

ระเบียบวิธีวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาผลของการใช้สาร SofScale™ ต่อเวลาที่ใช้ในการขูดหินน้ำลาย
เปรียบเทียบการขูดหินน้ำลายเหนือเหงือกด้วยมือเมื่อใช้และไม่ใช้สาร SofScale™

1. เลือกผู้ป่วยจำนวน 40 คน ที่มีหินน้ำลายเหนือเหงือกอย่างน้อย 1 ซี่ ใน 1 จุดภาค
จำนวน 2 จุดภาค และปริมาณหินน้ำลายเหนือเหงือกในพื้นที่จะศึกษาในทั้ง 2 จุดภาคใกล้เคียงกันเมื่อ
วัดด้วยครรชนหินน้ำลาย วี เอ็ม

2. เลือกฟันในจุดภาคใดๆเป็นกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มทดลอง โดยการสุ่มจากการจับสลาก
โดยผู้ใส่สาร

กลุ่มควบคุม ปิดด้วยสาลีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนสาร SofScale™

กลุ่มทดลอง ใส่สาร SofScale™ โดยใช้หัวฉีดซึ่งให้มาพร้อมกับผลิตภัณฑ์ ฉีดสาร
จนคลุมหินน้ำลายทั้งหมด ทิ้งไว้ 2 นาที แล้วล้างออกจนหมดด้วยน้ำจากหัวฉีดที่ชนิดทำฟันร่วมกับการ
ใช้เครื่องดูดน้ำลายความแรงสูง (high power suction) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนต่อกลุ่มควบคุม
เป่าให้แห้ง

3. ก็นตแพทย์ ซึ่งเป็นคนละคนกับผู้ใส่สารจะเป็นผู้ชูดหินน้ำลาย ดังนั้นก็นตแพทย์ผู้ชูดจะไม่ทราบว่าเป็นกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มทดลอง จับเวลาตั้งแต่เริ่มชูดจนผิวฟันเรียบสะอาดซึ่งตรวจได้ด้วยตาเปล่าและใช้เครื่องมือตรวจปลายแหลม (explorer) โดยขณะตรวจจะหยุดเวลาไว้ทำทีละด้านจนเสร็จ (การเลือกชูดด้านใดก่อนเป็นการสุ่มของก็นตแพทย์ผู้ชูด) ผู้ใส่สารบันทึกว่าชูดด้านใดก่อนและบันทึกเวลาที่ใช้ในการชูดหินน้ำลายแต่ละด้าน

4. ก็นตแพทย์ผู้ชูดเป็นคนเดียวกันตลอดการทดลอง

ตอนที่ 2 การศึกษาปริมาณแคลเซียมที่ละลายออกมาจากหินน้ำลายเมื่อแช่ในสาร SofScale™ ด้วย วิธี อะตอมมิก แอบซอร์พชัน สเปกโตรสโกปี

1. เก็บตัวอย่างหินน้ำลายเนื้อแข็งอก 2 ชิ้น ต่อผู้ป่วย 1 คน จำนวน 20 คน ให้หมายเลขตัวอย่างเป็น 1 ถึง 20 โดยในการทดลองช่วงนี้จะใช้หินน้ำลาย 1 ชิ้นจากผู้ป่วยแต่ละคน ส่วนตัวอย่างหินน้ำลายที่เหลืออีกหมายเลข 1 ชิ้นนั้นเก็บไว้ทำการศึกษาในช่วงที่ 2

2. นำตัวอย่างหินน้ำลายที่ได้จากข้อ 1 ไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เอาออกจากตู้อบแล้วทิ้งให้เย็นในที่ดูดความชื้น (desiccator) ซึ่งน้ำหนักหินน้ำลายแต่ละชิ้นด้วยเครื่องชั่งที่ละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักหินน้ำลายตามหมายเลข

3. ฉีดสาร SofScale™ ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 21 ใบ ซึ่งน้ำหนักสารที่แน่นอนเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักสารตามหมายเลข

4. นำชิ้นหินน้ำลายจากข้อ 2 ใส่ลงในบีกเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3 ตามหมายเลขที่ตรงกัน เชื้อหินน้ำลายให้คลุกเคล้ากับสาร SofScale™ โดยทั่ว ทิ้งให้หินน้ำลายทำปฏิกิริยากับสารเป็นเวลา 2 นาทีเท่ากันทุกตัวอย่าง ล้างสารออกจากชิ้นหินน้ำลายโดยใช้น้ำกลั่นที่ร้อน (เนื่องจากสาร SofScale™ มีลักษณะเป็นเจลเหนียวการล้างด้วยน้ำกลั่นอุณหภูมิธรรมดาอาจไม่เพียงพอ) นำสารละลายที่ได้จากการล้างทั้งหมดเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างซ้ำอีกจนสาร SofScale™ ออกจากชิ้นหินน้ำลายหมด เติมน้ำกลั่นจนล้นตามขีดเครื่องหมายเติมชั้นร้อยละ 0.2 (lanthanum chloride 0.2 %) 1 มิลลิลิตร ทำให้มีปริมาตรของสารละลาย

ครบ 25 มิลลิลิตรด้วยการเติมน้ำกลั่น

5. นำบีกเกอร์หมายเลข 21 ที่เตรียมไว้ในข้อ 3 มาละลายด้วยน้ำกลั่น เทใส่ในขวดวัดปริมาตรเติมสารละลายแลนทานัมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.2 จำนวน 1 มิลลิลิตร และทำให้มีปริมาตร 25 มิลลิลิตรโดยการเติมน้ำกลั่น เก็บเป็นสารละลายแบบล่งค์ (blank)

6. เตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อสร้างกราฟเทียบมาตรฐาน โดยการใช้น้ำเชื่อมคาร์บอนเนต อบแห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ใช้สารหนัก 0.2497 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจำนวนเล็กน้อยลงไปด้วยจนสารละลายใส ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ทำให้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายแคลเซียมคาร์บอนเนตที่มีแคลเซียม 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

7. ปิเปตสารละลายมาตรฐานจากข้อ 6 ปริมาตร 5.0 0.5 0.2 และ 0.1 มิลลิลิตรตามลำดับ ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายแลนทานัมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.2 จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในขวดที่มีสารละลายมาตรฐาน 0.5 0.2 และ 0.1 มิลลิลิตรเท่านั้น ทำปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นของแคลเซียม 50.0 5.0 2.0 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

8. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งยังไม่ได้เติมแลนทานัมคลอไรด์มา 1.0 0.2 และ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายแลนทานัมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 4 มิลลิลิตร ตามลำดับ เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นของแคลเซียม 0.05 0.1 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

9. นำสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นของแคลเซียม 0.05 0.1 0.5 1.0 2.0 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ได้จากการเตรียมในข้อ 7 และ 8 มาทำการวัดการดูดกลืนแสงเพื่อสร้างกราฟเทียบมาตรฐานด้วยเครื่องอะตอมมิค แอบซอร์พชัน สเปกโตรสโกปี โดยมีน้ำกลั่นเป็นแบบล่งค์

10. วัดสารละลายแบบล่งค์ของสาร SofScale™ ที่เตรียมได้จากข้อ 5 แล้วตามด้วยสารละลายที่ได้จากการล้างสาร SofScale™ จากหินน้ำลายหมายเลข 1 ถึง 20 ด้วยเครื่องอะตอมมิค แอบซอร์พชัน สเปกโตรสโกปี ตามลำดับ เพื่อหาปริมาณแคลเซียม

11. นำชั้นหินน้ำลายที่ล้างสาร SofScale™ ออกแล้วมาอบให้แห้งในเตาอบอุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทั้งให้เย็นในที่สุญญากาศ ซึ่งน้ำหนักเป็นทศนิยม 4 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักตามหมายเลข เพื่อเปรียบเทียบน้ำหนักหินน้ำลายก่อนและหลังแช่สาร SofScale™

12. ทำการทดลองซ้ำช่วงที่ 2 ในทำนองเดียวกันอีกครั้ง แต่ใช้หินน้ำลายชิ้นใหม่ โดยแช่หินน้ำลายในเจล 2 นาที (เพื่อสิ้นอันผล) โดยใช้ตัวอย่างหมายเลข 1 ถึง 5 และเพิ่มเวลาเป็น 5 นาที (ใช้ตัวอย่างหมายเลข 6 ถึง 10) และ 10 นาที (ใช้ตัวอย่างหมายเลข 11 ถึง 14)

13. การคำนวณปริมาณแคลเซียมที่ได้จากชั้นหินน้ำลาย พิจารณาจากค่าความเข้มข้นของแคลเซียมในสารละลายตัวอย่างที่อ่านได้จากเครื่อง มีหน่วยเป็น $\mu\text{g/ml}$ ในกรณีสารละลายแบบคล่อง ความเข้มข้นของแคลเซียมที่วัดได้จากเครื่องจะเป็นแคลเซียมที่มีอยู่แล้วในเจล แต่ในกรณีสารละลายตัวอย่างความเข้มข้นของแคลเซียมที่วัดได้จากเครื่องจะเป็นแคลเซียมซึ่งมีอยู่แล้วในเจลร่วมกับแคลเซียมที่ละลายออกจากหินน้ำลาย จึงต้องคำนวณเพื่อหาแคลเซียมส่วนที่ละลายจากหินน้ำลาย โดยการคำนวณหาแคลเซียมที่มีอยู่แล้วในเจลก่อน แล้วนำมาหักออกจากค่าที่วัดได้จากเครื่อง

ความเข้มข้นของแคลเซียมในสารละลายแบบคล่องที่วัดได้ = A $\mu\text{g/ml}$

น้ำหนักของเจลที่ใช้ทำสารละลายแบบคล่องซึ่งได้จากการชั่ง = B g

น้ำหนักของเจลที่ใช้ทำสารละลายตัวอย่างหมายเลข 1 ซึ่งได้จากการชั่ง = C g

เพราะฉะนั้นสารละลายตัวอย่างหมายเลข 1

จะมีความเข้มข้นของแคลเซียมซึ่งมีอยู่แล้วในเจล = $\frac{A \times C}{B}$

= D $\mu\text{g/ml}$

ความเข้มข้นของแคลเซียมทั้งหมดในตัวอย่าง

สารละลายหมายเลข 1 ที่วัดได้ = E $\mu\text{g/ml}$

เพราะฉะนั้นความเข้มข้นของแคลเซียมที่ละลายจาก

หินน้ำลายหมายเลข 1 = E - D

$$= F \quad \mu\text{g/ml}$$

เพราะฉะนั้นปริมาณแคลเซียมทั้งหมดจากหินน้ำลายหมายเลข 1

ที่ละลายออกมาในสารละลาย 25 ml

$$= F \times 25$$

$$= 25F \quad \mu\text{g}$$

ตอนที่ 3 การศึกษารายละเอียดพื้นผิวของหินน้ำลาย เคลือบฟันและเคลือบรากฟันที่เปลี่ยนแปลง ภายหลังการใช้สาร SofScale™ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

1. เก็บตัวอย่างหินน้ำลายเนื้อเหงือกจำนวน 2 ชิ้น ต่อผู้ป่วย 1 คน โดยใช้ผู้ป่วย 5 คน ให้หมายเลขตัวอย่างเป็น 1ก. 1ข. 2ก. 2ข. ไปเรื่อย ๆ
2. เก็บตัวอย่างฟันที่มีหินน้ำลายและจำเป็นต้องถอน 2 ซี่ ต่อผู้ป่วย 1 คน ใช้ผู้ป่วย 5 คน ให้หมายเลขตัวอย่างเป็น 6ก. 6ข. 7ก. 7ข. ไปเรื่อย ๆ
3. นำตัวอย่างในกลุ่ม ก. หมายเลข 1 ถึง 10 ไปแช่สาร SofScale™ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นล้างออกให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น เป่าให้แห้ง จัดเป็นกลุ่มทดลอง
4. ตัวอย่างหินน้ำลายและฟันที่มีหินน้ำลายในกลุ่ม ข. ที่ไม่ได้แช่สาร ให้แช่ในน้ำกลั่น เป็นเวลา 2 นาที เป่าให้แห้ง จัดเป็นกลุ่มควบคุม
5. นำหินน้ำลายและฟันที่มีหินน้ำลายจากข้อ 3 และ 4 ไปติดบนแป้นทองเหลืองแล้ว เคลือบทองด้วยเครื่องเคลือบทอง ใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 15 กิโลโวลต์ (KV) เพื่อเตรียม ตัวอย่างในการดูรายละเอียดพื้นผิว ตามวิธีการมาตรฐานในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจดู ด้วยของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (ภาพที่ 1)
6. ในการศึกษาด้วยกล้องดังกล่าวจะพิจารณา ดังนี้
ตัวอย่างที่เป็นชั้นหินน้ำลาย จะดูพื้นผิวของหินน้ำลายโดยทั่วไป
ตัวอย่างที่เป็นฟันที่มีหินน้ำลาย จะดูพื้นผิวของเคลือบฟัน เคลือบรากฟัน และหินน้ำลาย
7. บันทึกผลการศึกษาโดยการจดบันทึกลักษณะที่เห็นและการถ่ายภาพ

วัสดุอุปกรณ์ตอนที่ 1

1. เครื่องมือชุดชุดหินน้ำลาย (Gracey curette no.3/4, 7/8
11/12, 13/14, Sickle no. 6/7) (ภาพที่ 2) 5 ชุด
2. ชุดตรวจ พร้อม periodontal explorer (EXD 11/12) (ภาพที่ 3) 5 ชุด
3. เครื่องมือตรวจปริทันต์ (periodontal probe) (ภาพที่ 4) 5 ชุด
4. สสาร SofScale™ (ภาพที่ 5) 20 หลอด
5. นาฬิกาจับเวลา (ภาพที่ 6)

ตอนที่ 2

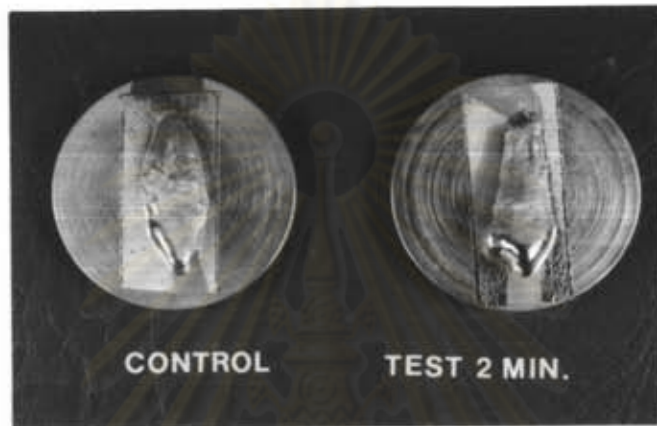
1. สสาร SofScale™ 5 หลอด
2. นาฬิกาจับเวลา
3. เครื่องชั่ง METTLER AE200 ของบริษัท Mettler instrument AG
ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ (ภาพที่ 7)
4. เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องทดลอง เช่น บีกเกอร์ ขวดวัดปริมาตร ปิเปต
5. เครื่อง เอ เอ-670 / จี ยู-5 ซิมิดซุ อะตอมมิก แอบซอร์พชัน เฟลม
อิมิชั่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (AA - 670/GU-5 Shimadzu Atomic
Absorption Flame Emission Spectrophotometer) ของบริษัท
Shimadzu Corporation ประเทศญี่ปุ่น (ภาพที่ 8)
6. ตู้อบ
7. ที่ลดความชื้น

8. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างได้แก่ แคลเซียมคาร์บอเนต
กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc.HCl) แลนทานัมคลอไรด์
($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
9. น้ำกลั่น

ตอนที่ 3

1. สาร SofScale TM 2 หลอด
2. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (JSM- T 20) ของบริษัท
JEOL ประเทศญี่ปุ่น (ภาพที่ 9)
3. เครื่องเคลือบทอง (Sputter coater) SCD 040
ของบริษัท Balzers Union ประเทศเยอรมันนี (ภาพที่ 10)
4. แป้นทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่าง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



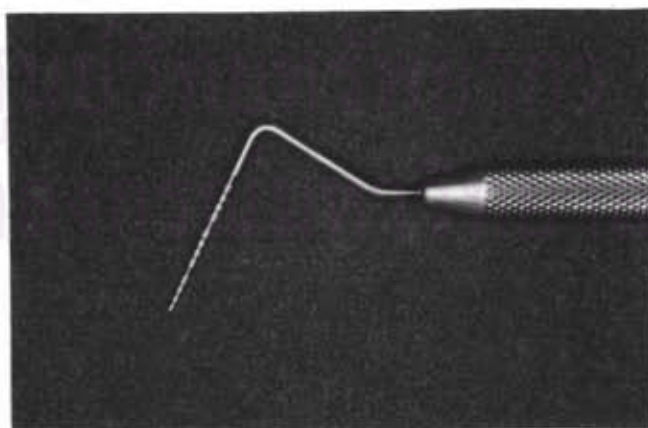
ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างฟันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองติดบนแผ่นทองเหลือง และผ่านการเคลือบทองแล้ว



ภาพที่ 2 แสดงเครื่องมือชุดชุดหินน้ำลาย (Gracey curette no. 3/4, 7/8, 11/12, 13/14 , Sickle no. 6/7)



ภาพที่ 3 แสดงเครื่องมือตรวจปริทันต์ (EXD 11/12)



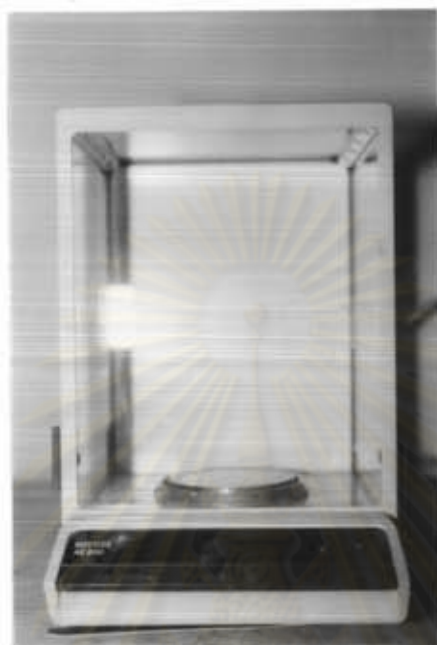
ภาพที่ 4 แสดงเครื่องมือตรวจปริทันต์ (periodontal probe)



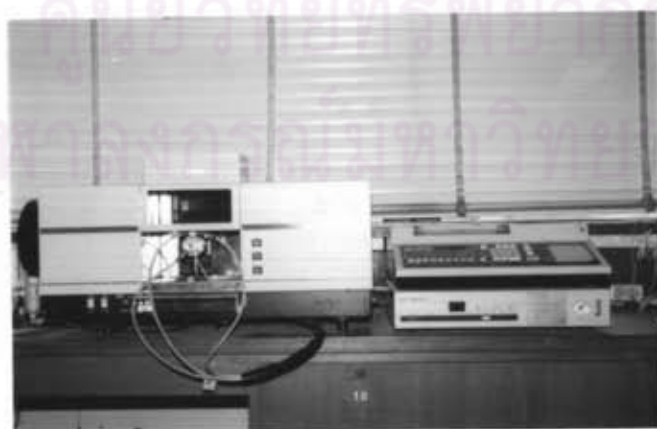
ภาพที่ 5 แสดงสาร SofScale™



ภาพที่ 6 แสดงนาฬิกาจับเวลา



ภาพที่ 7 แสดงเครื่องชั่ง เมทเทเลอร์ เออี 200



ภาพที่ 8 แสดงเครื่อง เอ เอ-670 / จี ยู 5 ซิมิคซู อะตอมมิก แอบซอร์พชั่น
เฟลม อิมิสชั่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์



ภาพที่ 9 แสดงกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เจเอสเอ็ม-ที 20



ภาพที่ 10 แสดงเครื่องเค้นบดทอง เอสวีดี 040