เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของเคลือบฟันและความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน ในสภาวะจำลองช่องปากแบบต่าง ๆ

สุทธิจิต สุนทราภา
นิสิตปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์
คณะทันตแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
มรกต เปี่ยมใจ
รองศาสตราจารย์
ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์
คณะทันตแพทยศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:
ทันตแพทย์หญิงสุทธิจิต สุนทราภา
นิสิตปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์
คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนอังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
อีเมล: s_suthijit@yahoo.com

แหล่งทุน
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของเคลือบฟันและความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่สลายออกมาภายในสารละลายที่จำลองสภาวะช่องปาก ทำการทดลองโดยเตรียมชิ้นเคลือบฟันวัว 96 ชิ้น สุ่มแบ่งเข้า 4 กลุ่ม คือสารละลายกรดแลคติค (กลุ่ม 1) น้ำลายเทียม (กลุ่ม 2) น้ำลายเทียมที่ผสมกรดแลคติค (กลุ่ม 3) น้ำลายเทียมผสมกรดแลคติคและผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์ (กลุ่ม 4) แต่ละกลุ่มทดสอบใน 5 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง และ 168 ชั่วโมง (n=6) เมื่อสิ้นสุดเวลาจะดูดสารตัวอย่างไปเจือจางเพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนด้วยเครื่องอินดักทีฟลี คับเปิ้ลพลาสมา สเปคโตรมิเตอร์ ส่วนชิ้นตัวอย่างจะถูกทำความสะอาดและเป่าแห้ง สุดท้ายชั่งหาน้ำหนักแล้วคำนวณเป็นค่าร้อยละของน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง จากผลการทดลองพบความแตกต่างของค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของทุกกลุ่มในทุกช่วงเวลา โดยค่าร้อยละการหายไปของน้ำหนักเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ กลุ่ม 1, 3, และ 4 ส่วนกลุ่ม 2 มีค่าร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 168 ชั่วโมง พบความแตกต่างความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลายของทุกกลุ่มในทุกช่วงเวลายกเว้นที่ 168 ชั่วโมง ของกลุ่ม 1 และกลุ่ม 4 เมื่อระยะเวลาการแช่ตัวอย่างในสารละลายแต่ละกลุ่มนานขึ้นมีเฉพาะกลุ่ม 2 ที่ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนในสารละลายมีค่าลดลงและพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 168 ชั่วโมง ส่วนกลุ่ม 4 ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่เพิ่มขึ้นในสารละลายไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกช่วงเวลา จากการทดลองนี้สรุปได้ว่าในสภาวะที่มีกรดจะพบการหายไปของน้ำหนักชิ้นเคลือบฟัน โดยสารละลายที่มีความอิ่มตัวของแร่ธาตุมากจะช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักของฟันลงได้

บทนำ

โรคฟันผุเป็นกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุออกจากเคลือบฟันและเนื้อฟันสาเหตุมาจากกรดซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการย่อยสลายอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตของเชื้อแบคทีเรีย การศึกษาในปัจจุบันพบว่าโรคฟันผุนั้นมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยร่วมกัน ได้แก่ ความไวของฟันต่อการเกิดโรค ศักยภาพและปริมาณของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคฟันผุ ชนิดและความถี่ของการรับประทานอาหาร และมีน้ำลายเป็นปัจจัยในการต่อต้านการเกิดโรค[6,11-12] เนื่องจากน้ำลายมีคุณสมบัติด้านต่าง ๆ กล่าวคือ การไหลของน้ำลายจะช่วยชะล้างอาหารและเจือจางกรดที่เกิดขึ้น มีระบบภูมิคุ้มกันที่สามารถต้านการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์

มีแร่ธาตุเป็นองค์ประกอบจำนวนมากจึงสามารถมีการคืนแร่ธาตุกลับสู่ผิวฟันได้ นอกจากนั้นยังมีความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ที่จะช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างในช่องปาก[15,24,27] ดังนั้นจะเกิดโรคฟันผุเมื่อมีการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคหรือการสูญเสียแร่ธาตุ กับปัจจัยที่ป้องกันการเกิดโรคหรือการคืนแร่ธาตุ โดยมีกรดแลคติคเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดโรคฟันผุเนื่องจากเมื่อได้รับน้ำตาลซูโครสจะพบปริมาณของกรดแลคติคเพิ่มขึ้นมากอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับกรดชนิดอื่น[14,21,25] และยังพบความสัมพันธ์ของปริมาณกรดแลคติคที่เพิ่มขึ้นในน้ำลายกับค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงภายในแผ่นคราบจุลินทรีย์[20]

จากการศึกษาของ Margolis, Murphy และ Moreno[22] ได้จำลองการเกิดฟันผุด้วยสารละลายบัฟเฟอร์แลคติคที่มีความอิ่มตัวของแร่ธาตุแคลเซียมฟอสเฟตในระดับต่าง ๆ พบว่า ไม่ได้มีเพียงแต่ค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายที่จะสะท้อนการสูญเสียแร่ธาตุของฟัน แต่อัตราการสูญเสียแร่ธาตุยังขึ้นกับระดับความอิ่มตัว (degree of saturation) ของสารละลายที่ใช้จำลองการเกิดฟันผุด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Gao และคณะ[13] ที่พบว่า ระดับความอิ่มตัวของแร่ธาตุภายในสารละลายที่ใช้จำลองการเกิดฟันผุนั้นมีผลต่ออัตราการลุกลามของรอยโรคที่เกิดขึ้นในเคลือบฟันมากกว่าค่าความเป็นกรดด่าง และยังมีการศึกษาเปรียบเทียบผลของการใส่แคลเซียมฟอสเฟตเสริมลงในสารละลายพบว่าสามารถช่วยลดการสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟันได้[4,28] นอกจากนั้นการใช้เคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate, CPP-ACP, ซีพีพี-เอซีพี) ซึ่งเป็นสารประกอบของแคลเซียม ฟอสเฟตที่กำลังได้รับความสนใจในปัจจุบัน สามารถทำให้เคลือบฟันที่ถูกสึกกร่อนด้วยเครื่องดื่มโคลามีความแข็งผิวเพิ่มขึ้นจากการตกตะกอนของแร่ธาตุเข้าไปตามรูพรุน[1]

การศึกษาที่ผ่านมาจะทำการวิเคราะห์การสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟันด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน เช่น การใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ (polarized light microscopy) ซึ่งจะเห็นการหักเหแสงเป็น 4 เขตคือ surface zone, body zone, dark zone และ translucent zone เนื่องจากในแต่ละเขตจะมีความพรุนที่ต่างกัน ส่วนการวิเคราะห์ด้วยภาพจุลกายวิภาครังสี (microradiograph) จะพิจารณาจากความหนาแน่นของแร่ธาตุที่เปลี่ยนแปลงไป[22,31] ทั้ง 2 วิธีนี้สามารถหาปริมาณการสูญเสียแร่ธาตุโดยทำการวัดความลึกการลุกลามของรอยโรคที่เกิดขึ้นบนภาพที่ปรากฏ และยังมีการวิเคราะห์โดยการใช้การถ่ายภาพรังสีเอกซ์เพื่อดูลักษณะสภาพการทึบรังสีที่เปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม[2] อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ด้วยวิธีเหล่านี้ไม่สามารถวัดความแตกต่างได้ถ้ามีการสูญเสียแร่ธาตุออกจากฟันเพียงเล็กน้อย อีกวิธีที่นิยมใช้ศึกษาการสึกกร่อนของผิวเคลือบฟันคือการใช้เครื่องวัดความหยาบของพื้นผิว (profilometer) ซึ่งจะตรวจวัด (scan) บนผิวที่มีการสูญเสียแร่ธาตุเปรียบเทียบกับบริเวณผิวปกติแล้วคำนวณออกมาเป็นค่าความลึกที่เกิดขึ้น[4] และยังมีการเปรียบเทียบความแข็งผิวของเคลือบฟันทั้งก่อนและหลังการผ่านแบบจำลองการเกิดฟันผุ[1] นอกจากนั้นในห้องปฏิบัติการยังสามารถวิเคราะห์การสูญเสียแร่ธาตุของฟันได้จากการวัดความเข้มข้นของไอออนที่สลายออกมาในสารละลายด้วยเครื่องวิเคราะห์สเปคตรัมของแร่ธาตุ[5,23] สำหรับเคลือบฟันที่มีองค์ประกอบของผลึกแร่ธาตุแคลเซียมฟอสเฟตจัดเรียงตัวกันอย่างหนาแน่น เมื่อสัมผัสกับกรดจะทำให้ขอบของผลึกมีการสลายแร่ธาตุออกมา ผลึกจึงมีขนาดเล็กลงช่องว่างระหว่างผลึกกว้างขึ้น ซึ่งถือเป็นการเพิ่มรูพรุนภายในเนื้อเยื่อ[17,29] ดังนั้นเมื่อโครงสร้างและองค์ประกอบเปลี่ยนแปลงไปจึงส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก การศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการเพิ่มความอิ่มตัวของแร่ธาตุด้วยผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์และวิเคราะห์การสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟันโดยพิจารณาจากค่าร้อยละของน้ำหนักที่หายไปกับความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่สลายออกมาในสารละลายยังไม่เคยมีผู้ทำมาก่อน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของเคลือบฟันและความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลาย ในสภาวะจำลองช่องปากแบบต่าง ๆ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมชิ้นตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษานี้คือฟันตัดซี่กลางของวัวที่ไม่มีรอยผุหรือสึกด้านใกล้แก้ม ขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 25 ซี่ และถอนออกมาไม่เกิน 6 เดือน ได้มาจากวัวที่โรงฆ่าสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ภายหลังจากถอนเก็บรักษาฟันไว้ในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมากรอตัดตามขวางด้วยเครื่องกรอตัดฟันความเร็วต่ำ (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL, USA) แต่ละชิ้นกว้าง 8.0 มิลลิเมตร กำจัดผิวเคลือบฟันด้านใกล้ลิ้นและชั้นเนื้อฟันออกทั้งหมดด้วยกระดาษซิลิกอนคาร์ไบด์ความละเอียด 400 และหัวกรอกากเพชรรูปกรวยปลายมนร่วมกับการใช้ด้ามกรอฟันแบบเร็วและด้ามกรอฟันแบบช้า กำหนดขนาดชิ้นเคลือบฟันที่จะใช้ทดสอบด้วยกระดาษกาว

1 หน้า (3M, Bangkok, Thailand) กว้าง 5.0 มิลลิเมตร ยาว 7.0 มิลลิเมตร แล้วจึงกรอตัดให้ได้ตามขอบเขตด้วยหัวกรอเร็วกากเพชรรูปทรงกระบอก ลอกกระดาษกาวออกนำชิ้นเคลือบฟันที่ได้ไปทำความสะอาดด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (Transsonic digitals, Elma, Hohentwiel, Germany) ร่วมกับน้ำปราศจากไอออนนาน 10 นาที ซับชิ้นเคลือบฟันให้แห้งและเป่าด้วยกระบอกฉีดรวมนาน 1 นาที แล้วจึงนำไปชั่งหาน้ำหนักเริ่มต้นด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance, BP110S, Sartorius, Gottingen, Germany) และวัดขนาดซ้ำด้วยเวอร์เนียแคลิปเปอร์ ดิจิตอล (Mitutoyo, Tokyo, Japan) ชิ้นเคลือบฟันที่จะนำมาเป็นชิ้นตัวอย่างในการศึกษาทั้งหมด 96 ชิ้น ต้องมีความกว้าง 5.0±0.5 มิลลิเมตร ความยาว 7.0±0.5 มิลลิเมตร และความหนา 1.0±0.3 มิลลิเมตร พื้นผิวด้านในไม่มีเนื้อฟันหลงเหลืออยู่และมีน้ำหนัก 110±30 มิลลิกรัม ก่อนเริ่มการทดลองชิ้นตัวอย่างและภาชนะพลาสติกพร้อมฝาปิดจะทำลายเชื้อ (disinfection) โดยการแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 นาน 10 นาที จากนั้นซับให้แห้งด้วยผ้ากอซปราศจากเชื้อ[30] แล้วเก็บชิ้นตัวอย่างไว้ในภาชนะรอสารละลายทดลอง

วิธีการทดลอง

ใช้วิธีการสุ่มแบบง่ายเพื่อจัดชิ้นตัวอย่างเข้า 4 กลุ่มศึกษา ได้แก่ ชิ้นตัวอย่างแช่ในสารละลายกรดแลคติค (UNIVAR, Ajax Finechem, Australia) ความเข้มข้น 0.07 โมลาร์ (น้ำปราศจากไอออน 10 มิลลิลิตร หยดสารละลายกรดแลคติคร้อยละ 85 ลงไป 57 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน 10 วินาที, pH 2.32±0.02) (กลุ่ม 1) ชิ้นตัวอย่างแช่ในน้ำลายเทียม (pH 7.00±0.02) (ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) (กลุ่ม 2) ชิ้นตัวอย่างแช่ในน้ำลายเทียมที่ผสมกรดแลคติคความเข้มข้น 0.07 โมลาร์ (น้ำลายเทียม 10 มิลลิลิตร หยดสารละลายกรดแลคติคร้อยละ 85 ลงไป 57 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน 10 วินาที, pH 3.21±0.02) (กลุ่ม 3) และชิ้นตัวอย่างแช่ในน้ำลายเทียมที่ผสมกรดแลคติคความเข้มข้น 0.07 โมลาร์ และมีผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์ขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตร (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) ปริมาณ 0.03 กรัม กระจายตัวอยู่ (pH 3.52±0.03) (กลุ่ม 4) แต่ละกลุ่มศึกษาจะแช่ชิ้นตัวอย่าง 1 ชิ้นในภาชนะที่มีสารละลายทดลอง 10 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันคือ 5 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง และ 168 ชั่วโมง (n=6) ส่วนกลุ่มควบคุมสำหรับการวัดความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนคือสารละลายทดลองที่ไม่มีการแช่ชิ้นตัวอย่างลงไป ภาชนะทดลองและภาชนะควบคุมของทุกกลุ่มในระหว่างการทดสอบจะเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Orbital incubation รุ่น SI 50, Stuart, Leicester, UK) 37 องศาเซลเซียส ตามเวลาที่กำหนด เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาจะนำภาชนะมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

วิธีการวัดผล

การวัดค่าร้อยละของน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง แยกชิ้นตัวอย่างออกจากสารละลาย นำไปแช่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร ทำความสะอาดด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูงนาน 1 นาที[9] ซับน้ำส่วนเกินและเป่าแห้งด้วยกระบอกฉีดรวมนาน 1 นาที สุดท้ายชั่งหาน้ำหนักชิ้นตัวอย่างแล้วคำนวณเป็นค่าร้อยละของน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง

$$\% \text{ Wt change} = \frac{\text{Wt before} - \text{Wt after}}{\text{Wt before}} \times 100$$

การวัดความเข้มข้นของแคลเซียมไอออน

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง แต่ละภาชนะก่อนนำชิ้นตัวอย่างออกไปเพื่อเตรียมชั่งน้ำหนัก จะเขย่าสารละลายให้เข้ากัน 10 วินาที ด้วยเครื่องผสมสาร (Vortex Genies 2, Scientific industries, Hayward, USA) แล้วดูดสารตัวอย่างออกมาเจือจางในหลอดทดลองที่มีสารละลายผสมของแลนธานัมคลอไรด์ร้อยละ 1 กับกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.06 โมลาร์ (1% $LaCl_3$ 0.06 M HCl) (ประยุกต์จาก Moreno และ Margolis[26]) สารละลายในกลุ่ม 1, 2 และ 3 จะเจือจาง 10 เท่า ส่วนสารละลายในกลุ่ม 4 จะเจือจาง 200 เท่า เมื่อเตรียมหลอดตัวอย่างแล้วจะนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนด้วยเครื่องอินดักทีฟลี คับเปิ้ล พลาสมา สเปคโตรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma Spectrometer; ICPS-OES, Optima 7300 DV, PerkinElmer Inc., USA) วัดผลความเข้มข้นออกมาเป็นส่วนในล้านส่วน (ppm)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปทางสถิติ (SPSS version 16.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าร้อยละของน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงและเปรียบเทียบความแตกต่างความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลาย โดยแยกพิจารณาทีละปัจจัยคือชนิดของสารละลายที่ใช้จำลองสภาวะช่องปากและระยะเวลาการแช่ชิ้นตัวอย่าง ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One Way ANOVA) ตามด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนวิธีของบอนเฟอร์โรนิ (Bonferroni) เมื่อผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน

ของข้อมูลไม่มีความแตกต่างกัน แต่กรณีที่ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลมีความแตกต่างกันจะเลือกใช้วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อนของแทมเฮน (Tamhanes T2) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ .05

ผล

จากตารางที่ 1 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักชิ้นตัวอย่างของทุกกลุ่มในทุกช่วงเวลา โดยค่าร้อยละการหายไปของน้ำหนักเรียงลำดับจากมากไปน้อยคือ กลุ่ม 1, 3, และ 4 ตามลำดับ และค่าร้อยละน้ำหนักที่หายไปจะเพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อระยะเวลาการแช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายนานขึ้น แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 72 ชั่วโมง และ 168 ชั่วโมง ของกลุ่ม 4 ค่าร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในกลุ่ม 2 จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 168 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลายกลุ่มควบคุมพบว่าระยะเวลาการทดลองไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากตารางที่ 2 ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลายกลุ่มทดลองจะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทุกกลุ่มในทุกช่วงเวลายกเว้นที่ 168 ชั่วโมง ของกลุ่ม 1 และกลุ่ม 4 เมื่อระยะเวลาการแช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายแต่ละกลุ่มนานขึ้นจะพบความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนในสารละลายเพิ่มขึ้นยกเว้นกลุ่ม 2 ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนในสารละลายจะมีค่าลดลงและพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 168 ชั่วโมง ส่วนกลุ่ม 4 ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่เพิ่มขึ้นในสารละลายไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกช่วงเวลา

บทวิจารณ์

สารละลายที่ใช้จำลองสภาวะช่องปากในการศึกษานี้จะมีองค์ประกอบของกรดแลคติคความเข้มข้น 0.07 โมลาร์ ในสารละลายปริมาณ 10 มิลลิลิตร พิจารณาจากปริมาณน้ำลายสูงสุดที่ไหลออกมาแล้วสะสมอยู่ในช่องปากก่อนจะมีการกลืน[18] และกรดแลคติคที่เกิดขึ้นภายหลังจากรับประทานอาหารใน 1 มื้อ[20-21] โดยสารละลายกลุ่ม 1 ได้เลียนแบบสภาวะช่องปากที่มีกรดสัมผัสผิวฟันตลอดเวลาและน้ำลายไม่สามารถเข้าถึงได้ เช่นบริเวณที่มีคราบจุลินทรีย์หรืออาหารติดคาตามซอกฟัน รวมถึงบริเวณที่ผู้ป่วยไม่สามารถทำความสะอาดได้อย่างต่อเนื่องจึงมีแผ่นคราบจุลินทรีย์สะสมหนาแน่น จากการทดลองพบว่า น้ำหนักของชิ้นเคลือบฟันหายไปมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม 3 และกลุ่ม 4 เป็นผลจากสารละลายกลุ่มนี้ใช้น้ำปราศจากไอออนในการเตรียมจึงมีปริมาณแร่ธาตุเริ่มต้นอยู่น้อย เมื่อมีการใส่กรดแลคติคซึ่งเป็นกรดอินทรีย์และมีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต (chelating agent) คือสามารถจับหรือล้อมรอบแร่ธาตุประจุบวกของแคลเซียมภายในสารละลายได้ ทำให้สารละลายนั้นเกิดสภาวะไม่อิ่มตัวต่อแคลเซียมเมื่อเปรียบเทียบกับเคลือบฟันจึงทำให้เกิดการสลายแร่ธาตุของฟันออกมา[24] และหากสารละลายมีความอิ่มตัวของแร่ธาตุน้อยตั้งแต่เริ่มต้นการส่งผ่านไอออนออกจากฟันมาสู่สารละลายจะเกิดได้มากกว่าและเร็วกว่าสารละลายที่มีความอิ่มตัวของแร่ธาตุมาก[22] ดังนั้นน้ำหนักของชิ้นเคลือบฟันที่หายไปจึงสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่เพิ่มขึ้นในสารละลาย

สารละลายกลุ่ม 2 เป็นสภาวะที่ฟันแช่อยู่ในน้ำลายตามปกติ จากการทดลองพบน้ำหนักของชิ้นเคลือบฟันเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนในสารละลายพบว่ามีค่าลดลงอาจเป็นผลจากสารละลายมีความอิ่มตัวของแร่ธาตุจึงเกิดการตกตะกอนบนพื้นผิวฟันที่มีรูพรุน[10] และจากการศึกษาของ Arends และ Jongebloed[3] กล่าวว่าแร่ธาตุที่ผิวนอกสุดของเคลือบฟันจะมีฟอสเฟตกระจายตัวอยู่มากกว่าแคลเซียมทำให้ผิวเคลือบฟันด้านนอกซึ่งมีประจุเป็นลบสามารถจับกับไอออนที่มีประจุบวกของแคลเซียมซึ่งกระจายอยู่ในสารละลาย จึงยิ่งเป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดการตกตะกอนบนพื้นผิวฟันได้ และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 168 ชั่วโมง เป็นการแสดงให้เห็นว่าการตกตะกอนของแร่ธาตุสู่พื้นผิวฟันไม่สามารถเกิดขึ้นได้โดยง่ายต้องใช้ระยะเวลานานเพียงพอ มีการศึกษาของ Lendenmann และคณะ[19] และ Hara และคณะ[16] กล่าวว่าองค์ประกอบของโปรตีนบางชนิดภายในน้ำลายเมื่อทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งสามารถเกิดเป็นแผ่นคราบน้ำลาย (salivary pellicle) บนผิวฟัน ในการทดลองนี้ใช้น้ำลายเทียมที่ไม่ได้มีองค์ประกอบของโปรตีน มีเพียงแต่สารเพิ่มความหนืด จึงไม่น่าจะสามารถเกิดแผ่นคราบน้ำลายนี้ได้

สารละลายกลุ่ม 3 เลียนแบบสภาวะช่องปากขณะที่มีกรดเกิดขึ้นในน้ำลาย การศึกษาก่อนหน้านี้[15,27] เชื่อว่าการเคี้ยวหมากฝรั่งที่กระตุ้นให้เกิดการไหลของน้ำลายเพิ่มขึ้นจะเป็นการเพิ่มคุณสมบัติความเป็นบัฟเฟอร์ของน้ำลายทำให้ค่าความเป็นกรดด่างกลับเข้าสู่สภาวะเริ่มต้นได้เร็ว โรคฟันผุจึงเกิดลดลง แต่จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าแม้กรดจะผสมอยู่ในน้ำลายเป็นระยะเวลานานก็ยังมีการหายไปของน้ำหนักชิ้นเคลือบฟันและความเข้มข้น

ตารางที่ 1 *ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของค่าร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนัก ในแต่ละกลุ่มตามช่วงเวลาต่าง ๆ*
Table 1 *Mean ± standard deviation of percent weight changes for each group and each time interval*

Group \ Time	5 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Group 1	$4.71\pm0.76_{A,a}$	$16.25\pm1.94_{A,b}$	$27.38\pm2.78_{A,c}$	$31.85\pm2.88_{A,d}$
Group 2	$-0.07\pm0.05_{B,a}$	$-0.15\pm0.03_{B,a}$	$-0.19\pm0.02_{B,a}$	$-0.55\pm0.07_{B,b}$
Group 3	$0.85\pm0.06_{C,a}$	$2.89\pm0.24_{C,b}$	$5.40\pm0.53_{C,c}$	$7.44\pm1.03_{C,d}$
Group 4	$0.45\pm0.04_{D,a}$	$0.73\pm0.11_{D,b}$	$1.38\pm0.16_{D,c}$	$1.79\pm0.30_{D,c}$

- The differences in capital letter means significant difference ($p < .05$) between group.
- The differences in small letter means significant difference ($p < .05$) between each time interval.

ตารางที่ 2 *ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลาย (ส่วนในล้านส่วน) ในแต่ละกลุ่มตามช่วงเวลาต่าง ๆ*
Table 2 *Mean ± standard deviation of calcium ions concentration (ppm) in the solutions for each group and each time interval.*

Group \ Time	Start	5 hr	24 hr	72 hr	168 hr
Group 1	$-1.42\pm0.93_{A,a}$	$155.61\pm30.39_{A,b}$	$278.45\pm30.32_{A,c}$	$443.17\pm25.77_{A,d}$	$606.68\pm33.96_{A,e}$
Group 2	$20.70\pm1.79_{B,a}$	$19.55\pm1.20_{B,a,b}$	$19.55\pm0.58_{B,a,b}$	$16.69\pm3.03_{B,b}$	$13.10\pm1.72_{B,c}$
Group 3	$14.12\pm0.54_{C,a}$	$51.83\pm11.62_{C,b}$	$101.98\pm17.88_{C,c}$	$239.93\pm22.64_{C,d}$	$287.08\pm22.23_{C,e}$
Group 4	$522.93\pm74.58_{D,a}$	$526.73\pm167.78_{D,a,b}$	$577.87\pm73.94_{D,a,b}$	$661.90\pm31.88_{D,b,c}$	$879.60\pm147.92_{A,c}$

- The differences in capital letter means significant difference ($p < .05$) between group.
- The differences in small letter means significant difference ($p < .05$) between each time interval.

ของแคลเซียมไอออนในสารละลายเพิ่มขึ้น นั้นแสดงว่าน้ำลายไม่สามารถทำให้ค่าความเป็นกรดด่างกลับสู่ความเป็นกลางและหยุดยั้งการเข้าทำปฏิกิริยากับฟันของกรดได้ แต่เนื่องจากภายในน้ำลายมีองค์ประกอบของแร่ธาตุอยู่มาก จึงทำให้การส่งผ่านไอออนออกจากฟันเกิดขึ้นได้ช้าลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 1

สารละลายกลุ่ม 4 ได้จำลองวิธีการป้องกันการสูญเสียแร่ธาตุจากฟันโดยการใส่ผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์ลงไป ในขณะที่มีกรดเกิดขึ้นในน้ำลายพบว่า สามารถช่วยลดการสูญเสียแร่ธาตุของชิ้นเคลือบฟันได้มากที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลจากผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ที่กระจายตัวอยู่นั้นมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับผลึกภายในเคลือบฟันและยังมีขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรใกล้เคียงกัน[7] จึงเข้าทำปฏิกิริยากับกรดแลคติคได้ดีและเร็วกว่าชิ้นเคลือบฟันที่ผลึกจัดเรียงตัวกันอย่างหนาแน่น นอกจากนั้นสารละลายในกลุ่มนี้ยังมีความเข้มข้นของแร่ธาตุมากจากน้ำลายเทียมและผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์ที่จะค่อย ๆ สลายแคลเซียมฟอสเฟต และไฮดรอกซิลออกมาเมื่อสัมผัสกรด[8] ทำให้สารละลายมีความอิ่มตัวของแร่ธาตุมากตลอดเวลา ถึงแม้ภายในสารละลายจะยังมีกรดเหลืออยู่และเข้าทำปฏิกิริยากับชิ้นเคลือบฟันก็จะพบการส่งผ่านไอออนออกมาจากฟันเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ จากการทดลองนี้ความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนภายในสารละลายที่พบมีค่าสูงมากในทุกช่วงเวลา แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นผลจากกระบวนการเก็บตัวอย่างในระหว่างขั้นตอนการเจือจางสารมีการดูดผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์ที่กระจายตัวอยู่ในสารละลายเข้าไป ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องกับกรดไฮโดรคลอริกในหลอดทดลอง เมื่อความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่สลายออกมาจากชิ้นเคลือบฟันมีค่าน้อยจึงถูกบดบังด้วยความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนที่สลายออกมาจากผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์สังเคราะห์ซึ่งมีค่ามากกว่า

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการพิจารณาจากค่าร้อยละน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปของชิ้นเคลือบฟันสามารถใช้เป็นทางเลือกสำหรับการศึกษาเรื่องการสูญเสียแร่ธาตุของฟันได้ แต่อาจมีข้อจำกัดในการสังเกตการณ์ลุกลามของรอยโรคซึ่งควรจะพิจารณาเพิ่มเติมด้วยเครื่องมือชนิดอื่นต่อไป

บทสรุป

ในสภาวะที่มีกรดจะทำให้มีการหายไปของน้ำหนักชิ้นเคลือบฟัน โดยสารละลายที่มีความอิ่มตัวของแร่ธาตุมากจะช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักของฟันลงได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิตครั้งที่ 1 ประจำปีงบประมาณ 2554 เลขที่ทุน 37 จากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และช่วยติดต่อประสานงานการจัดหาวัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ เพื่อการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Sukasame H, Panich M, Poolthong S. Effect of casein phosphopeptideamorphus calcium phosphate on hardness of enamel eroded by a cola drink. *Chulalongkorn University Dental Journal* 2006; 29:183-94.
2. Charoenpanich P. Tensile strength of hybridized dentin and resin composite [dissertation]. Bangkok: *Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Thailand*; 2002.
3. Arends J, Jongebloed WL. The enamel substrate-characteristics of the enamel surface. ***Swed Dent J*** 1977;1:215-24.
4. Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A. Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. ***Oral Dis*** 2005;11:7-12.
5. Attin T, Becker K, Hannig C, Buchalla W, Hilgers R. Method to detect minimal amounts of calcium dissolved in acidic solutions. ***Caries Res*** 2005;39:432–6.
6. Axelsson P. Diagnosis and risk prediction of dental caries. vol 2. Sweden: Quintessence; 2000. p. 140-50.
7. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. Oral Anatomy, Embryology and Histology. 3rd ed. St. Louis: Mosby; 2002. p. 150-65.
8. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? ***J Can Dent Assoc*** 2003;69:722-4.
9. Eisenburger M, Hughes J, West NX, Jandt KD, Addy M. Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid erosion. ***Caries Res*** 2000;34:289-94.

10. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. ***J Am Dent Assoc*** 2000;131:887-99.
11. Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. ***J Dent Res*** 2004;83:39-42.
12. Fejerskov O, Kidd E. Dental caries: The disease and its clinical management. United States: Blackwell Munkgaard; 2003. p. 250-64.
13. Gao XJ, Elliott JC, Anderson P. Scanning and contact microradiographic study of the effect of degree of saturation on the rate of enamel demineralization. ***J Dent Res*** 1991;70:1332-7.
14. Geddes DA. Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. ***Caries Res*** 1975;9:98-109.
15. Higham SM, Edgar WM. Effects of Parafilm and cheese chewing on human dental plaque pH and metabolism. ***Caries Res*** 1989;23:42-8.
16. Hara AT, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. ***J Dent Res*** 2006;85:612-6.
17. Kidd EAM. Essentials of dental caries. 3rd ed. Oxford: Oxford University press; 2005. p. 230-44.
18. Lagerlof F, Dawes C. The volume of saliva in the mouth before and after swallowing. ***J Dent Res*** 1984;63:618-21.
19. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle--a review. ***Adv Dent Res*** 2000;14:22-8.
20. Ludwig TG, Bibby BG. Acid production from different carbohydrate foods in plaque and saliva. ***J Dent Res*** 1957;36:56-60.
21. Margolis HC, Moreno EC. Composition of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals following sucrose exposure. ***J Dent Res*** 1992;71:1776–84.
22. Margolis HC, Murphy BJ, Moreno EC. Development of caries-like lesions in partially saturated lactate buffers. ***Caries Res*** 1985;19:36-45.
23. Mendham M, Denney RC, Barnes JD, Thomas M. Vogel's: Textbook of quantitative chemical analysis. 6th ed. Singapore: Prentice hall; 2000. p. 140-60.
24. Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. ***Eur J Oral Sci*** 1996;104:199-206.
25. Moore BW, Carter WMJ, Dunn JK, Fosdick LS. The formation of lactic acid in dental plaque I. Caries-active individuals. ***J Dent Res*** 1956;35:778-85.
26. Moreno EC, Margolis HC. Composition of human plaque fluid. ***J Dent Res*** 1988;67:1181-9.
27. Stookey GK. The effect of saliva on dental caries. ***J Am Dent Assoc*** 2008;139:11s-17s.
28. Tanaka M, Kadoma Y. Comparative reduction of enamel demineralization by calcium and phosphate in vitro. ***Caries Res*** 2000;34:241-5.
29. Thylstrup A, Fejerskov O. Textbook of clinical cariology. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard; 1994. p. 209-30.
30. Toro MJ, Lukantsova LL, Williamson M, Hinesley R, Eckert GJ, Dunipace AJ. In vitro fluoride dose-response study of sterilized enamel lesions. ***Caries Res*** 2000;34:246-53.
31. Wefel JS, Harless JD. Comparison of artificial white spots by microradiography and polarized light microscopy. ***J Dent Res*** 1984;63:1271-5.

Original Article

Comparison on Weight Changing of Enamel and Concentration of Calcium Ions in Various Oral Simulations

Suthijit Soontrapa
Graduate Student
Department of Prosthodontics
Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
Morakot Piemjai
Associate Professor
Department of Prosthodontics
Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Correspondence to:
Suthijit Soontrapa
Graduate Student
Department of Prosthodontics
Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
Henry-Dunant Rd., Patumwan,
Bangkok 10330
E-mail: s_suthijit@yahoo.com

Grant
Graduated School, Chulalongkorn University

Abstract

The objective of this present study was to compare percent of weight changing of enamel and calcium inos concentration in various solutions simulated oral conditions. Ninty six bovine enamel slabs were prepared and randomly divided into 4 groups of solutions: lactic acid (Group 1) artificial saliva (Group 2) lactic acid+artificial saliva (Group 3) and lactic acid+artificial saliva+hydroxyapatite crystal (Group 4). Each group was test in 5 hr, 24 hr, 72 hr, and 168 hr (n=6). At the end of each time, the sample solutions were diluted and analyzed for calcium ions concentration by inductively coupled plasma spectrometer. The specimens were cleaned and dried. The weight was measured and calculated to percent of weight changing. Statistically significant difference of percent of weight changing was found between groups in each time interval. Arrangement in order of percent weight loss was maximum in group 1, 3 and 4. Statistically significant difference in increasing weight of Group 2 was found in 168 hr. Calcium ions concentration were significant difference between groups in each time interval, except in 168 hr of Group 1 and 4 were no significant difference. Decreasingly in calcium ions concentration of Group 2 was significant difference in 168 hr. Increasingly in calcium ions concentration of Group 4 was no significant difference in all time intervals. The acidic condition caused weight loss of enamel. The degree of saturation in the solution reduced weight loss from acid demineralization.

Key words: calcium ions; enamel; weight change