231295

การพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพในการตรวจวัดความเสถียรของระบบบำบัดน้ำเสีย ด้วยระบบเติมอากาศ

การบำบัดน้ำเสียถือเป็นสิ่งจำเป็นที่ทั้งภาครัฐและภาคอุตสาหกรรมต้องให้ความสำคัญด้วยเหตุผลที่อาจจะแตกต่างกัน สำหรับภาครัฐ การกำจัดของเสียจากชุมชนก็เพื่อรักษาสภาวะของสิ่งแวดล้อมและเพื่อสุขอนามัยที่ดีและความผาสุขของประชาชนเป็นสำคัญ สำหรับภาคอุตสาหกรรม มักทำเพื่อเป็นการปฏิบัติตามกฎหมายและ/หรือการสร้างภาพลักษณ์ที่ดีของภาคอุตสาหกรรมนั้นๆ ในปัจจุบันการควบคุมการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียใช้วิธีตรวจสอบคุณภาพของน้ำที่จะทิ้งออกไปสู่สิ่งแวดล้อมหลังการบำบัดและตรวจการทำงานของเครื่องจักรในระบบ การตรวจวัดการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียที่ผลลัพธ์สุดท้าย คือวัดคุณภาพของน้ำที่จะทิ้ง ถูกพบบ่อยครั้งว่าของเสียในน้ำที่จะทิ้งไม่ได้ถูกบำบัดตามที่กำหนดเพราะระบบบำบัดเกิดความผิดปกติคือเกิดภาวะไม่เสถียรขึ้น แต่ก็มักสายเกินไป เพราะได้ปล่อยน้ำที่บำบัดไม่สมบูรณ์ออกไปสู่ชุมชนและสิ่งแวดล้อมไปแล้ว ซึ่งนอกจากปัญหาที่เกิดขึ้นในระบบได้รับการแก้ไขล่าช้าหรือบางครั้งไม่สามารถแก้ไขได้ แล้ว ยังเป็นผลเสียเป็นอันมากในอีกหลายๆ ด้าน เช่น เป็นกรณีพิพาทระหว่างภาคอุตสาหกรรมและชุมชนที่ปรากฏอยู่เนืองๆ และส่งผลด้านลบถึงภาครัฐ

ในงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยได้เปลี่ยนวิธีการควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย เสียใหม่ โดยมุ่งเน้นที่การตรวจวัดปริมาณของจุลชีพที่เป็นตัวหลักในการกำจัดของเสียในระบบขณะที่ระบบกำลังทำงานอย่างมีประสิทธิภาพหรือขณะที่ระบบมีความเสถียร ซึ่งจุลชีพเหล่านี้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในระบบบำบัดน้ำเสีย รวมทั้งได้พัฒนาวิธีการทางวิทยาภูมิคุ้มกันที่สามารถตรวจหาและวัดปริมาณแอนติเจนของจุลชีพเป้าหมายที่มีอยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียด้วย โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อใช้วิธีนี้แทนการตรวจคุณภาพน้ำที่กำลังจะปล่อยทิ้งสู่สิ่งแวดล้อมแบบเดิม ทั้งนี้โดยเชื่อว่าคุณภาพน้ำทิ้งจะได้มาตรฐานตลอดเวลาที่ตรวจพบว่าประชากรจุลชีพหลักหรือปริมาณแอนติเจนของจุลชีพหลักในระบบมีปริมาณเหมาะสม

ในการวิจัยคณะผู้วิจัยใช้รูปแบบการศึกษาแบบ Cross-sectional Controlled Trial Design โดยการวิจัยแบ่งเป็นการศึกษาชนิดและปริมาณของจุลชีพสำคัญในระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ (Activated Sludge System) ได้แก่โรติเฟอร์และแบคทีเรียต่างๆ โดยใช้ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงบำบัดน้ำเสียที่มาจากชุมชน ที่หนองแขม กรุงเทพฯ และโรงบำบัดน้ำเสียที่มาจากโรงงานอุตสาหกรรม คือโรงบำบัดน้ำเสียจากโรงงานกระดาษ ที่จังหวัดนครสวรรค์ ในขณะที่ระบบบำบัดน้ำเสียทั้งสองแห่งมีความเสถียร เป็นต้นแบบในการศึกษา และคณะผู้วิจัยได้ผลิตแอนติบอดีของหนูเมาซ์ชนิดโมโนโคลนาลที่มีความจำเพาะต่อจุลชีพหลักในระบบ และใช้แอนติบอดีเหล่านี้เป็นเครื่องมือในการตรวจหาและวัดปริมาณแอนติเจนของจุลชีพเป้าหมายที่มีอยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเสถียรในช่วงเวลาต่างๆ ในรอบปี ด้วยเทคนิคทางวิทยาภูมิคุ้มกันคือ MAb based-antigen detection assays

การวิจัยเริ่มจากการเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากแหล่งบำบัดทั้งสองแห่ง โดยเก็บจากจุดต่างๆใน ระบบ สามจุดคือ จุดเก็บที่ 1 ได้แก่จุดที่ Returned Activated Sludge (RAS) เพิ่งสัมผัสกับน้ำเสียที่เพิ่งเข้ามาในระบบ จุดเก็บที่ 2 คือจุดที่ Mixed liquor (RAS ผสมกับน้ำเสีย) เพิ่งออกจากถังเติมอากาศ และจุดเก็บที่ 3 คือตัวอย่าง RAS (ตะกอนจุลชีพที่บำบัดของเสียในน้ำ) ที่ถูกสูบกลับไปเพื่อจะเติมให้แก่น้ำเสียที่เข้ามาใหม่ (ซึ่งขณะนั้นน้ำเสียเดิมได้ถูกบำบัดแล้วและพร้อมปล่อยออกเป็น surface water) แล้วนำตัวอย่างน้ำเสียไปศึกษาชนิดและปริมาณจุลชีพหลักที่พบ ณ จุดเก็บตัวอย่างทั้งสามจุด

ผลของการศึกษาชนิดและปริมาณของจุลชีพสำคัญในระบบบำบัดน้ำเสียพบว่า

โรติเฟอร์ที่พบในบ่อบำบัดน้ำเสียจากชุมชน (โรงบำบัดน้ำเสียหนองแขม) จำแนกได้เป็น 4 สายพันธุ์หลักคือ โรติเฟอร์ชนิดที่ 1 (R1): *Lacane inermis* โรติเฟอร์ชนิดที่ 2 (R2): *Rotaria rotatoria* โรติเฟอร์ชนิดที่ 3 (R3): *Diplois daviesiae* และโรติเฟอร์ชนิดที่ 4 (R4): *Collotheca* spp. โดยพบว่าโรติเฟอร์ชนิดที่ 2 (R2) หรือ *Rotaria rotatoria* มีอัตราชุกสูงสุดโดยพบอัตราชุกที่จุดเก็บที่ 1 คิดเป็น 100% จุดเก็บที่ 2 คิดเป็น 95.2% และจุดเก็บที่ 3 คิดเป็น 100% ทำให้สรุปได้ว่าโรติเฟอร์ชนิดที่ 2 (R2) นี้เป็นสายพันธุ์หลัก (common species) ที่ตรวจพบได้ตลอดในระบบนิเวศน์ของระบบบำบัดน้ำเสียจากชุมชนแบบ activated sludge ในสภาวะที่ระบบมีความเสถียร โดย ณ จุดเก็บที่ 1 โรติเฟอร์ชนิดที่ 2 มีความสัมพันธ์ผกผันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับค่า dissolved oxygen (DO) และ Mixed liquor suspended solids (MLSS) ซึ่งจุดเก็บที่ 1 นี้เป็นจุดที่น้ำเสียเพิ่งเข้าสู่ระบบจึงมีปริมาณอาหาร (ของเสีย) เข้ามามาก จุลชีพมีการเพิ่มจำนวนมากในช่วงแรกรวมทั้งโรติเฟอร์ด้วย การเพิ่มปริมาณของจุลชีพต้องมีการใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเพิ่มมากขึ้น จึงพบว่าค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen) ลดลง ส่วนค่า MLSS ซึ่งคือของแข็งแขวนลอยทั้งหมดสามารถใช้เป็นตัวแทนของปริมาณตะกอนจุลชีพได้ เนื่องจากโรติเฟอร์จะดำรงชีวิตโดยการกินสิ่งมีชีวิตเล็กๆ เช่นพวกแบคทีเรียต่างๆ และเศษอินทรีย์วัตถุที่มีอยู่ในน้ำ ดังนั้นถ้ามีโรติเฟอร์อยู่มากปริมาณตะกอนจุลชีพก็จะลดลงจากการกินโดยโรติเฟอร์ในระบบห่วงโซ่อาหาร (food chain)

คณะผู้วิจัยใช้ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม EPCCO ที่จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งเป็นโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษเป็นต้นแบบของการศึกษาเพื่อหาปริมาณและจำแนกชนิดของโรติเฟอร์ และเนื่องจากน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแห่งนี้ไม่มีความผันแปรตามฤดูกาล จึงไม่ได้เก็บตัวอย่างตลอดทั้งปี ผลการวิจัยพบว่าปริมาณโรติเฟอร์ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษแห่งนี้มีน้อยมากและไม่สามารถจัดกลุ่มได้

คณะผู้วิจัยศึกษาความหลากหลายของเชื้อแบคทีเรียที่พบในโรงบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศด้วยวิธีมาตรฐาน (Conventional method) และวิธีทางอณูชีววิทยา (Molecular biology method) ด้วยเทคนิค Metagenomics ได้ผลดังนี้คือ สามารถเพาะ แยก และจำแนกแบคทีเรียที่ทำหน้าที่กำจัดของเสียในน้ำเสียจากชุมชนจากตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากจุดเก็บทั้งสามจุด ได้เป็น 4 กลุ่มหลัก คือกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายแอมโมเนีย (Nitrogen group 1; N1) กลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายไนไตรท์ (Nitrogen group 2; N2) กลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายซัลเฟอร์ (Sulfer group; S)

และกลุ่มแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟอสเฟต (Phosphate group; P) ส่วนน้ำเสียจากโรงบำบัดน้ำเสียที่มาจากโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษนั้นพบเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม S ทุกจุดที่เก็บตัวอย่างทั้งสามจุด

คณะผู้วิจัยได้ศึกษา Metagenomics ของเชื้อแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียจากชุมชนด้วยการสกัดดีเอ็นเอ (DNA) จากตัวอย่างน้ำเสีย แล้วนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปเพิ่มจำนวนยีนที่เป็นรหัสของ 16S RNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction; PCR) แล้วทำการโคลนยีนเหล่านี้เข้าสู่พลาสมิด จากนั้นนำพลาสมิดเข้าสู่แบคทีเรียเจ้าบ้านชนิดอีโคไล หลังจากเพิ่มปริมาณยีนที่เป็นรหัสของ 16S RNA จากอีโคไลทรานซฟอร์แมนท์แต่ละโคลน แล้วได้นำดีเอ็นเอไปย่อยด้วยเอนไซม์ที่ตัดดีเอ็นเอจำเพาะ (restrictin endonucleases) สามชนิด คือ *Msp*I, *Hae*III และ *Hha*I ก่อนนำไปศึกษาความหลากหลายของท่อนยีนที่เป็นรหัสของ 16S RNA ด้วยเทคนิค Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) พบว่าความหลากหลายของท่อนยีนที่เป็นรหัสของ 16S RNA ของแบคทีเรียที่แยกได้จากจุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 หลังจากย่อยด้วยเอนไซม์ แล้วมีความแตกต่างกัน 11, 9 และ 8 แบบ ตามลำดับ ซึ่งดีเอ็นเอเหล่านี้ถูกเก็บไว้เป็นคลังสำหรับการศึกษายีนที่สนใจต่อไป

คณะผู้วิจัยได้ผลิตแอนติบอดีชนิดโมโนโคลนาลจากหนูเมาซ์สายพันธุ์บาล์บซี (Mouse monoclonal antibodies; MAb) ที่จับจำเพาะกับแอนติเจนของโรติเฟอร์ชนิด R2 และแบคทีเรียกลุ่ม N1, N2, S และ P คือ MAb จาก clones W66, W6, W11, W34 และ W5 ตามลำดับ ทั้งนี้โดยใช้เทคนิคไฮบริโดมามาตรฐาน

คณะผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากชุมชน (หนองแขม) ที่จุดเก็บตัวอย่างสามจุด คือจุดเก็บที่ 1 ได้แก่จุดที่ Returned Activated Sludge (RAS) เพิ่งสัมผัสกับน้ำเสียที่เพิ่งเข้ามาในระบบ จุดเก็บที่ 2 คือจุดที่ Mixed liquor (RAS ผสมรวมกับน้ำเสียแล้ว) เพิ่งออกจากถังเติมอากาศ และจุดเก็บที่ 3 คือตัวอย่าง RAS (ตะกอนจุลชีพที่บำบัดของเสียในน้ำ) ที่ถูกสูบกลับไปเพื่อจะเติมให้น้ำเสียที่เข้ามาใหม่ โดยเก็บจุดละสามตัวอย่าง ทุกสัปดาห์ตลอดปี คือระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2553 เป็นระยะเวลา 49 สัปดาห์ (ยกเว้นเก็บตัวอย่างไม่ได้ในสัปดาห์ที่ 23 ของเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2552 และในสัปดาห์ที่ 39 และ 40 ของเดือนธันวาคม พ.ศ. 2552 จึงมีตัวอย่างที่เก็บจากแต่ละจุดจำนวน 46 x 3 หรือ 138 ตัวอย่าง และผลจากการทดสอบใด ๆที่รายงานในรายงานฉบับนี้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบตัวอย่างแต่ละตัวอย่างที่ทำซ้ำสามครั้ง)

คณะผู้วิจัยได้พัฒนาเทคนิค W66 monoclonal antibody (MAb) based-indiect ELISA เพื่อตรวจหาและวัดปริมาณแอนติเจนของโรติเฟอร์ชนิด R2 ในตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากจุดเก็บทั้งสามจุดตลอดปีเปรียบเทียบกับจำนวนโรติเฟอร์ชนิด R2 ในตัวอย่างเดียวกันที่ตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าจำนวนของโรติเฟอร์ชนิด R2 และปริมาณแอนติเจนของโรติเฟอร์ชนิด R2 ที่ตรวจด้วยวิธี MAb-based-indirect ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บ อย่างไรก็ดีจำนวนน้อยที่สุดของโรติเฟอร์ชนิด R2 ที่ W66 MAb based-indiect ELISA จะให้ผลบวกคือ จำนวนแปดตัว แต่ในตัวอย่างน้ำเสียหลายตัวอย่างมีจำนวนโรติเฟอร์ชนิด

R2 ในปริมาตรน้ำเสีย 100 ไมโครลิตรที่ใช้ใน indiect ELISA น้อยกว่าแปดตัว จึงเป็นผลให้การตรวจหาปริมาณแอนติเจนของโรติเฟอร์ชนิด R2 เป็นลบในตัวอย่างเหล่านี้

คณะผู้วิจัยได้ผลิต Rabbit polyclonal antibody (PAb) ต่อแอนติเจนที่มีอยู่ในน้ำเสียจากชุมชน และพัฒนา sandwich ELISA (PAb-ตัวอย่างน้ำเสีย-MAb) เพื่อตรวจหาและวัดปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียกลุ่ม N1, N2, S และ P ในตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากจุดเก็บทั้งสามจุดตลอดปีเปรียบเทียบกับจำนวนของแบคทีเรียแต่ละกลุ่มในตัวอย่างเดียวกันที่ตรวจนับด้วยวิธีนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงชนิดครึ่งแข็งครึ่งเหลว

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด N1 ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด N1 ที่ตรวจด้วยวิธี W6 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บตลอดทั้งปี (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 0.995, 0.828 และ 0.981 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ N1 ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ 6.2-94.8 $\times 10^6$, 2.6-52.6 $\times 10^6$ และ 4.1-70.6 $\times 10^6$ cfu per ml ตามลำดับ และ ค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 อยู่ที่ range: 0.001-0.530, 0.001-0.470 และ 0.001-0.521; median: 0.135, 0.063 และ 0.083 และ SD: 0.180, 0.120 และ 0.170 ตามลำดับ อย่างไรก็ดีมีตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากจุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 จำนวน 9 (19.6%), 19 (41.3%) และ 11 (23.9%) ตัวอย่าง ที่ผลการตรวจด้วย W6 based-sandwich ELISA ให้ผลลบ

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด N2 ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด N2 ที่ตรวจด้วยวิธี W11 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บตลอดทั้งปี (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 0.950, 0.979 และ 0.983 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ N2 ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ 8.4-64.5 $\times 10^6$, 4.0-44.36 $\times 10^6$ และ 6.1-68.0 $\times 10^6$ cfu per ml ตามลำดับ และ ค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ range: 0.016-0.408, 0.001-0.357 และ 0.034-0.431; median: 0.107, 0.058 และ 0.092 และ SD: 0.101, 0.070 และ 0.105 ตามลำดับ อย่างไรก็ดีมีตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากจุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 จำนวน 6 (13.0%), 15 (32.6%) และ 8 (17.4%) ตัวอย่าง ที่ผลการตรวจด้วย W11 based-sandwich ELISA ให้ผลลบ

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด S ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด S ที่ตรวจด้วยวิธี W34 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บตลอดทั้งปี (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 0.854, 0.925 และ 0.892 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ S ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ 10.1-38.9 $\times 10^6$, 5.3-20.0 $\times 10^6$ และ 8.9-45.2 $\times 10^6$ cfu per ml ตามลำดับ และ ค่า optical

densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ range: 0.020-0.325, 0.010-0.235 และ 0.020-0.339; median: 0.092, 0.056 และ 0.108 และ SD: 0.070, 0.040 และ 0.079 ตามลำดับ อย่างไรก็ดีมีตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากจุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 จำนวน 9 (19.6%), 18 (39.1%) และ 7 (15.2%) ตัวอย่าง ที่ผลการตรวจด้วย W34 based-sandwich ELISA ให้ผลลบ

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด P ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด P ที่ตรวจด้วยวิธี W5 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บตลอดทั้งปี (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 0.828, 0.986 และ 0.994 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ P ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ 14.7-65.0 $\times 10^6$, 24.5-38.8 $\times 10^6$ และ 16.3-96.4 $\times 10^6$ cfu per ml ตามลำดับ และ ค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1, 2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความเสถียร อยู่ที่ range: 0.050-0.496, 0.016-0.334 และ 0.058-0.544; median: 0.185, 0.095, 0.205 และ SD: 0.121, 0.079 และ 0.123 ตามลำดับ โดยตัวอย่างจากจุดเก็บที่ 2 มี 14 ตัวอย่าง (30.4%) ที่ให้ผล W5 based-sandwich ELISA เป็นลบ แต่ไม่มีตัวอย่างใดจากจุดเก็บที่ 1 และ 3 ที่ให้ผล W5 based-sandwich ELISA เป็นผลลบเลย

สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียที่ได้จำลองให้เกิดความไม่เสถียรด้วยการเปิด-ปิดปั๊มสำหรับเติมอากาศเพื่อให้ปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอสำหรับจุลชีพ พบว่าจำนวนโรติเฟอร์ทั้งชนิดที่ 1 (R1) และชนิดที่ 2 (R2) ที่ตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีความสัมพันธ์ดีเยี่ยมกับสภาวะของระบบคือ เมื่อระบบไม่เสถียรจำนวนของโรติเฟอร์ทั้งสองชนิดก็จะลดลงทันที แต่การใช้ W66 based-indirect ELISA เพื่อตรวจวัดปริมาณของแอนติเจนของโรติเฟอร์ชนิดที่ 2 (R2) ไม่สามารถบอกความเสถียรหรือไม่เสถียรของระบบได้

จำนวนของแบคทีเรียชนิด N1 ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด N1 ที่ตรวจด้วยวิธี W6 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บ (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 (RAS ผสมกับน้ำเสียที่เข้ามาใหม่เรียบร้อยแล้ว) และ 3 (RAS) เท่ากับ 0.996 และ 0.997 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ N1 ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความไม่เสถียร (unstable) อยู่ที่ 0.01-30.0 $\times 10^6$ และ 0.015-30.0 $\times 10^6$ cfu per ml ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียชนิด N1 ในระบบที่เสถียรอย่างมีนัยสำคัญ และค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบไม่เสถียร อยู่ระหว่าง (range) 0-0.175 และ 0-0.173 ตามลำดับ โดยมีตัวอย่างจากจุดเก็บที่ 1+2 และ 3 จำนวน 13 และ 9 ตัวอย่าง (54.2% และ 37.5%) ตามลำดับ ที่ให้ผล W6 MAb-based-sandwich ELISA เป็นลบ ส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวกเพราะมีการเติมอากาศเข้าไปในระบบเป็นบางระยะนั้นก็ให้ OD ค่อนข้างต่ำคือไม่เกิน 0.175

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด N2 ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด N2 ที่ตรวจด้วยวิธี W6 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บ (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 เท่ากับ 0.993 และ 0.996 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ N2 ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความไม่เสถียร อยู่ที่ 0.80-30.0 $\times$ 10^6 และ 0.35-30.0 $\times$ 10^6 cfu per ml ตามลำดับ ส่วนค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบไม่เสถียร อยู่ระหว่าง (range) 0.005-0.177 และ 0.005-0.174 ตามลำดับ โดยมีตัวอย่างจากจุดเก็บที่ 1+2 และ 3 จำนวน 5 จาก 24 ตัวอย่าง (20.8%) ทั้งสองจุดที่ให้ผล W11 MAb-based-sandwich ELISA เป็นลบ ส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวกเพราะมีการเติมอากาศเข้าไปในระบบเป็นบางระยะนั้นก็ให้ OD ค่อนข้างต่ำคือไม่เกิน 0.177

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด S ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด S ที่ตรวจด้วยวิธี W6 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บ (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 เท่ากับ 0.994 และ 0.998 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ S ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความไม่เสถียร อยู่ที่ 0.85-30.0 $\times$ 10^6 และ 0.5-30.0 $\times$ 10^6 cfu per ml ตามลำดับ ส่วนค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบไม่เสถียร อยู่ระหว่าง (range) 0.002-0.221 และ 0.001-0.195 ตามลำดับโดยมีตัวอย่างจากจุดเก็บที่ 1+2 และ 3 จำนวน 11 และ 9 จาก 24 ตัวอย่าง (45.8% และ 37.5%) ตามลำดับ ที่ให้ผล W34 MAb-based-sandwich ELISA เป็นลบ ส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวกเพราะมีการเติมอากาศเข้าไปในระบบเป็นบางระยะนั้นก็ให้ OD ค่อนข้างต่ำคือไม่เกิน 0.221

พบว่าจำนวนของแบคทีเรียชนิด P ที่ตรวจนับด้วยการนับจำนวนโคโลนีและปริมาณแอนติเจนของแบคทีเรียชนิด P ที่ตรวจด้วยวิธี W6 MAb-based-sandwich ELISA มีความสัมพันธ์กันอย่างดีเยี่ยมในทุกตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุดเก็บ (ค่า correlation coefficient ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 เท่ากับ 0.998 และ 0.997 ตามลำดับ) โดยจำนวนโคโลนีของ P ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบมีความไม่เสถียร อยู่ที่ 0.06-30.0 $\times$ 10^6 และ 0.045-30.0 $\times$ 10^6 cfu per ml ตามลำดับ ส่วนค่า optical densities ที่ 405 nm ของตัวอย่างที่จุดเก็บที่ 1+2 และ 3 ในขณะที่ระบบไม่เสถียร อยู่ระหว่าง (range) 0-0.170 และ 0-0.173 ตามลำดับโดยมีตัวอย่างจากจุดเก็บที่ 1+2 และ 3 จำนวน 8 จาก 24 ตัวอย่าง (33.3%) จากทั้งสองจุดที่ให้ผล W5 MAb-based-sandwich ELISA เป็นลบ ส่วนตัวอย่างที่ให้ผลบวกเพราะมีการเติมอากาศเข้าไปในระบบเป็นบางระยะนั้นก็ให้ OD ค่อนข้างต่ำคือไม่เกิน 0.173

ดังนั้นจากการวิจัย สามารถสรุปได้ว่า W5 based-sandwich ELISA ที่ตรวจหาแอนติเจนของแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายฟอสเฟต (P) โดยใช้ตัวอย่างจากจุดเก็บที่ 1 (น้ำเสียเพิ่งเข้าสู่ระบบ) และ 3 (ตัวอย่าง returned activated sludge; RAS) เป็นวิธีที่จะบอกความเสถียรของ

ระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานบำบัดน้ำเสียจากชุมชนได้ดีที่สุด ส่วน W34 MAb based-sandwich ELISA ที่ตรวจหาแอนติเจนของแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายซัลเฟอร์ (S) สามารถใช้ประเมินความเสถียรของโรงงานบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมกระดาษได้ ยิ่งไปกว่านั้นการตรวจหาโรติเฟอร์ชนิด *Rotaria rotatoria* (R2) ด้วยวิธีทางจุลทรรศนศาสตร์ซึ่งสดวกไม่ยุ่งยากและใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องสว่างธรรมดา (light microscope) ก็สามารถใช้ประเมินความเสถียรของโรงงานบำบัดน้ำเสียจากชุมชนได้ดี ซึ่งเมื่อพบ *Rotaria rotatoria* จากตัวอย่างน้ำเสียจากจุดเก็บตัวอย่างทั้งสามจุดก็แสดงว่าระบบมีความเสถียร