การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 086 โดยใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน

วิจิตรา ใหม่จันทร์[1] พิชามญชุ์ กำมังละการ[2] สุวรรณา สุดปรึก[3] กุลนันท์ ปุ๊ดพรหม[3] ชุติมา อันชนะ[3] จันทร์ทิมา พงษ์พานิช[3] และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ[3,4*]

[1]โรงเรียนปัญจทรัพย์ ดินแดง กรุงเทพฯ 10400 [2]โรงเรียนบ้านแม่ต๋อม อมก๋อย เชียงใหม่ 50310 [3]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป และ [4]หน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วัฒนา กรุงเทพฯ 10110
*E-mail: surasakl@swu.ac.th

รับบทความ: 15 ตุลาคม 2555 ยอมรับตีพิมพ์: 26 พฤศจิกายน 2555

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR086 โดยใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ แอปเปิ้ล องุ่น ส้ม เผือก แครอท และมันฝรั่ง และใช้น้ำมะพร้าวเป็นตัวควบคุม โดยเริ่มจากการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในผลผลิตทางการเกษตรตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไดไนโตรซาลิก พบว่า ผลผลิตทางการเกษตรที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด 3 ลำดับแรก ได้แก่ แอปเปิ้ล เผือก และมันฝรั่ง จากนั้นนำผลผลิตทั้งหมดไปหมักกับ *Acetobacter xylinum* TISTR086 เพื่อผลิตเซลลูโลสโดยแปรผันปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 0 – 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ให้น้ำหนักเซลลูโลสสูงสุด ได้แก่ เผือก องุ่น และมะพร้าว ตามลำดับ ตัวอย่างจากเผือกที่ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรให้ผลผลิตสูงที่สุด เซลลูโลสที่อยู่ในรูปวุ้นสวรรค์มีความชื้นร้อยละ 90 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ดังนั้นจึงอธิบายได้ว่า ผลผลิตทางการเกษตรสามารถนำมาใช้ในการผลิตเซลลูโลสได้

คำสำคัญ: เซลลูโลสจากแบคทีเรีย ผลผลิตทางการเกษตร *Acetobacter xylinum* TISTR086

Production of Bacterial Cellulose by *Acetobacter xylinum* TISTR086 Using Agricultural Products as Carbon Sources

Wichitta Maichan[1], Pichamol Kammanglakan[2], Suwanna Sudpruek[3], Kullanan Prudprom[3], Chutima Anchana[3], Jantima Pongpanich[3], and Surasak Laloknam[3,4*]

[1]Panchasap School, Dindaeng, Bangkok 10400, Thailand, [2]Maetom School, Omkoi, Chiang Mai 50310, Thailand, [3]Department of General Science and [4]Research Unit on Science Technology and Environment for Learning, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Wattana, Bangkok 10110, Thailand

*E-mail: surasakl@swu.ac.th

Abstract

This research aimed at producing gelatinous bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* TISTR086 using agricultural products as carbon sources. Agricultural products were apple, grape and carrot, taro, carrot and potato, and coconut milk was used as a control. All samples were determined reducing sugar contents using dinitrosalic acid method. The result showed that three agricultural products with highest reducing sugar were apple juice, taro and potato, respectively. All agricultural products with a rage of 0 – 3 %(w/v) reducing sugar were fermented with *Acetobacter xylinum* TISTR086 to produce gelatinous bacterial cellulose. The finding indicated that the product giving the highest cellulose weight was taro, following by grape and coconut, respectively. The taro sample with 1%(w/v) of reducing sugar gave the highest cellulose weight. The fresh gelatinous bacterial cellulose had 90% moisture content. Therefore, the agricultural product is able to use as carbon source of cellulose production.

Keywords: Bacterial cellulose, Agricultural product, *Acetobacter xylinum* TISTR086

บทนำ:

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (gelatinous bacterial cellulose) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากหมักของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* โดยใช้น้ำมะพร้าวและน้ำตาลทรายเป็นแหล่งอาหาร และมีการปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงกรด (pH 4) โดยมีชื่อเรียกทั่วไปว่า วุ้นมะพร้าวหรือวุ้นสวรรค์ (NATA de coco) (ปิยรัชช์ กุลเมธี, 2555; สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2545; สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์, 2544; สุเมธ ตันตระเธียร และวราวุฒิ ครูส่ง, 2537; Forang et al., 1989; Iguchi et al., 2000; Ishikawa et al., 1995; Masaoka et al., 1993; Vandamme et al., 1988)

เซลลูโลส (cellulose) เป็นสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิดบีตา (1 → 4) ดังนั้นจึงมีประโยชน์ด้านโภชนาการโดยเป็นกากใยอาหาร (fiber) สำหรับมนุษย์ เนื่องจากมนุษย์ไม่มีเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ทำให้มนุษย์ไม่สามารถย่อยเซลลูโลสได้ (สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ, 2554; Ross et al., 1991)

งานวิจัยพัฒนาในการผลิตวุ้นสวรรค์มีมากมายเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มากขึ้น โดยปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ แหล่งที่เป็นคาร์บอนและไนโตรเจน พีเอช และปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น (กิ่งแก้ว เจริญพรสุข, 2547; จารุวรรณ ศิริพรรณพร และคณะ, 2544; วราวุฒิ ครูส่ง และคณะ, 2536; Ross et al., 1991; Vandamme et al., 1988) นอกจากเชื้อ *A. xylinum* แล้วยังมีรายงานว่า สามารถผลิตวุ้นสวรรค์ได้จากเชื้อสายพันธุ์ *Trichoderma reesei* (Wen et al., 2005) แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่มีรายงานได้แก่ เปลือกผลไม้ (แตงโม ขนุน สับปะรด) กากน้ำตาล กะทิ และเวย์ (กิ่งแก้ว เจริญพรสุข, 2547; ศิริพงษ์ เปรมจิต, 2542; สมปอง ใจดีเฉย, 2546)

วุ้นสวรรค์มีประโยชน์มากมายโดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารใช้เป็นส่วนผสมของอาหารหวานและอาหารคาว ทั้งนี้วุ้นสวรรค์เป็นกากใยอาหารจึงมีความเหมาะสมต่อผู้บริโภคที่มีความต้องการควบคุมน้ำหนัก สำหรับในด้านสิ่งแวดล้อมมีความพยายามพัฒนานำเส้นใยเซลลูโลสมาเป็นส่วนผสมในการทำพลาสติกชีวภาพ (bioplastic) เพื่อให้เกิดการย่อยสลายได้ง่าย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาแหล่งคาร์บอนที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อผลิตเป็นเซลลูโลสโดยการหมักของเชื้อ *A. xylinum* TISTR086 ใช้ทดแทนสูตรอาหารเลี้ยงที่มีส่วนผสมของน้ำตาลทราย (ซูโครส) เพื่อลดต้นทุนในการผลิตเซลลูโลสจากกระบวนการหมักโดยแบคทีเรีย

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum*

เตรียมอาหารเลี้ยงหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR086 ประกอบด้วยน้ำมะพร้าว 1,000 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 50 กรัม กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทำการปรับค่าพีเอชให้เป็น 4 ด้วยการเติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร นำไปทำให้ปลอดเชื้อโดยโดยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121±1 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำแอมพู (ampoule) ที่มีเชื้อ *A. xylinum* TISTR086 ใส่ลงในอาหารเลี้ยงตั้งทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ (สังเกตมีชั้นวุ้นอยู่บริเวณด้านบนของอาหารเลี้ยง) สามารถทำการเพิ่มจำนวนหัวเชื้อและใช้สำหรับการศึกษาได้

การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์การเกษตร

น้ำผลไม้สำเร็จรูป 100% ได้แก่ แอปเปิ้ล องุ่น และส้ม ซื้อจากร้านสะดวกซื้อบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร กรุงเทพฯ เผือก มันฝรั่ง และแครอท ซื้อจากตลาดสดคลองเตย

เตรียมตัวอย่างน้ำสกัดเผือก มันฝรั่ง และแครอท ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำไปต้มให้เดือดเป็นระยะเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง สารละลายที่กรองได้นำไปทำการทดลองต่อไป จากนั้นนำสารสกัดจากเผือก มันฝรั่ง และแครอท ไปหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้กลูโคสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

สร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 0 – 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำสารละลายน้ำตาลกลูโคส 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำสารละลายที่ได้ไปว่า ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/VIS Spectrophotometer model Jenway 6405) นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร จากนั้นนำสารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ DNS ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

การศึกษาแหล่งคาร์บอนจากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum*

เตรียมอาหารเลี้ยงสำหรับเชื้อ *A. xylinum* TISTR086 โดยเปลี่ยนจากสูตรดั้งเดิมที่มีการเติมน้ำตาลทรายและน้ำมะพร้าว ให้เป็นสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีการแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 0 – 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น) จากนั้นเติมเชื้อ *A. xylinum* TISTR086 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร เทอาหารที่เตรียมได้ลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตร บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเปลี่ยนและบันทึกผลในวันที่ 5 10 และ 15 ตามลำดับ โดยชั่งน้ำหนักสด และวัดความหนาของชั้นวุ้น หาร้อยละความชื้นโดยนำวุ้นสวรรค์ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณหาร้อยละความชื้นโดยนำน้ำหนักวุ้นก่อนอบลบด้วยน้ำหนักวุ้นหลังอบ แล้วหารด้วยน้ำหนักวุ้นก่อนอบ คูณด้วย 100

ผลการวิจัยและอภิปราย

ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในผลิตภัณฑ์การเกษตร

ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาโดยใช้สารละลาย

ตัวอย่างทำปฏิกิริยากับสารละลาย 3, 5-กรดไดไนโตรซาลิก ตามวิธีการศึกษาวิจัย ดังตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างผลิตภัณฑ์การเกษตรที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%w/v)
น้ำมะพร้าว	3.6
น้ำส้มสำเร็จรูป 100%	6.5
น้ำองุ่นสำเร็จรูป 100%	3.3
น้ำแอปเปิ้ลสำเร็จรูป 100%	9.2
10%(w/v) น้ำสกัดเผือก	7.5
10%(w/v) น้ำสกัดมันฝรั่ง	7.0
10%(w/v) น้ำสกัดแครอท	7.2

จากตาราง 1 พบว่า น้ำแอปเปิ้ลสำเร็จรูป 100% ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดและน้ำองุ่นสำเร็จรูป 100% ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด แสดงว่า ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนโดยแปรผันปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 – 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในการให้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียต่อไป

ศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนจากผลิตภัณฑ์การเกษตรต่อการผลิตเซลลูโลสโดย *A. xylinum*

ศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนจากผลิตภัณฑ์การเกษตรที่ความเข้มข้นตามปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน ดังภาพที่ 1

ภาพที่ 1ก แสดงน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และภาพที่ 1ข แสดงความหนาของชั้นวุ้นจากแบคทีเรีย พบว่ารูปแบบของน้ำหนักและความหนาของวุ้นเหมือนกัน โดยเผือกให้น้ำหนักและความหนามากที่สุด และแครอทให้ผลผลิตน้อยที่สุด

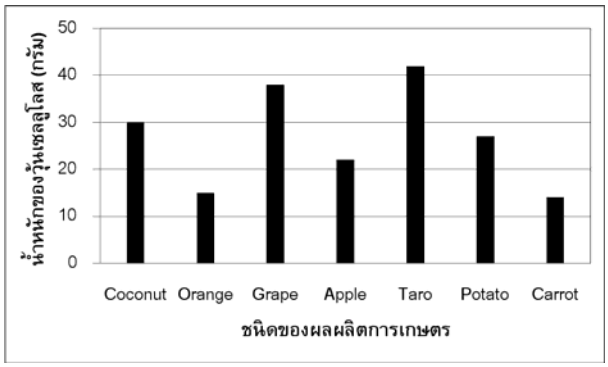
ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นเซลลูโลสโดย *A. xylinum*

นำ *A. xylinum* เติมลงในอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ที่แปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 0 – 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการหมักเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า อาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนทุกตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรให้ผลผลิตของวุ้นเซลลูโลสสูงสุด ทั้งนี้เผือกให้ปริมาณผลผลิตสูงที่สุด แสดงน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากเผือกดังภาพที่ 2

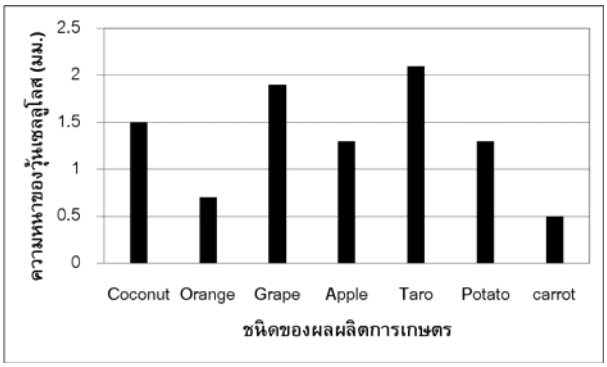
ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นจากผลิตภัณฑ์การเกษตรต่อการผลิตเซลลูโลสโดย *A. xylinum*

ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักเชื้อ *A. xylinum* ต่อแหล่งคาร์บอนจากผลิตภัณฑ์การเกษตรความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 5 10 และ 15 วัน ตามลำดับ ดังภาพที่ 3

จากภาพที่ 3 พบว่า ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการหมักวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย คือ 10 วัน เนื่องจากช่วงเวลา 15 วันให้น้ำหนักที่ไม่แตกต่างกัน โดยตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาให้ผลเป็นไปในทางเดียวกัน

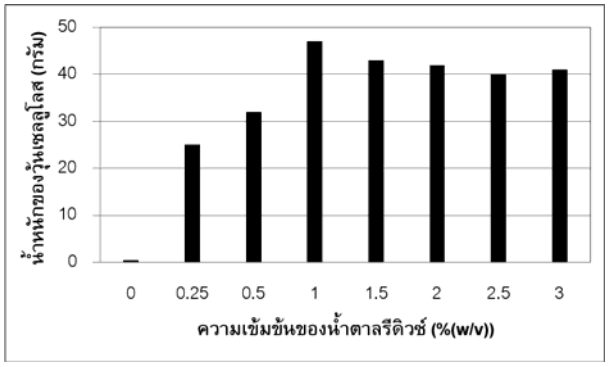


(ก)

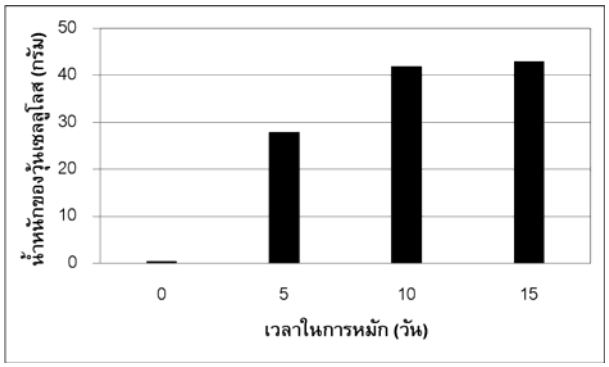


(ข)

ภาพที่ 1 น้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (ก) และความหนาของวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (ข) จากการหมักตัวอย่างชนิดต่าง ๆ ด้วย *A. xylinum* เป็นระยะเวลา 10 วัน



ภาพที่ 2 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ต่อน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้เผือกเป็นแหล่งคาร์บอนหมักตัวอย่างชนิดต่างๆ ด้วย *A. xylinum* เป็นระยะเวลา 10 วัน



ภาพที่ 3 ผลของช่วงเวลาในการหมักต่อน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ใช้เผือกเป็นแหล่งคาร์บอนหมักตัวอย่างชนิดต่างๆ ด้วย *A. xylinum* ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

หาปริมาณความชื้นในวุ้นเซลลูโลส

หาร้อยละความชื้นโดยนำวุ้นสวรรค์ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก พบว่า วุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียทุกตัวอย่างมีน้ำเป็นองค์ประกอบร้อยละ 90 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า ผลิตผลทางการเกษตรที่เป็นพืชหัวใต้ดิน และเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ได้แก่ น้ำผลไม้สำเร็จรูปสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตวุ้นเซลลูโลสได้ เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นองค์ประกอบ และเผือกให้ผลผลิตสูงสุดแต่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีปริมาณน้อยทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธีการเตรียมตัวอย่างสกัดนั้นอาจทำให้โมเลกุลของแป้งสลายตัวไม่หมด ดังนั้นจึงตรวจสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้น้อย แต่อาจเป็นไปได้ที่ว่าเชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้แหล่งที่เป็นแป้งโดยการปลดปล่อยเอนไซม์บางชนิด เช่น อะไมเลส เข้าไปสลายโมเลกุลแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแหล่งคาร์บอนให้เซลล์ใช้ได้

ความเข้มข้นของสารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนที่มากเกินไปอาจไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพราะเกิด feedback inhibition ทำให้ผลผลิตน้อยลง จากการที่ช่วงเวลา 10 วัน ไม่แตกต่างจาก 15 วัน อาจเป็นเพราะการควบคุมปริมาณของตัวอย่างในจานเพาะเชื้อที่จำกัด จึงทำให้ผลผลิตเกิดการคงที่ระหว่างวันที่ 10 และ 15

เอกสารอ้างอิง

กิ่งแก้ว เจริญพรสุข. (2547). การผลิตวุ้นสวรรค์จากเวย์. **วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง** 12 (1): 36-41.

จารุวรรณ์ ศิริพรรณพร ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ สิริพร สธนเสาวภาคย์ สร้อยทอง สายหยุดทอง กาญจนิจ วาจนะวินิจ ศรีเมือง มาลีหวล สมคิด ธรรมรัตน์ และ Dinh-Ngoc-Loan. (2544). ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำกะทิ. **วารสารอาหาร** 31(3): 166-173.

ปิยรัชช์ กุลเมธี. (2555). การผลิตวุ้นมะพร้าว (วุ้นสวรรค์). **เอกสารประกอบการสอนวิชาปฏิบัติการจุลชีววิทยาสำหรับอุตสาหกรรมเกษตร**. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

วราวุฒิ ครูส่ง กรวิกา สุขศรีวงษ์ และปนัดดา พวงเกษม. (2536). การผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* ในน้ำหางนม. **วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง**. 1(1): 46–60.

ศิริพงษ์ เปรมจิต. (2542). การผลิตเซลลูโลสจากกากน้ำตาลโดย *Acetobacter xylinum* ATCC10245. **วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร** 7(2): 18–32.

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. (2545). **ผลิตภัณฑ์วุ้นมะพร้าว/วุ้นสับปะรด**. เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมปอง ใจดีเฉย. (2546). การผลิตวุ้นมะพร้าวจากส่วนของผลไม้ที่ไม่ใช้แล้วโดย *Acetobacter xylinum*. **ศึกษาศาสตร์ องครักษ์** 2(2): 105–116.

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์. (2544). **เทคโนโลยีชีวภาพใกล้ตัว.** กรุงเทพฯ: สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สุเมธ ตันตระเธียร และวราวุฒิ ครูส่ง. (2537). วุ้นมะพร้าว. **วารสารวิทยาศาสตร์** 48(6): 360-366.

สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. (2554). สารชีวโมเลกุล ตอนที่ 1 คาร์โบไฮเดรต. **เอกสารประกอบการสอนวิชาชีววิทยาสำหรับครูวิทยาศาสตร์ ตอนที่ 1**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

Forang, E.R., Anderson, S.M., and Cannon, R.E. (1989). Synthetic medium for *Acetobacter xylinum* that can be used for isolation of auxotrophic mutants and study of cellulose biosynthesis. **Appl. Environ. Microbiol.** 55: 1317–1319.

Iguchi, M., Yamanaka, S., and Budhiono, A. (2000). Bacterial cellulose-masterpiece of nature's arts. **J. Mat. Sci.** 35: 261-270.

Ishikawa, M., Matsuoka, M., Tsuchida, T., and Yoshinaga, F. (1995). Increase in cellulose production by sulfaguanidine-resistant mutants derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 59(12): 2259–2262.

Masaoka, S., Ohe, T., and Sakota, N. (1993). Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. **J. Ferment. Bioeng.** 75(1): 18–22.

Ross, P., Raphae, M., and Moshe, B. (1991). Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Microbiol. Rev.** 55: 35–38.

Vandamme, E. J., de Baets, S., Vanbaelen, A., Joris, K., and de Wulf, P. (1988). Improved production of bacterial cellulose and its application potential. **Polym. Degrad. Stab.** 59: 93–99.

Wen, Z., Liao, W., and Chen, S. (2005). Production of cellulose by *Trichoderma reesei* from dairy manure. **Biores. Technol.** 96: 491-499.