บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการดำเนินการวิจัยประกอบด้วย 2 ส่วน คือ

1. ผลการทดสอบวิธีดำเนินการวิจัย

1.1 ผลการทดสอบคุณสมบัติไวต่อแสงของสารทดสอบ

1.1.1 ผลการตรวจวัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์โดยวิธี electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy

1.2 ผลการทดลองหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงแผ่นฟิล์มชีวภาพฟัน

1.2.1 ผลการนับจำนวนหน่วยก่อรูปโคโลนีของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ต่อมิลลิกรัม

1.3 ผลการทดลองหาความเข้มข้นของอีริโทรซินที่เหมาะสม

1.3.1 ผลการทดสอบการทำลายเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันของอีริโทรซิน

2. ผลการดำเนินการวิจัย

2.1 ผลการทดสอบการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของสารทดสอบ

2.1.1 ผลการตรวจวัดซิงเกลทออกซิเจนโดยวิธี electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy

2.1.2 ผลการตรวจวัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์โดยวิธี electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy

2.2 ผลการทดสอบการฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันของสารทดสอบ โดยวิธีโฟโตไดนามิกส์

2.2.1 ผลการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)

2.2.2 ผลการนับจำนวนหน่วยก่อรูปโคโลนีของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ต่อมิลลิกรัม

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

1. ผลการทดสอบวิธีดำเนินการวิจัย

1.1 ผลการทดสอบคุณสมบัติไวต่อแสงของสารทดสอบ

1.1.1 ผลการตรวจวัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์โดยวิธี electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy

สำหรับผลการทดสอบการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1) ผลการทดสอบการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์โดยใช้ TEMPO

TEMPO ให้สัญญาณ EPR ในลักษณะ triplet line ดังแสดงในภาพที่ 10, 11 หลักการของการตรวจวัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์คือ เมื่อมีรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์เกิดขึ้นในการทดลอง TEMPO จะจับกับรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ ทำให้สัญญาณ EPR ลดลง ดังนั้นการลดลงของ TEMPO จะแสดงการเกิดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์

จากการศึกษาพบว่าอีริโทรซิน และโคโปรพอร์ไฟริน ทำให้สัญญาณ EPR ของ TEMPO ลดลงตามระยะเวลาที่ฉายแสง โดยโคโปรพอร์ไฟรินลดสัญญาน EPR ได้อย่างรวดเร็วและลดลงได้มากกว่าอีริโทรซิน ส่วนแอนโทไซยานินไม่มีผลต่อสัญญาณ TEMPO ดังภาพที่ 10

เมื่ออีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน พบว่าสัญญาณ TEMPO ลดลงอย่างรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามการลดลงของสัญญาณนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากกรณีของการใช้คอร์โปรพอร์ไฟรินเดี่ยว สำหรับอีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานินนั้นพบว่าแอนโทไซยานินไม่มีผลต่อปฏิกิริยาของอีริโทรซิน ในทำนองเดียวกันแอนโทไซยานินก็ไม่มีผลต่อปฏิกิริยาของคอร์โปรพอร์ไฟริน ภาพที่ 10 และ 12

ปริมาณซิงเกลทออกซิเจน คำนวณจากผลต่างที่ลดลงของพื้นที่ใต้กราฟเมื่อเทียบกับเวลา 0 วินาที ปริมาณซิงเกลทออกซิเจน ณ เวลาต่างๆแสดงดังในภาพที่ 12 และค่าที่เวลา 5 นาทีสรุปได้ดังตารางที่ 1

2) ผลการทดสอบการสร้างซูเปอร์ออกไซด์และไฮดรอกซิลเรดิเคิล

การสร้างซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนและไฮดรอกซิลเรดิเคิล ทดสอบโดยใช้ DMPO ซึ่งเป็นสาร spin trapping เมื่อ DMPO จับกับไฮดรอกซิลเรดิเคิล ให้สัญญาณ EPR ลักษณะเป็น quintet line ความสูงของสัญญาณ 1:2:2:1 ดังแสดงในภาพที่ 13, 14

จากการศึกษาพบว่าสัญญาณ DMPO-OH สูงสุดที่เวลา 90 วินาที สัญญาณคงตัวอยู่ถึง 3-4 นาทีและหลังจากนั้นลดลง

ปริมาณไฮดรอกซิลเรดิเคิล คำนวณจากความสูงลำดับที่ 2 ของความเข้มของสัญญาณ DMPO-OH ปริมาณไฮดรอกซิลเรดิเคิลของสารทดสอบแสดงดังตารางที่ 2

เมื่อใช้อีริโทรซินและโคโปรพอร์ไฟรินร่วมกัน พบว่าสัญญาณ DMPO-OH เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับอีริโทรซินและโคโปรพอร์ไฟรินอย่างเดียว ดังภาพที่ 14

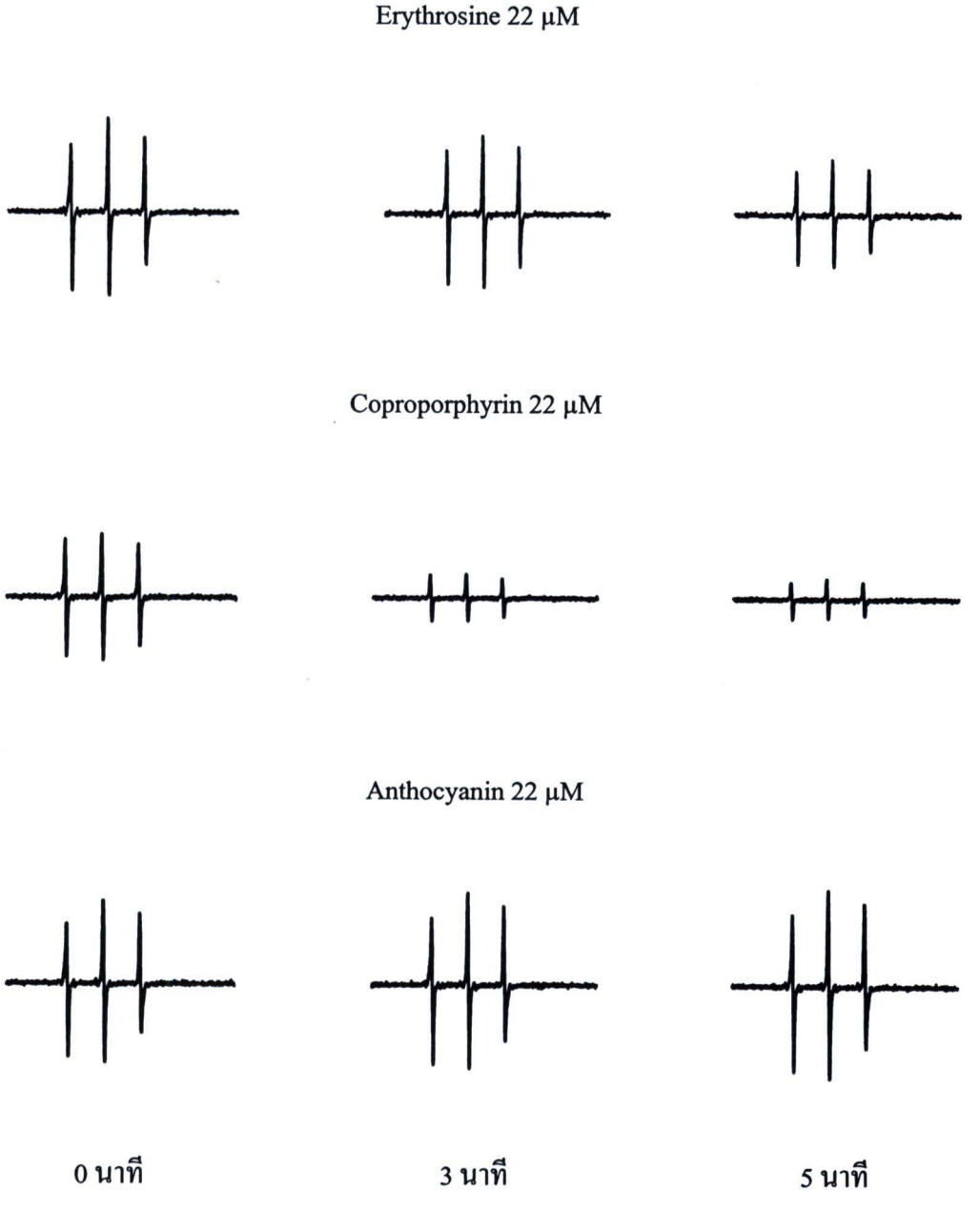
สรุป: อีริโทซินและโคโปรฟอร์ไฟรินมีการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ แอนโทไซยานินไม่มีการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้สารทดสอบกลุ่มต่างๆ ที่ความเข้มข้น 22 ไมโครโมลาร์ ณ เวลา 5 นาที

สารทดสอบ	ปริมาณซิงเกลทออกซิเจน (x 10^4 AU)
อีริโทรซิน	20.0 ± 2.5
โคโปรฟอร์ไฟริน	27.9 ± 15.6
แอนโทไซยานิน	3.7 ± 7.2
อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน	31.5 ± 12.1
อีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานิน	22.5 ± 8
โคโปรฟอร์ไฟรินร่วมกับแอนโทไซยานิน	27.4 ± 9.2

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณไฮดรอกซิลเรดิเคิลเมื่อใช้สารทดสอบกลุ่มต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 22 ไมโครโมลาร์ ณ เวลา 90 วินาที

สารทดสอบ	ปริมาณไฮดรอกซิลเรดิเคิล (x 10^4 AU)
อีริโทรซิน	5.4 ± 0.7
โคโปรฟอร์ไฟริน	21.1 ± 2.3
แอนโทไซยานิน	ไม่พบสัญญาณ DMPO-OH
อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน	28 ± 5.1
อีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานิน	9 ± 7.6
โคโปรฟอร์ไฟรินร่วมกับแอนโทไซยานิน	16.7 ±3.5



ภาพที่ 10 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้อีริโทรซิน โคโปรพอร์ไฟริน และแอนโทไซยานิน ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเป็นเวลา 3 และ 5 นาที

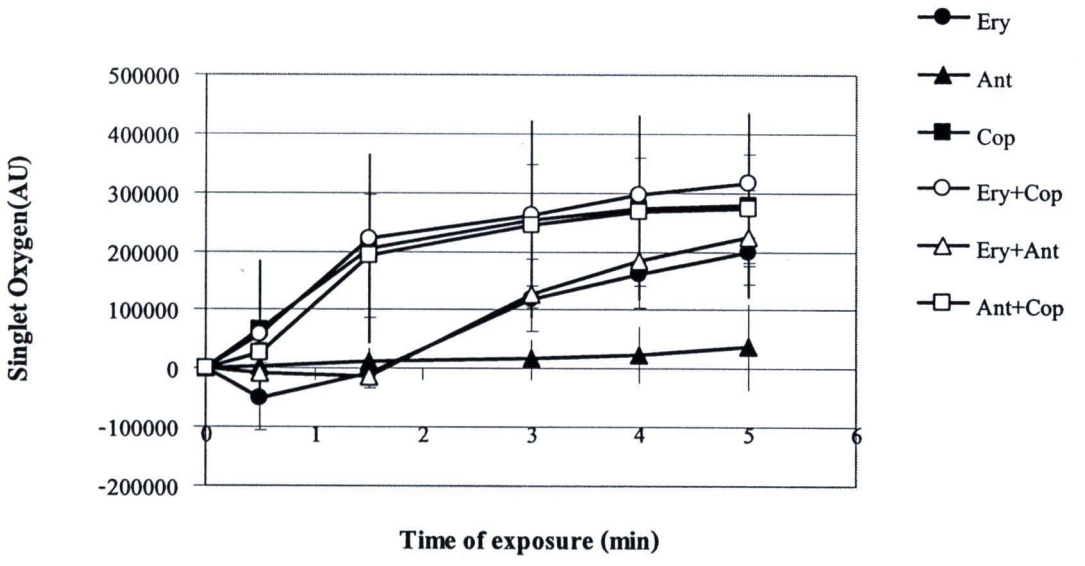
Erythrosine 22 μM + Coproporphyrin 22 μM

Erythrosine 22 μM + Anthocyanin 22 μM

Anthocyanin 22 μM + Coproporphyrin 22 μM

0 นาที 3 นาที 5 นาที

ภาพที่ 11 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน แอนโทไซยานิน และแอนโทไซยานินร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟริน ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเป็นเวลา 3 และ 5 นาที



ภาพที่ 12 กราฟแสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้อีริโทรซิน โคโปรพอร์ไฟริน และแอนโทไซยานิน ณ เวลาต่างๆ ของการฉายแสง

Ery = erythrosine 22 μM

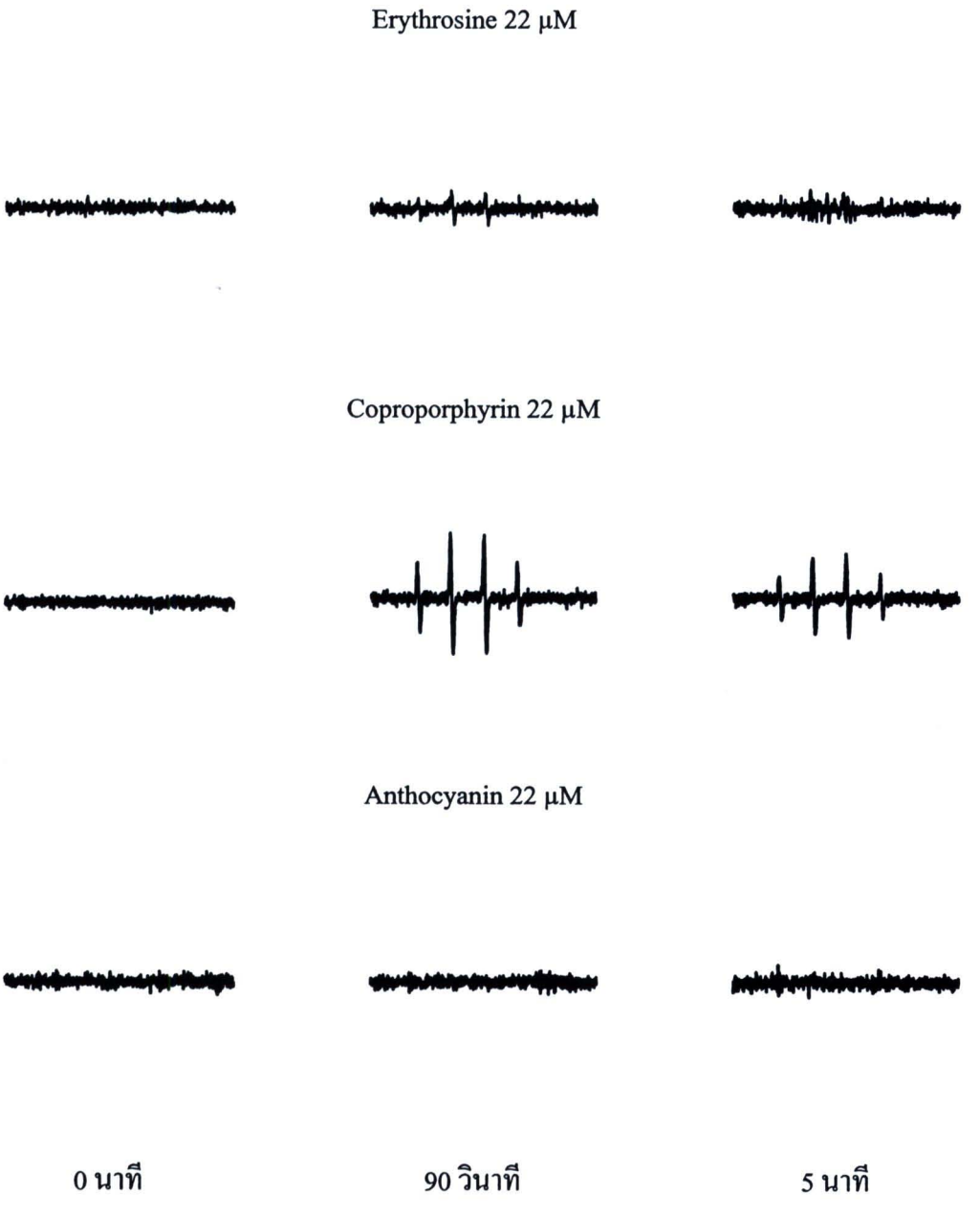
Ant = anthocyanin 22 μM

Cop = coproporphyrin 22 μM

Ery+Cop = erythrosine 22 μM + coproporphyrin 22 μM

Ery+Ant = erythrosine 22 μM + anthocyanin 22 μM

Ant+Cop = anthocyanin 22 μM + coproporphyrin 22 μM



ภาพที่ 13 แสดงสัญญาณ DMPO-OH เมื่อใช้อีริโทรซิน โคโปรพอร์ไฟริน และแอนโทไซยานิน ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเป็นเวลา 90 วินาที และ 5 นาที

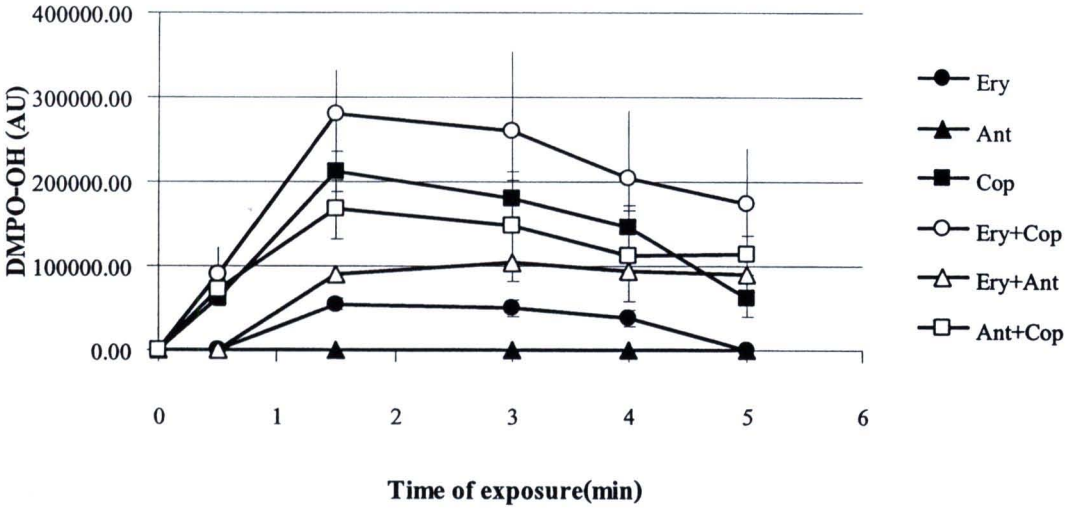
Erythrosine 22 μM + Coproporphyrin 22 μM

Erythrosine 22 μM + Anthocyanin 22 μM

Anthocyanin 22 μM + Coproporphyrin 22 μM

0 นาที 90 วินาที 5 นาที

ภาพที่ 14 แสดงสัญญาณ DMPO-OH เมื่อใช้อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน แอนโทไซยานินและแอนโทไซยานินร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟริน ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเป็นเวลา 90 วินาที และ 5 นาที



ภาพที่ 15 กราฟแสดงปริมาณสัญญาณ DMPO-OH เมื่อใช้อีริโทรซิน โคโปรพอร์ไฟริน และแอนโทไซยานิน ณ เวลาต่างๆ ของการฉายแสง

Ery = erythrosine 22 μM

Ant = anthocyanin 22 μM

Cop = coproporphyrin 22 μM

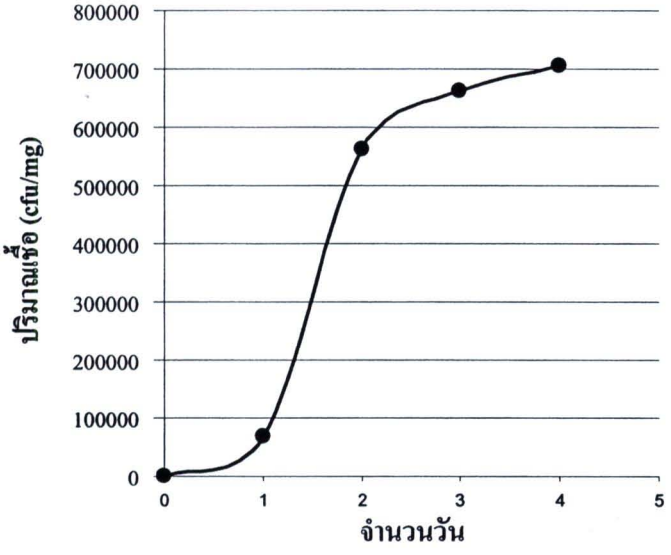
Ery+Cop = erythrosine 22 μM + coproporphyrin 22 μM

Ery+Ant = erythrosine 22 μM + anthocyanin 22 μM

Ant+Cop = anthocyanin 22 μM + coproporphyrin 22 μM

1.2 ผลการทดลองหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงแผ่นฟิล์มชีวภาพฟัน

1.2.1 ผลการนับจำนวนหน่วยก่อรูปโคโลนีของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ต่อมิลลิกรัม



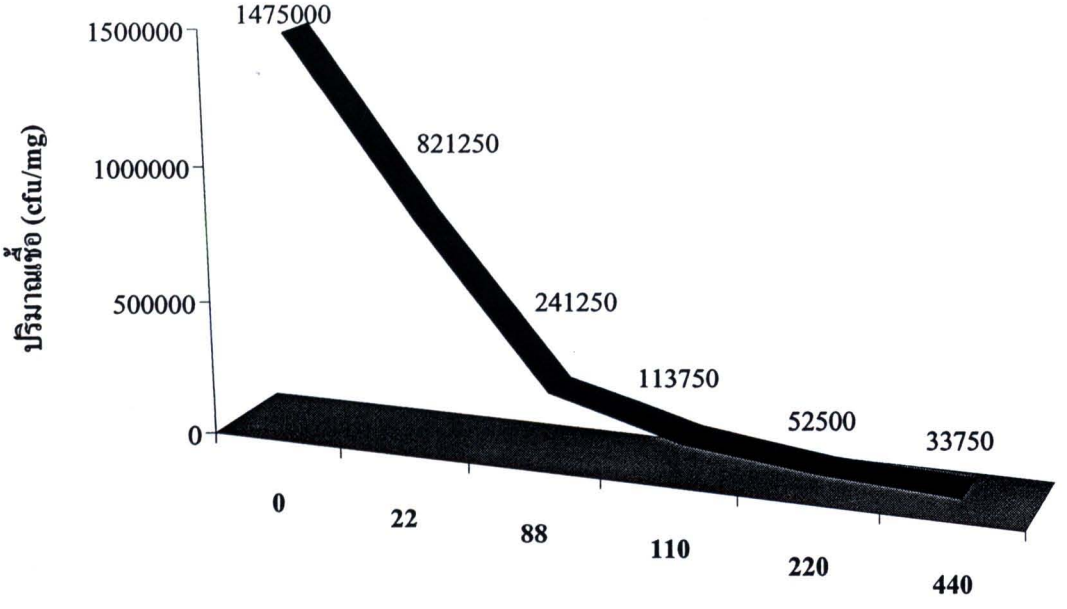
ภาพที่ 16 กราฟแสดงจำนวนเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ที่เพาะเลี้ยงนาน 1-4 วัน

จากภาพที่ 16 แสดงว่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันมีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดช่วงการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 4 โดยพบการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 1 ถึงวันที่ 2 ซึ่งจากการคำนวณพบว่าในช่วงเวลาดังกล่าวเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสมีปริมาณ 0.75-1.75 x 10^5 เซลล์ [101, 102] ซึ่งเป็นจำนวนที่สามารถก่อโรคปริทันต์อักเสบได้

สรุป: ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงแผ่นฟิล์มชีวภาพฟัน คือ 28 ชั่วโมง

1.3 ผลการทดลองหาความเข้มข้นของอีริโทรซินที่เหมาะสม

1.3.1 ผลการทดสอบการทำลายเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันของอีริโทรซิน



ภาพที่ 17 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในไบโอฟิล์ม เมื่อผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ โดยใช้อิริโทซินที่ความเข้มข้นต่างๆ

Control = กลุ่มควบคุม (non treatment) Ery 22 = erythrosine 22 μM

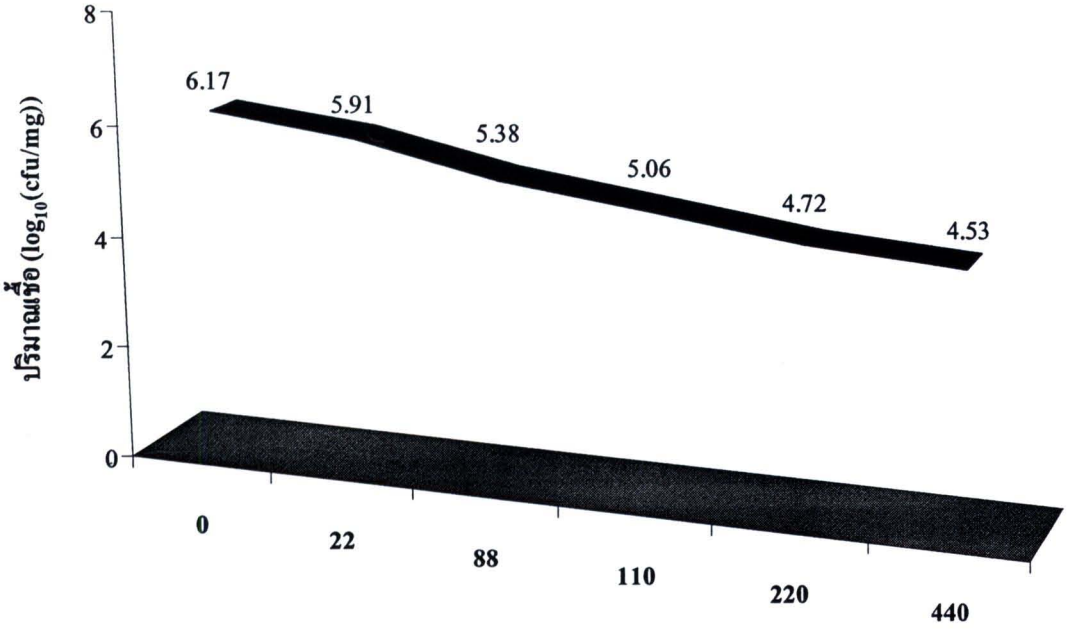
Ery 88 = erythrosine 88 μM Ery 110 = erythrosine 110 μM

Ery 220 = erythrosine 220 μM Ery 440 = erythrosine 440 μM

ปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส แสดงดังภาพที่ 17 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารอีริโทซินในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสจะลดลง โดยกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอีริโทซินและไม่ผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส 147500 cfu/mg ส่วนกลุ่มที่ได้รับอีริโทซินที่ความเข้มข้น 22, 88, 110, 220, 440 ไมโครโมลาร์ และผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิกส์มีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส 821250, 241250, 113750, 52500 และ 3375 cfu/mg ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในหน่วยของ $\log_{10}$(cfu/mg) ดังภาพที่ 18 พบว่า

กลุ่มทดลองที่ความเข้มข้นของอีริโทซิน 110, 220, 440 ไมโครโมลาร์ เมื่อผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ จะพบปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอีริโทซินและไม่ผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ซึ่งมีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส 1.11, 1.45 และ 1.64 $\log_{10}$ ตามลำดับ

สรุป: ความเข้มข้นของอีริโทรซินที่เหมาะสมในการทดลอง คือ 220 ไมโครโมลาร์



ภาพที่ 18 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในไบโอฟิล์มในหน่วย $\log_{10}$(cfu/mg) เมื่อผ่านกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ โดยใช้อีริโทซินที่ความเข้มข้นต่างๆ

Control = กลุ่มควบคุม (non treatment)
Ery 22 = erythrosine 22 μM
Ery 88 = erythrosine 88 μM
Ery 110 = erythrosine 110 μM
Ery 220 = erythrosine 220 μM
Ery 440 = erythrosine 440 μM

2. ผลการดำเนินการวิจัย

2.1 ผลการทดสอบการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของสารทดสอบ

2.1.1 ผลการตรวจวัดซิงเกลทออกซิเจนโดยวิธี electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy

การสร้างซิงเกลทออกซิเจนของสารทดสอบต่าง ๆ ได้แก่ อีริโทรซิน โคโปรพอร์ไฟริน และแอนโทไซยานิน ใช้สาร TEMP ซึ่งไม่มีสัญญาณ แต่เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจากซิงเกลทออกซิเจน จะให้ TEMPO ซึ่งให้สัญญาณ EPR เป็น triplet line ดังแสดงในภาพที่ 19-21

เมื่อฉายแสงอีริโทรซินทำให้สัญญาณ EPR ของ TEMP เพิ่มขึ้น ความสูงของสัญญาณเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ฉายแสง สัญญาณที่ 15 นาทีมีพื้นที่ใต้กราฟเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ ณ เวลา 0 วินาที $3.2 \times 10^{6} \pm 0.7 \times 10^{6}$ AU สำหรับโคโปรพอร์ไฟรินและแอนโทไซยานิน ไม่สามารถสร้างซิงเกลทออกซิเจน โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 88 ไมโครโมลาร์สามารถตรวจวัดซิงเกลทออกซิเจนได้เล็กน้อย โดยสัญญาณ TEMPO ที่ 15 นาทีตรวจวัดได้ $2.0 \times 10^{5} \pm 1.1 \times 10^{5}$ AU สำหรับแอนโทไซยานินนั้น นอกจากไม่ทำให้สัญญาณ TEMPO สูงขึ้นแล้วยังทำให้สัญญาณลดลงอีกด้วย อาจเนื่องมาจากความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ TEMPO

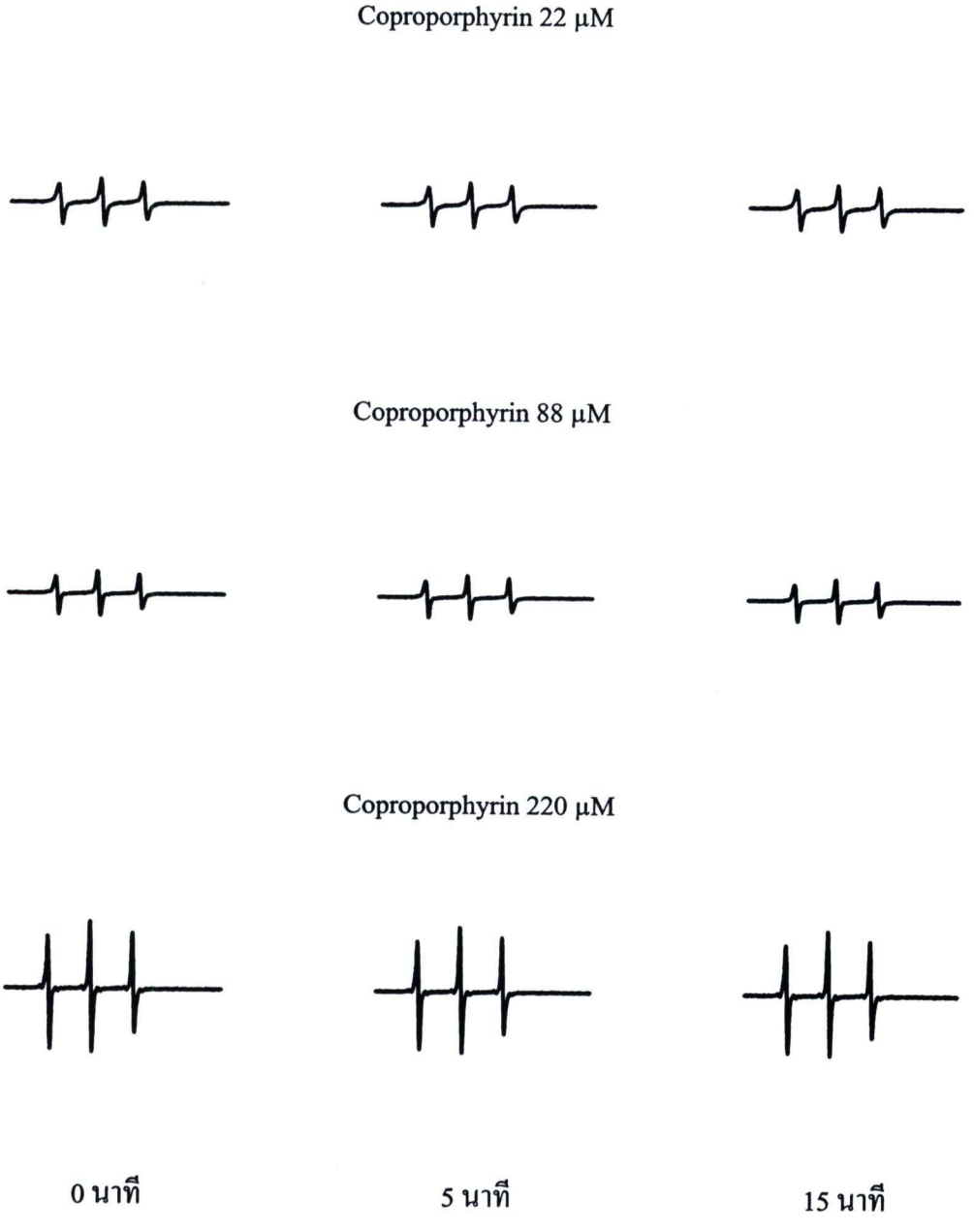
ผลการทดสอบการใช้สารร่วมกันระหว่างอีริโทรซินและโคโปรพอร์ไฟริน หรืออีริโทรซินและแอนโทไซยานินแสดงในตารางที่ 16 (ภาคผนวก ฉ) อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีผลในการเพิ่มการสร้างซิงเกลทออกซิเจน ในทางตรงกันข้ามเมื่อโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้นสูงขึ้นสัญญาณของ TEMPO กลับลดลง นั้นหมายถึงแอนโทไซยานินน่าจะมีฤทธิ์กำจัดซิงเกลทออกซิเจนที่ความเข้มข้นสูงขึ้น

สำหรับการใช้อีริโทรซินและแอนโทไซยานิน พบว่าแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่ำ เพิ่มการสร้างซิงเกลทออกซิเจนเล็กน้อย แต่ความเข้มข้นสูงขึ้นแอนโทไซยานินทำให้สัญญาณ TEMPO ลดลง นั้นหมายถึงแอนโทไซยานินน่าจะกำจัดซิงเกลทออกซิเจน

Erythrosine 220 μM

0 นาที 5 นาที 15 นาที

ภาพที่ 19 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาที และ 15 นาที



ภาพที่ 20 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้โคโปรฟอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88, 220 ไมโครโมลาร์ ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาที และ 15 นาที

Anthocyanin 101 µM

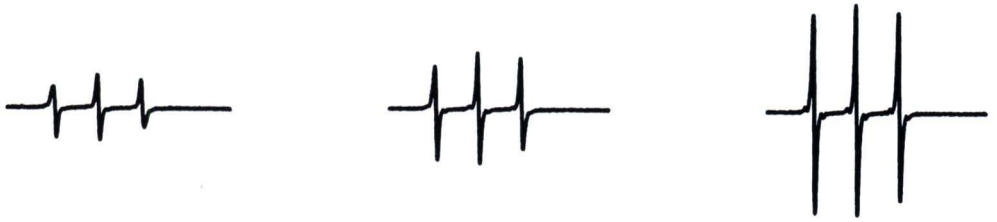
Anthocyanin 202 µM

Anthocyanin 303 µM

0 นาที 5 นาที 15 นาที

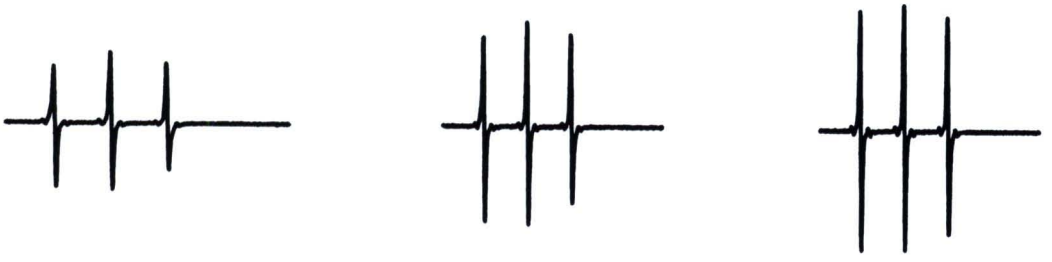
ภาพที่ 21 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้แอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาที และ 15 นาที

Erythrosine 220 μM + Coproporphyrin 22 μM



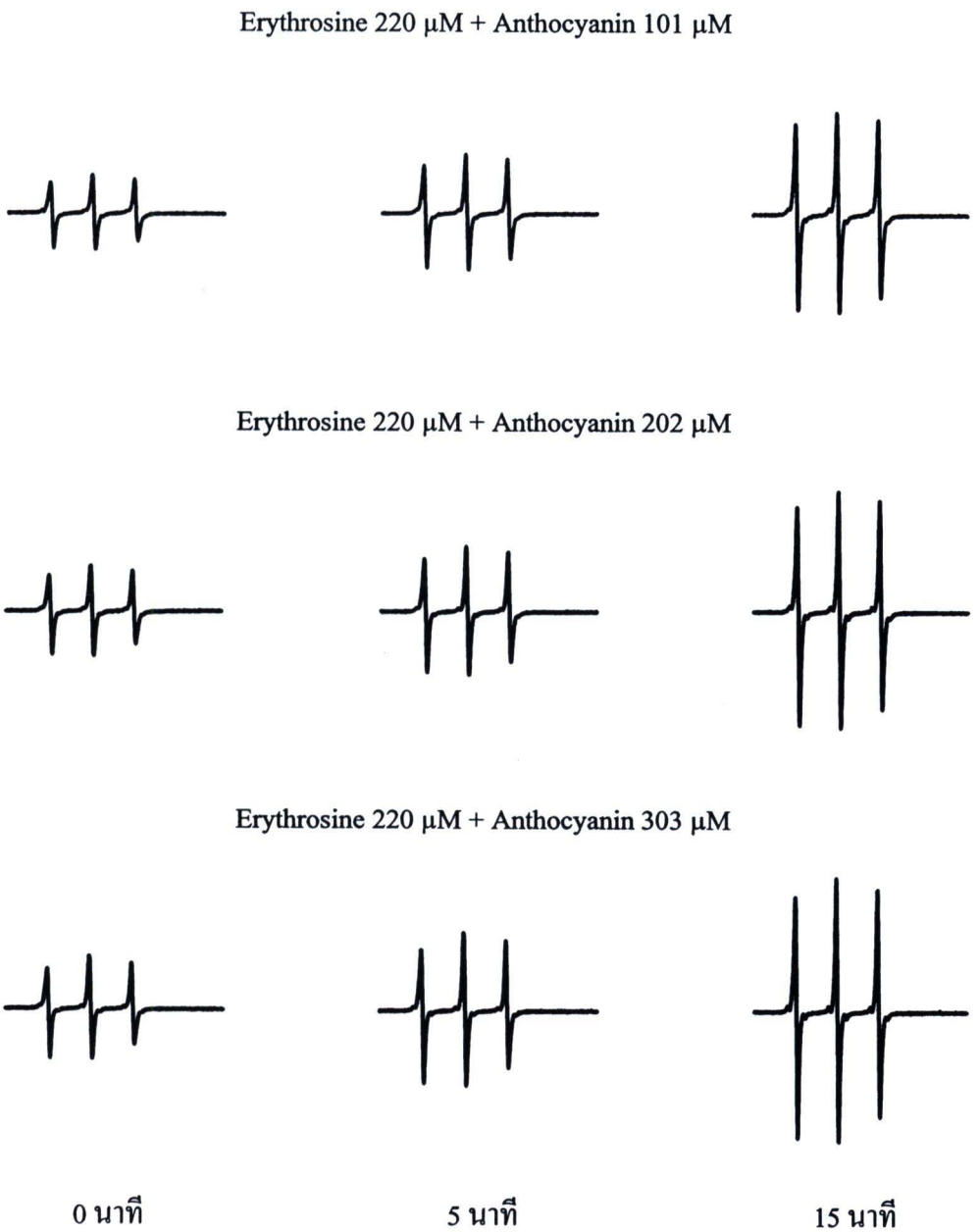
Erythrosine 220 μM + Coproporphyrin 88 μM

Erythrosine 220 μM + Coproporphyrin 220 μM

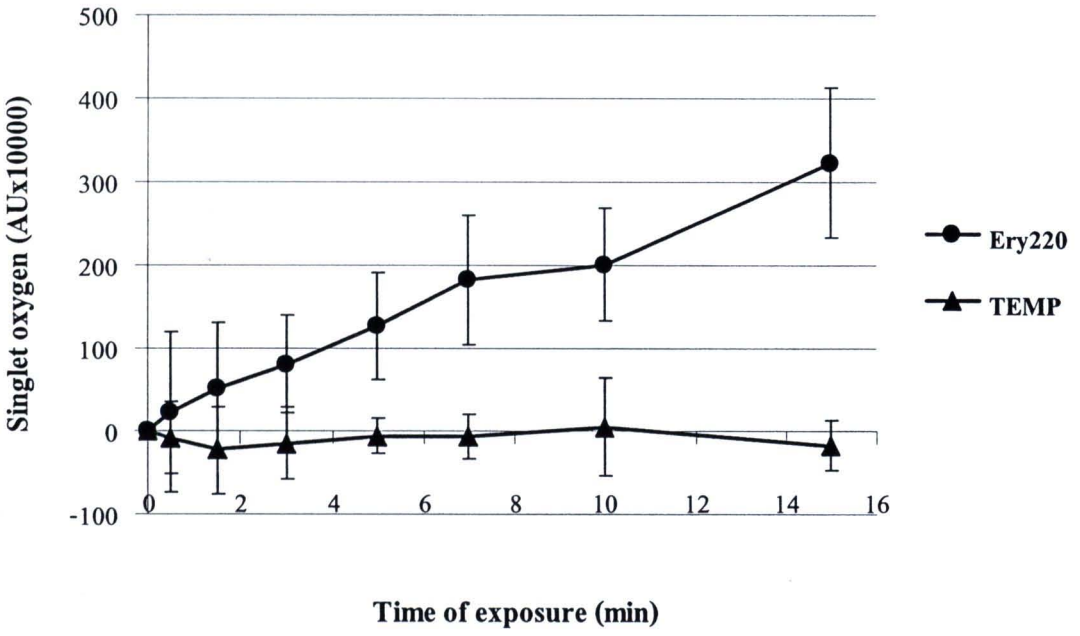


0 นาที 5 นาที 15 นาที

ภาพที่ 22 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88, 220 ไมโครโมลาร์ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาที และ 15 นาที



ภาพที่ 23 แสดงสัญญาณ TEMPO เมื่อใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาที และ 15 นาที

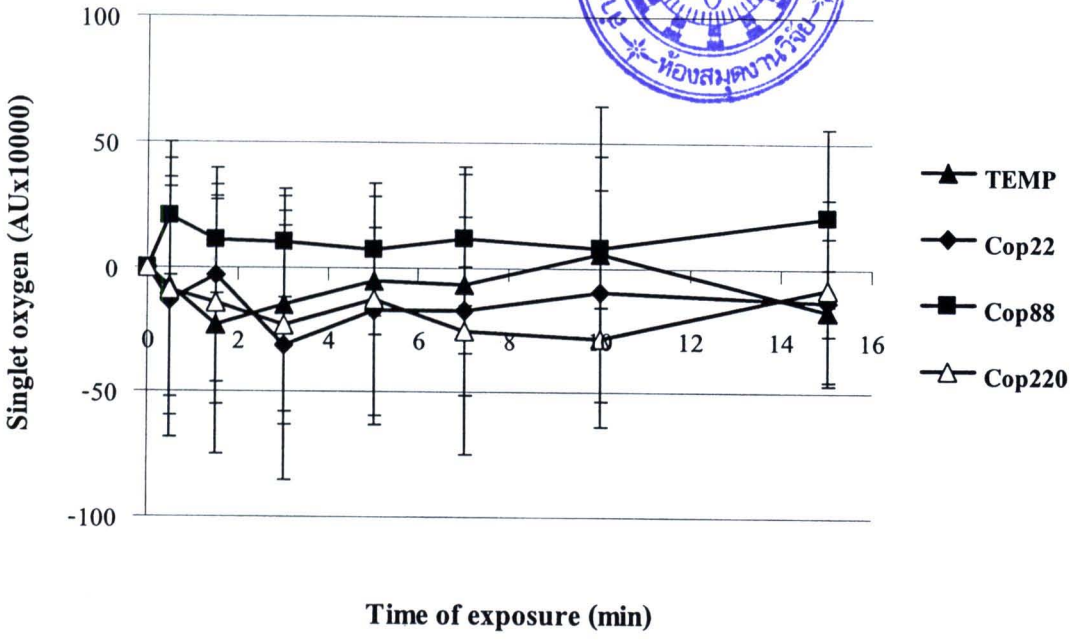


ภาพที่ 24 กราฟแสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้อีริโทรซินในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

Ery220 = erythrosine 220 μM

TEMP = 2, 2, 6, 6–tetraethyl-4-piperidone

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



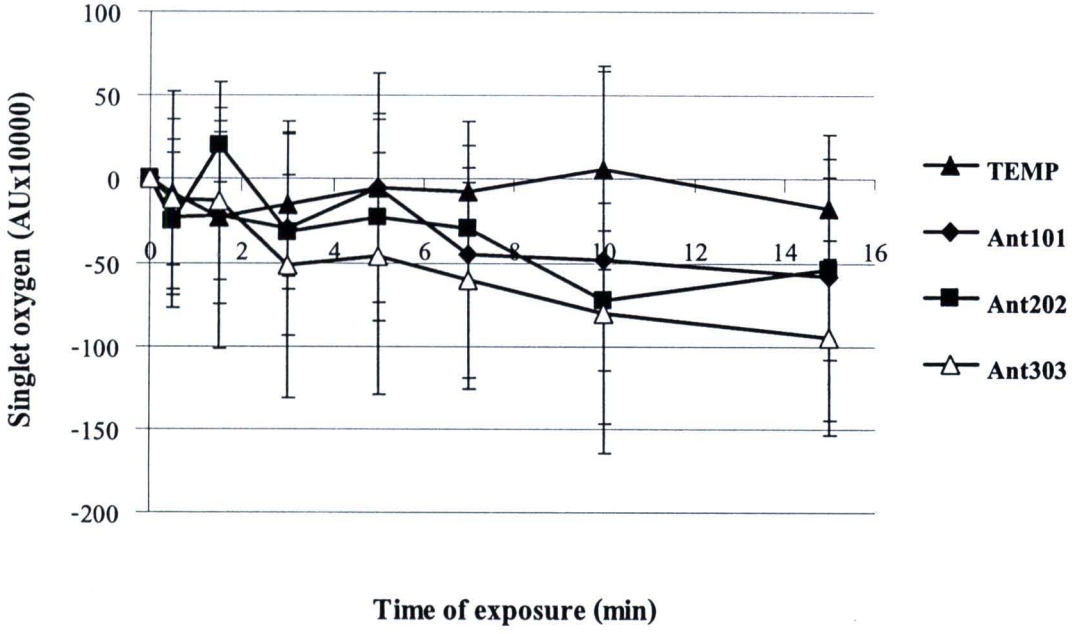
ภาพที่ 25 กราฟแสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้โคโปรฟอร์ไฟรินในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

TEMP = 2, 2, 6, 6–tetraethyl-4-piperidone

Cop22 = coproporphyrin 22 μM

Cop88 = coproporphyrin 88 μM

Cop220 = coproporphyrin 220 μM



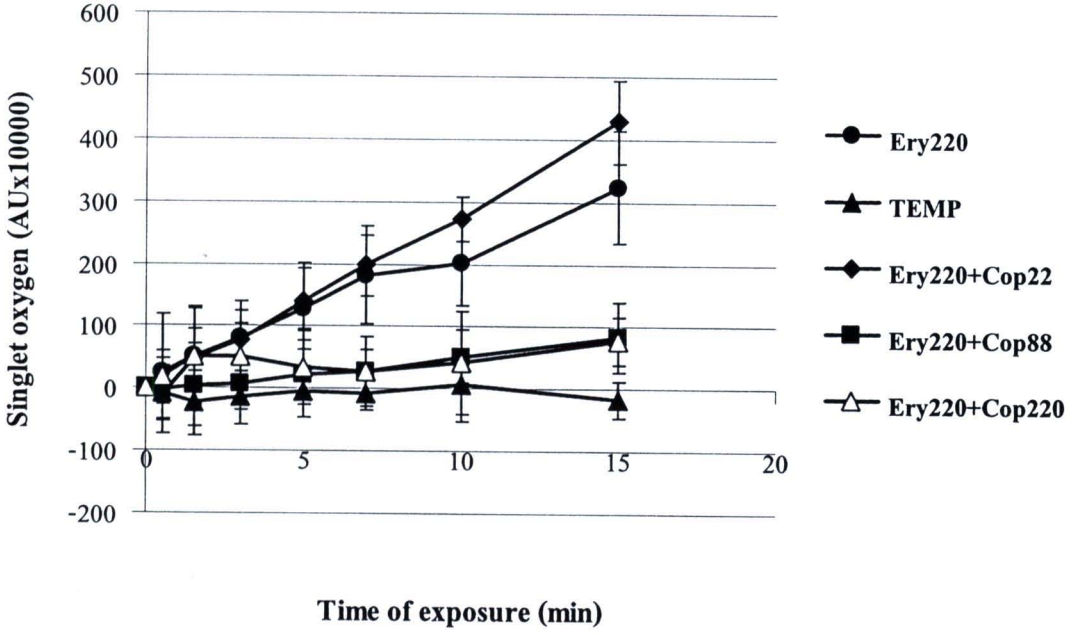
ภาพที่ 26 กราฟแสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้แอนโทไซยานินในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

TEMP = 2, 2, 6, 6–tetraethyl-4-piperidone

Ant101 = anthocyanin 101 μM

Ant202 = anthocyanin 202 μM

Ant303 = anthocyanin 303 μM



ภาพที่ 27 กราฟแสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

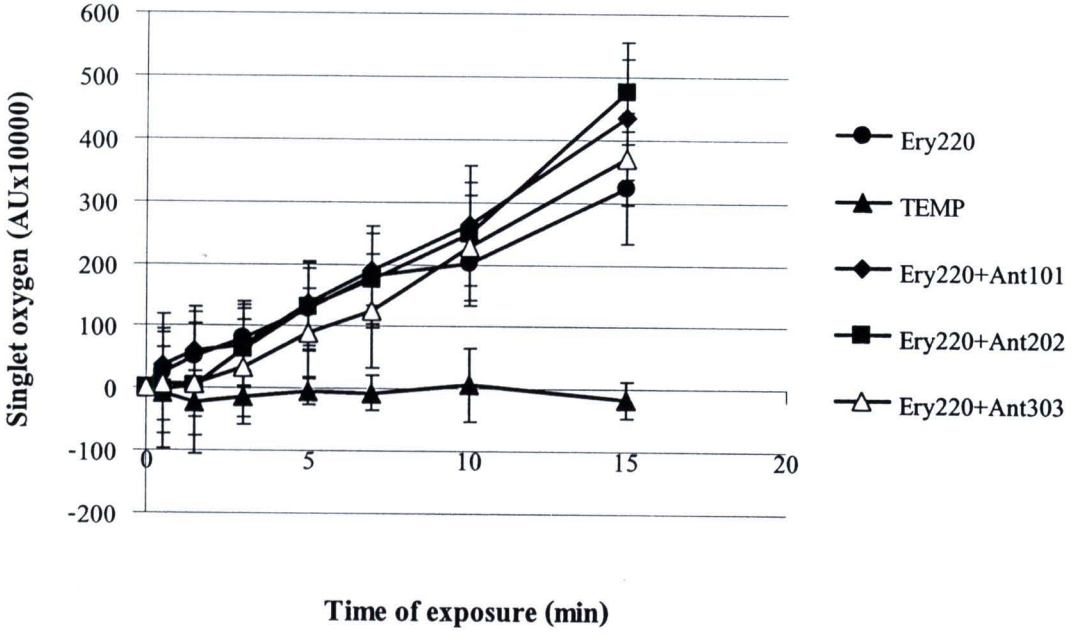
TEMP = 2, 2, 6, 6–tetraethyl-4-piperidone

Ery220 = erythrosine 220 μM

Ery220+Cop22 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 22 μM

Ery220+Cop88 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 88 μM

Ery220+Cop220 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 220 μM



ภาพที่ 28 กราฟแสดงปริมาณซิงเกลทออกซิเจนเมื่อใช้อีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานินในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์ ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

TEMP = 2, 2, 6, 6–tetraethyl-4-piperidone

Ery220 = erythrosine 220 μM

Ery220+Ant101 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 101 μM

Ery220+Ant202 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 202 μM

Ery220+Ant303 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 303 μM

2.1.2 ผลการตรวจวัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์โดยวิธี electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy

การสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ ทดสอบด้วยเทคนิค spin trapping โดยสาร spin trap คือ DMPO

เมื่อฉายแสงอีริโทรซินให้สัญญาณ EPR ของไฮโดรเปอร์ออกไซด์และ DMPO-X ซึ่งเป็น oxidative product ของ DMPO ดังภาพที่ 29

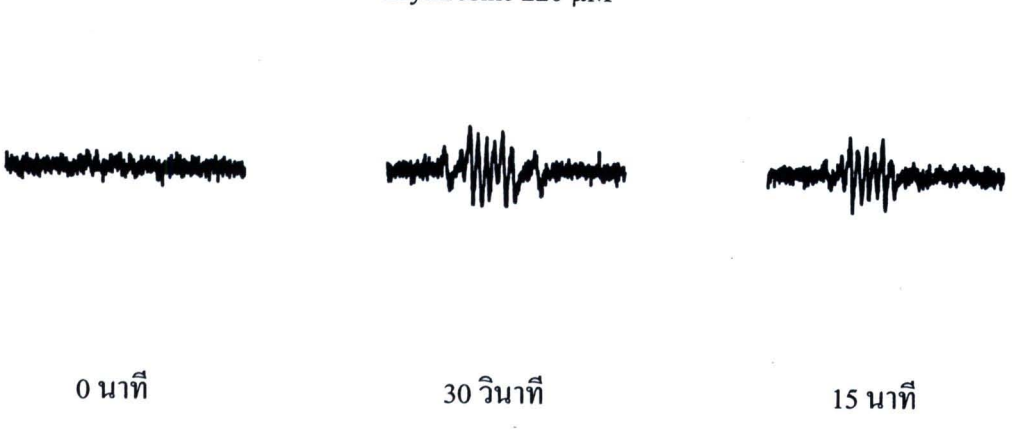
สำหรับโคโปรพอร์ไฟริน ให้สัญญาณของลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งความเข้มของสัญญาณนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และเมื่อฉายแสงนานขึ้นสัญญาณจะสูงขึ้นตาม

เวลา ที่ความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ พบว่าโคโปรพอร์ไฟรินให้สัญญาณซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเพิ่มขึ้นอีกชนิดหนึ่ง

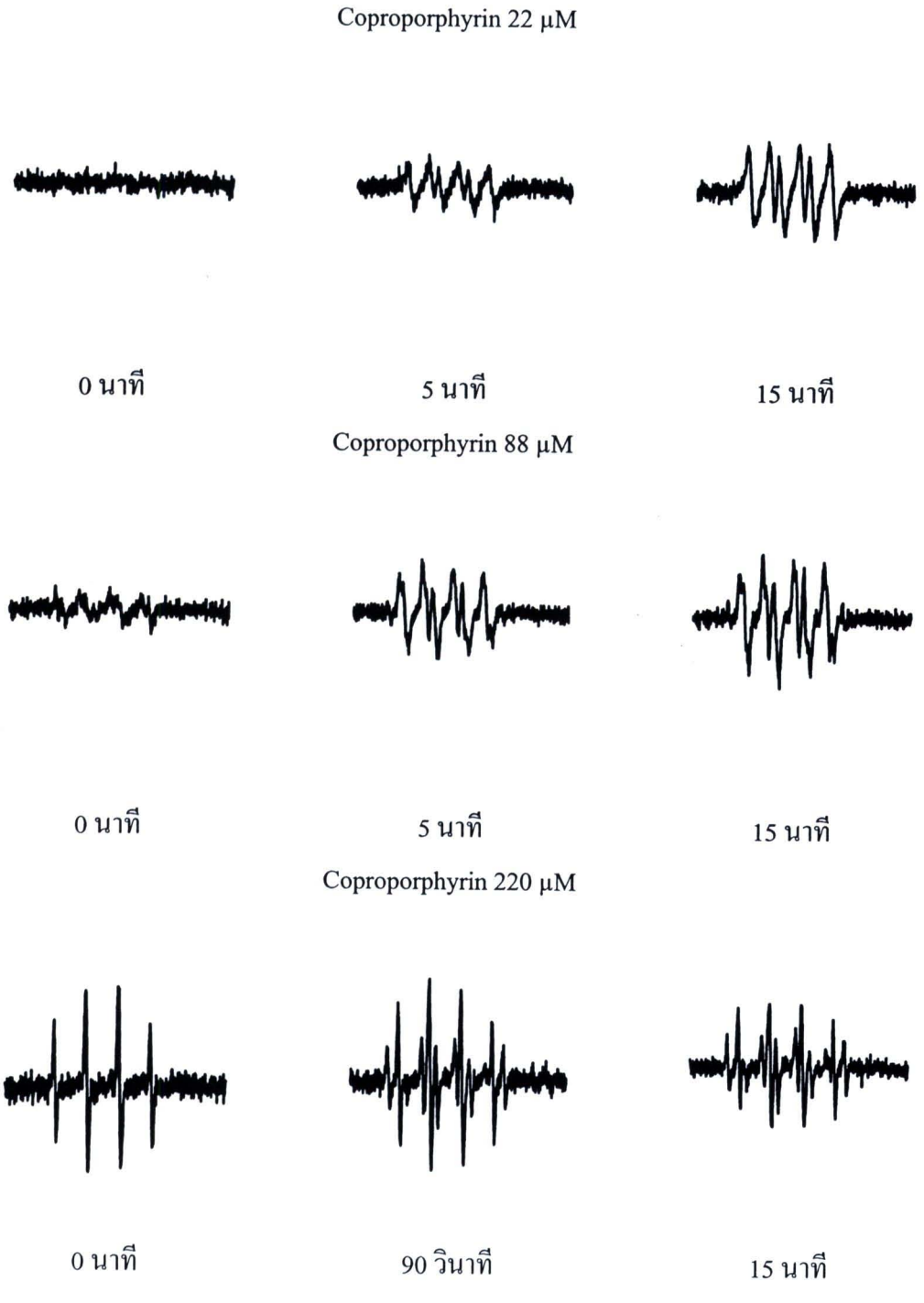
แอนโทไซยานินไม่สามารถสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ด้วยกระบวนการโฟโตไดนามิกส์

อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน สัญญาณที่ให้มีลักษณะประกอบหลายรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ซึ่งขึ้นกับความเข้มข้นของโคโปรพอร์ไฟริน

อีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานิน ไม่พบสัญญาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์แสดงให้เห็นว่า แอนโทไซยานินแสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกำจัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์

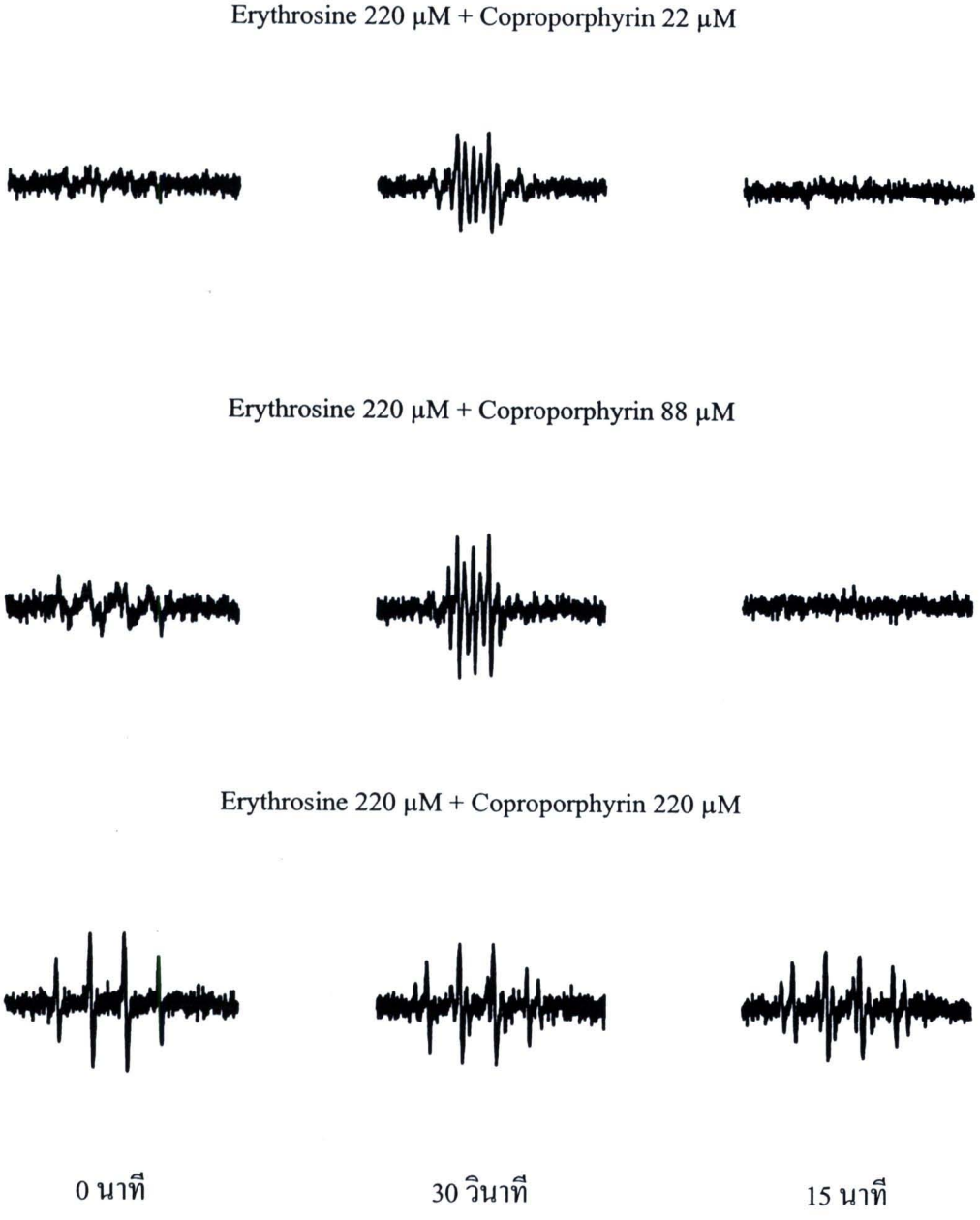


ภาพที่ 29 สัญญาณออกซิเดชันร่วมกับลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์เมื่อใช้อิริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 30 วินาทีและ 15 นาที



ภาพที่ 30 สัญญาณลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์และ DMPO-OOH เมื่อใช้โคโปรพอร์ไฟริน ความเข้มข้น 22, 88, 220 ไมโครโมลาร์

ภาพที่ 31 แสดงสัญญาณ EPR เมื่อใช้แอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาทีและ 15 นาที



ภาพที่ 32 แสดงสัญญาณปฏิกิริยาออกซิเดชันและ DMPO-OOH เมื่อใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88, 220 ไมโครโมลาร์ ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 30 วินาที และ 15 นาที

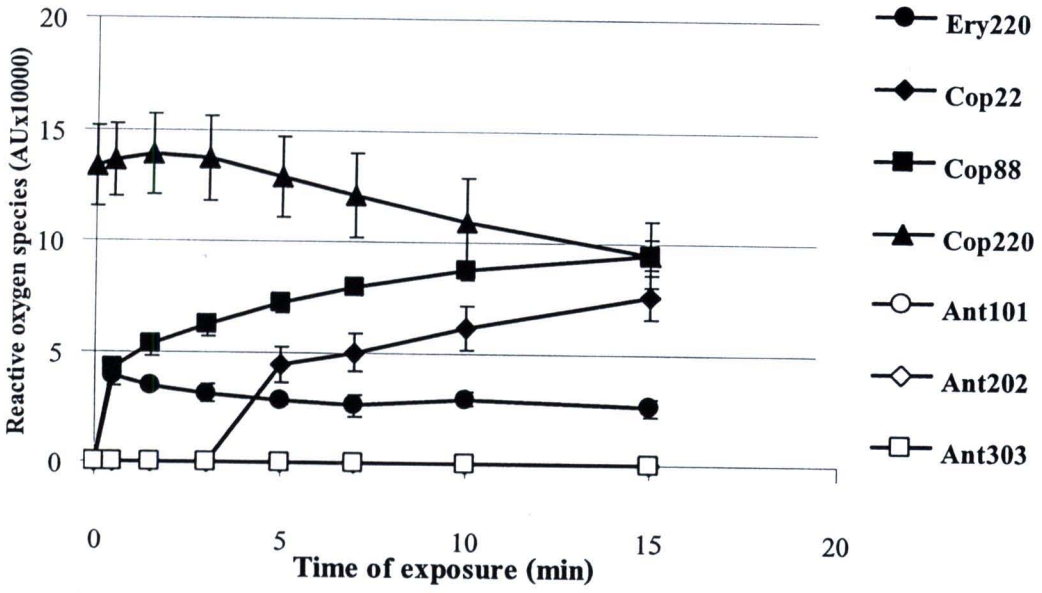
Erythrosine 220 μM + Anthocyanin 101 μM

Erythrosine 220 μM + Anthocyanin 202 μM

Erythrosine 220 μM + Anthocyanin 303 μM

0 นาที 5 นาที 15 นาที

ภาพที่ 33 แสดง EPR spectrum เมื่อใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ก่อนการฉายแสงและฉายแสงเวลา 5 นาที และ 15 นาที



ภาพที่ 34 แสดงปริมาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์เมื่อใช้อีริโทรซิน โคโปรพอร์ไฟริน ล และแอนโทไซยานิน ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

Ery220 = erythrosine 220 μM

Cop22 = coproporphyrin 22 μM

Cop88 = coproporphyrin 88 μM

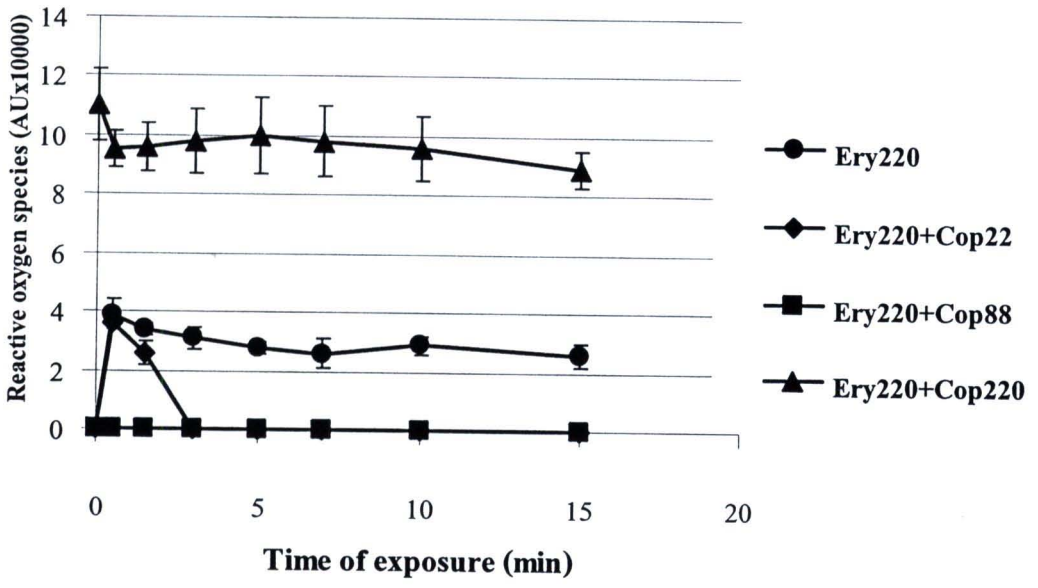
Cop220 = coproporphyrin 220 μM

Ant101 = anthocyanin 101 μM

Ant202 = anthocyanin 202 μM

Ant303 = anthocyanin 303 μM

โดยปริมาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ วัดความสูงลำดับที่ 1 ของสัญญาณลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ร่วมกับสัญญาณออกซิเดชันโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88 ไมโครไมลาร์วัดความสูงลำดับที่ 1 ของสัญญาณลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โค โปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์วัดความสูงลำดับที่ 4 ของสัญญาณ ของสัญญาณซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน



ภาพที่ 35 แสดงปริมาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์เมื่อใช้อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน ณ เวลาต่าง ๆ ของการฉายแสง

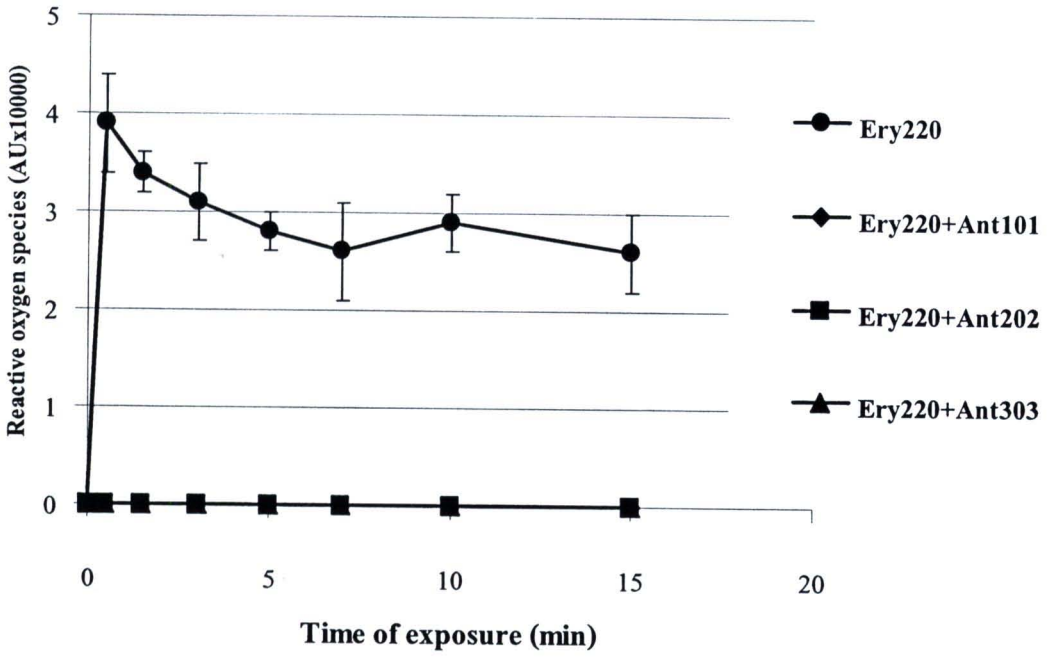
Ery220 = Erythrosine 220 μM

Ery220+Cop22 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 22 μM

Ery220+Cop88 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 88 μM

Ery220+Cop220 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 220 μM

โดยปริมาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ วัดความสูงลำดับที่ 1 ของสัญญาณลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ร่วมกับสัญญาณออกซิเดชัน อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88 ไมโครโมลาร์ วัดความสูงลำดับที่ 1 ของสัญญาณลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโค โปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์วัดความสูงลำดับที่ 4 ของสัญญาณซุปเปอร์ออกไซแอนไอออน



ภาพที่ 36 แสดงปริมาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์เมื่อใช้อีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานิน ณ เวลา ต่าง ๆ ของการฉายแสง

Ery220 = erythrosine 220 μM

Ery220+Ant101 = erythrosine 220 μM+anthocyanin 101 μM

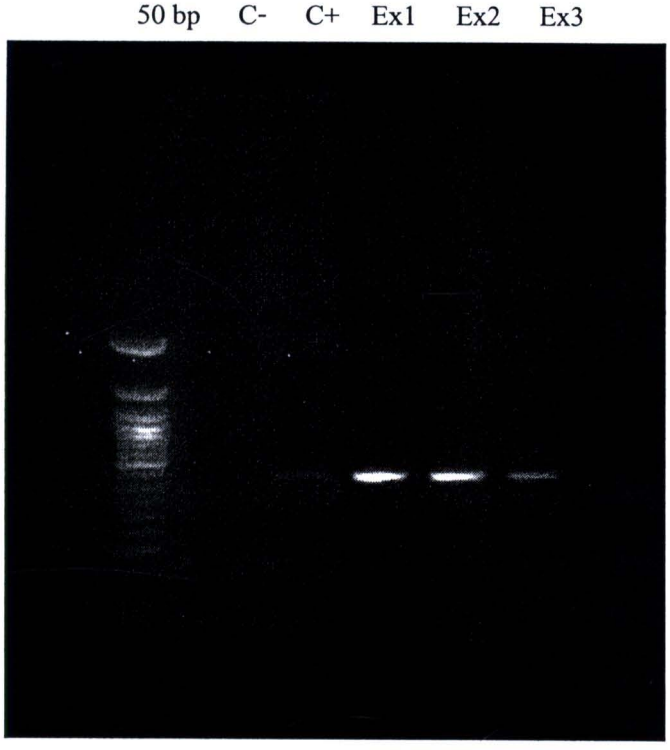
Ery220+Ant202 = erythrosine 220 μM+anthocyanin 202 μM

Ery220+Ant303 = erythrosine 220 μM+anthocyanin 303 μM

โดยปริมาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ วัดความสูงลำดับที่ 1 ของสัญญาณลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ร่วมกับสัญญาณออกซิเดชัน ส่วนอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ไม่พบสัญญาณรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์

2.2 ผลการทดสอบการทำลายเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันของสารทดสอบ โดยวิธีโฟโตไดนามิกส์

2.2.1 ผลการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)



ภาพที่ 37 แสดงผลการตรวจเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส โดยวิธี PCR

50 bp = 50 bp DNA ladder

C- = กลุ่มควบคุมลบ

C+ = กลุ่มควบคุมบวก

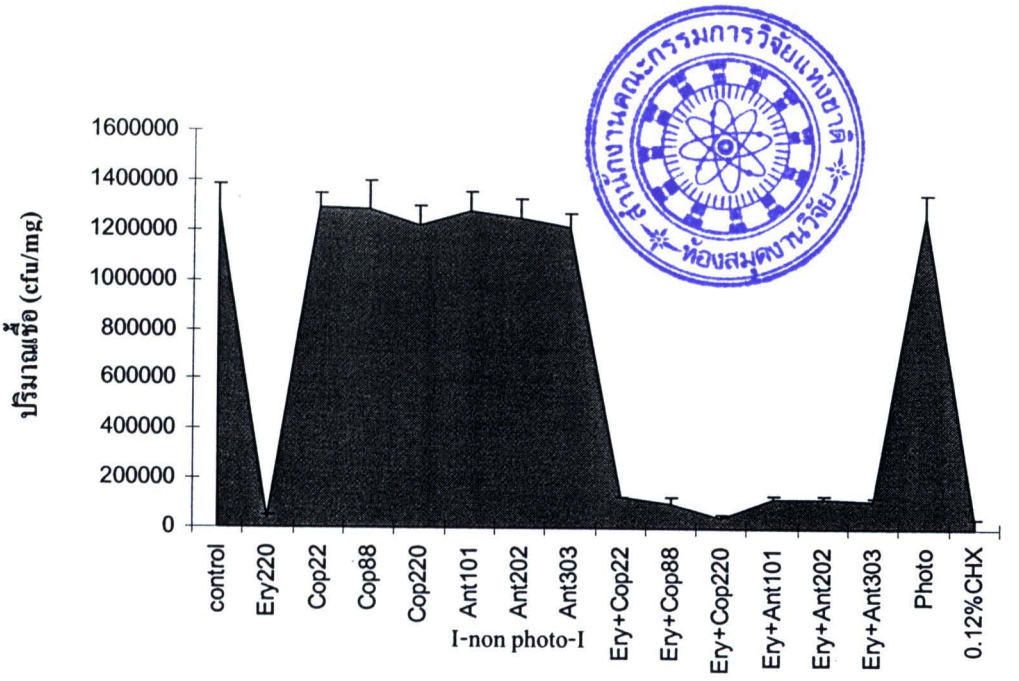
Ex1 = ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ครั้งที่ 1

Ex2 = ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ครั้งที่ 2

Ex3 = ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ครั้งที่ 3

ผลการตรวจตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ แสดงดังภาพที่ 37 พบว่าตัวอย่างคราบจุลินทรีย์มีเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส โดยแถบ DNA ของกลุ่มควบคุมบวก ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ครั้งที่ 1, 2, 3 ปรากฏที่ 404 bp ส่วนกลุ่มควบคุมลบไม่พบแถบ DNA

2.2.2 ผลการทดสอบการฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันของสารทดสอบ



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 38 แสดงปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสแต่ละกลุ่มการทดลองในหน่วย cfu/mg

Control = กลุ่มควบคุม (non treatment)

Ery220 = erythrosine 220 μM + photo

Cop22 = coproporphyrin 22 μM + photo

Cop88 = coproporphyrin 88 μM + photo

Cop220 = coproporphyrin 88 μM + photo

Ant101 = anthocyanin 101 μM

Ant202 = anthocyanin 202 μM

Ant303 = anthocyanin 303 μM

Ery+Cop22 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 22 μM +photo

Ery+Cop88 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 88 μM +photo

Ery+Cop220 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 220 μM + photo

Ery+Ant101 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 101 μM + photo

Ery+Ant202 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 202 μM + photo

Ery+Ant303 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 303 μM + photo

Photo = photo

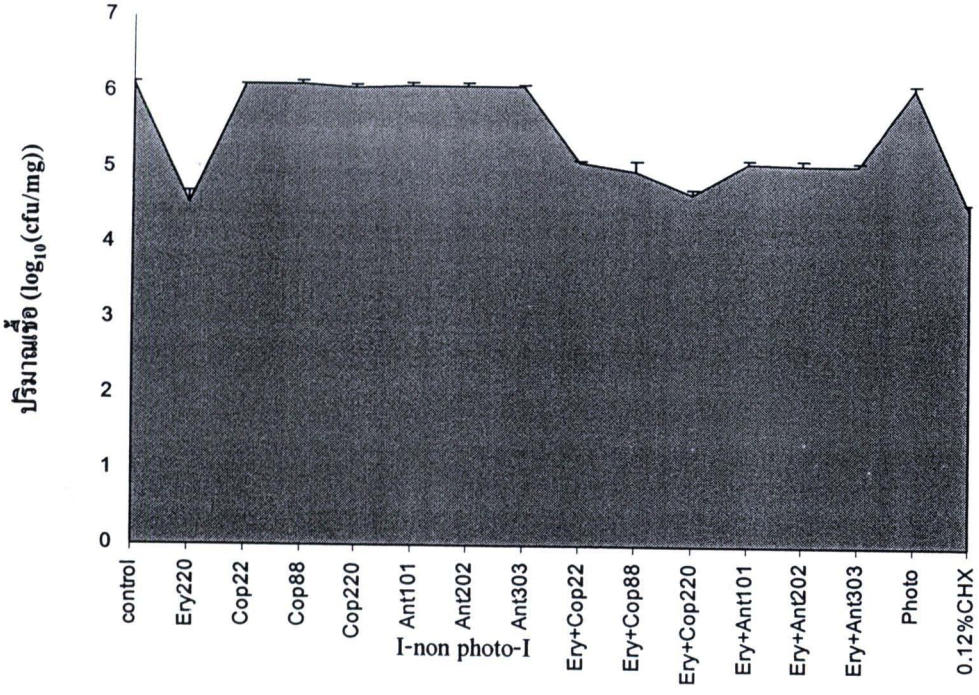
0.12% CHX = 0.12% chlohexidine

เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มการทดลองพบว่าในกลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์มีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสน้อยกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88, 220 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

ผลการเปรียบเทียบกลุ่มอีริโทรซินร่วมกับโคโปพอร์ไฟรินหรือแอนโทไซยานิน พบว่าอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์มีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสน้อยกว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟรินความเข้มข้น 22, 88 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสในกลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ กลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มคลอเฮกซีดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.12 พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) แสดงดังภาพที่ 38

2.2.3 ผลการนับจำนวนหน่วยก่อรูปโคโลนีของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ต่อมิลลิกรัม



ภาพที่ 39 แสดงปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสแต่ละกลุ่มการทดลองในหน่วย log_{10}(cfu/mg)

Control = กลุ่มควบคุม (non treatment)

Ery220 = erythrosine 220 μM + photo

Cop22 = coproporphyrin 22 μM + photo

Cop88 = coproporphyrin 88 μM + photo

Cop220 = coproporphyrin 88 μM + photo

Ant101 = anthocyanin 101 μM

Ant202 = anthocyanin 202 μM

Ant303 = anthocyanin 303 μM

Ery+Cop22 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 22 μM + photo

Ery+Cop88 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 88 μM +photo

Ery+Cop220 = erythrosine 220 μM + coproporphyrin 220 μM + photo

Ery+Ant101 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 101 μM + photo

Ery+Ant202 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 202 μM + photo

Ery+Ant303 = erythrosine 220 μM + anthocyanin 303 μM + photo

Photo = photo

0.12% CHX = 0.12% chlohexidine

ในกลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ กลุ่มอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรฟอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มคลอเฮกซีดีนความเข้มข้นร้อยละ 0.12 พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสน้อยกว่ากลุ่มที่ควบคุมมากกว่า 1$\log_{10}$(cfu/mg) คือ 1.57, 1.44 และ 1.62 $\log_{10}$(cfu/mg) ตามลำดับ ข้อมูลแสดงดังภาพที่ 39 แสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวเมื่อนำมาใช้เป็นสารไวต่อแสง สามารถฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสได้