

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



NGUYỄN THỊ HỒNG HÀ

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC
CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG
SINH TỔNG HỢP ENZYM NHẪM ĐỊNH HƯỚNG
ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI HỮU CƠ**

Chuyên ngành: Vi sinh vật học

Mã số: 60 42 01 03

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thê Trang

Hà Nội, tháng 12 năm 2014

CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Nguyễn Thị Hồng Hà**, Nguyễn Thế Trang, Nguyễn Thị Đà, Phạm Thị Thu Phương, Lê Thị Thanh Xuân, Nguyễn Thúy Nga, Lê Quang Sáng, Phạm Văn Duy (2014). Nghiên cứu đặc điểm sinh học và phân loại một số chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp xenlulaza phân lập từ nước thải sau hầm biogas. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 30,6S.
2. Nguyễn Thế Trang, **Nguyễn Thị Hồng Hà**, Nguyễn Thúy Nga, Phạm Văn Duy (2014). Ứng dụng một số chủng vi khuẩn xử lý nước thải giàu hữu cơ sau hầm biogas, *Tuyển tập báo cáo khoa học, Hội thảo khoa học quốc tế “Năng lượng và tăng trưởng xanh khu vực ASEAN”, Hà Nội 2014*. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ.

MỞ ĐẦU

Cùng với sự phát triển của các nhà máy chế biến nông sản (đồ hộp từ dưa, dưa chuột bao tử, cà chua, ngô ngọt ...) một vấn đề đang làm bức xúc các nhà sản xuất đó là: nước thải, phế thải từ các quá trình chế biến. Chất thải của các nhà máy chế biến đồ hộp rau quả có hàm lượng các chất hữu cơ rất cao (các loại đường đơn, axit hữu cơ, protein, xenluloza ...), đây là nguồn dinh dưỡng thích hợp cho nhiều loại vi sinh vật sinh trưởng. Sự sinh trưởng của các vi sinh vật trong môi trường nước thải giàu hữu cơ từ nông sản khi không có sự kiểm soát của con người thường tạo ra các sản phẩm có mùi hôi thối tác động xấu tới môi trường sinh thái. Do vậy, các chất thải cần phải được xử lý trước khi thải ra môi trường tự nhiên. Có nhiều phương pháp xử lý nước thải hữu cơ khác nhau như: Phương pháp cơ học, hóa học, hóa lý và sinh học. Đối với nước thải hữu cơ thì phương pháp xử lý sinh học sẽ có hiệu quả hơn, thân thiện với môi trường hơn, có nhiều ưu điểm cả về hiệu quả kinh tế và kỹ thuật. Trong các nghiên cứu xử lý nước thải thì việc dùng biện pháp sinh học đang là ưu tiên hàng đầu. Việc phân hủy chất hữu cơ dựa trên các vi sinh vật tự nhiên có sẵn trong nước thải còn gặp nhiều hạn chế như thời gian phân hủy lâu, quá trình phân hủy chưa triệt để. Do đó, cần tuyển chọn những chủng vi sinh vật (VSV) thích hợp bổ sung vào bên cạnh những VSV có sẵn để có thể giúp cho quá trình xử lý đạt kết quả tốt hơn [1]. Vì vậy, đề tài: *“Nghiên cứu đặc điểm sinh học của một số chủng vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp enzyme nhằm định hướng ứng dụng trong xử lý nước thải hữu cơ”* được thực hiện là cần thiết.

PHẦN I. TỔNG QUAN

1.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU XỬ LÝ NƯỚC THẢI HỮU CƠ TRÊN THẾ GIỚI VÀ Ở VIỆT NAM

1.1.1. Tình hình nghiên cứu xử lý nước thải hữu cơ trên thế giới

Sự phát triển của phương pháp thứ cấp để xử lý nước thải trong những năm đầu thế kỷ XX được cho là cải tiến đáng kể nhất đối với y tế công cộng và môi trường trong suốt thời gian này, đó là việc phát minh ra "bùn hoạt tính" cho quy trình xử lý nước thải. Gilbert Fowler và cộng sự tại Đại học Manchester được tiến hành tại Trạm Thí nghiệm Lawrence ở Massachusetts liên quan đến việc sục khí vào nước thải trong bình đã được phủ một lớp tảo. Các đồng nghiệp của Fowler, Edward Ardern và William Lockett, những người đã triển khai nghiên cứu cùng với Văn phòng công ty đường sông Manchester ở công trình xử lý nước thải Davyhulme. Thí nghiệm trên được thực hiện trong một lò phản ứng bằng cách hút ra và thu vào, việc xử lý cho hiệu quả cao hơn. Họ sục khí liên tục cho nước thải trong khoảng một tháng và kết quả đạt được là nitrat hóa hoàn toàn các nguyên liệu mẫu. Điều đó chỉ ra rằng bùn đã hoạt hóa các chất (một cách tương tự như than hoạt tính) quá trình được đặt tên là bùn hoạt tính. Kết quả đã được công bố trong công trình tại Hội thảo 1914, và lần đầu tiên một hệ thống quy mô đầy đủ với dòng chảy liên tục được lắp đặt tại Worcester hai năm sau đó. Do hậu quả của chiến tranh thế giới thứ nhất phương pháp xử lý mới được truyền bá nhanh chóng, đặc biệt là Hoa Kỳ, Đan Mạch, Đức và Canada [26]. Vào cuối những năm 1930, việc xử lý nước thải bằng bùn hoạt tính là quá trình chủ yếu được sử dụng trên toàn thế giới. Trong bùn hoạt tính có nhiều chi vi sinh vật khác nhau : *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Corynebacterium*, *Desulfotomacillum*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Sarcina* ... Chúng oxy hóa rượu, axit béo, paraffin, hydrocacbon và các hợp chất khác.

Ở Mỹ, hàm lượng nitơ trong nước thải thường dao động trong khoảng $20 \div 85$ mg/l trong đó nitơ ở dạng hợp chất hữu cơ trung bình từ $8 \div 35$ mg/l, hàm lượng NH_3 từ $12 \div 50$ mg/l. Hàm lượng photphat trong nguồn nước không ô nhiễm nhỏ hơn 0,01 mg/l. Theo quy định của Hà Lan, tiêu chuẩn của Việt Nam, hàm lượng

phosphate trong nước uống không được vượt quá 6 mg/l. Theo tiêu chuẩn của cộng đồng chung châu Âu, trong nước sinh hoạt, hàm lượng photphat không được vượt quá 2,18 mg/l [4].

Xử lý nước thải của quá trình chế biến rau quả các nhà khoa học Thái Lan đã sử dụng chủng nấm men *Candida utilis* CBS1517 có khả năng đồng hóa tốt các loại đường và axit hữu cơ có nhiều trong thành phần nước thải, kết quả thu được cho thấy sau 96 giờ xử lý trong điều kiện phòng thí nghiệm là COD giảm 89,9 % và pH tăng từ 3,5 lên 8,5 [36]. Một số kết quả nghiên cứu xử lý nước thải chăn nuôi lợn bằng quá trình SBR hoặc tương tự được tổng hợp: Trong nghiên cứu của Bortone G. (1992) hiệu quả xử lý COD và T-N của quá trình SBR cấp nước một lần đạt khá cao, tương ứng là khoảng 93 % và 88 ÷ 93 %. Tải trọng COD và T-N cũng đạt cao lần lượt là 0,37 kg/(m³.ngày) và 0,13 kg/(m³.ngày) [28]. Nghiên cứu của Chang Won Kim (2000) hiệu quả xử lý COD ở chế độ cấp nước một lần đạt 57 ÷ 87 %. Tải trọng COD và T-N lần lượt là 1,0 kg/(m³.ngày) và 0,2 kg/(m³.ngày) [29]. Quá trình sục khí luân phiên cấp nước liên tục trong nghiên cứu của Jiang Cheng (2011) cho hiệu quả xử lý khá cao, của COD là 57 %, T-N là 91 % [31]. Nghiên cứu của Mohammad N. (2011) với quá trình SBR cấp nước một lần cho hiệu quả xử lý COD và T-N lần lượt là 80,3 % và 61 % [34]. Trong nghiên cứu của Zang và đồng tác giả (2006) cho hiệu quả xử lý cao hơn cả, đối với cả COD và T-N tương ứng là 96,3 % và 97,5 %; tải trọng COD và T-N cũng đạt rất cao lần lượt là 2,1 kg/(m³.ngày) và 0,28 kg/(m³.ngày), nước thải trong nghiên cứu này có COD và tỉ lệ COD/T-N rất cao và các tác giả đã đưa thêm các giai đoạn kỵ khí vào trước và giữa các giai đoạn thiếu khí/hiếu khí, do đó đã nâng cao được tải trọng xử lý COD. Mặt khác, các tác giả đã thực nghiệm ở thời gian lưu tương đối lớn, tỉ lệ COD/T-N và tỉ lệ lưu nước (n=9) rất cao, vì vậy cũng đã nâng cao được hiệu suất xử lý T-N [38].

1.1.2. Tình hình nghiên cứu xử lý nước thải hữu cơ ở Việt Nam

Xử lý nước thải hiện nay luôn là vấn đề thời sự nóng bỏng và nổi cộm ở Việt Nam hiện nay, theo dự báo của Tổ chức Kinh tế thế giới thì Việt Nam sẽ là một trong những nước có tốc độ phát triển kinh tế vào loại nhanh trên thế giới với tốc độ tăng trưởng được dự báo là 7 % trong thập kỷ tới. Tuy nhiên, việc tăng trưởng kinh

tế một cách nhanh chóng và mạnh mẽ cũng đồng thời tạo nên những thách thức áp lực tác động về mặt môi trường, trong đó, tác động của chất thải rắn và nước thải đang là vấn đề nổi cộm ở Việt Nam.

Hiện nay, ô nhiễm môi trường là vấn đề đang được quan tâm không chỉ ở Việt Nam mà còn ở nhiều quốc gia trên thế giới. Theo báo cáo môi trường Quốc gia năm 2010 của Bộ Tài Nguyên và Môi Trường, từ năm 2007 đến năm 2009, ô nhiễm môi trường nước mặt ở tất cả các chỉ số đều vượt quá tiêu chuẩn cho phép theo QCVN 40:2011/BTNMT. Các chỉ số COD, BOD đều vượt quá tiêu chuẩn từ 5 ÷ 10 lần. Hàm lượng NH_4^+ trong môi trường nước mặt của sông Nhuệ, sông Đáy và sông Cầu đều vượt quy chuẩn cho phép QCVN 40:2011/BTNMT cho nước mặt phù hợp với việc bảo tồn động thực vật thủy sinh là 0,2 mg/l [17].

Nước thải chăn nuôi là một trong những nguyên nhân gây ô nhiễm nguồn nước. Hàm lượng nitơ tổng số nước thải chăn nuôi nằm trong khoảng từ 512 ÷ 594 mg/l, trong đó NH_3 từ 304 ÷ 471 mg/l, hàm lượng photpho tổng số từ 13,8 ÷ 62 mg/l [6]. Ngày nay, cùng với sự phát triển của dân số, rác thải sinh hoạt ngày một gia tăng, nước rỉ rác từ các hồ chôn lấp tại khu xử lý rác thải gây ảnh hưởng rất lớn đến đời sống của người dân xung quanh, gây ô nhiễm nguồn nước mặt và nước ngầm quanh khu vực. Tổng hàm lượng nitơ trong nước thải rỉ rác dao động trong khoảng từ 200 ÷ 2000 mg/l, hàm lượng amoni cao, trung bình 200 mg/l, trong khi đó tiêu chuẩn cho phép là 0,2 mg/l [11].

Với xu hướng hội nhập nền kinh tế quốc tế, đặc biệt từ khi Việt Nam gia nhập WTO, cùng với sự phát triển mạnh mẽ của quá trình công nghiệp hoá đất nước, chất thải công nghiệp cũng đang ngày một gia tăng về khối lượng, đa dạng về chủng loại và đang là vấn đề cấp bách của xã hội, đòi hỏi phải có nhận thức đúng đắn và đầu tư thích đáng cho vấn đề xử lý nước thải. Hiện nay công nghệ xử lý nước thải bị ô nhiễm các hợp chất hữu cơ trên thế giới và Việt Nam chủ yếu là sử dụng các biện pháp sinh học, trong đó phương pháp xử lý hiếu khí và xử lý kỵ khí là phổ biến nhất, với nguồn nước thải có mức độ ô nhiễm cao thông thường người ta xử lý kết hợp kỵ khí và hiếu khí. Kết quả nghiên cứu của Vũ Thúy Nga và các cộng sự cho thấy có thể cải thiện chất lượng nước thải chế biến tinh bột sắn bằng chế

phẩm vi sinh vật. Để nhằm khắc phục tình trạng ô nhiễm do nước thải chế biến tinh bột sắn, công trình nghiên cứu tập trung tuyển chọn bộ giống vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao, sản xuất và ứng dụng chế phẩm vi sinh vật để nâng cao hiệu quả xử lý nước thải sau biogas của nhà máy chế biến tinh bột sắn. Kết quả nghiên cứu đã tuyển chọn được 3 chủng vi sinh vật gồm *Bacillus velezensis*, *Streptomyces fradiae* và *Nitromonas* sp. có khả năng chuyển hóa tốt hợp chất hữu cơ trong nước thải chế biến tinh bột sắn [15]. Nghiên cứu về ứng dụng vi khuẩn tích lũy polyphosphat trong xử lý nước thải của Lê Quang Khôi và các cộng sự cho thấy các dòng vi khuẩn tích lũy poly-P được tuyển chọn có hiệu suất loại bỏ photphat hòa tan cao. Hai dòng vi khuẩn *Acinetobacter radioresistens* TGT013L và *Kurthia* sp.TGT025L có hiệu quả loại bỏ PO_4^{3-} cao nhất trong môi trường tổng hợp sau 25 giờ thí nghiệm. Sự loại bỏ PO_4^{3-} được thực hiện bởi hoạt động của gen *ppk* 1 dạng IIA trong quá trình chuyển hóa photphat thành dạng poly-P tích lũy trong tế bào. Kết quả nghiên cứu mang lại nhiều triển vọng ứng dụng 2 dòng vi khuẩn tích lũy poly-P trên để xử lý photpho hòa tan trong nước thải chăn nuôi [14].

Với mục đích nghiên cứu phát triển công nghệ xử lý hiệu quả đồng thời hữu cơ và chất dinh dưỡng trong nước thải ngành chăn nuôi lợn, trong nghiên cứu của Phạm Thị Hải Thịnh và đồng tác giả, đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số điều kiện vận hành như tỷ lệ COD/T-N (tỷ lệ giữa nhu cầu oxy hóa học và tổng nitơ) và chế độ sục khí đến hiệu quả xử lý COD và T-N của quá trình SBR đối với nước thải chăn nuôi đã qua xử lý kỵ khí. Với chế độ hai chu trình thiếu - hiếu khí thích hợp, hiệu quả xử lý COD và T-N đạt khá cao, tương ứng là khoảng 90 % và 80 ÷ 85 % [12]. Tuy nhiên nồng độ T-N trong nước thải chăn nuôi lợn là rất cao và thay đổi trong khoảng khá rộng, vì vậy nghiên cứu nâng cao hiệu quả xử lý nitơ của quá trình nhằm đáp ứng một cách ổn định các quy chuẩn xả thải là rất cần thiết. Theo Phan Đỗ Hùng và cộng sự cho thấy ảnh hưởng của tỷ lệ cấp nước thải đến hiệu quả xử lý của quá trình SBR hai chu trình thiếu - hiếu khí cấp nước hai lần và so sánh với chế độ cấp nước một lần. Với quá trình SBR hai chu trình thiếu-hiếu khí, cấp nước hai lần là một giải pháp để nâng cao hiệu quả xử lý T-N của quá trình. Thực nghiệm cho thấy, khi tăng tỷ lệ cấp nước (tỷ lệ giữa lượng nước thải cấp lần thứ nhất

và tổng lượng nước thải xử lý trong một mẻ), lúc đầu hiệu suất xử lý T-N sẽ tăng, tuy nhiên đến một giới hạn nhất định hiệu suất xử lý T-N sẽ giảm trở lại. Hiệu suất xử lý T-N ở cả ba tỉ lệ cấp nước nghiên cứu đều khá cao, trong đó ở tỉ lệ 2/3 đạt cao nhất, trong khoảng $85 \div 90 \%$. Hiệu suất xử lý T-N thực nghiệm ở các tỉ lệ cấp nước thấp 1/2 và 2/3 khá phù hợp với hiệu suất lý thuyết. Hiệu suất xử lý COD ở chế độ cấp nước hai lần cũng khá cao, $85 \div 90 \%$ ở tỉ lệ cấp nước 2/3, xấp xỉ với trường hợp cấp nước một lần [5].

1.2. THÀNH PHẦN CƠ BẢN CỦA NƯỚC THẢI HỮU CƠ

1.2.1. Xenluloza trong nước thải

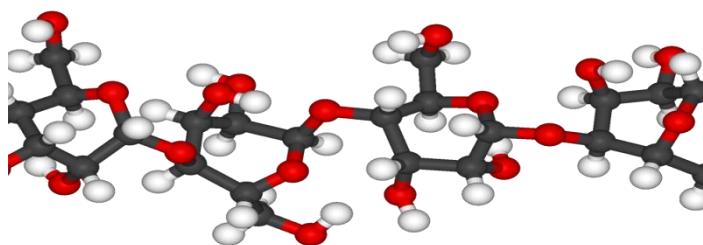
Trong nước thải hữu cơ hàm lượng chiếm xenluloza là thành phần chủ yếu của các tổ chức thực vật. Trong xác thực vật (nhất là trong thân và rễ) thành phần hữu cơ chiếm tỷ lệ cao nhất bao giờ cũng là xenluloza. Hàm lượng xenluloza trong thực vật thường thay đổi trong khoảng $30 \div 80 \%$ (tính theo trọng lượng khô), trong sợi bông hàm lượng này thường vượt trên 90% [30].

Xenluloza là polysaccarit rất bền vững, được cấu tạo bởi rất nhiều gốc anhydroglucoza, liên kết với nhau nhờ dây nối β -1,4-glucozit. Mỗi phân tử xenluloza thường chứa từ 1.400 đến 10.000 gốc glucoza. Khối lượng phân tử xenluloza rất khác nhau phụ thuộc vào từng loại thực vật (ở bông $150.000 \div 1.000.000$, ở sợi gai lên tới 1.840.000). Trên mỗi chuỗi glucan đơn vị lặp lại không phải là glucoza mà là xenlobioza. Mỗi phân tử glucoza có dạng “*ghế bành*”, phân tử này quay 180° so với phân tử và vị trí β của các nhóm hydroxyl đều ở mặt phẳng nằm ngang của phân tử.

Xenluloza có cấu trúc lớp sợi song song, các phân tử và các chuỗi xenluloza gắn với nhau nhờ mạng lưới liên kết hydro, còn các lớp gắn với nhau nhờ lực Van-der-Van. Trong tự nhiên, các chuỗi glucan của xenluloza có cấu trúc dạng sợi, đơn vị sợi nhỏ nhất có đường kính khoảng 3 nm. Các sợi sơ cấp hợp lại thành vi sợi có đường kính từ $10 \div 40$ nm, những vi sợi này hợp thành bó sợi to có thể quan sát dưới kính hiển vi quang học. Toàn bộ lớp sợi này có một lớp vỏ hemixenluloza và lignin rắn chắc bao bọc bên ngoài. Phân tử xenluloza có cấu trúc không đồng nhất

gồm hai vùng: Vùng kết tinh có trật tự cao, rất bền vững và vùng vô định hình kém trật tự và bền vững hơn. Vùng vô định hình có thể hấp thụ nước và trương lên, còn vùng kết tinh mạng lưới liên kết hydrogen ngăn cản sự trương này. Xenluloza có cấu trúc đặc, bền chắc cùng với sự có mặt của lớp vỏ hemixenlulo-lignin khiến cho sự xâm nhập của enzym vào cấu trúc hết sức khó khăn và làm tăng tính kỵ nước của chuỗi β -1-4-glucan, làm cản trở tốc độ của phản ứng thủy phân.

Xenluloza là hợp chất cacbon chiếm tỷ lệ trọng lớn nhất (50 %) trong tổng số hydratcacbon tự nhiên và là thành phần hữu cơ chủ yếu của rác, trong giấy, gỗ, thân cây, cành cây, lá cây, rơm rạ, sợi đay, vải bông, vv...



Hình 1.1. Hình ảnh hợp chất cao phân tử xenluloza [30]

Màu nâu - cacbon, màu đỏ - oxy, màu trắng - hydro

Xenluloza có cấu trúc rất bền vững. Không tan trong nước, không bị tiêu hóa trong đường tiêu hóa của người và động vật. Trong dạ dày của động vật nhai lại và trong đất có nhiều vi sinh vật có khả năng phân giải được xenluloza.

1.2.2. Hemixenluloza trong nước thải

Trong tế bào thực vật hemixenluloza đứng thứ hai về khối lượng. Trong thành phần của hemixenluloza có nhiều loại đường khác nhau, chính vì vậy tên của chúng thường được gọi theo tên của một loại đường chủ yếu nào đó có trong thành phần của chúng. Khối lượng phân tử của hemixenluloza nhỏ hơn rất nhiều so với xenluloza, thường chúng chỉ có khoảng 150 gốc đường. Các gốc đường đơn này được nối với nhau bằng các liên kết β -1-4, β -1-3, β -1-6 glucozit. Các hemixenluloza thường tạo mạch ngắn và phân nhánh, so với xenlulo thì hemixenluloza có cấu trúc không chặt chẽ dễ bị phân giải bởi axit yếu và kiềm yếu, đôi khi còn bị phân giải trong nước nóng [30].

Số hoá bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN <http://www.lrc.tnu.edu.vn>

1.2.3. Protein trong nước thải

Protein là hợp chất cao phân tử chứa nitơ ($15 \div 17 \%$ tính theo trọng lượng khô). Protein là thành phần quan trọng của cơ thể động, thực vật. Sự phân giải protein trải qua các quá trình thủy phân protein thành các polypeptit, sau đó là các axit amin, tiếp theo là các quá trình amon hoá, nitrat hoá và phản nitrat hoá. Quá trình amon hoá là quá trình chuyển hoá các hợp chất nitơ hữu cơ thành nitơ dạng khoáng. Quá trình nitrat hoá là quá trình chuyển hoá các chất ammoniac ban đầu thành axit nitơ sau đó thành axit nitric. Quá trình khử nitrat thành nitơ gọi là phản nitrat hoá [16].

1.2.4. Tinh bột trong nước thải

Tinh bột là một cacbonhydrat cao phân tử bao gồm các đơn vị D-glucosa nối với nhau bởi liên kết α -glucozit. Công thức phân tử gần đúng là $(C_6H_{10}O_5)_n$ trong đó n có giá trị từ vài trăm đến khoảng mười nghìn. Tinh bột có dạng hạt màu trắng tạo bởi hai loại polyme là amiloza và amilopectin. Amiloza là polime mạch thẳng gồm các đơn vị D-glucosa liên kết với nhau bởi liên kết α -1,4-glucozit. Amilopectin là polime mạch nhánh, ngoài chuỗi glucosa thông thường còn có những chuỗi nhánh liên kết với chuỗi chính bằng liên kết α -1,6-glucozit.

Trong tự nhiên, tinh bột là thành phần chủ yếu của các loại ngũ cốc, củ, quả. Hàm lượng tinh bột có trong hạt và củ là $40 \div 70 \%$, trong các phần khác của cây là $4 \div 25 \%$. Chúng đóng vai trò là nguồn dự trữ năng lượng cho quá trình nảy mầm của hạt, và là nguồn lương thực chủ yếu của con người. Enzym thủy phân tinh bột phân hủy chủ yếu liên kết α -glucozit. Nhóm enzym này gồm các enzym: α -amylaza, β -amylaza, glucoamylaza, dextrinaza [16].

1.2.5. Một số vi sinh vật gây bệnh khác trong nước thải

Các vi sinh vật gây bệnh chủ yếu trong nước thải: *Salmonella* spp., một vài loài *Salmonella* có thể hiện diện trong nước thải đô thị, kể cả *S. typhi* (gây bệnh thương hàn). Doran và cộng sự cho rằng số lượng 700 *Salmonella*/l; khoảng chừng đó *Shigellae* và khoảng 1.000 *Vibrio cholera*/l thường phát hiện trong nước thải đô thị của khu vực nhiệt đới. *Shigellae* và *Vibrio cholera* nhanh chóng chết đi khi thải