ว ทันต จุฬาฯ 2552;32:203-12
CU Dent J. 2009;32:203-12

บทวิทยาการ
Original Article

ผลของเคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตเพสต์ต่อความแข็งของเคลือบฟันที่สัมผัสกับน้ำคลอรีน: การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ธาริณี พนมเริงศักดิ์ ท.บ.[1]
สมหมาย ชอบอิสระ วท.บ., ท.บ., ป.บัณฑิต (ทันตกรรมสำหรับเด็ก), อ.ท. (ทันตกรรมสำหรับเด็ก)[2]
สุชิต พูลทอง ท.บ., ป.บัณฑิต (ทันตกรรมหัตถการ), M.Sc., Ph.D.[3]

[1]นิสิตบัณฑิตศึกษา ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[2]ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[3]ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของเคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตเพสต์ที่มีต่อความแข็งของเคลือบฟันที่ไม่ผ่านการขัดที่สัมผัสน้ำคลอรีนในห้องปฏิบัติการ

วัสดุและวิธีการ เตรียมฟันกรามน้อยที่ถอนเพื่อวัตถุประสงค์ในการจัดฟันทั้งหมด 12 ซี่ สำหรับทดสอบความแข็งด้วยเครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโน สุ่มตัวอย่างแบบอิสระเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มทดลองนำไปทาเคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตเพสต์เป็นเวลา 3 นาที และแช่ในน้ำลายเทียมเป็นเวลา 30 นาที ส่วนกลุ่มควบคุมไม่ได้ทาสารใด ๆ ทดสอบความแข็งเคลือบฟันก่อนและหลังจากนำทั้งสองกลุ่มไปแช่ในน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และแช่ในน้ำลายเทียมอีก 8 ชั่วโมง นำค่าความแข็งหน่วยเป็นจิกะปาสคาล มาวิเคราะห์ด้วยสถิติวิลคอกซัน ไซน์ แรงค์ เทสต์ (p = 0.05)

ผลการศึกษา ค่าความแข็งของเคลือบฟันก่อนและหลังสัมผัสน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และแช่ในน้ำลายเทียมอีก 8 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในกลุ่มควบคุม (4.34 ± 0.92 และ 4.38 ± 0.72 จิกะปาสคาล) และกลุ่มทดลอง (4.91 ± 0.32 และ 5.05 ± 1.29 จิกะปาสคาล)

สรุป เคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตเพสต์ไม่มีผลต่อความแข็งของเคลือบฟันที่สัมผัสน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และแช่ในน้ำลายเทียม 8 ชั่วโมง ในห้องปฏิบัติการ

(ว ทันต จุฬาฯ 2552;32:203-12)

คำสำคัญ: *การทดสอบความแข็งในระดับนาโน; ความแข็ง; เคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต; เคลือบฟัน; น้ำคลอรีน*

บทนำ

มีรายงานการเกิดฟันสึกกร่อนครั้งแรกในกลุ่มนักกีฬาว่ายน้ำที่ประเทศสหรัฐอเมริกาโดย Centerwall และคณะ พบฟันสึกกร่อนอย่างรุนแรงในนักกีฬาว่ายน้ำที่ฝึกซ้อมในสระว่ายน้ำที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 2.7[1] รายงานผู้ป่วยของ Geurtsen พบว่าสระว่ายน้ำที่ใช้ก๊าซคลอรีนในการฆ่าเชื้อมีผลให้นักกีฬาว่ายน้ำมีฟันสึกกร่อนอย่างรุนแรงหลังจากฝึกซ้อมว่ายน้ำเพียง 27 วัน[2] สอดคล้องกับการศึกษาของ Gabai และคณะ ที่ทดลองแช่ฟันมนุษย์ในน้ำจากสระว่ายน้ำที่มีค่าความเป็นกรดด่างตั้งแต่ 3.6-7.3 เป็นเวลา 60 นาที และ 120 นาที พบว่ามีการสลายตัวของแคลเซียมจากผิวเคลือบฟันและเมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราดพบการสึกกร่อนของผิวเคลือบฟันมีลักษณะเป็นรูปรังผึ้ง (honey comb appearance)[3]

ในประเทศไทยเริ่มมีรายงานการเกิดฟันสึกกร่อนจากการว่ายน้ำครั้งแรกที่จังหวัดพิษณุโลกโดยวรพันธ์ ลิ้มสินธโรภาส และคณะ พบว่านักกีฬาว่ายน้ำมีฟันสึกกร่อนมากบริเวณฟันหน้าบน และมีอาการเสียวฟัน ค่าเฉลี่ยฟันสึกกร่อนเท่ากับ 16.3 ซี่ต่อคน คิดเป็นร้อยละ 62 ของจำนวนซี่ฟัน[4]

ในพื้นที่กรุงเทพมหานครมีรายงานฟันสึกกร่อนรุนแรงจากการว่ายน้ำเป็นประจำวันละ 35 นาที เป็นระยะเวลา 6 ปี ในสระว่ายน้ำแห่งหนึ่ง[5] การศึกษาความชุกของการเกิดฟันสึกกร่อนโดยบุญนิตย์ ทวีบูรณ์ และคณะ พบว่านักกีฬาว่ายน้ำมีฟันสึกกร่อนมากถึงร้อยละ 90.19 ซึ่งการสำรวจนี้มีการวัดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำในสระว่ายน้ำด้วย พบว่าค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.0-7.9 ในบรรดาสระว่ายน้ำที่สำรวจจำนวน 8 แห่ง พบว่ามี 4 แห่ง ที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 5.5[6] ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดด่างวิกฤติ (critical pH) ที่จะทำให้เกิดการละลายของแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของฟันได้ การศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของจันทนา อึ้งชูศักดิ์ และคณะ ที่ได้สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำจากสระว่ายน้ำ 6 แห่งในกรุงเทพมหานคร พบว่าค่าความเป็นกรดด่างของน้ำในสระอยู่ระหว่าง 3.6-8.0 ซึ่งต่ำกว่าระเบียบข้อบังคับในการควบคุมคุณภาพน้ำในสระว่ายน้ำตามข้อบังคับของกรุงเทพมหานครว่าด้วยหลักเกณฑ์การประกอบการค้าซึ่งเป็นที่รังเกียจหรืออาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพประเภทการจัดตั้งสระว่ายน้ำ พ.ศ. 2530 ที่กำหนดให้ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.2-8.4[7]

จะเห็นได้ว่าสระว่ายน้ำหลายแห่งมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ในข้อบังคับดังกล่าว ทำให้ผู้ว่ายน้ำในสระเหล่านั้นมีความเสี่ยงต่อฟันสึกกร่อน ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้เห็นความสำคัญศึกษาวิธีการป้องกันฟันสึกกร่อนที่เกิดจากการว่ายน้ำ เช่น การศึกษาของ เข็มพร กิจสหวงศ์ ที่ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ สรุปได้ว่าเฝือกฟัน (dental splint) ช่วยป้องกันฟันสึกกร่อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ[8] และมีการศึกษาในสถานการณ์จริงของจันทนา อึ้งชูศักดิ์ และคณะ ที่แสดงให้เห็นว่าการใส่เฝือกฟันเฉพาะบุคคลในขณะว่ายน้ำช่วยลดอาการเสียวฟันในนักกีฬาว่ายน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นักกีฬาว่ายน้ำส่วนมากยอมรับและมีทัศนคติที่ดีต่ออุปกรณ์ดังกล่าว แต่ยังมีนักกีฬาหลายรายที่มีทัศนคติว่าเฝือกฟันอาจทำให้ว่ายน้ำได้ช้าลงจึงไม่ใส่ขณะลงแข่งขัน แต่จะใส่ตลอดเวลาที่มีการฝึกซ้อม[9] และการศึกษาของ ภาณุเพ็ญ สิทธิสมวงศ์และคณะ พบว่าการใส่เฝือกฟันร่วมกับเจลฟลูออไรด์ให้ผลดีที่สุดในการรักษาความแข็งผิวของเคลือบฟันและลักษณะของเคลือบฟันเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เฝือกฟันหรือการใส่เฝือกฟันร่วมกับสารอื่น ๆ[10] ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาหลายเรื่องที่พบว่า การใช้ฟลูออไรด์ความเข้มข้นสูงช่วยป้องกันฟันสึกกร่อนได้ในห้องปฏิบัติการ[11-14] แต่แคลเซียมฟลูออไรด์ (CaF_2) ที่เกิดขึ้นจะช่วยป้องกันฟันสึกกร่อนได้เพียงชั่วคราว (partial protection) เนื่องจากชั้นของแคลเซียมฟลูออไรด์ที่สะสมบริเวณผิวเคลือบฟันจะคงตัวอยู่ได้ในสภาวะที่เป็นกลาง ทำให้มีการสลายตัวได้เมื่อสัมผัสกรดจากเครื่องดื่มที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 3[15] และการใช้ฟลูออไรด์ความเข้มข้นสูงยังมีข้อจำกัด คือ ผู้ป่วยไม่สามารถทำได้เองที่บ้านและต้องระมัดระวังการกลืนฟลูออไรด์จนก่อให้เกิดพิษแบบเฉียบพลัน[16]

นอกจากฟลูออไรด์แล้วยังมีสารอื่นที่สามารถลดฟันสึกกร่อนด้วยการส่งเสริมการคืนกลับแร่ธาตุ (remineralization) และลดการสูญเสียแร่ธาตุของผิวฟัน (demineralization) คือ เคซีนฟอสโฟเปปไทด์-อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (ซีพีพี-เอซีพี) ซึ่งเป็นสารที่กำลังได้รับความสนใจในปัจจุบัน โครงสร้างของสารดังกล่าวประกอบด้วย 2 ส่วน คือ เคซีนฟอสโฟเปปไทด์ (ซีพีพี) เป็นโปรตีนที่ช่วยให้แคลเซียมและฟอสเฟตมีเสถียรภาพ และ อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (เอซีพี) เป็นสารประกอบของแคลเซียมและฟอสเฟตที่สามารถเปลี่ยนเป็นอะปาไทต์ (apatite) ได้อย่างรวดเร็ว[17] การศึกษาเกี่ยวกับผลของซีพีพี-เอซีพีที่มีต่อฟันสึกกร่อน ได้แก่ การศึกษาของหทัยชนก สุขเกษม และคณะ[18] และ Tantbirojn และ

คณะ[19] พบว่าซีพีพี-เอซีพีเพสต์ช่วยให้ฟันที่สึกกร่อนไปแล้วจากเครื่องดื่มโคล่ามีความแข็งเพิ่มขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการนำซีพีพี-เอซีพีมาใช้ในรูปแบบของครีมทาเฉพาะที่จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันฟันสึกกร่อนจากการว่ายน้ำ

การศึกษาความแข็งของเคลือบฟันในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ใช้เคลือบฟันที่ขัดผิวหน้าให้เรียบเป็นระนาบ เพื่อให้ได้พื้นผิวทดสอบที่เรียบสำหรับประเมินผลการสึกกร่อนด้วยเครื่องมือต่าง ๆ แต่การขัดผิวของเคลือบฟันซึ่งเป็นพื้นที่โค้งให้เป็นระนาบทำให้แต่ละบริเวณของเคลือบฟันถูกขัดออกเป็นระยะทางที่ห่างจากผิวนอกไม่เท่ากัน ในขณะที่เคลือบฟันที่ผิวนอกจะมีความแข็งมากที่สุดและความแข็งจะค่อย ๆ ลดลงเมื่อเข้าใกล้รอยต่อเคลือบฟันและเนื้อฟัน (dentino-enamel junction)[20,21] ซึ่งจะส่งผลให้ค่าความแข็งของแต่ละบริเวณแตกต่างกันได้ในการศึกษาครั้งนี้จึงออกแบบโดยทดสอบความแข็งของเคลือบฟันธรรมชาติที่ไม่ผ่านการขัดเพื่อควบคุมให้ค่าความแข็งของเคลือบฟันในแต่ละซี่ใกล้เคียงกัน อีกทั้งการใช้ผิวเคลือบฟันที่ไม่ผ่านการขัดเลยจะทำให้การศึกษานี้ใกล้เคียงกับสภาวะที่แท้จริงทางคลินิกมากกว่า

การทดสอบความแข็งเคลือบฟันในงานวิจัยส่วนมากใช้เครื่องทดสอบความแข็งแบบไมโคร (microhardness tests) ซึ่งมีข้อด้อยเนื่องจากเป็นการวัดความต้านทานการเปลี่ยนแปลงของวัสดุอย่างถาวร (permanent deformation) และประเมินขนาดของรอยกดด้วยสายตา ทำให้มีโอกาสเกิดข้อผิดพลาดได้ นักวิจัยจึงได้มีการพัฒนาเครื่องมือที่ใช้ทดสอบความแข็งในระดับนาโนขึ้นมา เครื่องมือนี้สามารถวัดความต้านทานการเปลี่ยนแปลงของวัสดุอย่างถาวรและการเปลี่ยนแปลงแบบยืดหยุ่น (elastic deformation) และการวัดผลไม่ได้ประเมินจากการวัดขนาดของรอยกดโดยใช้สายตาเหมือนการทดสอบความแข็งแบบไมโคร แต่ประมวลผลผ่านเครื่องเดปเซนซิ่งอินเดนเตชั่น (depth-sensing indentation instrument) ทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น[22]

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของซีพีพี-เอซีพีเพสต์ที่มีต่อความแข็งของเคลือบฟันที่สัมผัสน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดด่างที่มีความถี่สูงสุดจากผลการสำรวจน้ำในสระว่ายน้ำในเขตกรุงเทพมหานคร[7] โดยใช้เคลือบฟันที่ไม่ได้ผ่านการขัดผิวหน้าและทดสอบความแข็งด้วยเครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโน (nano-mechanical instrument; UMIS II CRISO, Australia)

วัสดุและวิธีการ

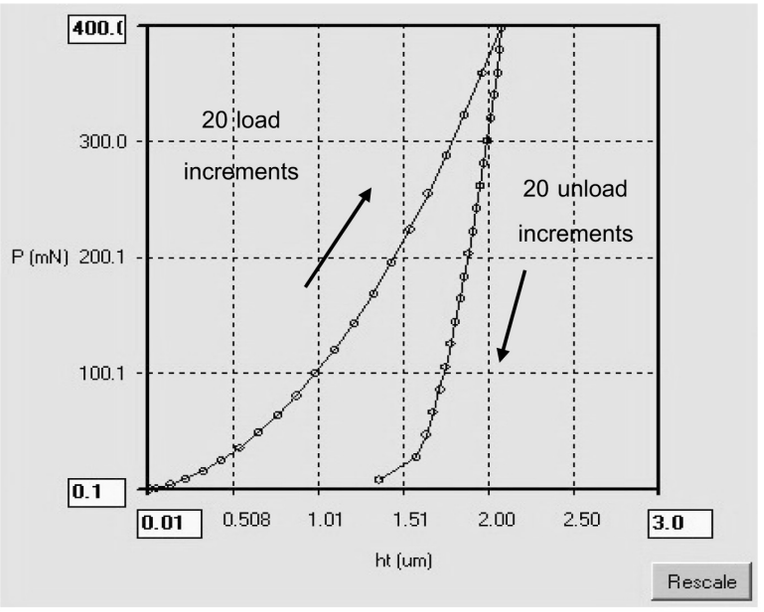
การเตรียมชิ้นตัวอย่างเพื่อทดสอบความแข็ง

ชิ้นตัวอย่างเตรียมจากฟันกรามน้อยที่มีสภาพสมบูรณ์ 12 ซี่ ซึ่งเป็นฟันที่ไม่เคยผ่านการบูรณะมาก่อน นำมาตัดส่วนรากออกและแบ่งฟันอีกครั้งในแนวใกล้กลาง-ไกลกลาง (mesio-distal) เลือกเฉพาะฟันด้านใกล้แก้ม (buccal) ไปฝังด้วยเรซินหล่อใสในแบบหล่อทรงกลมโดยฝังให้ด้านใกล้แก้มโผล่เหนือเรซินประมาณ 1 มิลลิเมตร สุ่มตัวอย่างเพื่อแบ่งฟันเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองกลุ่มละ 6 ชิ้น นำชิ้นตัวอย่างมายึดติดกับฐานโลหะที่ใช้กับเครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโนด้วยขี้ผึ้ง และนำเข้าเครื่องมือกดชิ้นงานเพื่อทำให้ชิ้นงานขนาน (paralleling machine) เพื่อให้บริเวณส่วนกลางของฟัน (middle third) ด้านแก้มซึ่งเป็นบริเวณที่จะใช้ทดสอบขนานกับฐานโลหะ จากนั้นใช้วัสดุป้ายชี้บอกแรงกด (fit checker, GC Corp., Japan) วางบนผิวของเคลือบฟัน ปรับระดับผิวของเคลือบฟันบริเวณที่จะทดสอบให้ขนานกับแนวระนาบของเครื่องมือ ตำแหน่งที่วัสดุป้ายชี้บอกแรงกดขาดและมีพื้นที่ที่จะทดสอบอย่างน้อย 1 ตารางมิลลิเมตร จะเป็นบริเวณเคลือบฟันที่ใช้ทดสอบความแข็ง ตรวจผิวของเคลือบฟันว่าได้ระนาบหรือไม่ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 200 เท่า โดยเมื่อเลื่อนชิ้นงานผ่านกล้องจุลทรรศน์แล้วสามารถปรับความคมชัดของภาพบริเวณดังกล่าวได้มิฉะนั้นจะแสดงว่าพื้นที่นั้นไม่ได้ระนาบและต้องคัดชิ้นตัวอย่างนั้นออกจากการทดลอง

วิธีการทดสอบความแข็งในระดับนาโน

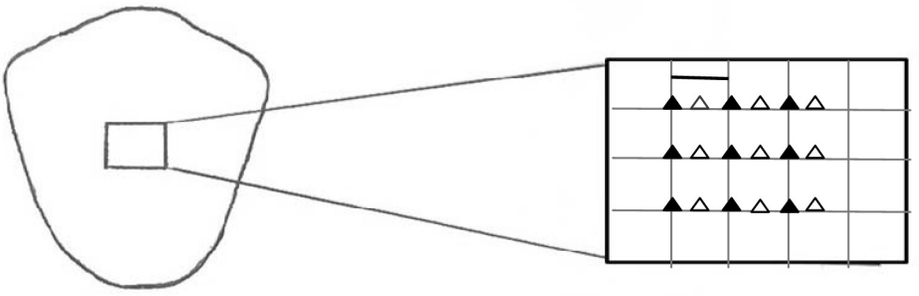
การทดสอบความแข็งกระทำโดยใช้เครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโน การศึกษานี้ควบคุมอุณหภูมิในตู้ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 23 ± 1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ± 1 ใช้หัวกดเบอร์โกวิช (Berkovich) ในการทดสอบ[23,24] เริ่มเคลื่อนหัวกดลงสัมผัสบนผิวของเคลือบฟันที่แรงสัมผัส (contact force) 0.1 มิลลินิวตัน เมื่อหัวกดสัมผัสกับผิวของเคลือบฟันแล้วจะให้แรงตั้งแต่ 0 ถึง 400 มิลลินิวตัน โดยแบ่งเป็นช่วงของการกด 20 ช่วง (load increment) เมื่อแรงกดสูงสุดที่ 400 มิลลินิวตัน แล้วจะให้แรงคงที่เป็นเวลา 0.1 วินาที ก่อนที่จะลดแรงลงเป็นช่วง ๆ อีก 20 ช่วง (unload increment) จนกระทั่งแรงมีค่าเป็น 0 มิลลินิวตัน และให้แรงคงที่ที่ 0 มิลลินิวตัน เป็นเวลา 0.1 วินาที การกดและลดแรงดังกล่าวแสดงได้ด้วยกราฟโหลด-ดีสเพลสเมนท์ (load-displacement graph) ดังรูปที่ 1

รอยกดบนเคลือบฟันจากการทดสอบความแข็งด้วยเครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโนทั้งก่อนและหลังการแช่ฟันในน้ำคลอรีนต้องเป็นบริเวณที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด ดังรูปที่ 2 และระหว่างการทดสอบความแข็งของชิ้นตัวอย่างแต่ละชิ้นใช้เวลาประมาณ 45 นาที ดังนั้นจึงต้องแช่ชิ้นตัวอย่างชิ้นอื่นในน้ำปราศจากอิออนเพื่อควบคุมความชื้น[25] ข้อมูลจากเครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโนของแต่ละชิ้นตัวอย่างจะได้เป็นค่าความแข็ง มีหน่วยเป็น จิกะปาสคาล และค่ามอดุลัสของสภาพยืดหยุ่น (modulus of elasticity) มีหน่วยเป็น จิกะปาสคาล



รูปที่ 1 กราฟโหลด-ดีสเพลสเมนท์ แสดงแรงที่กดลงบนเคลือบฟันและความลึกของรอยกด

Fig. 1 Load-displacement graph showed load and penetration depth.



รูปที่ 2 แสดงตำแหน่งรอยกดบนเคลือบฟันก่อนและหลังแช่น้ำคลอรีน สามเหลี่ยมสีดำ แสดงรอยกดก่อนแช่น้ำคลอรีน กำหนดให้มี 9 รอยกด (3 x 3) และแต่ละรอยกดมีระยะเว้น 50 ไมโครเมตร และสามเหลี่ยมสีขาว แสดงรอยกดหลังจากแช่ฟันในน้ำคลอรีน ซึ่งจะกำหนดให้รอยกดอยู่ห่างรอยกดเดิมเป็นระยะ 25 ไมโครเมตร ในแนวนอน

Fig. 2 Representative indentations on enamel before and after being exposed to chlorinated water. The indentations in enamel before being exposed in chlorinated water represent in black triangles and were 9 indentations in a 3-by-3 array with each indentation 50 μm apart. Subsequent indentations represented in white triangles and were made 25 μm from the previous series of indentations in x axis.

ขั้นตอนการทาซีพีพี-เอซีพีเพสต์

เคลือบฟันของชิ้นตัวอย่างในกลุ่มทดลองได้รับการทาซีพีพี-เอซีพีเพสต์ (Toothmousse, GC Corp., Japan) ปริมาณ 0.01 กรัม จนหมดบริเวณที่กำหนด และทิ้งไว้เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ส่วนกลุ่มควบคุมจะไม่ได้รับการทาสารใด ๆ

ขั้นตอนการทำให้เคลือบฟันสึกกร่อนด้วยน้ำคลอรีน

นำชิ้นตัวอย่างทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองไปแช่ในน้ำประปาผสมผงคลอรีนร้อยละ 90 ที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดด่างที่มีความถี่สูงสุดจากผลการสำรวจน้ำในสระว่ายน้ำในเขตกรุงเทพมหานคร[7] เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้ฟันได้สัมผัสกับน้ำคลอรีนใกล้เคียงกับการว่ายน้ำในแต่ละวันของนักกีฬาว่ายน้ำ[4,7] หลังจากนั้นนำชิ้นตัวอย่างไปแช่ในน้ำลายเทียม (ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความแข็งและค่าเฉลี่ยมอดุลัสของสภาพยืดหยุ่นในชิ้นตัวอย่างเดียวกันก่อนและหลังแช่น้ำคลอรีนด้วยสถิติวิลคอกสัน ไซน์แรงค์ เทสท์ (Wilcoxon signed-rank test) และความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมด้วยสถิติแมนวิทนีย์ ยู เทสต์ (Mann Whitney U test)

ผลการศึกษา

ค่าเฉลี่ยความแข็งของเคลือบฟันและค่าเฉลี่ยมอดุลัสของสภาพยืดหยุ่นของเคลือบฟัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในชิ้นตัวอย่างเดียวกันและระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองก่อนและหลังแช่ในน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 ยกเว้นค่าเฉลี่ยมอดุลัสของสภาพยืดหยุ่นของเคลือบฟันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองหลังแช่น้ำคลอรีนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.02) ดังแสดงในตารางที่ 1

วิจารณ์

ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยความแข็งของเคลือบฟันในกลุ่มควบคุมก่อนและหลังแช่น้ำคลอรีนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ มีประเด็นที่น่าสนใจ 3 ประเด็น คือ ประเด็นแรกการศึกษาครั้งนี้ศึกษาโดยใช้เคลือบฟันที่ไม่

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของความแข็งและมอดุลัสของสภาพยืดหยุ่นของเคลือบฟันก่อนและหลังแช่ในน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3

Table 1 Mean enamel hardness and modulus of elasticity before and after being exposed to chlorinated water at pH 5.3

	Hardness (GPa)			**Modulus of elasticity (GPa)**		
Group	**Before**	**After**	***p*-value**	**Before**	**After**	***p*-value**
Control	4.34 ± 0.92	4.38 ± 0.72	0.6	120.27 ± 7.88	111.37 ± 5.097	0.075
Experiment	4.91 ± 0.32	5.05 ± 0.29	0.34	117.60 ± 5.59	118.66 ± 3.84	0.753
p-value	0.09	0.24		0.81	0.026*	

Value are expressed as mean ± SD

Control = enamel slabs only

Experiment = enamel with CPP-ACP

*Statistic significance at $p < 0.05$

ได้ผ่านการขัดผิวหน้า ทำให้เคลือบฟันมีความแข็งและทนทานต่อการสึกกร่อนได้มากกว่า เพราะเป็นบริเวณที่มีฟลูออไรด์สูง (fluoride rich zone) มีความหนาแน่น (density) มีปริมาณสารอนินทรีย์ (inorganic substance) และแร่ธาตุมากกว่าเคลือบฟันด้านใน[20-21]

ประเด็นที่สองเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการศึกษาเกี่ยวกับการสึกกร่อนจากการว่ายน้ำ พบว่าทุกการศึกษาที่ทำในห้องปฏิบัติการ และรายงานถึงผลของน้ำคลอรีนที่ทำให้ฟันสึกกร่อนใช้น้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 3.0-3.6[3,8,10] ซึ่งมีความเป็นกรดมากกว่าการศึกษานี้ และการศึกษานี้ได้ใช้เครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโนโดยมุ่งหวังว่าจะสามารถตรวจพบการสึกกร่อนของฟันได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้น ดังเช่น การศึกษาของ Habelitz และคณะ ที่แช่ฟันในสารละลายที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.5 ก็สามารถทำให้เกิดการละลายของแร่ธาตุของเคลือบฟันได้เมื่อแช่ฟันนาน 24 ชั่วโมง[26] ดังนั้นผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าความแข็งเคลือบฟันไม่เปลี่ยนแปลงอาจเป็นผลเนื่องมาจากการแช่น้ำคลอรีนในระยะเวลาอันสั้น และในความเป็นจริงชีวิตประจำวันของประชาชนทั่วไปมีโอกาสที่ฟันจะได้สัมผัสกับน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างในช่วง 3.0-3.6 น้อยมาก ดังเช่น การสำรวจตัวอย่างน้ำจากสระว่ายน้ำสาธารณะในเขตกรุงเทพมหานครจำนวน 34 แห่ง มีสระว่ายน้ำ 9 แห่ง (คิดเป็นร้อยละ 26.48) ที่มีค่าความเป็นกรดด่างไม่เหมาะสม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.64[27] ซึ่งใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรดด่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษานำร่องโดยแช่ฟันในน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.6 พบว่าความแข็งของเคลือบฟันในกลุ่มควบคุมลดลงหลังแช่น้ำคลอรีนถึงร้อยละ 68 ของความแข็งเริ่มต้น ส่วนในกลุ่มทดลองที่มีการใช้ซีพีพี-เอซีพีเพสต์พบว่าความแข็งลดลงร้อยละ 31 แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ว่าการใช้ซีพีพี-เอซีพีเพสต์ช่วยป้องกันการสึกกร่อนได้มากกว่าไม่ใช้ แต่ตัวอย่างที่ใช้ศึกษามีจำนวนน้อยจนไม่สามารถสรุปผลได้อย่างชัดเจน

ประเด็นที่สามระยะเวลาที่ฟันสัมผัสกับน้ำคลอรีน ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เวลา 2 ชั่วโมง เพื่อจำลองการว่ายน้ำในแต่ละวันของนักกีฬาว่ายน้ำซึ่งว่ายโดยเฉลี่ยวันละ 2-4 ชั่วโมง[4,7] แต่การสึกกร่อนของฟันเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ต้องอาศัยระยะเวลา มีรายงานผู้ป่วยที่เป็นนักกีฬาว่ายน้ำพบว่าระยะเวลาที่น้อยที่สุดที่ทำให้ฟันสึกกร่อนรุนแรง คือ 27 วัน[2] ดังนั้นการออกแบบการศึกษาในอนาคตเพื่อให้ทราบว่าซีพีพี-เอซีพีเพสต์มีประสิทธิภาพในการป้องกันฟันสึกกร่อนจากการว่ายน้ำหรือไม่ จึงควรเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสน้ำคลอรีนที่จะทำให้เคลือบฟันสึกกร่อนได้ใกล้เคียงกับสภาวะที่แท้จริงของผู้ว่ายน้ำ

ส่วนค่ามอดุลัสของสภาพยืดหยุ่นมีความแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาค่อนข้างมาก ซึ่ง Devlin และคณะ ได้วิจารณ์ว่าค่ามอดุลัสของสภาพยืดหยุ่นของเคลือบฟันมีความแตกต่างสูงตั้งแต่ 47-120 จิกะปาสคาล เนื่องมาจากระดับการสะสมของแร่ธาตุที่มากน้อยแตกต่างกันในแต่ละบริเวณของผิวเคลือบฟัน มีผลต่อการเรียงตัวของอีนาเมลรอด (enamel rod) ทำให้ฟันมีคุณสมบัติเชิงกลต่างกัน[28] และการศึกษานี้ได้มีความพยายามลดความแตกต่างในฟันซี่เดียวกัน (intra-tooth variation) ด้วยการทดสอบความแข็งในแต่ละจุดห่างกันเพียง 50 ไมโครเมตร

การศึกษาผลของซีพีพี-เอซีพีเพสต์ส่วนใหญ่ศึกษาในลักษณะที่นำมาใช้เพื่อส่งเสริมการคืนกลับแร่ธาตุ หลังจากฟันสึกกร่อนไปแล้ว แต่การศึกษาในครั้งนี้แตกต่างจากการศึกษาอื่น ๆ ตรงที่เน้นในลักษณะการป้องกันการสึกกร่อน ผู้วิจัยจึงได้ออกแบบให้ทาซีพีพี-เอซีพีเพสต์ก่อนที่จะนำชิ้นตัวอย่างไปแช่ในน้ำคลอรีน และทาเป็นเวลา 3 นาที ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Rees และคณะ ที่ทาซีพีพี-เอซีพีเพสต์เป็นเวลา 15 นาที และพบว่าการใช้ซีพีพี-เอซีพีเพสต์ช่วยป้องกันการสึกกร่อนจากสารละลายกรดซิตริกได้[29]

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการแต่มีการจำลองสถานการณ์ให้ใกล้เคียงสภาวะที่แท้จริงทางคลินิกด้วยการแช่ฟันในน้ำลายเทียมเป็นเวลา 8 ชั่วโมง เพื่อส่งเสริมให้เกิดการคืนกลับแร่ธาตุเข้าสู่ฟัน แต่น้ำลายเทียมมีข้อแตกต่างจากน้ำลายในช่องปาก คือ น้ำลายเทียมไม่มีคุณสมบัติในการสร้างเยื่อผิว (pellicle) ปกคลุมฟัน และน้ำลายเทียมไม่มีโปรตีนต่าง ๆ ที่ช่วยในการปรับค่าความเป็นกรดด่างของน้ำลาย[18] และผลการศึกษาพบว่าความแข็งของเคลือบฟันหลังแช่ในน้ำลายเทียมไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการที่เคลือบฟันไม่มีการสูญเสียแร่ธาตุหลังแช่ในน้ำคลอรีน ดังนั้นจึงไม่เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุตามมา

ดังที่ทราบมาแล้วว่าฟันสึกกร่อนเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ มีลักษณะค่อยเป็นค่อยไป ต้องใช้ระยะเวลานานจึงจะเห็นการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก และการวัดฟันสึกกร่อนทางคลินิกอย่างแม่นยำทำได้ยาก ดังนั้นการวิจัยนี้จึงได้ใช้

เครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโน ซึ่งข้อดีของวิธีนี้ คือ ประเมินความลึกของรอยกดผ่านเครื่องเดปเซนซิ่งอินเดนเตชั่น ทั้งในขณะโหลดและอันโหลดทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น และได้มีรายงานการนำมาใช้มากขึ้นในปัจจุบัน[21-24,26,28] แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ เคลือบฟันจะต้องเรียบและขนาน ทำให้ต้องผ่านขั้นตอนการขัดผิวหน้าของเคลือบฟันธรรมชาติ แต่การศึกษานี้ไม่ได้ใช้ฟันที่ขัดผิวหน้าจึงต้องใช้วัสดุป้ายชี้บอกแรงกดร่วมกับเครื่องมือกดชิ้นงานเพื่อทำให้ชิ้นงานขนานในการหาพื้นที่สำหรับการทดสอบ และยังตรวจผิวเคลือบฟันซ้ำอีกครั้งด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 200 เท่า เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของพื้นที่ที่จะทดสอบความแข็งเคลือบฟัน นอกจากนี้หากทำการทดสอบความแข็งของเคลือบฟันที่ไม่ผ่านการขัดด้วยเครื่องทดสอบความแข็งแบบไมโครจะมีความยากลำบากในการอ่านค่าขนาดของรอยกดบนผิวฟันจากกล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นการใช้เครื่องทดสอบความแข็งในระดับนาโนที่วัดความลึกของรอยกดด้วยเครื่องเดปเซนซิ่งอินเดนเตชั่นจึงทำให้ได้ค่าของพื้นที่ที่เกิดขึ้นจริงและมีความเที่ยงตรงมากกว่าการใช้สายตาวัด อย่างไรก็ตามเครื่องมือชนิดนี้ค่อนข้างไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและการสั่นสะเทือน ซึ่งจะส่งผลต่อการทำงานของระบบเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นระดับนาโนเมตร ดังนั้นการควบคุมอุณหภูมิและการสั่นสะเทือนจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการทดสอบด้วยเครื่องมือประเภทนี้[22]

เนื่องจากการว่ายน้ำเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดฟันสึกกร่อน[1-7] และแนวทางในการป้องกันการเกิดฟันสึกกร่อนจากการว่ายน้ำ คือ การควบคุมคุณภาพน้ำให้มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานและต้องตรวจวัดทุกวัน นอกจากนี้ควรให้ความรู้แก่ผู้ดูแลสระว่ายน้ำ นักกีฬาว่ายน้ำ ผู้ว่ายน้ำทั่วไป และผู้ปกครองให้เข้าใจถึงผลเสียที่จะเกิดขึ้นจากการว่ายน้ำในสระที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่ามาตรฐานเพื่อให้ร่วมกันเฝ้าระวัง อย่างไรก็ตามผลการสำรวจยังพบว่ามีสระว่ายน้ำบางแห่งที่มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่ามาตรฐานดังได้กล่าวมาแล้ว ดังนั้นมาตรการป้องกันเฉพาะที่จึงมีความจำเป็นสำหรับนักกีฬาว่ายน้ำและผู้ว่ายน้ำ เช่น การใส่เฝือกฟันเพื่อป้องกันฟันสัมผัสกับน้ำคลอรีน และการใช้ฟลูออไรด์ความเข้มข้นสูง ส่วนการใช้ซีพีพี-เอซีพีเพสต์ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนว่ามีผลต่อความแข็งของเคลือบฟันที่สัมผัสน้ำคลอรีนที่ทำให้เกิดฟันสึกกร่อน จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต และการออกแบบการศึกษาควรคำนึงถึงระยะเวลาที่เหมาะสมที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความแข็งของเคลือบฟัน และการศึกษาในลักษณะที่นำซีพีพี-เอซีพีเพสต์มาใช้ในการส่งเสริมการคืนกลับแร่ธาตุเข้าสู่ฟันหลังจากฟันมีการสึกกร่อนแล้วน่าจะเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนกว่า

สรุป

ซีพีพี-เอซีพีเพสต์ไม่มีผลต่อความแข็งของเคลือบฟันที่สัมผัสน้ำคลอรีนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและแช่ในน้ำลายเทียม 8 ชั่วโมง ในห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ขอขอบพระคุณอาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ ที่กรุณาให้คำแนะนำด้านสถิติ ขอขอบคุณบุคลากรศูนย์วิจัยทันตวัสดุ และศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. Centerwall BS, Armstrong CW, Funkhouser LS, Elzay RP. Erosion of dental enamel among competitive swimmers at a gas-chlorinated swimming pool. Am J Epidemiol. 1986;123:641-7.
2. Geurtsen W. Rapid general dental erosion by gas-chlorinated swimming pool. review of the literature and case report. Am J Dent. 2000;13:291-3.
3. Gabai Y, Fattal B, Rahamin E, Gedalia I. Effect of pH levels in swimming pools on enamel of human teeth. Am J Dent. 1988;1:241-3.
4. Limsintaropas W, Leelasithorn S, Ungchusak C. Dental erosion among swimming athletes in Phitsanulok province. J Dent Assoc Thai. 1995; 45:98-104.
5. Piyasathit P, Kunavisarut C. Dental erosion by gas-chlorinated swimming pool water: a report case. Mahidol Dent J. 2004;24:193-200.
6. Thaweboon B, Kritpet T, Buajeeb W, Thaweboon S. Prevalence of enamel erosion in Thai swimmers

and the related factors. J Dent Assoc Thai. 1998;48:134-42.
7. Ungchusak C, Mongkolnchai-arunya S, Rattanarungsima K. Risk factors of dental erosion in swimmers. J Dent Assoc Thai. 1999;49:113-9.
8. Kitsahawong K, Rattanathongkam A, Lertsiri worakul J. Effect of mouthguard on surface hardness of dental enamel after exposing to chlorinated water. KKU Res J. 2003;3 Suppl:76-89.
9. Ungchusak C, Nuntajivakornchai J, Parkpien K, Ekkarntrong P. Protecive effects of closed-fitting mouthguard for protection of dental erosion among swimming athletes. J Dent Assoc Thai. 2004;54: 235-41.
10. Sitthisomwong P, Pongrojpao S, Tulapornchai C, Meanmonchai P, Nuwattana M, Tantangchareonchai W. The effect of closed fitting mouth guard with fluoride gel on surface hardness of enamel after soaking in chlorinated water. J Dent Assoc Thai. 2008;58:93-102.
11. Sorvari R, Meurman JH, Alkakuijala P, Frank RM. Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. Caries Res. 1994;28:227-32.
12. Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. Caries Res. 2005;39:371-9.
13. Ganss C, Klimek J, Schaffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. Caries Res. 2001;35:325-30.
14. Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. Caries Res. 2006;40:148-53.
15. Larsen MJ, Richards A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. Caries Res. 2002;36:75-80.
16. Hawkins R, Locker D, Noble J, Kay EJ. Prevention. part7: professionally applied topical fluorides for caries prevention. Br Dent J. 2003;195:313-7.
17. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. Spec Care Dentist. 1998;18:8-16.
18. Sukasame H, Panich M, Poolthong S. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate on hardness of enamel eroded by a cola drink. CU Dent J. 2006;29:183-94.
19. Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and CPP-ACP paste. J Dent. 2008;36:74-9.
20. Sturdevant JR, Lundeen TF, Sluder TB. Clinical significance of dental anatomy, histology, physiology and occlusion. In: Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ, editors. Sturdevant's the art and science of operative dentistry. Missouri: Mosby, 2006;15-62.
21. Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. Arch Oral Biol. 2002;47:281-91.
22. Willems G, Celis JP, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G. Hardness and Young's modulus determined by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. J Biomed Mater Res. 1993;27:747-55.
23. Mahoney E, Beattie J, Swain M, Kilpatrick N. Preliminary in vitro assessment of erosive potential using the ultra-micro-indentation system. Caries Res. 2003;37:218-24.
24. Pandejpong A, Poolthong S. Physical properties of whisker-reinforced pit and fissure sealant. CU Dent J. 2007;30:129-40.
25. Poolthong S. Determination of the mechanical properties of enamel, dentine and cementum by the ultra-micro-indentation system [dissertation]. Sydney: The University of Sydney; 1998.
26. Habelitz S, Marshall GW Jr, Balooch M, Marshall SJ. Nanoindentation and storage of teeth. J Biomech. 2002;35:995-8.

27. Manopatanakul S, Khovidhunkit SP, Chaikanjanakij W. The study of factors affecting pH of public swimming pools water in Bangkok. Mahidol Dent J. 2006;26:89-96.
28. Devlin H, Bassiouny MA, Boston D. Hardness of enamel exposed to Coca-Cola? and artificial saliva. J Oral Rehabil. 2006;33:26-30.
29. Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. J Dent. 2007;35:355-7.
30. Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. J Dent. 2004;32: 591-602.

Effect of casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate paste on hardness of enamel exposed to chlorinated water: an *in vitro* study

Tharinee Phanomroengsak D.D.S.[1]
Sommai Chobisara D.D.S., Grad. Dip. in Pediatric Dentistry, Thai Board of Pediatric Dentistry[2]
Suchit Poolthong D.D.S., Grad. Dip. in Operative Dentistry, M.Sc., Ph.D.[3]

[1]Graduate Student, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[2]Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University
[3]Department of Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University

Abstract

Objective The purpose of this study was to assess the effect of casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate paste on intact enamel exposed to chlorinated water.

Materials and methods Twelve human premolars extracted for orthodontic reason were prepared for hardness measurement using nanoindentation system. The specimens were randomly divided into two groups. The experimental group was applied with casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate paste on intact enamel surface for three minutes and immersed in artificial saliva for 30 minutes while the control group was left unapplied. Hardness in giga Pascal was measured before and after being exposed to chlorinated water (pH 5.3) for 2 hours and artificial saliva for 8 hours. The data were analyzed by Wilcoxon signed rank test ($p = 0.05$).

Results The results showed that the hardness of the intact enamel before and after exposure to chlorinated water (pH 5.3) for 2 hours and artificial saliva for 8 hours was insignificantly changed in both of the control group (4.34 ± 0.92 and 4.38 ± 0.72 GPa) and experimental group (4.91 ± 0.32 and 5.05 ± 1.29 GPa).

Conclusion We concluded that casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate paste did not have any effect on enamel hardness exposed to chlorinated water (pH 5.3) for 2 hours and artificial saliva for 8 hours *in vitro*.

(CU Dent J. 2009;32:203-12)

Key words: *casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate; chlorinated water; enamel; hardness; nanoindentation system*