

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากร

ฟันกรามน้อยทั้งบนและล่างที่มีผิวเคลือบฟันด้านใกล้แก้มปกติ

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างเป็นฟันกรามน้อยทั้งบนและล่าง ที่ถอนจากคนไข้ที่มาขอรับการรักษาทางทันตกรรมตามสถานพยาบาลในเขตกรุงเทพมหานคร เนื่องจากสาเหตุต่างๆ โดยกำหนดช่วงอายุของคนไข้อยู่ในระหว่าง 8 - 25 ปี มีผิวเคลือบฟันด้านใกล้แก้มปกติ ปราศจากรอยโรคใดๆปรากฏให้เห็นเมื่อมองดูด้วยตาเปล่า จำนวน 80 ซี่

การรวบรวมข้อมูล

1. น้ำยาที่ใช้ในการวิจัย

1.1. น้ำยา remineralizing solution ซึ่งเตรียมขึ้นโดยมีส่วนผสมของแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 มิลลิโมล และ โซเดียมฟลูออไรด์ไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 มิลลิโมล ที่ pH 7.0

1.2. น้ำยา remineralizing solution ที่ความเข้มข้นและส่วนประกอบเช่นเดียวกันกับข้อ 1.1 แต่มีโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (ร้อยละ 10 ของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.2) รวมอยู่ด้วย

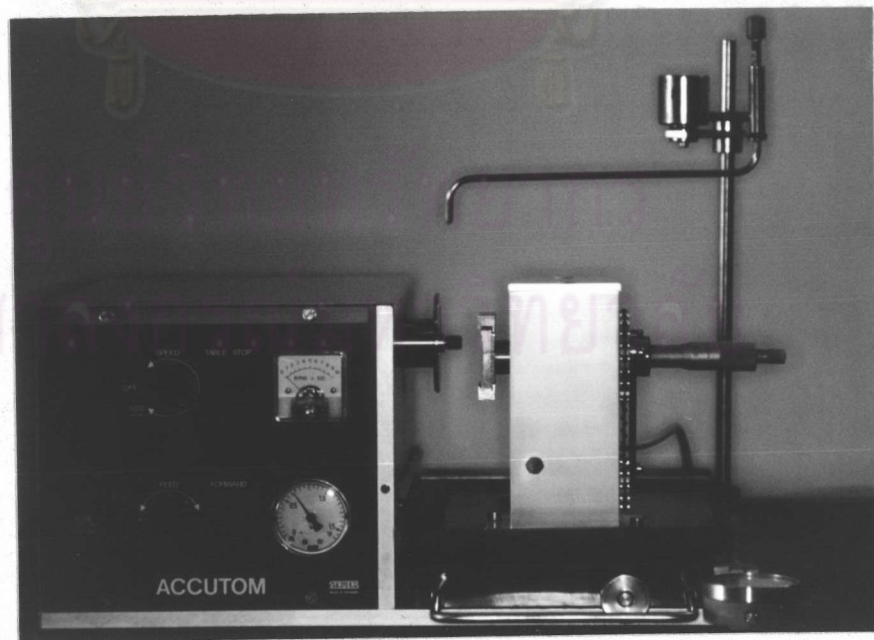
1.3. น้ำยา remineralizing solution ที่มีความเข้มข้น และส่วนประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1 แต่มีโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้น ร้อยละ 0.005 (ร้อยละ 10 ของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05) รวมอยู่ด้วย

1.4. น้ำยา remineralizing solution ที่มีความเข้มข้น และส่วนประกอบเช่นเดียวกับข้อ 1.1 แต่มีโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้น ร้อยละ 0.0002 (ร้อยละ 10 ของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.002) รวมอยู่ด้วย

1.5. กรดน้ำส้ม(acetic acid) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล pH 4.5 จำนวน 400 มิลลิลิตร

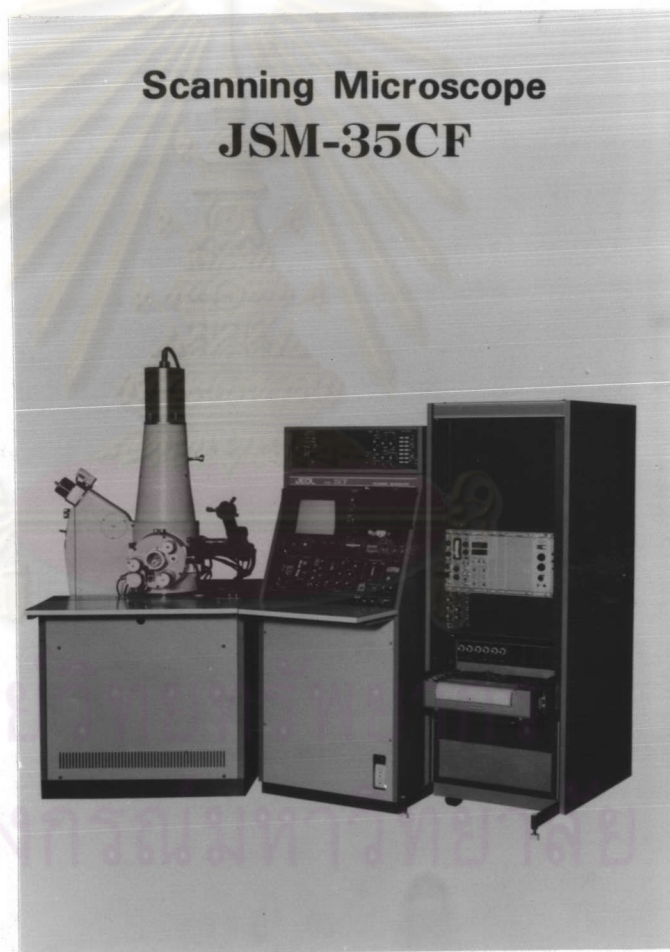
2. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

2.1. เครื่องมือสำหรับตัดแอคคิวตอม(Accutom) ซึ่งเป็น ผลิตภัณฑ์ของบริษัทสตรูเออร์(Struers) ใช้สำหรับตัดชิ้นส่วนฟันในแต่ละกลุ่ม ตัวอย่างให้มีขนาดพอเหมาะต่อการนำไปศึกษาขึ้นไป ด้วยกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด



รูปที่ 24 เครื่องมือสำหรับตัดแอคคิวตอม ของบริษัทสตรูเออร์

2.2. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope) แบบ JSM - 35CF (รูปที่ 25) ซึ่งมีเครื่อง X-ray microanalysis เป็นองค์ประกอบ สำหรับตรวจวัดปริมาณธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสบนผิวเคลือบฟันบริเวณที่สัมผัสน้ำยา โดยใช้ระบบการวัดแบบอีดีเอส (EDS ; ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก)



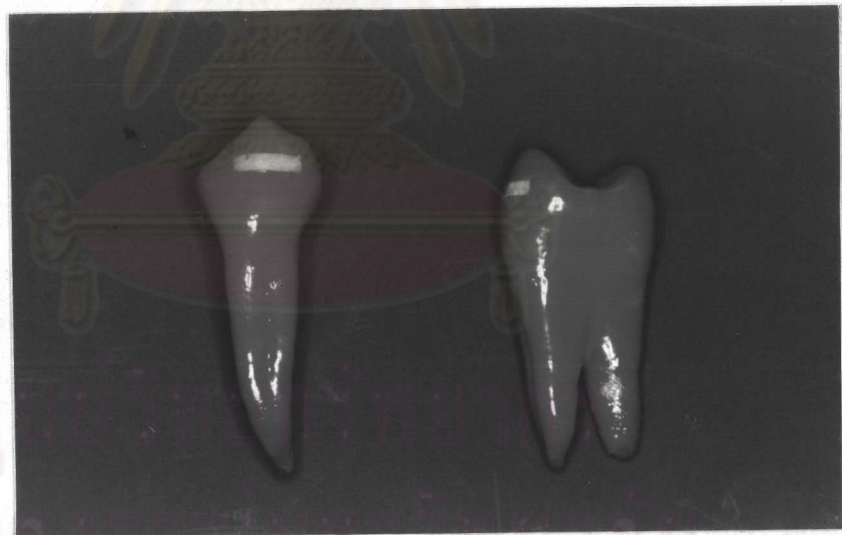
รูปที่ 25 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแบบ JSM - 35CF

3. การจัดกระทำ

3.1. ทำความสะอาดฟันที่จะนำมาทดลอง โดยการล้างคราบเลือด น้ำลาย และขูดเศษเนื้อเยื่อรอบๆปลายรากฟันให้สะอาด แช่ฟันในน้ำกลั่น เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนน้ำกลั่นทุกสัปดาห์จนกว่าจะถึงเวลาทดลอง

3.2. ขัดผิวเคลือบฟันด้านใกล้แก้มของฟันที่จะนำมาทดลองด้วยผงขัดผิวมิส (pumice) ชนิดละเอียด ด้วยเครื่องกรอช้า (micromotor) และหัวขัดยาง (rubber cup) โดยวิธีขัดเปียกนาน 5 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาดและเป่าแห้ง

3.3. บิดผิวเคลือบฟันด้านใกล้แก้มของฟันทุกซี่ด้วยน้ำยาทาเล็บ โดยเว้นเป็นช่องเปิดตรงกลางขนาด 1×4 ตารางมิลลิเมตร (รูปที่ 26)



รูปที่ 26 การบิดผิวเคลือบฟันด้านใกล้แก้มของฟันที่จะทดลองด้วยน้ำยาทาเล็บ โดยเว้นเป็นช่องเปิดตรงกลางขนาด 1×4 ตารางมิลลิเมตร

3.4. แช่ฟันที่เคลือบน้ำยาทาเล็บแล้วในกรดน้ำส้ม ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล pH 4.5 จำนวน 400 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำฟันขึ้นแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด



รูปที่ 27 ฟันที่เคลือบน้ำยาทาเล็บแล้วถูกแช่ในกรดน้ำส้ม เพื่อสร้างสถานการณ์เลียนแบบฟันผุ

3.5. แบ่งฟันทั้งหมด 80 ซี่ ออกเป็น 4 กลุ่ม โดยวิธีสุ่มตัวอย่างแบบไม่เฉพาะเจาะจง (random sampling) กลุ่มละ 20 ซี่ โดยกำหนดให้

- กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม
- กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลองที่ 1
- กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มทดลองที่ 2
- กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มทดลองที่ 3

3.6. นำกลุ่มทั้ง 4 แยกแช่ในภาชนะบรรจุน้ำยา 4 ชนิด โดยกลุ่มควบคุม แช่ในน้ำยา remineralizing solution ซึ่งเตรียมขึ้นโดยมีส่วนผสมของแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 มิลลิโมล และ ไตโซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.0 มิลลิโมล ที่ pH 7.0 จำนวน 250 มิลลิลิตร

กลุ่มทดลองที่ 1 แช่ในน้ำยา remineralizing solution ที่มีความเข้มข้นและส่วนประกอบเช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุม แต่มีโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 (ร้อยละ 10 ของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้น 0.2) รวมอยู่ด้วย จำนวน 250 มิลลิลิตร

กลุ่มทดลองที่ 2 แช่ในน้ำยา remineralizing solution ที่มีความเข้มข้นและส่วนประกอบเช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุม แต่มีโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 (ร้อยละ 10 ของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05)รวมอยู่ด้วย จำนวน 250 มิลลิลิตร

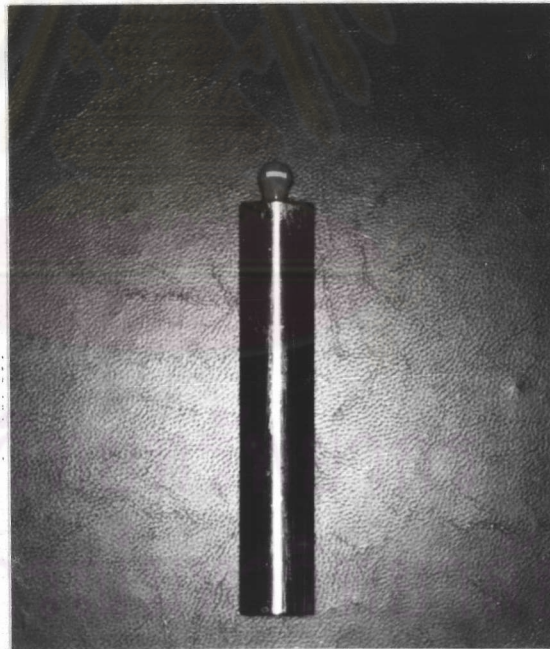
กลุ่มทดลองที่ 3 แช่ในน้ำยา remineralizing solution ที่มีความเข้มข้นและส่วนประกอบเช่นเดียวกันกับกลุ่มควบคุม แต่มีโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.0002 (ร้อยละ 10 ของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.002)รวมอยู่ด้วย จำนวน 250 มิลลิลิตร

ทั้ง 4 กลุ่ม แยกบรรจุอยู่ในภาชนะพลาสติกที่มีฝาปิดกันน้ำยาระเหย ทำการทดลองที่อุณหภูมิต่ำ และเปลี่ยนน้ำยาทุกวันตลอดการทดลอง

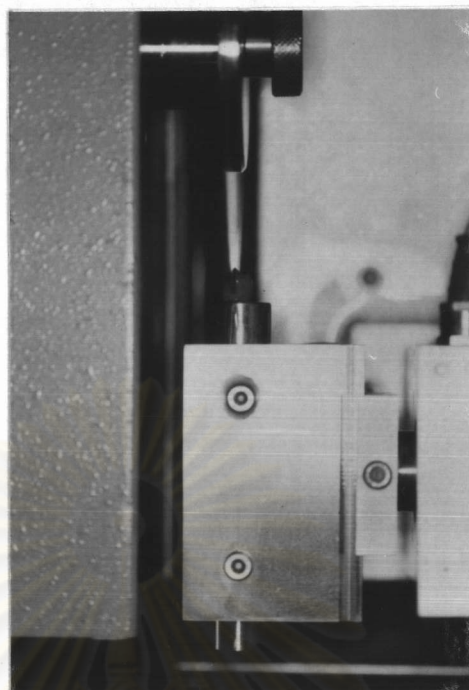


รูปที่ 28 การแช่ฟันแต่ละกลุ่มในน้ำยา remineralizing solution ที่มีส่วนผสมของโซเดียมฟลูออไรด์ความเข้มข้นต่างๆกันในภาชนะพลาสติกที่มีฝาปิดกันน้ำยาระเหย

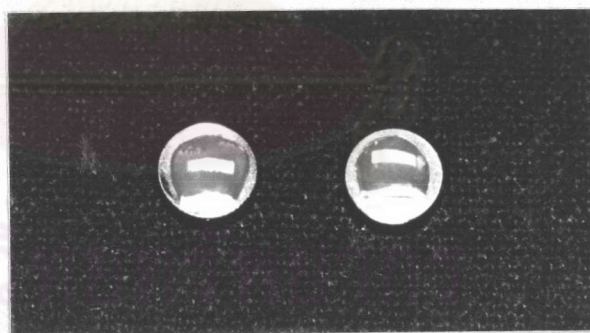
3.7. เมื่อครบ 30 วัน นำฟันทั้งหมดขึ้นจากน้ำยา ล้างด้วย น้ำกลั่นให้สะอาด นำไปตัดให้มีขนาดเล็กลงด้วยเครื่องมือตัดแอกคิวตอม ตัดฟัน ในแนวใกล้กลาง-ไกลกลาง(mesio-distal) แยกฟันออกเป็น 2 ส่วน คือส่วน ทางด้านใกล้แก้ม(buccal) และส่วนทางด้านใกล้ลิ้น(lingual) ให้ส่วน ทางด้านใกล้แก้มมีความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร จากส่วนที่หนูนที่สุด และตัด อีกครั้งในแนวใกล้แก้ม-ใกล้ลิ้น(bucco-lingual) ที่บริเวณคอฟัน(cervical third) ให้ชิ้นส่วนมีความกว้างในแนวจากปลายฟันถึงคอฟันประมาณ 4 - 5 มิลลิเมตร โดยกะให้ช่องเปิดของเคลือบฟันที่มีได้ทายาทาเล็บขนาด 1 x 4 ตารางมิลลิเมตร อยู่ตรงกึ่งกลางของชิ้นส่วนฟันที่ตัดได้ (รูปที่ 31) ล้างชิ้น ส่วนฟันให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้จนแห้งสนิท



รูปที่ 29 การยึดชิ้นส่วนฟันในท่อโลหะกลมด้วยขี้ผึ้งชนิดเหนียวก่อนใส่ เข้าเครื่องมือสำหรับตัดแอกคิวตอม



รูปที่ 30 ฟันขณะอยู่ในเครื่องมือสำหรับตัดแอกคิวตอม เพื่อตัดฟัน
ออกเป็น 2 ส่วน ในแนวใกล้กลาง-ไกลกลาง



รูปที่ 31 ลักษณะชิ้นส่วนฟันที่ตัดได้ มีความกว้างในแนวจากปลาย
ฟันถึงคอฟัน (occluso-cervical) ประมาณ 4 - 5
มิลลิเมตร มีความหนาประมาณ 3 มิลลิเมตรโดยวัดจาก
ส่วนที่นูนที่สุด ช่องเปิดมีขนาด 1 x 4 ตารางมิลลิเมตร
อยู่ตรงกึ่งกลางของชิ้นส่วนฟัน นำไปติดบนฐานยึดตัวอย่าง
ด้วยซีเมนต์ชนิดเหนียว

3.8. นำชิ้นส่วนพื้นแต่ละชิ้นติดบนฐานยึดตัวอย่าง (stub) ซึ่งทำด้วยทองเหลือง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร สูง 3 มิลลิเมตร โดยหงายด้านใกล้แก้มขึ้นทางด้านบน และใช้ขี้ผึ้งชนิดเหนียวยึดติดทางด้านล่างของชิ้นส่วนกับฐานยึดตัวอย่าง

3.9. นำชิ้นส่วนพื้นที่ติดเรียบร้อยแล้วบนฐานยึดตัวอย่าง ทั้ง 4 กลุ่ม ไปผ่านกรรมวิธีฉาบผิวหน้าด้วยผงคาร์บอน โดยเครื่อง Sputter Coater แบบ JFC -1100 (fine coat) เพื่อให้ผิวหน้าของตัวอย่างสามารถให้อิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) เกิดขึ้นมากพอทันทีที่ลำแสงอิเล็กตรอนปฐมภูมิมาตกกระทบกับผิวหน้าตัวอย่าง

3.10. นำชิ้นส่วนพื้นทั้ง 4 กลุ่ม วัดปริมาณธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสบนผิวเคลือบพื้นบริเวณที่สัมผัสน้ำยาชนิดต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด แบบ JSM-20 โดยใช้ระบบการวิเคราะห์ธาตุด้วยรังสีเอกซ์เรืองแบบอีดีเอส (ดูรายละเอียดในภาคผนวก ก) ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 จุดโดยวิธีสุ่มแบบไม่เฉพาะเจาะจง แล้วหาค่าเฉลี่ย

ตัวแปรของการวิจัย

1. ตัวแปรอิสระ (independent variables) คือ ความเข้มข้นของปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำยา ได้แก่

1.1. ความเข้มข้นร้อยละ 0.02

1.2. ความเข้มข้นร้อยละ 0.005

1.3. ความเข้มข้นร้อยละ 0.0002

2. ตัวแปรตาม (dependent variables) คือ

2.1. ปริมาณธาตุแคลเซียมบนผิวเคลือบพื้นส่วนที่สัมผัสน้ำยา

2.2. ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสบนผิวเคลือบพื้นส่วนที่สัมผัสน้ำยา

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. หาค่าเฉลี่ย (Mean, \bar{X}) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, S.D.) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of variance, C.V.) ของปริมาณธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ปรากฏบนผิวเคลือบฟันที่สัมผัสน้ำยาของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

2. เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ปรากฏบนผิวเคลือบฟันที่สัมผัสน้ำยาของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way analysis of variance) และทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธีของเชฟเฟ (Scheffé method of multiple comparison procedure) (52)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย