

법랑질 표면의 탈회 및 재광화 후 EPMA (electron probe micro-analysis)를 이용한 칼슘, 인, 불소 변화의 정량적 분석

홍경식 · 허복* · 이찬영 · 금기연

연세대학교 치과대학 보존과학교실, 부산대학교 치과대학 보존과학교실*

ABSTRACT

A QUANTITATIVE STUDY OF THE CHANGE OF CALCIUM, PHOSPHATE, FLUORIDE USING EPMA AFTER IN VITRO DEMINERALIZATION AND REMINERALIZATION OF HUMAN TOOTH ENAMEL

Kyoung-Sik Hong, Bock Hur, Chan-Young Lee, Ki-Yeon Keum

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Pusan National University*

The aim of this *in vitro* study was to analyze the composition of human tooth enamel in terms of three components, Ca, P, and F after demineralization and remineralization in acid buffer solution.

A total of 8 human premolars without any defects and cracks were selected and buccal and lingual sides of the teeth were cleaned with an ultrasonic device and pumice without fluoride. 5×5mm windows were opened, and other areas were completely covered with 3-coats of nail varnish to prevent from being in contact with demineralized and remineralized solutions. After demineralization process, each tooth was sectioned into two slices, highly polished one of them with γ -alumina, and then analyzed the composition of the demineralized tooth with EPMA(electron probe micro-analyzer). The other slices were put into the remineralized solution for 10 days, polished, and analyzed in the same manner. These data were statistically analyzed with one sample t-test($p<0.05$).

The results were as follows.

1. Normal tooth enamel consists of 49.76% Ca, 39.80% P, and 0.28% F.
2. After demineralization, percentage of Ca and P ratio were decreased by about 5.57 and 5.07% respectively. Percentage of F ratio was also decreased by about 0.01%, which was not statistically significant.
3. After remineralization, percentage of Ca, P increased about by 4.47 and 4.35% respectively. Percentage of F decreased by about 0.01%, which was not statistically significant.

In conclusion, remineralized solution used in our study has the potential to induce the uptake the Ca and P into the pore sites of the demineralized enamel. But, in the oral cavity, there were rapid temperature change, organic matrix that inhibits the movement of the ions, and limitation of continuous contact with this remineralized solution. Therefore, further *in vivo* study is necessary.

I. 서 론

치아 우식증은 전 세계적으로 가장 흔한 만성질환의 하나로서, 대개 유소년기에 법랑질 층에 호발하는 것으로 여겨

져 왔지만 인간의 평균수명이 연장되면서 치은 퇴축과 치조 골 소실로 인해 치근이 노출된 경우가 빈번하고 또한 구강 위생을 유지하기 힘든 고령의 환자가 많아지면서 치근 우식의 빈도도 증가하고 있다^[1,2].

*이 연구는 1998년 한국과학재단 특정기초 연구비(98-0304-14-01-3)의 지원을 받아 이루어진 논문임

치아의 무기질은 주로 수산화인회석(hydroxiapatite) 결정으로 이루어져 있는데 우식이 발생할 경우 이 입자의 변화가 나타나게 된다. Holmen 등³⁾은 인공 우식의 초기에 수산화인회석 결정에 부분적인 용해가 일어나면 그 결과 입자 사이의 공간이 증가하고 이 공간을 통해 무기질 이온이 이동할 수 있다고 보고하였으며, Hayash⁴⁾는 고해상도 TEM을 이용한 연구에서 우식 발생시 입자의 변연부가 소실되고, 동시에 수산화인회석 입자의 중앙에서 용해가 일어나 중앙부 천공이 일어나게 된다고 주장하였다.

치아의 우식을 관찰하고 연구하는 방법 가운데 화학적인 성분 분석법은 1966년 Frank 등⁵⁾에 의해 처음으로 사용되어왔는데 이를 이용하면 조직내에 미세한 성분까지도 밝힐 수 있다고 하였다. 1975년 Takuma 등⁶⁾은 탈회된 상아질을 electron probe micro analyzer(EPMA)를 이용하여 분석한 결과 칼슘, 인, 마그네슘, 염소의 성분은 감소하고, 황과 아연의 성분은 증가함을 보고하였는데, 이는 microradiograph를 이용하여 분석한 것과 일치하는 결론이다. 그러나 때때로 microradiograph로 관찰한 상아질의 영역이 EPMA로는 설명하기 어려운 경우가 많은데, 이는 Hals 등⁷⁾에 의하면 microradiograph는 60~150μm의 전체두께의 상에 기초를 하는 반면 EPMA는 분석하는 시편의 1~2μm정도의 표면에 국한되기 때문이라고 하였다.

인공적으로 우식을 형성하는 in vitro 방법으로는 치태를 이용하는 방법^{8,9)}, 산성의 gelatin gel^{10,11)}을 이용하는 방법, 그리고 부분적으로 포화된 완충용액을 이용하는 방법 등¹²⁾이 있는데, 이 가운데 완충 용액을 이용하는 방법은 용액의 영향이 빠른 시간 안에 나타나 결과를 단 시간내에 관찰할 수 있으며, 다양한 조건을 손쉽게 변화시킬 수 있는 장점이 있다.

Moreno 등¹³⁾에 의하면 치아의 우식이 일어날 때 영향을 미치는 인자로 pH 이외에 용액의 포화도가 중요한 요소라고 하였는데, 용액이 저포화 상태일 때 치아에서 무기질이 빠져나가 탈회가 일어나게 되고 빠져나간 용액의 칼슘과 인 이온이 dicalcium phosphate dihydrate(DCPD)의 형태로 침착이 일어나 표면하층을 형성한다고 하였다. 이¹⁴⁾의 연구에서도 법랑질 우식은 탈회용액의 포화도를 조절하여 in vitro 상에서 탈회양상을 조절할 수 있음을 보여주었다.

그러나 1965년 Backer Dirks 등¹⁵⁾이 8세 아동의 초기 우식인 백색반점의 50%가 타액의 작용에 의해 재광화된다고 보고 한 이후 재광화 과정에 대한 연구가 활발히 진행되어왔고, 지금까지 이러한 재광화 연구는 유기산으로 탈회시킨 후 법랑질을 microscopic technique을 이용하여 분석한 것이 대부분이었다. 1971년 Feagin 등¹⁶⁾은 산에 의해 탈회된 법랑질의 재광화 과정의 역동성과 불소의 영향 등을 분석화학의 방법을 사용하여 연구하였고, 1977년 ten Cate 등¹⁷⁾은 in vitro 상에서 bovine 치아를 탈회시킨 후

재광화 과정 후 생긴 입자들을 SEM을 이용하여 관찰 한 결과 이는 수산화인회석과 유사한 물질이라고 보고하였다.

따라서 본 연구의 목적은 in vitro 상에서 인공적으로 법랑질의 탈회를 유도하고 그 후 다시 재광화 시킨 다음 이 두 상태의 법랑질 표면의 칼슘, 인, 불소농도 변화를 electron probe micro-analyzer를 이용하여 화학적으로 비교, 분석하고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

교정 치료를 위해 내원한 환자의 우식이 없는 건전한 상악 소구치 8개를 이용하였다.

2. 연구방법

1) 시편의 제작

발거한 8 개의 우식이 없는 상악 소구치를 선택하여 치아에 부착된 잔사와 치석을 제거하기 위해 불소가 함유되지 않은 pumice로 연마한 다음 초음파 세척기로 세정 후 증류수로 세척 전조하였다. 치아를 자가중합형 아크릴릭 레진에 매몰한 후 CEJ 상방의 치관부위를 횡면으로 절단하여 한 치아당 각각 2개의 원기둥 형태의 시편을 제작하였다. 그 후 시편의 결손 부나, 금이 가지 않은 부위를 관찰하고 이 곳에 약 5~6mm 가량의 window를 형성한 후 나머지 부위는 내산성의 nail varnish를 3겹으로 도포하여 탈회 완충용액과의 접촉을 차단하였다.

2) 실험용액의 제조

① Stock용액의 제조

30% lactic acid(Sigma Co., 분자량 90.08, 밀도 1.080, USA)를 이용하여 1M의 lactic acid를 제조한 다음 폐놀프탈레인(Sigma Co., USA)지시약과 8N 수산화칼륨(KOH, potassium hydroxide, Sigma Co., USA)표준용액으로 적정하여 용액의 농도가 0.976M임을 확인하였다.

염화칼슘 분말(Sigma Co., 분자량 147.0, USA)을 이용하여 0.3M의 용액을 제조하고 이를 100배 희석한 후 이온 자동 분석기(790 Personal IC. Metrohm. Ion analysis. Switzerland)를 이용하여 제조한 용액의 농도가 0.276M임을 확인하였다.

인산칼륨분말(Sigma Co., 분자량 136.1, USA)을 이용하여 0.9M의 용액을 제조하고 이를 600배 희석한 후 이온 자동 분석기(790 Personal IC. Metrohm. Ion analysis. Switzerland)를 이용하여 제조한 용액의 농도가 0.852M임을 확인하였다.

Table 1. 실험에 사용한 탈회 완충 용액의 조성

Composition	Concentration
Lactic acid(mM)	100
Calcium(mM)	15.1
Phosphate(mM)	9.6
Sodium azide	3.08
pH	4.3
Degree of saturation	0.155

Table 2. 실험에 사용한 재광화 완충 용액의 조성

Composition	Concentration
Lactic acid(mM)	10
Calcium(mM)	31.2
Phosphate(mM)	12.0
Sodium azide	3.08
Fluoride(ppm)	2
pH	4.3
Degree of saturation	0.339

② 탈회 완충용액의 제조

Stock 용액을 이용하여 칼슘 15mM, 인 9.5mM NaN₃ 3.08mM, lactic acid 100mM을 함유하고 포화도가 0.155가 되도록 탈회용액을 제조한 후, 8N KOH 표준용액을 이용하여 pH meter(Advanced Ion Selective Meter 920, Orion Research, U.S.A) 계측하에 pH 4.3이 되도록 조절하였다. 위의 용액을 이온 자동분석기(790 Personal IC, Metrohm, Ion analysis, Switzerland)로 분석하여 제조된 용액의 농도가 칼슘 15.1mM, 인 9.6mM 임을 확인하고 시편의 탈회용액으로 사용하였다(Table 1).

③ 재광화 완충용액의 제조

농도 100ppm의 염화불소 표준용액을 이용하여 불소농도 2ppm인 포화도를 갖는 용액을 제조하기 위하여, stock 용액을 이용하여 아래 Table 2의 조건으로 제조하고 이를 자동분석기(790 Personal IC, Metrohm, Ion analysis, Switzerland)로 분석한 다음 재광화 용액으로 이용하였다.

3) 치아 우식의 형성과 분석전 시편의 처리

총 16 개의 시편 중 8개를 50cc 플라스틱 용기에 30cc의 탈회완충용액을 채우고 용액에 시편이 잠기도록 한 후 실온에서 보관하였다. 6일 후 탈회가 일어남을 확인하고, 우식이 일어난 면을 #400부터 #1200까지 carbon paper로 표면을 처리한 후 최종적으로 감마 알루미나를 이용하여 미세연마하였다.

4) 재광화와 분석전 시편의 처리

나머지 8개의 시편도 우식 용액에서 제거하고 탈회 시편을 각각 재광화 용액 50cc가 담긴 plastic 용기에 담근 후 10일 후 용기에서 꺼내어 위와 같은 방법으로 표면을 미세연마하였다.

5) EPMA분석과 통계처리

SEM관찰을 위해 검사할 표면을 얇게 금으로 도포하고

BSE image로 우식과 재광화된 표면을 확인한 다음 EPMA-1600(Shimadzu, Japan)으로 3가지 원소(Ca, P, F)에 대하여 가속전압 20kV, 범전류 20nA하에 정량분석을 실시하였다.

위 결과를 one sample t-test ($p<0.05$)로 통계처리 하였다.

III. 연구결과

1. 탈회 전 치아의 칼슘, 인, 불소의 정량적 분석

분석한 3가지 원소에 대해 칼슘과 인의 성분은 평균적으로 칼슘이 49.76%, 인이 39.8%, 불소가 0.28% 정도 차지하고 있다(Table 3, 4, 5).

2. 탈회 후의 칼슘, 인, 불소 성분의 정량적 분석

분석한 3가지 원소에 대해 칼슘은 탈회 후 탈회 전에 비해 평균적으로 5.57%, 인은 5.07%, 불소는 0.01% 정도 감소하였다. 탈회 완충 용액에 접촉 후 칼슘과 인은 5~6% 정도의 감소를 보였지만($p<0.05$) 불소는 거의 변화가 없었다(Fig. 1, Table 3, 4, 5)

3. 재광화 후의 칼슘, 인, 불소의 정량적 분석

분석한 3가지 원소에 대해 칼슘은 재광화 후 탈회시킨 치아에 비해 4.47%, 인은 4.35% 증가양상을 보이고 ($p<0.05$) 불소는 오히려 0.01% 감소하였다. 그러나 불소의 경우 통계학적인 유의차는 없었다. 그리고 탈회 전 치아의 성분과 비교시 칼슘은 80%, 인은 86% 까지 회복을 보였고($p<0.05$), 불소는 1% 감소를 보이지만 불소의 경우 통계학적인 유의차는 없었다.(Fig. 1, Table 3, 4, 5)

Table 3. 탈회 전, 탈회 후, 재광화 후 칼슘 성분의 변화

치아번호	탈회 전(%)	탈회 후(%)	재광화 후(%)	탈회 전-탈회 후(%)	재광화후-탈회 후(%)	재광화후-탈회 전(%)
1	49.15	42.62	47.22	6.53	4.60	1.93
2	49.84	44.07	48.13	5.76	4.06	1.70
3	49.63	44.64	49.16	4.99	4.52	0.47
4	50.81	44.09	48.93	6.72	4.84	1.88
5	49.94	45.14	48.27	4.80	3.13	1.67
6	49.35	44.12	49.01	5.23	4.89	0.34
7	50.00	43.48	49.61	6.52	6.13	0.39
8	49.35	45.36	48.91	3.99	3.55	0.44
평균±S.D	49.76±0.52	44.19±0.88	48.66±0.75	5.57±0.98	4.47±0.92	1.10±0.75

Table 4. 탈회 전, 탈회 후, 재광화 후 인 성분의 변화

치아번호	탈회 전(%)	탈회 후(%)	재광화 후(%)	탈회 전-탈회 후(%)	재광화후-탈회 후(%)	재광화후-탈회 전(%)
1	38.73	33.99	38.15	4.74	4.16	0.58
2	39.57	35.24	38.11	4.33	2.87	1.46
3	39.98	35.73	38.96	4.25	3.23	1.02
4	40.28	36.46	39.82	3.82	3.36	0.46
5	40.34	36.55	39.62	3.79	3.07	0.72
6	39.65	35.63	38.94	4.02	3.31	0.71
7	40.09	31.62	39.47	8.47	7.85	0.62
8	39.73	32.56	39.50	7.17	6.94	0.23
평균±S.D	39.80±0.51	34.72±1.83	39.07±0.66	5.07±1.76	4.35±1.93	0.73±0.37

Table 5. 탈회 전, 탈회 후, 재광화 후 불소 성분의 변화

치아번호	탈회 전(%)	탈회 후(%)	재광화 후(%)	탈회 전-탈회 후(%)	재광화후-탈회 후(%)	재광화후-탈회 전(%)
1	0.21	0.21	0.22	0.00	0.01	-0.01
2	0.28	0.25	0.26	0.03	0.01	0.02
3	0.28	0.24	0.22	0.04	-0.02	0.06
4	0.40	0.37	0.35	0.03	-0.02	0.05
5	0.11	0.19	0.17	-0.08	-0.02	-0.06
6	0.32	0.32	0.33	0.00	0.01	-0.01
7	0.38	0.34	0.35	0.04	0.01	0.03
8	0.28	0.25	0.26	0.03	0.01	0.02
평균±S.D	0.28±0.09	0.27±0.07	0.27±0.07	0.01±0.04	-0.01±0.02	0.01±0.04

4. 통계학적인 분석

탈회와 재광화 후의 칼슘과 인의 성분변화를 one sample

t-test로 분석한 결과 칼슘과 인의 성분은 유의차를 보였고, 불소의 경우는 통계학적인 유의차는 없었다.

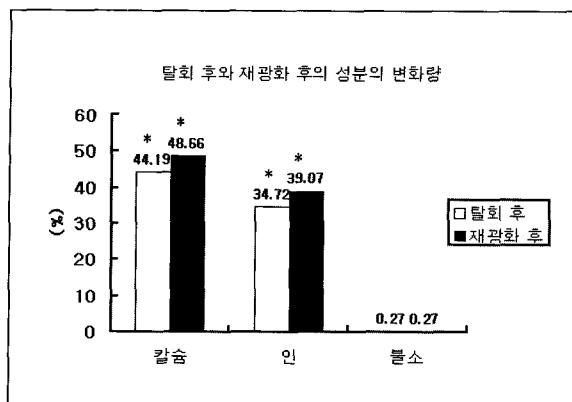


Fig. 1. 탈회 및 재광화 후의 법랑질 표면에서의 칼슘, 인, 불소의 변화량

* Statistically significant

IV. 총괄 및 고찰

1960년대 이래로 경조직의 성분에 대한 정량적, 정성적인 분석방법이 모색 되어왔다. Calonius와 Visapaa^[18]는 치아와 뼈를 분석하는데 x-ray emission spectrography를 사용하였고, Goldman 등^[19]은 피질골과 치석을 분석하는데 laser spectroscopy를 사용하였으며, Nixon 등^[20]은 치아내의 구리와 비소의 성분을 neutron activation analysis를 사용하여 분석하였다. 그러나 이러한 서로 다른 방법에 의한 측정결과들은 서로 일치하지 않았고 미세구조와의 연관성도 부족하였다.

그러나 이러한 문제들은 electron probe를 통한 분석을 통해 해결되었는데 이 분석법은 x-ray의 방출에 근거를 하며, 지름이 굉장히 작은 ($1\sim10\mu$) 전자광선이 시료에 충돌시 시료를 구성하고 있는 여러 가지 원소의 성분을 포함하는 특성 방사선을 형성하게 되면 화학적 성분의 특성은 방출된 x-ray 광장의 길이를 통하여 인식할 수 있고, 방사선의 강도를 기록함으로써 성분의 정량적인 분석을 시행할 수 있다.

이러한 electron probe를 통한 분석 방법은 주로 금속학이나 지질학적인 분석에 사용되었는데, 생물학적인 분석에도 그 효용성이 밝혀진 연구들이 있다. Mellors와 Carroll 등^[21]은 인간의 활액막과 관절강에서 철과 크롬의 성분을 밝혀내었고, Capitant 등^[22]은 폐에서 실리콘, 알루미늄, 철, 칼슘, 마그네슘과 sulfur 성분을 정량 분석하였다.

1961년 Boyde 등^[23]은 이러한 electron probe에 의한 방법을 치아 조직에 적용하여 관간 상아질에 비해 관주 상아질에 더 많은 칼슘이 포함되어 있다는 것을 보고한 이후 electron probe를 통한 치아조직의 정량적, 정성적인 분석은 치과영역에서 많은 성과를 보였다.

그러나 이러한 electron probe를 통한 치아조직의 분석은

몇 가지의 한계점을 갖는다. 일단 시료의 표면 상태가 결과에 많은 영향을 미치는데, 미세 연마가 잘되어야 전자빔의 산란현상을 최소화 할 수 있어 오차를 줄일 수 있고, 균일한 강도를 얻을 수 있다. 그러나 치아의 경우 탈회가 일어나면 이러한 미세 연마 과정에서 탈회된 부위가 떨어져 나갈 수 있기 때문에 신중하게 시행하여야 한다. 그리고 또한 아직 치아의 수산화인회석에 대한 명확한 기준 성분 비율을 밝혀내지 못하고 있기 때문에 치아의 성분 분석 시 광물의 수산화인회석의 성분비를 기준으로 분석을 시행해야 하는 단점이 있다.

1965년 Backer Dirks 등^[15]은 8세 아동에서 초기 우식 병소인 백색 반점이 타액의 재광화 능력으로 1년 후 50% 정도 사라짐을 관찰하여 이러한 초기 우식이 다시 재광화될 수 있음을 보고하였다. 치아의 법랑질은 칼슘과 인을 주 성분으로 하는 dicalcium phosphate, tricalcium phosphate, octacalcium phosphate, 수산화인회석 등 여려 가지 복합체로 구성되어 있는데, 이 중 가장 안정되고 산에 대한 저항력이 큰 것은 수산화인회석 형태이다. 치아가 산에 노출되면 이러한 칼슘과 인의 결합이 깨지게 되고 용해되어 법랑질 표면에 공포가 형성되게 된다. 그러나 용해가 비교적 덜 일어나는 층외각 층(surface layer)이 존재하는데 이에 대한 설명으로는 아래 조직의 낮은 용해도, 재침전의 결과, 칼슘과 인의 상호 확산(coupled diffusion), 그리고 층외각 층은 더 높은 불소의 함량을 보이며 이 곳에서는 단자화학적인 변형만 일어난다는 solubility gradient theory^[24]에 의한 것 등이 있다.

1986년 Theuns 등^[25]은 층외각 층의 광물질의 함량은 불화 인회석의 함량에 따라 달라진다고 주장하였고, Driessens 등^[26]은 이러한 불소의 표면 농도에 따라 표면하층(subsurface layer) 병소의 깊이가 달라진다고 하였다. 따라서 비교적 안정된 $10\sim30\mu$ 정도의 이러한 층외각 층 아래로 실제적으로 탈회가 일어나는 표면하층(subsurface layer)이 존재하게 된다.

재광화는 탈회된 병소의 복구를 의미한다. 이러한 재광화는 탈회과정에 의해 형성된 공포에 칼슘과 인 이온이 침투하고 이곳에 새로운 인회석 결정(apatite crystals)을 형성하여 이루어진다. 그러나 이러한 구강 내에서는 이러한 이온의 침투를 방해하는 많은 요소들이 알려져 있다. 1981년 Koutsoukos 등^[27]은 유기 기질에 덮여 있기 때문에 법랑질 결정 자체가 매우 반응성이 작은 seed material이라고 주장하였고, Featherstone 등^[28,29]은 법랑질의 재광화는 외부용액(external fluids)으로부터 이온들의 확산에 의해 세한된다고 주장하였다. 이러한 재한 요소를 극복하기 위해서는 결정형태의 seed material의 접근과 과포화 정도가 필수적인데, 후자의 경우는 pH gradient 같은 이온들의 유동성에 달려있다. 병소의 전방(inner zone, translucent zone)에

서 pH가 증가하게 되면 재광화는 효과적으로 이루어지는 데, 공포내의 용액에서 이온성분이 빠져나가게 되면서 병소의 본체로 이온들의 운반이 가속화되기 때문이다. 그러나 ten cate 등^{30,31)}은 이러한 재광화의 과정에서는 불소의 존재와 농도가 중요하다고 주장하였고, 소량의 불소의 존재도 이러한 제한 요인을 극복하는데 도움이 되고 재광화를 촉진한다고 주장하여 재광화 과정에서의 불소의 역할이 매우 중요함을 주장하였다.

이번 실험은 *in vitro* 상에서 8개의 우식이 없는 인간의 소구치의 협설면에 인공적으로 제조된 우식 완충 용액을 통해 초기 우식을 형성하고, 다시 재광화 용액에 담구어 우식 병소의 재광화 정도를 electron probe를 통해서 분석하였다. Table 1의 조성으로 6일 정도 담구어 두었을 시 육안으로도 백색 병소를 확인 할 수 있었는데 이 때 칼슘과 인의 성분이 5%정도 빠져나간 것으로 나타났다. 그 후 Table 2 조성의 재광화 용액에 10일 정도 넣었을 때 육안으로도 백색 병소의 소실을 어느 정도 확인 할 수 있었고 거의 대부분이 재광화됨을 알 수 있었다. 그러나 이번 실험은 탈회 후 재광화 과정을 거친 뒤의 성분만을 분석한 것으로 실제로 이들이 어떤 형태의 결정을 형성하였는지는 알 수 없었다. 가장 안정된 형태의 수산화 인회석의 형태로 재생되었다면 가장 효과적이지만, dicalcium phosphate, tricalcium phosphate, oxycalcium phosphate의 결정구조를 갖는다면 구강내 치태와의 접촉이나, 산의 공격을 받으면 다시 용해될 가능성이 있다. 또한 이러한 재광화 과정이 온도의 변화가 심한 구강 환경과, 이온의 운반을 막는 여러 가지 유기 기질의 존재, 그리고 항상 이러한 재광화 용액과 접촉하고 있는 것이 불가능하다는 점에서 *in vivo* 상태의 연구가 필수 불가결하다.

그러나 본 실험결과를 토대로 재광화에 사용된 과포화 완충용액은 탈회 시 빠져나간 칼슘과 인 성분의 공포사이로 다시 이러한 칼슘과 인을 uptake 시킬 수 있는 능력은 충분히 갖고 있다고 사료된다.

V. 결 론

본 연구는 *in vitro*상에서 우식 완충용액을 통해 초기 우식을 형성하고, 다시 재광화 용액에 담근 후 치아 법랑질을 구성하는 3가지 성분(Ca, P, F)의 변화를 electron probe micro-alalyzer 를 통하여 분석한 결과 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. 탈회 전 정상 법랑질에는 칼슘이 49.76%, 인이 39.80%, 불소가 약 0.28%를 차지하였다.
2. 탈회 완충용액에 담근 후 칼슘은 탈회 전에 비하여 5.57%, 인은 5.07% 감소 양상을 보였으나, 불소는 0.01%의 감소를 보였으나 통계학적인 유의차는 없었다

3. 재광화 후 탈회 후와 비교하였을 때 칼슘은 4.47%, 인은 4.35%의 증가양상을 보였고, 불소는 탈회 직후에 비해 0.01% 감소하였으나 통계학적인 유의차는 없었다.

본 연구결과 *in vitro* 상에서 과포화 완충 용액은 탈회된 치아의 초기 우식 부위로 칼슘과 인을 효과적으로 uptake 시켜 재광화를 촉진하는 것으로 나타났으나 이러한 재광화 과정이 온도 변화가 심하고 이온의 운반을 막는 여러 가지 유기기질이 존재하며, 항상 이러한 재광화 용액과 접촉하는 것이 구강내 환경에서는 불가능하기 때문에 추후 *in vivo* 상태에서의 보강된 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Cristensen GJ. : A new challenge-root caries in mature people. J Am Dent Assoc 1996;127:379-380.
2. Shay K. : Rot caries in the older patient Dent Clin North Am 1997;41:763-793.
3. Holmen L., Thystrup A., Featherstone JDB., Fredevo L., Shariati M. : A scanning electron microscopic changes during development of enamel caries in vitro. Caries Res 1985;19:355-367.
4. Hayashi Y. : High resolution electron microscopy of enamel crystallites demineralized by initial dental caries. Scanning Microscopy 1995;9:199-206.
5. Frank RM., Capitanat M., Gono J. Electron probe studies of human enamel. J Dent Res 45(Suppl):672-682.
6. Takuma S., Ogiwara H., Suzuki H., : Electron probe and electron microscope studies of carious dentinal lesions with a remineralized surface layer. Caries Res 1975;9:278-285.
7. Hals E., Tveit AB., Totdal B.: X-ray microanalysis of dentine : A review. Scanning Micros. 1988;2:357-369.
8. Clarkson BH., Hall DL., Heilman JR., Wefel JS. : Effect of proteolytic enzymes on caries lesion formation in vitro. J Oral Pathol 1986;15:423-429.
9. Clarkson BH., Wefel JS., Miller I. : A model for producing caries-like lesion in enamel and dentin using oral bacteria in vitro. J Dent Res 1984;63:1186-1189.
10. Figgitt FF., Graves CN., Evaluation of the effect of F in acidified gelatin gel on root surface lesion development in vitro. Caries Res 1988;22:145-149.
11. Shay K. : Root caries in the older patient. Dent Clin North Am 1997;41:763-793.
12. Mellberg JR., Sanchez M. : Remineralization by a monofluorophosphate dentifrice in vitro root dentin softened by artificial caries. J Dent Res 1986;65:959-962.
13. Moreno EC., Zahradnik RT. : Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. J Dent Res 1974;53:226-235.
14. 이찬영 : 산 완충용액을 이용한 인공 치아우식 형성. 연세치대 논문집. 1992;7:34-41.
15. Backer Dirks : Posterior changes in dental enamel. J Dent Res 1965;9:396-402.
16. Feagin F.F. : Calcium phosphate and fluoridated depositions on enamel surfaces. Calcif. Tiss. Res. 1971; 8:154-164.
17. J.M. Ten Cate : Remineralization of artificial enamel

- lesions in vitro. *Caries Res* 1977;11:277-286.
- 18. Calonius P.E.B., Visapaa A. : The inorganic constituents of human teeth and bone examined by X-ray emission spectrography. *Arch Oral Biol* 1965;10:9-13.
 - 19. Goldman H. M., Ruben M. P., Sherman D. : Application of laser spectroscopy to analysis of inorganic components of calcified tissues. *Oral Surg.* 1964;17:102-103.
 - 20. Nixon G. S., Smith H. : Estimation of arsenic in teeth by activation analysis. *J Dent Res* 1960;39:514-516.
 - 21. Mellors R. C., Carroll K. G. : A new method for local chemical analysis of human tissue. *Nature*. 1961;192:1090-1092.
 - 22. Capitant M., Goni J., Rose Y., Roujeau J. : Contribution a tetude de tempoussierage mineral les tissus bronchiques. *Bull. Soc. Franc. Miner. Cristal.* 1964;87:300-315.
 - 23. Boyde A. et al : Application of the scanning electron probe X-ray microanalyzer to dental tissues. *J Ultrastruct Res* 1961;5:201-207.
 - 24. Anderson P., Elliott J. C. : Scanning X-ray microradiographic study of the formation of caries-like lesions in synthetic apatite aggregates. *Caries. Res.* 1985; 19:403-406.
 - 25. Theuns H. M., Driessens F. C. M., Vandijk J. W. E. : Lesion formation in abraded human enamel. *Caries Res* 1986;20:510-517.
 - 26. Driessens F. C. M., Theuns H. M., Heijligers H. J. M., Borggreven J. M. P. M. : Microradiography and electron microprobe analysis of some natural white and brown spot enamel lesions with and without laminations. *Caries Res* 1986;20:398-405.
 - 27. Koutsoukos P. G., Nancollas G. H. : The kinetics of mineralization of human dentin in vitro. *J Dent Res* 1981;60:1922-1928.
 - 28. Featherstone J. D. B. : Remineralisation of artificial carious lesions in vivo and in vitro. In: Demineralisation and remineralisation of the teeth, S. A. Leach and W. M. Edgar, Eds., Oxford: IRL Press Ltd., 1983:89-110.
 - 29. Featherstone J. D. B. : Diffusion phenomena and enamel caries development. In: Cariology Today, B. Guggenheim, Ed., Basel: S. Karger AG., 1984:259-268.
 - 30. Ten Cate J. M., Arends J. : Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 1977;11:277-286.
 - 31. Ten Cate J. M., Jongebloed W. L., Arends J. : Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. The influence of flourides and diphosphonates on short and long term remineralization. *Caries Res* 1981;15:60-70.