



# Journal of Korean Society of Dental Hygiene

## Original Article 칼슘함유량에 따른 유산균 발효유의 치아부식증 예방에 대한 연구

김경희<sup>1,3</sup> · 김다은<sup>1</sup> · 김애옥<sup>1</sup> · 신애리<sup>1</sup> · 정성숙<sup>1,2</sup> · 최충호<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>전남대학교 치의학전문대학원 예방치과학교실 · <sup>2</sup>전남대학교 치의학전문대학원 치의학연구소 ·

<sup>3</sup>한영대학 치위생과

## A study of dental erosion prevention by calcium contents of fermented milk

Kyung-Hee Kim<sup>1,3</sup> · Da-Eun Kim<sup>1</sup> · Ae-Ok Kim<sup>1</sup> · Ae-Ri Shin<sup>1</sup> · Seong-Soog Jeong<sup>1,2</sup> · Choong-Ho Choi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Preventive & Public Health Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University

<sup>2</sup>Dental Science Research Institute, School of Dentistry, Chonnam National University

<sup>3</sup>Department of Dental Hygiene, Hanyeong College

**Corresponding Author:** Choong-Ho Choi, Department of Preventive & Public Health Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University, 33 Yongbong-ro, Buk-gu, Gwangju 61186, Korea, Tel: +82-62-530-5839, Fax: +82-62-530-5835, E-mail: hochoi@chonnam.ac.kr

### ABSTRACT

**Objectives:** The present study aimed to evaluate the preventive effects of exposure to liquid fermented milk containing various concentrations of added calcium on dental erosion, and to investigate the optimal concentration of calcium effective in reducing dental erosion. **Methods:** The present study consisted of a total of 6 experimental groups: a mineral water group, a fermented milk with no added calcium (0%) group, and four fermented milk with various concentrations of added calcium (0.1%, 0.5%, 1%, and 2%) groups. Twelve specimens were immersed for 1, 3, 5 and 10 minutes in each experimental drink and the change in surface microhardness was measured. Additionally, the surface was observed using a scanning electron microscope. **Results:** The difference in surface microhardness before and after 10 minutes of immersion in the experimental drink was the highest in the Ca 0% group, followed by the Ca 0.1%, 0.5%, 1%, 2% group and the mineral water group, in that order. The groups with a calcium concentration of more than 0.5% showed statistically significant differences in surface microhardness compared to the Ca 0% group. In addition, when the surface morphology of enamel was observed under a scanning electron microscope, the results showed that the highest level of surface damage was observed in the Ca 0% group, followed by the Ca 0.1%, 0.5%, 1%, 2% group, in that order. **Conclusions:** The present study confirms that a higher calcium concentration in fermented milk is associated with a higher possibility of preventing dental erosion. The addition of 0.5% calcium, which is a relatively low concentration, did not completely prevent dental erosion, but significantly inhibited dental erosion compared to fermented milk without any added calcium. Therefore, it is suggested that consumers should be educated and provided with guidance to consider the calcium content when choosing fermented milk.

**Key Words:** Calcium, Dental erosion, Fermented milk

**색인:** 유산균 발효유, 치아부식증, 칼슘

## 서론

현대인들의 구강위생수준이 향상되면서 치아우식증의 발생율은 감소하였지만 치아부식증의 발생율은 계속해서 증가하고 있다[1]. 치아우식증과는 다르게 치아부식증은 세균의 작용 없이 산의 접촉과 같은 화학적인 작용에 의해 치아 경조직이 손실되는 것으로 정의되고 있으며[2], 다원인성인 질병이지만 산성 음식과 같은 식이 요소가 주된 외인성 요인으로 알려져 있다[3]. 실제 산성음료의 섭취 증가로 인한 생활 습관의 변화는 세계적으로 치아부식증 유병률의 증가로 이어지고 있으며, 특히 어린이와 청소년에서 30~68%의 높은 유병률이 보고되고 있다[4,5]. 이 중 새로 맹출된 영구치를 가진 어린이의 경우 법랑질의 구조가 미성숙 되어 완전히 광화되지 않은 상태이므로 산에 의해 더 쉽게 탈회될 수 있기 때문에[6] 어린이에게서 무분별한 산성음료의 섭취는 중요하다고 할 수 있다.

산성음료의 섭취로 인한 치아부식증의 예방을 위해 많은 방법들이 연구되고 있는데, 이 중 가장 알려진 방법으로는 산성 음료에 칼슘, 인산염, CPP-ACP 등과 같은 예방물질을 첨가하는 것이다. 그 중 산성음료에 칼슘을 첨가한 예방효과에 대하여 국외연구에서 Hara와 Zero[7]는 칼슘이 함유되어 있는 음료와 함유되어 있지 않은 음료를 치아에 노출시켰을 때 칼슘이 함유되어 있는 음료에서 법랑질 탈회를 감소시킴을 확인하였다. 그리고 국내연구에서 김 등[8]은 소의 치아를 칼슘 함량이 다른 시판중인 유산균 발효유에 침지한 결과 칼슘 함량이 많은 유산균 발효유에서 치아부식증 유발 위험도가 낮아짐을 보고하였고, 이 등[9]은 숙취해소음료에 칼슘을 첨가한 후 소의 치아를 침지하여 법랑질 표면미세경도 변화와 법랑질 형태를 관찰한 결과 칼슘이 치아부식증을 억제함을 관찰하였다.

치아부식증 예방물질로 연구되고 있는 젖산칼슘은 무취·무미이고 물에 쉽게 녹으며 식품에 안전하게 첨가할 수 있다[10]. 이전 연구[8,9]의 결과를 바탕으로 산성음료로 인한 치아부식증의 예방 효과를 높이려면 농도가 높은 칼슘을 첨가하면 되지만, 고농도의 칼슘 첨가는 전신적으로 신장 결석의 위험이 있고 다른 미네랄의 흡수를 방해하여 인체에 안전성 문제가 나타날 수 있으며, 음료에서는 맛을 변화시키는 부작용이 일어난다[11]. 그러므로 위와 같은 문제를 일으키지 않으면서 치아부식증 예방에 효과적인 농도의 칼슘을 이용하는 방법을 고려할 필요가 있다. 이와 관련하여 Scaramucci 등[12]은 아주 낮은 농도인 0.04%의 젖산칼슘 5수화물 첨가가 치아부식증을 완벽히 예방할 수는 없었지만 칼슘을 첨가하지 않은 것보다는 유의미하게 치아부식증을 감소한다고 하였고, 그 이외에도 많은 연구에서 0.04%의 소량의 칼슘 첨가가 치아부식증의 가능성을 줄인다고 보고하였다[10,13]. 따라서 본 연구에서는 치아부식증을 예방하는 방법으로 산성음료 중 하나인 액상 유산균 발효유를 이용하여 인체에 무해하며 맛을 변화시키지 않는 소량의 칼슘 첨가가 치아부식증을 예방하는지 평가하고 치아부식증 감소에 영향을 주는 적정 칼슘 농도를 알아보고자 한다.

## 연구방법

### 1. 연구재료

#### 1) 실험음료

본 연구에서 이용한 실험음료는 김[14]의 연구에서 가장 높은 치아부식증 가능성을 나타낸 유산균 발효유를 선택하였다. 즉 양성대조군으로 유산균 발효유를 이용하였고, 음성대조군으로 생수를 사용하였다<Table 1>.

**Table 1.** Drinks used in the experiment

Classification	Brand name	Manufacture
Mineral water (negative control)	Jeju SamDaSoo	Jeju Special Self-Governing Province Development Corp
Fermented milk (positive control)	Enyo Applecarrot	Maeil

#### 2) 칼슘

본 연구에서 유산균 발효유에 첨가되는 칼슘은 식품첨가제 중 하나인 젖산칼슘(Calcium Lactate Pentahydrate, Junsei Chemical CO, Ltd. Japan: 분자식  $C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O$ , 분자량 308.30)으로 선정하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 시편준비

소의 상악에서 절치를 발거한 후 실험에 이용할 때까지 70% ethanol에 보관하였다. 시편을 제작하기 위해 보관한 소의 절치 중 법랑질에 치아우식증과 균열이 없는 것을 선택하였으며 흐르는 증류수에 세척하였다. 그리고 직경 5 mm의 원통형 드릴을 사용하여 법랑질 시편을 취득한 후 아크릴 봉에 아크릴 레진을 이용하여 포매를 하였으며 60, 240, 600, 1200 grit의 sand paper (Carbimet, Buehler, Illinois, USA)로 연마하여 시편을 완성하였고 사용 전까지 마르지 않게 습한 상태로 보관하였다. 총 시편의 수를 결정하기 위해 이와 유사한 연구[8]를 G\*power 3.1.3 program에 적용하였으며 군당 12개의 시편을 이용하였을 경우 power 값이 100%로 나타났기에 총 6개의 군이므로 72개의 시편을 준비하였다.

#### 2) 유산균 발효유의 칼슘 첨가

유산균 발효유 100 ml에 젖산칼슘을 각각 0.1, 0.5, 1, 2 g을 첨가하여 0.1, 0.5, 1, 2%의 칼슘이 함유된 실험군을 구성하였다<Table 2>. 유산균 발효유에 젖산칼슘을 첨가한 후에는 교반하여 완전히 용해될 수 있도록 하였다.

**Table 2.** Treatment group used in the experiment

Group	Treatment
1 Mineral water (negative control)	Mineral water
2 Ca 0% (positive control)	Fermented milk
3 Ca 0.1%	Fermented milk + Ca 0.1%
4 Ca 0.5%	Fermented milk + Ca 0.5%
5 Ca 1%	Fermented milk + Ca 1%
6 Ca 2%	Fermented milk + Ca 2%

### 3) 시편의 초기 표면미세경도 측정

시편을 표면경도계(Fm-7, Future-tech Corp, Tokyo, Japan)에 압인 방향의 직각이 되도록 위치시키고 Vickers diamond indenter를 200 g의 하중으로 시편에 10초간 압인시킨 후 400배의 배율에서 압흔 크기를 측정하여 법랑질의 표면미세경도를 측정하였다. 각 시편 당 상·하·좌·우 4부위의 표면미세경도를 측정하여 평균값을 구하였으며 이 중 280~320 VHN 범위의 시편 72개를 각 군당 통계적으로 유의한 차이가 없도록 12개씩 배분하였다.

### 4) 실험음료의 pH 및 적정산도 측정

생수와 칼슘 농도가 다른 각 유산균 발효유 20 ml를 pH meter (3-Star; Thermo Orion, Beverly, CA, USA)를 이용하여 pH를 측정하였고, 측정된 실험음료에 1 M의 NaOH를 0.05 ml씩 첨가하면서 pH 변화를 확인하여 pH 5.5와 pH 7.0에 도달할 때까지의 양으로 적정산도의 값을 구하였다. 측정하는 동안 200 rpm의 속도로 계속 교반하였고 3회 반복 측정하여 평균값을 획득하였다.

### 5) 실험음료의 시편침지

냉장보관 된 실험음료는 사용하기 6시간 전에 실온에 방치한 후 사용하였고 군당 20 ml씩 3개의 용기에 분주한 후 각 용기에 시편을 4개씩 침지하였다. 침지시간은 1분, 3분, 5분, 10분으로 하였고 침지방법은 처음 1분 동안 노출한 후 표면미세경도를 측정하고 그 후 시편을 2분간 추가 노출하여 3분의 침지시간을 맞추는 방법으로 총 10분까지 시행하였다. 침지 시 실험음료의 성분이 침전되는 것을 방지하기 위해 200 rpm의 속도로 교반 하에 진행하였다.

### 6) 시편처리 후 평가

시편을 시간별로 실험음료에 침지한 후 흐르는 증류수에 1분 동안 세척하고 초기 표면미세경도를 측정하였던 인접한 부위에 표면미세경도를 재 측정하여 표면미세경도 변화량으로 치아부식증 유발 및 예방을 평가하였다. 또한 법랑질의 표면을 관찰하기 위해 최종 표면미세경도 측정을 마친 시편 중 군당 대표성을 띠는 시편을 선택하여 주사전자현미경(JSM-7500F, JEOL, Tokyo, Japan)으로 15 kV에서 10,000배와 50,000배의 배율로 관찰하였다.

### 7) 자료 분석

통계분석은 SPSS (Statistical Package for Social Science 21.0, Chicago, USA) 통계프로그램을 사용하였다.

생수 및 다양한 농도로 칼슘을 첨가한 유산균 발효유 간의 pH와 적정산도 값의 차이를 알아보고자 비모수 방법인 Kruskal-Wallis test를 한 후 Mann-Whitney test로 사후검정을 하였다. 표면미세경도의 값은 정규성 검정과 분산 동질성 검정을 만족하여 모수 방법인 paired t-test와 one way ANOVA를 이용하였다. 추가로 군간 1~10분간의 시간 경과에 따른 표면경도 변화 양상 차이는 repeated measures ANOVA를 사용하였고 분산분석의 사후검정은 Tukey test를 이용하였다.

## 연구결과

### 1. 실험음료의 pH 및 적정산도 분석

본 연구에 사용된 6군의 실험음료의 pH는 차이가 나타났다<Table 3>. 이 중 칼슘 농도가 다른 5군의 유산균 발효유 중에서 Ca 0% (3.48±0.02)군이 가장 pH가 낮았고 Ca 2% (3.95±0.01)군이 가장 pH가 높았으며 칼슘 농도가 높아질수록 pH가 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.05$ ).

적정산도 pH 5.5의 경우 칼슘 농도가 다른 5군의 유산균 발효유 간에 차이가 나타나지 않았으나 ( $p > 0.05$ ), 적정산도 pH 7.0의 경우 칼슘 농도가 Ca 0.5%군 이상부터 Ca 0%군에 비해 통계적으로 유의하게 증가하였다<Table 3>.

**Table 3.** The pH and titratable acidity of experiment drinks

Unit: Mean±SD

Group	pH*	Titratable acidity (ml)	
		pH 5.5	pH 7.0*
Mineral water (negative control)	7.57±0.03 <sup>e</sup>	-	-
Ca 0% (positive control)	3.48±0.02 <sup>a</sup>	1.25±0.00	1.52±0.03 <sup>a</sup>
Ca 0.1%	3.52±0.01 <sup>a</sup>	1.27±0.03	1.55±0.00 <sup>a</sup>
Ca 0.5%	3.68±0.01 <sup>b</sup>	1.27±0.03	1.62±0.03 <sup>b</sup>
Ca 1%	3.80±0.01 <sup>c</sup>	1.28±0.03	1.65±0.05 <sup>b</sup>
Ca 2%	3.95±0.01 <sup>d</sup>	1.30±0.00	1.68±0.03 <sup>b</sup>

\* $p < 0.05$  by Kruskal-Wallis test

<sup>a,b,c,d,e</sup>The same letter indicates no significant difference by Mann-Whitney test at  $\alpha = 0.05$

### 2. 법랑질 표면미세경도 변화

10분 처리 후 각 군별로 법랑질 표면미세경도는 생수군과 Ca 2%군을 제외하고 칼슘 농도가 다른 4군의 유산균 발효유에서 처리 전에 비해 감소하였다<Table 4>.

군간 비교 시 10분 처리 후 법랑질 표면미세경도가 215.58~297.11 VHN으로 나타났으며 통계적으로 차이를 보였다( $p < 0.001$ ). 칼슘 농도가 다른 5군의 유산균 발효유 중에서 표면경도차( $\Delta$ VHN,

Difference of Vickers hardness number)는 Ca 0%군(81.17±11.94)이 가장 높았으며, Ca 2%군 (1.66±2.78)이 가장 낮게 나타났다<Table 4>. Ca 2%군은 음성대조군인 생수군과 표면경도차에 차이가 나타나지 않았으나( $p>0.05$ ), 다른 4군의 유산균 발효유는 음성대조군에 비해 표면경도차가 크게 나타났다( $p<0.05$ ). 또한 칼슘 농도가 0.5%군 이상부터 Ca 0%군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 나타났으며( $p<0.05$ ), Ca 0.1%군은 유의미하게 치아부식증을 예방할 수 없음을 확인하였다 <Table 4>. 0~10분 사이의 시간 경과에 따른 표면미세경도 변화를 관찰한 결과 Ca 2%군은 음성대조군과 표면미세경도 변화에 차이가 나타나지 않았으나( $p>0.05$ ), 다른 4종의 유산균 발효유는 음성대조군과 표면미세경도 변화에 유의한 차이를 나타냈다( $p<0.05$ )<Fig. 1>.

**Table 4.** Differences in enamel surface microhardness after treatment for 10 minutes

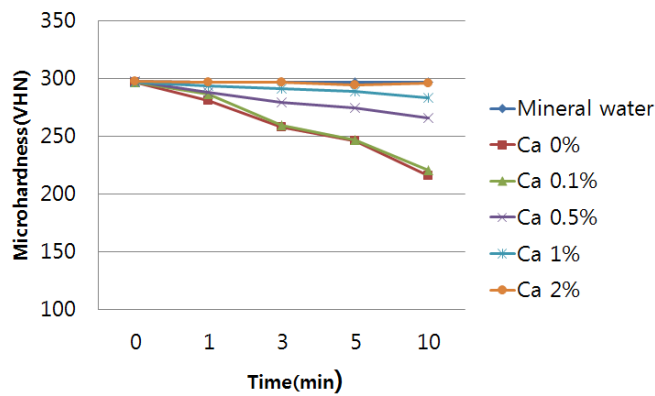
Unit : Mean±SD, VHN

Group	N	Time		Difference**
		Before (0 min)	After (10 min)	
Mineral water (negative control)	12	297.15±9.23	297.11± 8.98	0.33± 1.16 <sup>a</sup>
Ca 0% (positive control)*	12	296.75±8.44	215.58±10.64	81.17±11.94 <sup>d</sup>
Ca 0.1%*	12	296.78±8.38	220.18± 9.41	76.59±13.30 <sup>d</sup>
Ca 0.5%*	12	297.13±9.00	265.56± 8.89	31.57± 7.19 <sup>c</sup>
Ca 1%*	12	296.96±9.63	283.45± 8.60	13.52± 6.91 <sup>b</sup>
Ca 2%	12	297.24±9.24	295.57± 9.24	1.66± 2.78 <sup>a</sup>

\* $p<0.05$  by paired t-test

\*\* $p<0.05$ , by one-way ANOVA

<sup>a,b,c,d</sup>The same letter indicates no significant difference by Tukey test at  $\alpha=0.05$



**Fig. 1.** Changes in enamel surface microhardness (VHN) over exposure time to the experiment drinks. The comparison between groups was performed using the repeated measures ANOVA \* $p<0.05$

### 3. 주사전자현미경에 의한 법랑질 표면형태

실험음료를 10분 동안 노출시킨 후 법랑질의 표면형태를 관찰한 결과 생수군은 표면이 대체적으로 매끄러웠다. 그러나 유산균 발효유군 중 Ca 0%군이 가장 균열이 심하고 손상된 법랑질 표면을 보

여주었고, 그 다음으로 Ca 0.1%군, Ca 0.5%군 순으로 법랑질 표면이 손상되었다. Ca 1%군과 Ca 2%군은 10,000배의 배율에서는 법랑질 표면 손상이 크게 나타나지 않았으나, 50,000배로 확대하여 관찰한 결과 생수군에 비해 미세한 균열이 발견되어 표면이 손상되었음을 확인하였다<Fig. 2>.

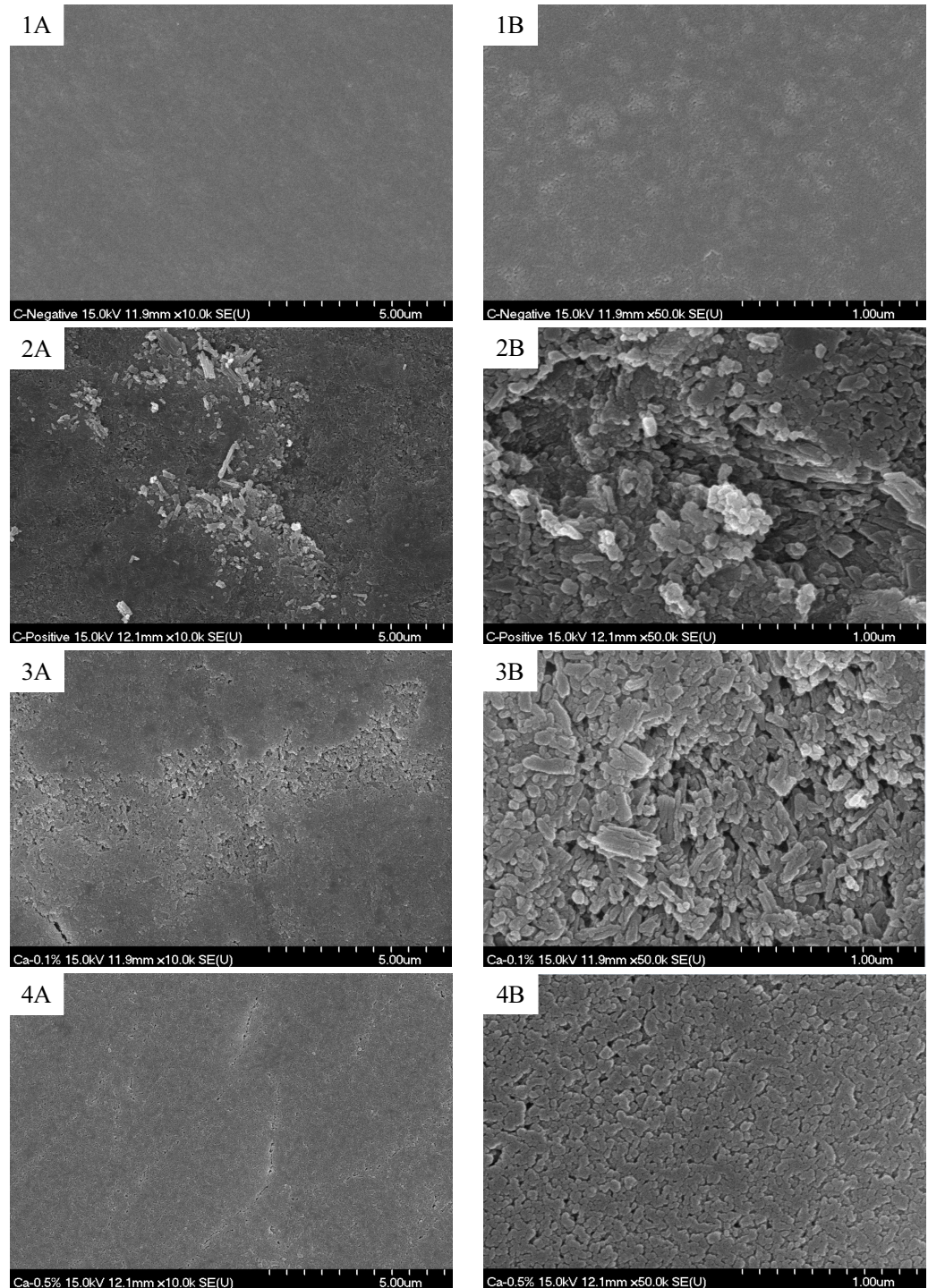


Fig. 2. SEM image of enamel surface after treatment for 10 minutes (1: Mineral water, 2: Ca 0%, 3: Ca 0.1%, 4: Ca 0.5%, 5: Ca 1%, 6: Ca 2% A:  $\times 10,000$ , B:  $\times 50,000$ )

www.kci.go.kr

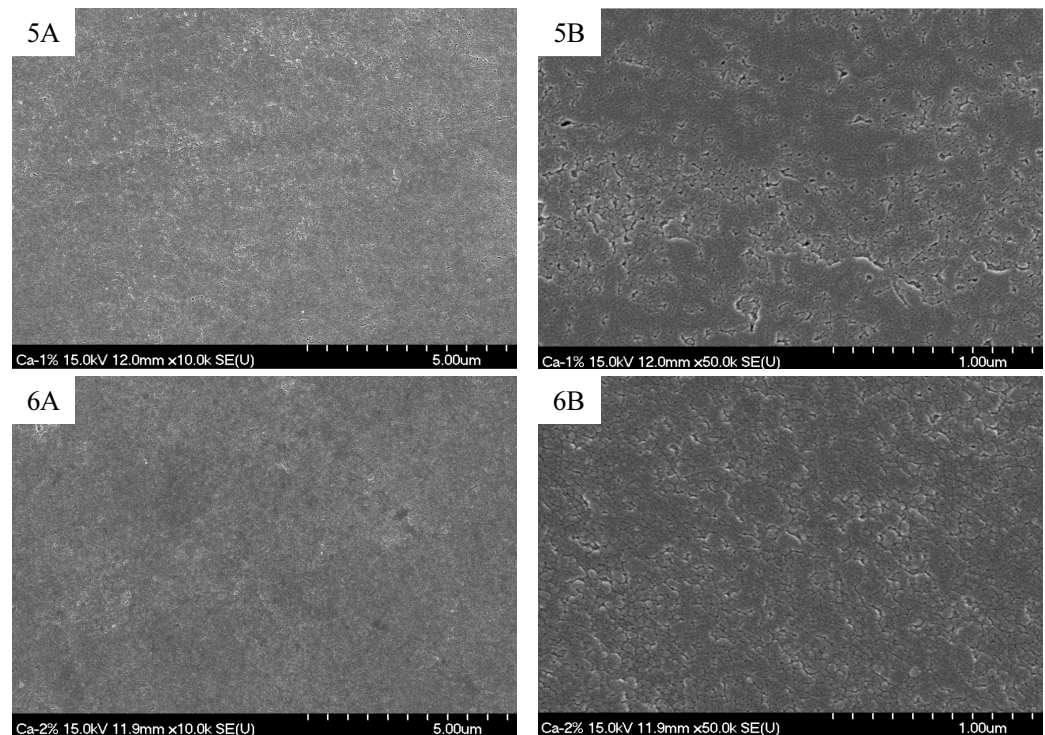


Fig. 2. To be continued

## 총괄 및 고안

유산균 발효유는 다양한 건강증진 효과가 있는 기능성 식품이지만 유산균이 발효되면서 생산되는 유산과 유산균 발효유에 함유된 산 성분으로 인하여 수소이온농도가 높아지므로 치아부식증을 유발할 수 있다[15,16]. 구강 내의 pH가 6.5를 기준으로 pH가 1.0씩 낮아질 때마다 치아 용해도가 7~8배 높아지며[17], 특히 pH가 4.0 이하인 경우 치아부식증의 위험성이 높다고 알려져 있다[18]. 따라서 본 연구에서도 유산균 발효유의 칼슘 첨가에 따른 pH 변화를 측정하여 치아부식증 발생 가능성을 예측해 보고자 하였다. 그 결과 칼슘을 첨가하지 않은 유산균 발효유의 pH는 3.48로 낮게 나타나 치아부식증 위험도가 높음을 확인하였다. 그러나 유산균 발효유에 칼슘 첨가량이 높아질수록 pH가 조금씩 높아졌으며 칼슘 0.5% 이상의 농도부터 칼슘이 들어가 있지 않은 유산균 발효유에 비해 유의하게 높아짐을 관찰하였다. 이는 유산균 발효유에 들어있는 산성 이온과 첨가한 칼슘이 킬레이트 되어 활성화 된 산의 함량을 감소시키므로[19] 결과적으로 pH가 높아지게 되었을 것으로 생각된다.

치아부식증과 관련된 요인 중 pH 이외에 적정산도 또한 중요하다고 알려져 있는데 *in vitro* 연구에서는 음료에 염기성 물질을 첨가하여 측정할 수 있고 염기성 물질의 양이 많이 필요할수록 치아부식증의 가능성은 높다고 할 수 있다[20]. 따라서 본 연구에서도 각 실험음료의 pH가 5.5와 7.0에 도달 때까지 1 M의 NaOH를 첨가하여 필요한 양을 측정함으로써 적정산도를 평가하였다. 기존에 알려진 바에 따라 예상되는 적정산도 값은 칼슘의 함량이 높을수록 치아부식증의 예방 효과가 높을

것으로 생각되기 때문에 낮아질 것이라고 생각하였는데, 본 연구 결과에서는 칼슘의 함량이 높아질수록 필요한 1 M의 NaOH의 양이 증가하여 적정산도가 높게 나타났다. 이는 칼슘이라는 무기질 성분으로 인해 NaOH가 음료 안에 희석되는데 방해가 되었을 가능성을 고려해 볼 수 있으며 이 등[9]의 연구에서도 같은 결과를 보여주어 칼슘이 첨가된 산성음료의 경우 적정산도 보다는 pH가 치아부식증과 관련이 높다는 것을 확인하였다.

산성음료로 발생된 치아부식증은 짧은 시간 내에 빠른 속도로 나타나지만 상대적으로 타액에 의한 재광화는 느리게 나타나므로[21], 산성음료의 섭취로 인한 치아부식증이 발생되기 전에 예방하는 것은 중요하다고 할 수 있다. 산성 음료에 다양한 예방물질을 첨가함으로써 치아부식증을 예방할 수 있는데, 그 중 본 연구에서는 칼슘을 유산균 발효유의 치아부식증 예방첨가물로 선택하였다. 고농도의 칼슘은 치아부식증의 예방 효과를 높일 수 있으며, 이 등[9]도 치아부식증을 억제하는 효과적인 농도로 비교적 고농도인 3%라고 보고하였다. 하지만 칼슘의 경우 1일 섭취 상한선이 2.5 g이므로 [11] 섭취량에 주의가 필요하여 본 연구에서는 인체에 무해한 소량의 칼슘 첨가가 치아부식증을 예방하는지 평가하고 치아부식증 감소에 영향을 주는 적정 칼슘 농도를 알아보고자 하였다. West 등 [10]은 블랙커런트 음료에 0.04%의 칼슘을 첨가한 결과 치아부식증의 예방에 효과적임을 보고하였고, Attin 등[13]도 청량음료에 0.04%의 칼슘을 첨가하여 같은 결과를 보고하였다. 위와 같이 0.04%라는 소량의 칼슘 농도에도 치아부식증을 예방 할 수 있다는 연구들을 바탕으로 본 예비실험에서도 유산균 발효유에 0.04%의 농도가 되도록 칼슘을 첨가한 후 소의 치아를 침지하고 표면미세경도 변화로 치아부식증의 예방 가능성을 확인한 결과 칼슘을 첨가하지 않은 유산균 발효유와 유의한 차이가 없었다. 따라서 본 연구에서는 유산균 발효유의 칼슘 농도가 최저 0.1%가 되도록 하였고, 그 이상의 농도로 각 0.5, 1, 2%가 되도록 칼슘을 첨가하여 변경된 유산균 발효유를 실험군으로 설정하고 칼슘을 첨가하지 않은 원래의 유산균 발효유와 비교하여 치아부식증의 예방효과를 알아보고자 하였다. 그리고 실제로 *in vivo* 상황에서 음료의 치아 접촉은 한번 삼킬 때마다 소요되는 시간과 구강내 잔존시간을 고려하여[19] 본 연구에서 소의 치아에 실험음료 노출시간은 최대 10분으로 설정하였다.

실험 후 표면미세경도 변화를 관찰한 결과 칼슘을 2% 첨가하였을 경우 음성대조군인 생수와 비교 시 표면미세경도에 차이가 없어 치아부식증으로 인한 표면미세경도의 감소는 나타나지 않았다. 그러나 주사전자현미경으로 관찰한 결과 10,000배의 배율에서는 법랑질의 표면에 손상이 크게 보이지 않았지만 50,000배의 배율로 더 크게 확대하여 관찰하니 생수에 비해 미세하지만 균열이 발견되어 치아부식증으로 인한 법랑질 표면 손상이 완전하게 없다고 할 수는 없었다. 또한 2%의 칼슘 농도는 인체에 비교적 고농도에 해당되므로 저농도의 칼슘 첨가에 대하여 관심을 가져야 할 필요가 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 칼슘의 최저농도로 0.1%를 선택하였지만 칼슘을 첨가하지 않은 경우와 통계적으로 유의한 차이가 없어 치아부식증을 예방하지 못하였다. 또한 칼슘을 0.5% 첨가한 군부터 유의한 차이가 나타났는데, 비록 완벽하게 치아부식증을 예방하지는 못했어도 비교적 저농도의 칼슘 첨가가 조금이나마 치아부식증의 예방에 효과가 있음을 관찰하였다.

본 실험에서는 1분이라는 짧은 시간부터 3분, 5분, 10분 동안 소의 치아를 각 실험음료에 침지하였다. 그 결과 생수와 2% 칼슘을 첨가한 유산균 발효유를 제외하고 0.1%, 0.5%, 1% 칼슘을 첨가한

유산균 발효유에서 침지한지 1분부터 침지하기 전에 비해 표면미세경도가 유의하게 감소함을 관찰하였다. 소의 치아를 시편으로 만드는 과정 중 표면미세경도를 측정하기 위해 치아를 매끄럽게 하는 연마 단계를 시행하였고 그 과정에서 최외층의 법랑질 일부가 삭제되므로 실제 치아에 비해 산에 의한 치아부식증의 위험이 더 높았을 것으로 생각되나, 산성음료에 1분이라는 적은 시간의 노출에도 치아부식증의 위험성이 있음을 확인하였다. 결과적으로 본 실험의 경우 유산균 발효유에 칼슘 첨가는 치아부식증의 예방에 도움을 줄 수 있고 칼슘 함량이 높을수록 치아부식증 예방효과 또한 높아짐을 확인하였는데, 이는 산성음료에 함유된 칼슘이 치아부식증을 감소시킨다는 기존의 연구 [7,22,23]와도 일치하였다. 치아부식증의 예방물질로 칼슘 이외에도 다양한 물질들이 연구되어져 왔다. Lussi 등[24]과 Zero[3]는 식품에 의한 치아부식증의 가능성은 식품의 pH도 중요하지만 함유되어 있는 인과 불소의 함량도 유의한 관계가 있다고 보고하였다. 또한 Attin 등[25]은 구연산에 인과 불소를 첨가하였을 경우 치아부식증이 유의하게 감소하였음을 확인하였고, Amaechi 등[26]은 오렌지 주스에 자일리톨과 불소를 혼합하여 첨가하였을 경우 치아부식증을 억제하는데 유용하다고 보고하였다. 따라서 다양한 첨가물질에 따른 유산균 발효유의 치아부식증 예방 효과에 대한 연구도 지속적으로 필요하리라 생각된다.

본 연구에 사용된 유산균 발효유에는 포도당과 다양한 과일농축과즙을 포함하고 있기 때문에 치아부식증 이외에 치아우식증을 유발할 가능성을 생각해 볼 수 있다. 하지만 국내·외 보고된 연구에 따르면 신 등[27]은 유산균 발효유 5종에 *Streptococcus mutans*를 배양한 결과 모든 유산균 발효유에서 *Streptococcus mutans*의 수가 감소함을 보고하였고 이는 유산균이 생성하는 살균물질이 영향을 주었으리라 예상하였다. 또한 Nikawa 등[28]도 유산균 발효유에 함유된 유산균이 *Streptococcus mutans*의 성장을 억제함을 발견하였다. 따라서 세균의 작용에 의해 발생하는 치아우식증은 유산균이 세균의 증식과 성장을 억제하면서 예방할 수 있지만 세균의 작용과 관련 없는 치아부식증은 유산균이 발효하는 과정에서 만들어내는 산으로 인해 치아부식증을 일으켰다고 생각된다.

그리고 본 연구에서는 소의 치아를 사용하였으므로 실제 사람의 치아를 이용하여 실험한 결과는 차이가 있을 수 있으며 구강 내 항상 존재하는 타액의 영향은 고려되지 않아 치아부식증의 결과가 과장되게 나타났을 것으로 추정된다. 타액은 자정작용뿐만 아니라 산에 대한 완충 작용이 있어 산성음료가 희석되는 효과가 있으며 구강 내 존재하는 pellicle 또한 치아부식증의 보호 요인이 되므로 [19] 이러한 구강 내 환경을 고려하여 연구한다면 더 정확한 결과를 얻을 수 있을 것이라 생각된다. 또한 유산균 발효유는 먹는 식품이므로 맛도 중요하다고 할 수 있는데 칼슘을 첨가함에 따라 맛이 변할 수 있기 때문에 그에 대한 연구도 필요하리라 사료된다.

치아부식증을 예방하는 방법으로 본 연구에서는 유산균 발효유에 칼슘을 첨가하였지만, 실제로 대부분은 소비자의 행동에 의존하고 있다. 대표적으로 산의 접촉 시간과 빈도를 감소시킴으로써 산의 노출을 줄이고 구강에서 산성음료를 머금거나 행구는 것을 피하도록 한다 [29]. 또한 산성음료를 섭취한 후 구강을 물로 행구어 구강 내 산을 희석시키고 칫솔질은 바로 하지 않고 타액에 의한 재광화가 일어날 수 있도록 한다 [30]. 더불어 소비자에게 지속적으로 구강보건교육을 통하여 치아부식증과 산성식품과의 관련성에 대하여 인지할 수 있도록 구강보건 전문가의 역할이 중요할 것이다.

본 연구에서는 액상 유산균 발효유에 의한 치아부식증의 예방을 위해 저농도이면서 효과적인 칼슘 농도를 알아보고자 하였고 그 결과 0.5%의 칼슘 첨가는 완벽하지는 못해도 유의미하게 치아부식증을 예방함을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 치아부식증을 예방하기 위해 소비자들에게 올바른 식이지도 및 예방법에 대한 구강보건교육이 필요하리라 생각된다.

## 결론

본 연구에서는 치아부식증을 예방하는 방법으로 산성음료 중 하나인 액상 유산균 발효유를 이용하여 인체에 무해하며 맛을 변화시키지 않는 소량의 칼슘 첨가가 치아부식증을 예방하는지 평가하고 치아부식증 감소에 영향을 주는 적정 칼슘 농도를 알아보고자 하였다. 음성대조군인 생수와 양성대조군인 유산균 발효유 그리고 유산균 발효유에 다양한 농도의 칼슘을 첨가하여(0.1%, 0.5%, 1%, 2%) 총 6개의 실험군을 구성한 후 pH와 적정산도를 측정하였다. 그리고 각 실험군 음료에 12개의 시편을 1분, 3분, 5분, 10분 동안 침지한 후 표면경도계로 표면미세경도 변화량을 측정하고 주사전자현미경으로 표면을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. pH 측정결과 Ca 0%군이  $3.48 \pm 0.02$ , Ca 0.1%군이  $3.52 \pm 0.01$ , Ca 0.5%군이  $3.68 \pm 0.01$ , Ca 1%군이  $3.80 \pm 0.01$ , Ca 2%군이  $3.95 \pm 0.01$ , 생수군이  $7.57 \pm 0.03$ 으로 나타났으며, 칼슘 농도가 높아질수록 pH가 유의하게 높게 나타났다( $p < 0.05$ ).
2. 실험음료에 10분 처리 전 후 표면경도차( $\Delta$  VHN)는 Ca 0%군( $81.17 \pm 11.94$ ), Ca 0.1%군( $76.59 \pm 13.30$ ), Ca 0.5%군( $31.57 \pm 7.19$ ), Ca 1%군( $13.52 \pm 6.91$ ), Ca 2%군( $1.66 \pm 2.78$ ), 생수군( $0.33 \pm 1.16$ ) 순으로 군간에 차이가 나타났다( $p < 0.05$ ). 유산균 발효유군 중 Ca 2%군만이 음성대조군인 생수군과 표면경도차에 차이가 나타나지 않았으며( $p > 0.05$ ), 칼슘 농도가 Ca 0.5%군 이상부터 Ca 0%군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 나타났다( $p < 0.05$ ).
3. 주사전자현미경으로 법랑질의 표면형태를 관찰한 결과 Ca 0%군이 가장 손상된 표면을 보여주고, 그 다음으로 Ca 0.1%군, Ca 0.5%군, Ca 1%군, Ca 2%군 순으로 생수군에 비해 법랑질 표면이 손상됨을 확인하였다.

위와 같이 유산균 발효유에 칼슘 농도가 높아질수록 치아부식증 예방 가능성이 더 높음을 확인하였다. 그리고 비교적 낮은 농도인 0.5%의 칼슘 첨가는 치아부식증을 완벽히 예방하지는 못했지만 칼슘이 첨가되지 않은 유산균 발효유에 비해 치아부식증을 유의미하게 예방함을 관찰하였다. 따라서 소비자들은 유산균 발효유를 섭취할 때 칼슘 함유량을 고려하여 선택하도록 교육과 식이지도가 필요하리라 생각된다.

## Acknowledgements

이 논문은 전남대학교 학술연구비 (2014-2298) 지원에 의하여 연구되었음.

## References

- [1] Linnett V, Seow WK. Dental erosion in children: a literature review. *Pediatr Dent* 2001;23(1): 37-43.
- [2] ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2(Pt2)):241-4.
- [3] Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2(Pt2)):162-77.
- [4] van Rijkom HM, Truin GJ, Frencken JE, König KG, van't Hof MA, Bronkhorst EM, et al. Prevalence, distribution and background variables of smooth-bordered tooth wear in teenagers in the hague, the Netherlands. *Caries Res* 2002;36(2):147-54. <https://doi.org/10.1159/000057874>
- [5] Kazoullis S, Seow WK, Holcombe T, Newman B, Ford D. Common dental conditions associated with dental erosion in schoolchildren in Australia. *Pediatr Dent* 2007;29(1):33-9.
- [6] O'Sullivan EA, Curzon ME. A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. *ASDC J Dent Child* 2000;67(3):186-92.
- [7] Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci* 2008;116(1):60-5. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2007.00513.x>
- [8] Kim MA, Jeong SS, Youn HJ, Park YN, Choi CH, Hong SJ. The erosive effect of some commercial yogurts including different calcium contents on enamel surface. *J Korean Acad Dent Health* 2011;35(3):266-72.
- [9] Lee HJ, Oh HN, Hong SJ, Choi CH. Effect of hangover beverage containing fluoride and calcium on enamel erosion. *J Korean Acad Dent Health* 2012;36(3):177-84.
- [10] West NX, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink. 2. Comparison with a conventional blackcurrant juice drink and orange juice. *J Dent* 1999;27(5):341-4.
- [11] Straub DA. Calcium supplementation in clinical practice: a review of forms, doses, and indications. *Nutr Clin Pract* 2007;22(3):286-96. <https://doi.org/10.1177/0115426507022003286>
- [12] Scaramucci T, Sobral MA, Eckert GJ, Zero DT, Hara AT. *In situ* evaluation of the erosive potential of orange juice modified by food additives. *Caries Res* 2012;46(1):55-61. <https://doi.org/10.1159/000335572>
- [13] Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A. Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Dis* 2005;11(1):7-12. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2004.01056.x>
- [14] Kim KH. The effects of fermented milks on sound enamel surface[Master's thesis]. Gwangju: Univ. of Chonnam National, 2014.
- [15] Lodi CS, Manarelli MM, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem AC, Martinhon CC. Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: *in situ* study. *Arch Oral Biol* 2010;55(1):29-33. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2009.10.009>
- [16] Sim JH, Jeong TS, Kim S. A study on the enamel erosion by fermented milks. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2004;31(4):555-63.
- [17] Gregory-Head B, Curtis DA. Erosion caused by gastroesophageal reflux: diagnostic considerations. *J Prosthodont* 1997;6(4):278-85.
- [18] Choi CH, Youn HJ, Jeong SS, Ha MO, Hong SJ. Effect of drinks on the surface microhardness of artificial carious enamel. *J Korean Acad Dent Health* 2006;30(3):316-24.
- [19] Franklin S, Masih S, Thomas AM. An *in-vitro* assessment of erosive potential of a calcium-fortified fruit juice. *Eur Arch Paediatr Dent* 2014;15(6):407-11. <https://doi.org/10.1007/s40368-014-0130-3>
- [20] Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidic beverage increase the risk of *in vitro* tooth erosion. *Nutr Res* 2008;28(5):299-303. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2008.03.001>
- [21] Kim YJ. The effect of soft drinks on dental hydroxyapatite[Doctoral dissertation]. Seoul: Univ. of Dongguk, 2003.

- [22] Reussner GH, Coccodrilli G Jr, Thiessen R Jr. Effects of phosphates in acid-containing beverages on tooth erosion. *J Dent Res* 1975;54(2):365-70.
- [23] Beiraghi S, Atkins S, Rosen S, Wilson S, Odom J, Beck M. Effect of calcium lactate in erosion and *S. mutans* in rats when added to Coca-Cola. *Pediatr Dent* 1989;11(4):312-5.
- [24] Lussi A, Jäggi T, Schärer S. The influence of different factors on *in vitro* enamel erosion. *Caries Res* 1993;27(5):387-93.
- [25] Attin T, Meyer K, Hellwig E, Buchalla W, Lennon AM. Effect of mineral supplements to citric acid on enamel erosion. *Arch Oral Biol* 2003;48(11):753-9.
- [26] Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. The influence of xylitol and fluoride on dental erosion *in vitro*. *Arch Oral Biol* 1998;43(2):157-61.
- [27] Shin HS, Kim SM, Choi NK, Yang KH, Kang MS. The effect of fermented milk on viable cell count and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2009;36(3): 358-66.
- [28] Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, et al. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of *mutans streptococci*. *Int J Food Microbiol* 2004;95(2):219-23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.006>
- [29] Zero DT, Lussi A. Erosion-chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J* 2005;55(4 Suppl 1):285-90.
- [30] Ahn HY, Lee KH, Kim DE. Erosion of tooth enamel by acidic drinks and remineralization by artificial saliva. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2002;29(1):84-91.