บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

คราบจุลินทรีย์ (dental plaque) เป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรคปริทันต์ (periodontal disease) ในการรักษาโรคปริทันต์จึงต้องกำจัดคราบจุลินทรีย์และสิ่งสะสมบนตัวฟัน (dental deposit) ซึ่งจะเป็นที่เกาะติดของคราบจุลินทรีย์ออกให้หมด ด้วยการขูดหินน้ำลาย (scaling) และการเกลารากฟัน (root planing) นอกจากนี้การควบคุมดูแลอนามัยช่องปาก (oral hygiene) ของผู้ป่วย มีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคปริทันต์ได้อีกวิธีหนึ่ง

คราบจุลินทรีย์

เป็นกลุ่มก้อนของแบคทีเรียที่มีความหนาแน่น และไม่มีการตกตะกอนของแคลเซียม ยึดเหนียวแน่นติดกับผิวฟัน ไม่สามารถถูกกำจัดออกได้โดยการไหลเวียนของน้ำลาย (Gibbons และ Houte, 1973) ลักษณะเป็นโครงสร้างที่มีระเบียบประกอบด้วยสารอินทรีย์ที่สร้างมาจากไกลโคโปรตีนในน้ำลาย (salivary glycoprotein) และผลิตผลภายนอกเซลล์ (extracellular product) ของจุลินทรีย์ และไม่สามารถกำจัดออกได้โดยการบ้วนน้ำหรือฉีดพ่นด้วยน้ำ (Listgarten, 1994)

การเกิดคราบจุลินทรีย์บริเวณผิวเคลือบฟัน (enamel) และผิวเคลือบรากฟัน (cementum) เริ่มจากมีไกลโคโปรตีนในน้ำลายมาเคลือบที่ผิวฟันเกิดเป็นคราบฟัน (acquired pellicle) ซึ่งจะถูกดูดซับไว้ในผลึกไฮดรอกซีอะพาไทท์ (hydroxyapatite crystalites) ทำให้ฟันธรรมชาติมีคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งประจุไฟฟ้าที่ผิวฟันด้วย

ในบริเวณที่ไม่มีคราบฟันจะไม่พบกลุ่มของแบคทีเรีย การสะสมของกลุ่มก้อนแบคทีเรียมี 2 ระยะ คือ

1. ระยะเปลี่ยนกลับได้ (reversible phase) แบคทีเรียจะเกาะอยู่ที่คราบฟันอย่างหลวมๆและเกิดอย่างช้าๆ มักจะเกิดเป็นแบบชั่วคราว

2. ระยะเปลี่ยนกลับไม่ได้ (irreversible phase) แบคทีเรียที่รวมกลุ่มกันบนคราบฟันจะยึดติดกันอย่างเหนียวแน่น มั่นคงและแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งเกิดจากความเหนียวของโปรทีโอไกลแคน (proteoglycan) ที่เคลือบผนังเซลล์ (cell wall) ของแบคทีเรีย ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับตัวรับ (receptor) ที่อยู่บนผิวฟัน

การเจริญของคราบจุลินทรีย์บนผิวเรียบมักจะเกิดบริเวณซอกฟัน (interproximal) ส่วนที่อยู่ใกล้ขอบเหงือก (gingival margin) และในบริเวณที่ไม่ถูกสัมผัสโดยริมฝีปาก ลิ้นและแก้ม ภายใน 2-3 ชั่วโมงแรกของการเกาะติดบนคราบฟัน เชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นและสร้างโคโลนีโดยเกาะติดบนผิวฟันหรือติดกับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกัน นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นโคโลนีผสมโดยมีความซับซ้อนของจุลินทรีย์มากขึ้นและจะแตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล เช่น พบมีเชื้อแบคทีเรียชนิดกลม (cocci) เจริญบนเชื้อแบคทีเรียชนิดท่อน (filament) ในลักษณะคล้ายฝักข้าวโพด (corncob appearance) (Lisgarten และคณะ, 1973) เมื่อคราบจุลินทรีย์มีอายุมากขึ้นจะพบแบคทีเรียที่ตายและถูกย่อยสลายแต่ยังคงมีสารอาหารให้กับเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ (Theilade และ Theilade, 1970) สารที่อยู่ระหว่างแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ คือสารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ (intermicrobial matrix) ซึ่งพบในปริมาณ 25% ของปริมาตรทั้งหมดของคราบจุลินทรีย์ โดยมีแหล่งที่สร้างสารนี้จากจุลินทรีย์น้ำลาย น้ำจากเหงือก (gingival exudate) แบคทีเรียจะปลดปล่อยผลิตผลขั้นสุดท้าย (end product) เพื่อที่จะเป็นตัวสะสมพลังงานหรือเป็นสารค้ำจุนให้มีการคงสภาพของคราบจุลินทรีย์อยู่ได้ โดยพบว่าแบคทีเรียที่แตกต่างกันจะให้ผลิตผลที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ในแต่ละบริเวณบนผิวฟันจะมีสารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ต่างกัน เช่น ส่วนประกอบที่เป็นเส้นใยจะพบอยู่ระหว่างเชื้อแบคทีเรียกรัมบวกชนิดกลม เชื้อสเตรปโตคอกไค (streptococci) จะสร้าง

ลีแวน (levan) และกลูแคน (glucan) จากซูโครส (sucrose) ในคราบจุลินทรีย์ที่มีเชื้อแบคทีเรียกรัมลบจะพบสารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์เป็นถุงเล็ก (vesicle) บรรจุเอนโดทอกซิน (endotoxin) และเอนไซม์โปรทีโอไลติก (proteolytic enzyme) จากการศึกษาทางชีวเคมีพบว่า สารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่มากกว่าไขมัน โปรตีนบางชนิดในสารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ ได้มาจากไกลโคโปรตีนในน้ำลาย เชื้อจุลินทรีย์ เอนไซม์ในน้ำลาย เอนไซม์ของแบคทีเรียและอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) นอกจากนี้คาร์โบไฮเดรตในสารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ เช่น โพลีแซกคาไรด์ (polysaccharide) ในที่นี้คือฟรุกแทน (fructan) และกลูแคน ซึ่งฟรุกแทนได้จากการสังเคราะห์ฟรุกโทสและเป็นแหล่งพลังงาน ส่วนกลูแคนได้จากการสังเคราะห์ซูโครส น้ำตาลชนิดหนึ่งของกลูแคน คือ เดกซ์แทรน (dextran) เป็นแหล่งพลังงานเช่นเดียวกับฟรุกแทน และอีกชนิดหนึ่งคือ มิวแทน (mutan) ซึ่งจะไม่ถูกย่อยสลายแต่จะเป็นโครงสร้างของสารพื้นระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับคอลลาเจน (collagen) ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เชื่อว่าคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้เองที่ทำหน้าที่หลักในการทำให้คราบจุลินทรีย์เปลี่ยนสภาพจากระยะเปลี่ยนกลับได้ไปเป็นระยะเปลี่ยนกลับไม่ได้ ส่วนไขมันซึ่งมีในปริมาณเล็กน้อย ส่วนหนึ่งพบในถุงเล็กภายนอกเซลล์ (extracellular vesicle) ซึ่งมีไลโปโพลีแซกคาไรด์ (Lipopolysaccharide) และเอนโดทอกซินของเชื้อแบคทีเรียชนิดกรัมลบ

Howit และคณะ (1928) กล่าวว่า คราบจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นบนฟันของมนุษย์สามารถเกิดขึ้นได้แม้ปราศจากการบริโภคอาหารทางปาก และอาหารสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงปริมาณและส่วนประกอบของคราบจุลินทรีย์ได้ โดยอาหารที่มีเส้นใยจะไปกระตุ้นการเคี้ยวเพื่อทำให้เกิดการทำความสะอาดฟันโดยน้ำลาย ริมฝีปาก แก้มและลิ้น หรืออาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตทำให้เกิดการสร้างคราบจุลินทรีย์มากขึ้นได้ Guggenheim, (1970) พบว่า อาหารที่รับประทานเข้าไปและน้ำลาย เป็นสารอาหารที่ดีในการสร้างคราบจุลินทรีย์ โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่ใช้สร้างโพลีแซกคาไรด์ภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์

Silness และ Loe (1964) พบว่า คราบจุลินทรีย์และโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) มีความสัมพันธ์กันมากกว่าหินน้ำลาย (calculus) และโรคเหงือกอักเสบ Listgarten และ Ellegaard (1973) พบว่ามีการเกิดเยื่อบุผิวเชื่อมต่อ (epithelial attachment) ของเหงือกกับหินน้ำลายบนผิวรากฟันได้ โดยไม่พบคราบจุลินทรีย์บนหินน้ำลาย Allen และ Kerr (1965) พบว่า หินน้ำลายที่ได้รับการอบความดันไอน้ำ (autoclaved calculus) สามารถนำไปฝังในเนื้อเยื่อยึดต่อได้โดยไม่ทำให้เกิดการอักเสบ แต่อย่างไรก็ตามหินน้ำลายมักจะเป็นแหล่งสะสมและเกาะติดของคราบจุลินทรีย์ซึ่งก่อให้เกิดพยาธิสภาพขึ้นกับเนื้อเยื่ออ่อนที่อยู่โดยรอบได้ จึงควรกำจัดหินน้ำลายออกด้วย เนื่องจากไม่สามารถกำจัดคราบจุลินทรีย์ออกได้ดี เมื่อมีหินน้ำลายหลงเหลืออยู่

การกำจัดแบคทีเรียออกจากช่องปากมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง คือ อัตราการไหลของน้ำลาย อัตราการไหลของน้ำเหลืองเหงือก (gingival fluid) การเคี้ยว การทำความสะอาดฟันและช่องปาก การหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผิว นอกจากนี้แบคทีเรียอาจจะหลบในหลุมและร่องฟัน หรือบริเวณที่การทำความสะอาดเข้าไม่ถึง แบคทีเรียบางชนิดสามารถเกาะติดผิวฟันได้โดยมีความแข็งแรงมากและสามารถต่อต้านการกำจัดออกจากช่องปากได้ดี

ปัจจัยที่มีผลในการเกาะติดของจุลินทรีย์ในช่องปาก ได้แก่

1. สภาพแวดล้อม (Ecological determinants) เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) ค่าปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 tension) และค่าปริมาณความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจน (O_2 tension) ซึ่งแบคทีเรียในแต่ละบริเวณในช่องปากจะต้องใช้ออกซิเจนในปริมาณต่างกัน น้ำลายนอกจากจะเป็นแหล่งสารอาหารให้กับจุลินทรีย์แล้วยังเป็นบัฟเฟอร์ของผลิตผลที่เป็นกรดของจุลินทรีย์ และช่วยกำจัดผลิตผลที่เป็นของเสียของจุลินทรีย์ด้วย

2. การเกาะติดของแบคทีเรีย (bacterial adherence) มีความเกี่ยวข้อง

กับกลไกจำเพาะทางเคมีและกายภาพของแบคทีเรียบริเวณพื้นผิวแบคทีเรียและพื้นผิวที่แบคทีเรียเกาะติด คุณสมบัติของน้ำลาย ลักษณะของพื้นผิวเนื้อเยื่อของริมฝีปาก แก้ม เพดาน ลิ้น เหงือกและฟัน พื้นผิวเนื้อเยื่อในช่องปากโดยทั่วๆไปจะถูกปกคลุมด้วยฟิล์มบางๆของน้ำเมือกของน้ำลาย (salivary mucin) ซึ่งสร้างมาจากไกลโคโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลสูง ฟิล์มนี้จะช่วยหล่อลื่นเยื่อเมือกให้ชุ่มชื่น และป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วของแรงดันออสโมติค (osmotic pressure) นอกจากนี้ยังช่วยขัดขวางการเกาะติดของแบคทีเรียบนพื้นผิวเนื้อเยื่อในช่องปากด้วย (McNabb และ Tomasi, 1981) บริเวณผิวฟันจะมีน้ำเมือกของน้ำลายที่เสียคุณสมบัติ (denature) ถูกนำมาสร้างเป็นคราบฟัน ซึ่งจะมีแบคทีเรียมาเกาะติดและดำรงชีวิตอยู่ได้ บริเวณที่มีการหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผิวฟันจะมีแบคทีเรียมาสร้างโคโลนี เรียกว่า เวอร์จิน ซอย (virgin soil) แม้จะเชื่อกันว่าการหลุดลอกของเซลล์เยื่อบุผิวนี้เป็นกลไกป้องกันการเกาะติดของแบคทีเรียได้ แต่พบว่าแบคทีเรียที่ยึดเกาะติดกับเยื่อบุผิวมักจะยึดกับส่วนที่ไม่หลุดลอก (non-shedding tooth surface) อย่างหนาแน่นเช่นเดียวกัน

คุณสมบัติของแบคทีเรียในธรรมชาติจะมีไกลโคคาลิกซ์ (glycocalices) ล้อมรอบ ซึ่งสร้างมาจากคาร์โบไฮเดรตโดยอยู่ในรูปเฮเทอโรโพลีแซกคาไรด์ (Costerton และคณะ, 1981) เมื่อนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาจะไม่สามารถเห็นส่วนประกอบนี้ ในแบคทีเรียบางชนิดจะมีส่วนที่เป็นระยางค์ไกลโคโปรตีนซึ่งมีเส้นใยโพลีแซคคาไรด์ล้อมรอบเรียกว่า ไพไล (pili) หรือ ฟิมเบรีย (fimbriae) ที่มีความหนา 0.2 - 20 ไมโครเมตร กว้าง 30 - 140 อาร์มสตรอง ซึ่งส่วนประกอบนี้ของแบคทีเรียจะช่วยในการเกาะติดกับพื้นผิวในช่องปาก นอกจากนี้แล้วแบคทีเรียบางชนิดยังสร้างโฮโมโพลีแซกคาไรด์จากซูโครสโดยเอนไซม์กลูโคซิลทรานเฟอเรส (glucosyl transferase) ที่หลั่งจากเชื้อสเตรปโตคอกไซซึ่งจะได้ผลิตผลคือ กลูแคนที่มีมิวแทนกับเดกซ์แทรน มิวแทนเป็นตัวหลักสำคัญในการทำให้เกิดการรวมกลุ่มของแบคทีเรียบนผิวฟัน (McGhee และ Michalek, 1981)

คุณลักษณะของเซลล์ที่มีชีวิตจะมีประจุไฟฟ้าลบเช่นเดียวกับประจุไฟฟ้าบนผิวฟันและมี

แนวโน้มในการผลักไสกัน (Gristina, 1987) แต่ระหว่างแบคทีเรียและผิวฟันจะมีแรงแวนเดอร์วาล (van der Waal's force) ที่เป็นแรงไฟฟ้ากล (electrodynamic forces) ซึ่งเป็นแรงดึงดูดที่มากกว่าแรงผลักซึ่งเป็นแรงไฟฟ้าสถิตย์ (Repulsive electrostatic forces) พบว่าแรงดึงดูดและแรงผลักทำให้มีช่องห่างระหว่างแบคทีเรียกับผิวฟัน เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรดหรือมีความเข้มข้นของประจุไฟฟ้าบวกมากขึ้นจะทำให้ช่องห่างนี้แคบลง ไกลโคคาลิกซ์ที่ผิวของแบคทีเรียมีความสำคัญในการเกาะติดของแบคทีเรียกับผิวฟันคือทำให้ช่องห่างระหว่างแบคทีเรียกับผิวฟันแคบลง ซึ่งจะทำให้มีแรงดึงดูดเพิ่มขึ้นเพราะมี แรงไฮโดรเจนบอนด์ (hydrogen bonding) แรงอิออนคู่ (ion pair) และแรงปฏิกิริยาขั้วคู่ (dipole-dipole interaction) ส่วนที่เป็นไพไลหรือพิมเบรียของแบคทีเรียที่ยื่นยาวจากไกลโคคาลิกซ์ ทำให้ระยะห่างระหว่างแบคทีเรียกับผิวฟันลดลง นอกจากนี้ Mergenhagen และคณะ (1987) กล่าวถึง การเกาะติดของแบคทีเรียกับผิวฟันว่ามีกลไกจำเพาะ โดยแอดฮีซิน (adhesins) ซึ่งเป็นโปรตีนอยู่ที่ผิวของแบคทีเรียบริเวณที่เป็นไพไลหรือพิมเบรีย จะจำตัวรับจำเพาะ (specific receptor) บนผิวฟันซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรต คือ เลกทิน (lectins) นอกจากนี้ยังมีไกลโคโปรตีนของคราบฟันเป็นตัวรับจำเพาะสำหรับแอดฮีซินของแบคทีเรียได้เช่นกัน (Sharon, 1987) Gibbons และ Houte (1975) พบว่า สารที่พบในน้ำเมือกของน้ำลายคือ แอกกลูทินิน (Agglutinins) และอิมมูโนโกลบลูลินในน้ำลาย (sIgA) จะทำปฏิกิริยากับพื้นผิวของแบคทีเรียทำให้ป้องกันการเกาะติดของแบคทีเรียกับพื้นผิวช่องปากได้

<u>สีผสมอาหาร</u> (สุธี เวคะวากยานนท์, 2531)

สารแต่งสี คือ สารประกอบต่างๆ ที่นำมาใช้ทำให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์ยา อาหารและเครื่องสำอาง รวมถึงสีที่ใช้ย้อมเชื้อจุลินทรีย์และสีที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค แต่ไม่รวมถึงสารบางอย่างที่มีอยู่ในตัว ซึ่งนำมาใช้เป็นยารักษาโรค เช่น กำมะถัน

คุณสมบัติของสารแต่งสีที่ดี คือ

1. มีความปลอดภัยในระดับความเข้มข้นที่ใช้ ไม่ทำให้เกิดโรคมะเร็งและไม่มีฤทธิ์ทางสรีรวิทยา
2. มีส่วนประกอบทางเคมีที่แน่นอน สามารถตรวจหาความบริสุทธิ์และสิ่งที่ปนเปื้อนได้ง่าย
3. ละลายได้ในน้ำ ยกเว้นบางกรณีที่จำเป็นต้องใช้สารแต่งสี ซึ่งละลายได้ในน้ำมันหรือแอลกอฮอล์
4. เมื่อใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็ทำให้เกิดสีได้
5. มีความคงทนต่อแสง เชื้อจุลินทรีย์และการเกิดไฮโดรไลซิส ทำให้เก็บได้นาน
6. ไม่มีความเปลี่ยนแปลงโดยสารออกซิไดส์ สารรีดิวส์ และความเป็นกรดด่าง
7. ไม่มีปฏิกิริยากับตัวยาอื่นและภาชนะบรรจุ
8. ไม่เป็นอุปสรรคต่อการทดสอบและวิเคราะห์ยาในตำรับ
9. ปราศจากกลิ่นรสที่ไม่ดี
10. ซื้อหาได้ง่ายและราคาถูก

<u>ทฤษฎีสี</u>

การเกิดสีของสารประกอบเนื่องจากมีกลุ่มโครโมฟอร์ (chromophore) อยู่ภายในโมเลกุลของสาร กลุ่มเหล่านี้ ได้แก่

อะโซ (azo)	-N=N-
ไนโทรโซ (nitroso)	-N=O
ไนโทร (nitro)	$-N^{+}\!\!\begin{matrix}\nearrow O^{-}\\ \searrow O\end{matrix}$
อะซอกซี (azoxy)	$-N=N^{+}-O^{-}$
อะโซมีทีน (azomethine)	-CH=N-

คาร์บอนิล (carbonyl)	=C=O
เอทีนิล (etheny)	=C=C=
ไทโอ (thio)	=C=S

โมเลกุลของสารอินทรีย์สามารถดูดกลืนแสงไว้ได้ โดยจะดูดกลืนแสงในช่วงอุลตราไวโอเลต และทำให้มีสีหรือมีการส่งผ่านแสงออกมา ในช่วงบริเวณสเปคตรัมที่มองเห็นได้ (ความยาวคลื่น 4,000-8,000 อังสตรอม) ทฤษฎีของการดูดกลืนแสงเกี่ยวข้องกับการสั่นสะเทือนของอิเลคตรอนที่อยู่ภายในโมเลกุล ซึ่งตอบสนองต่อการกระตุ้นของคลื่นแสงด้วยความถี่ของการสั่นสะเทือน โดยเฉพาะสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวมีอัตราการสั่นสะเทือนสูงมาก และจะตอบสนองต่อการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่นสั้นและความถี่สูงเท่านั้น ซึ่งจะพบในช่วงอุลตราไวโอเลต สารที่ไม่อิ่มตัวจะเกิดการสั่นสะเทือนโดยแสงที่มีความยาวคลื่นยาวกว่าและการดูดกลืนแสงจะอยู่ในช่วงที่มองเห็นได้ของสเปกตรัม ส่วนแสงที่ไม่ดูดกลืนจะถูกส่งผ่านหรือสะท้อนออกมาเป็นสีของสารประกอบนั้น กลุ่มโครโมฟอร์ต่างชนิดจะมีความแตกต่างกัน เช่น กลุ่มอะโซ ไทโอ อะซอกซีหรือไนโทร เพียงหนึ่งกลุ่มที่แทนที่บนวงแหวนเบนซินจะให้สารประกอบมีสีได้ ส่วนกลุ่มโครโมฟอร์อื่นๆจะต้องมีมากกว่าหนึ่งกลุ่มจึงจะทำให้เกิดสีได้ นอกจากนี้ยังมีกลุ่มออโซโครม (auxochrome) ในโมเลกุล กลุ่มนี้ตัวเองไม่มีสี แต่ช่วยเสริมหน้าที่ของกลุ่มโครโมฟอร์ โดยทำให้เกิดการสั่นสะเทือนภายในโมเลกุล ทำให้เวเลนซ์อิเลกตรอนของกลุ่มโครโมฟอร์เคลื่อนไหวได้มากขึ้น เป็นผลให้เพิ่มการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่นยาว ทำให้สีเข้มขึ้น กลุ่มโครโมฟอร์ไม่อิ่มตัวจะเป็นตัวรับอิเลกตรอน ส่วนกลุ่มออโซโครมเป็นตัวให้อิเลกตรอน กลุ่มออโซโครมชนิดกรดได้แก่ ซัลโฟนิก ($-SO_3H$) คาร์บอกซิล (-COOH) และไฮดรอกซิล (-OH) ส่วนกลุ่มออโซโครมชนิดเบส ได้แก่ สารประกอบพวกอะมีน ($-NR_2$, -NHR และ $-NH_2$) ถ้ามีกลุ่มอัลคิล (alkyl) หรืออาริล (aryl) อยู่ในกลุ่มออโซโครมแล้วทำให้สีเข้มขึ้น กลุ่มนี้เรียกว่า บาโทโครม (Bathochrome) แต่การมีกลุ่มแอซีติล (acetyl) อยู่ในกลุ่มออโซโครม จะทำให้สีอ่อนลง เรียกกลุ่มนั้นว่า ฮิปโซโครม (Hypsochrome)

ประเภทของสารแต่งสี

1. แบ่งตามคุณสมบัติการละลาย

ก. สีที่ละลายในน้ำหรือน้ำมัน สีที่ละลายน้ำยังละลายได้ในกลีเซอรีน แอลกอฮอล์และไกลคอล ส่วนสีที่ละลายได้ในน้ำมัน คือสีที่ละลายได้ในน้ำมันแร่ น้ำมันพืช กรดไขมันและขี้ผึ้ง

ข. สีที่ไม่ละลายน้ำและน้ำมัน ได้แก่ สารสี (pigments) เลก (Lakes) พิกเมนต์ คือสารเคมีที่ตัวเองมีสีขาวหรือสีอื่น ซึ่งไม่ละลายในตัวทำละลายชนิดใด ส่วนเลก คือเกลือของแคลเซียมหรืออะลูมิเนียมของสี ซึ่งได้จากการดูดซับสีที่ละลายอยู่ในสารละลายบนพื้นผิวอนุภาคของซับสเตรต (substrate) ไม่ละลายในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ คุณสมบัติที่ดีของเลก คือความทึบสามารถผสมกับผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในภาวะแห้ง และมีความคงตัวดีต่อแสงความร้อน จึงมีประโยชน์มากในการแต่งสี ยาผง ยาเม็ดเคลือบ แป้งฝุ่นและพวกขนมหวาน เช่น ลูกกวาด เป็นต้น

2. แบ่งตามแหล่งที่มาของสี

ก. สีธรรมชาติ ได้มาจากพืช สัตว์และแร่ธาตุ สีจากแร่ธาตุอาจเรียกว่าสารสี นิยมใช้แต่งสียาภายนอกและเครื่องสำอาง

ข. สีสังเคราะห์ มักเรียกว่า สีอะนิลีน ได้จากโคลทาร์ (coal tar) นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายมากกว่าสีธรรมชาติ เพราะมีความคงตัวดีกว่าและให้สีสวยงามติดทนทาน ใช้ในปริมาณน้อยและราคาถูก นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมปริมาณการใช้สีให้สม่ำเสมอได้ทุกครั้ง แต่เป็นสีที่มีพิษมาก ผลการทดลองในสัตว์พบว่าสีบางตัวอาจก่อให้เกิดโรคมะเร็ง

3. แบ่งตามสูตรโครงสร้างทางเคมี

สีสังเคราะห์ที่รับรองให้ใช้ได้ในอาหารและยา แบ่งออกเป็น 8 ประเภทดังนี้

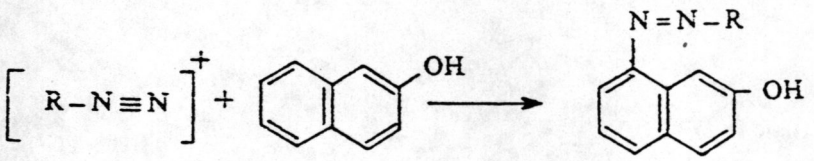
ก. สีอะโซ เป็นประเภทสีที่ใหญ่ที่สุด เกือบ 90% ของสีที่อนุญาตให้ใช้ได้ สูตรโดยทั่วไปของอะโซ คือ

$$R_1-N=N-R_2$$

R_1 = กลุ่มอาริล

R2 = กลุ่มฟีนอล กลุ่มเอมีน หรือกลุ่มอื่นที่สามารถทำให้เกิดเกลือไดอะโซเนียม (diazonium salt)

ปฏิกิริยาโดยทั่วไปที่เกิดขึ้นในการสังเคราะห์ มีดังนี้



สีอะโซ แบ่งย่อยเป็น 4 ประเภท

1. Insoluble unsulfonated pigments
2. Soluble unsulfonated dyes
3. Insoluble sulfonated pigments
4. Soluble sulfonated dyes

ประเภทที่ 1 ไม่มีกลุ่มซัลโฟนิกอยู่ในโมเลกุล แต่มีกลุ่มคลอรีนหรือไนโทรที่ตำแหน่งออร์โทของกลุ่มอะโซ ทำให้การละลายในน้ำลดลงและมีความคงตัวต่อแสงดีมาก

ประเภทที่ 2 ไม่มีกลุ่มซัลโฟนิกอยู่ในโมเลกุล ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายแอโรแมติกอินทรีย์

ประเภทที่ 3 มีกลุ่มซัลโฟนิกอยู่ที่ตำแหน่งออร์โทของอะโซนิวเคลียส สามารถเปลี่ยนเป็นเกลือของโลหะที่ไม่ละลายได้ง่าย ทำให้การละลายลดลง

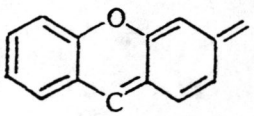
ประเภทที่ 4 มีกลุ่มซัลโฟนิกอยู่ในโมเลกุล 1 กลุ่มหรือมากกว่า การละลายในน้ำ ขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของกลุ่มซัลโฟนิก

ข. สีแอนทราควิโนน (anthraquinone) สีประเภทนี้โดยทั่วไปมีความคงตัวต่อแสง และมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีดี เหมาะสำหรับใช้ในเครื่องสำอาง

ค. สีอินดิกอยด์ (indigoids)

ง. สีไตรเฟนิลมีเทน (triphenylmethanes) สีชนิดนี้ประกอบด้วยวงแหวนแอโรแมติก 3 วงต่อกับคาร์บอนอะตอมที่จุดศูนย์กลาง สีพวกนี้ละลายได้ในน้ำ มีประจุลบและมีกลุ่มซัลโฟนิก

จ. สีแซนทีน (xanthenes) เป็นประเภทสีที่ใหญ่อันดับ 2 รองลงมาจากสีอะโซ มีสูตรดังนี้



1. สีแซนทีนชนิดกรด (acid xanthenes) มี 2 ชนิดคือ

ชนิดที่ 1 ฟีนอลิกหรือฟลูแรน (phenolic or fluorans) มีกรดอิสระอยู่ในโครงสร้าง ละลายน้ำได้น้อย

ชนิดที่ 2 ควินอยด์หรือแซนทีน (quinoid or xanthenes) เป็นเกลือโซเดียมละลายน้ำได้ดีมาก เช่น เออริโทรซีน (Erythrosine)

2. สีแซนทีนชนิดด่าง (basic xanthenes)

ฉ. สีควิโนลีน (quinolines) ละลายได้ในตัวทำละลายและถ้าเป็นอนุพันธ์ของซัลโฟเนตจะละลายได้ในน้ำ

ช. สีไพราโซโลน (pyrazolones) มีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปโดยมีกลุ่มอะโซ (-N=N-) อยู่ในโมเลกุลด้วย ดังนั้นจึงอาจจัดสีประเภทนี้อยู่ในประเภทสีอะโซได้

ซ. สีไทอะซีน

ในประเทศสหรัฐอเมริกา ปี ค.ศ.1906 ทางคณะกรรมการควบคุมอาหารและยา USFDA (United State Food and Drug Administration) ได้ออกกฎหมายควบคุมการใช้สีสังเคราะห์ในอาหาร ยาและเครื่องสำอาง กำหนดให้ใช้สีที่ได้รับอนุญาต (permitted colours) หรือสีที่ได้รับการรับรองให้ใช้ได้ (certified colour) แบ่งเป็น 3 หมู่ คือ

1. FD&C เป็นสีที่ได้รับการรับรองและอนุญาตให้ใช้ได้ในอาหาร ยาและเครื่องสำอาง

2. D&C เป็นสีและสารสีที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ในยาและเครื่องสำอาง

3. External D&C เป็นสีที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ในยาและเครื่องสำอาง

ที่ใช้เฉพาะกับส่วนภายนอกร่างกาย แต่ห้ามใช้กับริมฝีปากหรือพื้นผิวของร่างกายที่ปกคลุมด้วยเยื่อเมือก

ในประเทศไทย สีที่อนุญาตให้ใช้ในยา ยังไม่มีพระราชบัญญัติยาสำหรับสีที่อนุญาตให้ใช้ผสมยาได้ จึงอนุโลมให้ใช้สีที่อนุญาตให้ใช้ผสมอาหารได้ ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 21 พ.ศ. 2522

<u>ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสารแต่งสี</u>

1. ความคงตัวของสี

สารอินทรีย์ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ ความไม่คงตัวของสีอาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากความไม่อิ่มตัว เช่น สีอาจจางหายไป เกิดการเปลี่ยนแปลงสีหรือเกิดตกตะกอนของสี ปัจจัยต่างๆที่ทำให้สีจางลง เช่น แสง ความร้อน โลหะ เชื้อจุลินทรีย์ สารออกซิไดส์ สารรีดิวซ์ ความเป็นกรดด่าง (pH) และพวกน้ำตาล เช่น เดกซ์โทรส แล็กโทส และซูโครส

สีอะโซ จะเกิดปฏิกิริยารีดักชั่น ทำให้สีจางลง ผลสุดท้ายอาจไม่มีสี

สีแซนทีน ในสารละลายที่เป็นกรด จะได้ตะกอนสีแดงและสารละลายไม่มีสี

2. ความไม่พึงผสม

ส่วนใหญ่สารแต่งสีที่นิยมใช้กันมากเป็นเกลือของสีที่เป็นกรด (acid dyes) และสีที่เป็นด่าง (basic dyes) ดังนั้น อาจมีปัญหาเกี่ยวกับความไม่พึงผสมกับตัวยาอื่นๆ เนื่องจากประจุที่ตรงกันข้าม

3. การละลาย

สีสังเคราะห์ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของเกลือ สามารถละลายน้ำได้ นอกจากละลายได้ในน้ำแล้ว สีเหล่านี้ยังละลายได้ในตัวทำละลายอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์ กลีเซอรีน และโปรปีลินไกลคอล การเลือกใช้ควรให้ละลายในตัวกลางที่เหมาะสม

4. ความปลอดภัย

สีที่นิยมใช้ในปัจจุบันเป็นสีที่ได้จากการสังเคราะห์ บางชนิดเป็นพิษมาก ทางกระทรวงสาธารณสุขได้ออกกฎหมายควบคุม โดยกำหนดคุณภาพมาตรฐาน ชนิดของสี ปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของประชาชน สีแดงที่พบว่ามีอันตรายน้อย คือ ปองโซ 4 อาร์ รองลงมาก็คือ เออริโทรซีน

5. ปริมาณของสารแต่งสีที่ใช้

ปริมาณที่ใช้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความเข้มของสีที่ต้องการและวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้

6. การยอมรับของผู้ใช้

สีเป็นส่วนประกอบสำคัญในการทำให้เกิดความน่าใช้และมีผลทางจิตวิทยาของผู้ใช้ด้วย ดังนั้นการเลือกใช้สีขึ้นกับความพึงพอใจของผู้ใช้ด้วย

<u>ปองโซ 4 อาร์</u> (ดวงพร วินิจกุล, 2530; JECFA, 1976)

ชื่อสามัญ	ปองโซ 4 อาร์ (Ponceau 4 R)
ชื่อพ้อง	โคชิเนียล เรด เอ (cochineal red A) บริลเลียนท์ ปองโซ 4 อาร์ซี (brilliant ponceau 4 RC)
เลขดัชนีสี	C.I. (1971) No.16255, C.I.Food Red 7 EEC No.E124
ชื่อทางเคมี	ไตรโซเดียม 1-(1-แนฟทิลอะโซ)-2-แนฟทอล- 4′,6′,8′-ไตรซัลโฟเนท (trisodium 1-(1-naphthylazo)-2-naphthol-4′,6′,8′-trisulfonate) หรือเกลือไตรโซเดียมของ 7-ไฮดรอกซี-8-[(4-ซัลโฟ-1-แนฟทิล) อะโซ]-1,3-แนฟทาลีนไดซัลโฟนิคแอซิด (7-hydroxy-8-[(4-sulfo-1-napthyl) azo]-1,3-naphthalenedisulfonic acid trisodium salt)
สูตรเอมไพริกัล	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$
น้ำหนักโมเมกุล	604.48

คุณสมบัติ 1. เป็นเม็ดเล็กๆหรือผง สีแดงถึงแดงเข้ม ไม่มีกลิ่น ละลายได้ในน้ำ กลีเซอรีน ละลายได้เล็กน้อยในเอทานอล มีสีอยู่ไม่น้อยกว่าร้อยละ 82 ของน้ำหนัก

2. จำนวนน้ำหนักที่หายไป โดยการอบแห้งที่ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง รวมกับจำนวนคลอไรด์และซัลเฟต คิดคำนวนเป็นโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมซัลเฟท ตามลำดับ ทั้งหมดต้องไม่เกินร้อยละ 18 ของน้ำหนัก

3. สารที่ไม่ละลายน้ำ (water-insoluble matter) ไม่เกินร้อยละ 0.2 ของน้ำหนัก

4. สารที่สกัดได้ด้วยอีเทอร์ไม่เกินร้อยละ 0.2 ของน้ำหนัก

5. สารหนู (คิดเป็น As) ไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม

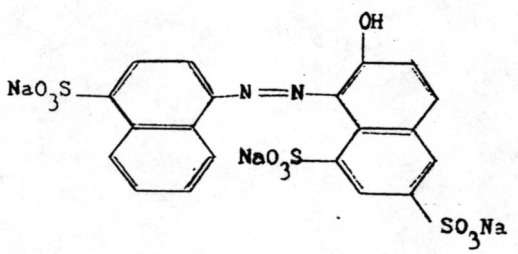
6. ตะกั่ว (คิดเป็น Pb) ไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม

7. โครเมียม (คิดเป็น Cr) ไม่เกิน 25 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม

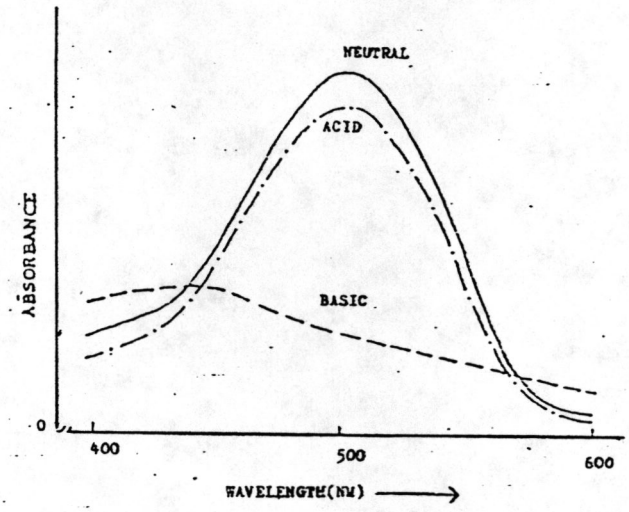
8. สีอื่น (subsidiary dyes) ไม่เกินร้อยละ 2 ของน้ำหนัก

9. สารที่เกิดขึ้นระหว่างการสังเคราะห์ (Intermediates) ไม่เกินร้อยละ 0.5 ของน้ำหนัก

สูตรโครงสร้าง



วิสิเบิลสเปคตรัมของสีละลายน้ำปองโซ 4 อาร์



JECFA (1976) กล่าวถึง การทดสอบสีปองโซ 4 อาร์โดย Luck และ Rickerl (1960) เมื่อใช้ปองโซ 4 อาร์ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อ 100 มิลลิกรัมในอาหารเพาะเชื้อ Escherichia coli. ไม่พบว่ามีผลต่อการกลายพันธุ์ (mutagenicity) ในปี ค.ศ. 1960 Bar และ Griepentrog ทดสอบภาวะภูมิแพ้ (sensitization) กับหนูตะเภา โดยใช้สีปองโซ 4 อาร์ ไม่พบว่าเกิดปฏิกิริยาใดๆ DFG (1957) ให้ปองโซ 4 อาร์ โดยผ่านท่ออาหารเข้าสู่กระเพาะอาหารแมว เพื่อทดสอบปฏิกิริยาภูมิแพ้ ไม่พบว่าเกิดปฏิกิริยาเช่นกัน Larsson (1974) ทดลองให้ปองโซ 4 อาร์ในหนู (mice) ในขนาด 7.5, 30, และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวัน ตลอดระยะเวลาการตั้งครรภ์ของหนูไม่พบว่าเกิดความพิการในรุ่นลูก (teratogenicity)

การศึกษาในระยะเวลาสั้น (short-term studies) Gaunt และคณะ (1967) ได้ทดลองให้หนู (rat) บริโภคอาหารที่มีสีปองโซ 4 อาร์ ความเข้มข้น 0%, 0.5%, 1%, และ 2% เป็นเวลา 90 วัน ตรวจสอบรูปลักษณะภายนอก พฤติกรรม การเจริญเติบโต การบริโภคอาหาร ผลทางโลหิตวิทยา SGPT และ SGOT ตรวจสอบการทำงานของระบบไต และน้ำหนักอวัยวะ ไม่พบความผิดปกติใดๆ ในปี ค.ศ. 1969 Gaunt และคณะทดลองเลี้ยงหมู ด้วยอาหารที่มีปองโซ 4 อาร์ในขนาด 0, 100, 300, และ 900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวัน เป็นเวลา 3 เดือน พบว่ามีการลดลงของจำนวนเม็ดเลือดแดง

(erythrocyte) ในสัปดาห์ที่ 6 โดยพบในหนูเพศผู้ ที่ความเข้มข้น 900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนัก แต่ไม่พบความผิดปกติของ ปัสสาวะ ชีรั่ม และน้ำหนักของอวัยวะ

การศึกษาในระยะยาว (long-term studies) Gaunt และคณะ (1974) ทดลองเลี้ยงหนู (micc) ด้วยอาหารที่มีปองโซ 4 อาร์ความเข้มข้น 0.01%, 0.05%, 0.25%, และ 1.25% เป็นเวลา 82 สัปดาห์ พบว่าเกิดโลหิตจางเล็กน้อยในเดือนที่ 6 แต่ไม่มีผลทำให้เกิดมะเร็ง (carcinogenic potential) นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 1957 DFG ได้ทำการทดลองเลี้ยงหนู (rat) ด้วยอาหารที่ผสมปองโซ 4 อาร์ในปริมาณ 0.2% เป็นเวลา 417 วัน โดยหนู 1 ตัวได้รับปองโซ 4 อาร์รวม 11 กรัม ใช้เวลาสังเกตเพื่อบันทึกผล เป็นเวลา 1,011 วัน พบว่ามีหนูเสียชีวิต 1 ตัว แต่ไม่พบเนื้องอกใดๆ นอกจากนี้ได้ทดลองเลี้ยงหนู(rat) 11 ตัว โดยให้สีปองโซ 4 อาร์ความเข้มข้น 1% ในน้ำดื่ม เป็นเวลานาน 216 วัน การบริโภครวม 52 กรัมต่อหนู 1 ตัว เฝ้าสังเกตนาน 791 วัน พบว่ามี 1 ตัวที่เกิดมะเร็งในตับและมี 2 ตัวที่ตาย

Reynolds (1989) รายงานผลการใช้ปองโซ 4 อาร์ เป็นสีผสมในยาและอาหาร โดยกำหนดค่าที่บริโภคได้อย่างปลอดภัยคือ 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวัน

Brantom, Stevenson และ Ingram (1987) ได้ทดลองเลี้ยงหนู (rat) โดยให้ปองโซ 4 อาร์ผสมอาหารในปริมาณ 0, 50, 500, 1250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวัน โดยทำการเลี้ยงหนูไปทั้งหมด 3 รุ่น ตรวจสอบความผิดปกติของโครงสร้างกระดูกในรุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 คือมีการเจริญเติบโตของกระดูกมากกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย และตรวจพบลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม (ceacum) ขยายขนาดเพิ่มขึ้น และมีน้ำหนักของตับมากขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่พบผลกระทบที่มีผลเสียใดๆในทุกรุ่น

Brantom, Stevenson และ Wright (1988) ได้ทดลองเลี้ยงอาหารกับหนู (rat) จำนวน 66 ตัว โดยให้ปองโซ 4 อาร์ในปริมาณ 6, 50, 500, และ 1,250

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักต่อวัน เป็นเวลา 60 วัน หลังจากนั้นนำลูกที่ได้จากหนูที่ทดลองนี้มา 54 ตัว และให้อาหารที่มีปองโซ 4 อาร์ผสมในอัตราส่วนเท่าเดิม เป็นเวลา 118 สัปดาห์ ตรวจเลือดและปัสสาวะในช่วงเวลา 3, 6, 12, 18 และ 24 เดือน ตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะเป็นปริมาณสูงขึ้นเล็กน้อย แต่ไม่พบสิ่งผิดปกติอื่นรวมถึงการเกิดเนื้องอกที่ขนาด 1,250 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก

Branen, Davidson และ Salminen (1990) ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับอาการแพ้ในลักษณะหอบ (asthma) เนื่องมาจากกลุ่มสีอะโซ ซึ่งมีสูตรโครงสร้างคล้ายแอสไพรินโดยไม่ได้ระบุถึงปองโซ 4 อาร์ แต่พบในสีตาร์ตาร์ซีน

<u>เออริโทรซีน</u> (ดวงพร วินิจกุล, 2530)

ชื่อสามัญ เออริโทรซีน (erythrosine)

เลขดัชนีสี C.I.(1956) No.45430 C.I. Food Red 14
FD&C Red No.3 EEC No.E127

ชื่อทางเคมี เกลือไดโซเดียม หรือไดโปตัสเซียมของ 2′, 4′, 5′, 7′ เตตราไอโอโดฟลูออเรสซีน (2′, 4′, 5′, 7′, tetra-iodofluorescein, disodium or diapotassium salt)

สูตรเอมไพริกับ $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$ หรือ $C_{20}H_6I_4K_2O_5$

น้ำหนักโมเลกุล 879.87 (เกลือโซเดียม) 912.10 (เกลือโปตัสเซียม)

คุณลักษณะ 1. เป็นผงสีแดง ละลายได้ง่ายในน้ำและละลายได้ในเอทานอล มีสีอยู่ไม่น้อยกว่าร้อยละ 85 ของน้ำหนัก

2. จำนวนน้ำหนักที่หายไปโดยการอบแห้งที่ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมงรวมกับจำนวนคลอไรด์และซัลเฟท คิดคำนวนเป็นโซเดียมคลอไรด์และโซเดียมซัลเฟท หรือโปตัสเซียมคลอไรด์และโปตัสเซียมซัลเฟทตามลำดับ ทั้งหมดต้องไม่เกินร้อยละ 15 ของน้ำหนัก

3. สารที่ไม่ละลายในน้ำ (Water-insoluble matter) ไม่เกินร้อยละ 0.2 ของน้ำหนัก

4. สารที่สกัดได้ด้วยอีเทอร์จากสารละลายที่เป็นด่างเท่านั้น (Ether-extractable matter from alkaline solutions only) ไม่เกินร้อยละ 0.2 ของน้ำหนัก

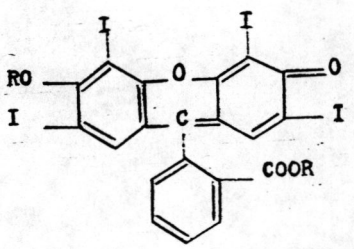
5. สารหนู (คิดเป็น As) ไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม

6. ตะกั่ว (คิดเป็น Pb) ไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม

7. สีอื่น (subsidiary dyes) ไม่เกินร้อยละ 4 ของน้ำหนัก

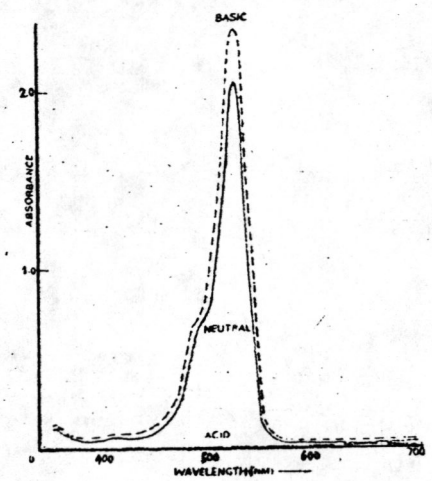
8. สารที่เกิดขึ้นระหว่างการสังเคราะห์ (intermediates) ไม่เกินร้อยละ 0.5 ของน้ำหนัก

สูตรโครงสร้าง



R= Na or K

วิสิเบิลสเปคตรัมของเออริโทรซีน



Reynold (1989) รายงานว่า เออริโทรซีนเป็นสีแดงหรือสีน้ำตาลแดง ไม่มีกลิ่น ไม่มีการเรืองแสงในแสงธรรมชาติ ใช้ในอาหาร ยา และเครื่องสำอาง และเป็นสารย้อมติดสีคราบจุลินทรีย์ เออริโทรซีนเป็นสีที่ไม่สลายตัวในระบบทางเดินอาหารและถูกดูดซึมได้น้อยมาก เมื่อบริโภคในปริมาณมาก อาจทำให้อุจจาระเป็นสีแดง เนื่องจากขับถ่ายทางอุจจาระเป็นส่วนใหญ่ Daniel (1962) พบว่า เออริโทรซีนถูกขับถ่ายทางอุจจาระในหนู (rat) แต่ไม่พบสีนี้ในปัสสาวะ นอกจากนี้ยังพบสีปริมาณ 0.4-1.7% ถูกขับถ่ายทางน้ำดี Diemair และ Hausser (1951) พบว่า เออริโทรซีนที่ความเข้มข้น 200-400 มิลลิกรัมต่อลิตร ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เปปซิน (pepsin) แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (lipase))

Butterworth และคณะ (1976) ได้ทำการศึกษา ในหนู (rats และ mice) ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยให้บริโภคเออริโทรซีนผสมอาหารทุกวัน ในขนาดความเข้มข้น 0.25 %, 0.5%, 1.0% และ 2.0% เป็นเวลา 13 สัปดาห์ ตรวจน้ำหนัก โลหิตวิทยา ชีรั่ม และการทำงานของไต ไม่พบผลอันไม่พึงประสงค์ที่ความเข้มข้น 0.25% ในอาหารเทียบเท่าการบริโภค 160-170 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน แต่พบว่ามีน้ำหนักของต่อมไทรอย์เพิ่มขึ้น และมีการขยายตัวของซีกัมเล็กน้อย เมื่อบริโภคในขนาดความเข้มข้น 0.5%, 1.0% และ 2.0%

Borzelleca และ Hallagen (1986) ได้ทำการทดลอง ในหนู (Charles River CD-1 mice) โดยใช้เออริโทรซีนผสมในอาหาร ในขนาดความเข้มข้น 0.3%, 1.0% และ 3.0% ทดสอบความเป็นพิษ (toxicity) และการเกิดมะเร็ง ให้หนูเพศผู้และเพศเมีย บริโภคทุกวันเป็นเวลา 24 เดือน ไม่พบอาการอันไม่พึงประสงค์ที่ระดับความเข้มข้น 3.0% ในอาหาร (โดยเฉลี่ย 4,759 มิลลิกรัม/กิโลกรัมต่อวัน) ในหนูเพศผู้ และความเข้มข้น 1.0% ในอาหาร (โดยเฉลี่ย 1,834 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) ในหนูเพศเมีย โดยพบว่าเมื่อหนูเพศเมียบริโภคที่ความเข้มข้นสูง จะมีน้ำหนักตัวลดลงและลำไส้มีสีแดง ปริมาณฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ลดลง แต่ปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ Bowie และคณะ (1966) พบว่า หนู (rats) ที่ได้รับเออริโทรซีน 5, 10, 15, และ

50 มิลลิกรัมต่อหนูหนัก 200-500 กรัม สัปดาห์ละ 2 ครั้งเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าฮีโมโกลบินลดลง ที่เดือนที่ 3

Hanzen, Zwickey, Brouwer และ Fitzhugh (1973) ได้ทำการศึกษาในหนู (Osborne-Mendel rats) ซึ่งถูกเลี้ยงด้วยอาหารที่มีเออริโทรซีน ที่ความเข้มข้น 0%, 0.5%, 1.0%, 2.0% และ 5.0% เป็นเวลา 2 ปี พบว่า มีการยับยั้งการเจริญเติบโตในหนูที่ได้รับเออริโทรซีนในระดับความเข้มข้น 5.0% หนูเพศผู้จะมีน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักร่างกายลดลงเมื่อได้รับเออริโทรซีน 0.5%, 2.0% และ 5.0% และในหนูเพศเมียเมื่อให้ที่ความเข้มข้น 5.0% พบว่ามีการขยายตัวของซีกัมเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบอาการไตอักเสบเกิดขึ้นเป็น 2 เท่าของการเกิดตามปกติ เมื่อบริโภคที่ความเข้มข้น 0.5% จากการศึกษาในระยะยาว โดยใช้เออริโทรซีนในระดับ 0%, 0.5%, 1.0% หรือ 2.0% ในอาหารกับสุนัข เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 3 ตัว ในระยะเวลา 2 ปี ไม่พบผลอันไม่พึงประสงค์ใด และจากการฉีดเออริโทรซีนเข้าใต้ผิวหนัง (12 มิลลิกรัมต่อหนู 1 ตัว) ในหนู 18 ตัว โดยฉีดสัปดาห์ละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 2 ปี พบว่าทำให้เกิดแผลบริเวณที่ฉีดแต่ไม่พบเนื้องอก ในการศึกษาอาการเป็นพิษเฉียบพลันในหนู เมื่อให้บริโภคทางปาก LD_{50} ของเออริโทรซีนในหนูเท่ากับ 1,840 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Hanzen, Davis, Graham, Perry และ Jacobson (1973) ศึกษาความเป็นพิษของเออริโทรซีนต่อระบบเลือด ไทรอกซิน และไอโอดีนที่ยึดจับกับโปรตีน (protein-bound iodine) ในหนู (Osborne-Mendel rat) ทั้งเพศผู้และเพศเมียโดย โดยให้บริโภคทางท่ออาหาร ในความเข้มข้น 0%, 0.5%, 1.0%, 2.0% และ 4.0% สัปดาห์ละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 85 สัปดาห์ พบว่าเกิดโลหิตจาง และระดับไทรอกซินสูงขึ้น WHO (1987) รายงานผลจากการศึกษาต่อมไทรอยด์ พบว่าเออริโทรซีนยังยั้งการดีไอโอดิเนชั่น (deiodination) ของไทรอกซีน (thyroxine) ไปเป็นไตรไอโอโดไทโรนีน (triiodothyronine) Webb และคณะ (1962) เชื่อว่า มีความเป็นไปได้ที่ไอโอไดด์อาจถูกปลดปล่อยจากเออริโทรซีนและอาจรบกวนการทำงานของต่อมไทรอยด์ Bowie และคณะ

(1966) พบว่า ไอโอดีนในซีรั่มและไอโอดีนที่ยึดจับกับโปรตีนในซีรั่ม มีระดับสูงขึ้นในหนู (rat) ที่ได้รับเออริโทรซีนทางกระเพาะอาหาร USFDA (1969) พบว่า เออริโทรซีนมีผลต่อไอโอดีนที่ยึดจับกับโปรตีนมากกว่าความผิดปกติของต่อมไทรอยด์ Anderson และคณะ (1964) รายงานการบริโภคเออริโทรซีนในมนุษย์ ในขนาด 16 มิลลิกรัมทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีไอโอดีนที่ยึดจับกับโปรตีนในซีรั่มสูงขึ้น 6-11 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หลังจากเวลาผ่านไป 15-20 วัน พบว่ามีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในอีก 10 วันต่อมา แต่จะกลับสู่สภาพปกติในเวลา 3 เดือน Bought และคณะ (1972) กล่าวว่า เออริโทรซีนเป็นแหล่งของไอโอดีนจากภายนอกร่างกาย

Borzelleca, Capen และ Hallagan (1987) ศึกษาในหนู (Charles River CD) โดยให้อาหารผสมสีเออริโทรซีนเข้มข้น 0.0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%, 4.0% ทุกวันเป็นเวลา 30 เดือน ไม่พบอาการไม่พึงประสงค์ใดๆ นอกจากน้ำหนักของต่อมไทรอยด์เพิ่มมากขึ้น และมีเซลล์ขนาดใหญ่และเพิ่มจำนวนในต่อมไทรอยด์ นอกจากนี้พบอะดีโนมา (Adenomas) Jones (1984) รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับเออริโทรซีนว่า อาจจะต้องได้รับการทบทวนโดย FDA เนื่องจากเป็นสารก่อมะเร็งในหนู (rat)

ดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index)

การตรวจวัดคราบจุลินทรีย์มีหลายวิธี การจะเลือกใช้วิธีใดขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการตรวจวัด ขนาดของประชากร ระยะเวลาในการศึกษา Mandel (1974) ได้รวบรวมดัชนีที่ใช้ในการตรวจวัดคราบจุลินทรีย์ และสิ่งสะสมบนตัวฟันต่างๆ เพื่อใช้ในงาน

1. ระบาดวิทยาของปัจจัยเฉพาะที่ที่เกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์
2. ประเมินผลการดูแลอนามัยช่องปากของผู้ป่วย
3. วัดประสิทธิภาพในการใช้สารต้านคราบจุลินทรีย์

เนื่องจากคราบจุลินทรีย์ที่ต้องการตรวจวัดนี้ สามารถแบ่งการตรวจได้มากมาย ตั้งแต่ ตรวจวัดพื้นที่ (area measurements) โดยใช้ดัชนีจำนวน (numerical index) ตรวจวัดความหนาของคราบจุลินทรีย์ (thickness of plaque) ตรวจวัดน้ำหนักของคราบจุลินทรีย์ (plaque weight) ตรวจวัดส่วนประกอบในคราบจุลินทรีย์ เช่น คาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน จำนวนเชื้อ แอบซอร์แบนซ์ (absorbance)

Ramfjord (1956) กำหนดดัชนีโรคปริทันต์ (periodontal disease index) โดยมีเกณฑ์ในการให้คะแนนดังนี้

0 = ไม่มีคราบจุลินทรีย์

1 = มีคราบจุลินทรีย์ในบางตำแหน่ง แต่ไม่ทั่วบริเวณระหว่างซอกฟันด้านแก้มและด้านลิ้น

2 = มีคราบจุลินทรีย์ทั่วบริเวณระหว่างซอกฟันด้านแก้มและด้านลิ้น แต่ครอบคลุมไม่ถึงครึ่งของพื้นผิวฟัน

3 = มีคราบจุลินทรีย์ทั่วบริเวณระหว่างซอกฟันด้านแก้มและด้านลิ้น แต่ครอบคลุมไปถึงครึ่งของพื้นผิวฟัน

Shick และ Ash (1961) ได้ปรับปรุงเปลี่ยนแปลงดัชนีโรคปริทันต์ โดยไม่ให้ความสนใจบริเวณซอกฟัน แต่สนใจบริเวณครึ่งล่างส่วนชิดเหงือกของตัวฟัน มีเกณฑ์ให้คะแนน ดังนี้

0 = ไม่มีคราบจุลินทรีย์

1 = มีคราบจุลินทรีย์ระหว่างซอกฟันหรือที่ขอบเหงือก ครอบคลุมน้อยกว่า 1/3 ของครึ่งล่างส่วนชิดเหงือก ด้านแก้มหรือด้านลิ้นของตัวฟัน

2 = มีคราบจุลินทรีย์ครอบคลุมมากกว่า 1/3 แต่น้อยกว่า 2/3 ของครึ่งล่างส่วนชิดเหงือก ด้านแก้มหรือด้านลิ้นของตัวฟัน

3 = มีคราบจุลินทรีย์ครอบคลุม 2/3 หรือมากกว่าครึ่งล่างส่วนชิดเหงือก ด้านแก้มหรือด้านลิ้นของตัวฟัน

Stallard และคณะ (1969) กำหนดใช้ดัชนีอนามัยช่องปากอย่างง่าย (oral hygiene index simplified) โดยมีเกณฑ์ให้คะแนนดังนี้คือ

0 = ไม่มีสีติด

1 = ติดสีครอบคลุมมากกว่า 1/3 ของพื้นผิวฟัน

2 = ติดสีครอบคลุมมากกว่า 1/3 แต่ไม่มากกว่า 2/3 ของพื้นผิวฟัน

3 = ติดสีครอบคลุมมากกว่า 2/3 ของพื้นผิวฟัน

Quigley และ Hein (1962) กำหนดใช้ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ที่สามารถใช้เฉพาะฟันหน้า โดยมีเกณฑ์ให้คะแนนดังนี้ คือ

0 = ไม่มีคราบจุลินทรีย์

1 = มีสีติดบริเวณขอบเหงือกแบบกระจัดกระจาย

2 = มีคราบจุลินทรีย์บริเวณขอบเหงือกเป็นเส้นชัดเจน

3 = มีคราบจุลินทรีย์บริเวณ 1/3 ของพื้นผิวฟันจากขอบเหงือก

4 = มีคราบจุลินทรีย์บริเวณ 2/3 ของพื้นผิวจากขอบเหงือก

5 = มีคราบจุลินทรีย์มากกว่า 2/3 ของพื้นผิวฟัน

Turesky และคณะ (1970) นำดัชนีคราบจุลินทรีย์ของ Quigley และ Hein มาปรับปรุง เพราะตัดสินใจยาก ในการให้คะแนนระหว่างแบบกระจัดกระจายและเป็นเส้นชัดเจนบริเวณขอบเหงือก โดยมีเกณฑ์ให้คะแนนดังนี้คือ

0 = ไม่มีคราบจุลินทรีย์

1 = มีคราบจุลินทรีย์บริเวณคอฟันแบบกระจัดกระจาย

2 = มีคราบจุลินทรีย์เป็นแถบต่อเนื่องบริเวณคอฟันกว้างน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร

3 = มีคราบจุลินทรีย์เป็นแถบต่อเนื่องบริเวณคอฟันกว้างมากกว่า 1 มิลลิเมตร แต่น้อยกว่า 1/3 ของตัวฟัน

4 = มีคราบจุลินทรีย์ครอบคลุมอย่างน้อย 1/3 แต่น้อยกว่า 2/3 ของตัวฟัน

5 = มีคราบจุลินทรีย์ครอบคลุม 2/3 หรือมากกว่า 2/3 ของตัวฟัน

Volpe และคณะ (1969) ได้กำหนดเกณฑ์ให้คะแนนคราบจุลินทรีย์ โดยกำหนดการให้คะแนนเฉพาะส่วนที่ติดสีเข้ม โดยไม่นับส่วนที่ติดสีจาง เกณฑ์การให้คะแนนมีดังนี้

0 = ไม่มีคราบจุลินทรีย์ที่ติดสี

1 = มีคราบจุลินทรีย์ที่ติดสีประมาณ 1/4 ของพื้นผิวฟัน

2 = มีคราบจุลินทรีย์ที่ติดสีประมาณ 1/2 ของพื้นผิวฟัน

3 = มีคราบจุลินทรีย์ที่ติดสีประมาณ 3/4 ของพื้นผิวฟัน

4 = มีคราบจุลินทรีย์เต็มพื้นที่ผิวฟันทั้งหมด

<u>การวัดพื้นที่คราบจุลินทรีย์ในเชิงปริมาณ</u> (Plaque area measurements)

Arnim (1963) เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการทำความสะอาดช่องปาก โดยตรวจวัดพื้นที่คราบจุลินทรีย์ในเชิงปริมาณ บริเวณฟันหน้าบนและฟันหน้าล่างรวม 8 ซี่ เฉพาะด้านริมฝีปาก (labial surface) จากนั้นใช้วิธีถ่ายภาพ หลังจากย้อมคราบจุลินทรีย์ด้วยเออริโทรซีนแล้วใช้เครื่องมือเพลนิมิเตอร์ (planimeter) มาช่วยในการคำนวนพื้นที่ Kinoshita (1966) ปรับปรุงวิธีการที่ Arnim ใช้ โดยเปลี่ยนเป็นภาพสไลด์สีกำลังขยาย 65 เท่า ใช้กระดาษลอกลายส่วนที่ติดสีกับไม่ติดสี นำไปวิเคราะห์โดยน้ำหนัก (gravimetric determination) เพื่อคำนวนเปอร์เซนต์ในการติดสีของคราบจุลินทรีย์

<u>ความหนาของคราบจุลินทรีย์</u> (Plaque thickness)

Loe (1967) ได้นำความหนาของคราบจุลินทรีย์ มาใช้เป็นดัชนีตรวจวัดคราบจุลินทรีย์ โดยมีเกณฑ์ให้คะแนนดังนี้

0 = ไม่มีคราบจุลินทรีย์โดยใช้เครื่องมือตรวจปริทันต์ (periodontal probe) ลากผ่านขอบเหงือกแล้วไม่พบคราบจุลินทรีย์

1 = มองไม่เห็นคราบจุลินทรีย์ด้วยตาเปล่า แต่เมื่อใช้เครื่องมือตรวจปริทันต์ลากผ่านขอบเหงือกแล้วพบคราบจุลินทรีย์

2 = มองเห็นคราบจุลินทรีย์ด้วยตาเปล่า มีความหนา (thickness) บางถึงปานกลาง

3 = มีคราบจุลินทรีย์สะสมจำนวนมากที่บริเวณขอบเหงือกและระหว่างซอกฟันมีสิ่งสะสมอ่อนนุ่ม

การตรวจหาคราบจุลินทรีย์โดยวิธีนี้ต้องการแสงไฟ ความแห้งของฟันและเหงือก กระจกส่องปากและเครื่องมือตรวจปริทันต์

<u>น้ำหนักคราบจุลินทรีย์</u> (Plaque weight)

Marthaler, Schroeder และ Muhleman (1961) ใช้ฟอยล์เทคนิคในการเก็บคราบจุลินทรีย์บริเวณด้านลิ้นของฟันหน้าล่าง นำไปเผาที่ 110 องศาเซลเซียส เพื่อชั่งน้ำหนักคราบจุลินทรีย์ โดยกำจัดคราบจุลินทรีย์ออกด้วยสารเคมี ชั่งน้ำหนักฟอยล์ที่เหลือ น้ำหนักส่วนที่หายไป คือน้ำหนักคราบจุลินทรีย์

Caldwell และคณะ (1970) ขูดคราบจุลินทรีย์อายุ 1 สัปดาห์จากฟัน 6 ซี่ นำไปทำให้แห้งที่ 85 องศาเซลเซียส และนำไปชั่งน้ำหนัก

Loesche และ Green (1972) ทดลองเก็บคราบจุลินทรีย์ทั้งชนิดน้ำหนักเปียก

(เก็บและชั่งภายใน 1 นาที) และน้ำหนักแห้ง (อบที่ 95 องศา เซล เซียสจนกระทั่งน้ำหนักคงที่) พบว่า เมื่อนำน้ำหนักคราบจุลินทรีย์ชนิด เบียกไป เปรียบ เทียบสหสัมพันธ์กับคะแนนคราบจุลินทรีย์ชนิดไม่ใช้สีย้อมจะมีความสัมพันธ์กันมากกว่าคราบจุลินทรีย์ชนิดแห้ง และสัมพันธ์กับโรค เหงือกอัก เสบ (gingivitis) มากกว่าชนิดแห้งด้วย

ตัววัดอื่นๆของคราบจุลินทรีย์

มีการศึกษาทาง เคมี เพื่อตรวจส่วนประกอบที่ เป็นคาร์โบไฮ เดรตและไนโตร เจน แต่มักจะพบว่ามีความสัมพันธ์กับโรค เหงือกอัก เสบน้อยมาก มักจะใช้วิธีนี้ในการตรวจสอบส่วนประกอบของคราบจุลินทรีย์ มากกว่าการนำไปใช้ในการ เปรียบ เทียบความสัมพันธ์กับโรค เหงือกอัก เสบ

Loesche และ Green (1972) ตรวจสอบการนับจำนวน เชื้อในคราบจุลินทรีย์และการดูดกลืนแสงส เปกตรัม (spectrophometric absorbance) พบว่ามีสหสัมพันธ์กับคราบจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ติดสี (unstained plaque) และโรค เหงือกอัก เสบ

I16840343.