



การผลิตสารบีตาแซนทินจากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ และการประเมินฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ

Production of Betaxanthin from Cell Suspension Cultures of *Celosia argentea* var. *plumosa* and Evaluation of Antioxidant

บันฑิตา สร้อยสร้อยน้อย^{1*}, ธฐาปกรณ์ แสงอรุณ² และ ปรียกมล กลั่นฤทธิ์³

Banthita Sroysrano^{1*}, Thapagorn Sang A Roon² and Preekamol Klanrit³

¹ นักศึกษาระดับปริญญาโท, หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะเทคโนโลยี,
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

¹ Graduate student, Master of Science Program in Biotechnology, Department of Biotechnology,
Faculty of Technology, Khon Kaen University.

² นักศึกษาระดับปริญญาเอก, หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะเทคโนโลยี,
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² Graduate student, Doctor of Philosophy Program in Biotechnology, Department of Biotechnology,
Faculty of Technology, Khon Kaen University.

³ รองศาสตราจารย์, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University.

*Corresponding author, E-mail: kpreek@kku.ac.th

บทคัดย่อ

ต้นสร้อยไก่ (*Celosia argentea* var. *plumosa*) สามารถสร้างและสะสมสารกลุ่มบีตาเลน (Betalains) ซึ่งเป็นสารสีจากธรรมชาติที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้านเซลล์มะเร็ง และต้านจุลชีพ เป็นต้น สารบีตาเลน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ บีตาไซยานิน (Betacyanin) เป็นสารที่ให้สีแดงถึงสีม่วง และบีตาแซนทิน (betaxanthin) ที่ให้สีในโทนเหลืองส้ม โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตสารสีกลุ่มบีตาแซนทินจากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ โดยคัดเลือกเซลล์แคลัสส์เหลืองที่มีการผลิตสารบีตาแซนทิน ผลการศึกษาพบว่า สามารถคัดเลือกและเพิ่มจำนวนเซลล์แคลัสส์เหลืองที่สามารถเจริญบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่มีการเติมฮอร์โมนพืช 6-benzylaminopurine (BAP) ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแคลัสส์ที่คัดเลือกได้นั้นมีลักษณะเกาะกันอย่างหลวม ๆ และนุ่ม เมื่อนำเซลล์ไลน์ที่คัดเลือกได้ไปเพาะเลี้ยงเพื่อศึกษารูปแบบการเจริญบนอาหารแข็ง พบว่าเซลล์มีการเจริญ โดยมีค่าน้ำหนักสดสูงสุดเฉลี่ย 23.04 ± 0.75 กรัม ในวันที่ 21 และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเฉลี่ย 0.61 ± 0.05 กรัม ในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง และศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอย (Suspension-Cultured Cells: SCCs) ในอาหารเหลวพบว่าเซลล์มีค่าน้ำหนักสดสูงสุดเฉลี่ย 343.30 ± 2.12 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 21



และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเฉลี่ย 14.44 ± 0.10 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 18 ซึ่งมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เมื่อวิเคราะห์การผลิตสารบีตาแซนทิน พบว่าผลิตได้สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารเหลวเป็นเวลา 15 วัน โดยมีปริมาณสารบีตาแซนทินเท่ากับ 15.32 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลการศึกษาความสามารถของสารสกัดในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) พบว่า สารสกัดจากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่จากตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 15 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 96.63 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการศึกษาในครั้งนี้คาดว่าจะสามารถนำวิธีการผลิตไปประยุกต์เพื่อเป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่เพื่อผลิตสารบีตาแซนทิน และสารสกัดที่ได้มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ต่อไป

คำสำคัญ: บีตาเลน, บีตาแซนทิน, แคลลัส, เซลล์แขวนลอย, ต้นสร้อยไก่

Abstract

Celosia argentea var. *plumosa* is capable of producing and accumulating betalains, natural pigments with notable antioxidant, anticancer, and antimicrobial properties. Betalains are classified into two groups: betacyanins (red to purple pigments) and betaxanthins (yellow to orange pigments). This study aimed to produce betaxanthin pigments from cell suspension cultures by selecting yellow callus cells capable of synthesizing these compounds. The selected callus cells were successfully proliferated on both solid and liquid Murashige and Skoog (MS) media supplemented with 0.1 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP) and 1.0 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). These cells were characterized by their soft texture and loosely aggregated structure. On solid media, the cultured cells reached a maximum fresh weight of 23.04 ± 0.75 g and a dry weight of 0.61 ± 0.05 g on day 21. In liquid cultures, suspension-cultured cells (SCCs) exhibited the highest fresh weight of 343.30 ± 2.12 g/L on day 21 and the highest dry weight of 14.44 ± 0.10 g/L on day 18, consistent with growth trends observed on solid media. The maximum betaxanthin content (15.32 ± 0.06 mg/L) was recorded after 15 days of cultivation. The antioxidant activity of the extract was evaluated using the ABTS radical cation decolorization assay. The SCCs harvested on day 15 exhibited the highest antioxidant activity at 96.63%, surpassing both the natural flower extract and standard ascorbic acid. These results suggest that the proposed cultivation method is effective for producing betaxanthins via cell suspension culture of *C. argentea* var. *plumosa*, and the extract obtained holds potential for use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

Keywords: Betalain, Betaxanthin, Callus, Cell Suspension, *Celosia argentea*



บทนำ

ต้นสร้อยไก่ (*Celosia argentea* var. *plumosa*) เป็นพืชในวงศ์ *Amaranthaceae* มีลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ย มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย อเมริกา และแอฟริกา ดอกของต้นสร้อยไก่อมีลักษณะเป็นช่อกระจุกซ้อนกันแน่นหลายชั้น มีหลากหลายสี เช่น เหลือง แดง ชมพู และส้ม ต้นสร้อยไก่สามารถสร้างและสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือ สารกลุ่มบีตาเลน (Betalains) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก ได้แก่ บีตาไซยานิน (Betacyanin) ซึ่งเป็นสารที่ให้สีแดงถึงสีม่วงที่มีการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535-540 นาโนเมตร และบีตาแซนทิน (betaxanthin) ที่ให้สีในโทนเหลืองส้ม ซึ่งมีช่วงการดูดกลืนแสงที่ 475-480 นาโนเมตร (Moreno, García-Viguera, Gil, & Gil-Izquierdo., 2008; Lystvan, Kumorkiewicz, & Szneler, 2018) บีตาเลนมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ต้านเซลล์มะเร็ง (Anticancer) ต้านจุลชีพ (Antimicrobial) และต้านการอักเสบ (Anti-Inflammatory) (Smeriglio et al., 2017)

ในปัจจุบัน สารสีที่พบในท้องตลาดและใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางส่วนใหญ่เป็นสีสังเคราะห์ ซึ่งหากมีการบริโภคเป็นเวลานานต่อเนื่องในปริมาณมาก อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อสุขภาพ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน เป็นต้น การใช้สีจากธรรมชาตินั้นจึงอาจเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สีสังเคราะห์ สารกลุ่มบีตาเลนนั้นสามารถพบได้ในพืชธรรมชาติ เช่น หัวบีทรูท (*Beta vulgaris*) เมล็ดผักปลัง (*Basella alba*) (ชุดิมา ถนอมสิทธิ์, อธิพรพงษ์ เจริญยิ่ง และ จักรพันธ์ นาน่วม, 2561) รวมถึงต้นสร้อยไก่ที่สะสมสารกลุ่มบีตาเลนทั้งบีตาแซนทินและบีตาไซยานิน บีตาเลนจากต้นพืชที่กล่าวมานั้นมีการนำมาใช้เป็นแหล่งให้สีในอาหาร (Kumorkiewicz- Jamro, Swiergosz, Sutor, Spórna- Kucab, & Wybraniec, 2021) อย่างไรก็ตามการผลิตสารสีจากต้นพืชในธรรมชาติรวมถึงบีตาเลนจากดอกสร้อยไก่โดยตรง อาจพบข้อจำกัดบางประการ อาทิเช่น ฤดูกาลในการเก็บเกี่ยว ความต้องการพื้นที่ในการเพาะปลูก รวมถึงค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาอื่น ๆ นอกจากนี้ การปลูกในธรรมชาติไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคของพืชหรือศัตรูพืชที่อาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตในพืชธรรมชาติรวมถึงต้นสร้อยไก่ เพื่อหลีกเลี่ยงข้อจำกัดที่กล่าวมาข้างต้นนั้น การเลือกใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์พืช โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (Cell Suspension Culture) เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่นิยมใช้ในการผลิตสารสำคัญจากพืชและยังช่วยลดปัญหาที่อาจเกิดจากการผลิตสารจากพืชธรรมชาติ

บีตาเลนเป็นรงควัตถุที่พบในพืชในอันดับ *Caryophyllales* ซึ่งรงควัตถุที่พบจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะและคุณสมบัติที่พบ คือ บีตาไซยานินและบีตาแซนทิน (Khan & Giridhar, 2015) ซึ่งเป็นสารที่สะสมในแวคิวโอล (Vacuole) ของเซลล์ (Wink, 1997) Guadarrama-Flores, Rodríguez-Monroy, Cruz-Sosa, García-Carmona, and Gandía-Herrero (2015) ได้ศึกษาการผลิตบีตาเลนจากต้นสร้อยไก่และพบสารหลายชนิด ในกลุ่มของบีตาแซนทิน เช่น สารโดปาแซนทิน (Dopaxanthin) และ มิราแซนทินวี (Miraxanthin V) รวมทั้งสารในกลุ่มของบีตาไซยานิน เช่น สารเบตานิดิน (Betanidin) และดีคาร์บอกซิเบตานิดิน (Decarboxy-Betanidin) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงโดยจะไปกระตุ้นกลไกต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันอนุมูลอิสระในเซลล์



จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า มีรายงานการผลิตสารกลุ่มปีตาเลน (ปีตาไชนานิน) จากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ รวมถึงศึกษารูปแบบการเจริญในอาหารเหลว (ฐาปกรณ์ แสงอรุณ, อธิยา เตชะปารินทร์, พรเทพ ถนนแก้ว, จิรวรรณ อภิรักษากร และ ปรียกมล กลั่นฤทธิ์, 2565) อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตสารปีตาเลนในกลุ่มปีตาแซนทินในแคลลัสของต้นสร้อยไก่รวมถึงการติดตามลักษณะการเจริญทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว รวมถึงความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตสารปีตาเลนในกลุ่มของปีตาแซนทินจากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ โดยวิเคราะห์รูปแบบการเจริญของเซลล์เพาะเลี้ยง ปริมาณสารปีตาแซนทินที่สะสมภายในเซลล์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเซลล์แขวนลอยดังกล่าว ทั้งนี้ ผลการศึกษาจะนำไปสู่องค์ความรู้ที่สำคัญสำหรับการวิเคราะห์ศักยภาพของสารสกัดเพื่อการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อคัดเลือกและเพิ่มปริมาณแคลลัสสีเหลืองส้มที่มีการสร้างและสะสมสารปีตาแซนทินจากแคลลัสต้นสร้อยไก่ และศึกษารูปแบบการเจริญของแคลลัสบนอาหารแข็งและอาหารเหลว รวมถึงคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากแคลลัสสีเหลืองส้ม

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดเลือกและการเพิ่มปริมาณแคลลัสสีเหลือง

แคลลัสต้นสร้อยไก่จากงานวิจัย ได้จากการชักนำแคลลัสจากลำต้นอ่อนสีแดงอายุ 30 วัน (ฐาปกรณ์ แสงอรุณ และคณะ, 2565) โดยแคลลัสที่ได้จากการชักนำนั้นประกอบด้วยเซลล์ที่มีทั้งสีแดง ส้ม และเหลืองอยู่รวมกัน จากนั้นทำการคัดเลือกแคลลัสที่มีสีเหลือง เนื้อสัมผัสนิ่มและเกาะกลุ่มกันอย่างหลวม ๆ (Friable Callus) และย้ายลงอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สารก่อเจล (gelzan™) 0.2 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.8 และฮอร์โมนพืช BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในห้องปลอดเชื้อ ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ และทำการย้ายเซลล์ลงอาหารใหม่ทุก ๆ 15 วัน

2. การศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์บนอาหารแข็ง

นำแคลลัสสีเหลืองที่มีลักษณะเป็น Friable Callus ที่ได้จากวิธีดำเนินงานวิจัยในข้อ 1 มาศึกษารูปแบบการเจริญ โดยใช้แคลลัสเริ่มต้น 2 กรัม (น้ำหนักสด) เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สารก่อเจล (gelzan™) 0.2 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปรับค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.8 และฮอร์โมนพืช BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในห้องปลอดเชื้อ ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 16



ชั่วโมง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน เพื่อวิเคราะห์รูปแบบการเจริญ โดยการวิเคราะห์น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง (อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3. การศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอย

สำหรับการศึกษาการเจริญของแคลลัสในอาหารเหลว จะใช้ Friable Callus สีเหลืองที่มีอายุ 15 วัน ที่เจริญบนอาหารแข็งจากวิธีดำเนินงานวิจัยข้อ 1 โดยใช้แคลลัสเริ่มต้นปริมาณ 2 กรัม (น้ำหนักสด) เลี้ยงใน Erlenmeyer Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวสูตร MS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และฮอร์โมนพืช BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงบนเครื่องบ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 110 รอบต่อนาที ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ระยะเวลาให้แสง 16 ชั่วโมง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน เพื่อวัดการเจริญของเซลล์เพาะเลี้ยงโดยการวิเคราะห์น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง (อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

4. การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณบีตาแซนทินจากเซลล์แขวนลอย

สกัดสารบีตาแซนทินจากเซลล์แขวนลอยแห้ง ที่ได้จากการดำเนินงานวิจัยข้อ 3 โดยผสมผงเซลล์แขวนลอยแห้งปริมาณ 2 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่เครื่องบ่มแบบเขย่า (shaking incubator, JSSSI-300CL, South Korea) ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง เพื่อแยกเซลล์ออกและนำสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณบีตาแซนทิน โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของบีตาแซนทินที่ความยาวคลื่น 483 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, AS ONE ASV11D-H, Japan) จากนั้นนำไปคำนวณในสมการที่ (1) (Winson, Chew, Sathasivam, & Subramaniam, 2020)

$$\text{Betaxanthin; BX} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \left(\frac{A \times DF \times MW \times V}{\epsilon \times L \times m} \right) \quad (1)$$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของของบีตาแซนทิน (BX) ที่ความยาวคลื่น 483 นาโนเมตร
DF คือ ค่าระดับการเจือจาง MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของบีตาแซนทิน (308 กรัมต่อโมล)
V คือ ปริมาตรของตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิลิตร (mL)
 ϵ คือค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงจำเพาะของบีตาแซนทินมีค่าเท่ากับ $48,000 \text{ L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
L คือ ระยะที่แสงผ่านตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 1 เซนติเมตร
และ m คือ น้ำหนักของผงแคลลัสแห้งที่สกัดมีหน่วยเป็นกรัม (g)

5. การทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay

สารสกัดที่นำมาทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็นมีลักษณะเป็นผงแห้ง ซึ่งได้จากการนำสารสกัดบีตาเลนจากเซลล์แขวนลอยที่มาจากการศึกษารูปแบบการเจริญในอาหารเหลว และสารสกัดจากดอกสร้อยไก่จากธรรมชาติ มาทำให้เป็นผงด้วยกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilization)



โดยใช้ผงสารสกัดที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) ตามวิธีของ Smeriglio et al. (2017) โดยปฏิกิริยาระหว่าง ABTS^{•+} มีสีเขียวและจะมีสีจางลงเมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระ (สารสกัด) อยู่ในสารละลาย ขั้นตอนแรกเตรียมสารละลาย ABTS^{•+} โดยผสมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟต (K₂S₂O₈) ความเข้มข้น 4.3 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1:5 บ่มที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ก่อนใช้ ABTS^{•+} ปรับการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0.7 ที่ความยาวคลื่นที่ 734 นาโนเมตร จากนั้นผสมสารตัวอย่าง (สารสกัดความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS^{•+} ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใน 96-well plate บ่มตัวอย่างในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microplate reader) (Infinite® 200 PRO, Tecan Trading AG, Switzerland) ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เทียบกับชุดควบคุม ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างตามสมการที่ (2)

$$\text{ABTS radical scavenging (\%)} = [A_0 - A_1/A_0] \times 100 \quad (2)$$

โดย A_0 เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสาร ABTS^{•+} (ชุดควบคุม)

A_1 เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสาร ABTS^{•+} และตัวอย่าง

6. การออกแบบการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการศึกษาครั้งนี้ จะวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมที่เซลล์เพาะเลี้ยงเจริญได้ดีที่สุด โดยดำเนินการสุ่มเก็บตัวอย่างและทำการทดลองทั้งสิ้น 3 ซ้ำ จากนั้นนำค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลามาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป IBM SPSS เวอร์ชัน 29

ผลการวิจัย

1. การคัดเลือกและการเพิ่มปริมาณแคลลัสสีเหลือง

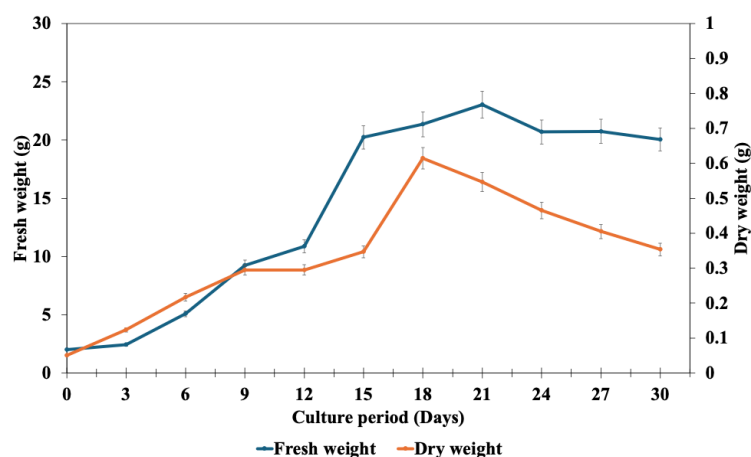
แคลลัสก่อนการคัดเลือกเซลล์นั้นมีลักษณะค่อนข้างแข็ง (Compact Callus) ประกอบด้วยเซลล์สีแดง ส้ม และเหลืองอยู่รวมกัน และมีอัตราการเจริญช้า ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการ (ภาพที่ 1ก) เมื่อทำการคัดเลือกเฉพาะเซลล์ที่มีสีเหลืองมาวางบนอาหารแข็งทุก ๆ 15 วัน หลังจากทำการคัดเลือกเฉพาะเซลล์สีเหลืองและเพาะเลี้ยงไป 18 ครั้ง พบว่า แคลลัสนั้นมีสีเหลือง เซลล์มีลักษณะเกาะกลุ่มกันอย่างหลวม ๆ เนื้อสัมผัสนิ่มขึ้น เซลล์มีขนาดเล็ก และอัตราการเจริญที่เร็วขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะของ Friable Callus นอกจากนี้ไม่พบแคลลัสสีแดง (ภาพที่ 1ข) แสดงให้เห็นว่าเซลล์ที่ได้นั้นเป็นเซลล์ที่มีการผลิตสารปีทาเลนในกลุ่มปีทาแซนทิน ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปศึกษารูปแบบการเจริญต่อไป



ภาพที่ 1 ลักษณะแคลลัสของต้นสร้อยไก่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีอายุ 14 วัน: (ก) ลักษณะแคลลัสก่อนการคัดเลือกเซลล์ และ (ข) ลักษณะแคลลัสหลังจากทำการคัดเลือกเซลล์

2. การศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์บนอาหารแข็ง

ผลการศึกษารูปแบบการเจริญของแคลลัสบนอาหารแข็ง โดยใช้แคลลัสเริ่มต้น 2 กรัม (น้ำหนักสด) พบว่าเซลล์มีการเจริญเพิ่มขึ้นจนมีค่าน้ำหนักสดสูงสุดอยู่ที่ 23.04 ± 0.75 กรัม ในวันที่ 21 และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดอยู่ที่ 0.61 ± 0.05 กรัม ในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง จากนั้นน้ำหนักแห้งของเซลล์มีแนวโน้มลดลง ซึ่งค่าของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเซลล์มีรูปแบบการเจริญที่ค่อนข้างคล้ายกัน (ภาพที่ 2)

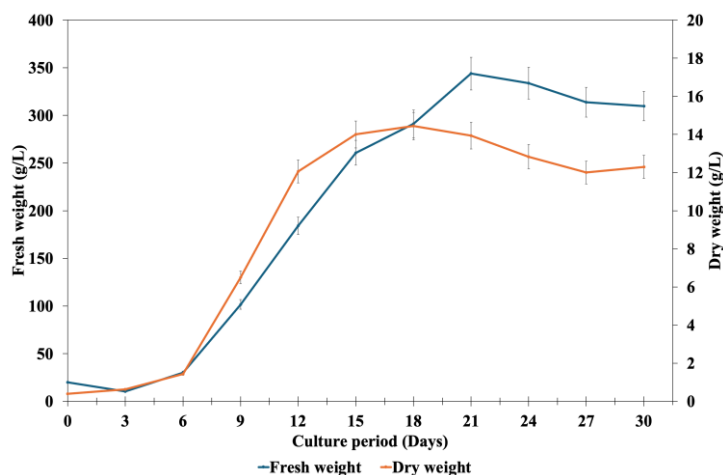


ภาพที่ 2 รูปแบบการเจริญของแคลลัสต้นสร้อยไก่ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง ในระยะเวลา 30 วัน ($n = 3$)

3. การศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว

จากการศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอยพบว่าเซลล์มีการเจริญและเพิ่มปริมาณขึ้นตามระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง โดยค่าน้ำหนักสดสูงสุดอยู่ที่ 343.30 ± 2.12 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดอยู่ที่ 14.44 ± 0.10 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 18 หลังจากนั้นปริมาณเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดแล้วลดลง โดยในวันที่ 30 พบค่าน้ำหนักสดเท่ากับ 309.80 ± 2.24 กรัม

ต่อลิตร และมีค่าน้ำหนักแห้งเท่ากับ 12.30 ± 0.10 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3) ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกับรูปแบบการเจริญบนอาหารแข็ง (ภาพที่ 2) สำหรับลักษณะของเซลล์ที่เจริญในอาหารเหลว นั้น พบว่าในวันเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง เซลล์ยังมีการเกาะกลุ่มเป็นกลุ่มขนาดเล็กโดยมีการกระจายตัวในอาหารเหลว (ภาพที่ 4ก) อย่างไรก็ตาม เมื่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง เซลล์มีปริมาณมากขึ้น และมีลักษณะการกระจายตัวดีขึ้นในอาหารเหลว โดยเซลล์ยังคงมีสีเหลือง (ภาพที่ 4ข)



ภาพที่ 3 รูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอยจากต้นสัรร้อยไก่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เป็นระยะเวลา 30 วัน ($n = 3$)

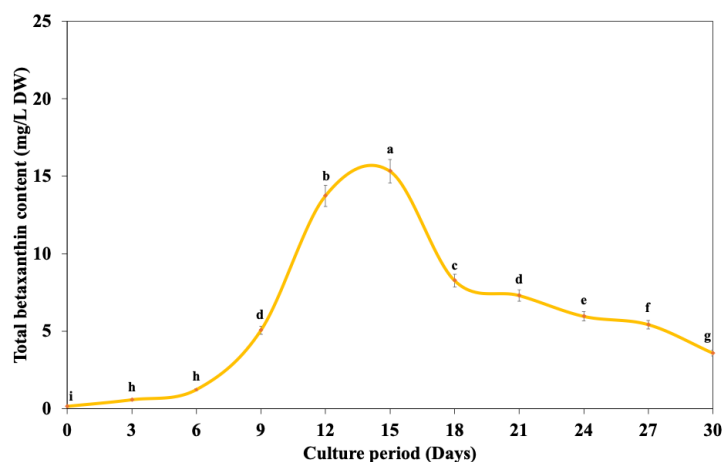


ภาพที่ 4 ลักษณะของเซลล์แขวนลอยในอาหารเหลว: (ก) ในวันเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง และ (ข) หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน

4. การศึกษาปริมาณสารปีตาแซนทินที่ผลิตได้จากเซลล์แขวนลอย

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารปีตาแซนทินของเซลล์แคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่าเซลล์แขวนลอยมีการผลิตและสะสมปีตาแซนทินเพิ่มขึ้นตามจำนวนวันที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณปีตาแซนทินมีค่าสูงสุดคือ 15.32 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง และมีปริมาณลดลงโดยในวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 3.59 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 5) ซึ่งลักษณะการผลิตสารปีตาแซนทินของ

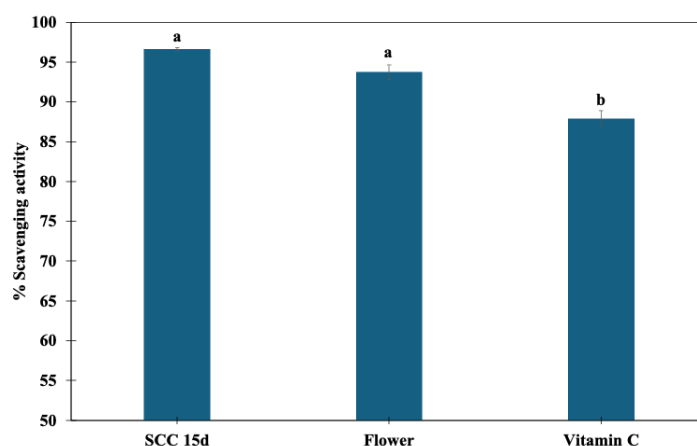
เซลล์แขวนลอยมีความสัมพันธ์กับรูปแบบการเจริญของเซลล์ (ภาพที่ 3) แสดงให้เห็นว่าการผลิตและสะสมสารบีตาแซนทีนเกิดขึ้นพร้อมกันกับการเจริญของเซลล์พืช



ภาพที่ 5 รูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอยและปริมาณบีตาแซนทีนที่ผลิตได้ของสารสกัดจากเซลล์ของต้นสร้อยไก่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS เป็นระยะเวลา 30 วัน ($n = 3$)

5. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยวิธี ABTS (ภาพที่ 6) พบว่าสารสกัดจากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน (scc 15d) มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 96.63 % ซึ่งสูงกว่าค่าของวิตามินซี โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตัวอย่าง; SCC 15d เป็นสารสกัดจากเซลล์แขวนลอยต้นสร้อยไก่ที่เพาะเลี้ยง 15 วัน; Flower เป็นสารสกัดที่ได้จากดอกสร้อยไก่ในธรรมชาติ และ Vitamin C เป็นสารละลายวิตามินซีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข้อมูลนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SD ของการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบ่งชี้ความแตกต่างที่มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



สรุปและการอภิปรายผล

ก่อนการคัดเลือกแคลลัสของต้นสร้อยไก่ พบว่า เซลล์มีลักษณะเกาะกันแน่น และมีสีแดง ส้ม และเหลือง ทั้งนี้ความแตกต่างของสีดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากเซลล์แต่ละสีนั้นมีการสร้างและสะสมสารกลุ่มปีทาเลนที่แตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นสารในกลุ่มปีทาแซนทิน (เซลล์สีเหลือง) หรือสารในกลุ่มปีทาไซยานิน (เซลล์สีแดง-ม่วง) ภายหลังจากการคัดเลือก สามารถพัฒนาแคลลัสที่มีคุณสมบัติตามที่กำหนดไว้ โดยมีลักษณะการเกาะกันแบบหลวม ๆ มีความสามารถในการเจริญได้ทั้งในอาหารแข็งและเหลว และมีการสร้างและสะสมสารปีทาแซนทินได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการคัดเลือกเซลล์ไลน์จนได้เซลล์ที่มีคุณลักษณะที่ต้องการตามที่ได้มีการรายงานในการศึกษาของ ฐาปกรณ์ แสงอรุณ และคณะ (2565) และความสามารถในการผลิตสารสีได้อย่างคงที่นั้น จำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการดำเนินการที่ค่อนข้างยาวนาน และมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อการคัดเลือกเซลล์ เช่น องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง ชนิดของชิ้นส่วนพืช รวมถึงสายพันธุ์ของพืชที่นำมาใช้ในการชักนำแคลลัส เป็นต้น

จากผลการศึกษารูปแบบการเจริญของแคลลัสบนอาหารแข็ง พบว่า เซลล์มีการเจริญเพิ่มขึ้นตามลำดับ ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า น้ำหนักแห้งของเซลล์เริ่มมีค่าคงที่ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการที่เซลล์เจริญเต็มที่บนผิวหน้าของอาหารแข็ง ทำให้เซลล์ไม่สามารถเจริญได้อีก นอกจากนี้อาจเป็นเพราะข้อจำกัดของพื้นที่ในภาชนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงรวมถึงลักษณะของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในครั้งนี้ คือ อาหารแข็ง ซึ่งส่งผลให้เซลล์ไม่สามารถเจริญได้เต็มที่ โดยมีเพียงเซลล์บางส่วนเท่านั้นที่สัมผัสกับอาหารโดยตรง และในวันที่ 18 ของการเพาะเลี้ยง พบว่า มีค่าน้ำหนักสดสูงสุดเท่ากับ 23.04 กรัม ส่วนค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 0.61 กรัม ซึ่งพบในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์มีแนวโน้มลดลงเนื่องจากเริ่มมีการตายของเซลล์บางส่วน อาจเกิดจากการที่เซลล์บางส่วนมีอายุที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน รวมถึงสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญมีปริมาณลดลง นอกจากนี้อาจเกิดจากเซลล์ที่ตายแล้ว เกิดการรั่วของผนังเซลล์ทำให้ปลดปล่อยสารต่าง ๆ ซึ่งอาจรวมถึงสารกลุ่มฟีนอลิกที่อาจยับยั้งการเจริญของเซลล์พืชได้

ผลจากการศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอย พบว่า มีค่าน้ำหนักสดสูงสุดอยู่ที่ 343.30 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 21 และมีค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดอยู่ที่ 14.44 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 18 ซึ่งผลการศึกษามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น ปริมาณเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นปริมาณเซลล์มีแนวโน้มลดลง โดยพบว่ามีค่าน้ำหนักสดและค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ลดลงจนมีค่าเท่ากับ 309.80 และ 12.30 กรัมต่อลิตร สำหรับลักษณะของเซลล์ที่เจริญในอาหารเหลวนั้น พบว่าในวันเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง เซลล์ยังมีการเกาะกลุ่มเล็ก ๆ กระจายตัวในอาหารเหลว แต่เมื่อระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น พบว่า ปริมาณเซลล์เพิ่มมากขึ้น มีลักษณะการกระจายตัวดีขึ้นในอาหารเหลวและเซลล์ยังคงมีสีเหลือง ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ ฐาปกรณ์ แสงอรุณ และคณะ (2565) ซึ่งรายงานว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณขึ้นตามระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง โดยพบว่ามีปริมาณเซลล์และปริมาณปีทาเลนที่สะสมภายใน



เซลล์สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 15 วัน และภายหลังจากวันที่ 15 พบว่า ปริมาณเซลล์และปริมาณสารปีตาเลนนั้นมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้ผลการศึกษายังมีความสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Morales et al. (2021) ซึ่งได้ศึกษาเซลล์แขวนลอยที่ได้ชักนำจากต้นกระบองเพชร (*Stenocereus Queretaroensis*) โดยพบว่าเซลล์ที่ได้มีลักษณะสีเหลือง ซึ่งบ่งบอกว่ามีการสร้างและสะสมสารกลุ่มปีตาแซนทิน และสามารถเจริญในอาหารเหลวได้ดี ทั้งนี้ได้มีการศึกษารูปแบบการเจริญของเซลล์แขวนลอยจาก *S. queretaroensis* ซึ่งรูปแบบการเจริญมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และมีค่าน้ำหนักสดสูงสุดในวันที่ 26 และลดลงตามลำดับ

ในการศึกษาการผลิตสารปีตาแซนทินของเซลล์แขวนลอย พบว่าเซลล์แขวนลอยมีการผลิตและสะสมสารปีตาแซนทินเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงที่เพิ่มขึ้น โดยวันที่ 0 และ 12 มีปริมาณสารปีตาแซนทินเท่ากับ 0.16 และ 13.74 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปริมาณปีตาแซนทินมีค่าสูงสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีปริมาณลดลงโดยในวันที่ 30 มีค่าเท่ากับ 3.59 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งลักษณะการผลิตสารปีตาแซนทินของแคลลัสมีความสัมพันธ์กับรูปแบบการเจริญ แสดงให้เห็นว่าการผลิตและสะสมสารปีตาแซนทินเกิดขึ้นพร้อม ๆ กับการเจริญของเซลล์พืช และปริมาณปีตาเลนสูงสุด 18.38 มิลลิกรัมต่อลิตร (ปีตาแซนทิน 15.32 มิลลิกรัมต่อลิตร และปีตาไซยานิน 3.06 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งปริมาณสารปีตาเลนทั้งหมด (ปีตาแซนทินและปีตาไซยานิน) มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ ฐาปกรณ์ แสงอรุณ และคณะ (2565) ซึ่งรายงานปริมาณปีตาเลนทั้งหมดอยู่ที่ 34.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของปีตาไซยานิน โดยใช้น้ำเป็นตัวสกัดตามวิธีการของ Lystvan et al. (2018)

ผลการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Ceja et al. (2022) ซึ่งพบว่าสารสกัดที่ได้จากเซลล์แขวนลอยของ *S. queretaroensis* สามารถผลิตสารและสามารถวัดปริมาณสารปีตาเลนทั้งหมด (ปีตาแซนทิน และปีตาไซยานิน) และมีปริมาณปีตาแซนทินซึ่งมีค่าสูงสุดในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งมีค่าประมาณ 20 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด หรือคิดเป็น 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด เปรียบเทียบกับปริมาณปีตาแซนทินสูงสุดที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ คือ 1.15 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งมีค่ามากกว่า ซึ่งปริมาณปีตาแซนทินนั้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพืชที่ใช้ในการทดลองและเซลล์ไลน์ (แคลลัส) ที่ได้จากการคัดเลือก รวมถึงตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสาร เป็นต้น

ผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดจากเซลล์แขวนลอย โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน คือสารละลายวิตามินซี พบว่าสารปีตาแซนทินที่ผลิตได้จากเซลล์แขวนลอยที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นระยะเวลา 15 วัน มีค่าสูงถึง 96.63 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่เป็นแนวทางหนึ่งที่สำคัญสำหรับการผลิตสารปีตาแซนทินที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง หากพืชผลิตและสะสมสารดังกล่าวได้สูง ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงตามไปด้วยซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sang A Roon et al. (2024) ซึ่งศึกษาสารสกัดจากพืชชนิดเดียวกัน และเมื่อนำสารสกัดไปวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า มีฤทธิ์ใน



การต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 88.81 % ดังนั้นการผลิตสารปีตาแซนทินโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยนั้นมิใช่ข้อได้เปรียบที่สำคัญ คือ การผลิตสารดังกล่าวไม่ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศหรือจำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการเพาะปลูกเพื่อการผลิตพืชจนกระทั่งออกดอก ซึ่งการปลูกต้นสร้อยไก่ในสภาพธรรมชาติจนกระทั่งออกดอกนั้นต้องใช้ระยะเวลาในการเพาะปลูกยาวนานประมาณ 3 เดือน จึงจะสามารถนำดอกมาทำการสกัดสารได้ ระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยจึงเป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารปีตาแซนทินที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยใช้ระยะเวลาสั้นกว่าและไม่ขึ้นกับข้อจำกัดด้านสภาพแวดล้อมและพื้นที่เพาะปลูก

การศึกษานี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ (*Celosia argentea* var. *plumosa*) เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตสารปีตาแซนทิน ซึ่งเป็นสารสีธรรมชาติที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพ โดยสามารถคัดเลือกเซลล์แคลลัสสีเหลืองที่มีศักยภาพในการผลิตสารปีตาแซนทินได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเพาะเลี้ยงในระบบแขวนลอยให้ผลผลิตชีวมวลและสารเป้าหมายในระดับสูง โดยพบว่าปริมาณสารปีตาแซนทินสูงที่สุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้สารสกัดจากเซลล์แขวนลอยที่เก็บเกี่ยวในช่วงดังกล่าว ยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ในระดับสูงมีค่าเฉลี่ย 96.63 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับสารสกัดจากดอกสร้อยไก่และวิตามินซี ซึ่งผลการทดลองแสดงถึงศักยภาพของเซลล์แขวนลอยในการเป็นแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีคุณค่าทางชีวภาพสูง ทั้งในแง่ปริมาณและประสิทธิภาพ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตสารสีธรรมชาติที่ปลอดภัยและมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงได้ในระดับอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์กลุ่มอาหารเพื่อสุขภาพ เครื่องสำอาง และเวชภัณฑ์ ตลอดจนเป็นพื้นฐานสำหรับการวิจัยพัฒนาในด้านเทคโนโลยีชีวภาพของพืชต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากในการศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาการคัดเลือกเซลล์ไลน์สีเหลืองที่มีความสามารถในการผลิตสารปีตาแซนทิน และมีคุณสมบัติด้านฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ แต่ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดปีตาแซนทินที่ได้จากเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่อังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเพื่อให้สารสกัดปีตาแซนทินในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเมื่อมีการแปรผันปัจจัยต่าง ๆ ที่คาดว่าจะส่งผลต่อการผลิตสาร เช่น ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมน และสารกระตุ้นประเภทต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งในการศึกษานี้มีประโยชน์ในฐานะการศึกษานำร่องสำหรับการออกแบบการเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอยของต้นสร้อยไก่ที่มีความสามารถในการผลิตสารปีตาแซนทินให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในอนาคต



เอกสารอ้างอิง

- ชุติมา ฅนอมสิทธิ์, ธิพรพงษ์ เจริญยิ่ง และจักรพันธ์ นาน่วม. (2561). เบตาเลน: สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อการพัฒนาสีผิวของสัตว์น้ำ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 40(2), 1-10.
- ฐานาพรณ์ แสงอรุณ, อธิยา เตชะปารินทร์, พรเทพ ถนนแก้ว, จิรวรรณ อภิรักษ์กร และ ปรีกษ์มกล กลั่นฤทธิ์. (2565). การผลิตสารสีในกลุ่มบีตาเลนจากเซลล์แขวนลอยของต้นสรว้อยไก่. ในรายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ มอ. ครั้งที่ 16, 24-34.
- Ceja-López, J. A., Morales-Morales, J., Araujo-Sánchez, J., Kantún, W. G., Ku, A., Miranda-Ham, M. L., Rodriguez-Zapata, L. C., & Castaño, E. (2022). Evaluation of natural pigments production in response to various stress signals in cell lines of *Stenocereus queretaroensis*. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(21), 2948. <https://doi.org/10.3390/plants11212948>
- Guadarrama-Flores, B., Rodríguez-Monroy, M., Cruz-Sosa, F., García-Carmona, F., & Gandia-Herrero, F. (2015). Production of dihydroxylated betalains and dopamine in cell suspension cultures of *Celosia argentea* var. *plumosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(10), 2741–2749.
- Khan, M. I., & Giridhar, P. (2015). Plant betalains: chemistry and biochemistry. *Phytochemistry*, 117, 267–295.
- Kumorkiewicz- Jamro, A., Swiergosz, T., Sutor, K., Spórna- Kucab, A. and Wybraniec, S. (2021). Multi-colored shades of betalains: recent advances in betacyanin chemistry. *Natural Product Reports*, 38, 2315–2346. <https://doi.org/10.1039/d1np00018g>
- Lystvan, K., Kumorkiewicz, A. and Szneler, E. (2018). Study on betalains in *Celosia cristata* Linn. callus culture and identification of new malonylated amaranthins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 3870–3879. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01014>
- Morales, J., Araujo-Sanchez, J., Castro-Concha, L., Ku, A., Pereira-Santana, A., Lourdes, & Castaño, E. (2021). Defining color change in pitaya: A close look at betacyanin synthesis genes in *Stenocereus queretaroensis*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.698195>
- Moreno, D. A., García-Viguera, C., Gil, J. I. and Gil-Izquierdo, A. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 261–280. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9084-y>



- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497
- Sang A Roon, T., Klanrit, P., Klanrit, P., Thanonkeo, P., Apiraksakorn, J., Thanonkeo, S., & Klanrit, P. (2024). Establishment of betalain-producing cell line and optimization of pigment production in cell suspension cultures of *Celosia argentea* var. *plumosa*. *Plants*, 13(22), 3225.
- Smeriglio, A., Galati, E. M., Monforte, M. T., Lanuzza, F., D'Angelo, V., & Circosta, C. (2017). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of cold-pressed seed oil from finola cultivar of *Cannabis sativa* L. *Phytotherapy Research*, 30(8), 1298-1307.
- Wink, M. (1997). Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. 25, *Phytochemistry*, 25, 141–169.
- Winson, K. W. S., Chew, B. L., Sathasivam, K., & Subramaniam, S. (2020). The establishment of callus and cell suspension cultures of *Hylocereus costaricensis* for the production of betalain pigments with antioxidant potential. *Industrial Crops and Products*, 155, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112750>