

## 유산완충액을 이용한 인공치아우식의 형성에 미치는 산의 농도와 pH에 관한 연구

연세대학교 치과대학 보존학교실

박성호 · 이찬영 · 이정석

### Abstract

#### THE EFFECT OF ACID CONCENTRATION AND pH OF LACTATE BUFFER SOLUTION ON THE PROGRESS OF ARTIFICIAL CARIES LESION IN HUMAN TOOTH ENAMEL

Seong Ho Park, D. D. S., M. S. D., Chan Young Lee, D. D. S., M. S. D., D. D. Sc.  
Chung Suck, Lee, D. D. S., M. S. D., Ph. D.

*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University*

Dental caries is considered to be caused by demineralization by organic acid produced by microorganism. But the formation of subsurface lesion in initial caries make it difficult to explain by simple demineralization. This study is carried out on the basis of thermodynamic concept proposed by Margolis and Moreno. The purpose of this study is to evaluate the effects of acid concentration and pH of lactate buffer system on the artificial caries lesion progress. 160 teeth without any crack, defect or opaque enamel were used and coated with nail varnish except the window (2×3 mm). Under the constant degree of saturation(D. S.). The teeth were divided into 8 groups according to acid concentration(10mM, 25mM, 50mM, 100mM) and pH(4.3, 5.0, 6.0). Each group was immersed in buffer solution for 3, 6, 9, 18 days under controlled temperature(25°C)

After cutting through the window and grinding, the specimens, 100–150 um in thickness, were imbibed in water or air and examined using polarizing microscope.

The depth of the surface and subsurface surface lesion were measured.

1. In the constant pH and D.S. value, the subsurface lesion progresses more rapidly as the concentration of lactic acid increases. (0.01, 0.025, 0.05, 0.1)
2. In the constant acid concentration and DS value, the subsurface lesion progresses more slowly as the pH increases. (4.3, 5.0, 5.5, 6.0)
3. The width of surface lesion seems to be constant independent of pH and acid concentration.

Key words : Lactate buffer solution, Degree of saturation, demineralization,  
pH, lactic acid concentration.

## I. 서 론

치아탈회는 치태내의 세균에 의한 대사 작용으로 생성되는 산에 의하여 야기된다는 것은 널리 알려진 사실이다. 하지만 초기 치아 우식은 우식표면하층(subsurface lesion)의 형성이라는 단순한 탈회 작용으로 설명하기 어려운 특징을 가지고 있다<sup>40,41</sup>. 인공적인 치아우식을 일으키는데 처음 성공한 Von Bartheld<sup>39</sup>는 인공우식을 유발시키는데 acidified uncharged gel이 필요하다고 하였으나 Greneveld와 Arends<sup>20</sup>은 acid charged gel을 통해서 인공우식을 일으킬 수 있다고 주장하였다. 우식표면하층의 상부의 우식표면층(surface zone)의 형성에 대하여 Brudevold등<sup>42</sup>은 치아의 표면이 특수한 성질때문이라고 하였다. 즉 법랑질의 표면부위는 법랑질의 안쪽부위에 비하여 불소의 농도가 높으며, mineral과 아연의 함량이 더 높고, 탄소가 더 적어서 이 부위가 산의 침투에 대하여 법랑질의 안쪽 부위보다 저항력이 있다고 하였다. 한편 Christoferson과 Arends<sup>7</sup>, Gray와 Francis<sup>10</sup>, Featherstone등<sup>14-17</sup>은 구강내에 존재할 수 있는 방해요소(불소, 인, 유기물)가 우식 진행 과정에서 법랑질 표면으로 침투하여 산에 의한 탈회를 막고 침투한 산은 이 부분을 지나 이러한 방해요소가 작용하지 않는 부위에서 부터 산의 탈회를 일으켜서 결국 우식표면하층이 형성된다고 하였다.

한편 Dijk<sup>12</sup>과, Moreno와 Zahradnik<sup>34,35</sup>은 방해요소가 포함되어 있지 않은 완충용액에 포화도(Degree of saturation)만을 변화시켜 실험하였는데 완충액의 표면과 법랑질 표면에서 일어나는 열역학적인 면과 무기물의 탈회와 재침착이라는 과정중에서의 동역학적인 면을 기초로한 계산을 통하여, 건전해 보이는 법랑질 표면은 사실은 탈회 후 재석회화가 되었기 때문이며 어떠한 방해요소 없이도 우식표면하층이 관찰된다고 주장하였다. Sperber와 Bunocore<sup>41</sup>은 법랑질의 표면을 일정한 두께만큼 갈아 낸 후에도 우식표면하층이 관찰된다고 보고 하였다. Ten Cate<sup>44</sup>은 완충액의 pH를 주기적으로 변화시키는 pH cycling을 통하여 인공치아 우식을 유발시킬 수 있다고 발표 하였다. 초기 치아 우식의 진행에 영향을 미치는 요소에 관하여 Gray와 Francis<sup>10</sup>는 이온화되지 않은 산의 농도와 pH, 산의 해리 상수등이

영향을 준다고 하였으며, Featherstone등<sup>14-17</sup>은 이온화되지 않은 산의 농도가 가장 중요한 요소이며, 특히 pH가 높을 경우에 pKa수치가 높은 식초산 등이 중요한 역할을 한다고 보고 하였고 병소의 깊이는 시간의 제곱근에 비례한다고 주장하였다. 반면에 Christofferson과 Arends<sup>7</sup>는 steady state diffusion에 기초한 실험을 통하여 병소의 깊이는 시간의 제곱근에 비례한다고 하였다. Margolis와 Moreno<sup>25-32</sup>은 완충용액의 법랑질에 대한 Ca, P등의 포화도(Degree of saturation)에 의하여, 우식표면하층이 생성 여부가 결정된다고 하였으며, 시간이 길어짐에 따라 병소의 깊이가 깊어지는 것을 확인 하였다. 이상에서와 같이 초기 우식병소의 조직학적인 특징인 우식표면하층의 생성과 그 진행에 대하여 학자들간에 상이한 이론이 존재하고, 그 연구도 활발히 진행되고 있으나, 아직 국내에서도 이에 대한 연구가 미미한 실정이다. 이에 저자는 동역학적인 기전에 입각한 인공우식의 실험을 통하여 초기 우식의 생성기전을 확인하고, 산의 농도와 pH가 인공적인 치아우식의 진행에 미치는 영향에 대하여 알아보기 위하여 본 실험을 시행하였다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1) 실험재료

발치한 지 30일 이내의 160개의 치아를 대상으로 하였다.

발치한 치아는 0.5% 클로르포름 용액에 보관하였으며, 실험 과정을 통하여 유기물과의 접촉을 피하도록 수술용 장갑을 착용하였고, 치아에 부착되어 있는 물질을 우선 물리적으로 제거한 후, 불소가 포함되어 있지 않은 pumice로 잘 닦고 초음파 세척기에 넣어서 세정하고 증류수를 씻어 건조하였다. 백색 반점이나 법랑질의 결손이 없는 치아의 협면 또는 설면에 3×2mm의 공간을 부여하고 그 이외의 부위는 모두 내산성의 nail varnish로 세번 도포 하였다.

### 2) 완충용액의 조제

1.30% 유산용액(SIGMA Co., 분자량90.08, 밀도 1.080)으로부터 1M의 유산용액 1 liter를 조제하여, 그 농도를 확인하기 위하여 10배로 희석한 후, 그 용액을 10ml씩 3개의 비이커에 넣고 1.00N의 수산

화칼륨용액(SIGMA Co.)을 적정액으로 하고 페놀프탈레인을 지시약으로 하여 적정하여 그 농도를 0.93 M로 결정하고, 이를 유산용액의 stock solution으로 하였다.

2. 염화칼슘 분말(SIGMA Co., 분자량147.0)로부터 0.3M의 용액을 조제하고, COBAS-MIRA(ROCHE Co., Swiss)를 이용하여  $Ca^{2+}$ 을 정량분석하여 그 농도가 0.32M임을 결정한 후 이를 염화칼슘 용액의 stock solution으로 하였다.

3. 인산칼륨분말(SIGMA Co., 분자량136.1)로부터 0.9M의 인산칼륨용액을 조제하고, COBAS-MIRA(ROCHE Co., Swiss)를 이용하여, Fiske-Subbrow법으로  $PO_4^{3-}$ 를 정량분석하여 그 농도가 0.96 M임을 결정한 후 이를 인산칼륨용액의 stock solution으로 하였다.

4. 산의 농도(0.01, 0.025, 0.05, 0.1)와 pH(4.3, 5.0, 5.5, 6.0)에 따라 각각 4개의 군으로 나누고, 포화도를 우식병소를 가장 잘 형성하는 것으로 밝혀진 0.152로 유지시키기 위해, 이 때 필요한 Ca과 P의 농도를 Moreno등이 고안한 방법을 이용하여 계산하였다.

포화도는 thermodynamic solubility product constant에 대한 calcium phosphate의 ionic activity의 비로서 정의 하였다. 따라서 법랑질에 대한 포화도는  $[Ca]^{5}[OH][PO_4^3]/K_B$ 이고  $K_B$ 는 법랑질의 solubility product constant로서  $5.5 \times 10^{-55}$ 으로 하였다. (Moreno와 Zahradnik, 1974)

5. 4의 계산에 따라 각 군당 필요한 Ca, P, 유산의 양의 stock solution으로 부터 취하여 비이커에 넣고, 4차 증류수를 이용하여 약 300ml까지 채운후, 8N의 수산화칼륨용액(SIGMA Co.)을 넣어 원하는 pH에 도달하면, 다시 4차 증류수를 이용하여 1 liter가 되게 하였다. pH의 측정은 pH meter(Radiometer Co., Denmark)를 이용하였다.

6. 완성된 각군의 완충액으로 부터 30ml를 취하여 Cobas-Mira를 이용하여  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$ 의 양을 결정한다(Table 1, 2).

7. 각 군당 20개의 치아를 배정하였으며 이를 다시 3일, 6일, 9일, 18일의 4군으로 나누어 실험하였다.

3) 형성된 완충액을 이용한 인공적인 치아 우식의 형성 과정

Table 1. Composition of buffer solution according to the analysis of  $Ca^{2+}$  and  $PO_4^{3-}$  by Cobas Mira (Change by lactic acid concentration)

Group	1	2	3	4
pH	4.3	4.3	4.3	4.3
Lactic acid(mM)	10	25	50	100
$Ca^{2+}$ (mM)	9.1	13.1	13.1	15.9
$PO_4^{3-}$ (mM)	5.0	4.0	5.9	8.1
Sodium Azide(mM)	3.1	3.1	3.1	3.1
D. S.	0.151	0.151	0.152	0.152

Table 2. Composition of buffer solution according to the analysis of  $Ca^{2+}$  and  $PO_4^{3-}$  by Cobas Mira(change by pH)

Group	5	6	7	8
pH	4.3	5.0	5.5	6.0
Lactic acid(mM)	100	100	100	100
$Ca^{2+}$ (mM)	15.9	4.3	1.6	0.9
$PO_4^{3-}$ (mM)	8.1	1.8	0.7	0.3
Sodium Azide(mM)	3.1	3.1	3.1	3.1
D. S.	0.152	0.151	0.151	0.152

50cc플라스틱 통에 완충액을 채우고 치아를 실로 묶어 완충액의 중앙에 위치하도록 고정하고, 파라핀으로 밀봉한후 25°C 항온조에 3일, 6일, 18일간 유지시켰다.

#### 4) 박편제작

1. 날짜에 맞추어 치아를 플라스틱 통에서 꺼내어 증류수를 세척하고 건조시킨 다음, 높이 2Cm, 직경 1Cm의 tube에 치과용 아크릴레진을 이용하여 치근 부위만 매몰되게 고정하였다.

2. 이 표본을 Hard tissue microtome(Marumoto Co. Ltd, Japan)을 이용하여, 내산성 nail varnish가 칠하여지지 않은 2×3mm의 공간부위를 통과하며 치아의 장축에 평행하게 절단하여 300-400um정도의 절편을 3-4개 만든 다음 이를 800번 사포를 이용하여 100-150um의 두께로 연마하였다.

#### 5) 편광현미경 관찰

이렇게 제작된 표본을 건조한 상태에서 또 증류

스에 침윤시킨 상태에서, 25배, 100배의 편광현미경을 통하여 관찰하였다.

6) 우식표면층과 우식표면하층의 깊이측정

100배의 배율로 편광현미경으로 관찰하고 이를 현상하여, 임의의 5부위를 선택하여 표면으로 부터의 깊이를 측정하고 그 평균을 산출하였다.

III. 실험 성적

1. 편광 현미경 관찰

표본을 건조시켜서 관찰한 경우, 증류수에 침윤시켜서 관찰한 경우보다 양성복굴절로 나타나는 깊이가 훨씬 깊었으며, 우식표면층과 우식표면하층의 구별은 할 수 없었다(Fig. 4, 5). 증류수에 침적하여 관찰하였을 경우 우식표면하층은 노란색의 양성복굴절을 나타내며, 우식표면층은 음성복굴절을 나타내었다(Fig. 4, 6, 9). 초기의 우식표면하층이 관찰된 경우, 증류수에 침적하여 관찰하였을 때 Hunter-Schreger band를 따라 점점이 형성된 것과 같은 양상을 나타내었으나(Fig. 4), 표본을 건조시켜 관찰하면 이러한 현상이 관찰되지 않았다(Fig. 5). 증류수에 침적시켜 관찰하였을 경우 우식표면하층 부위의 Rezius선조가 뚜렷이 나타나는 것과 같은 양상을 나타내었다(Fig. 6).

병소의 진행이 활발한 3, 4, 5군의 18일 군에서는 우식표면층이 파괴된 양상이 관찰되었으며, 와동이 저부에서 다시 표면하병소의 생성이 시작되는 현상이 관찰되었으며(Fig. 7), 일부에서는 우식 표면하병소

내부에 또다른 우식 표면하 병소가 형성되는 것과 같은 양상이 나타났다(Fig. 8). 우식표면층은 pH의 변화나 유산 농도의 변화와 관계없이 대개 일정한 두께로 관찰되었으나 일부 두껍게 관찰되는 경우도 있었다(Fig. 9).

2. 우식표면층과 우식표면하 병소의 깊이 측정

완충액의 포화도와 pH를 일정하게 하고 유산의 농도를 변화시킨 1군에서 4군까지에서 농도가 높아질수록 병소의 진행이 빨라지는 것을 알수 있으며 농도가 10mM, 25mM인 군에 비하여 50mM, 100 mM인군이 뚜렷이 병소의 진행이 빠르게 나타났다. 병소의 진행은 3일에서 9일까지는 점점 속도가 느려지는 양상을 나타내지만 그 이후에는 다시 빨라졌다(Table 3, Fig. 1, 4, 6, 7, 8).

포화도와 산의 농도를 일정하게 하고 pH를 변화시킨 4군에서 6군까지의 변화에서 pH가 높아질 수록

Table 3. The effect of lactic acid concentrations of lactate buffer solutions on the progress of subsurface lesion in artificial caries (um)

conc. day	10mM	25mM	50mM	100mM
3	25	33	60	75
6	45	65	90	100
9	55	75	100	115
18	93	100	250	300

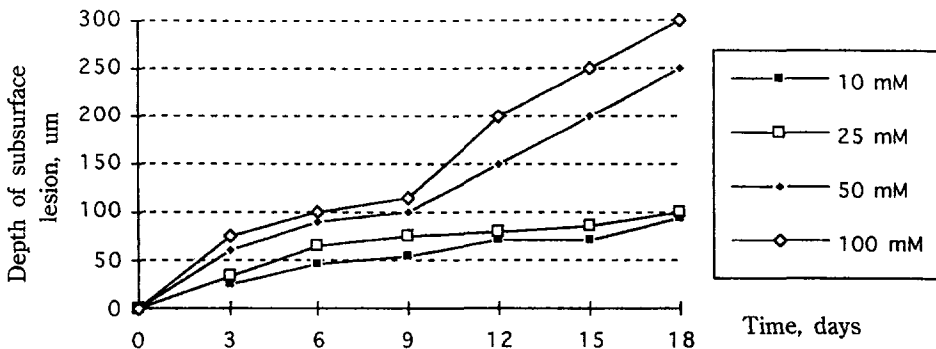


Fig. 1. The effect of lactic acid concentrations of lactate buffer solutions on the progress of subsurface lesion in artificial caries(um)

우식표면하층의 진행이 늦어지는 것을 알 수 있으며 특히 pH가 5.5이상인 경우에는 그 진행이 특히 늦어졌다(Table 4, Fig. 2, 10, 11).

우식표면층의 두께는 완충액의 농도나 pH와는 특별한 관계가 없이 10 $\mu$ m 정도로 일정하게 나타났다. 하지만 탈회와 진행이 활발한 3, 4, 5군의 18일군의 경우에 우식표면하층의 표면이 탈락되어서 나타나는 경우가 많았다(Fig. 7).

Table 4. The effect of pH of lactate buffer solutions on the progress of subsurface lesion in artificial caries (um)

day	pH 4.3	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
3	75	70	0	0
6	100	95	0	0
9	115	105	35	25
18	300	250	50	50

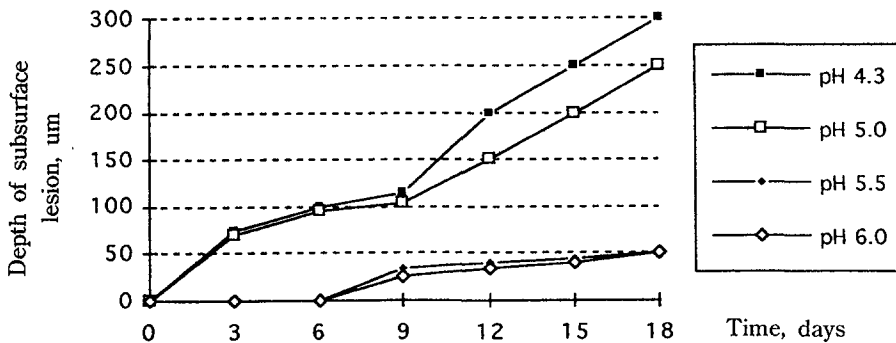


Fig. 2. The effect of pH lactate buffer solutions on the progress of subsurface lesion in artificial caries (um)

## II. 총괄 및 고찰

Silverstone<sup>37-40)</sup>은 초기의 우식병소를 관찰하여 특징적인 조직학적인 소견에 따라 4개의 층으로 세분하였는데, 물을 용매로하여 편광현미경을 통하여 관찰하였을 경우 음성복굴절의 형태로 나타나는 우식표면층, 양성복굴절의 형태로 나타나는 우식표면하층, quinolin을 용매로하여 편광현미경하에서 관찰하였을 경우 양성복굴절을 나타내는 압층과 영구치의 약 50% 정도에서 나타나는 투명층으로 분류하였다. 본 실험방법으로는 quinolin을 용매로 하였을 경우 관찰되는 압층과 투명층은 관찰되지 않는데, 이러한 현상이 생긴 이유는 Silverstone 등이 gel을 이용하여 수 개월에 걸쳐서 서서히 병소를 진행시킨데 반하여 본 실험은 gel을 이용하지 않고 빠른 탈회를 유도하는 방법을 사용하였기 때문으로 생각된다. Silverstone 등도 그의 실험을 통하여 병소의 진행이 빠르게 이루어진 경우 압층이나 투명층의

발생이 줄어든다고 하였다<sup>39,40)</sup>.

편광현미경을 이용한 우식표면하층의 관찰에서 Retzius선조가 더욱 뚜렷이 관찰되었는데 이는 그 부위의 탈회가 증가되었기 때문으로 사료되며, 병소의 초기형성과정에서 Hunter-Shreger band를 따라서 점점이 병소의 진행이 시작되는 것이 관찰되었다. 또한 Zahradnik와 Moreno<sup>47,48)</sup>, Zahradnik등<sup>49)</sup>은 isothermal water vapour sorption technique을 통하여 법랑질로의 산의 침투는 interprismatic space로 부터 시작하여, 약 72시간 정도 후에는 prism의 방향과 위치에 따라 먼저 영향을 받는 부위가 결정이 된다고 하였다. 법랑질의 표면은 물을 용매로 하여 편광현미경을 통하여 관찰한 경우는 뚜렷한 음성복굴절의 양상을 나타내지만, 절편을 건조하여 공기중에서 편광현미경을 통하여 관찰하였을 경우에는 표면부터 병소부와 같은 양성 복굴절의 양상을 나타냈으며 관찰되는 병소의 깊이도 물에서 관찰한 경우보다 훨씬 깊게 나타났다. 이로 미루어 우식표

면하 병소의 상층부를 이루는 법랑질의 표면은 공기의 분자들은 충분히 통과할 수 있지만 물분자는 통과할 수 없을 정도의 공간을 가진 것이며, Daring<sup>10)</sup>에 따르면 정상적인 법랑질은 1% 미만, 우식표면하층은 25% 이상, 우식표면층은 1-5%의 공간을 가졌을 것이라고 하였다.

자연적으로 발생하는 우식의 경우 우식표면하층의 외형이 불규칙적으로 나타나는데 비하여 본 실험에서 나타나는 우식표면하층의 양상은 표면을 따라 대체로 평행하게 나타나고 있는데 이러한 점은 인공적으로 우식을 유발하는 경우에 나타나는 한계라고 볼 수 있다<sup>26)</sup>.

Moreno와 Margolis<sup>27,32)</sup>의 공식에 의거하여 산의 농도는 일정하게 유지시켜면서 DS만을 변화시켜본 이<sup>51)</sup>등의 실험에서 산의 농도가 일정해도 DS가 변화함에 따라 외동의 형성, 탈회, 표면하병소의 형성, 무변화의 모든 현상이 나타나는 것으로 나타났고, 우식표면하층이 가장 잘 형성되는 포화도는 0.152임이 밝혀졌다.

이와 같은 현상은 HEC나, MHDP의 완충용액을 이용한 실험에서는 관찰할 수 없는 현상으로 법랑질 표면에서 산의 침투에 대한 방해물질의 존재없이도 우식표면하 병소가 형성되고 있음을 잘 증명하여 주고 있다고 생각되며 우식표면하 병소형성의 근본적인 원인을 열역학 및 동력학 및 동력학에 기초한 DS로 주장한 Dijk<sup>12)</sup>, Margolis<sup>26)</sup>의 이론은 타당하다고 생각한다.

Margolis와 Moreno<sup>27)</sup>는 solubility diagram을 통하여 법랑질과 DCPD의 용해를 나타내고 이들이 만나는 점을 singular point라고 하였으며, 이 상부에서 법랑질이 DCPD로 바뀌면서 법랑질의 표면에 침착한다고 하였다. LeGeros<sup>24)</sup>는 생리적으로 관찰되는 Ca-P의 형태로서 amorphous calcium phosphate, brushite(dicalciumphosphate dihydrate), monetite(dicalcium phosphate anhydrous).

octacalciumphosphate, withlockite(tricalcium phosphate), calcium hydroxyapatite. 등이 있다고 하였으며 서로 다른 형태의 변성도 가능하다고 하였다. Hydroxyapatite는 산성인 환경에서 dicalcium phosphate dihydrate나 amorphous calcium phosphate로 변성될 수 있으며 Mg 이온이 존재하여 tricalcium phosphate 등으로 변성할 수 있다고 하

였다. 또한 우식의 과정에서 치아 내에 F 이온이 존재하면 산성이나 중성에서 CaF<sub>2</sub> fluoroapatite 등을 형성하며, F이온이 존재하지 않을 때에는 octacalcium phosphate, dicalcium phosphate dihydrate, 탄소의 함량이 적은 apatite 등을 형성한다고 하였다. Van Dijk<sup>12)</sup> 등은 pH 5.0이상에서도 우식표면하 병소가 형성되는 것으로 보아, DCPD의 형성이 우식표면하 병소의 생성에 필수적인 요건이 아니라고 하였다. 이에 대하여 Margolis와 Moreno는 우식표면하병소의 형성이 pH보다는 탈회용액의 성분에 의하여 결정되는 것이라고 하였고 형성되는 DCPD의 양은 법랑질 우식표면층의 약 0.23% 정도이어서 이를 X선 회절법 등으로 확인하기는 매우 어려울 것이라고 하였다<sup>27,32)</sup>. 본 연구만으로 DCPD의 존재여부를 확인할 수는 없었다. 하지만 신체내에서 나타나는 Ca-P의 형태가 다양하고, 환경이 변화함에 따라 쉽게 변화할 가능성이 있는 것으로 보아서 DCPD 등의 형태로 존재할 가능성은 충분하다고 할 것이다.

시간에 따른 병소깊이의 변화를 알아 본 결과 다른 연구에서는 나타나지 않았던 흥미 있는 결과를 얻을 수 있었다. 즉 Featherstone<sup>17)</sup>은 MHDP system을 이용한 그의 연구에서 병소의 깊이가 시간의 제곱근에 비례한다고 하였고, Christoffersen과 Arends<sup>7)</sup>는 6% HEC system을 이용한 연구에서 시간의 제곱근에 비례한다고 하였다.

두 연구의 공통점은 시간이 지날수록 병소의 진행이 느려진다는 점과, 본 연구에서 보다는 병소의 진행이 느리게 진행되는 실험방법을 이용했다는 점이다. 본 연구에서는 병소의 깊이가 200 $\mu$ m 이하에서는 시간의 진행에 따른 병소의 진행정도가 느려지는 양상을 나타냈으나 그후에는 병소의 진행이 오히려 더욱 빠르게 진행되는 것을 알 수 있었다. 이러한 사실은 느리게 진행되는 실험방법을 사용했을 경우에는 얻을 수 없었던 결과라고 생각된다. 이러한 현상이 나타나는 이유에 대하여 Van Dijk<sup>12)</sup> 등의 이론을 응용하면 어느 정도까지 우식표면하 병소에서 용해작용이 진행되면, 확산이 더욱 활발히 진행되기 때문일 것으로 생각된다. 18일 균을 관찰하여 보면 많은 경우에 마치 와동이 형성된것과 같은 양상을 나타내고 있는데 이러한 현상을 보이는 이유로 2가지를 생각하여 볼 수 있다. 첫째 병소가 진행될수록 우식표면하 병소의 깊이가 점점 깊어지고 표

면으로 확산되는 거리도 점점 길어짐에 따라 표면에 침착하는 양도 점점 줄게되어 결국 와동이 형성되었을 경우와, 치아의 연마 과정에서 우식표면하 병소가 너무 진행되어 건전표층을 지지하기가 어려워 연마과정중에 소실 되었을 경우이다. 본 실험 만으로 이를 확실히 구별하기는 어려우며, 12-14일의 실험군을 추가하면 이에 대해 보다 확실히 알 수 있을 것이다.

본 실험에 사용된 동역학적인 기전에 입각한 치아우식의 유발 방법이 다른 방법에 비하여 확실히 빠른 진행을 보인다는 것이 본 실험과 이<sup>51)</sup>, 백<sup>52)</sup> 등의 실험을 통하여 밝혀졌다. 이러한 경우, 일반적으로 압축이나 투명층 등의 형성이 잘 일어나지 않아 치아우식을 조직학적으로 연구하는데는 적합지 않겠지만, 우식억제 물질, 재석회화, 불소등의 영향, 치과수복물의 우식유발에 관한 연구 등에는 단기간에 정확한 성과를 얻을 수 있다고 생각된다.

법랑질의 표면에서의 이온의 이동에 영향을 주는 요인으로 포화도 이외에도 법랑질 표면과 산용액 사이의 점도와 pellicle의 존재, 불소, 금속 원소 등을 들 수 있을 것이다. 본 실험에서는 다른 여러 실험 등에서 사용한 gel이나 탈회를 방해하는 것으로 알려진 물질들을 포함한 완충용액을 이용하지 않고, 완충용액 용액을 직접 사용하였으며, 실험 전 치아면의 세척에 특별한 주의를 요한 관계로 다른 치아우식 형성법을 이용한 방법보다 빠르게 우식이 진행되었다고 본다.

pH가 인공적인 치아우식의 형성에 미치는 영향은

크게 2가지로 생각하여 볼 수 있다. 그 첫째는 pH가 높아짐에 따라 이온화되지 않은 형태의 산이 적어짐으로서 법랑질의 표면부를 통과하는 산의 양이 줄어 들어, 병소의 진행이 느려지는 경우이고, 둘째는 용해와 확산이라는 균형 사이에 영향을 주기 때문일 것이다. 즉 낮은 pH에서는 법랑질의 용해작용이 활발하여져서 porosity도 늘어날 것이며, 산의 확산도 늘어나서 탈회를 더욱 촉진시킬 것이다. Table 5는 Henderson-Hasselbalch의 공식에 의하여 이온화되지 않은 상태의 산의 농도를 계산한 것이고 Fig. 3을 통하여 병소의 진행과의 관계를 비교하여 본 결과 이온화되지 않은 형태의 산의 농도와 병소의 진행이 대체적인 비례관계에 있다는 것을 알 수 있었다. 이러한 현상은 Gray와 Francis<sup>49)</sup>나 Featherstone<sup>14-17)</sup>, Theuns<sup>45)</sup> 등의 의견과 일치한다. Featherstone은 plaque fluid나 타액으로부터 기원한 유기질에 의하여 치아표면에 얇은 막이 형성되며 이러한 막은 생체내에 존재하는 인단백질성의 막과 같이 비극성의 물질만을 선택적으로 통과시킨다고 하였다 이렇게 하여 일단 법랑질의 표면을 통과한 유기산은 법랑질의 표면하부에서 극성을 띠는 이온으로 분해가 되어, 탈회작용에 관여하게 되는데 이때 중요한 것이 산의 ionic strength라고 하였다. 이번 실험에서 법랑질의 처리에 철저한 과정을 거쳤으므로 Featherstone 등이 주장한 법랑질 표면의 유기막과 같은 구조는 없었다고 보아도 좋을 것이다. 따라서 법랑질의 표면에 유기막이 형성되는 것이 우식 표면하 병소의 형성에 필수적이라고 한 Featherstone의

Table 5. Unionized lactic acid concentration caculated from Handerson-Hasselbalch Equation

Initial concentration of lactic acid (mM)	pH	pKa	Unionized lactic acid concentration(mM)
10	4.3	3.86	0.003
25	4.3	3.86	0.007
50	4.3	3.86	0.013
100	4.3	3.86	0.026
100	4.3	3.86	0.026
100	5.0	3.86	0.006
100	5.5	3.86	0.002
100	6.0	3.86	0.0007

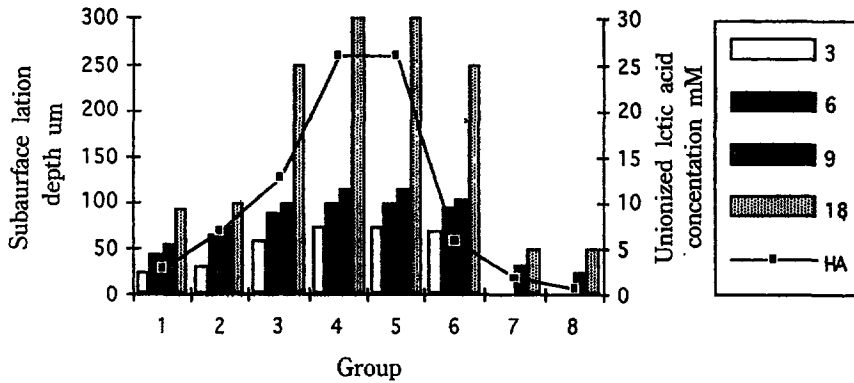


Fig. 3. The relationships between subsurface lesion depths and unionized lactic acid (HA) concentrations.

주장은 옳지 않다고 본다. 하지만 Moreno 등의 이론에 기초를 한 본 실험에서도 Featherstone 등이 주장한 이온화되지 않은 형태의 산이 중요한 역할을 하는 것은 실험을 통하여 어느정도 증명이 되고 있다고 할 수 있겠다. 한편 Theuns등<sup>45)</sup>은 이온화되지 않은 형태의 산의 농도가 우식의 진행에 중요한 역할을 하지만, 이를 일정하게 유지시키고 완충용액의 pH만을 독립적으로 변화시켜도 pH가 높은 경우에 우식의 진행속도가 감소한다고 보고하였다. 그러면 이온화되지 않은 형태의 산이 어떻게 법랑질의 표면을 통과하는가에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각되며 이러한 현상들을 같이 수용할 수 있는 새로운 초기 치아의 우식에 대한 기전의 실정이 필요하다고 하겠다.

I군에서 4군을 통하여 포화도와 pH가 일정해도 산의 농도가 증가할수록 우식표면하층의 진행이 활발해지는 것이 확인되었는데, 그 원인에 대하여 2가지를 생각하여 볼 수 있겠다. 먼저 산이 독립적으로 이온의 세기와 이온의 활동도에 영향을 주어 산의 농도가 증가함에 따라 이온의 세기와 이온의 활성도가 높아지며 이것이 법랑질의 탈회를 더욱 촉진시켰을 가능성을 생각해 볼 수 있겠다.

또 Featherstone 등의 의견을 근거로 생각해 보면, Table 5에서 나타내는 것 같이 유산의 농도가 높아짐에 따라 이온화되지 않은 형태의 산의 농도가 높아져서 법랑질의 표면을 통과하여 내부로 확산되는 산의 농도가 증가하여 우식병소의 진행을 간접적으로

촉진시켰다고 생각해 볼 수 있다.

pH 6.0에서도 우식표면하층은 형성되었으며, 이러한 사실로 미루어 Stephan<sup>42)</sup>이 주장한 critical pH의 이론은 잘못되었다고 생각한다. 그들이 주장한 critical pH 이론에서 사용한 Ca,P의 농도는 타액내의 농도를 기초로 하였으며 본 실험에서 사용한 농도 보다는 훨씬 높았기 때문에 그러한 결과가 생겼다고 생각된다.

우식표면층의 두께에 관하여 Featherstone등<sup>14)</sup>은 산의 농도와 pH 등에 관계없이 MHPD의 농도에 따라 달라진다고 하였으며 시간이 흘러도 우식표면층의 두께가 일정하게 유지된다고 하였다. Theuns등<sup>45)</sup>도 우식표면층의 두께가 산의 농도나, pH, 시간의 변화에 대하여 무관하게 일정하게 유지된다고 하였다.

본 실험에서도 9일 군까지에서는 산의 농도나 pH의 변화에 따라 건전표면층이 비교적 일정하게 유지되고 있는 것을 알 수 있다. 하지만 18일군에서 우식 표면하 병소의 형성이 활발한 제3군과 4군에서, 대부분이 건전표면이 파괴된 양상을 나타내었다. 따라서 시간이 흐를수록 건전표면층의 두께는 얇아지는 것 같으며 Featherstone<sup>14-17)</sup>이나 Theuns등<sup>45)</sup>이 사용한 방법에 비하여 우식진행을 빨리 시키는 방법을 사용하였으므로 이러한 결과를 얻었다고 생각된다.

Margolis등<sup>25,26)</sup>은 시간이 경과함에 따라 우식표면층의 깊이도 점차 깊어진다고 하였지만 그가 관찰한 우식표면층의 두께가 3일, 7일, 10일 경과함에 따라



4.4, 7.3, 9.7 $\mu$ m 등으로 증가한 것으로 보고하고 있는 것을 보면, 일반적인 편광현미경의 해상도로 정확히 구별할 수 있는 두께는 아니라고 생각된다.

건전 표층의 두께는 편광 현미경 상에서 정확히 측정하기는 어려운 문제라고 생각되며 오히려 micro-radiography 등을 이용하면 보다 일관성있는 측정치를 얻을 수 있을 것이다<sup>12, 14, 45</sup>).

1940년 Stephan<sup>42)</sup>은 탄수화물을 섭취한 후에 plaque pH가 급하게 떨어지며 유산이 이러한 pH 강하의 중요한 원인이라고 하였다. 또한 Edgar와 Highman은 sucrose rinse후의 plaque fluid에서의 pH, 산의 농도, amino acid 등을 관찰하여 pH가 떨어지는 시기에 유산의 양은 많아지고 acetic acid, propionic acid, phosphoric acid 등의 양이 서서히 줄어 들다가 약 7분이 경과하면서 pH가 서서히 회복되면서 이러한 산 등은 다시 증가하는 반면에 유산의 양은 줄어든다고 보고하고 유산이 pH를 떨어뜨리는 주요 산이라고 하였다.

법랑질우식을 유발하는 plaque fluid의 연구를 통하여 acetatic acid, propionic acid 등은 적은 함량이 존재한다는 것이 밝혀졌다. Succinic acid와 lactic acid도 탄수화물을 섭취한 지 1-2.5시간후에는 존재하지만 섭취한지 12시간 후의 plaque fluid에서는 나타나지 않는다고 보고하였다.

본 실험에서 유산을 사용한 이유도 우식을 일으키는 주요 원인으로 생각해서이다. 하지만 실제로 우식과정에는 유산 이외에도 많은 산이 복합적인 작용을 할 것이며 Featherstone과 Rodgers<sup>17)</sup>는 plaque fluid 내에서 발견되는 여러 산을 이용하여 병소의 진행을 알아보는 실험을 통하여 높은  $pK_a$ 를 갖는 산들의 pH가 5.5 이상인 경우에서 병소의 진행속도가 더욱 빠름을 보고하였다. 이러한 사실들은 매우 중요하게 생각되는데, 앞으로 연구가 진행되어야 할 분야라고 생각된다.

Plaque fluid의 구성과 pH, 포화도, 각 이온의 작용 등에 대해서는 다양한 의견이 존재한다<sup>11, 13, 29, 31, 36, 43</sup>.

<sup>46)</sup> 이러한 차이점들이 생기는 이유에 대하여 Tatevossian<sup>43)</sup>은 plaque fluid의 저장방법에 따라 큰 차이가 난다고 설명하였다. 특히 potassium, magnesium 등과 같은 intracellular component는 cryo damaged sample의 경우(freeze thawing in liquid nitrogen)가 얼음에 저장한 경우보다 더 높게 나타난

다고 하였다. Margolis등<sup>25, 26)</sup>은 여러 연구를 통하여 plaque fluid의 성분을 밝히고, 치아우식 호발균과 저항균을 비교하였는데, 두 균 모두에서 탄수화물을 섭취한지 6시간 후에 상태에서 과포화상태(supersaturation)를 나타내었고 우식 저항균에서 특히 높았으며, 두 균사이의 가장 큰 차이는 pH(5.95 : 5.63)와 ammonium ion의 concentration(61.1 : 44.8)이라고 하였다. Ammonium 이온은 amino 산의 decarboxylation에 의하여 plaque fluid의 pH를 높임으로서 우식의 예방에 중요한 역할을 한다고 주장하였다. 이번 실험의 결과로 볼 때, ammonium 이온의 작용에 대한 이러한 가설이 타당하다면 예방의학적 관점에서 효과적으로 사용할 수 있는 물질이라고 생각된다.

본 실험만으로 치아 우식에 대한 새로운 이론을 세우기에는 미흡하리라 생각된다. 하지만 이상의 실험을 통하여 본인이 생각해 볼 수 있는 치아우식의 가설은 다음과 같다. 치태에서의 미생물에 의하여 형성된 plaque fluid에는 앞에서 설명한 많은 산이 존재하는데 이러한 산들이 plaque fluid내의 pH 등의 영향을 받아 각각의  $pK_a$ 에 따라 이온화되거나 이온화되지 않은 형태로 존재하게 된다. 또한 calcium, phosphate, magnesium 등도 존재하는데 전체적인 산의 농도와와의 관계에 의하여 포화도가 결정되게 되며 우식표면하 병소를 유발하는 근본적인 힘이 된다. 산에 의하여 영향을 받은 법랑질의 표면은 부분적인 탈회의 과정을 겪게 되며 이러한 탈회로 생긴 결손부를 통하여 산의 침투가 이루어 지는데 이때 중요한 역할을 하는 것이 이온화되지 않은 형태의 산의 농도이며 이는 plaque fluid내의 pH와 산의  $pK_a$ 에 의하여 결정된다.

일단 이온화되지 않은 형태로 법랑질의 표면부를 통하여 확산된 후에는 수소이온과 음이온으로 나누어지며 이들 모두 법랑질의 탈회에 관여하는데 이 과정은 acid strength에 의하여 결정되어 유산의 경우 식초산보다 더 빠르게 법랑질의 crystal을 분해한다. crystal의 주요 성분인 hydroxyapatite가 산에 의하여 분해되면서 dicalcium phosphate dihydrate나 amorphous calcium phosphate, tricalcium phosphate 등을 형성하며 표면에 침착하게 되어 결국 우식표면층과 우식표면층을 만들게 된다.

## V. 결 론

160개의 치아를 일정한 포화도하에서 유산완충액을 이용하여 인공치아우식을 유발하였을 때 산의 농도, pH가 우식양병소의 진행에 미치는 영향에 대하여 연구하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 포화도와 pH가 일정한 경우 유산의 농도를 증가시키므로서 우식표면하층의 진행이 빨라졌다.
2. 포화도와 산의 농도를 일정하게 하고 pH를 4.3, 5.5, 6.0으로 증가시킨 경우, pH가 증가할수록 우식표면하층의 진행이 늦어졌다.
3. 우식표면층의 두께는 pH나 농도와 관계없이 일정하게 유지되었다

## 참 고 문 헌

1. Almqvist, H., Langerlof, F., Angmar-Mansson, B. : Automatic pH cycling caries model applied on root hard tissue. *Caries Res.* 24 : 1-5, 1990.
2. Aoba, T., Moreno, E. T. : Preparation of Hydroxyapatite crystals and their behavior as seeds for crystal growth. *J. Dent. Res.* 63 : 874-880, 1984.
3. von Bartheld, F. : Membrane phenomena in caries dissolution of the enamel. *Archs. Oral Biol. spec. suppl.* 6 : 284-303, 1961.
4. Brudevold, F., Steadman, L. T., Smith, F. A. : Inorganic and organic components of tooth structure. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 85 : 110-132, 1960.
5. Brudevold, F., McCann, H., Gron, P. : Caries resistant teeth as related to the chemistry of enamel. *Wolstenholm(Churchill, London)* : 121, 1965.
6. Chow, L. C., Takagi, S., Shin, S. : Effect of a two flouride mouthrinse on remineralization of enamel lesion in vitro. *J. Dent. Res.* 71 : 443-447, 1992.
7. Christoffersen, J., Arends, J. : Progress of artificial caries lesion progression in enamel. *J.*

- Dent. Res.* 63 : 13-18, 1984.
8. Clarkson, B. H., Wefel, J. S., Miller, I. : The effect of polyvalent metal ion mordanting on caries like lesion progression in enamel. *J. Dent. Res.* 63 : 13-18, 1984.
9. Damen, J. J. M., Ten Cate, J. M. : Silica induced precipitation of calcium phosphate in the presence of inhibitors of hydroxyapatite formation. *J. Dent. Res.* 71 : 453-457, 1992.
10. Darling, A. T. : Studies of the early lesion of enamel caries with transmitted light, polarized light and microradiography. its nature, mode of spread, points of entry and its relationship to enamel structure. *Brit. Dent. J.* 105 : 119-135, 1958.
11. Dibdin, G. H. : Plaque fluid and diffusion : study of the cariogenic challenge by computer modelling. *J. Dent. Res.* 69 : 1324-1331, 1990.
12. van Dijk, J. W. E., Borggreven, J. M. P. M., & Driessens, F. C. M. : Chemical and mathematical simulation of caries. *Caries Res.* 13 : 169-180, 1979.
13. Edgar, W. M., Higham, S. M. : Plaque fluid as a bacterial Milieu. *J. Dent. Res.* 69 : 1332-1336, 1990.
14. Featherstone, J. D. B., Duncan, J. F., Cutress, T. W. : Surface layer phenomena in in-vitro early caries like lesions of human tooth enamel. *Archs. Oral Biol.* 23 : 397-404, 1978.
15. \_\_\_\_\_ : Crystallographic changes in human tooth enamel during in vitro caries simulation. *Archs. Oral Biol.* 23 : 405-413, 1978.
16. \_\_\_\_\_ : A Mechanism for dental caries based on chemical process and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. *Archs. Oral Biol.* 24 : 101-112, 1979.
17. Featherstone, J. D. B., Rodgers, B. E. : Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial caries lesions. *Caries Res.* 15 : 377-385, 1981.
18. Francis, M. D., Briner, W. W., Gray, J. A. : Che-

- mical agents in the control of calcification process : in hard tissue growth, repair and remineralization. Ciba Fdn. symp. II : 59-90, 1973.
19. Gray, J. A. & Francis, M. D. : Physical chemistry of enamel dissolution, Mechanism of hard tissue destruction, (American Association of Advances in Science, Washinton) Publ, No 75 : 213(Ame, 1963.
  20. Groeneveld, A., Arends, J. : Influence of pH and demineralization time on mineral content, thickness of surface layer and depth of artificial caries lesions. Caries Res. 9 : 36-44, 1975.
  21. Hay, D. I., Smith, D. J., Schluckebier, S. K., Moreno, E. C. : Relationship between concentration of human salivary statherin and inhibition of calcium phosphate precipitation in stimulated human parotid saliva. J. Dent. Res. 63 : 857-863, 1984.
  22. Holly, F. J. & Gray, J. A. : Mechanisms of incipient caries lesion growth utilizing a physical model based on diffusion concepts. Archs. Oral Biol. 13 : 319-334, 1968.
  23. Iost Larsen, M. : Chemically induced in vitro lesions in dental enamel. Scand. J. Dent. Res. 32 : 496-509, 1974.
  24. LeGeros, R. Z. : Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine. Karger, 1991.
  25. Margolis, H. C. : An assessment of recent advances in the study of the chemistry and biochemistry of dental plaque fluid. J. Dent. Res. 69 : 1337-1342, 1990.
  26. Margolis, H. C., Duckworth, J. H., Moreno, E. C. : Composition of pooled resting plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. J. Dent. Res. 67 : 1468-1475, 1988.
  27. Margolis, H. C., Moreno, E. C. : Kinetic and thermodynamic aspect of enamel demineralization. Caries Res. 19 : 22-35, 1985.
  28. \_\_\_\_\_ : Physiochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. J. Dent. Res. 69 : 606-613, 1990.
  29. \_\_\_\_\_ : Kinetics of hydroxyapatite dissolution. J. Dent. Res. Abst. no 1546, 1990.
  30. Margolis, H. C., Moreno, E. C., Murphy, B. J. : Importance of high pKa acids in cariogenic potential of plaque. J. Dent. Res. 64 : 786-792, 1985.
  31. \_\_\_\_\_ : Effect of low levels of Fluoride in solution on enamel demineralization. J. Dent. Res. 65 : 23-29, 1986.
  32. Margolis, H. C., Murphy, B. J., Moreno, E. C. : Development of caries like lesions in partially saturated lactate buffers. Caries Res. 19 : 36-45, 1985.
  33. Moreno, E. C. & Margolis, H. C. : Composition of human Plaque Fluid. J. Dent. Res. 67 : 1181-1189, 1988.
  34. Moreno, E. C., Zahradnik, R. T. : The pore structure of human dental enamel. Archs. Oral Biol. 18 : 1063-1068.
  35. \_\_\_\_\_ : Demineralization and remineralization of dental enamel. J. Dent. Res. 58 : 896-902, 1979.
  36. Rankine, C. A. N., Moreno, E. C., Vogel, G. L., and Margolis, H. C. : Microanalytical determination of pH, Calcium, and Phosphate in plaque fluid. J. Dent. Res. 64 : 1275-1280, 1985.
  37. Silverstone, L. M. : The translucent zone of enamel lesions produced in vitro. J. Dent. Res. 44 : 1174, 1965.
  38. \_\_\_\_\_ : The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries like lesions. Brit. Dent. J. 120 : 461-471, 1966.
  39. \_\_\_\_\_ : Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries like lesions. Caries Res. 1 : 261-274, 1967.
  40. \_\_\_\_\_ : The surface zone in caries and in caries like lesions produced in vitro. Brit. Dent. J. 122 : 145-157, 1968.
  41. Sperber, G. H., Buonocore, M. G. : Enamel surface in white spot formation. J. Dent. Res. 42 : 724-731, 1963.
  42. Stephan, R. M. : Change in the hydrogen ion

- concentration on tooth surfaces and and caries lesions. *J. Amer. Dent. Ass.* 27 : 718-723.
43. Tatevossian, A. : Facts and artefacts in research on human dental plaque fluid. *J. Dent. Res.* 69 : 1309-1315, 1990.
  44. Ten Cate, J. M. : In vitro studies on the effects of fluoride on de-and remineralization. *J. Dent.* 69 : 614-619, 1990.
  45. Theuns, H. M., van Dijk, J. W. E., Drissens, F. C. M. : The effect of undissociated acetic acid concentration of buffer solution on artificial caries like lesion formation in human tooth enamel. *Archs. Oral. Biol.* 29 : 759-763, 1984.
  46. Vogel, G. L., Carey, L. C., Chow, L. C. and Tatevossian, A. : Microanalysis of plaque fluid from single site fasted plaque. *J. Dent. Res.* 69 : 1316-1323, 1990.
  47. Zahradnik, R. T., Moreno, E. C. : Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapour sorption. *Archs. Oral Biol.* 20 : 317-325, 1975.
  48. \_\_\_\_\_ : Progressive stage of subsurface demineralization of human tooth enamel. *Archs. Oral Biol.* 22 : 585-591, 1977.
  49. Zahradnik, R. T., Propas, D., Moreno, E. C. : In vitro enamel demineralization by streptococcus mutans in the presence of salivary pellicles. *J. Dent. Res.* 56 : 1107-1110, 1977.
  50. Zimmerman, S. O. : A mathematical theory enamel solubility and the onset of dental caries. *Biophy.* 28 : 443-464, 1966.
  51. 이찬영 : 산 완충용액을 이용한 인공치아우식 형성. *연세치대논문집* 7 : 34-41, 1992.
  52. 백은영, 이찬영 : 산 완충용액에서 Lactic acid가 치아우식 형성에 미치는 영향. *연세치대논문집* 7 : 42-49, 1992.
  53. 김강진, 김하석, 이대운, 이원 : *정량분석* 65-73, 자유아카데미

## 사진 부도 설명

- Fig. 4. Polarizing microscopic view of 3 days storing sample of Group 3, imbibed in water.(×100)
- Fig. 5. Polarizing microscopic view of 3 days storing sample of Group 3, in air.(×100)
- Fig. 6. Polarizing microscopic view of 6 days storing sample of Group 4.(×100)
- Fig. 7. Polarizing microscopic view of 18 days storing sample of Group 4.(×100)
- Fig. 8. Polarizing microscopic view of 18 days storing sample of Group 5.(×100)
- Fig. 9. Polarizing microscopic view of 6 days storing sample of Group 6.(×100)
- Fig. 10. Polarizing microscopic view of 9 days storing sample of Group 7.(×100)
- Fig. 11. Polarizing microscopic view of 18 days storing sample of Group 7.(×100)

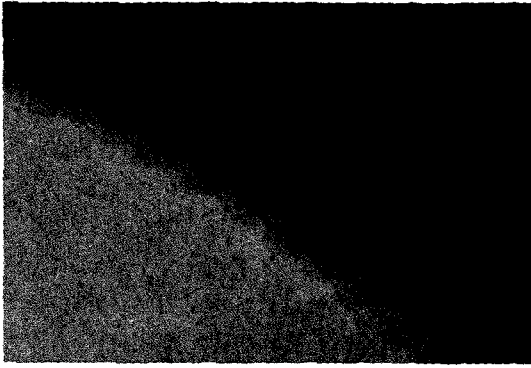


Fig. 4.

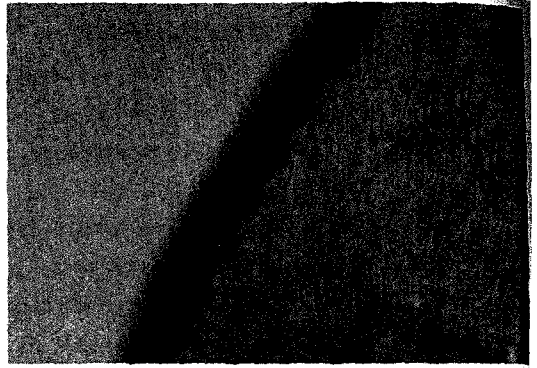


Fig. 5.

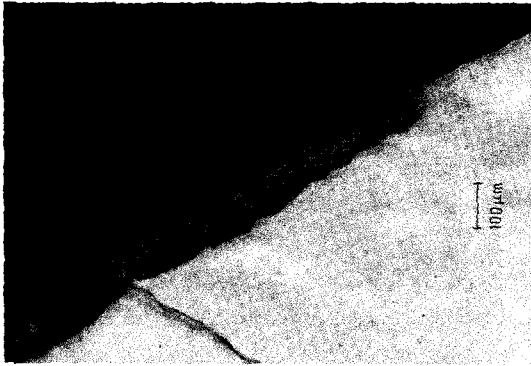


Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

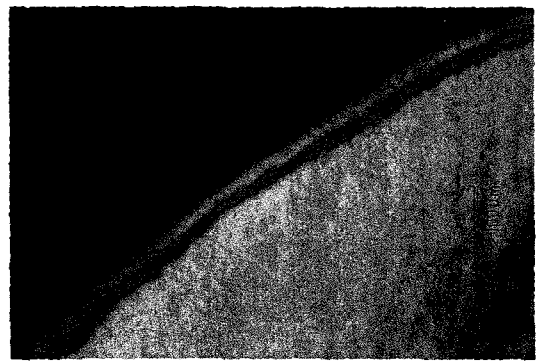


Fig. 9.

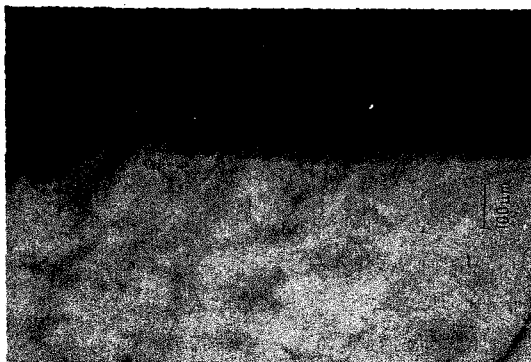


Fig. 10.

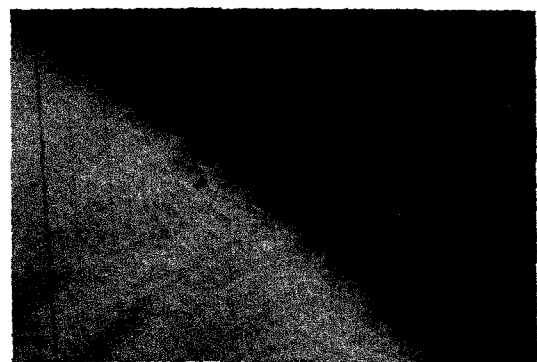


Fig. 11.