

## บทที่ 2

### วิธีการวิจัย

#### วัสดุ

##### 1. ฟัน

เก็บฟันกรามแท้ซี่ที่สามที่ยังไม่ขึ้น จำนวน 50 ซี่ ที่ถอนจากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และ โรงพยาบาลศูนย์ยะลา โดยแช่ฟันในน้ำเกลือเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาไม่เกิน 2 เดือน

##### 2. สารที่ใช้สำหรับทำให้ผิวเคลือบฟันสึกกร่อน

ใช้น้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ที่ซื้อจากซูเปอร์มาร์เก็ต (น้ำส้มเขียวหวาน 100 เปอร์เซ็นต์ ตราทิปโก้ ผลิตโดยบริษัททิปโก้ฟูดส์ จำกัด ประเทศไทย)

##### 3. น้ำลายเทียม

เตรียมตามสูตรของ Mcknight - Hanes & Whitford (1992) โดยการดัดแปลงเอาซอร์บิทอล (Sorbital) ออก (เนื่องจากการใส่ซอร์บิทอลลงไปรวมกับโซเดียมคาร์บอเนตเมทิลเซลลูโลส ทำให้น้ำลายเทียมมีความหนืดมากกว่าน้ำลายธรรมชาติ (Levine, et al., 1987) ซึ่งประกอบด้วยส่วนประกอบ (กรัมต่อลิตร) ดังนี้

Methyl-p-hydroxybenzoate	2.00
Sodium Carboxymethyl Cellulose	10.00
KCl	0.625
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.059
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.166
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.804
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.326

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 6.75 โดยใช้ KOH

##### 4. กระดาษทรายเบอร์ 1,200

##### 5. แผ่นคาร์บอนันดัม (Carborundum Disc)

##### 6. น้ำยาเคลือบเล็บ

##### 7. แบบหล่อซิลิโคน (Silicone Mold)

8. เรซินอะคริลิกชนิดบ่มตัวเอง (Self-Cured Acrylic Resin)
9. กาวสองหน้า
10. เทปกาว
11. อะซิโตน
12. ยาสีฟันที่มีส่วนผสมของไฮเดียมฟลูออไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.22 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ที่มีแอคทีฟฟลูออไรด์ไอออน 1,000 พีพีเอ็ม ยี่ห้อคอลลเกต ผลิตโดยบริษัทคอลลเกตปาล์มโอสฟ (ประเทศไทย) จำกัด
13. น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของไฮเดียมฟลูออไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 (น้ำหนักโดยน้ำหนัก) ที่มีแอคทีฟฟลูออไรด์ไอออน 227 พีพีเอ็ม ค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 6.8 ผลิตโดยฝ่ายเภสัชกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH Meter) ยี่ห้อ ORION รุ่น 900A ผลิตโดยบริษัท Orion Research Incorporated, Boston U.S.A.
2. เครื่องขัดหินทดสอบ ยี่ห้อ Jean Writz รุ่น Phoenix 4000
3. เครื่องวัดความหยาบผิว (Profilometer) ยี่ห้อ Surfcoorder รุ่น SE-2300 ผลิตโดยบริษัท Kosaka Laboratory Ltd. Tokyo, Japan มี Diamond Stylus รัศมี 5 ไมโครเมตร แรงกด 4 มิลลินิวตัน
4. เครื่องคนสาร ชนิดใช้แม่เหล็ก (Magnetic Stirrer) ยี่ห้อ Framo-Geratetechnik รุ่น M21/1
5. เครื่องแปรงฟัน ประกอบด้วย
  1. แท่นจับยึด
  2. เครื่องขึงน้ำหนัก
  3. แปรงสีฟันไฟฟ้า ยี่ห้อ Braun Oral-B Ultra Plaque Remover รุ่น D9511 ความเร็วหมุน 7,600 ครั้งต่อนาที ผลิตโดยบริษัท Braun GmbH, Frankfurt, Germany
  4. แท่งเหล็กสำหรับกดหัวแปรงสีฟัน
  5. อ่างเล็กๆ สำหรับใส่สารละลายยาสีฟันและบล็อกเรซินอะคริลิก
 นำชิ้นส่วนทั้ง 5 ประกอบกันดังภาพ (ภาคผนวก 2)
6. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5800 LV ผลิตโดยบริษัท JEOL, Tokyo, Japan

## วิธีดำเนินการ

### 1. เตรียมพื้นสำหรับลงบล็อกเรซินอะคริลิก

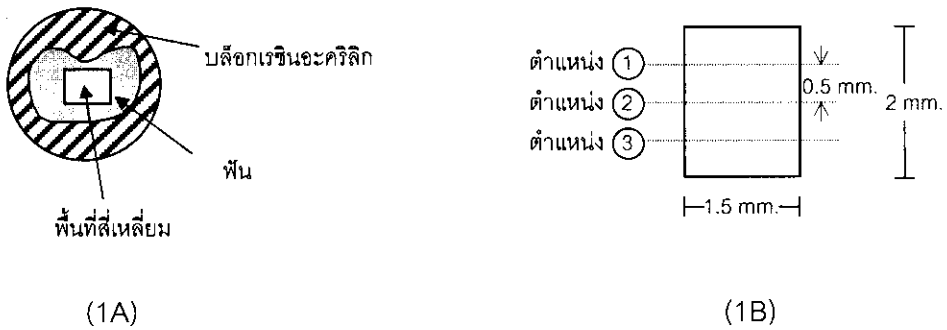
ทำความสะอาดพื้นโดยเอาเนื้อเยื่อที่ติดอยู่ออก และขัดด้วยผงขัดฟันมิช (Pumice) เพื่อเอาสิ่งปนเปื้อนต่างๆออกให้หมด จากนั้นตัดรากฟันออกโดยใช้แผ่นคาร์บอนัม เพื่อให้ชิ้นตัวอย่างมีขนาดเล็ก ง่ายต่อการลงบล็อกเรซินอะคริลิก และสะดวกในการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

### 2. นำพื้นลงบล็อกเรซินอะคริลิก

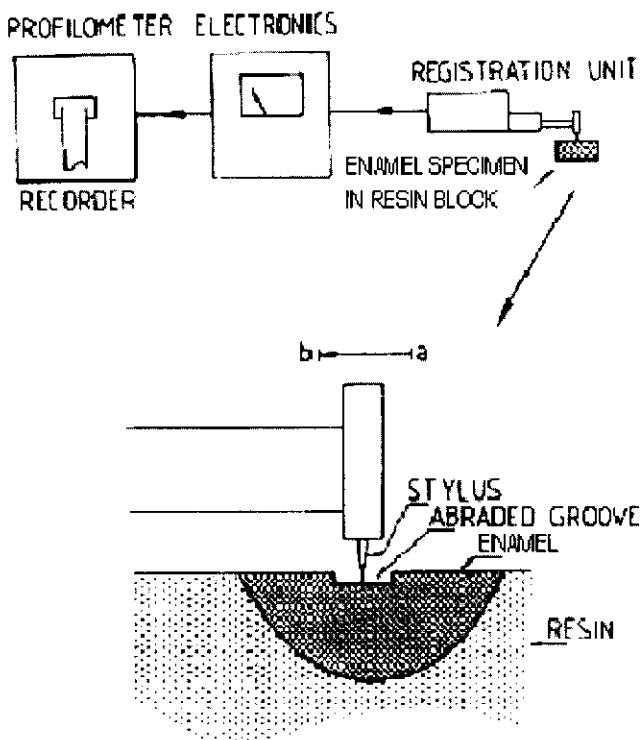
นำตัวพื้นลงบล็อกเรซินอะคริลิก โดยผสมเรซินอะคริลิกชนิดบ่มตัวเองใส่ลงไปในแบบหล่อซิลิโคน ให้ได้ความสูงประมาณ 1.5 เซนติเมตร รอจนกระทั่งถึงขั้นโด (Dough Stage) จากนั้นวางพื้นด้านลิ้น (Lingual Surface) หรือด้านเพดานปาก (Palatal Surface) กดลงไปบนเรซินอะคริลิก ให้ผิวเคลือบพื้นด้านแก้ม (Buccal Surface) อยู่ด้านบน ระดับเดียวกับผิวเรซินอะคริลิกรอบๆและขนานกับฐานของบล็อกเรซินอะคริลิก พยายามแต่งให้ผิวหน้าของเรซินอะคริลิกเรียบ รอให้เรซินอะคริลิกแข็งตัว จากนั้นเอาบล็อกเรซินอะคริลิกออกจากแบบหล่อซิลิโคน

### 3. เตรียมพื้นผิวเคลือบฟัน

เมื่อได้บล็อกเรซินอะคริลิกที่มีผิวเคลือบฟันโผล่ขึ้นมาแล้ว (ภาพประกอบ 1A) ขัดผิวเคลือบฟันเบาๆ ด้วยกระดาษทรายละเอียด เบอร์ 1,200 เพื่อให้ได้ผิวเคลือบฟันที่แบนเรียบ และเป็นการปรับความหยาบของผิวเคลือบฟันเริ่มต้นในแต่ละชั้นทดสอบให้เท่ากัน โดยให้สูญเสียผิวเคลือบฟันไปน้อยที่สุด จากนั้นใช้ดินสอดำวาดรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 1.5 x 2 ตารางมิลลิเมตร บนผิวเคลือบฟันที่ขัดเรียบแล้ว (ภาพประกอบ 1B) และนำไปวัดค่าความหยาบผิว (Surface Roughness) ตั้งแต่บริเวณขอบด้านนอกและด้านในพื้นที่สี่เหลี่ยมด้วยเครื่องวัดความหยาบผิว (ภาพประกอบ 2) ใช้ความเร็วของหัวเข็ม 0.1 มิลลิเมตรต่อวินาที อ่านค่าความหยาบผิว (Ra) จากเครื่อง โดยวัดตัวอย่างละ 3 ตำแหน่ง หาค่าเฉลี่ย บันทึกไว้เป็นค่าเริ่มต้น จากนั้นเคลือบผิวฟันที่โผล่พื้นเรซินอะคริลิกออกมาทั้งหมดด้วยน้ำยาเคลือบเล็บ ยกเว้นบริเวณพื้นที่สี่เหลี่ยมที่วาดไว้ ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วทำซ้ำอีกครั้งหนึ่ง เมื่อแห้งแล้ว ปิดรอบนอกพื้นที่สี่เหลี่ยมอีกครั้งด้วยเทปกาว



ภาพประกอบ 1 แสดงการเตรียมบล็อกเรซินอะคริลิก (1A) และผิวเคลือบฟันที่ใช้ทดสอบ (1B)



ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะการทำงานของเครื่องวัดความหยาบผิว หัวเข็มจะเคลื่อนไปในผิวเคลือบฟันจากตำแหน่งเริ่มต้น a ไปยังตำแหน่ง b ตามระยะที่กำหนด และแสดงค่าความหยาบผิวนกกระดาดาษบันที่กผล

4. วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ก่อนการทดลองทุกครั้ง โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

5. แบ่งพื้นที่ลงบล็อกริซินอะคริลิกแล้วทั้งหมดออกเป็น 5 กลุ่ม โดยวิธีการสุ่ม (Random Sampling)

#### กลุ่ม A (เป็นกลุ่มควบคุม)

แช่พืชน้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ (20 มิลลิลิตรต่อชิ้นทดสอบ) ซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาทีที่อยู่ตลอดเวลา นาน 5 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำลายเทียมซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง

#### กลุ่ม B

แช่พืชน้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ (20 มิลลิลิตรต่อชิ้นทดสอบ) ซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาทีที่อยู่ตลอดเวลา นาน 5 นาที จากนั้นล้างพืชน้ำส้มคั้นด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปแช่ในน้ำลายเทียมซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง

#### กลุ่ม C

แช่พืชน้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ (20 มิลลิลิตรต่อชิ้นทดสอบ) ซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาทีที่อยู่ตลอดเวลา นาน 5 นาที จากนั้นนำพืชน้ำส้มคั้นไปแช่ในน้ำยาบ้วนปากผสมฟลูออไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 (227 พีพีเอ็ม) เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำลายเทียมซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง

#### กลุ่ม D

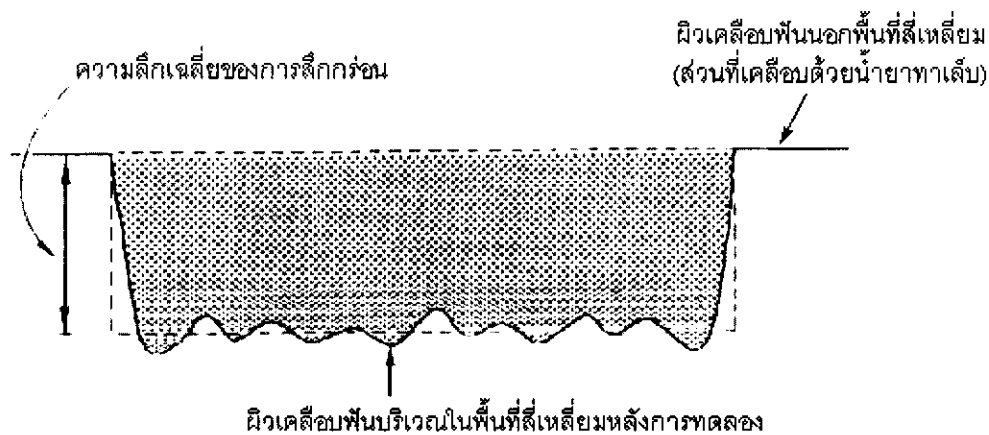
แช่พืชน้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ (20 มิลลิลิตรต่อชิ้นทดสอบ) ซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาทีที่อยู่ตลอดเวลา นาน 5 นาที จากนั้นรีบนำบล็อกริซินอะคริลิกไปยึดติดในอ่างเล็กๆด้วยกระดาษกาวสองหน้า แล้วแบ่งพืชน้ำส้มคั้นที่ด้วยเครื่องแบ่งพืชน้ำส้มคั้น ร่วมกับการใช้สารละลายของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1,000 พีพีเอ็ม จำนวน 1 กรัมต่อน้ำลายเทียม 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วินาที โดยใช้แรงกด  $100 \pm 5$  กรัม (Boyd, Mcley and Zahradnik, 1997) แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปแช่ในน้ำลายเทียมซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง

#### กลุ่ม E

แช่พืชน้ำส้มคั้นบริสุทธิ์ (20 มิลลิลิตรต่อชิ้นทดสอบ) ซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาทีที่อยู่ตลอดเวลา นาน 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำลายเทียมซึ่ง

คนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำบล็อกเรซินอะคริลิกไปยึดติดในอ่างเล็กๆด้วยกระดาษทาสองหน้า แล้วแปรงด้วยเครื่องแปรงฟัน ร่วมกับการใช้สารละลายของยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ 1,000 พีพีเอ็ม จำนวน 1 กรัมต่อน้ำลายเทียม 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วินาที โดยใช้แรงกด  $100 \pm 5$  กรัม แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปแช่ในน้ำลายเทียมซึ่งคนด้วยเครื่องคนสารชนิดใช้แม่เหล็กความเร็ว 10 รอบต่อนาที ณ อุณหภูมิห้อง

6. ในแต่ละกลุ่มทำการทดลองวันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 20 วัน ระหว่างการทดลอง เก็บฟันไว้ในน้ำลายเทียมซึ่งเปลี่ยนทุกวัน เมื่อครบ 20 วัน นำฟันจากแต่ละกลุ่มมาล้างด้วยน้ำกลั่นและทำให้แห้ง ding เทปกาวออก และใช้อะซิโตนเช็ดบริเวณรอบๆนอกพื้นที่สีเหลืองด้วยความระมัดระวังไม่ให้โดนบริเวณภายในพื้นที่สีเหลือง เพื่อล้างน้ำยาเคลือบเล็บออก วัดค่าความลึกของการสึกกร่อนของผิวเคลือบฟันด้วยเครื่องวัดความหยาบผิว โดยให้หัวเข็มของเครื่องวัดเคลื่อนผ่านบริเวณขอบด้านนอกและด้านในในพื้นที่สีเหลือง วัดตัวอย่างละ 3 ตำแหน่ง บันทึกค่าความลึกสูงสุดของการสึกกร่อน ( $R_{max}$ ) ที่วัดได้ในแต่ละแนว (Rytömaa, *et al.*, 1988) แล้วหาค่าเฉลี่ยซึ่งถือว่าเป็นค่าความลึกเฉลี่ยของการสึกกร่อนในแต่ละชั้นตัวอย่าง (ภาพประกอบ 3) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าความลึกเฉลี่ยของการสึกกร่อนที่ได้ในแต่ละกลุ่ม โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



ภาพประกอบ 3 แสดงภาพตัดขวางบริเวณสึกกร่อนและความลึกเฉลี่ยของการสึกกร่อนของผิวเคลือบฟันในแต่ละชั้นตัวอย่าง

7. สุ่มตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลองมากลุ่มละ 2 ตัวอย่าง นำไปเคลือบผิวฟันด้วยทองแล้วใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดส่องดูบริเวณก่อนและหลังทดลอง ถ่ายภาพที่กำลังขยาย 8,000 เท่าเพื่อตรวจว่าผิวฟันที่ผ่านการขัดผิวด้วยกระดาษทรายแล้วนำมาทดลองยังเป็นผิวเคลือบฟันอยู่ และเพื่อดูความแตกต่างของลักษณะผิวเคลือบฟันในแต่ละกลุ่มทดลอง