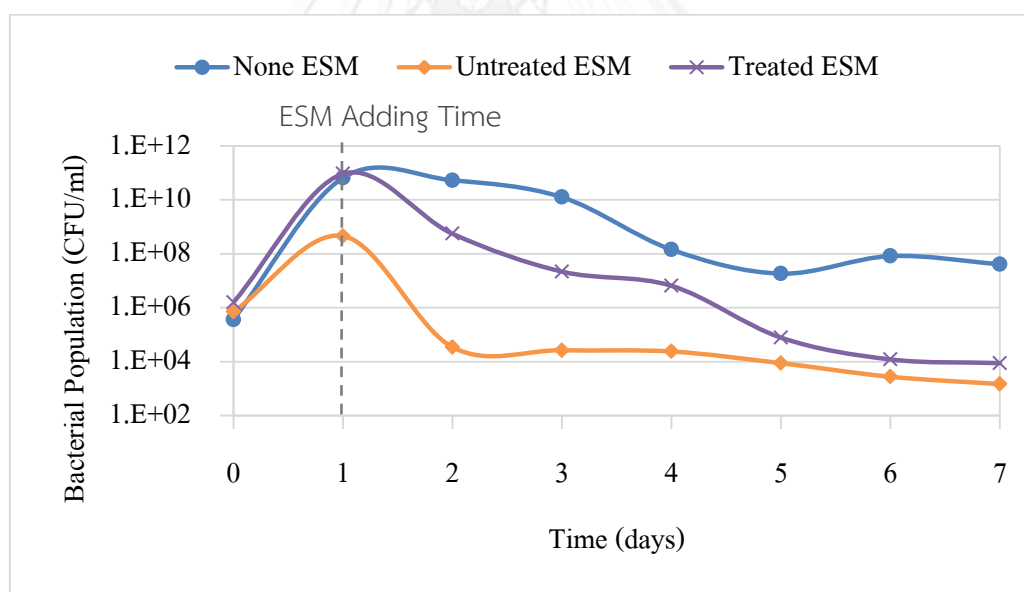
ผลการทดลองจากการชะละลาย 1 ขั้นตอน แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การเตรียมตัวอย่างของ ESM ก่อนนำมาชะละลายด้วยแบคทีเรียถือเป็นปัจจัยที่สำคัญ โดยกระบวนการที่นำมาใช้ควรคำนึงองค์ประกอบของตัวอย่างเป็นหลัก เนื่องจากขึ้นชื่อว่าขยะอิเล็กทรอนิกส์ แน่แน่นอนว่าชิ้นส่วนที่นำมาใช้ล้วนมีองค์ประกอบของวัสดุที่หลากหลายและสัดส่วนของวัสดุแต่ละชนิดไม่แน่นอน บางชิ้นส่วนมีพลาสติกปะปนมาก บางชิ้นส่วนเป็นเซรามิก และส่วนที่เป็นโลหะ ผสมไปด้วยโลหะหลายชนิดเช่นกัน ด้วยเหตุนี้ การเตรียมตัวอย่างจึงไม่มีวิธีที่แน่นอน สามารถทำได้ด้วยกระบวนการหลากหลายรูปแบบ โดยอยู่บนพื้นฐานของจุดประสงค์เดียวกันคือ เพื่อกำจัดมลพิษและสิ่งเจือปนอื่นออกให้ได้มากที่สุดนั่นเอง

4.3 การชะละลาย 2 ขั้นตอน (2-step bioleaching)

4.3.1 การเจริญของแบคทีเรีย

การวิเคราะห์จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากตัวอย่าง ESM ทั้ง 2 ประเภท คือ Untreated ESM และ Treated ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน คือการเติม ESM หลังจากการเจริญของแบคทีเรียผ่านไป 1 วัน วิเคราะห์ผลทุกวันเป็นเวลาทั้งหมด 7 วันโดยทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM จำนวนแบคทีเรียที่ได้แสดงในรูปที่ 4.4

จากรูปที่ 4.4 การทดลองในชุดที่มี Untreated ESM มีการเจริญของแบคทีเรีน้อยที่สุด ในขณะที่การทดลองด้วย Treated ESM ให้ผลการทดลองในช่วงแรกใกล้เคียงกับชุดควบคุมคือมีแบคทีเรียสูงสุดประมาณ 9.30×10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร แต่จำนวนแบคทีเรียค่อยๆ ลดลงในช่วงหลังจนกระทั่งมีแบคทีเรียเหลือเพียงไม่เกิน 104 CFU ต่อมิลลิลิตรในวันที่ 7

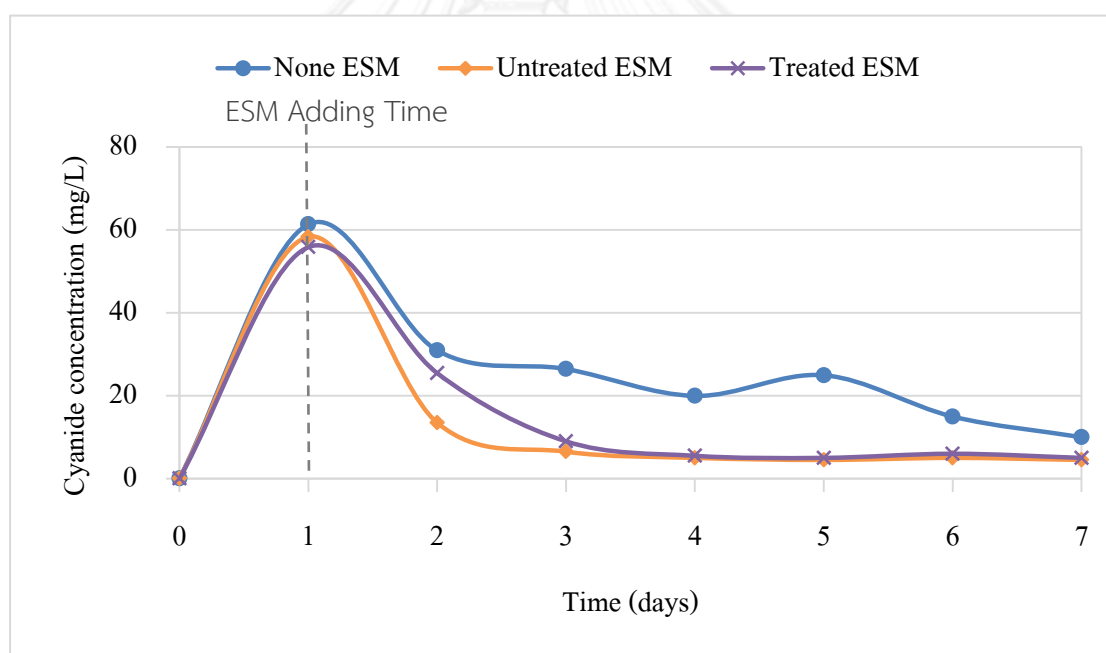


รูปที่ 4.4 กราฟแสดงจำนวน *Chromobacterium violaceum* ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน

4.3.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์

ความเข้มข้นของไซยาไนด์ในระหว่างการชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรีย โดยการชะละลาย 2 ขั้นตอน จากตัวอย่าง ESM ทั้งสองประเภท แสดงในรูปที่ 4.5 เปรียบเทียบกับข้อมูลจากชุดควบคุมของการทดลองการชะละลาย 1 ขั้นตอน

จากรูปที่ 4.5 ก่อนการเติมตัวอย่าง ESM ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรียเจริญอยู่แล้ว พบว่าไซยาไนด์มีความเข้มข้นสูงใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย หลังจากเติม ESM ลงไป (วันที่ 1) ไซยาไนด์มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว โดยการทดลองที่เติม Untreated ESM มีการลดลงของไซยาไนด์มากที่สุด เหลือเพียง 13.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่การเติม Treated ESM ไซยาไนด์ลดลงมาที่ระดับ 25.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการทดลอง ทั้งสองการทดลองมีไซยาไนด์เหลืออยู่เพียงไม่ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่ผลิตโดย *Chromobacterium violaceum* ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน

เมื่อเปรียบเทียบการชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรียโดยการชะละลาย 2 ขั้นตอน จากตัวอย่างที่แตกต่างกัน 2 ชนิดคือ Untreated ESM และ Treated ESM พบว่าให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการทดลองโดยการชะละลาย 1 ขั้นตอน คือ แบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการสร้างไฮยาไนต์สูงกว่าในการทดลองกับตัวอย่าง Treated ESM ถึงแม้ว่าปริมาณไฮยาไนต์สูงสุดที่สังเคราะห์ได้จะให้ความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกันก็ตาม แต่เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับประชากรแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระหว่างการชะละลาย พบว่า Treated ESM มีแบคทีเรียที่เจริญอยู่ในระหว่างการทดลองมากกว่า Untreated ESM จึงมีโอกาที่จะสังเคราะห์ไฮยาไนต์ได้มากกว่าหากยังมีสารอาหารเหลืออยู่เพียงพอ

การชะละลาย 2 ขั้นตอน แสดงผลการทดลองที่แตกต่างอย่างชัดเจนจากการทดลองแบบการชะละลาย 1 ขั้นตอน เพราะเมื่อเปลี่ยนเวลาในการเติมตัวอย่างให้หลังไป 1 วัน เพื่อให้แบคทีเรียได้เจริญอย่างสมบูรณ์ก่อนนั้น พบว่าการสังเคราะห์ไฮยาไนต์มีประสิทธิภาพสูงเทียบเท่ากับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM และมีจำนวนแบคทีเรียมากขึ้น แสดงให้เห็นว่า เวลาเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย เริ่มตั้งแต่เวลาในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญเต็มที่ เวลาในการสังเคราะห์ไฮยาไนต์ให้ได้ปริมาณมากที่สุด และที่สำคัญคือเวลาในการเติมตัวอย่างลง เพื่อให้แบคทีเรียอยู่ในสภาวะที่พร้อมต่อการชะละลายทองคำมากที่สุด

เวลาในการเติมตัวอย่างเพื่อเริ่มต้นกระบวนการชะละลายทองคำนั้นจำเป็นต้องคำนึงถึงหลายปัจจัยด้วยกัน เพราะหากเลือกช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลถึงอัตราการเก็บกลับคืนทองคำในภายหลัง ดังนั้นช่วงเวลาที่เหมาะสมนั้นจึงหมายถึง เวลาที่มีปริมาณไฮยาไนต์ถูกสังเคราะห์ออกมามากที่สุดนั่นเอง เนื่องจากไฮยาไนต์ลดลงภายในระยะเวลาอันสั้น และไฮยาไนต์ที่สังเคราะห์ได้จาก *Chromobacterium violaceum* มีปริมาณที่จำกัดตามความสามารถของแบคทีเรีย การเติมตัวอย่างก่อนถึงช่วงเวลาที่เหมาะสม ส่งผลให้ไฮยาไนต์ที่ได้มีปริมาณน้อยกว่าที่ควรจะเป็น ในขณะที่การเติมตัวอย่างช้าเกินไป จำทำให้สูญเสียไฮยาไนต์ไปโดยไม่จำเป็นจากการระเหยและการบริโภคโดยแบคทีเรียเอง

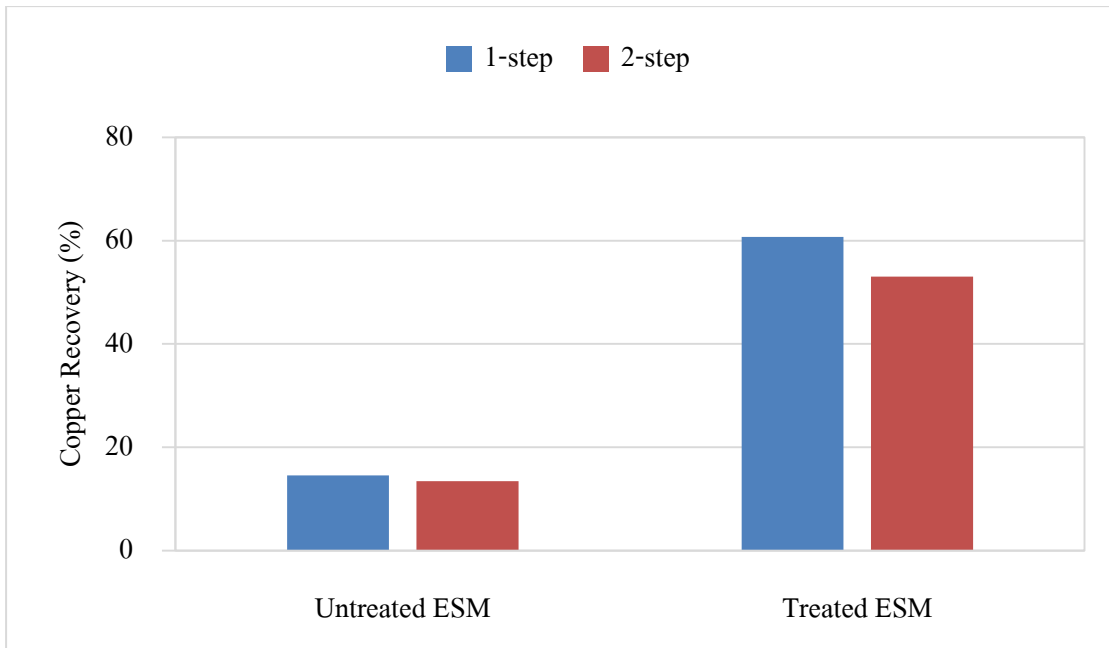
4.4 ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำโดยแบคทีเรีย

ไซยาไนด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยแบคทีเรียจะทำการชะละลายทองคำและทองแดงที่ปะปนอยู่ในตัวอย่าง ESM ให้อยู่ในรูปของไอออนที่ละลายน้ำได้ดีขึ้น วิเคราะห์ความเข้มข้นของโลหะที่ถูกชะละลายออกมาด้วย Inductively Couple Plasma Spectrometer และวิเคราะห์ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำ โดยคำนวณเปรียบเทียบกับค่าโลหะเริ่มต้นใน ESM แต่ละชนิดตามตารางที่ 4.1

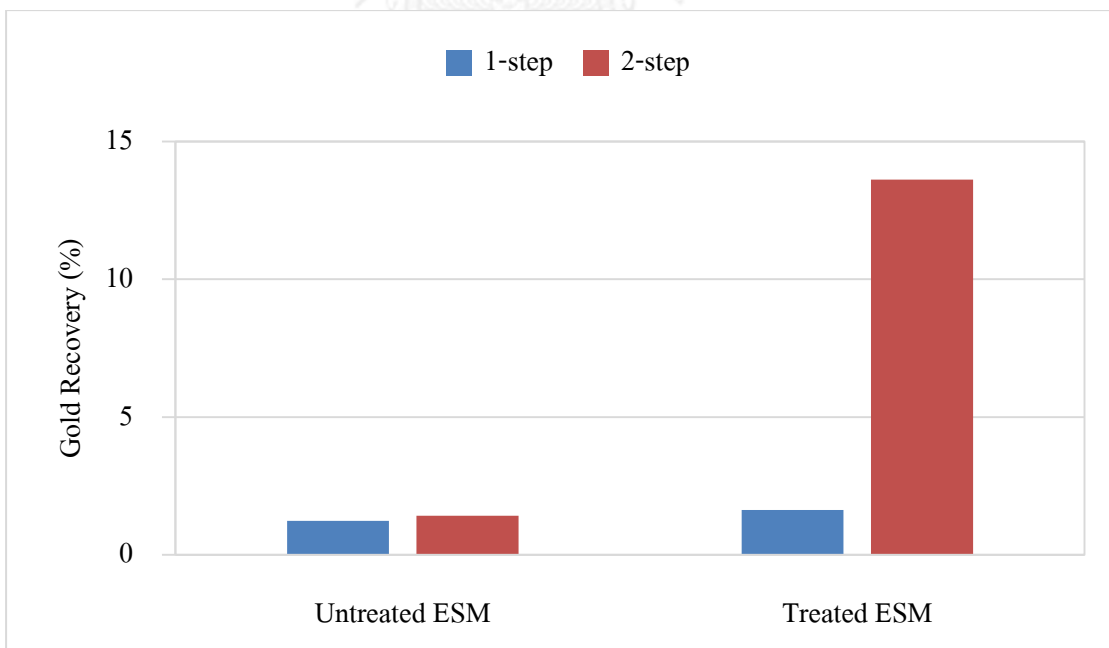
0.5% pulp density ของ ESM ถูกชะละลายด้วยไซยาไนด์ที่สังเคราะห์จาก *C. violaceum* ความเข้มข้นของทองแดงและทองคำที่แตกตัวออกมาในรูปของไอออนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) วิเคราะห์ด้วยกราฟแสดงประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดงและทองคำ (% Recovery) ในรูปที่ 4.6 และรูปที่ 4.7 ตามลำดับ

ทองแดงละลายน้ำแตกตัวออกมาในปริมาณสูงมากระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรียจากตัวอย่าง Untreated ESM (มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อเทียบกับ Treated ESM (น้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่เมื่อวิเคราะห์จากประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดงในภาพที่ 4.6 พบว่า Treated ESM มีเปอร์เซ็นต์การเก็บกลับคืนทองแดงได้มากกว่า ที่เป็นเช่นนี้ เพราะก่อนการทดลองมีทองแดงปะปนอยู่ในตัวอย่าง Untreated ESM มากกว่าใน Treated ESM ถึง 90% ถึงแม้ว่าจะสามารถชะละลายทองแดงออกมาในปริมาณมาก แต่เนื่องด้วยเวลาที่จำกัด และปริมาณไซยาไนด์ที่สังเคราะห์มาจากแบคทีเรีนั้นก็มีอยู่อย่างจำกัดเช่นกัน โดยหลังจากแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ออกมาได้สูงสุดแล้ว การสูญเสียไซยาไนด์จากหลายทิศทางทำให้การชะละลายทองแดงที่มีปริมาณมากไม่สามารถทำได้เต็มประสิทธิภาพ

จากรูปที่ 4.7 พบว่า ประสิทธิภาพในการเก็บกลับคืนทองคำสูงที่สุดเมื่อทำการชะละลายด้วยวิธี การชะละลาย 2 ขั้นตอน จากตัวอย่าง Treated ESM โดยสามารถเก็บกลับคืนทองคำได้ 13.62% (1.43 มิลลิกรัมต่อลิตร) สำหรับในการทดลองอื่นคือ การชะละลาย 1 ขั้นตอน และ การชะละลาย 2 ขั้นตอน จาก Untreated ESM มีประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำได้เพียงประมาณ 1% เท่านั้น



รูปที่ 4.6 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดงจากตัวอย่าง ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน และการชะละลาย 2 ขั้นตอน



รูปที่ 4.7 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำจากตัวอย่าง ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 1 ขั้นตอน และการชะละลาย 2 ขั้นตอน

4.5 การชะละลายทองคำแบบเติมอาหารต่อเนื่อง

อาหารเลี้ยงเชื้อถือเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรีย และเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสังเคราะห์ไซยาไนด์จากแบคทีเรียด้วยเช่นกัน เนื่องจากไซยาไนด์จะถูกสังเคราะห์ออกมาได้มากที่สุดในช่วงเวลาสั้นๆเท่านั้น คือช่วง Stationary phase และหลังจากนั้นไซยาไนด์จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว ด้วยเหตุนี้หากต้องการให้มีการสังเคราะห์ไซยาไนด์ขึ้นอย่างต่อเนื่องและเพียงพอต่อการนำมาชะละลายทองคำในตัวอย่าง จึงศึกษาเพิ่มเติมโดยการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าไปในระหว่างการชะละลายทองคำ การทดลองนี้ได้แนวคิดจากกระบวนการ Heap leaching คือการชะละลายแบบพ่นเพื่อเติมสารเคมีที่ใช้เข้าไปในระบบอย่างต่อเนื่อง

การเพิ่มประสิทธิภาพการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรียแบบเติมอาหารอย่างต่อเนื่อง ประยุกต์มาจากการทดลองด้วยการชะละลาย 2 ขั้นตอน และใช้ตัวอย่างจาก Treated ESM เนื่องจากเป็นสภาวะที่มีประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนได้ดีที่สุดจากหัวข้อที่ 0 โดยในระหว่างการทดลองให้มีการเติมอาหารเข้าไปในระบบทุกวัน วันละ 10 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 7 วัน เพื่อวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรีย ความเข้มข้นของไซยาไนด์ และความเข้มข้นของโลหะที่ถูกชะละลาย

4.5.1 การเจริญของแบคทีเรีย

กราฟแสดงจำนวนแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจาก Treated ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน ที่มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่องสามารถอธิบายได้โดยรูปที่ 4.8 ก่อนเติม ESM การทดลองมีแบคทีเรียเจริญเต็มที่อยู่ประมาณ 5.63×10^9 CFU ต่อมิลลิลิตร หลังจากเติม ESM ลงไปพบว่าจำนวนแบคทีเรียไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แล้วจึงเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากวันที่ 5 ของการทดลอง ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM ก็เช่นเดียวกัน

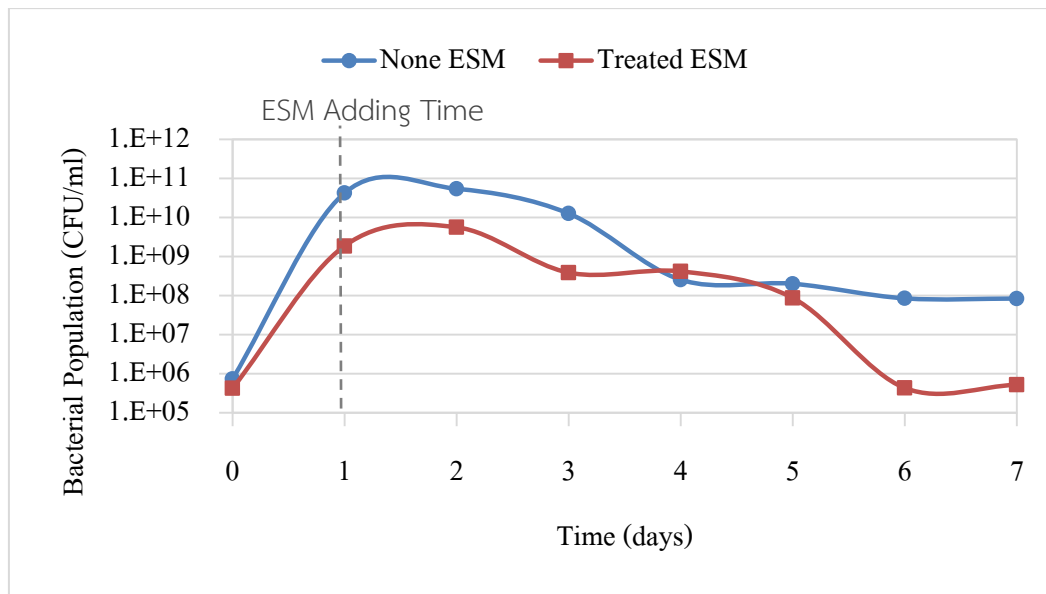
ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มลงไปมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนแบคทีเรีย แบคทีเรียยังคงมีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่องตามเวลา แต่ถึงอย่างนั้นก็ยังคงรักษาระดับไว้ไม่ให้เหลือน้อยจนเกินไป เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นยังคงมีสารพิษและสารหลังต่างๆจากแบคทีเรียอยู่ อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเพิ่มลงไปมีสัดส่วนเพียง 5% ของปริมาตรทั้งหมดเท่านั้น จึงยังไม่เพียงพอต่อการบริโภคโดยแบคทีเรียทั้งหมดได้

4.5.2 ความเข้มข้นของไซยาไนด์

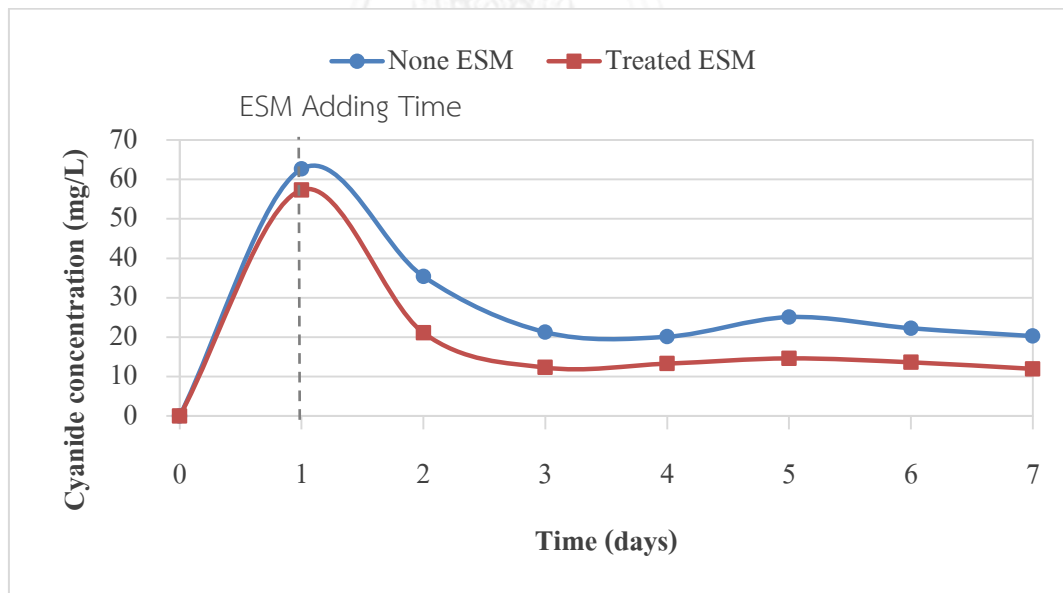
การสังเคราะห์ไซยาไนด์จากการทดลองนี้ดังแสดงในรูปที่ 4.9 มีรูปแบบที่ใกล้เคียงกับผลการทดลองหาปริมาณไซยาไนด์ในรูปที่ 4.5 (การชะละลาย 2 ขั้นตอน) คือสร้างไซยาไนด์ออกมาได้มากที่สุดภายในช่วงเวลาสั้นๆของระยะ stationary phase เท่านั้น หลังจากเติม ESM ลงไป ปริมาณไซยาไนด์ลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 1 วัน ยืนยันด้วยชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM แต่ถึงแม้ว่าจะมีรูปแบบกราฟแสดงความสัมพันธ์ที่คล้ายกัน แต่สิ่งที่แตกต่างกันคือระดับความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่เกิดขึ้นในระบบ

เนื่องจากการทดลองแบบ 2-step ความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่วัดได้สูงถึง 57.33 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเติม ESM ความเข้มข้นของไซยาไนด์ลดลงมาที่ 35.39 และ 21.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลองตามลำดับ เนื่องจากมีการเติมอาหารอย่างต่อเนื่อง แบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้ปริมาณเล็กน้อย จึงยังสามารถพบไซยาไนด์อยู่ในระดับคงที่ประมาณ 12-15 มิลลิกรัมต่อลิตรจนกระทั่งถึงวันที่ 7 จากชุดการทดลองที่เติม ESM เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม ESM พบว่า ปริมาณไซยาไนด์แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย

การที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณมากขึ้นในการทดลองทำให้มีการเพิ่มขึ้นประชากรแบคทีเรียนอกจากนี้ยังส่งผลต่อปริมาณการสังเคราะห์ไซยาไนด์ด้วยเช่นกัน การที่มีสารอาหารหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลาในระหว่างการชะละลายจะส่งผลให้แบคทีเรียสามารถแบ่งตัวได้อย่างต่อเนื่อง เพราะถ้าหากปล่อยให้แบคทีเรียเข้าสู่ช่วงหลังของระยะ stationary phase หรือ death phase จะไม่มีไซยาไนด์ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาได้ มีเพียงไซยาไนด์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาในช่วงแรก และหลังจากจะถูกบริโภคและทำปฏิกิริยาไปจนหมดในที่สุด ทั้งนี้ถึงแม้ระดับไซยาไนด์ที่ได้จากการทดลองเติมอาหารอย่างต่อเนื่องจะไม่ได้เพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการไซยาไนด์ทำปฏิกิริยาจับกับโลหะอยู่ตลอดเวลา และในขณะเดียวกันการดึงไปใช้โดยแบคทีเรียและการระเหยยังคงส่งผลต่อการลดลงของไซยาไนด์ด้วยเช่นกัน ฉะนั้นถึงแม้ความเข้มข้นที่เหลืออยู่ของไซยาไนด์ในช่วงหลังของการทดลองจะไม่ได้สูงมาก แต่การที่สามารถรักษาระดับการคงที่โดยไม่ทำให้ไซยาไนด์หมดไปจากระบบ ถือเป็นแนวทางที่สามารถนำไปประยุกต์ต่อให้เกิดประสิทธิภาพของการชะละลายโลหะให้มากยิ่งขึ้นได้



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงจำนวน *Chromobacterium violaceum* ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก Treated ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน และเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความเข้มข้นของไซยาไนด์ในระหว่างการชะละลายโลหะจาก Treated ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน และเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง

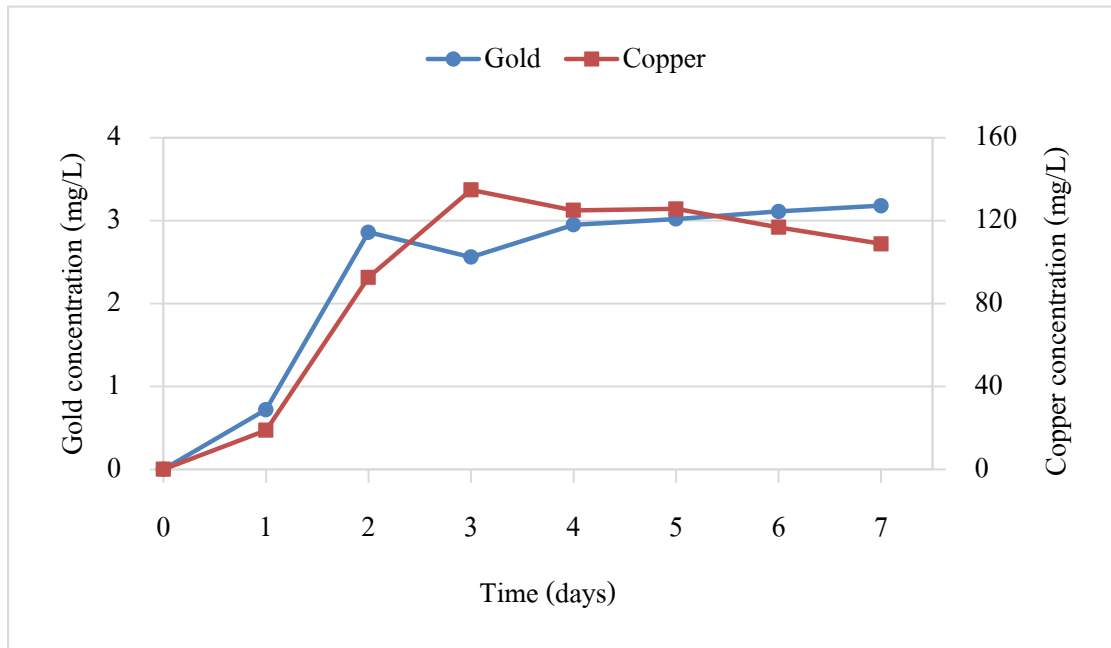
4.5.3 ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนโลหะโดยแบคทีเรีย

หลังจากวิเคราะห์ความเข้มข้นของทองแดงและทองคำที่ถูกชะละลายด้วยวิธี ICP เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเมื่อสิ้นการทดลองมีความเข้มข้นของทองคำ 3.18 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำ 30.28% และความเข้มข้นของทองแดง 108.8 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดง 59.29% ดังแสดงในรูปที่ 4.10

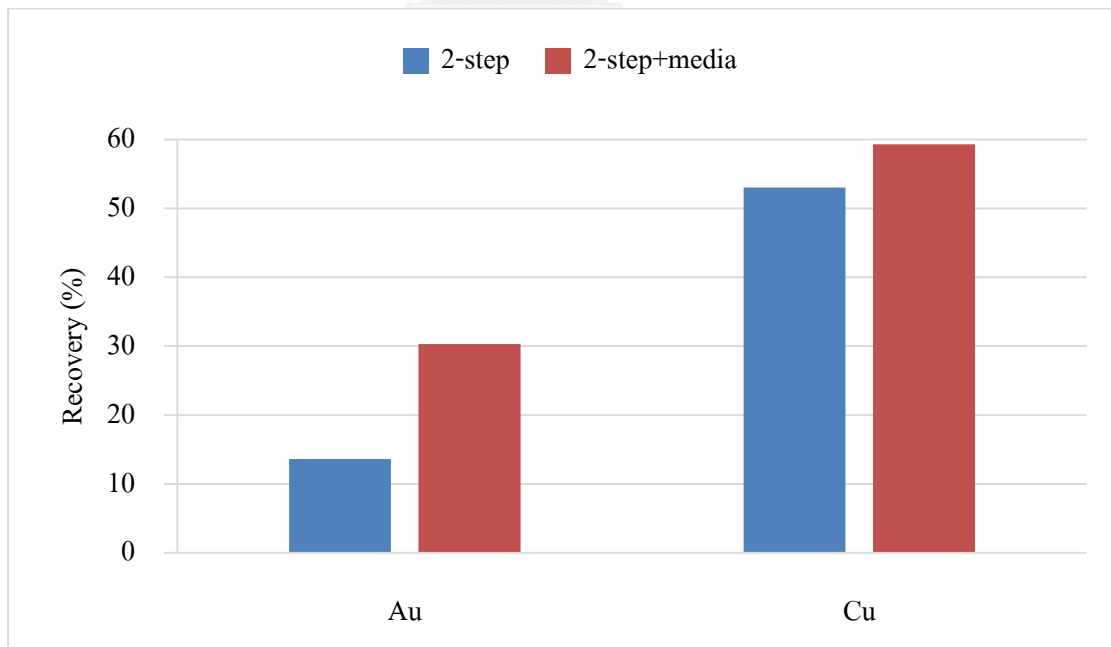
ทองแดงและทองคำถูกชะละลายออกมาภายใน 3 วันแรกของการทดลอง เนื่องจากก่อนหน้านี้เป็นช่วงที่มีปริมาณไซยาไนด์สังเคราะห์ออกมามากที่สุด จากนั้นระดับความเข้มข้นของโลหะทองแดงและทองคำคงที่จนกระทั่งวันสุดท้ายของการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนโลหะทองคำและทองแดงจากการทดลองแบบการชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบที่มีการเติมอาหารและแบบที่ไม่มีการเติมอาหารในรูปที่ 4.10 พบว่าการเก็บกลับคืนทองแดงให้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำมีผลการทดลองที่ดีขึ้นอย่างชัดเจน โดยเดิมที่ไม่เติมอาหาร เก็บกลับคืนทองคำได้ 13.62 % หลังจากมีการเติมอาหารสามารถเก็บกลับคืนได้สูงถึง 30.28%

ทองแดงในตัวอย่าง Treated ESM นั้นมีปริมาณน้อยเนื่องจากผ่านการย่อยด้วยกรดไนตริกเข้มข้น ทำให้ทองคำมีโอกาสในการทำปฏิกิริยาจับเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไซยาไนด์ได้มากยิ่งขึ้น เมื่อเทียบกับตัวอย่าง Untreated ESM ที่มีทองแดงอยู่มากเกินไป จึงจับกับไซยาไนด์ที่มีอยู่อย่างจำกัดได้รวดเร็วกว่าทองคำ



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงการเก็บกลับคืนทองแดงและทองคำจาก Treated ESM ด้วยวิธีการชะละลาย 2 ขั้นตอน และเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง



รูปที่ 4.11 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองแดงและทองคำ โดยการชะละลาย 2 ขั้นตอน และการชะละลาย 2 ขั้นตอน ที่มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่อง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษา 3 ปัจจัยสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำจาก ESM โดยการใช้วิธีชะละลายด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Chromobacterium violaceum* จากผลการทดลองในทุกขั้นตอนสามารถสรุปได้ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 การลดปริมาณทองแดง เนื่องจากมีทองแดงในสัดส่วนที่มากเกินไป ส่งผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ไซยาไนด์ นอกจากนี้ทองแดงยังสามารถทำปฏิกิริยากับไซยาไนด์ได้เช่นกัน ทำให้ไซยาไนด์ที่ผลิตได้ไม่เพียงพอต่อการชะละลายทองคำ จากรูปที่ 4.7 แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า หากมีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสม กำจัดมลทินที่ไม่เกี่ยวข้องและลดปริมาณโลหะอื่นโดยเฉพาะทองแดงให้น้อยลงมากที่สุด จะส่งผลต่อการเพิ่มการชะละลายทองคำด้วยแบคทีเรีย ปริมาณทองแดงที่มีในตัวอย่าง Treated ESM นั้นน้อยลง เนื่องจากผ่านการย่อยด้วยกรดไนตริกเข้มข้น ทำให้ทองคำมีโอกาสในการทำปฏิกิริยาจับเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไซยาไนด์ได้มากยิ่งขึ้น เมื่อเทียบกับตัวอย่าง Untreated ESM ที่มีทองแดงอยู่มากเกินไป จึงจับกับไซยาไนด์ที่มีอยู่อย่างจำกัดได้รวดเร็วกว่าทองคำ

ปัจจัยที่ 2 เวลาในการเติมตัวอย่าง เป็นปัจจัยที่ส่งผลกับการชะละลาย โดยเฉพาะในกรณีที่ตัวอย่างมีส่วนประกอบที่อาจยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ประสิทธิภาพของการชะละลายทองคำนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณไซยาไนด์ที่ถูกสังเคราะห์โดยแบคทีเรีย *Chromobacterium violaceum* สามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้มากที่สุดคือ 62.65 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปราศจาก ESM เพื่อให้แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้เต็มที่ ซึ่งการสังเคราะห์ไซยาไนด์จะเกิดขึ้นภายใน 12-24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงเท่านั้น หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วจากหลายสาเหตุ อาทิเช่น การระเหยตามธรรมชาติในระหว่างการทดลองเนื่องจากทำบนเครื่องเขย่า การบริโภคโดยแบคทีเรียเอง การทำปฏิกิริยากับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน โดยเฉพาะกับทองแดง ดังนั้นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการเติมตัวอย่างคือ หลังจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง โดยเมื่อทดสอบความแตกต่างของเวลาในการเติม ESM การชะละลาย 2 ขั้นตอนมีประสิทธิภาพในการเก็บกลับคืนทองคำได้มากกว่าการชะละลาย 1 ขั้นตอนอย่างมีนัยสำคัญ

ปัจจัยที่ 3 การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มเติมเพื่อให้มีการเจริญและสังเคราะห์ไซยาไนด์โดยแบคทีเรียได้อย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถเก็บกลับคืนทองคำได้มากขึ้น จำเป็นต้องทำให้ปริมาณไซยาไนด์ในระบบนั้นคงที่อย่างต่อเนื่อง จากการทดลองเติมอาหารลงไปในช่วงชะละลาย ทำให้มี

จำนวนแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น และไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ในระหว่างการทดลองเพิ่มขึ้นด้วยเล็กน้อย และอยู่ในสถานะที่คงที่ สมมุติฐานว่าอัตราการสังเคราะห์ขึ้นใหม่และการถูกใช้ไปของไซยาไนด์อาจอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการชะละลายทองคำพบว่า การทดลองแบบเติมอาหารมีประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำได้สูงสุดคือ 30.28%

เนื่องจากตัวอย่าง ESM ในงานวิจัยนี้มีปริมาณทองคำเริ่มต้นสูงมาก (0.22%) เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของไซยาไนด์จากแบคทีเรียที่มีเพียง 60 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น ทำให้ประสิทธิภาพในการชะละลายทองคำมีข้อจำกัด แต่ในงานวิจัยนี้สามารถชะละลายทองคำออกมาได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น 3.18 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่สูงมากเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่สามารถชะละลายทองคำออกมาได้เพียงประมาณ 1-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น โดยทั่วไปการชะละลายด้วยแบคทีเรียเหมาะกับการเก็บกลับคืนโลหะมีค่าจากตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของโลหะมีค่าน้อยมาก เนื่องจากความไม่คุ้มทุนการใช้สารเคมีที่มากเกินไปนั่นเอง

โดยสรุปงานวิจัยนี้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บกลับคืนทองคำจากขยะอิเล็กทรอนิกส์ด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Chromobacterium violaceum* ได้ด้วย 3 ปัจจัยคือ

- 1) การลดปริมาณทองแดงในตัวอย่าง ESM
- 2) การชะละลายด้วยวิธีแบบ 2 ขั้นตอน โดยเลือกเติมตัวอย่างภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากแบคทีเรียมีการเจริญเติบโต และสุดท้าย
- 3) การเติมอาหารเพิ่มอย่างต่อเนื่องระหว่างการชะละลาย นอกจากแบคทีเรียจะสามารถชะละลายทองคำออกมาได้จริงแล้ว

นอกจากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นแล้ว การชะละลายโลหะด้วยแบคทีเรียนั้นยังเป็นวิธีที่สามารถกำจัดไซยาไนด์ได้ด้วยตัวเอง เพราะเมื่อสิ้นสุดกระบวนการพบว่าไม่มีไซยาไนด์เหลืออยู่น้อยมาก เนื่องจากสามารถระเหยได้เอง เป็นวิธีที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและใช้ต้นทุนน้อย อีกทั้งยังสามารถนำไปพัฒนาใช้กับการเก็บกลับคืนโลหะอื่นได้ เช่น ทองแดง เงิน สังกะสี นิกเกิล ยูเรเนียม โคบอลต์ เป็นต้น

5.2 ข้อเสนอแนะงานวิจัย

- 1) ในงานวิจัยนี้มีความหนาแน่นของตัวอย่างในการชะละลายเพียง 0.5 % โดยน้ำหนัก อาจมีการเพิ่มความหนาแน่นของตัวอย่างโดยใช้ตัวอย่างที่เป็น Treated ESM

2) ทองคำที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์นั้นใช้วิธีการเคลือบบนผิววัสดุ ดังนั้นการบดละเอียดตัวอย่างจึงอาจไม่มีความจำเป็น มีความเป็นไปได้ในการชะละลายโลหะทองคำจากตัวอย่างทั้งชิ้นหรือตัวอย่างที่ถูกตัดเป็นชิ้นส่วนขนาดเล็ก

3) ในระหว่างการทดลองควรวัดค่าพีเอชอย่างสม่ำเสมอ เพราะพีเอชมีผลต่อการระเหยของ HCN และยังเป็นพิษต่อแบคทีเรียอีกด้วย ทั้งนี้ควรปรับเทียบเครื่องมืออยู่เสมอ เพื่อให้มีความแม่นยำมากที่สุด โดยค่าพีเอชไม่ควรต่ำกว่า 9

4) ในงานวิจัยนี้ควบคุมการทดลองที่ pH 9 ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าค่า pKa ของ HCN ที่ 9.31 ส่งผลให้ปริมาณ CN⁻ ในสารละลายน้อยลงเนื่องจากการเปลี่ยนรูปเป็น HCN ที่ระเหยได้

5) นอกจาก *Chromobacterium. violaceum* แล้ว ยังมีแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆที่สามารถสังเคราะห์ไซยาไนด์ได้ อีกทั้งอาจมีการประยุกต์ใช้งานร่วมกันของกลุ่มจุลินทรีย์ตั้งแต่ 2 สายพันธุ์ขึ้นไป (consortium)

6) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของไซยาไนด์นั้นมีหลายวิธี และทุกวิธีมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้สารเคมีราคาแพง และแต่ละวิธีอาจให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากไซยาไนด์มีหลายประเภท ซึ่งสมบัติทางเคมีแตกต่างกันไป โดยความเข้มข้นของไซยาไนด์ในงานวิจัยนี้ใช้การวัดด้วยวิธีไตเตรท

7) ในการเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ไซยาไนด์และเพิ่มประชากรแบคทีเรีย นอกจากการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าไปเพียงอย่างเดียว อาจศึกษาเพิ่มเติมโดยการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซยาไนด์และแบคทีเรียเจริญอยู่แทนการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว

8) เนื่องจากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียมีลักษณะการทดลองแบบเฉพาะทาง ผู้วิจัยจึงควรศึกษาเทคนิคต่างๆที่เกี่ยวข้องและฝึกฝนก่อนทำการทดลองจริง เพื่อป้องกันการปนเปื้อน (contamination) ทั้งป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจากสิ่งแวดล้อมสู่ตนเอง และป้องกันการแพร่กระจายเชื้อไปสู่ผู้อื่นและบริเวณโดยรอบด้วยเช่นกัน

รายการอ้างอิง

- Analytical Instrumentation. from <http://bohr.winthrop.edu/instr.html>
- Bacterial Growth & Growth Conditions. from <http://classroom.sdmesa.edu/eschmid/Lecture4-Microbio.htm>
- Buchanan, R. a. (1975). *Bergey's manual of determinative* (8th ed.).
- Caldwell, D. (1995). *Microbial Physiology and Metabolism. USA: Wm, C. Brown Communications, Inc, 255-264.*
- Goosey, M. a. (2002). A Scoping Study: End- of- Life Printed Circuit Boards. Retrieved August, 2008, from <http://www.intellectuk.org/content/view/775/84/#PCBs>
- Harris, R. a. (1983). The conversion of cyanide to ammonia by extracts of a strain of *Pseudomonas fluorescens* that utilizes cyanide as a source of nitrogen for growth. *FEMS Microbiology Letters, 20, 337-341.*
- Hoffmann, J. (1992). Recovering precious metals from electronic scrap. 43–48.
- Jirang Cui, L. Z. (2008). Metallurgical recovery of metals from electronic waste: A review. *Journal of Hazardous material.*
- Ke, L., An, K. P., Heng, S., Riley, M., Sona, S., Moore, C. E., . . . Chanpheaktra., N. (2012). Paediatric *Chromobacterium violaceum* in Cambodia: the first documented case. *SAGE.*
- Kita, Y. N. (2006). Effects of cyanide and dissolved oxygen concentration on biological Au recovery. *Journal of Biotechnology, 124, 545-551.*
- Knowles, C. (1976). Microorganisms and cyanide. *Bacteriol Rev, 40(3), 652- 680.*
- The London Bullion Market Association (LBMA). from <http://www.thebulliondesk.com>
- Manzl, C., Enrich, J., Ebner, H., Dallinger, R., & Krumschnabel, G. (2004). Copper-induced formation of reactive oxygen species causes cell death and disruption of calcium homeostasis in trout hepatocytes. *Toxicology 196, 57–64.*
- METHODOLOGICAL INSTRUCTIONS TO LESSON. from http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/micbio/classes_stud/en/med/lik/ptn/Microbiology.%20virology%20and%20immunology/2/03_Media%20for%20cultivation%20of%20%20bacteria.htm
- Patko., T. (2000). New Approach to Solving Difficult pH & Ion Measurements for Ore Extraction Processes. from <http://www.infomine.com/suppliers/supplymine-news/Feb9-2000.html>
- Rodgers, P. (1978). Cyanide production and degradation during growth of *Chromobacterium violaceum*. *J. Gen. Microbiol, 108, 261–267.*

Rollinson, G. J. (1987). The growth of a cyanide-utilising strain of *Pseudomonas fluorescens* in liquid culture on nickel cyanide as a source of nitrogen. *FEMS Microbiology Letters*, 40, 199-205.

Terazono, A. M. (2006). Current status and research on E-waste issues in Asia. *J. Mater. Cycles Waste Mana*, 8, 1-12.

Todar., K. Nutrition and Growth of Bacteria. from
http://textbookofbacteriology.net/nutgro_5.html





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Luria Bertani (LB)

Luria bertani สำเร็จรูปชนิดผง	8.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย LB ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl จนได้ประมาณ 6.8 -7 ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทอาหารใส่ขวดปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี ปิดทับด้วยกระดาษอีกครึ่ง นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (LB)

Luria bertani สำเร็จรูปชนิดผง	25.0 กรัม
ผงวุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย LB ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl จนได้ประมาณ 6.8 -7 ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร นำไปผสมวุ้น ต้มจนละลาย เทอาหารใส่ขวดปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี ปิดทับด้วยกระดาษอีกครึ่ง นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Nutrient Broth (NB)

Peptone	5.0 กรัม
Yeast extract	3.0 กรัม
NaCl	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย Nutrient broth ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl จนได้ประมาณ 6.8 -7 ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทอาหารใส่ขวดปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี ปิดทับด้วยกระดาษอีกชั้น นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Nutrient Agar (NA)

Peptone	5.0 กรัม
Yeast extract	3.0 กรัม
NaCl	5.0 กรัม
ผงวุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย Nutrient broth ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl จนได้ประมาณ 6.8 -7 ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร นำไปผสมวุ้นต้มจนละลาย เทอาหารใส่ขวดปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี ปิดทับด้วยกระดาษอีกชั้น นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

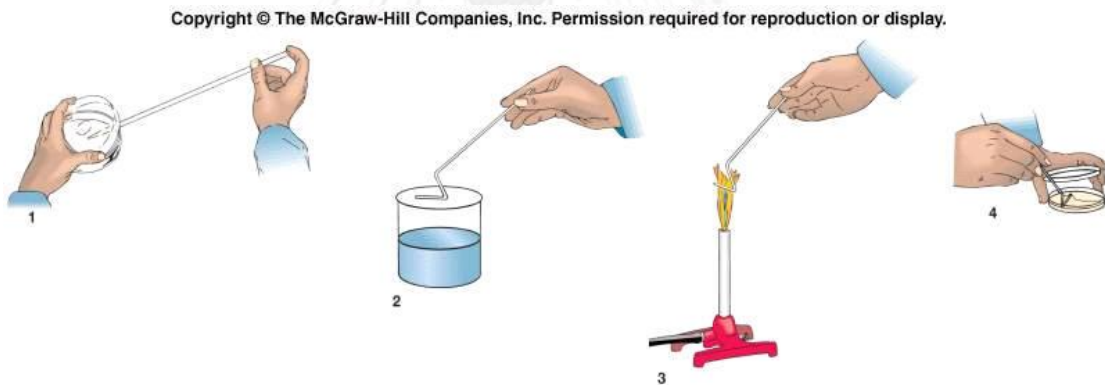
ภาคผนวก ข

เทคนิคและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่ทำเพื่อการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ที่เรียกว่า Pure Culture ซึ่งหมายถึงกลุ่มของแบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการ หรืออาจทำเพื่อการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรีย การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียสามารถทำได้ หลายวิธีดังนี้

การแยกเชื้อเป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการทำให้เชื้อกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Spread Plate)

ทำได้โดยการใช้แท่งแก้วที่ทำกรฆ่าเชื้อด้วยวิธีเผาไฟแล้วเกลี่ยเชื้อที่ทำเป็นสารละลายไว้ในใส่ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นการทำให้เซลล์แยกออกจากกันหลังจากนำไปปรมเชื้อจะแยกเป็นโคโลนีเดี่ยววิธีการนี้ส่วนใหญ่เป็นวิธีการทำให้เชื้อแยกเป็นโคโลนีที่บริสุทธิ์เพื่อการนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียการทำ spread plate การเกลี่ยเชื้ออาจใช้วิธีหมุนเกลี่ยเชื้อบนพื้นหรือใช้เครื่องมือในการหมุนเพลท (petri dish turnable)

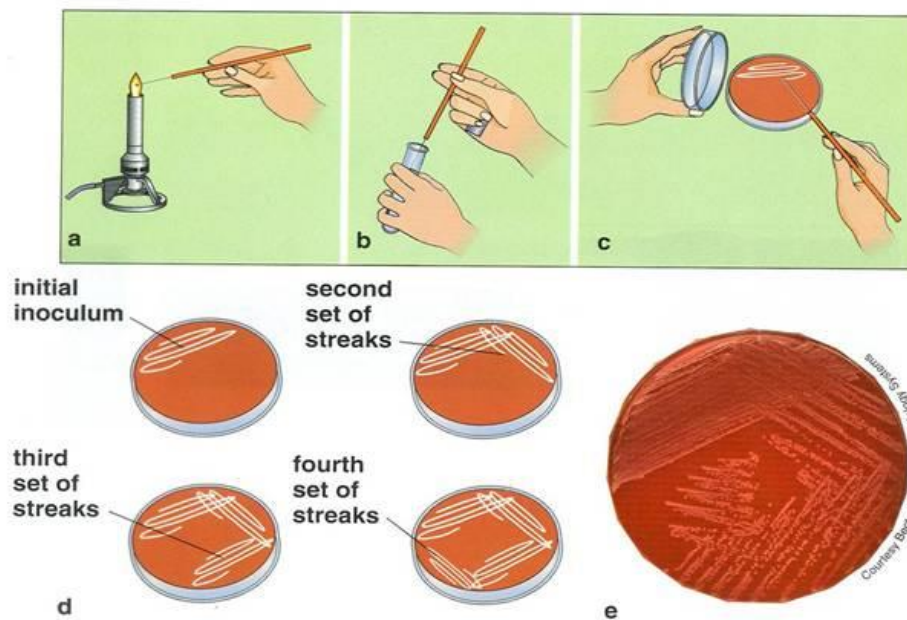


รูปที่ ข.1 การแยกเชื้อเป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการทำให้เชื้อกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Spread Plate)

("Bacterial Growth & Growth Conditions,")

การแยกเชื้อเป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการขีดเชื้อในงานเพาะเชื้อ (Streak Plate)

การขีดเชื้อในงานเพาะเชื้อคือการทำให้เชื้อที่มีปริมาณมากค่อยๆกระจายออกจนแยกเป็นโคโลนีเดี่ยวๆซึ่งแต่ละโคโลนีจะเจริญมาจากเซลล์เดียว จึงถือเป็นเชื้อที่บริสุทธิ์โดยใช้วิธีการในการขีดเชื้อแบบ Four - way cross Streak ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (Loop) เผาไฟแล้วรอให้เย็นแล้วแตะเชื้อมาขีดบนอาหารแข็ง (Solid Media) ตามแนวตั้งรูปโดยในการขีดทุกแนวควรเปลี่ยน Loop ที่ใช้หรือมีการเผาไฟทุกครั้งเพื่อฆ่าเชื้อที่มากเกินไปเชื้อจะหนาแน่นมากที่สุดที่รอยขีดแรกแล้วค่อยๆหนาแน่นน้อยลงในรอยขีดถัดไปจนแต่ละเซลล์ออกจากกันได้หลังจากที่นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมกับแบคทีเรียแต่ละเซลล์นั้นจะแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว



รูปที่ ข.2 การแยกเชื้อเป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการขีดเชื้อในงานเพาะเชื้อ (Streak Plate)

("METHODOLOGICAL INSTRUCTIONS TO LESSON,")

Inductively Couple Plasma - Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

เป็นเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ ทดสอบ เชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพ ของธาตุต่างๆซึ่งใช้งาน ได้หลากหลายและได้ทีละหลายธาตุ เทคนิคนี้แยกเป็น 2 ส่วนหลักๆ คือ Inductively Couple Plasma (ICP) เป็นเทคนิคที่ใช้ผลิตพลาสมาที่ให้อุณหภูมิสูง ด้วยการปล่อยแก๊สอาร์กอนผ่านเข้าไปใน คบ (torch) ที่ปลายคบจะมีท่อกลางทำด้วยทองแดงล้อมรอบคบซึ่งต่อกับเครื่องส่งความถี่วิทยุ เมื่อให้ ความถี่วิทยุ (RF generator) ปล่อยเข้าไปจะทำให้เกิดสนามแม่เหล็กที่ปลายคบแล้วชักนำให้มี กระแสไฟฟ้า จากนั้นทำให้เกิดการสปาร์คด้วยเทสลาเพื่อให้เกิดอิเล็กตรอนจากอาร์กอนที่มีพลังงาน สูง และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงนี้จะชนกับอิเล็กตรอนอื่นต่อไปอีกกลายเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ กลายเป็นพลาสมา Optical Emission Spectrometer เป็นวิธีการวิเคราะห์โดยอาศัยหลักการทำให้ สารเปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้นเพื่อให้สารที่จะวิเคราะห์นั้นเปล่งแสงหรือ สเปกตรัมออกมา ซึ่งจะอยู่ในช่วงของยูวี-วิสิเบิล มีลักษณะเฉพาะตัว และวัดความเข้มของแสงนั้น



รูปที่ ข.3 Inductively Couple Plasma - Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)
("Analytical Instrumentation,")

ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบ

1) จำนวนแบคทีเรีย

ตารางที่ ค.1 จำนวนประชากรแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB

เวลา (ชั่วโมงที่)	จำนวนประชากรแบคทีเรีย (CFU/ml)	pH
0	4.17×10^6	8.98
2	5.12×10^6	9.01
4	3.57×10^7	8.99
6	9.46×10^9	8.90
8	3.40×10^{11}	8.96
10	4.56×10^{11}	8.94
12	4.74×10^{11}	9.02
14	4.53×10^{11}	9.04
16	4.75×10^{11}	9.10
18	3.37×10^{11}	9.02
20	1.92×10^{10}	9.00
22	9.22×10^9	9.12
24	8.27×10^9	9.05

ตารางที่ ค.2 จำนวนประชากรแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ที่มีการเติมอาหารต่อเนื่อง

เวลา (วันที่)	จำนวนประชากรแบคทีเรีย (CFU/ml)	pH
0	7.33×10^5	8.93
1	4.23×10^{10}	9.02
2	5.43×10^{10}	9.01
3	1.27×10^{10}	9.04
4	2.56×10^8	9.00
5	2.02×10^8	9.03
6	8.54×10^7	9.05
7	8.44×10^7	8.90

ตารางที่ ค.3 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(ชุดควบคุม)

	ระยะเวลาในการทดลอง (วันที่)	จำนวนแบคทีเรีย (CFU/ml)
None ESM	0	3.65×10^5
	1	6.58×10^{10}
	2	5.34×10^{10}
	3	1.27×10^{10}
	4	1.44×10^8
	5	1.84×10^7
	6	8.23×10^7
	7	4.13×10^7

ตารางที่ ค.4 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 1 ขั้นตอน)

	ระยะเวลาในการทดลอง (วันที่)	จำนวนแบคทีเรีย (CFU/ml)
Untreated ESM	0	4.15×10^5
	1	4.54×10^6
	2	3.87×10^6
	3	3.42×10^6
	4	2.64×10^5
	5	2.14×10^5
	6	1.98×10^5
	7	8.08×10^3
Treated ESM	0	2.65×10^5
	1	7.65×10^6
	2	6.58×10^6
	3	3.37×10^6
	4	4.23×10^4
	5	3.24×10^4
	6	7.82×10^3
	7	7.31×10^3

ตารางที่ ค.5 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน)

	ระยะเวลาในการทดลอง (วันที่)	จำนวนแบคทีเรีย (CFU/ml)
Untreated ESM	0	7.05×10^5
	1	4.60×10^8
	2	3.46×10^4
	3	2.64×10^4
	4	2.38×10^4
	5	8.79×10^3
	6	2.75×10^3
	7	1.47×10^3
Treated ESM	0	1.57×10^6
	1	9.30×10^{10}
	2	5.59×10^8
	3	2.19×10^7
	4	6.54×10^6
	5	7.83×10^4
	6	1.21×10^4
	7	8.79×10^3

ตารางที่ ค.6 จำนวนประชากรแบคทีเรียในระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง)

เวลา (วันที่)	จำนวนประชากรแบคทีเรีย (CFU/ml)	pH
0	4.23×10^5	9.00
1	1.87×10^9	9.03
2	5.63×10^9	9.11
3	3.89×10^8	9.07
4	4.19×10^8	9.02
5	8.76×10^7	9.04
6	4.34×10^5	8.98
7	5.25×10^5	9.08

2) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของไซยาไนด์

ตารางที่ ค.7 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ในอาหารเหลว

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณ AgNO_3 ที่ใช้ (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของไซยาไนด์ในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0	0.00	0.00
2	0.00	0.00
4	0.00	0.00
6	0.25	2.49
8	1.20	11.96
10	2.10	20.94
12	5.35	53.34
14	5.90	58.83
16	5.70	56.83
18	5.60	55.83
20	5.75	57.33
22	5.85	58.33
24	5.65	56.33

ตารางที่ ค.8 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(ชุดควบคุม)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	6.15	6.20	6.15	6.17	61.48
2	3.00	3.05	3.10	3.05	30.41
3	2.65	2.65	2.65	2.65	26.42
4	2.00	2.05	2.00	2.02	20.11
5	2.50	2.55	2.50	2.52	25.09
6	1.50	1.55	1.50	1.52	15.12
7	1.00	1.00	1.00	1.00	9.97

ตารางที่ ค.9 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 1 ขั้นตอน, Untreated ESM)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	1.80	1.85	1.85	1.83	18.28
2	1.20	1.20	1.20	1.20	11.96
3	0.60	0.55	0.60	0.58	5.82
4	0.50	0.55	0.50	0.52	5.15
5	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99
6	0.55	0.50	0.55	0.53	5.32
7	0.50	0.55	0.50	0.52	5.15

ตารางที่ ค.10 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 1 ขั้นตอน, Treated ESM)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	1.10	1.15	1.35	1.20	11.96
2	0.65	0.65	0.80	0.70	6.98
3	0.55	0.50	0.60	0.55	5.48
4	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99
5	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99
6	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99
7	0.50	0.40	0.30	0.40	3.99

ตารางที่ ค.11 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน, Untreated ESM)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	5.80	5.85	5.80	5.82	57.99
2	1.30	1.35	1.35	1.33	13.29
3	0.65	0.60	0.65	0.63	6.31
4	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99
5	0.45	0.45	0.50	0.47	4.65
6	0.50	0.45	0.50	0.48	4.82
7	0.45	0.45	0.50	0.47	4.65

ตารางที่ ค.12 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน, Treated ESM)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	5.50	5.70	5.60	5.60	55.83
2	2.55	2.50	2.60	2.55	25.42
3	0.90	0.90	0.90	0.90	8.97
4	0.55	0.50	0.55	0.53	5.32
5	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99
6	0.50	0.55	0.60	0.55	5.48
7	0.50	0.50	0.50	0.50	4.99

ตารางที่ ค.13 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง, ชุดควบคุม)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	6.30	6.20	6.35	6.28	62.65
2	3.65	3.50	3.50	3.55	35.39
3	2.10	2.20	2.10	2.13	21.27
4	2.00	2.05	2.00	2.02	20.11
5	2.50	2.55	2.50	2.52	25.09
6	2.25	2.20	2.25	2.23	22.27
7	2.00	2.10	2.00	2.03	20.27

ตารางที่ ค.14 ความเข้มข้นของไซยาไนด์ระหว่างการชะละลายโลหะจากขยะอิเล็กทรอนิกส์
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง)

เวลา (วันที่)	ปริมาณ AgNO ₃ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)				ความเข้มข้นไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	5.75	5.70	5.80	5.75	57.33
2	2.10	2.15	2.10	2.12	21.10
3	1.25	1.20	1.25	1.23	12.30
4	1.35	1.25	1.40	1.33	13.29
5	1.50	1.40	1.50	1.47	14.62
6	1.30	1.30	1.50	1.37	13.63
7	1.15	1.25	1.20	1.20	11.96

3) การวิเคราะห์ปริมาณโลหะ

ตารางที่ ค.15 ปริมาณโลหะในตัวอย่าง ESM

	ปริมาณโลหะในตัวอย่าง (%)	
	Au	Cu
Untreated ESM	0.22	33.6
Treated EMS	0.21	3.30

ตารางที่ ค.16 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย
(การชะละลาย 1 ขั้นตอน, Untreated ESM)

	ความเข้มข้นของโลหะในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืน (% Recovery)
	I	II	ค่าเฉลี่ย	
Au	0.11	0.16	0.135	1.23
Cu	225.74	262.44	244.09	14.53

ตารางที่ ค.17 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน Untreated ESM)

	ความเข้มข้นของโลหะในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืน (% Recovery)
	I	II	ค่าเฉลี่ย	
Au	0.16	0.15	0.155	1.41
Cu	262.44	189.54	225.99	13.45

ตารางที่ ค.18 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย
(การชะละลาย 1 ขั้นตอน, Treated ESM)

	ความเข้มข้นของโลหะในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืน (% Recovery)
	I	II	ค่าเฉลี่ย	
Au	0.16	0.18	0.17	1.62
Cu	110.02	112.9	111.46	60.74

ตารางที่ ค.19 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน, Treated ESM)

	ความเข้มข้นของโลหะในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืน (% Recovery)
	I	II	ค่าเฉลี่ย	
Au	1.48	1.38	1.43	13.62
Cu	98.39	96.19	97.29	53.02

ตารางที่ ค.20 ปริมาณโลหะเก็บกลับคืนในระหว่างการชะละลายด้วยแบคทีเรีย
(การชะละลาย 2 ขั้นตอน แบบเติมอาหารต่อเนื่อง)

วันที่	ความเข้มข้นโลหะในสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ประสิทธิภาพการเก็บกลับคืน (% Recovery)	
	Au	Cu	Au	Cu
0	0	0	0	0
1	0.72	18.87	6.86	10.28
2	2.86	92.62	27.24	50.47
3	2.56	134.9	24.38	73.51
4	2.95	124.99	28.09	68.11
5	3.02	125.69	28.76	68.50
6	3.11	116.8	29.62	63.65
7	3.18	108.8	30.28	59.29

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวจารุรัตน์ แดงทน เกิดวันที่ 10 สิงหาคม พ.ศ. 2530 สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนเพาะปัญญา จังหวัดกรุงเทพมหานคร ระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนสตรีวัดมหาพฤฒารามในพระบรมราชินูปถัมภ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร และระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิตสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2552

ปัจจุบันได้เข้าศึกษาในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมทรัพยากรธรณี ภาควิชาเหมืองแร่และปิโตรเลียม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Email address: jarurim@gmail.com



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY