บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายในการติดตามประชากร *Acinetobacter* sp. ในระบบบำบัดน้ำเสียชนิดทนเค็ม จึงจำเป็นต้องพัฒนาอาหารที่เหมาะสมในการติดตามประชากร *Acinetobacter* sp. โดยอาศัยคุณสมบัติที่ *Acinetobacter* sp. สามารถต้านทานต่อยาเพนนิซิลลินได้ โดยสร้างเอนไซม์ β-lactamase (Baumann et al., 1968; Gilardi, 1973) จากการใช้อาหารแข็ง Herellea plus pen G แยกเชื้อจากระบบบำบัด Three-Stage Phoredox ชนิดทนเค็มพบว่า มีจุลินทรีย์อื่นสามารถต้านทานต่อยาเพนนิซิลลิน เจริญได้ดีเช่นกันตามผลการทดลองที่ 4.1.1 จึงจำเป็นต้องนำเชื้อทั้งหมดที่เจริญได้บนอาหารแข็ง Herellea plus pen G รวมทั้ง *Acinetobacter* sp. มาทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะเพื่อคัดเลือกยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นโดยไม่มีผลต่อ *Acinetobacter* sp. เพื่อนำมาเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับติดตามประชากร *Acinetobacter* sp. ในระบบบำบัดน้ำเสียชนิดทนเค็ม จากการทดลองพบว่ามียาปฏิชีวนะ 4 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นได้โดยไม่มีผลยับยั้งการเจริญของ *Acinetobacter* sp. คือ Norfloxacin, Chloramphenicol, Nitrofurantoin, SXT (ยาผสมระหว่างยาSulfamethoxazole และยา Trimethoprim) ยา Norfloxacin เป็นยาในกลุ่ม Quinolone ออกฤทธิ์ Bactericidal โดยเข้าจับกับเอนไซม์ DNA gyrase ซึ่งจำเป็นในการตัดต่อสาย DNA เอนไซม์จึงถูกยับยั้งโดยกลไกนี้ไม่สามารถตัดต่อสาย DNA ได้ (Nester et al., 1995) เมื่อจุลินทรีย์ตัดต่อสาย DNA ไม่ได้ กระบวนการเพิ่มสารพันธุกรรมก็ไม่เกิดขึ้น จุลินทรีย์จึงถูกยับยั้งการเจริญด้วยกลไกนี้ สำหรับ *Acinetobacter* sp. หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งสามารถต้านยา Norfloxacin ได้เนื่องจากความสามารถในการลด affinity of gyrase ทำให้ยาเข้าจับกับเอนไซม์ DNA gyrase ไม่ได้ จุลินทรีย์จึงยังสามารถที่จะเพิ่มสารพันธุกรรมได้ตามปกติเนื่องจากเอนไซม์ DNA gyrase ไม่ได้ถูกยับยั้ง (อรุณี สาระยา, 2531) ยา Chloramphenicol เป็นยาต้านจุลชีพที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างและยับยั้งการเติบโตของเชื้อต่างๆ ได้ (bacteriostatic) โดยยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน โดยจับกับ 50 S subunit ของแบคทีเรีย ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ในการเกิด peptide bond การดื้อยา Chloramphenicol มักพบในแบคทีเรียเกรมลบรูปท่อนที่มี R-facter ควบคุมการสร้างเอนไซม์ Chloramphenicol acetyltransferase ออกมาทำลายยานี้โดยนำ acetyl group เข้าแทนที่ hydroxyl group หรือสร้างเอนไซม์ nitroreductase ซึ่งจะ reduce NO_2 ให้เป็นNH_2 ทำให้โครงสร้างของยาเปลี่ยนไปไม่สามารถจับกับ bacterial ribosome ได้ (อรุณี สาระยา, 2531; บัญญัติ สุขศรีงาม, 2537) ยา Nitrofurantoin เป็นยาที่ใช้กับการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ยา SXT (ยาผสมระหว่างยาSulfamethoxazole และยา

Trimethoprim) โดยยา Sulfamethoxazoleมีโครงสร้างคล้าย Para-aminobenzoic acid (PABA) ที่แบคทีเรียหลายชนิดใช้ในการสร้างกรดโฟลิค จึงสามารถแย่งจับกับเอนไซม์ dihydropteroic acid synthetase เกิดผลผลิตที่คล้ายกรดโฟลิคแต่แบคทีเรียนำไปใช้ไม่ได้การเจริญจึงหยุดชะงักแบคทีเรียที่ต้านยาได้เนื่องจากเปลี่ยน target site ที่เอนไซม์ทำให้ยาจับไม่ได้หรือเพิ่มการสร้าง PABA มากยิ่งขึ้น สำหรับยา Trimethoprim จะยับยั้งการสร้างกรดโฟลิคเช่นเดียวกันแต่คนละตำแหน่งกับ Sulfamethoxazole โดยจะทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์ dihydrofolate reductase ซึ่งเสริมฤทธิ์กันจึงมักใช้ร่วมกัน (อรุณี สาระยา, 2531; Nester et al., 1995) ยาทั้ง 4 ชนิดนี้สามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารแข็ง Herellea plus Pen G เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์อื่น โดยไม่กระทบต่อ *Acinetobacter* sp. แต่ในขั้นต้นนี้ เลือกใช้ยา Chloramphenicol เนื่องจากอยู่ในรูปยาฉีดสามารถละลายและนำมาใช้ได้สะดวก อีกทั้งหาได้ง่ายและราคาไม่แพง

เมื่อนำอาหารที่พัฒนาขึ้นนี้ไปติดตามประชากร *Acinetobacter* sp. ในระบบบำบัด Three-Stage Phoredox ชนิดทนเค็ม ซึ่งน้ำเสียสังเคราะห์มีองค์ประกอบคือ ค่า COD 500 มก./ล. (กลูโคส 350 มก./ล.:อะซิเตท 150 มก./ล.) ความเค็ม 2% ฟอสฟอรัส 15 มก./ล. pH น้ำเข้า 6.0 พบว่าประชากร *Acinetobacter sp.*ในแต่ละถังบำบัดมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วจากจำนวนเริ่มต้น $7.1x10^{12}$ เซลล์/ล. จนไม่สามารถเพาะเชื้อ *Acinetobacter* sp. บนอาหารแข็งที่พัฒนาขึ้นได้หลังจากเริ่มเติมเชื้อในระบบเพียง 46 ชั่วโมง การที่เชื้อ *Acinetobacter* sp.ลดจำนวนลงจนหมดจากระบบในที่สุดเป็นไปได้ที่จะเกิดจากแหล่งคาร์บอนที่ไม่เหมาะสม pH น้ำเข้า หรืออาจเป็นความเค็มเกลือที่มากไป ปัจจัยเหล่านี้ย่อมมีผลต่อการเจริญของ *Acinetobacter sp.* นอกจากนี้ในรอบการเดินระบบจะเห็นได้ว่าระบบไม่สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้โดยมีฟอสฟอรัสในถังน้ำออก 9.71 มก./ล. (กำจัดได้ 33.2% ของถังน้ำเข้า)และค่า COD ในถังออกซิกก็มีสูงถึง 115 มก./ล. (กำจัดได้ 75.6%)แสดงว่าระบบไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการบำบัดน้ำทั้งทางด้านการลดค่า COD และการลดปริมาณฟอสฟอรัส สิ่งมีชีวิตจะเจริญได้ดีสิ่งแวดล้อมย่อมต้องเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยถ้าระดับ pH อุณหภูมิ ความเค็ม ตลอดจนสารเคมีต่างๆ ถ้าอยู่ในภาวะไม่เหมาะสมแล้วการเจริญเติบโตและการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆก็จะไม่ดีเท่าที่ควร และอาจทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตายได้ (เปรมสุดา สมาน, 2539)

การศึกษาถึงแหล่งคาร์บอนบางอย่างเช่น กลูโคส อะซิเตท คาซามิโนแอซิดอย่างเดียวและการใช้ร่วมกันเพื่อดูลักษณะการเจริญของ *Acinetobacter* sp. ตามการทดลองที่ 5 ผลการทดลองพบว่า *Acinetobacter* sp. เจริญได้ดีที่สุดเมื่อใช้คาซามิโนแอซิดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยให้ Lag phase สั้นมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไนโตรเจนอินทรีย์ที่มีอยู่ในคาซามิโนแอซิดด้วยก็เป็นได้ รองลงมาคืออะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนให้ Lag phase 5 ชั่วโมง ในขณะที่กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ไม่เหมาะสมสำหรับ *Acinetobacter* sp. ถึงแม้จะสามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้แต่ก็ต้องใช้เวลาปรับ

ตัวมากกว่า 18 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามพบว่าการปรับตัวอาจดีขึ้นถ้ามีคาซามิโนแอซิดอยู่ด้วยโดยดูจากการที่ *Acinetobacter* sp. เจริญโดยให้ Lag phase ยาวเป็น 2 ชั่วโมงแต่ก็ให้น้ำหนักเซลล์แห้งที่มากขึ้นด้วย มีรายงานของ Deinema และคณะ (1980) ซึ่งศึกษาการสะสมฟอสฟอรัสใน *Acinetobacter spp.* พบว่า Acinetobacter สายพันธุ์ 210A ไม่สามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และรายงานของ Baumann และคณะในปี 1968 ซึ่งแยกเชื้อ Acinetobacter จากตัวอย่างดินและน้ำพบว่ามีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานได้ และรายงานของ Knight และคณะ (1995) จากการศึกษาความแตกต่างในกระบวนการเมตาโบลิซึมของ *Acinetobacter* sp. ที่แยกได้จากตะกอนสลัดจ์พบว่า 99 % สามารถใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งพลังงานได้ในขณะที่มีเพียง 6% ที่ใช้ glucose-6-phosphate เป็นแหล่งพลังงานและเพียง 9 %ที่ใช้ glucose-1-phosphate เป็นแหล่งพลังงาน การที่ *Acinetobacter* sp. ลดจำนวนลงในแต่ละถังบำบัดอาจเป็นได้ว่าองค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์มีกลูโคสมากถึง 350มก./ล. ถึงแม้ว่าคาซามิโนแอซิดจะเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุด แต่ในธรรมชาติพบว่าอะซิเตทซึ่งเป็นกรดระเหยง่ายชนิดหนึ่ง (VFAs) ซึ่งเป็นผลิตผลจากกระบวนการหมักในระยะไร้อากาศ (Sedlak, 1991) ดังนั้นการทดลองต่อๆไปจึงเลือกใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอน โดยคาซามิโนแอซิดอาจนำมาใช้ได้ในกรณีที่มีความจำเป็นในการเพิ่มจำนวนเซลล์เพราะ *Acinetobacter* sp. สามารถเจริญได้ดีกว่าและให้จำนวนเซลล์สุดท้ายมากกว่า

การเจริญของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตต่างๆ ถูกควบคุมด้วยกระบวนการเมตาโบลิซึม ซึ่งมีเอนไซม์เป็นตัวการสำคัญ และการทำงานของเอนไซม์ก็ขึ้นอยู่กับ pH ซึ่ง pH ที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิดก็แตกต่างกันไปจึงศึกษาถึงผลของ pH เริ่มต้นของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีต่อรูปแบบการเจริญและการสะสมฟอสเฟตของ *Acinetobacter* sp. ตามการทดลองที่ 6 เมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.0, 6.56, 6.87, 7.13, 7.43 ผลการทดลองพบว่า *Acinetobacter* sp. เจริญดีที่สุดเมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.56 ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 262.5 มก./ล. ประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟต 68 % และเจริญไม่ได้เลยเมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 หลังสังเกตการเจริญกว่า 40 ชั่วโมง นอกจากนี้แนวโน้มการเจริญจะลดลงเมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มี pH เริ่มต้นสูงขึ้น เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำเสียสังเคราะห์จะพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันประมาณ 8.5 ในขณะที่เซลล์มีช่วงการเจริญในระยะ stationary phase เหมือนกัน เช่นเดียวกับ Deinema และคณะในปี 1980 พบว่าแนวโน้มการเจริญและการสะสมฟอสเฟตจะลดลงเมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มี pH เริ่มต้นสูงถึง 8.8 จากการทดลองนี้ถ้าได้มีการควบคุมน้ำเสียให้มี pH อยู่ในช่วง 6.5-7.5 เซลล์ก็น่าจะเจริญต่อไปได้ถ้าแหล่งคาร์บอนยังไม่หมด เนื่องจากปัจจัยที่เป็นไปได้ที่ทำให้เซลล์เจริญอยู่ในระยะ stationary phase ก็คือ แหล่งอาหารหมด หรือ สารผลิตผลจากขบวนการเมตาโบลิซึมที่เป็นพิษ (Nester et al., 1995)

จากการทดลองผลของ pH เริ่มต้นของน้ำเสียสังเคราะห์ต่อรูปแบบการเจริญและการสะสมฟอสเฟตข้างต้นจึงเลือก pH เริ่มต้นของน้ำเสียสังเคราะห์เท่ากับ 6.5 เพื่อนำมาแปรผันค่าความเค็มตั้งแต่ 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 % ตามลำดับเพื่อดูผลกระทบต่อรูปแบบการเจริญและการสะสมฟอสเฟตตามการทดลองที่ 7 ผลการทดลองพบว่า *Acinetobacter* sp. มีรูปแบบการเจริญที่ไม่แตกต่างกันเมื่อมีค่าความเค็ม 0.5 - 1.5 % แต่น้ำหนักเซลล์แห้งและประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตจะสูงสุดเมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มีค่าความเค็ม 0.5% คือ 175 มก./ล.และ 58% ตามลำดับ และเมื่อค่าความเค็มสูงถึง 2 % *Acinetobacter* sp. จะให้ลักษณะการเจริญที่มี Lag phase ยาวขึ้นและเมื่อเพิ่มความเค็มเป็น 3 % สังเกตไม่พบการเจริญหลังสังเกตการเจริญนาน 40 ชั่วโมง เนื่องจาก *Acinetobacter* sp. ไม่ใช่แบคทีเรียชอบเค็ม (halophilic bacteria) การเปลี่ยนแปลง pH มีรูปแบบคล้ายกันเมื่อลักษณะการเจริญเหมือนกัน เมื่อพิจารณาถึงความสามารถในการสะสมฟอสเฟตเฉพาะเซลล์ จากตารางที่ 6 พบว่าเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นในช่วง 0.5 - 2% ค่าความสามารถในการสะสมฟอสเฟตเฉพาะเซลล์ (RPU) จะลดลงจาก 8.11, 7.88, 6.12, 5.2 ตามลำดับ แสดงว่าเมื่อน้ำเสียสังเคราะห์มีค่าความเค็มสูงขึ้นจะทำให้จำนวนเซลล์ *Acinetobacter* sp. ลดลง และความสามารถในการสะสมฟอสเฟตเฉพาะเซลล์ลดลงด้วย จากรายงานของ Momba และ Cloeteในปี 1996 แสดงข้อมูลว่าระบบจะสามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้ดีเมื่อระบบมีจำนวนโพลีฟอสเฟตแบคทีเรียมากๆ การที่ความสามารถในการสะสมฟอสเฟตเฉพาะเซลล์ลดลงเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นพอจะอธิบายได้ด้วยเหตุผลด้านแรงดันออสโมซีสที่มีต่อเซลล์ กล่าวคือเมื่อเซลล์เจริญอยู่ในภาวะสารละลายภายนอกเซลล์มีความเข้มข้นของเกลือสูง (hyperosmotic pressure) เซลล์จะพยายามปรับตัวโดยปั๊ม K^+ เข้าไปในเซลล์ร่วมกับการสร้างกรดอมิโนขึ้นเพื่อเพิ่ม osmotic pressure ในเซลล์ให้สูงด้วย เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เซลล์มีปริมาตรเหลือสำหรับการสะสมฟอสเฟตลดลง และเนื่องจาก *Acinetobacter* sp. มีความสามารถในการทนแรง osmotic pressure ในเซลล์ได้สูงสุดค่าหนึ่ง เมื่อความเค็มสูงถึง 3% ในกรณีของ *Acinetobacter* sp. เซลล์ไม่สามารถที่จะชดเชยแรงดัน osmotic ได้เพียงพอเซลล์ก็จะหยุดการเจริญในที่สุด (Nester et al., 1995) นอกจากนี้ Csonka (1989) รายงานว่า เมื่อแบคทีเรียอยู่ในภาวะ hypoosmotic แบคทีเรียจะสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ จึงทำให้ปริมาณไซโตพลาสซึมลดปริมาตรลง มีผลทำให้อัตราการใช้อาหารเพื่อสร้างพลังงานหรือการสังเคราะห์สารลดลง ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลายสารอินทรีย์ซึ่งเกี่ยวข้องกับ osmotic pressure ของเซลล์ทำให้ปฏิกิริยาต่างๆภายในเซลล์เกิดช้าลง

จากผลการทดลองผลของความเค็มเราจึงเลือกความเค็ม 0.5% สำหรับทำการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป เมื่อได้องค์ประกอบของน้ำเสียสังเคราะห์ว่าควรมี pH เริ่มต้น 6.5 ค่าความเค็ม 0.5% แล้วจึงทำการศึกษาผลของค่า COD เพื่อดูความสามารถในการเจริญและการสะสมฟอสเฟตตามการทดลองที่ 8 โดยแปรผันค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 400, 500, 600, 700 มก./ล. ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า

เมื่อค่า COD สูงขึ้นซึ่งก็คือปริมาณแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เพิ่มขึ้น ลักษณะการเจริญยังคงมีลักษณะคล้ายกันคือมี Lag phase 4 ชั่วโมง และให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเมื่อมีค่า COD 700 มก./ล. คือ 153.13 มก./ล.ประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟต 45.2% และลักษณะการเจริญตามรูปที่ 27 จะเห็นว่าหลังจากเซลล์อยู่ใน stationary phase ไม่นาน ก็ปรากฏระยะ initial declined phase ซึ่งพบว่ามีฟอสเฟต release เล็กน้อยเนื่องจากระยะนี้อัตราการตายของเซลล์สูงกว่าอัตราการสร้างเซลล์ใหม่ การเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำเสียสังเคราะห์เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือเพิ่มขึ้นตามการเจริญสอดคล้องกับรูปแบบการเจริญ จากผลการทดลองพอสรุปได้ว่าเมื่อปริมาณอาหารสำหรับ *Acinetobacter* sp. เพิ่มขึ้นก็ทำให้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตก็จะสูงขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามจะเลือกใช้ค่า COD 500 มก./ล. สำหรับการศึกษาต่อไปเพื่อให้สามารถเทียบเคียงกับผลการทดลองในการเดินระบบจำลองก่อนหน้านี้

เมื่อได้ค่า pH ความเค็ม COD ที่เหมาะกับการศึกษาแล้วคือ pH 6.5 ความเค็ม 0.5% COD 500 มก./ล. แล้วจึงทดลองศึกษาดูการเปลี่ยนแปลงรอบการเขย่าตามการทดลองที่ 9 โดยใช้รอบการเขย่า 80, 120, 160, 200, 240 รอบต่อนาที ตามลำดับ ก่อนหน้านี้ในการทดลองของ Momba และ Cloete (1996) ศึกษาความสัมพันธ์ของจำนวน *Acinetobacter junii* ต่อการสะสมฟอสเฟตในระบบแอคทิเวเต็ดสลัดจ์โดยใช้รอบการเขย่า 80 รอบต่อนาทีในการศึกษา และในปี 1991 Bayly และคณะศึกษาพันธุกรรมต่อการสังเคราะห์สารประกอบโพลีฟอสเฟตของ *Acinetobacter* sp. โดยใช้รอบการเขย่า 150 รอบต่อนาที การใช้รอบการเขย่าต่างๆกันมีผลต่อรูปแบบการเจริญและการสะสมฟอสเฟตเป็นอย่างไรจึงน่าศึกษา จากผลการทดลองที่ 4.8 พบว่าเมื่อใช้รอบการเขย่า 240 รอบต่อนาที เซลล์จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยมี Lag phase เพียง 2 ชั่วโมงและเข้าสู่ Late log phase ที่ชั่วโมงที่ 8 และเซลล์จะเจริญเติบโตช้าที่สุดเมื่อใช้รอบการเขย่า 80 รอบต่อนาที โดยมี Lag phase ยาวเท่ากับเมื่อใช้รอบการเขย่า 120, 160, 200 รอบต่อนาทีคือ 4 ชั่วโมง แต่ลักษณะการเจริญจะเกิดขึ้นช้าๆ เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงการเจริญก็ยังไปไม่ถึง stationary phase โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้งที่ชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 93.75 มก./ล. การเปลี่ยนแปลง pH มีลักษณะสอดคล้องไปกับการเจริญคือ เมื่อรอบการเขย่า 240 รอบต่อนาทีมีการเจริญสูงสุดการเปลี่ยนแปลง pH ก็มีความชันมากกว่าเมื่อใช้รอบการเขย่าต่ำ และในรอบการเขย่า 80 รอบต่อนาทีการเปลี่ยนแปลง pH จะมีความชันน้อยที่สุดสอดคล้องกับการเจริญที่เป็นไปอย่างช้าๆ ประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตสูงสุดเมื่อเซลล์เจริญสูงสุดคือ 39.6 % แต่แนวโน้มการกำจัดฟอสเฟตพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ที่ 28 % และต่ำสุดที่ 21.2 % ซึ่งเลี้ยงที่รอบการเขย่า 80 รอบต่อนาที ซึ่งเซลล์เจริญอย่างช้าๆ ขัดแย้งกับงานวิจัยของ Dumsday (1994) ซึ่งศึกษาถึงค่าการละลายของออกซิเจนตั้งแต่ 1-100% พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่ออัตราการสะสมฟอสเฟตเมื่อให้ค่าออกซิเจนละลายต่างกัน การที่ *Acinetobacter* sp. เจริญดีเมื่อใช้รอบการเขย่าสูงเนื่องจาก *Acinetobacter* sp. เป็น strict aerobes จึงเจริญได้ดีเมื่อมี

ออกซิเจน รอบการเขย่าสูงขึ้นความสามารถในการละลายของออกซิเจนจากอากาศสู่อาหารเลี้ยงเชื้อก็มีมากขึ้น เมื่อเพิ่มรอบการเขย่าจึงเหมือนการเพิ่มออกซิเจน *Acinetobacter* sp. จึงเจริญได้เร็วขึ้น แต่ในทางปฏิบัติในการเดินระบบควรให้ออกซิเจนเพียงปริมาณหนึ่งเท่านั้น เพราะการให้ออกซิเจนที่มากไปในระบบ continuous เมื่อมีการเวียนตะกอนหรือน้ำเสีย ค่าออกซิเจนละลายจะไปรบกวนถังบำบัดอื่นได้ และในระบบ SBR ถ้าให้ออกซิเจนมากเกินไปในช่วงแอโรบิก เมื่อหยุดการให้อากาศจะต้องใช้เวลานานกว่าออกซิเจนจะหมดไปจากถังบำบัดและเข้าสู่ระยะไร้อากาศ นอกจากนี้การให้ออกซิเจนมากเกินไปก็เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายด้วย

เมื่อศึกษาถึงปัจจัยแวดล้อมบางอย่างต่อการเจริญและการสะสมฟอสเฟตแล้ว จึงทดลองเดินระบบบำบัดโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มี COD 500มก./ล. (กลูโคส 250มก./ล. : อะซิเตท 250 มก./ล.) ปรับ pH น้ำเข้าเป็น 6.5 ฟอสฟอรัส 15 มก./ล.ใช้ค่าความเค็ม 1.5 % ซึ่งเป็นค่าความเค็มสูงสุดที่รูปแบบการเจริญไม่เปลี่ยน และทำให้น้ำเข้าปลอดเชื้อก่อนเข้าระบบเพื่อคุมปริมาณองค์ประกอบของน้ำเสียให้คงที่ตลอดการทดลอง ปัจจัยอื่นๆในการคุมระบบคงเดิม จากการเตรียมหัวเชื้อตะกอนสลัดจ์โดยใช้ปริมาณ *Acinetobacter* sp. ตั้งต้นในปริมาณมากตามการทดลองที่ 12.2 และใช้อาหารแข็ง Herellea plus Pen G&C พบว่าในหัวเชื้อตะกอนสลัดจ์ไม่พบ *Acinetobacter* sp. และมีจุลินทรีย์อื่นที่เจริญได้ในอาหารแข็ง Herellea plus Pen G&C จึงจำเป็นต้องพัฒนาอาหารใหม่โดยอาศัยยาปฏิชีวนะเช่นเดิมเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้ออื่นโดยไม่มีผลต่อ *Acinetobacter* sp. ตามการทดลองที่ 10 ผลการทดลองพบว่ามี ยา Norfloxacin เพียงชนิดเดียวที่สามารถนำมาใช้ได้ นอกจากนี้จากการทดลองยังแสดงให้เห็นถึงจุลินทรีย์ที่ดื้อต่อยา Chloramphenicol มีอยู่จริง เนื่องจากยา Norfloxacin ซึ่งเป็นยาเพียงชนิดเดียวที่ *Acinetobacter* sp. ต้านทานได้โดยยับยั้งจุลินทรีย์อื่นในตะกอนสลัดจ์ แต่พบว่ารอบแผ่นยาทดสอบมีโซนใสเล็กน้อย จึงทำการทดลองที่ 11 เพื่อให้ทราบปริมาณยา Norfloxacin เข้มข้นสูงสุดที่ไม่มีผลต่อ *Acinetobacter* sp. ในการนำไปใช้ยับยั้งจุลินทรีย์รบกวน ผลการทดลองที่ 4.9 พบว่าเมื่อเตรียมจำนวน *Acinetobacter* sp. 7.1×10^{12} เซลล์/มล. แล้วเจือจางให้เหมาะสมที่ 10^{-9} นำตัวอย่างไปกระจายให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Herellea ที่เติม ยา Norfloxacin ในปริมาณ 10, 20, 30, 40, 80 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับพบว่า ปริมาณยา 10-30 ไมโครกรัม/มล. ไม่มีผลต่อปริมาณ *Acinetobacter* sp. แต่เมื่อยาเข้มข้นเป็น 40 ไมโครกรัม/มล.พบว่าปริมาณเชื้อลดลงอย่างเห็นได้ชัดและเมื่อยาเข้มข้นเป็น 80 ไมโครกรัม/มล.ไม่พบเชื้อ *Acinetobacter* sp. บนผิวหน้าอาหารแข็ง Herellea จึงเลือกใช้ความเข้มข้นยา Norfloxacin 30 ไมโครกรัม/มล.สำหรับเติมในอาหารติดตาม *Acinetobacter* sp. ที่พัฒนาขึ้นใหม่

เมื่อเติม *Acinetobacter* sp. ลงในระบบ Three-Stage Phoredox โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มี COD 500 มก./ล. (กลูโคส 250มก./ล. : อะซิเตท 250 มก./ล.) ปรับ pH น้ำเข้าเป็น 6.5 ฟอสฟอรัส 15 มก./ล.ใช้ค่าความเค็ม 1.5 % และทำให้น้ำเข้าปลอดเชื้อก่อนเข้าระบบเพื่อคุมปริมาณองค์ประกอบ

ของน้ำเสียให้คงที่ตลอดการทดลอง ปัจจัยอื่นๆในการคุมระบบคงเดิมตามการทดลองที่12.1 ผลการติดตามประชากร *Acinetobacter* sp. พบว่า *Acinetobacter* sp. ไม่สามารถที่จะอยู่ร่วมกับจุลินทรีย์อื่นในระบบเชื้อผสมได้และหมดไปจากระบบหลังจากเติมลงไปในเวลา 46 ชั่วโมง เป็นไปได้ว่า *Acinetobacter* sp. มีความสามารถในการใช้อาหารสู้แบคทีเรียอื่นไม่ได้ กล่าวคือเมื่อมีแบคทีเรียมากกว่า 1 ชนิด ต้องการสารอาหารชนิดเดียวกัน ซึ่งมีอยู่ในปริมาณจำกัด จุลชีพชนิดหนึ่งอาจเป็นตัวเด่นโดยไม่ต้องเล่นงานตัวอื่นโดยตรง จากการศึกษาด้วยระบบ CSTR (Continuous Stirred Tank Reaction) พบว่าจุลชีพที่เติบโตเร็วที่สุดโดยใช้สารอาหารในระดับที่มีอยู่จะทำให้จุลชีพอื่นสูญจากระบบได้(Meers, 1973) หรืออาจเป็นได้ว่า มีสารผลิตผลจากการหมักของจุลินทรีย์อื่นซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Acinetobacter* sp. ในปี 1984 Lewis และคณะ กล่าวว่าการที่จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์มาอยู่ร่วมกัน เมื่อมีการย่อยสลายสารอาหารต่างๆ แล้วผลิตกรดอมิโน เปปไทด์ น้ำตาลโพลี แอลกอฮอล์ วิตามิน แร่ธาตุต่างๆที่จำเป็นต่อการเจริญ สารปฏิชีวนะ รวมทั้งสารพิษ โดยสารเหล่านี้บางชนิดมีผลช่วยการเจริญหรือไม่ก็ยับยั้งการเจริญ นอกจากนี้ยังมีความสัมพันธ์แบบ Predation ระหว่าง *Acinetobacter* sp. กับโปรโตซัวเมื่อ *Acinetobacter* sp. ไม่สามารถเจริญในตะกอนสลัดจ์ร่วมกับจุลินทรีย์อื่น แต่ล่องลอยอยู่ภายนอกก้อนตะกอนก็จะถูกโปรโตซัวจับกินเป็นอาหารได้โดยง่าย เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการกำจัดฟอสเฟตของรอบการบำบัดนี้จะพบว่า มีประสิทธิภาพลดลงจากเดิม 33.2 % เหลือเพียง 12.5 % แต่ประสิทธิภาพการลดค่า COD ดีขึ้นโดยกำจัด COD ได้ 93.6 % จากเดิม 75.6 % ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Panswad และ Anan (1998) ซึ่งพบว่าเมื่อปริมาณโซเดียมคลอไรด์สูงขึ้นจะส่งผลกระทบต่อโพลีฟอสเฟตแบคทีเรียมากกว่าจุลินทรีย์ที่กำจัดสารอินทรีย์ จึงทำให้ระบบที่มีความเค็มกำจัดฟอสฟอรัสได้ไม่ดีในขณะที่การลดค่า COD มีผลกระทบน้อยกว่า เมื่อดูค่า pH จะเห็นได้ว่า เท่ากับ 7.02, 7.68, 7.38 ในถังแอนแอโรบิก ถังแอน็อกซิก ถังออกซิกตามลำดับซึ่งอยู่ในช่วงที่ *Acinetobacter sp.* สามารถเจริญได้ดี เหตุผลอีกประการซึ่งอาจเป็นได้คือ *Acinetobacter* sp. เป็น strictly aerobe สามารถแบ่งตัวได้ดีในถังแอโรบิก โดยขณะที่เซลล์อยู่ในถังแอนแอโรบิกอาจมีการปลดปล่อยฟอสเฟตออกมาเพื่อให้มีพลังงานสำหรับหล่อเลี้ยงเซลล์และเมื่อมาถึงถังแอโรบิกจึงเริ่มแบ่งตัวอีกครั้ง แต่ปริมาณสารอาหารในถังแอโรบิกต่ำไปจนไม่สามารถกระตุ้นให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนแบบทวีคูณได้ จึงทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด (McCarty et al., 1981) Bayly และคณะ (1994) รายงานว่ามีผลการทดลองเกี่ยวกับเชื้อบริสุทธิ์ของ Acinetobacter ที่แยกได้จากระบบที่กำจัดฟอสเฟตได้ดีมากมาย ที่เมื่อนำไปศึกษาในระบบเชื้อผสมพบว่าพฤติการณ์ของระบบไม่ได้ไปในทิศทางเดียวกับการทดลองด้วยเชื้อบริสุทธิ์ นิภา เดโชดำรงสิน (2540) ศึกษาการใช้ *Bacillus* spp. เพื่อเสริมผลผลิตกุ้งกุลาดำ โดยมีการเติมเชื้อ *Bacillus* spp. ลงในบ่อกุ้งพบว่าแบคทีเรียจะมีจำนวนลดลงหลังเติมเชื้อลงในระบบ แต่สามารถแก้ด้วยการเติมเชื้อ *Bacillus* spp. เป็นระยะเพื่อควบคุมให้มีในปริมาณหนึ่งเสมอ ปัจจุบันในการเลี้ยงกุ้งหรือปลาพบว่ามีการขาย

จุลินทรีย์สำหรับบำบัดน้ำและแนะนำให้มีการเติมเป็นระยะเพื่อควบคุมให้มีจุลินทรีย์ที่ใช้เติมในปริมาณที่คงที่ระดับหนึ่ง

การที่ *Acinetobacter* sp. ไม่สามารถเจริญอยู่ได้ในระบบบำบัด Three-Stage Phoredox ที่มีองค์ประกอบการควบคุมระบบตามที่กล่าวก่อนหน้านี้ ไม่น่าแปลกใจมากนัก เพราะ *Acinetobacter* sp. มีจำนวนมากบ้างน้อยบ้างในระบบบำบัดที่กำจัดฟอสฟอรัสได้นอกจากนี้ระบบบำบัดที่สามารถกำจัดฟอสฟอรัสได้ดีบางระบบอาจไม่สามารถแยกเชื้อ *Acinetobacter* sp. ได้เลยก็ได้ (Hascoet et al., 1985) แต่สามารถแยก Pseudomonas ได้เสมอ (Meganck et al., 1985) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่า *Acinetobacter* sp. เป็นโพลีฟอสเฟตแบคทีเรีย ที่สามารถสะสมฟอสเฟตได้ในปริมาณที่มากเกินกว่าความจำเป็นของเซลล์ปกติ (1-3%) ซึ่งสังเกตได้จากค่า RPU ในตารางที่ 5-8 มีค่าระหว่าง 5.20-9.98 ดังนั้นถ้าระบบใดมีปัจจัยของน้ำเสีย ปัจจัยทางกายภาพ และปัจจัยทางชีวภาพที่เอื้อต่อการเพิ่มจำนวน *Acinetobacter* sp. ระบบบำบัดน้ำเสียนั้นก็มีโอกาศที่จะประสบความสำเร็จในการกำจัดฟอสเฟตได้มาก

Acinetobacter sp. จะมีรูปร่างต่างกันเมื่อเซลล์เจริญในระยะต่างกันคือมีรูปร่าง rod เมื่อเซลล์เจริญในระยะ log phase และมีรูปร่างเปลี่ยนเป็นเกือบกลม (coccus) เมื่อเซลล์เจริญอยู่ในระยะ stationary phase รูปร่างที่เปลี่ยนไปในแต่ละช่วงการเจริญอาจจะมีผลต่อการสะสมฟอสเฟตของเซลล์ได้ ในปี 1994 Cloete และ Bosch ศึกษาช่วงการเจริญต่อการสะสมฟอสเฟตของ Acinetobacter พบว่าเซลล์จะสะสมฟอสเฟตเมื่อเซลล์เจริญอยู่ในระยะ lag phase และstationary phase และเซลล์จะปลดปล่อยฟอสเฟตเมื่อเซลล์เจริญอยู่ในระยะ log phase ในปี 1996 Momba และ Cloete ศึกษาความสัมพันธ์ของจำนวน *Acinetobacter junii* ต่อการสะสมฟอสเฟตพบว่าเมื่อใช้เซลล์เริ่มต้นในปริมาณสูงเป็นหัวเชื้อตั้งต้น(10^8เซลล์/มล.) เซลล์จะสามารถสะสมฟอสเฟตตลอดการเจริญทั้งระยะ lag phase log phase และระยะ stationary phase เมื่อใช้เซลล์เริ่มต้นความเข้มข้นของเซลล์ต่ำเป็นหัวเชื้อตั้งต้น (10^4-10^6เซลล์/มล.) พบว่าในระยะ lag phase เซลล์จะปลดปล่อยฟอสเฟตออกมาตลอดจนเซลล์เจริญถึงระยะ log phase และจะเริ่มสะสมฟอสเฟตเมื่อเซลล์เจริญถึงระยะ late log phase เป็นต้นไป Deinema และคณะในปี 1980 ศึกษาการสะสมฟอสเฟตใน *Acinetobacter spp.* พบว่าสามารถสะสมฟอสเฟตได้ตลอดช่วงการเจริญ และมีการสะสมฟอสเฟตลดลงในช่วงปลายของ log phase และมีการปลดปล่อยฟอสเฟตเล็กน้อยเมื่อเซลล์เจริญถึงระยะ stationary phase

จากการทดลองที่13 ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของระยะการเจริญต่อการสะสมฟอสเฟตและความสัมพันธ์ของปริมาณเอนไซม์ Polyphosphate Kinase Alkaline phosphatase Polyphosphate:AMP Phosphotransferase ในระยะการเจริญที่ต่างกัน พบว่ามีความสัมพันธ์ของระยะการเจริญต่อการสะสมฟอสเฟตคล้าย Dienema และคณะในปี 1980 คือมีการสะสมฟอสเฟตตลอดการเจริญโดยมีการสะสมฟอสเฟตมากที่สุดในช่วง late log phase และในช่วง initial declined

phase มีการปลดปล่อยฟอสเฟตเล็กน้อย เมื่อนำเซลล์ในระยะ mid log phase late log phase initial declined phase มาย้อมดูโพลีฟอสเฟตแกรนูลพบว่าในเซลล์ระยะ mid log phase มีการสะสมฟอสเฟตในเซลล์ให้เกรดได้ + และใน late log phase และ initial declined phase ให้เกรดได้ ++ ดังแสดงในตารางที่ 10 รูปที่ 49, 50, 51 โดยเซลล์ในระยะ initial declined phase เป็นระยะที่เซลล์มีโพลีฟอสเฟตแกรนูลในเซลล์มากที่สุดแต่เป็นระยะที่แหล่งคาร์บอนและพลังงานเริ่มขาดแคลน ดังนั้นจะพบว่าบางเซลล์มีการปลดปล่อยฟอสเฟตเพื่อให้ได้พลังงานและรักษาการมีชีพของเซลล์ไว้ เมื่อย้อมเซลล์ที่เจริญในอาหารที่มีฟอสเฟตจำกัด (phosphate starved cell) ไม่พบว่ามีฟอสเฟตแกรนูลในเซลล์ให้เกรดได้ - ดังตารางที่ 10 รูปที่ 48

เอนไซม์ Polyphosphate Kinase สกัดได้ครั้งแรกจากเชื้อ *Escherichia coli* (Kornberg et al., 1956) โดยทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในสมการ

$$ATP + (PolyP)_n \leftrightarrow ADP + (PolyP)_{n+1}$$

หลังจากนั้นมีรายงานว่าแยกได้จากจุลินทรีย์อีกหลายชนิดที่สามารถสะสมฟอสเฟตได้เช่น *Corynebacterium xerosis Azotobacter vinelandii Salmonella minnesota Arthrobacter atrocyaneus Propionibacterium shermanii Pseudomonas vasicularis* และ *Acinetobacter calcoaceticus* (Toerien et al., 1990) ในปี 1965 Harold และ Harold พบว่าเอนไซม์ Polyphosphate Kinase จำเป็นในการสร้างสายโพลีเมอร์ของฟอสเฟต โดยพบว่าในสายพันธุ์กลายของ *Aerobacter aerogenes* ที่ไม่มีเอนไซม์ Polyphosphate Kinase ไม่สามารถที่จะสร้างสายโพลีฟอสเฟตได้ Harold ในปี 1964 พบว่า Polyphosphate Kinase จะถูกกระตุ้นให้มีกิจกรรมจำเพาะมากขึ้นเมื่อ *Aerobacter aerogenes* เจริญในสภาพที่ฟอสเฟตจำกัด Bayly และคณะ (1991) พบว่าเอนไซม์ Polyphosphate Kinase มีกิจกรรมจำเพาะไม่แตกต่างกันระหว่าง Acinetobacter สายพันธุ์ที่สะสมและไม่สะสมฟอสเฟต แต่จากผลการทดลองที่ 4.13 ได้ผลคล้าย Harold (1964) คือกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ Polyphosphate Kinase จะมีสูงสุดใน phosphate starved cell (4.67 ยูนิต/มก.โปรตีน) และในช่วงการเจริญของเซลล์จะพบว่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ Polyphosphate Kinase เพิ่มขึ้นเรื่อยๆคือ 0.87 ยูนิต/มก.โปรตีน ในระยะ mid log phase 1.54 ยูนิต/มก.โปรตีน ในระยะ late log phase และ 1.75 ยูนิต/มก.โปรตีน ในระยะ initial declined phase ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณฟอสเฟตในเซลล์ดังแสดงในตารางที่ 10 จึงน่าจะอธิบายได้ว่าในระยะที่เซลล์เจริญในอาหารที่มีฟอสเฟตสมบูรณ์ เอนไซม์ Polyphosphate Kinase น่าจะเร่งปฏิกิริยาไปในทางสร้างสายโพลีฟอสเฟต และเมื่อเซลล์เจริญในอาหารที่มีฟอสเฟตจำกัดหรือขาดแคลนแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เอนไซม์ Polyphosphate Kinase น่าจะทำหน้าที่สลายสายโพลีฟอสเฟตเพื่อให้ได้พลังงานในรูป ATP สำหรับการยังชีพของเซลล์

เอนไซม์ Alkaline phosphatase จะทำหน้าที่ย่อยสลายสาร โพลีฟอสเฟตเอสเทอร์ ภายนอกเซลล์ให้เป็น ออโธฟอสเฟต เพื่อที่เซลล์จะนำเข้าไปใช้ได้ ผลการทดลองที่ 4.13 พบว่ากิจกรรม

จำเพาะของเอนไซม์Alkaline phosphatase จะมีสูงสุดในระยะ starved cell เช่นเดียวกับการทดลองของ Harold และ Harold (1965) ที่ศึกษาใน *Aerobacter aerogenes* ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเนื่องจากในสภาวะที่ฟอสเฟตจำกัด เซลล์จะพยายามสร้างเอนไซม์ Alkaline phosphatase เพื่อที่จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารโพลีฟอสเฟตเอสเทอร์ภายนอกเซลล์ เมื่อภายนอกเซลล์มีปริมาณฟอสเฟตน้อย การที่เซลล์สร้างเอนไซม์ Alkaline phosphatase ออกมามากก็เพื่อเพิ่มโอกาสในการพบกันระหว่างเอนไซม์ Alkaline phosphatase และสารประกอบโพลีฟอสเฟตเอสเทอร์ สำหรับกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ Alkaline phosphatase ในระหว่างการเจริญระยะต่างๆ ซึ่งเจริญในอาหารที่มีฟอสเฟตสมบูรณ์จะพบว่าเอนไซม์ Alkaline phosphatase มีกิจกรรมจำเพาะต่ำไม่แตกต่างกันเท่าใดนัก

เอนไซม์ Polyphosphate:AMP Phosphotransferase ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสลายสารโพลีฟอสเฟตเพื่อสร้าง ADP ดังสมการ

$$(PolyP)_n + AMP \longrightarrow (PolyP)_{n-1} + ADP$$

จากผลการทดลองที่ 4.13 พบว่ามีกิจกรรมจำเพาะไม่ค่อยแตกต่างกันทั้งในstarved cell และการเจริญช่วงต่างๆคือ 2.46 2.65 2.33 2.26 ยูนิต/มก.โปรตีนใน starved cell mid log phase late log phase และ initial declined phase ตามลำดับ Bayly และคณะ (1991) พบว่า เอนไซม์ Polyphosphate:AMP Phosphotransferase ใน *Acinetobacter* มีกิจกรรมจำเพาะต่ำและไม่แตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์ที่สะสมและไม่สะสมฟอสเฟต Bonting และคณะ (1991) พบว่าเอนไซม์ Polyphosphate:AMP Phosphotransferase จะสร้างสาร ATP ร่วมกับเอนไซม์ Adenylate kinase การที่ *Acinetobacter* sp.มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ Polyphosphate:AMP Phosphotransferaseไม่แตกต่างกันในแต่ละระยะ เป็นไปได้ว่า *Acinetobacter* sp. สามารถสร้าง ADP เพื่อนำไปผลิตเป็น ATP ผ่านเอนไซม์ Adenylate kinase ได้ดีตลอดระยะการเจริญและทุกสภาพของเซลล์ แต่ก็สังเกตได้ว่าจะมี Activity สูงสุดในเซลล์ระยะ mid log phase ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์กำลังเจริญอย่างรวดเร็วนั่นเอง

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดที่มีต่อการเจริญระยะต่างๆจะเห็นได้ว่าเอนไซม์ Polyphosphate Kinase มีความเปลี่ยนแปลงในเซลล์ระยะต่างๆมากที่สุดและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟอสเฟตนอกเซลล์โดยจะเห็นว่าเมื่อนอกเซลล์เหลือปริมาณฟอสเฟตน้อยจะมีกิจกรรมจำเพาะเอนไซม์สูง ดังนั้นถ้าได้มีการนำไปศึกษาต่อควบคู่กับระบบบำบัดที่กำจัดฟอสฟอรัสได้ดีแล้ว อาจเป็นพารามิเตอร์หนึ่งในการติดตามควบคุมระบบบำบัดได้ โดยในสภาวะ Anaerobic ซึ่งเซลล์มีการปลดปล่อยฟอสเฟต ฉะนั้นในน้ำเลี้ยงเซลล์จึงมีฟอสเฟตมาก น่าจะมีเอนไซม์ Polyphosphate Kinase ในActivated sludgeต่ำ และใน Aerobic tank มีการสะสมฟอสเฟตมาก ฉะนั้นในน้ำเลี้ยงเซลล์จึงมีฟอสเฟตต่ำ และน่าที่จะมีเอนไซม์ Polyphosphate

Kinase สูง ถ้าได้ศึกษาในระบบบำบัดจริงได้ผลไปในทิศทางนี้ เอนไซม์ Polyphosphate Kinase ก็นับเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่สามารถใช้ติดตามปฏิกิริยาการกำจัดฟอสเฟตของระบบได้ดีทีเดียว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย