

NGUYỄN THỊ SƠN – TRẦN LỆ MINH

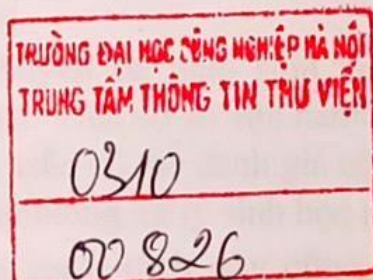
TÀI LIỆU HƯỚNG DẪN THÍ NGHIỆM VI - HOÁ SINH ỨNG DỤNG TRONG CÔNG NGHỆ MÔI TRƯỜNG



NHÀ XUẤT BẢN BÁCH KHOA - HÀ NỘI

PGS. TS NGUYỄN THỊ SƠN - THS. TRẦN LỆ MINH

TÀI LIỆU THÍ NGHIỆM
VI - HÓA SINH ỨNG DỤNG
TRONG CÔNG NGHỆ MÔI TRƯỜNG



NHÀ XUẤT BẢN BÁCH KHOA - HÀ NỘI

LỜI MỞ ĐẦU

“Tài liệu thí nghiệm Vi - Hóa sinh ứng dụng trong công nghệ môi trường” được biên soạn phù hợp với nội dung môn học tương ứng trong chương trình khung được Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua cho ngành Kỹ thuật môi trường. Tài liệu được sử dụng trong hướng dẫn thực hành cho sinh viên đại học và học viên cao học ngành kỹ thuật môi trường.

1. Tài liệu được biên soạn gồm 4 phần cơ bản
2. Thí nghiệm Hóa sinh ứng dụng trong công nghệ môi trường
3. Thí nghiệm Vi sinh ứng dụng trong công nghệ môi trường
4. Thí nghiệm chuyên đề Xử lý sinh học nước thải

Phụ lục giới thiệu một số dụng cụ, thiết bị cần thiết phục vụ cho các thí nghiệm trên (hiện có tại Viện Khoa học và công nghệ môi trường – Trường Đại học Bách khoa Hà Nội).

Nội dung tài liệu được viết nhằm củng cố phần lý thuyết của hai môn học:

- Hóa sinh ứng dụng trong công nghệ môi trường
- Vi sinh ứng dụng trong công nghệ môi trường đồng thời cung cấp cho sinh viên một số kỹ năng thực hành trong nghiên cứu về vi sinh vật cũng như phương pháp phân tích một số chỉ tiêu sinh học quan trọng trong xử lý và đánh giá chất lượng môi trường.

Phần thí nghiệm chuyên đề giúp sinh viên bước đầu làm quen với các phương pháp xử lý sinh học. Trên cơ sở vận hành, phân tích và tính toán các thông số kỹ thuật thu được, sinh viên có thể đánh giá cũng như xử lý các sự cố phát sinh trong quá trình vận hành hệ thống xử lý sinh học nước thải.

Chúng tôi hy vọng cuốn sách này cũng có thể dùng làm tài liệu tham khảo bổ ích cho công tác đào tạo và nghiên cứu trong lĩnh vực công nghệ sinh học môi trường cũng như cho các cán bộ kỹ thuật các ngành liên quan.

Do được biên soạn lần đầu, cuốn tài liệu không tránh khỏi còn những thiếu sót. Chúng tôi rất mong nhận được ý kiến đóng góp của bạn đọc và đồng nghiệp để bổ sung và chỉnh sửa khi tài liệu được tái bản.

Các tác giả

MỤC LỤC

Lời mở đầu	2
PHẦN I. HÓA SINH ỨNG DỤNG TRONG CÔNG NGHỆ MÔI TRƯỜNG	4
I.1. NUÔI CÂY VI SINH VẬT THU CHẾ PHẨM ENZYM VÀ XÁC ĐỊNH HOẠT LỰC ENZYM TỪ VI SINH VẬT	4
I.1.1. Đặc trưng và một số Enzym được ứng dụng trong công nghệ môi trường	4
I.1.2. Phương pháp nuôi cấy thu chế phẩm Enzym	7
I. 1.3. Xác định hoạt lực Enzym	12
I.2. ĐỊNH LƯỢNG ĐƯỜNG KHỦ THEO LUFF – SCHOOL CẢI TIẾN	19
I.3. ĐỊNH LƯỢNG NITƠ AMIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP LOWRY	20
I.4. ĐỊNH LƯỢNG TỔNG NITƠ BẰNG PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL	22
I.4.1. Nguyên tắc định lượng và các yêu cầu	23
I.4.2. Các bước tiến hành	23
I.5. ĐỊNH LƯỢNG TỔNG PHOTPHO BẰNG PHƯƠNG PHÁP TRẮC QUANG	26
I. 5.1. Nguyên tắc và yêu cầu lấy mẫu	26
I.5.2. Hóa chất và thiết bị	27
I.5.3. Các bước tiến hành	28
I.6. ĐỊNH LƯỢNG LIPIT BẰNG SOXHLET	30
I.6.1. Nguyên tắc	31
I.6.2. Hóa chất và thiết bị	31
I.6.3. Các bước tiến hành	32
PHẦN II .VI SINH ỨNG DỤNG TRONG CÔNG NGHỆ MÔI TRƯỜNG	34
II.1. PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT	34
II.1.1. Môi trường dinh dưỡng	34
II.1.2. Phân lập vi sinh vật	42
II.1.3. Gieo cấy và quan sát sự phát triển của vi sinh vật	46
II.1.4. Định lượng vi sinh vật	47
II.2. QUAN SÁT HÌNH THÁI VÀ SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT	56
II.2.1. Làm tiêu bản và nhuộm màu vi sinh vật	56
II.2.2. Quan sát hình thái của vi sinh vật	61

II.3. PHÂN TÍCH COLIFORM VÀ ĐỊNH LƯỢNG E. Coli TRONG NƯỚC THẢI	77
II.3.1. Phân tích Coliform bằng phương pháp nhiều ống với bảng chỉ số MPN	78
II.3.2. Định lượng E. coli	80
II.4. XÁC ĐỊNH NHU CẦU OXY SINH HÓA CỦA NƯỚC	107
II.4.1. Khái niệm BOD ₅ và nguyên tắc xác định	107
II.4.2. Định lượng BOD ₅ bằng phương pháp pha loãng (TCVN 6001-1995)	107
II.4.3. Xác định nhu cầu oxy hóa sinh hóa bằng thiết bị Oxitop	109
PHẦN III THÍ NGHIỆM XỬ LÝ NƯỚC THẢI BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC	113
III.1. XỬ LÝ NƯỚC THẢI BẰNG BÙN HOẠT TÍNH	113
III.1.1. Nguyên lý và tác nhân sinh học trong xử lý nước thải bằng bùn hoạt tính	114
III.1.2. Phần thực nghiệm	116
III.1.3. Phân tích và đánh giá kết quả	118
III.2. XỬ LÝ NƯỚC THẢI BẰNG THIẾT BỊ UASB THU BIOGAS	124
III.2.1. Nguyên tắc của quá trình phân giải yếm khí tạo khí metan	124
III.2.2. Phần thực nghiệm	126
III.2.3. Phân tích và đánh giá kết quả	128
III.2.4. Đánh giá kết quả	131
PHẦN IV - PHỤ LỤC	133
IV.1. Một số thiết bị sử dụng trong thí nghiệm Hóa sinh ứng dụng trong môi trường	133
VI.2. Một số dụng cụ, thiết bị sử dụng trong thí nghiệm Vi sinh ứng dụng trong công nghệ môi trường	135
IV.3. Thiết bị sử dụng trong thí nghiệm chuyên đề Xử lý nước thải bằng phương pháp sinh học	137
TÀI LIỆU THAM KHẢO	140

PHẦN I

HÓA SINH ỨNG DỤNG TRONG CÔNG NGHỆ MÔI TRƯỜNG

I.1. NUÔI CẤY VI SINH VẬT THU CHẾ PHẨM ENZYM VÀ XÁC ĐỊNH HOẠT LỰC ENZYM TỪ VI SINH VẬT

Tế bào vi sinh vật tuy nhỏ bé nhưng trao đổi chất không ngừng. Sự sống của vi sinh vật được đặc trưng bởi hàng loạt các phản ứng chuyển hoá vật chất, trong đó có những phản ứng thực tế không xảy ra trong ống nghiệm ở điều kiện bình thường nhưng trong tế bào vi sinh vật các phản ứng này xảy ra với tốc độ nhanh gấp hàng triệu lần nhờ những chất xúc tác đặc biệt: chất xúc tác sinh học hay còn gọi là Enzym.

I.1.1. Đặc trưng và một số Enzym được ứng dụng trong công nghệ môi trường

1/ Những đặc trưng của Enzym từ vi sinh vật

Hệ Enzym của vi sinh vật rất đa dạng, phong phú. Từ vi sinh vật có thể thu nhiều Enzym khác nhau, trong đó có những Enzym chỉ có ở vi sinh vật như zenlulaza, razemaza...

- Enzym từ vi sinh vật có hoạt lực cao hơn các Enzym tương tự ở động vật và thực vật.

- Vi sinh vật nhạy cảm với môi trường nên khi thay đổi điều kiện sống hoặc tác động bằng các yếu tố khác nhau, có thể thay đổi hệ Enzym và hoạt lực Enzym của chúng. Nhờ vậy có thể tạo được các Enzym theo yêu cầu với hoạt lực cao.

- So với các sinh vật khác, vi sinh vật phát triển nhanh hơn, tuy kích thước nhỏ nhưng hiệu suất sinh tổng hợp Enzym và tỷ lệ Enzym trong tế bào tương đối lớn nên hiệu suất thu hồi Enzym cao, quy trình sản xuất đơn giản.

- Nguyên liệu sử dụng nuôi cấy vi sinh vật để thu Enzym rất rẻ tiền, dễ kiếm, thường là các loại phụ phẩm, phế liệu. Do đó, giá thành Enzym từ vi sinh vật thấp hơn nhiều so với Enzym nguồn gốc động, thực vật.

2/ Một số Enzym được ứng dụng rộng rãi trong công nghệ môi trường

a/ Enzym Amylaza

- Enzym Amylaza là Enzym có ứng dụng rộng rãi nhất. Amylaza là tên chung chỉ một nhóm gồm các Enzym có khả năng xúc tác thủy phân tinh bột thành dextrin, đường maltoza và glucoza như α - amylaza, β - amylaza, glucoamylaza, dextrinaza...

- Amylaza có trong một số nấm mốc:

+ Aspergillus: *Asp. oryzae*, *Asp. usami*, *Asp. niger*, *Asp. awamori*

+ Rhizopus: *Rh. delemar*, *Rh. japonium*

+ Mucor: *M. rouxii*

Nấm men có khả năng tổng hợp Amylaza:

+ Endomycopsis: *E. fibuliger*, *E. species*

+ Endomyces: *Endomyces spc.*

Vi khuẩn có khả năng tổng hợp Amylaza:

+ Bacillus: *Bacillus subtilis*, *Bac. macerans*

+ Vi khuẩn ưa nhiệt có hoạt lực amylaza mạnh: *Bac. diastilicus*, *Bac. circulans*

Enzym Amylaza còn có trong thực vật (hạt nảy mầm, thóc mầm, hạt malt ..., khoai lang), trong động vật (nước bọt).

b/ Enzym proteaza

Proteaza có nhiều ở động, thực vật và vi sinh vật. Proteaza ở vi sinh vật tồn tại dưới dạng nội bào và ngoại bào, phân hủy các liên kết peptit.

Proteaza có ở vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm mốc:

-Vi khuẩn tổng hợp Proteaza:

+ Bacillus: *Bac. subtilis*, *Bac. thermophilus*

+ Clostridium: *Clost. perfringen*, *Clost. histolyticum*

-Nấm mốc:

+ Aspergillus: *Asp. oryzae*, *Asp. fumigatus*, *Asp. flavus*

+ Penicillium: *Pen. janthinellum*

Proteaza có trong thực vật (promelin ở quả dứa, papain ở quả đu đủ xanh...), trong động vật (tụy tạng, dạ dày...).