

งานวิจัยนี้แยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำเสียที่เก็บจากโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยา กรุงเทพมหานคร ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำเสีย พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 143 สายพันธุ์ และเมื่อย้อมสีแบคทีเรียด้วยอัลคาไลน์ ลอฟเฟลอร์ส เมทิลีน บลู พบแบคทีเรียที่สามารถสะสมโพลีฟอสเฟตได้ 10 สายพันธุ์ คิดเป็น 14.3 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด และเมื่อทำการตรวจความสามารถในการสะสมโพลีฟอสเฟตไว้ในเซลล์ของแบคทีเรียทั้ง 10 สายพันธุ์ภายใต้ภาวะไร้อากาศและมีการให้อากาศ พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียตัวอย่าง 3 สายพันธุ์ คือ CUW-1, CUW-3 และ CUW-8 ที่มีเปอร์เซ็นต์การดูดซับไว้ในเซลล์มากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อจำแนกสกุลของแบคทีเรียตัวอย่างดังกล่าว พบว่า CUW-1 น่าจะเป็น *Propionibacterium* sp., สายพันธุ์ CUW-3 น่าจะเป็น *Corynebacterium* sp. และสายพันธุ์ CUW-8 น่าจะเป็น *Renibacterium* sp. และเมื่อวิเคราะห์กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โพลีฟอสเฟตไคเนสของเชื้อทั้งสามสายพันธุ์ในสภาวะมีการให้อากาศ เท่ากับ 0.3945, 0.552 และ 0.256 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ และจากการออกแบบดีเอ็นเอไพรเมอร์เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน *ppk* ด้วยวิธีพีซีอาร์ในเชื้อตัวอย่างทั้งสามชนิดพบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ แต่สามารถตรวจพบการเพิ่มปริมาณยีนดังกล่าวในเชื้อ *E. coli* JM109 ซึ่งเป็นตัวควบคุมบวกโดยมีขนาดผลิตภัณฑ์ประมาณ 650 เบสแพร์ และเมื่อติดฉลากผลผลิตดังกล่าวด้วย digoxigenin แล้วใช้เป็นตัวติดตามตำแหน่งของยีน *ppk* ในเชื้อตัวอย่างทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่าปรากฏสัญญาณแสดงตำแหน่งของยีน *ppk* ของเชื้อตัวอย่างเพียง 2 สายพันธุ์คือ CUW-1 และ CUW-3 โดยสัญญาณดังกล่าวมีขนาดประมาณ 3 กิโลเบสแพร์ และเกิดสัญญาณที่ขนาดประมาณ 10 กิโลเบสแพร์ ในเชื้อ *E. coli* JM109 ที่เป็นตัวควบคุมบวก

Using wastewater medium, 143 bacterial isolates were obtained from water samples of the Si Phraya wastewater treatment plant. Ten of the isolates are polyphosphate accumulating bacteria (PAB), proving by Alkaline Loeffler's Methylene Blue staining. Among 10 PABs, only isolates which are assigned as CUW-1, CUW-3 and CUW-8, that showed phosphate removal activity higher than 25% removal as pure cultures. By using physiological and biochemical tests, CUW-1, CUW-3 and CUW-8 was identified as *Propionibacterium* sp., *Corynebacterium* sp. and *Renibacterium* sp., respectively. Specific activity of polyphosphate kinase in aerobic condition of each strain was 0.3945, 0.552 and 0.256 unit/mg protein, respectively. Two synthetic oligonucleotide primers were designed using available amino acid sequence information on the most conserved region of the PPK proteins from many bacteria and were successfully in amplifying 650 basepairs fragment of the *ppk* gene from *E. coli* JM109 but no amplified products of the 3 selected strains were detected. The *EcoRI* digested genomic DNA from the 3 strains were hybridized with the PCR product from *E. coli* JM109 which digoxigenin labeling. Hybridization signal of CUW-1 and CUW-3 were detected at 3 kilobases whereas *E. coli* JM109 labeling with a positive control had signal around 10 kilobases.