

การคัดแยกแอกติโนมัยสีทที่สร้างสารสีจากดินที่ปลูกทุเรียนภูเขาไฟ

Isolation of Pigment Producing Actinomycetes from Lava Durian Planted Soil

ทัย กาบบัว*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ
ตำบลโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ 33000

E-mail: t.kabbua@sskru.ac.th

Thai Kabbua*

Division of Environmental Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Sisaket Rajabhat University,
Pho Subdistrict, Mueang District, Sisaket Province 33000, Thailand

E-mail: t.kabbua@sskru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแอกติโนมัยสีทที่สร้างสารสีจากดินที่ปลูกทุเรียนภูเขาไฟ และการย้อมติดสีเส้นใยของสารสกัดสีที่ได้ โดยคัดแยกแอกติโนมัยสีทจากดินของสวนทุเรียนภูเขาไฟ ตำบลพวาน อำเภอขุนหาญ จังหวัดศรีสะเกษ ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร sodium caseinate agar พบแอกติโนมัยสีท 27 ไอโซเลท ที่สร้างสีเส้นใยฝังในอาหารแข็ง โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มสี คือ สีขาว สีน้ำตาล สีเหลือง และสีชมพู จากนั้นเพาะเลี้ยงบนปลายข้าวในสภาวะการหมักแบบแข็ง เป็นเวลา 5-7 วัน เพื่อให้แอกติโนมัยสีทสร้างสารสีบนปลายข้าว นำปลายข้าวที่ได้มาอบแห้งและบดให้ละเอียด แล้วสกัดสีด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% พบว่าได้สีย้อม 2 กลุ่มสี คือ สีชมพูและสีเหลือง เมื่อนำสีที่สกัดได้ไปย้อมเส้นใยฝ้าย พบว่าสีย้อมที่ได้จากแอกติโนมัยสีทจำนวน 4 ไอโซเลท สามารถย้อมติดเส้นใยฝ้ายได้ คือไอโซเลท ALD1, ALD15 และ ALD19 ย้อมติดสีชมพู ส่วนไอโซเลท ALD27 ย้อมติดสีเหลือง จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท จัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาการย้อมติดสีและความคงทนของสีเพิ่มเติม เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมสีย้อมต่อไป

คำสำคัญ: สารสี; สีย้อม; ปลายข้าว; ดินทุเรียนภูเขาไฟ

Abstract

The objectives of this study were to isolate pigment producing actinomycetes from lava durian planted soil and to study fiber dyeing with extracted dye. The actinomycetes were isolated from soil of lava durian garden in Phran subdistrict, Khunhan district, Sisaket province by using sodium caseinate agar (SCA) as the isolation medium. A total of 27 actinomycete isolates producing pigment-substrate mycelia were obtained in 4 color groups such as white, brown, yellow and pink. For dye production, the isolated actinomycetes were inoculated on broke-milled rice in solid state fermentation for 5-7 days. The inoculated broke-milled rice was dried and finely ground. Dye was extracted by using 70% ethanol. The extracted dye was obtained in pink and yellow. Cotton fibers were dyed with extracted dye from only 4 isolates. Isolate ALD1, ALD15 and ALD19 were pink, and isolate ALD27 was yellow. Morphological and biochemical test showed that all of 4 isolates were *Streptomyces*. However, the optimum conditions for fiber dyeing and color fastness testing should be further investigated to be applied in dye industry in the future.

Keywords: Pigment; Dye; Broke-milled rice; Lava durian planted soil

1. บทนำ

ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สีย้อมและสารเคมีที่ช่วยในการย้อมสีนั้น มาจากองค์ประกอบที่เป็นสารอันตรายต่าง ๆ เช่น ไอออนของโลหะหนัก นอกจากนี้สีย้อมนั้นเป็นสารอินทรีย์ที่สามารถก่อให้เกิดค่าบีโอดี (BOD) ได้สูงมาก ค่าบีโอดีที่สูงสะท้อนให้เห็นว่าแหล่งน้ำจะเกิดการเน่าเสียจากการขาดออกซิเจนและส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำนั้นล้มตายได้ หรือสารในกลุ่มของแคโรทีนที่เป็นสารช่วยย้อมในเส้นใยพอลิเอสเตอร์ที่มีองค์ประกอบเป็นสารอะโรมาติกที่มีกลิ่นแรง ไม่ย่อยสลายทางชีวภาพ และสารหลายชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง และยังสามารถสะสมในชั้นเนื้อเยื่อไขมันของสิ่งมีชีวิตได้ [1] จากปัญหาการใช้สีเคมีสังเคราะห์ดังกล่าวจึงมีผู้คิดค้นการใช้สีย้อมทางชีวภาพเพื่อเป็นทางเลือกทดแทนการใช้สีเคมีสังเคราะห์ โดยสีย้อมที่ได้จากธรรมชาตินั้นมาจากพืช สัตว์ แร่ธาตุ และจุลินทรีย์ ซึ่งจะไม่สร้างมลภาวะและมีคุณสมบัติเด่นเฉพาะตัว คือ ได้สีสวย เย็นตา ไม่ฉูดฉาด และสามารถละลายน้ำได้ง่าย [2] สีจากจุลินทรีย์ที่น่าสนใจ คือสีจากราและแบคทีเรีย เพราะมีกระบวนการเพาะเลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว ไม่ขึ้นกับสภาพภูมิอากาศ และมีค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำกว่าการผลิตสีจากพืช สีที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์จะไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้มีการใช้ประโยชน์จากสีที่ได้ในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านอาหาร ด้านการแพทย์ เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอื่น ๆ รวมทั้งในอุตสาหกรรมสิ่งทออีกด้วย [3-5]

แอกติโนมัยซีต (Actinomycetes) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้างสปอร์ได้ มีลักษณะเป็นเส้นสายคล้ายเชื้อรา สามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมหรือระบบนิเวศที่หลากหลาย โดยเฉพาะในดินนั้นแอกติโนมัยซีตมีบทบาทสำคัญในวัฏจักรของอินทรีย์สาร ซึ่งสารเหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในดิน เช่น

การตรึงแอมโมเนีย การย่อยสลายและการสังเคราะห์เนื้อเยื่อ รวมถึงการย่อยสลายอิวมัส แอคติโนมัยซีทสามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ สารต้านเชื้อรา สารต้านโปรโตซัว สารต้านไวรัส สารต้านคอเลสเตอรอล สารต้านพยาธิ สารต้านมะเร็ง และสารกคภูมิคุ้มกัน เป็นต้น [6] นอกจากนี้แอคติโนมัยซีทบางชนิดยังมีความสามารถในการสร้างสารสี (pigment) ได้อีกด้วย โดยสารสีเหล่านี้มีคุณสมบัติทางชีวภาพต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง เป็นต้น และมีการศึกษาการใช้สารสีในการย้อมสีเส้นใยต่าง ๆ ซึ่งสารสีเหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อาหาร ยา และสิ่งทอได้ [2, 7-11]

ทุเรียนภูเขาไฟ ได้รับใบอนุญาตสิทธิบัตรสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ หรือเป็นสินค้า GI ของ 3 อำเภอ ในจังหวัดศรีสะเกษ ได้แก่ อำเภอกันทรลักษ์ ขุนหาญ และศรีรัตนะ โดยทุเรียนภูเขาไฟจังหวัดศรีสะเกษสายพันธุ์หมอนทองนั้น มีจุดเด่นที่พูสวย เนื้อสีทอง เปลือกบาง แกะง่าย เมล็ดลีบ รสชาติดี กรอบนอก นุ่มใน หวานมัน และกลิ่นไม่ฉุน สำหรับสาเหตุที่ต่อท้ายด้วยคำว่า “ภูเขาไฟ” นั้น เพราะปลูกบนดินภูเขาไฟที่อุดมไปด้วยหินบะซอลต์ มีลักษณะเป็นดินสีแดงเด่นชัด มีแร่ธาตุที่เป็นอาหารของพืชสูง หน้าดินลึก ระบายน้ำได้ดี และสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารให้กับพืชได้อย่างสม่ำเสมอ [12] ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติการสร้างสารสีของแอคติโนมัยซีทจากดินบริเวณพื้นที่ปลูกทุเรียนภูเขาไฟดังกล่าว เพื่อคัดแยกหาแอคติโนมัยซีทท้องถิ่นที่ได้จากแหล่งปลูกผลไม้ขึ้นชื่อของจังหวัด เนื่องจากการคัดแยกแอคติโนมัยซีทที่สร้างสารสีจากดินในแหล่งต่าง ๆ ที่ผ่านมา เช่น ดินรอบรากพืช ดินรังต่อ-หมาร่า ดินรังปลวก และดินเศษใบไม้ พบว่าสารสี คุณสมบัติของสารสี และสายพันธุ์ของแอคติโนมัยซีทมีความแตกต่างกันขึ้นกับแหล่งและท้องถิ่นที่ทำการคัดแยก [2, 7, 10-11,13] จึงมีความเป็นไปได้ว่าจะพบแอคติโนมัยซีทที่สร้างสารสีและมีคุณสมบัติแตกต่างจากแอคติโนมัยซีทที่มีการคัดแยกมาก่อนหน้านี้

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่างดินภูเขาไฟ

เก็บตัวอย่างดินภูเขาไฟในพื้นที่สวนทุเรียน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินแบบกระจายให้ครอบคลุมทั่วพื้นที่ด้วยวิธีการเก็บตัวอย่างดินเพื่อการวิเคราะห์ของกรมวิชาการเกษตร [14] บันทึกลักษณะของดิน และค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของดินในบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่าง นำดินใส่ในถุงพลาสติกที่สะอาด ปิดปากถุงให้สนิท เพื่อนำไปคัดแยกแอคติโนมัยซีท

2.2 การคัดแยกและทำบริสุทธิ์แอคติโนมัยซีทจากดินภูเขาไฟ

คัดแยกและทำบริสุทธิ์แอคติโนมัยซีทโดยดัดแปลงวิธีการของนฤมล [2] ซึ่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ลงใน 0.85% NaCl ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ เขย่าอย่างแรงเพื่อให้ดินและจุลินทรีย์กระจายในสารละลายได้อย่างทั่วถึง เจือจางสารละลายจนได้ระดับความเจือจางอยู่ในช่วง 10^{-1} - 10^{-4} นำสารละลายดินไปแยกแอคติโนมัยซีทด้วยเทคนิคการเกลี่ย (spread plate) บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ sodium caseinate agar (SCA) นำ

งานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน ตรวจสอบผลและลักษณะโคโลนีของแอสคิโนมัยสิตที่ก่อกำเนิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำโคโลนีเดี่ยวที่ก่อกำเนิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำบริสุทธิ์ โดยใช้เข็มเย็บเชื้อเย็บโคโลนีเดี่ยวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ่ายลงบนอาหารใหม่ด้วยวิธีการขีดไขว้ (streak plate) จากนั้นเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตลักษณะโคโลนีและสีของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำแอสคิโนมัยสิตที่ทำบริสุทธิ์ได้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.3 การทดสอบการผลิตสารสีของแอสคิโนมัยสิตบนปลายข้าว

เตรียมปลายข้าวเพื่อใช้เป็นสับสเตรท [2] โดยซังปลายข้าว 30 กรัม ใสลงในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร แช่ข้าวด้วยน้ำประปา 2 ชั่วโมง เทน้ำออกให้หมด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ใช้หวงถ่ายเชื้อชุดสปอร์แอสคิโนมัยสิตที่มีอายุ 3 วัน ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นสารแขวนลอยสปอร์ เทสารแขวนลอยลงในขวดรูปชมพู่ที่มีปลายข้าวปลอดเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน สังเกตสีที่ก่อกำเนิดขึ้นบนปลายข้าว

2.4 การสกัดสารสีจากปลายข้าว

นำปลายข้าวที่ก่อกำเนิดจากการเพาะเลี้ยงแอสคิโนมัยสิตไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 10 ชั่วโมง บดให้ละเอียดแล้วเก็บผงสีในถุงพลาสติกหรือขวดแก้วที่แห้งสนิท นำผงสีที่ได้ไปสกัดสี โดยซังผงสี 10 กรัม ละลายใน 70% เอทานอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที นาน 4 ชั่วโมง [2] นำสีที่สกัดได้ไปย้อมสีเส้นใยฝ้าย

2.5 การทดสอบการติดสีของเส้นใย

ซังเส้นใยฝ้าย 0.2 กรัม ต้มในน้ำเดือด 20 นาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วแช่ลงในสารละลายสี ปริมาตร 40 มิลลิลิตร บ่มเขย่าที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 120 รอบต่อนาที 18-20 ชั่วโมง นำฝ้ายขึ้นมาผึ่งให้แห้ง แล้วย้อมซ้ำอีก 1 ครั้ง จากนั้นนำฝ้ายขึ้นมาผึ่งให้แห้ง ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำประปา ผึ่งให้แห้ง สังเกตการติดสีของเส้นใยฝ้าย [2] และนำฝ้ายมาวัดค่าสีด้วยเครื่อง Color meter (ColorFlex EZ, USA) ที่แสดงผลในระบบ CIELAB แล้วนำค่าสีที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's new multiple range test (Duncan หรือ DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics 20 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.6 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแอสคิโนมัยสิตที่แยกได้

จำแนกแอสคิโนมัยสิตที่แยกได้ในเบื้องต้น ด้วยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การสร้างเมลานิน การสร้างสีเส้นใยที่ฝังในอาหารแข็ง (substrate mycelium) และลักษณะโครงสร้างของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ Urea test, Methyl red test (MR), Voges-Proskauer test (VP), Litmus milk test, Gelatin test และการใช้น้ำตาล (glucose, mannitol, xylose, และ arabinose) ของแอสคิโนมัยสิต จากนั้นจำแนกเชื้อเบื้องต้นตามหลักการ Simple working key [15]

3. ผลการวิจัย

3.1 ลักษณะของดินตัวอย่าง

ตัวอย่างดินภูเขาไฟบริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่างมีลักษณะเป็นสีแดงและเหนียว ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินตัวอย่างทั้งหมด อยู่ในช่วง 5.8 – 6.7 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.08 ± 0.48 ซึ่งมีความเป็นกรดอ่อน ๆ

3.2 ผลการคัดแยกและทำบริสุทธิ์แอกติโนมัยสีทจากดินภูเขาไฟ

เมื่อนำสารละลายดินตัวอย่างมาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SCA เพื่อคัดแยกแอกติโนมัยสีท พบว่าสามารถคัดแยกแอกติโนมัยสีทเบื้องต้นด้วยลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท (ALD1-ALD27) และสามารถจัดกลุ่มสีของเส้นใยที่ฝังในอาหารแข็งได้ 4 กลุ่มสี คือ สีขาว สีน้ำตาล สีเหลือง และสีชมพู ดังแสดงในรูปที่ 1



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

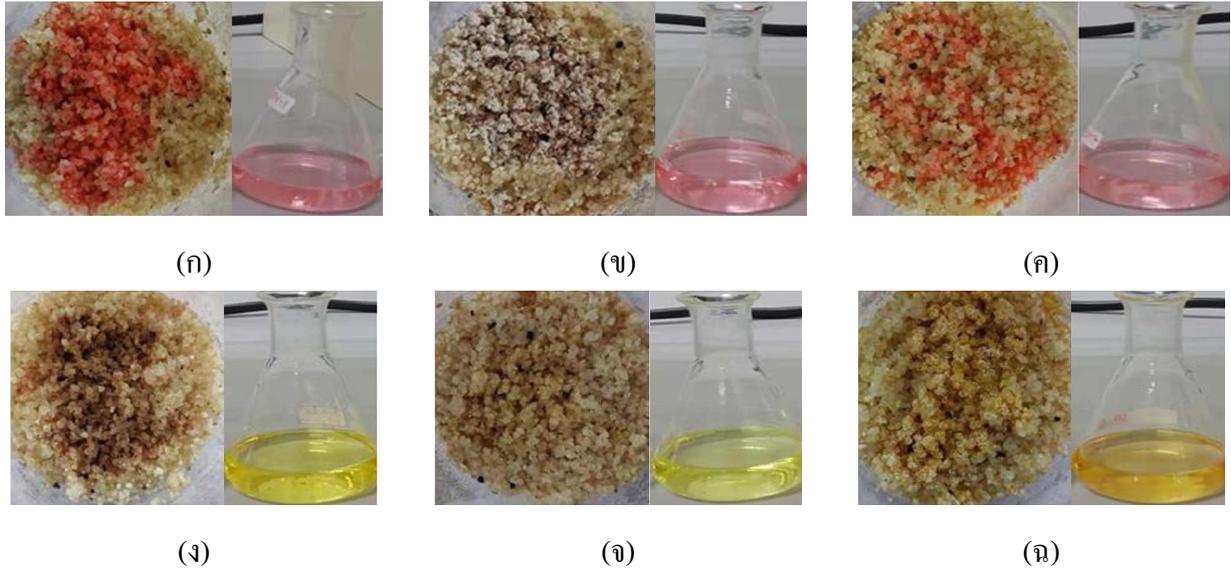
รูปที่ 1 กลุ่มสีของเส้นใยที่ฝังในอาหารแข็ง (ก) สีขาว (ข) สีน้ำตาล (ค) สีเหลือง และ (ง) สีชมพู

3.3 ผลการทดสอบการผลิตสารสีของแอกติโนมัยสีทบนปลายข้าว

เมื่อนำแอกติโนมัยสีทที่แยกบริสุทธิ์ได้มาเพาะเลี้ยงบนปลายข้าวเพื่อศึกษาการสร้างสารสี พบว่าแอกติโนมัยสีทสามารถสร้างสารสีบนปลายข้าวได้แตกต่างกันในแต่ละไอโซเลท ซึ่งลักษณะการเจริญและการสร้างสารสีของแอกติโนมัยสีทบนปลายข้าวแต่ละไอโซเลท แสดงดังรูปที่ 2

3.4 ผลการสกัดสารสีจากปลายข้าว

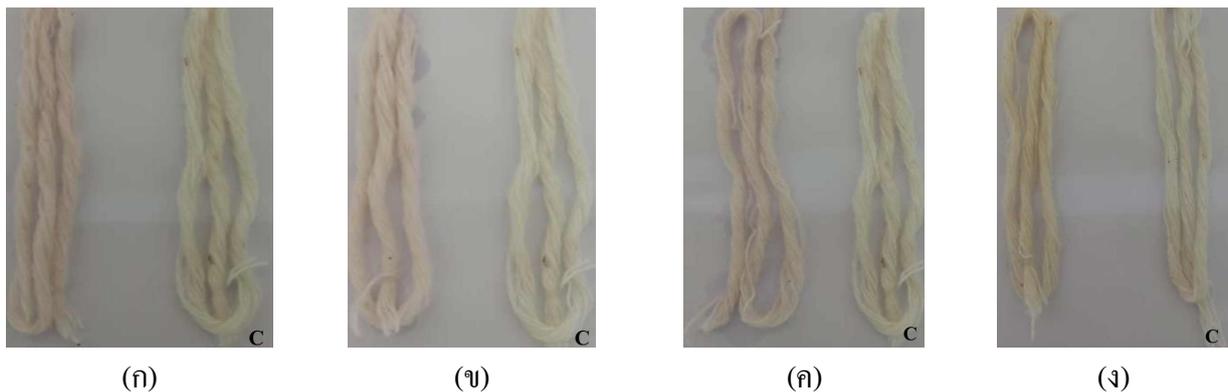
หลังจากนำปลายข้าวที่มีสีมอบบแห้งและบดให้ละเอียดเป็นผงสีแล้ว นำผงสีที่ได้จากแต่ละไอโซเลทไปสกัดสีด้วย 70% เอทานอล พบว่าสามารถสกัดสีได้ 2 กลุ่มสี คือ สีชมพูและสีเหลือง โดยสีชมพูสกัดได้จากปลายข้าวของไอโซเลท ALD1, ALD15 และ ALD19 ส่วนสีเหลืองสกัดได้จากปลายข้าวของไอโซเลท ALD2, ALD12 และ ALD27 ลักษณะการสร้างสารสีบนปลายข้าวและสีที่สกัดได้จากแอกติโนมัยสีททั้ง 6 ไอโซเลท แสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ลักษณะการสร้างสรรค์สีบนปลายข้าวและสีที่สกัดได้จากแอคติโนมัลลิต (ก) ALD1 (ข) ALD15 (ค) ALD19 (ง) ALD2 (จ) ALD12 และ (ฉ) ALD27

3.5 ผลการทดสอบการย้อมติดสีของเส้นใย

เมื่อนำสารสกัดสีที่ได้ไปย้อมเส้นใยฝ้าย พบว่าสีที่สามารถย้อมติดเส้นใยฝ้ายได้ คือสีจากไอโซเลท ALD1, ALD15, ALD19 และ ALD27 ซึ่งมองเห็นเส้นใยฝ้ายเปลี่ยนเป็นสีชมพูและสีเหลือง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (C) ดังแสดงในรูปที่ 3 และเมื่อนำเส้นใยฝ้ายที่ย้อมติดสีไปวัดค่าสีด้วย Color meter จะได้ค่าสีในระบบ CIELAB และค่าความแตกต่างของสี (ΔE^*) ดังแสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 3 ลักษณะการย้อมติดสีเส้นใยฝ้ายของไอโซเลท (ก) ALD1 (ข) ALD15 (ค) ALD19 และ (ง) ALD27

ตารางที่ 1 ค่าสีของเส้นใยฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดสีจากแอคติโนมัยสีทแต่ละไอโซเลท

ไอโซเลท	ค่าสีของเส้นใยฝ้าย					
	L*	a*	b*	C*	h*	ΔE^*
ALD1	70.79±1.59 ^b	2.49±0.16 ^a	2.48±0.20 ^b	3.52±0.16 ^{b,c}	0.78±0.06 ^e	4.47
ALD15	74.84±0.88 ^a	2.41±0.07 ^a	3.17±0.26 ^b	3.98±0.25 ^b	0.92±0.03 ^d	8.38
ALD19	75.61±3.83 ^a	2.05±0.28 ^b	3.29±0.62 ^b	3.87±0.68 ^{b,c}	1.01±0.03 ^c	9.10
ALD27	69.97±1.76 ^{b,c}	2.22±0.14 ^{a,b}	8.30±0.40 ^a	8.59±0.42 ^a	1.31±0.01 ^a	6.51
Control (C)	66.57±1.59 ^c	1.07±0.09 ^c	2.86±0.47 ^b	3.05±0.47 ^c	1.21±0.03 ^b	0.00

หมายเหตุ: ค่าสีจากเครื่อง Color meter โดย

L* หมายถึง ค่าแสดงความสว่างของสี อยู่ในช่วง 0-100 (0 = มืด, 100 = สว่าง)

a* หมายถึง ค่าแสดงสีแดงและสีเขียว (ถ้า a เป็นบวก = สีแดง, a เป็นลบ = สีเขียว)

b* หมายถึง ค่าแสดงสีเหลืองและสีน้ำเงิน (ถ้า b เป็นบวก = สีเหลือง, b เป็นลบ = สีน้ำเงิน)

C* (Chroma) หมายถึง ค่าความเข้มสี (มีค่าระหว่าง 0 – 100)

h* (Hue angle) หมายถึง ค่าตัวเลขที่ระบุตำแหน่งสี มีหน่วยเป็นองศา (ถ้า h* = 0 หมายถึง สีแดง, h* = 90 หมายถึง สีเหลือง, h* = 180 หมายถึง สีเขียว, h* = 270 หมายถึง สีน้ำเงิน)

ΔE^* หมายถึง ค่าความแตกต่างของสีโดยรวม ระหว่างค่าสีแต่ละไอโซเลทกับชุดควบคุม (Control)

*ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6 ผลการจำแนกแอคติโนมัยสีทเบื้องต้น

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนิบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การสร้างเมลานิน การสร้างสีเส้นใยที่ฝังในอาหารแข็ง และลักษณะ โครงสร้างของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าแอคติโนมัยสีท ทั้ง 4 ไอโซเลท ที่ย้อมติดสีเส้นใย ถูกจัดเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีเส้นใยสีขาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ ไอโซเลท ALD1, ALD15 และ ALD19 และกลุ่มที่มีเส้นใยสีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ ไอโซเลท ALD27 โดยแต่ละไอโซเลท มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2

สำหรับผลการทดสอบทางชีวเคมีทั้ง Urea test, Methyl red test (MR), Voges-Proskauer test (VP), Litmus milk test, Gelatin test และการใช้น้ำตาลของแอคติโนมัยสีททั้ง 4 ไอโซเลท นั้น แสดงดังตารางที่ 3 โดยอาศัยการจำแนกเบื้องต้นตามหลักการ Simple working key [15] พบว่าแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารสีและคัดแยกได้จากดินที่ปลูกทุเรียนภูเขาไฟทั้ง 4 ไอโซเลท จัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces*

ตารางที่ 2 ลักษณะพื้นฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้

ไอโซเลท	ลักษณะพื้นฐานวิทยา		
	การสร้างเมลานิน	โครงสร้างสปอร์	สีเส้นใยที่ฝังในอาหารแข็ง (substrate mycelia)
ALD1	ไม่สร้าง	Rectiflexibiles type	ชมพู
ALD15	ไม่สร้าง	Rectiflexibiles type	ขาว
ALD19	ไม่สร้าง	Rectiflexibiles type	ชมพู
ALD27	ไม่สร้าง	Spira type	เหลือง

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแอคติโนมัยสีท

ไอโซเลท	การทดสอบทางชีวเคมี								
	Urea	MR	VP	Litmus milk	Gelatin	Glucose	Mannitol	Arabinose	Xylose
ALD1	-	-	-	-	-	+	-	+	+
ALD15	-	-	-	-	-	+	+	-	-
ALD19	-	-	-	-	-	+	-	-	+
ALD27	-	-	-	-	-	+	-	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย - และ + หมายถึง ผลการทดสอบให้ผล ลบ และ บวก ตามลำดับ

4. อภิปรายผล

ดินปลูกทุเรียนภูเขาไฟในการศึกษาครั้งนี้ เป็นตัวอย่างดินที่เก็บมาจากสวนทุเรียนภูเขาไฟลุงเสริม ตำบลพราน อำเภอขุนหาญ จังหวัดศรีสะเกษ ลักษณะทั่วไปของดินตัวอย่างมีสีแดง มีความเหนียวเมื่อสัมผัสด้วยมือ มีความร่วนผสมกับความเหนียว ค่า pH ของดินตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ย 6.08 ± 0.48 ซึ่งมีความเป็นกรดเล็กน้อย สำหรับค่า pH ของดินนั้นเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อชนิด จำนวน และการกระจายตัวของแอคติโนมัยสีท รวมถึงกิจกรรมต่าง ๆ ของแอคติโนมัยสีทที่เกิดขึ้นในดิน โดยทั่วไปแล้วแอคติโนมัยสีทในดินจะเจริญได้ที่ค่า pH ระหว่าง 5-9 เพราะจัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่เรียกว่า Neutrophiles และมีค่า pH ที่เหมาะสม (optimum pH) ในการเจริญเท่ากับ 7 [16] ดังนั้นดินตัวอย่างที่เก็บมาจึงมีความเหมาะสมและเป็นไปได้ที่จะคัดแยกหาแอคติโนมัยสีท เพราะค่า pH ของตัวอย่างดินมีค่าใกล้เคียงกับ 7 และอยู่ในช่วงระหว่าง 5-9 และอาจค้นพบแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ท้องถิ่นที่คัดแยกได้จากพื้นที่ปลูกทุเรียนภูเขาไฟซึ่งเป็นผลไม่ขึ้นชื่อของจังหวัดศรีสะเกษ ที่มีการสร้างสารสีแตกต่างจากแหล่งอื่น ๆ เนื่องจากการคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารสีจากดินในแต่ละพื้นที่หรือแต่ละภูมิภาคนั้น จะได้คุณสมบัติของสารสี และสายพันธุ์ของแอคติโนมัยสีทที่แตกต่างกันไป [2, 7, 10-11, 13]

การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินตัวอย่าง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ sodium caseinate agar (SCA) ซึ่งเป็นอาหารคัดเลือกเชื้อ (selective medium) สามารถคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่สร้างสีของเส้นใยฝังในอาหารแข็ง (substrate mycelia) ได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท (ALD1 – ALD27) แบ่งกลุ่มสีเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ สีขาว สีน้ำตาล สี

เหลือง และสีชมพู ซึ่งแตกต่างจากสีโคโลนีของแอสโคไมซีที่คัดแยกได้จากดินรังปลวก อำเภอศรีษะเกษ จังหวัดสุโขทัย ที่มีโคโลนีสีส้ม สีเทา และสีครีม [2] แต่มีความสอดคล้องกับการแยกแอสโคไมซีแบคทีเรียจากดินรังต่อ-หมาว่า จากอำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ที่มีโคโลนีสีเหลือง [11] ทั้งนี้เนื่องจากแอสโคไมซีแบคทีเรียสามารถผลิตเม็ดสี (pigments) ต่าง ๆ ได้ เช่น สีแดง สีเหลือง สีส้ม สีชมพู สีน้ำตาล สีน้ำเงิน หรือสีดำขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อาหารเพาะเลี้ยง และอายุของเชื้อแอสโคไมซีแบคทีเรีย [16] เมื่อนำแอสโคไมซีที่แยกได้ไปเพาะเลี้ยงบนปลายข้าว พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลทมีการสร้างสีบนปลายข้าวในสภาพการหมักแบบแข็ง (solid state fermentation) ในระยะเวลาการหมัก 5-7 วัน โดยสังเกตสีที่เกิดขึ้นอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอบนปลายข้าว หลังจากบดปลายข้าวให้ละเอียดและนำผงสีที่ได้ไปสกัดสีด้วย 70% เอทานอล พบว่าได้สารสกัดสี 2 กลุ่มสี คือ สีชมพู และสีเหลือง จากแอสโคไมซีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ALD1, ALD15 และ ALD19 (สีชมพู) และไอโซเลท ALD2, ALD12 และ ALD27 (สีเหลือง) สอดคล้องกับการสกัดสารสีจากปลายข้าวที่เพาะเลี้ยงแอสโคไมซีด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% ที่ได้สารสกัดสีในโทนสีชมพู สีเหลือง สีชมพูบานเย็น สีแดง-ส้ม สีม่วง สีส้ม-โอลด์โรส และสีส้ม [2, 8, 11] สำหรับไอโซเลทอื่น ๆ นั้น เมื่อสกัดสีแล้วพบว่าสารสกัดสีที่ได้มีความเจือจางมาก ซึ่งอาจเกิดจากการสร้างเม็ดสีของแอสโคไมซีที่มีปริมาณน้อยหรือเกิดจากการที่ตัวทำละลายที่เลือกใช้คือเอทานอลไม่สามารถสกัดสารสีเหล่านั้นออกจากปลายข้าวได้ โดยเหตุผลที่เลือกใช้เอทานอลเป็นสารสกัดสีในครั้งนี้เนื่องจากเอทานอลถูกใช้ในการสกัดเม็ดสีจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และแอสโคไมซี [17-19] ซึ่งแอสโคไมซีที่ถูกนำมาเพาะเลี้ยงบนปลายข้าวเพื่อให้สร้างสารสี และสกัดสีด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 สามารถย้อมติดสีเส้นใยชนิดต่าง ๆ ได้ [2, 8, 11] และพบว่าการใช้เอทานอลสกัดสีจาก *Micrococcus Luteus* สำหรับการย้อมสีเส้นใยสังเคราะห์จะทำให้ได้สีสดใส [20] และนอกจากนี้เอทานอลยังเป็นตัวทำละลายที่มีพิษต่ำ ง่าย และราคาถูก

เมื่อนำสารสกัดสีที่ได้ไปย้อมเส้นใยฝ้าย พบว่าสารสกัดสีสามารถย้อมติดเส้นใยฝ้ายให้มองเห็นเป็นโทนสีชมพู และสีเหลือง เมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยฝ้ายในกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับการย้อมสีเส้นใยด้วยสารสกัดสีจากแอสโคไมซีที่สร้างสารสีจากดินรังปลวกและดินรังต่อ-หมาว่า [2, 11] ที่สามารถย้อมติดเส้นใยใหม่ในกลุ่มสีเหลือง สีชมพูบานเย็น สีส้ม-โอลด์โรส สีส้ม สีม่วง และสีแดง-ส้ม อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าเมื่อทิ้งเส้นใยฝ้ายที่ย้อมสีไว้ข้ามคืน สีของเส้นใยฝ้ายจะมีสีที่ซีดจางลง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย (h^*) และค่าความแตกต่างของสีโดยรวม (ΔE^*) ระหว่างเส้นใยฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสกัดสีจากแอสโคไมซีกับชุดควบคุม (Control) พบว่าค่าเฉลี่ยของเส้นใยฝ้ายที่ย้อมด้วยสารสีสกัด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมีค่าความแตกต่างของสีโดยรวมอยู่ระหว่าง 4.47 – 9.10 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสีมีความสามารถในการย้อมติดเส้นใยฝ้ายได้ แต่เมื่อนำค่าสีเส้นใยฝ้ายกลุ่มสีเหลืองไปเปรียบเทียบกับค่าความแตกต่างกับค่าสีที่ได้จากแอสโคไมซีแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. [11] พบว่าค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน (b^*) ที่ได้จากการทดลองมีความเป็นสีเหลืองน้อยกว่า (less yellow) และมีความสดใสน้อยกว่าสีที่นำมาเปรียบเทียบ เช่นเดียวกันกับค่าสีของเส้นใยฝ้ายกลุ่มสีชมพูที่มีค่าความสดใสน้อยกว่าสีที่นำมาเปรียบเทียบ เช่นเดียวกับกับค่าสีของเส้นใยฝ้ายกลุ่มสีชมพูที่มีค่าความสดใสน้อยกว่า (less red) ค่าความเป็นสีแดงของแอสโคไมซี

แบคทีเรียสายพันธุ์ D7 [8] อาจเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของสารสกัดสีมีความเข้มข้นน้อยเกินไป รวมทั้งวิธีการและสภาพที่ใช้ในการย้อมสีเส้นใยยังไม่มีที่เหมาะสมกับสารสีที่สกัดได้ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการย้อมติดสีต่อไป ทั้งนี้เพื่อให้ผลการย้อมสีมีความชัดเจน สดใส และมีเจดสีที่น่าสนใจเพื่อให้สามารถพัฒนาใช้ได้ในอนาคต

การจัดจำแนกแอกติโนมัยสีททั้ง 4 ไอโซเลท ที่ย้อมติดสีเส้นใยฝ้ายในเบื้องต้น พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลท จัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* ซึ่งเป็นจีนัสที่พบมากที่สุดชนิดในดิน โดยพบว่าแอกติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินมากกว่า 95% คือกลุ่ม *Streptomyces* [16] สำหรับ *Streptomyces* แต่ละสายพันธุ์นั้นจะมีความสามารถในการสร้างสารต่าง ๆ รวมทั้งการสร้างเม็ดสีที่มีลักษณะเด่นแตกต่างกันออกไป เช่น สร้างเมลานินที่มีสีดำจนถึงสีน้ำตาล แครโทีนอยด์ที่ให้สีแดง เหลือง และชมพู ไปจนถึงสีม่วง และสร้างแอกติโนโรดินที่มีความสัมพันธ์กับการสร้างสารสีน้ำเงิน ตัวอย่างเช่น *Streptomyces* sp. JAR6 ที่แยกได้จากดินเศษใบไม้ไม่สามารถผลิตสารสีแดงที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และเซลล์มะเร็งได้ *Streptomyces glaucescens* NEAE-H สามารถสร้างเมลานินที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเซลล์มะเร็ง รวมทั้ง *Streptomyces* spp. จากดินรังต่อ-หมาล่าที่สามารถสร้างสารสีและย้อมติดสีเส้นใยไหมได้ เป็นต้น [11, 13, 21-22]

การศึกษาการสร้างสารสีของแอกติโนมัยสีทโดยการเพาะเลี้ยงบนปลายข้าว พบว่าแอกติโนมัยสีทสามารถเจริญและสร้างสารสีบนปลายข้าวได้ เช่นเดียวกับแอกติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินรังปลวกและดินรังต่อ-หมาล่า [2, 11] ข้าว รวมทั้งผลพลอยได้จากข้าว และเศษข้าวเหลือถูกนำมาใช้เป็นอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อการผลิตสารสี ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้สิ่งที่อาจเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือทางอาหาร [23] อย่างไรก็ตามในการเพาะเลี้ยงแอกติโนมัยสีทเพื่อการสร้างสารสีนั้นจำเป็นต้องหาสภาพและวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสม เพราะองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงมีผลต่อการสร้างสารสีของแอกติโนมัยสีท โดยพบว่าแอกติโนมัยสีทไอโซเลทเดียวกัน แต่หากเพาะเลี้ยงบนอาหารที่แตกต่างกันจะเกิดการสร้างสารสีที่แตกต่างกันได้ [24] การประยุกต์ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและเศษอาหาร รวมทั้งการได้มาซึ่งสีย้อมจากธรรมชาติ มีส่วนช่วยในการลดปริมาณขยะเหลือทิ้ง ลดสารก่อมลพิษที่เกิดจากการใช้สีย้อมทางเคมี และเป็นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการลดการปนเปื้อนและการตกค้างของสารพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ [25]

5. บทสรุป

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อคัดแยกแอกติโนมัยสีทที่สร้างสารสีจากดินที่ปลูกทุเรียนภูเขาไฟ จังหวัดศรีสะเกษ และศึกษาความสามารถในการสร้างสารสีของแอกติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ รวมถึงการสกัดสารสีและการนำสารสกัดสีที่ได้ไปศึกษาการย้อมติดสีเส้นใยฝ้าย โดยคัดแยกแอกติโนมัยสีทจากดินด้วยอาหาร sodium caseinate agar ได้ทั้งสิ้น 27 ไอโซเลท มีแอกติโนมัยสีทที่สามารถเจริญและสร้างสารสีบนปลายข้าว แล้วสามารถสกัดสารสีจากปลายข้าวด้วย 70% เอทานอลได้ จำนวน 6 ไอโซเลท แบ่งเป็นสารสกัดโทนสีชมพูและสีเหลือง เมื่อนำสารสกัดสีที่ได้ไปย้อมสีเส้นใยฝ้าย พบว่าสารสกัดสีที่สามารถย้อมติดสีเส้นใยฝ้ายมีจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่

ไอโซเลท ALD1, ALD15 และ ALD19 ย้อมติดโทนสีชมพู และไอโซเลท ALD27 ย้อมติดโทนสีเหลือง ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการศึกษาทางชีวเคมีเบื้องต้น พบว่าแอกติโนมัยสีททั้ง 4 ไอโซเลท จัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* อย่างไรก็ตามควรมีการจัดจำแนกสายพันธุ์ของแอกติโนมัยสีทด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลต่อไป เพื่อให้ทราบสายพันธุ์ที่แท้จริงสำหรับการเก็บรักษาสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกในท้องถิ่น และใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกวัสดุเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้สารสีตามที่ต้องการ ผลการวิจัยในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการต่อยอดในการหาสารสีจากธรรมชาติมาทดแทนสีเคมีสังเคราะห์ที่ใช้สำหรับการย้อมสีเส้นใยต่าง ๆ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสถานะการสัณฐานวิทยา กระบวนการย้อมสี ค่าการติดสี และมีการทดสอบความคงทนของสีในการย้อมเส้นใยประเภทต่าง ๆ ทั้งนี้เพื่อการพัฒนาและประยุกต์ใช้สารสีในอุตสาหกรรมการย้อมสีต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ (งบ บกศ.) ของมหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ

เอกสารอ้างอิง

- [1] วิโรจน์ สารการโกศล, “มลภาวะและอันตรายของน้ำทิ้งจากการย้อมผ้า,” วารสารสิ่งแวดล้อม, ปีที่ 21, ฉบับที่ 1, 2560, หน้า 7-14.
- [2] นฤมล เกื้อนกุล และ นฤมล หวลระลึก, “การคัดแยกแอกติโนมัยสีทจากดินรังปลวก อำเภอศรีษะนามัย จังหวัดสุโขทัย เพื่อใช้ในการย้อมสีเส้นใยไหม,” PSRU Journal of Science and Technology, ปีที่ 2, ฉบับที่ 3, 2560, หน้า 1-8.
- [3] C.K. Venil, L. Dufosse, and P.R. Devi, “Bacterial pigments: sustainable compounds with market potential for pharma and food industry,” *Frontiers in Sustainable Food Systems*, Vol. 4, 2020, pp. 1-17.
- [4] H. Vaidya, N. Upasani, and P.S. Wagh, “Microbial pigments: natural colorants and their industrial applications,” *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Vol. 10, No. 5, 2021, pp. 631-645.
- [5] R.A. Metwally, A.E. Sikaily, N.A. El-Sersy, H.A. Ghozlan, and S.A. Sabry, “Antimicrobial activity of textile fabrics dyed with prodigiosin pigment extracted from marine *Serratia rubidaea* RAM_Alex bacteria,” *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, Vol. 47, No. 3, 2021, pp. 301-305.
- [6] M.S.M. Selim, S.A. Abdelhamid, and S.S. Mohamed, “Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes,” *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, Vol. 19, No. 72, 2021, pp. 1-13.
- [7] R.S. Parmar and C. Singh, “A comprehensive study of eco-friendly natural pigment and its applications,” *Biochemistry and Biophysics Reports*, Vol. 13, 2018, pp. 22-26.

- [8] นฤมล เกื่อนกุล, “การประยุกต์ใช้สีจากแอคติโนแบคทีเรียสายพันธุ์กลายในการย้อมเส้นใยไหม,” PSRU Journal of Science and Technology, ปีที่ 5, ฉบับที่ 2, 2563, หน้า 26-34.
- [9] K. Udhayakumar, S. Ramalingam, R. Saravanan, and B. Dheeba, “Extraction of actinomycetes (*Streptomyces* sp.) pigment and evaluation of its anticancer property on HeLa cell line,” Der Pharma Chemica, Vol. 9, No. 24, 2017, pp. 106-113.
- [10] Z.H. Kheiralla, M. Hewedy, H.R. Mohammed, and B. Darwesh, “Isolation of pigment producing actinomycetes from rhizosphere soil and application it in textiles dyeing,” Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, Vol. 7, No. 5, 2016, pp. 2128-2136.
- [11] สิทธิชัย อุดก่า และ นฤมล เกื่อนกุล, “การใช้ประโยชน์จากสีของแอคติโนแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินรังต่อหมาร่าในการย้อมสีเส้นใยไหม,” Life Sciences and Environment Journal, ปีที่ 22, ฉบับที่ 2, 2564, หน้า 166-167.
- [12] กษิตศ ปาณทุเดชะ, “ดินดี-น้ำพอเหมาะ เคล็ดลับ 'ทุเรียนภูเขาไฟ' ของดีสั่งตรงจาก 'ศรีสะเกษ',” มติชนรายวัน, 10 สิงหาคม 2561, หน้า ประชาชน.
- [13] J. Abraham and R. Chauhan, “Profiling of red pigment produced by *Streptomyces* sp. JAR6 and its bioactivity,” 3 Biotech, Vol. 8, No. 22, 2018, pp. 1-9.
- [14] กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, คู่มือการเก็บตัวอย่างดินและน้ำเพื่อวิเคราะห์, พิมพ์ครั้งที่ 1, ควิกปรินท์ ออฟเซ็ท, กรุงเทพฯ, 2548.
- [15] A. Taddei, M.J. Rodriguez, E. Marquez-Vilchez, and C. Castelli, “Isolation and identification of *Streptomyces* spp. from Venezuelan soils: morphological and biochemical studies. I,” Microbiological Research, Vol. 161, No. 3, 2006, pp. 222-231.
- [16] E.A. Barka, P. Vatsa, L. Sanchez, N. Gaveau-Vaillant, C. Jacquard, H.P. Klenk, C. Clement, Y. Ouhdouch, and G.P.V. Wezeld, “Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria,” Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 80, No. 1, 2016, pp. 1-43.
- [17] N. Siddharthan, R. Sandhiya, and N. Hemalatha, “Extraction and characterization of antibacterial pigment from *Roseomonas Gilardii* YP1 strain in Yercaud soil,” Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, Vol. 13, No. 3, 2020, pp. 116-120.
- [18] สิทธิพร อักษร, วงเดือน บุตรहनัน และ ปาริยา ณ นคร, “ความคงตัวของสีแดงที่สกัดได้จากการเลี้ยงราที่คัดแยกได้ในอาหารเหลว,” Thai Journal of Science and Technology, ปีที่ 2, ฉบับที่ 3, 2556, หน้า 185-191.
- [19] M. Assia, A. Hasnaa, M. Sara, M. Jamal, and M. Mohammed, “Physico-chemical characterization of a pink red-like pigments produced by five new bacterial soil strains identified as *Streptomyces coelicoflavus*,” American Journal of Microbiological Research, Vol. 6, No. 3, 2018, pp. 67-72.

- [20] R. Priyanka and M. Jayakumari, “Ethanol extraction of microbial pigments for polyester fabric,” RESEARCH REVIEW International Journal of Multidisciplinary, Vol. 5, No. 9, 2020, pp. 1-3.
- [21] A.A. Sakr, M.F. Ghaly, H.G.M. Edwards, M.F. Ali, and M.E.F. Abdel-Haliem, “Involvement of Streptomyces in the deterioration of cultural heritage materials through biomineralization and bio-pigment production pathways: a review,” Geomicrobiology Journal, Vol. 37, No. 7, 2020, pp. 653-662.
- [22] N.E. El-Naggar and S.M. El-Ewasy, “Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H,” Scientific Reports, Vol. 7, 2017, pp. 1-19.
- [23] Z. Usmani, M. Sharma, S. Sudheer, V.K. Gupta, and R. Bhat, “Engineered microbes for pigment production using waste biomass,” Current Genomics, Vol. 21, No. 2, 2020, pp. 80-95.
- [24] A.M.A. Bawazir, G.B. Shivanna, and M. Shantaram, “Impact of different media for growth and production of different soluble pigments in actinomycetes isolated from soils of Hadhramout, Yemen,” European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Vol. 5, No. 7, 2018, pp. 615-619.
- [25] คีตกฤษ์ ศิลาลาย, “บทบาทของจุลินทรีย์ในเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร,” วารสารวิชาการปฐมวัน, ปีที่ 7, ฉบับที่ 18, 2560, หน้า 71-83.