

유산칼슘이 합성 수산화인회석의 탈회에 미치는 영향

원광대학교 치과대학 소아치과학교실

김 대 업

Abstract

EFFECT OF CALCIUM LACTATE ON DEMINERALIZATION OF SYNTHETIC HYDROXYAPATITE

Dae-Eop Kim

Dept. of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Wonkwang University

Many kinds of soluble calcium salts such as calcium lactate are known to reduce the enamel demineralization. In this study, calcium lactate was tested for its effect on the demineralization process of hydroxyapatite. Synthetic hydroxyapatites were used as a standardized material instead of human enamel which is rarely heterogenous. And, for the purpose of hydroxyapatite demineralization, lactic acid was used. By comparing the weight of hydroxyapatite pre-demineralization and post-demineralization, it was possible to examine the effect of calcium lactate on demineralization.

The weight of demineralized hydroxyapatite was reduced by about 46% and 59% with 20mM and 40mM calcium lactate, respectively. In conclusion, low concentrations of calcium lactate showed an inhibitory effect on the demineralization of synthetic hydroxyapatite.

I. 서 론

칼슘이온은 탈회의 과정에서 법랑질로부터 유리되어 치태내에 축적된다¹⁾. 치태내의 고농도의 칼슘과 무기 인의 존재에 관하여 많은

연구들에서 언급되었고²⁻⁶⁾ 탈회과정에서 이들의 치태내 농도는 탈회량과 밀접한 관련이 있다⁶⁾. 탄수화물 투여환경하에서의 칼슘이나 인의 첨가는 탈회량을 감소시켰는데 calcium glycerophosphate를 이용한 원숭이의 실험⁷⁾과 쥐의

* “이 논문은 1996년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 연구됨”

실험⁸⁾에서 치아우식의 발생이 감소되었음을 보고하였고 유산칼슘을 이용한 실험들^{9, 10, 11)}에서도 우식발생이 감소되었음을 보고하였다. 또한 콜라에 유산칼슘을 첨가하여 부식정도를 조사한 쥐의 실험¹²⁾에서도 유의한 감소를 보였다. 사람을 대상으로 한 여러 연구^{13, 14)}에서도 치태내의 calcium, phosphate 농도와 우식경험도 사이에는 반비례관계가 있음을 보고하였고 Brudevold 등¹⁵⁾은 식품첨가물로서 가용성 칼슘염으로 구강내 행균 후 법랑질탈회가 상당히 감소하였음을 보고하였으며 Kashket 등¹⁶⁾은 유산칼슘의 농도와 투여시기에 관한 연구에서 저농도로 투여한 경우에서도 법랑질 보호효과가 있었으며 산생성이 최대인 시간대에 높은 치태내 칼슘농도를 유지하는 것이 중요하다고 하였다.

본 연구는 대부분 치아 법랑질을 실험재료로 사용한 종래의 연구들과는 달리, 실험재료를 표준화하기 위한 목적으로 합성 수산화인회석을 사용하였고 이의 탈회과정에서 유산칼슘을 첨가하여 농도에 따른 탈회억제효과를 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

합성 수산화인회석 (Hydroxyapatite, calcium phosphate hydroxide, Type III, graduated suspension in 0.01 M phosphate buffer, pH 6.8, saturated with toluene, contains silica gel as a crystal inhibitor, Sigma Chemical Co, USA) 을 건조시키고 분말화한 것을 0.1g씩 칭량하여 21개 시험관에 넣고 전체 무게를 칭량하였다.

유산칼슘(calcium lactate heptahydrate, Extra Pure, Junsei Chemical Co, Ltd, Japan : 분자식 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 분자량 308.30)을 61.66mg, 123.32mg, 184.98mg, 246.64mg, 308.30mg, 369.96mg씩 칭량하여 농도별로 3개 시험관에 각각 넣었다.

유산용액(분자량 90.08, 농도 88%, 밀도 1.21) 0.85ml를 1리터의 증류수에 혼합하여 0.01 N 유산용액을 제조한 후 pH meter로 측정하

면서 2M NaOH 용액을 첨가하여 용액의 산도를 pH 3.0으로 조정된 것을 시험관에 10ml씩 넣고 2분간 진탕한 후 배양기에 넣어 37°C에서 24시간 유지시켰다. 시험관은 유산칼슘의 농도별로 각각 0mM, 20mM, 40mM, 60mM, 80mM, 100mM, 120mM의 7개 군으로 구분되었다.

24시간이 경과된 후 시험관들을 배양기에서 꺼내어 약 5분간 원심분리시켰다. 사전에 무게를 칭량해 둔 탈지면을 침전물 바로 위까지 시험관에 넣고 탈지면 위에 스포이드를 대고 상등액을 흡입 제거하였다. 탈지면을 사용한 것은 상등액 제거시 침전된 합성 수산화인회석이 함께 제거되는 것을 방지하기 위함이었다. 상등액을 제거한 시험관을 그대로 2일간 100°C에서 건조시켰다. 건조 후 잔류된 유산칼슘을 용해시켜 제거하기 위하여 유산용액을 시험관에 넣고 진탕한 후 흡입 제거하고 증류수로 2회 반복하였다. 시험관들을 다시 배양기에 넣고 100°C에서 2일간 건조시킨 후 무게를 칭량하였다.

유산칼슘 농도별 합성수산화인회석의 탈회량은 다음 식에 의하여 계산하였다. :

탈회 전 (시험관+합성 수산화인회석)의 무게 - {탈회 후 (시험관+합성 수산화인회석+탈지면)의 무게 - 탈지면의 무게} = 합성 수산화인회석의 탈회량

III. 실험 성적

합성 수산화인회석의 탈회량은 유산칼슘을 첨가하지 않은 군에서 31.8mg(31.7%)의 탈회로 인한 무게감소가 있었으며 이 탈회량을 기준으로 하였을 때 20mM의 유산칼슘 첨가군에서는 46.4%, 40mM 군에서는 59.3%, 60mM 군에서는 71.0%, 80mM 군에서는 81.4%, 100mM 군에서는 82.6%, 120mM 군에서는 88.6%의 탈회량 감소효과가 있었다.

IV. 고 찰

사람을 대상으로 한 과거의 실험들은 dicalcium phosphate를 첨가물로 사용하여 탈회에

Table Effect of calcium lactate on demineralization of synthetic hydroxyapatite by 0.01N lactic acid(pH 3.0)

| Conc. of CaLactate | No. of Cases | Net Weight | Before Demineral. | After Demineral. | Net Reduction | Reduction Rate(%) |
|--------------------|--------------|-----------------|----------------------|----------------------|------------------|-------------------|
| 0 mM | 3 | 1003mg ± 0.2 | 13761.1mg ± 244.0 | 13729.3mg ± 231.9 | 31.8mg ± 12.1 | 31.7 |
| 20 | 3 | 100.4 ± 0.4 | 13446.3 ± 431.0 | 13429.2 ± 425.6 | 17.1 ± 5.6 | 17.0 |
| 40 | 3 | 100.6 ± 0.1 | 13710.2 ± 266.4 | 13697.2 ± 267.0 | 13.0 ± 1.1 | 12.9 |
| 60 | 3 | 100.5 ± 0.2 | 13653.3 ± 149.7 | 13644.1 ± 149.8 | 9.2 ± 0.4 | 9.2 |
| 80 | 3 | 100.4 ± 0.2 | 13595.3 ± 241.3 | 13589.3 ± 242.0 | 5.9 ± 1.0 | 5.9 |
| 100 | 3 | 100.4 ± 0.2 | 13646.3 ± 188.2 | 13640.7 ± 86.0 | 5.5 ± 2.7 | 5.5 |
| 120 | 3 | 100.6 ± 0.4 | 13789.7 ± 196.5 | 13786.2 ± 192.9 | 3.6 ± 3.6 | 3.6 |

Mean± SD

Analysis of Variance : F ratio 10.1071, Sig 0.0002

Correlations : -0.8156(P<0.01)

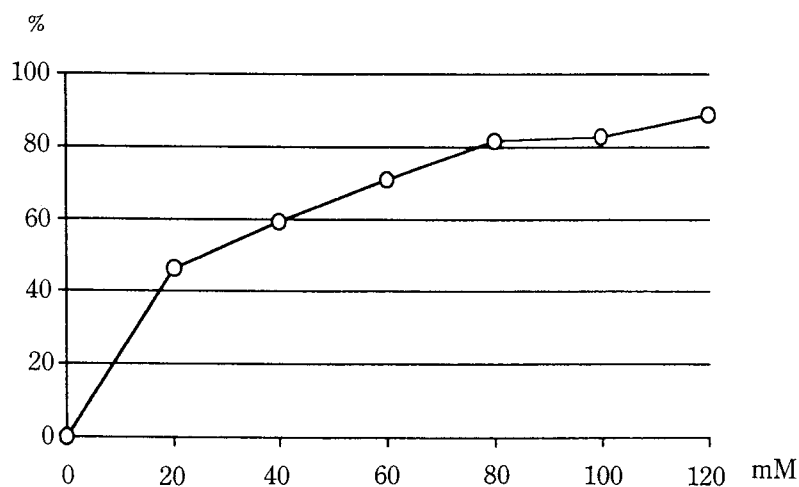


Figure. 1. Correlation between calcium lactate concentrations and reduction amount of hydroxyapatite demineralization.

대한 영향을 평가하였는데 Averill과 Bibby(1964)¹⁷⁾ 그리고 Ship과 Mickelson(1964)¹⁸⁾은 효과가 없다고 하였으나 Stralfors(1964)¹⁹⁾나 Finn과 Jamison(1967)²⁰⁾의 씹는 껌을 이용한 연구에서는 dicalcium phosphate가 효과적이라고 하였다.

Brudevold등(1985)¹⁵⁾의 칼슘, 나트륨, 칼륨, 스트론튬염의 구강내 탈회에 미치는 영향을 비교 분석한 실험에서도 칼슘염이 탈회감소에 더 효과적이었으며 유산칼슘은 약 70%의 탈회억제효과를 나타냈다고 하였다. 유산칼슘에 관한 연구들 중 van der Hoeven등(1989)²¹⁾은 165mM의 농도로 입안을 헹군 다음 16시간 후에 치태지수와 칼슘농도를 측정하 결과 치태지수에는 별 영향이 없었으나 치태내 칼슘농도의 약 2배 상승을 보고했으며 Schaecken 과 van der Hoeven(1990)²²⁾은 성인에 있어 입안을 유산칼슘으로 헹군 후 치태와 치석형성에 미치는 영향을 조사한 바 치태지수나 치은염지수에 유의한 변화를 일으키지 않았다고 하였다. Rankine등(1989)²³⁾은 씹는 사탕에 첨가된 칼슘이 치태액의 pH, 칼슘 및 인 농도에 미치는 영향을 연구하였는데 3% dicalcium phosphate dihydrate와 0.75% 유산칼슘을 첨가한 사탕을 제공하여 실험한 바 사탕에 칼슘을 첨가하는 것은 탈회를 감소시키는 데 효과가 크지 않은 것으로 추정하였다. 그러나 Shrestha등(1982)¹⁰⁾은 사탕과 유산칼슘을 타액으로 혼합하여 법랑질의 탈회도를 조사한 후 약 40%의 탈회감소를 보고하였고 같은 실험에서 쥐의 우식성 먹이에 유산칼슘을 첨가하여 우식활성을 조사한 결과 치아의 열구부위의 우식은 17%, 평활면 우식은 38% 감소하였으며 병소의 깊이는 각각 31%, 47% 감소하였다고 하였다. van der Hoeven(1985)¹¹⁾역시 먹이에 유산칼슘과 calcium lactophosphate를 첨가하여 쥐의 우식활성을 검사 비교한 실험에서 우식을 감소시켰다고 하였으며 Beiraghi 등(1989)¹⁹⁾은 코카콜라에 유산칼슘을 첨가한 쥐의 실험을 통하여 부식과 *S. mutans*에 대한 영향을 연구하였는데 코카콜라에 첨가한 유산칼슘은 쥐에서 치아의 부식을 유의하게 감소시켰다고 하였다. Kash-

ket와 Yaskell (1992)¹⁶⁾은 자당으로 유발한 우치 법랑질의 구강내 탈회에 있어 유산칼슘의 투여시기가 미치는 영향에 관한 연구를 하였는데, *S. mutans* IB 1600으로 덮은 우치 법랑질 블록이 포함된 구개장치를 구강내에 장착하고 10% 자당용액으로 입을 헹군 후 법랑질의 요오드침투도(delta Ip) 및 치태의 pH와 세포의 이온농도를 측정하였다. 자당용액 헹군 15분 후에 100mM 유산칼슘을 공급하였을 때 진행 중인 탈회가 중지된 것으로 나타났고 자당용액 헹군 15분 전에 유산칼슘을 공급하였을 때 탈회가 25% 감소하였다. 유산칼슘을 사전에 공급한 후와 자당용액과 혼합하여 공급하였을 때 가장 효과가 좋았다. 이 조건에서 100 mM 유산칼슘의 경우 탈회가 55% 감소하였고 최소 25mM 농도에서 보호효과가 있었다. Brudevold등(1985)¹⁵⁾의 연구에서 160mM의 유산칼슘으로 66% 탈회감소가 관찰된 것과 비교하였을 때 본 연구에서는 20 mM의 저농도에서 46.4%의 큰 탈회 감소효과가 관찰되었다. 이는 타 연구들에서는 짧은 탈회시간하의 영향을 비교한 반면 본 연구에서는 24시간의 탈회시간을 부여하였으므로 탈회효과면에서 실제와 다소 다른 영향을 끼쳤을 가능성이 있는 것으로 판단된다.

본 연구의 결과는 유산칼슘의 탈회에 미치는 영향에 대한 최근 연구들의 결과와 대체로 일치한다. 그러나 무독, 무미한 식품첨가제로 이용되는 유산칼슘(1986)²⁴⁾일지라도 치아우식 억제용으로 실제 사용할 경우의 농도와 사용에 따른 제품의 본래 맛이나 성분에 어떤 영향을 주는지 등에 대한 연구가 앞으로 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 합성 수산화인회석과 유산용액을 이용한 탈회실험에서 유산칼슘의 첨가가 탈회에 미치는 영향을 알아보기 위한 것이었다.

연구 결과 유산칼슘을 첨가함에 따라 합성 수산화인회석의 탈회를 유의하게 감소시켰다. 저농도인 20mM에서부터 탈회량이 크게 감소

되었고 유산칼슘의 투여농도 증가에 따른 탈회량 감소비율은 120mM까지 완만히 감소되었다.

참고문헌

1. Kashket S, Yaskell T : Accumulation of enamel constituents in Streptococcus mutans plaque during intraoral demineralization. *Caries Res* 24 : 248-253, 1990.
2. Tatevossian A, Gould CT : The composition of the aqueous phase in human dental plaque. *Archs Oral Biol* 21 : 319-323, 1976.
3. Dawes C : Inorganic constituents of saliva in relation to caries : in Guggenheim B (Ed) : *Cariology Today*. Basel, Karger, 70-74, 1984.
4. Rankine CAN, Moreno EC, Vogel GL, et al : Micro-analytical determination of pH, calcium and phosphate in plaque fluid. *J Dent Res* 64 : 1275-1280, 1985.
5. Tatevossian A : Calcium and phosphate in human dental plaque and their concentrations after overnight fasting and after ingestion of a boiled sweet. *Archs Oral Biol* 32 : 201-205, 1987.
6. Moreno EC, Margolis HC : Composition of human plaque fluid. *J Dent Res* 67 : 1181-1189, 1988.
7. Bowen WH : The cariostatic effect of calcium glycerophosphate in monkey. *Caries Res* 6 : 43-51, 1972.
8. Grenby TH, Bull JM : Protection against dental caries in rats by glycerophosphates or calcium salts or mixtures of both. *Archs Oral Biol* 20 : 717-724, 1975.
9. McLure FJ : The cariostatic effect in white rats of phosphorus and calcium supplements added to the flour of bread formulas and to bread diets. *J Nutrit* 72 : 131-136, 1960.
10. Shrestha BM, Mundorff SA, and Bibby BG : Preliminary studies on calcium lactate as an anticaries food additive. *Caries Res* 16 : 12-17, 1982.
11. van der Hoeven JS : Effect of calcium lactate and calcium lactophosphate on caries activity in programme-fed rats. *Caries Res* 19 : 368-370, 1985.
12. Beiraghi S, Atkins S, Rosen S, et al : Effect of calcium lactate in erosion and S. mutans in rats when added to Coca-Cola. *Pediatr Dent* 11 : 312-315, 1989.
13. Schamschula RG, Bunzel M, Agus HM, et al : Plaque minerals and caries experience : associations and interrelationships. *J Dent Res* 57 : 427-432, 1978.
14. Wilson RF, Ashley FP : The relationship between the biochemical composition of dental plaque from both approximal and free smooth surfaces of teeth and subsequent 3-year caries increment in adolescents. *Archs Oral Biol* 35 : 933-937, 1990.
15. Brudevold F, Tehrani A, Attarzadeh F, et al : Effect of some salts of calcium, sodium, potassium, and strontium on intraoral demineralization. *J Dent Res* 64 : 24-27, 1985.
16. Kashket S, Yaskell T : Effect of timing of administered calcium lactate on the sucrose-induced intraoral demineralization of bovine enamel. *Archs Oral Biol* 37 : 187-191, 1992.
17. Averill HM, Bibby BG : A clinical test of additions of phosphate to the diet of children. *J Dent Res* 43(suppl. 6) : 1150-1155, 1964.
18. Ship II, Mickelson O : The effects of calcium acid phosphate on dental caries in children : a controlled clinical trial. *J Dent Res* 43(suppl. 6) : 1144-1149, 1964.
19. Stralfors A : The effect of calcium phosphate on dental caries in school children.

- J Dent Res 43(suppl. 6) : 1137-1143, 1964.
20. Finn SB, Jamison HC : The effect of a di-calcium phosphate chewing gum on caries incidence in children : 30-month results. J Am Dent Ass 74 : 987-995, 1967.
 21. van der Hoeven JS, Schaeken MJM, Creugers TJ : Effect of a mouthrinse containing calcium lactate on the formation and mineralization of dental plaque. Caries Res 23 : 146-150, 1989.
 22. Schaeken MJM, van der Hoeven JS : Influence of calcium lactate rinses on calculus formation in adults. Caries Res 24 : 376-378, 1990.
 23. Rankine CAN, Prihoda TJ, Etzel KR, et al : Plaque fluid pH, calcium and phosphorus responses to calcium food additives in a chewable candy. Archs Oral Biol 34 : 821-824, 1989.
 24. 문성명 : 식품가공 새기술도입전서. 덕우출판사. 49면, 1986.