งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ในการทำงานร่วมกันเพื่อย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนในสภาวะไม่ใช้อากาศ โดยจุลินทรีย์ที่คัดเลือกและนำมาใช้ในการศึกษา คือ *B. licheniformis*, enriched ethanol utilizing bacteria (enriched EtUB) และ enriched methane producing bacteria (enriched MPB) เพื่อใช้เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ fermentative, acetogenic และ acetoclastic methanogensic bacteria ตามลำดับ ในการศึกษานี้ได้ตรวจสอบลักษณะของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในเบื้องต้น จากนั้นได้ติดตามความสัมพันธ์ในการใช้กลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนของจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาร่วมกันในลักษณะของ coculture และ triculture รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารตัวกลางไปเป็นผลิตภัณฑ์

ในการศึกษาการย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนของ coculture ที่มี *B. licheniformis* ร่วมกับ enriched MPB หรือร่วมกับ enriched EtUB พบว่าสามารถย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนได้ดีกว่าใช้ enriched MPB หรือ enriched EtUB เพียงอย่างเดียว ในการศึกษา coculture ระหว่าง *B. licheniformis* ร่วมกับ enriched EtUB พบว่าสามารถใช้เอทธานอลที่เกิดจากการย่อยสลายกลูโคสหมดภายใน 72 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก แต่ความสามารถในการดึงกรดอะซิติกไปใช้เพื่อผลิตก๊าซมีเธนเป็นไปได้ช้า และเกิดการสะสมกรดอะซิติกภายในระบบ และได้ก๊าซมีเธนต่ำ โดยองค์ประกอบของก๊าซมีเธนมีเพียงร้อยละ 15 ในขณะที่การทำงานร่วมกันของ *B. licheniformis* กับ enriched MPB ถึงแม้สามารถย่อยสลายเอทธานอลได้ช้ากว่า โดยใช้เวลานานถึง 336 ชั่วโมง แต่การที่ปริมาณกรดอะซิติกค่อยๆเพิ่มขึ้น ทำให้จุลินทรีย์ methanogens สามารถนำไปใช้ได้ทัน และไม่เกิดการสะสมกรด ทำให้ได้ก๊าซมีเธนสูง และ มีองค์ประกอบของก๊าซมีเธนถึงร้อยละ 57 ทั้งนี้เนื่องจากใน enriched MPB มีจำนวนจุลินทรีย์ methanogens สูงกว่า แต่มีจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้เอทธานอลต่ำกว่าเมื่อเทียบกับ enriched EtUB โดยที่ enriched EtUB มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มเท่ากับ 1.50×10^5 และ 2.80×10^4 MPN เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ enriched MPB มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้ง 2 กลุ่มเท่ากับ 3.77×10^4 และ 3.77×10^7 MPN เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ แต่การทำ coculture ที่มี enriched MPB ร่วมอยู่ ถึงแม้จะได้ก๊าซมีเธนสูง แต่มีอัตราการย่อยสลายเอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติกค่อนข้างช้า จึงส่งผลให้การเกิดก๊าซมีเธนช้าตามไปด้วย โดยเกิด methane yield สูงสุด (0.35 มิลลิลิตร/มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกใช้ไป) ที่ 600 ชั่วโมง

ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนให้ดีขึ้น จึงนำจุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่มมาทำงานร่วมกัน (triculture) เพื่อทดสอบการใช้กลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธน โดยเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม methanogens ให้มากขึ้น โดยศึกษาอยู่ในช่วง 10^4 ถึง 10^9 MPN เซลล์/มิลลิลิตร และควบคุมปริมาณเริ่มต้นของ *B. licheniformis* และ enriched EtUB ให้เท่ากับ 2.64×10^4 และ 1.50×10^5 MPN เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับในทุกการทดลอง จากการศึกษาพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ acetoclastic methanogens ควรมีจำนวนเป็น 10^9 MPN เซลล์/มิลลิลิตร โดยสัดส่วนที่เหมาะสมของ fermentative, acetogenic และ

methanogensic bacteria ในการย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนในการศึกษานี้อยู่ที่ 2.64 x 10^4 : 1.50 x 10^5 : 1.00 x 10^9 MPN เซลล์/มิลลิลิตร จะสามารถย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธน และให้ methane yield ถึง 0.37 มิลลิลิตร/มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกใช้ไป ภายในระยะเวลา 276 ชั่วโมง โดยไม่มีการสะสมของกรดอินทรีย์ ในการที่ระบบมีจำนวนจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเอทธานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้เร็ว ประกอบกับมีการเพิ่มจำนวนของ methanogens เริ่มต้นในปริมาณที่สูง สามารถดึงกรดอะซิติกไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เร่งการใช้กรดอะซิติก ไม่มีการสะสมกรดอะซิติกอยู่สูงในระบบ ลดผลการยับยั้งของกรดอะซิติกต่อจุลินทรีย์ methanogens ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายกลูโคสไปเป็นก๊าซมีเธนเกิดได้ดียิ่งขึ้น