

## 설탕물 양치 전 · 후의 타액 내 칼슘 이온 분석

이혜진<sup>1</sup> · 김민영<sup>1</sup> · 양달님<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>동부산대학교 치위생과 부교수, <sup>2</sup>경희대학교 치과대학 예방사회치과학교실 연구조교

### Analysis of calcium ions in saliva of the before and after sugar rinse

Hye-Jin Lee<sup>1</sup>, Min-Young Kim<sup>1</sup>, Dal-Nim Yang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Associate professor, Dept. of Dental Hygiene, Dongpusan College

<sup>2</sup>Research assistant, Dept. of Preventive Dentistry, College of Dentistry, Kyung-Hee University

**ABSTRACT** The purpose of this study was to evaluate the salivary concentration of calcium cations and their variation before and after a sucrose and glucose rinse, and to investigate the relationship between the levels of each compound. Saliva samples were obtained from 34 subjects before and up to 60 min after intake of a 10% sucrose and glucose solution at 2-week intervals. Calcium in human saliva were determined via anion - exchange chromatography with an anion - suppressed conductivity detector using 12mM sulfuric acid. The concentrations of calcium before sucrose rinse were 39.7mg/L(9.3%), respectively.

The calcium cation contents in the saliva were reconstituted after the sugar rinse and the concentrations of some ions showed that they are highly related to each other.

**Keywords** Calcium, Ion chromatography, Saliva, Sugar

Received on Feb 6, 2019. Revised on Mar 4, 2019. Accepted on Mar 29, 2019.

\* Corresponding Author (E-mail: nargonarja@naver.com)

## I. 서론

건강한 구강 상태를 유지하기 위해서 타액은 매우 중요한 역할을 수행한다. 선행논문에서 연구된 타액의 대표적인 기능으로는 점막을 보호하는 작용이 있으며, 치태의 형성을 방해하는 자정작용과 윤회작용을 수행하고, 치아우식을 일으키는 원인균의 대사작용 및 항균작용에도 기여한다[1],[2]. 또한 세균 외부로 glucosyltransferase(GTase)를 분비하여 자당으로부터 비수용성 글루칸을 합성하는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus gordonii* 등의 우식 원인이 당 성분과 대사하여 산을 생성함으로써 낮아진 구강 내 pH를 중성화시키는 완충작용도 있다[3],[4]. 뿐만 아니라 타액은 치아의 성숙에 기여하고, 우식 병소로 진행되는 법랑질의 탈회 과정을 억제하며, 초기 병소의 재 석회화를 촉진하여 치아우식증을 예방하고, 맛의 감각을 조절하며 구강 상주균을 통제하기도 한다[5-7]. 이밖에도 혈액 응고 작용, 소화작용, 수분대사조절

작용, 배설작용, 용매작용 등 구강 건강에 있어서 타액의 역할은 매우 중요하다[8-10]. 이러한 기능을 유지하는 타액은 lysozyme, peroxidase, immunoglobulin 등의 면역 세포 및 효소와 urea(요소), 암모니아, 인, 칼슘 등의 무기물과 이온 등으로 구성되어 있다[11-13]. 즉, 구강건강을 유지하기 위하여 다양한 구성 성분을 통해 중요한 역할을 수행하는 타액은 신경전달물질이나 호르몬 자극에 의해 항진되며, 이 경우, 특히 타액 내 칼슘 이온 농도가 증가되는 것이 선행연구를 통해 확인되었다. 이 연구들에 따르면, 타액 내 칼슘 이온은 타액선 세포를 자극하여 타액 분비를 촉진하며, 신호전달체계를 구성하는 중요한 매개체로서 구강 세포가 고유한 기능을 수행하는데 필수적인 역할을 한다고 하였다. 그러나, 동시에 세포에 대한 독작용으로 고농도의 칼슘 이온이 지속적으로 유지될 경우, 구강세포의 기능적 & 구조적 변성을 야기하는 이중적인 작용도 있다고 하였다[14],[15]. 또한 타액 내 칼슘 이온의 농도는 다양한 생체 신호 또는 건강 상태를 반영하는 생체표식(biomarker)이라는 연구도 있다[16],[17]. 이 연구에 따르면, 타액 내 칼슘 이온(Ca<sup>+</sup>) 농도는 임신[18], 폐경기 골다공증[16], 구강건조증이 있는 갱년기 여성[19], 치석 형성[20],

당뇨병[21]과 관련이 있다고 한다. 타액 성분 중 칼슘성분을 정량적으로 분석하는 방법은 이온 크로마토그래피법(Ion Chromatography, IC)으로 이온성 물질을 원래의 상태에서 성분을 분리할 수 있기에 이온 분석의 단순화와 효율적인 선택성으로 인하여 고성능 액체 크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)법을 대신하고 있는 추세이다[22].

본 논문의 연구방법으로 사용한 이온 크로마토그래피법으로 이온을 분리 검출하는 과정은, 측정 시료는 용리액과 함께 분리 컬럼으로 들어가면 이온들은 불연속적인 띠로 분리되고, 각 이온은 이온교환컬럼, 이동상 이온쌍(MPIC), 이온배제컬럼의 표면상의 작용기에 대한 친화력으로 분리된다. 분리된 이온과 용리액은 화학적 억압장치, 전기전도도 검출기를 거쳐 발색시약과 반응 후 자외선, 가시광선 검출기로 유입되어 분석된다. 이온분석에 소요되는 시간은 15분 이내로 신속한 정량분석이 가능하며, 감도는 시료의 농축이 없는 경우 ppb이하의 범위까지, 농축장치를 사용하여 분석하는 경우 ppt 범위까지 검출할 수 있다. 즉 이온 크로마토그래피법은 많은 선행 연구에서 높은 신뢰성, 신속한 분석, 시료 조작의 편의성, 간섭요인의 최소화 등이 검증되었다[22].

이러한 선행 논문을 바탕으로 타액 내 칼슘 이온 농도가 음식물이나 음료 섭취에 영향을 받을 수 있다고 착안하여, 타액의 분비량을 증가시켜 타액 내 칼슘 이온 농도에 영향을 미칠 수 있는 단맛에 초점을 맞춰 본 연구를 설계하였다. 본 논문의 연구 목적은 자당과 포도당 양치의 경과 시간에 따른 타액 내 칼슘 이온의 농도 변화를 조사하는 것이다. 연구 방법은 자당과 포도당으로 양치하기 전부터 최대 60분까지 소량의 타액을 채취하였고, 전처리를 하지 않은 타액을 시료로 사용하여, 양이온 억제 전도도

검출기(cation suppressed conductivity detector)를 이용한 이온 크로마토그래피로 분석하였다.

## II. 연구방법

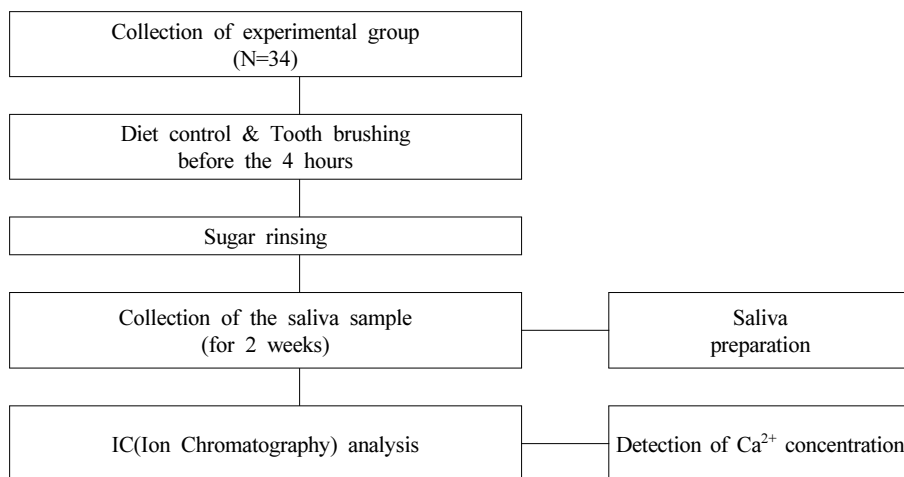
### 1. 연구설계

2018년 4월부터 7월까지 3개월 동안 D대학교 계서관을 활용하여 본 연구의 피실험자를 모집하였고 연구대상자 중 구강검진과 전신질환 문진을 통하여 치아우식증, 임플란트, 치아보철, 당뇨병, 치은염, 대사성 질환, 흡연자를 제외한 34명의 건강한 20대 여성을 연구대상자의 표본으로 선정하였다. 본 연구에 대한 설계 과정은 <Fig. 1>과 같다.

### 2. 이온 크로마토그래피(Ion Chromatography) 분석

#### 1) 타액 샘플 채취

본 연구진은 비교적 간접 인자의 영향을 받지 않은 타액 샘플을 채취하기 위하여, 연구대상자에게 타액 수집 4시간 전부터 음료 및 음식의 섭취를 제한하고 잇솔질을 삼가하도록 교육한 후 실험을 수행하였으며, 연구대상자는 매일 12시부터 13시 사이에 점심식사 및 잇솔질을 하였고, 4시간 뒤인 17시에 타액 샘플을 수집하였다. 우선 설탕물 양치 전, 연구대상자들로부터 0.5mL의 대조군 타액을 수집하였다. 그 후, 10% 설탕물 30mL로 1분 동안 양치 후 일회용 마이크로 튜브(centrifuge tube)에 연속적으로 타액을 수집하였고, 설탕물 양치 직후, 5분, 10분, 20분, 30분,



<Fig. 1> Flow chart of study design

45분, 60분에 자극성 타액 샘플 0.5 mL를 각 30초 동안 수집하였다. 타액 샘플은 2주 동안 채취하였고, 이온 크로마토그래피 분석 전까지 -20°C 냉동 보관하였다. 이온 크로마토그래피 분석 직전, 해동하여 1,200 rpm으로 5분간 원심분리 후 상층액을 분리하고, 칼슘이온을 분석하기 위해 탈이온수(deionized water)로 10배 희석하였으며, 일회용 셀룰로스 아세테이트(0.2mm) 시린지 필터를 통해 여과하여 효소 및 박테리아를 분리한 후 샘플 시료로 사용하였다.

2) 시약 및 용매 준비

양이온 표준(1000.0ppm) 시약은 Exaxol Chemical Corporation (Clearwater, FL, USA)를 통해 구입하였다. 이동상 제조 및 샘플 희석에 사용한 탈이온수는 Milli-Q 시스템(Millipore, Bedford, MA, USA)으로 얻은 고순도의 물(18MV resistivity)을 사용하여 희석하였다. 이동상(mobile phase)은 Fisher Scientific(Fairlawn, NJ, USA)에서 구입하였다. 다른 모든 시약 및 용매는 보증 또는 분석 기준을 준수하였다. 용매 여과는 Millipore membrane filter (type HA; pore size, 0.45mm; content, mixed cellulose esters)를 사용하였다. 모든 샘플은 이온 크로마토그래피 장치(Sunnyvale, CA, USA)에 주입하기 전에 Advantec MFS, Inc.(Tokyo, Japan)에서 구입한 일회용 시린지 필터(hydrophobic polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane; pore size, 0.20mm)를 통해 여과하여 사용하였다.

3) IC 분석조건

칼슘 양이온은 GP50 gradient pump와 ED50 전도도 검출기, LC20 96 chromatography enclosure(10µl sample loop), 양이온 자체 재생 억제제(ASRS)가 내장되어 자동 감압 재순환 모드로 작동되는 Dionex 이온 크로마토그래피 시스템을 사용하여 분석되었다. 분리는 IonPac CG12A(50mm x 4mm) 보호 컬럼이 장착된 Dionex IonPac CS12A 컬럼(250mm x 4mm)을 사용하였으며, 12mM 이동상은 20분 전에 초음파 처리 및 감압 여과 후 겔크로마토그래피와 같이 용매의 농도를 일정하게 유지하여 용리하는 방식인 등용매용리(isocratic elution)로 실험하였다. 시료는 실온에서 분석하였고, 이동상의 유속은 1mL/min이다.

데이터 수집 및 기기 제어는 Dionex Chromeleon 프로그램을 사용하였다.

4) IC 분석방법

표준 용액 (100ppm)을 탈이온수(deionized water)로 희석하여 8개의 고정점(calibration points, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25, and 50mg/L)을 만들었으며, 연구 모형의 선형 회귀 방정식은  $y = ax + b$  이며, 검정 곡선은 peak area와 표준 샘플 농도(x)의 관계를 나타낸다. 각 화합물의 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)는 국제화학조약(ICH) 가이드라인 Q2B에 의거하였으며, 검출한계(LOD)는  $3.3s/S$ (s=표준 편차, S=검정 곡선의 기울기)이고, 정량한계(LOQ)는 10초/S이다. 분석의 정밀정확도는 상대표준 편차(% RSD)를 평가하였고, 타액 내 칼슘이온을 정량분석하기 위하여, 0.8mL의 타액 샘플에 0.2mL의 칼슘 표준 용액을 혼합하여 타액 시료 샘플을 준비하여 변화를 분석하였다.

3. 자료분석

분석 데이터는 Excel(Microsoft Corp, Washington, USA) 소프트웨어에 입력하여 SPSS Statistics for Window, Version 23.0(IBM Corp, Armonk, USA)을 이용하여 상관 분석과 일원 분산 분석을 수행하였으며, 유의 수준은  $p < 0.05$ 로 설정하였다.

III. 연구결과

1. 시료 화합물 농도의 타당성

선형 범위, 선형 방정식, 상관 계수, 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)의 매개 변수는 <Table 1>과 같다. 시료 화합물은 50mg/L 까지 우수한 선형성( $r^2 = 0.9996$ )을 보였다. 시료 화합물의 LOD 및 LOQ는 각각 0.047mg/L 및 0.141mg/L였다.

칼슘이온이 첨가된 타액 샘플의 정밀도와 회복도를 검증하기 위하여, 타액 샘플 내 카르복실산과 무기 음이온을 혼합한 후 intra-and inter-day 분석으로 4일 간 반복적으로 측정하여 회복율을 평가하였다<Table 2>.

<Table 1> Linear range, slope, y-intercept of linear equation, correlation coefficient( $r^2$ ), LOD, and LOQ for Calcium cations

Cation	Range (mg/L)	Slope	y-intercept	$r^2$	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
Calcium	0.01-50	0.6264	0.0110	0.9996	0.047	0.141

<Table 2>와 같이, 대조 타액 내 칼슘 이온은 41.8 μg/l 이며, 카르복실산을 첨가한 후 타액 내 칼슘 이온은 10.0 μg/l 이고, 무기 음이온을 첨가한 후 타액 내 칼슘 이온은 50.0 μg/l 로 측정되었으나, intra-and inter-day 분석에 의해 측정된 타액 내 칼슘 이온의 평균 회복률은 95.44%에서 103.02%였다. 따라서, 화합물 농도 결정에 대한 신뢰성은 높은 것으로 평가되어, 시료의 희석 농도를 결정하였다.

2. 타액 시료 샘플의 칼슘 이온 함량과 설탕물 양치 후의 평균 농도 변화

<Table 3>은 2가지 종류의 당인 자당과 포도당을 사용하여 34명의 연구대상자들의 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도와 범위를 최소값과 최대값으로 정리하였다.

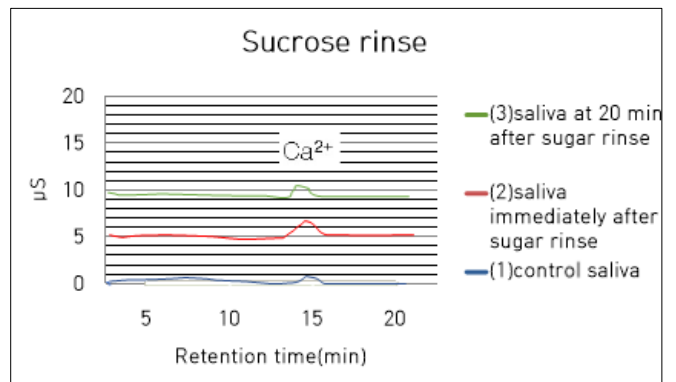
<Table 3>과 같이, 자당과 포도당을 설탕물 샘플로 사용하고, 실험값의 신뢰도를 높이기 위하여 2주간 같은 34명의 연구대상자들에게 반복적으로 실험하였다. 자당과 포도당 용액으로 양치 하기 전의 대조 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 39.7±8.7mg/l 와 41.1±3.7mg/l 이었다.

자당 용액으로 양치한 후 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 양치 직후에는 38.4±12.1mg/l 로 약간 떨어졌으나, 5분 후 48.1±12.6mg/l 로 급격히 높아졌고, 10분 후 45.9±10.3mg/l , 20분 후 40.2±8.6mg/l , 30분 후 39.0±9.4mg/l , 45분 후 38.1±8.1 mg/l , 60분 후 37.5±7.6mg/l 로 서서히 감소되었다. 또한 자당 용액으로 양치한 후 5분, 10분, 20분, 30분에 채취한 타액에서 칼슘 이온의 평균 농도가 95% 신뢰수준에서 유의하게 증가함을 확인하였다.

포도당 용액으로 양치한 후 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 양치 직후 37.3±6.9mg/l 로 떨어졌으나, 5분 후 48.6±11.1mg/l 로 자당과 같이 급격히 높아졌고, 10분 후 43.1±7.1mg/l , 20분 후 41.6±3.6mg/l , 30분 후 40.4±3.2mg/l , 45분 후 39.9±2.6mg/l , 60분 후 38.7±8.3mg/l 로 서서히 감소되었다. 포도당 용액으로 양치한 후 5분, 10분에 채취한 타액에서 칼슘 이온의 평균 농도가 95% 신뢰수준에서 유의하게 증가함을 확인하였고, 자당에 비해 포도당으로 양치할 경우 더 빨리 회복됨을 확인하였다.

타액 내 칼슘 이온 농도는 설탕물(자당, 포도당) 양치 후 즉시 모두 떨어졌으나, 양치 5분 후 빠르게 증가되었고, 양치 후 20분까지 서서히 감소되어 설탕물 양치 전 타액 내 칼슘 이온 농도에 근접하게 회복됨을 확인하였다(p<0.05).

타액 내 칼슘 이온 농도는 설탕물 양치 30분부터 대조 타액과도 유의한 차이는 없었기에 <Fig. 2>에서 30분 후의 데이터는 생략 하였다. <Fig. 2>는 자당을 사용한 연구대상자 타액의 이온 크로



<Fig. 2> Representative chromatograms of sucrose rinsing saliva.

<Table 2> Recovery(%), Mean±SD) of cation in human saliva investigated by intra-and inter-day assays.

	Original (μg)	Added (μg)	Expected (μg)	Day 1 (n=5)	Day 2 (n=5)	Day 3 (n=5)	Day 4 (n=5)	Total (n=20)
Carboxyl ic acid	41.8	10	13.8	103.02±12.36	96.19±6.25	100.79±6.10	96.36±10.21	99.09±8.90
Anion	41.8	50	21.8	98.38±4.97	95.44±5.57	99.86±5.04	99.79±3.37	98.37±4.78

<Table 3> Mean concentration and concentration range of calcium cations before and after sugar rinse

Su-gar	Parameter	Con-trol	After sugar rinsed						
			0min	5min	10min	20min	30min	45min	60min
Suc-rose	Mean±SD	39.7±8.7	38.4±12.1	48.1±12.6a	45.9±10.3a	40.2±8.6a	39.0±9.4a	38.1±8.1	37.5±7.6
	Range	27.4-59.3	4.1-47.8	28.7-63.7	18.1-57.8	18.3-63.3	20.0-59.1	26.2-57.1	23.2-55.9
Glu-cose	Mean±SD	41.1±3.7	37.3±6.9	48.6±11.1a	46.1±7.1a	41.6±3.6	40.4±3.2	39.9±2.6	38.7±8.3
	Range	17.4-61.9	6.1-51.0	23.3-62.6	27.4-64.7	27.5-63.0	21.9-63.7	28.7-58.9	26.4-57.3

\* a Significantly increased than control saliva (p<0.05).

마토그램을 보여준 것이며, (1)은 대조군인 설탕물 양치 전, (2)는 설탕물 양치 직후, (3)은 설탕물 양치 20분 후이다.

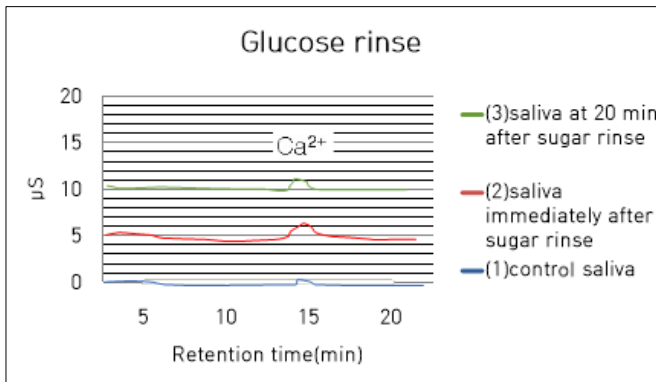
<Fig. 3>는 포도당을 사용한 연구대상자 타액의 이온 크로마토그램을 보여준 것이며, (1)은 대조군인 설탕물 양치 전, (2)는 설탕물 양치 직후, (3)은 설탕물 양치 20분 후이며, (1, 2, 3) 모두 retention time 15분에 계측된 peak가 칼슘 이온이다.

### 3. 대조 타액과 설탕물 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관계수

<Table 4>는 대조 타액(Control)과 설탕물(자당, 포도당) 양치 후 경과 시간에 따른 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관계수를 정리한 것이다. 대조 타액과 자당 용액 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도는 양치 후 즉시 채취한 타액( $r=0.52$ )과 20분 뒤에 채취한 타액( $r=0.53$ )내에서 유의한 양의 상관성을 보였다.

대조 타액과 포도당 용액 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도는 양치 후 5분 뒤에 채취한 타액( $r=0.35$ )와 20분 뒤에 채취한 타액( $r=0.52$ )내에서 유의한 양의 상관성을 보였다.

자당과 포도당 양치 간의 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관성은 95% 신뢰수준에서 유의하게 관찰되지 않았다<Table 4>.



<Fig. 3> Representative chromatograms of glucose rinsing saliva.

<Table 4> Correlation coefficient(r) between control saliva and experimental saliva after sucrose, glucose rinse.

	Control							Sucrose							G	
	0	5	10	20	30	45	60	0	5	10	20	30	45	60		
C				1												
S	0.52*	0.38	0.43	0.53*	0.51	0.63	0.46				1					
G	0.16	0.35*	0.71	0.52*	0.48	0.77	0.72	0.17	0.54	0.53	0.70	0.44	0.66	0.52	1	

\* by pearson's correlation coefficient at  $\alpha=0.05$

C: Control, S: Sucrose, G: Glucose, Time: after sugar rinsed

## IV. 고찰

타액이 생성되는 기전은 부교감신경 자극으로 세포 내 칼슘 이온 농도가 증가하면 세포막(apical membrane)에 있는  $Cl^-$  channel이 열리고 세포 내부에서 타액선 관으로  $Cl^-$ 와  $HCO_3^-$  이온이 전기화학적 농도 경사에 따라 타액선 관으로 유출된다. 그 후  $Na^+$  이온이 세포 간극을 통해 타액선 관으로 유입되고, 이들 이온의 이동에 의해 타액선 관내 삼투압이 증가하면 혈액과 타액선 세포 내부로부터 물이 따라서 이동함으로써 타액이 형성된다[23],[24]. 즉, 부교감신경 자극 시 선세포 내에 고농도로 축적되는  $Cl^-$  및  $HCO_3^-$  이온을 타액선관 내로 유출시켜 타액을 분비하는 과정에는 세포 내 칼슘 이온 증가가 결정적인 역할을 한다[15]. 또한 타액선의 약 70%는 설하선에서 분비되며 약 20%만이 이하선에서 생성되지만, 이하선 타액 분비는 미각 자극에 의해 증가한다는 것이 알려지며, 자극성 타액 분비 메커니즘의 중요한 중재자는 칼슘 이온 임이 선행논문들을 통해 연구되었다[25].

또한 칼슘 이온은 타액의 분비 촉진 뿐만 아니라 인체 내 경조직의 성장과 유지에 중요한 에너지원으로 대부분은 뼈와 치아 등 경조직의 구성 성분으로 저장되나, 그 외의 칼슘 이온은 세포 내에 존재하며 호르몬 분비와 혈액 응고 과정 및 효소와 신경전도 조절 등의 다양한 생체 신호 또는 건강 상태를 반영하는 생체표식(biomarker)으로서 중요한 역할을 한다는 연구도 있다 [16],[17].

이와 더불어 칼슘 이온은 타액선 세포를 자극하여 타액 분비를 촉진하며, 계속적으로 치면에 접촉함으로써 법랑질의 재광화와 치아우식증 유발 세균의 치아면 부착을 억제할 뿐만 아니라, 신호전달체계를 구성하는 중요한 매개체로서 타액의 완충 능력과 구강 내 pH까지 영향을 미치는 필수적인 역할을 한다고 보고한 선행 연구도 있다[26-29].

이렇듯, 타액 내 칼슘 이온의 농도에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으며, 특히, 타액 칼슘 농도와 전신질환의 상관성에

관한 많은 연구가 진행되었다. 선행논문에 따르면, 건강한 일반인 군에서의 타액 내 평균 칼슘 농도는 35-108mg/L로 측정되었으나, 환자군인 흡연자[14], 당뇨병 환자[21], 임신[18],[30], 폐경기 골다공증[16], 강심제 독성 환자[16]에서는 높았다고 한다.

또한 선행연구 중 타액 내 칼슘 이온 농도를 분석한 방법으로 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC, High Performance Liquid Chromatography)[26], 칼슘 전극법[30], 광도계법[17]과 원자흡수 분광법[8],[14],[16],[30]으로 측정하였으나, 선행 연구들의 칼슘 이온 농도 측정값에는 많은 차이가 있음을 확인하였다. 이는 타액 내 칼슘 이온 농도는 부교감신경 자극에 의해 분비되는 자극성 타액과 직접적인 관련이 있으며, 설탕 및 탄수화물은 자극성 타액의 분비를 촉진하나, 이는 개인의 구강 환경과 전신상태에 따라 많은 차이가 있음을 연구한 이 등의 논문 결과와 유사하게 판단할 수 있을 것이라 사료된다[15].

그러나, 부교감신경 자극에 의하여 증가한 세포 내 칼슘 이온은 전체의 40%가 단백질에 결합하고, 10%는 음이온과 복합체를 형성하며, 전체의 50%만이 이온 크로마토그래피로 검출할 수 있는 자유 이온화 칼슘으로 알려져 있다[31]. 따라서, 타액 내 칼슘 이온을 검출하는 방법의 일종인 칼슘 전극 법은 불화물 분석에서 자유 이온 뿐만 아니라 복합 이온도 검출될 수 있기 때문에 칼슘 전극법은 이온 크로마토그래피 방법과 비교될 필요가 있으며, 타액은 습도 및 건조 조건에 따라 이온 농도가 달라질 수 있으므로 개별 속성을 보다 정확하게 반영할 필요가 있다.

따라서, 본 연구에서는 타액 내 칼슘 이온을 이온 크로마토그래피법을 이용하여 분석하였으며, 칼슘 이온의 단위 또한 무게 비율인 mg/l 로 조사하였다.

본 연구에서는 타액 내 칼슘 이온의 농도를 분석하고자 하며, 칼슘 이온은 양이온 중의 하나이기에 음이온 관능기의 고정상 및 황산( $H_2SO_4$ ) 이동상을 사용하여 분리한 후 양이온 억제 전도도 검출기(cation suppressed conductivity detector)로 이동하여 칼슘 이온의 전도도 및 감도를 높여 최적화 시킨 후 이온 크로마토그래피로 분석하였고, 1-50mg/l 범위 내에서 0.9996 이상의 우수한 선형성과 0.047mg/l 의 검출한계(LOD), 0.141mg/l 의 정량한계(LOQ)를 보였다.

구강검진과 전신질환 문진을 통하여 구강 및 전신질환자와 흡연자를 제외한 건강한 20대 여성 34명을 연구대상자로 선정하여 설탕물(자당과 포도당) 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도의 변화량을 실험한 결과는 다음과 같다.

설탕물로 양치하기 전의 대조 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 39.7±8.7mg/l 와 41.1±3.7mg/l 이었으나, 자당 용액으로 양치한

후 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 양치 직후에는 38.4±12.1mg/l 로 약간 떨어졌으나, 5분 후 48.1±12.6mg/l 로 급격히 높아졌고 ( $p<0.05$ ), 10분 후 45.9±10.3mg/l ( $p<0.05$ ), 20분 후 40.2±8.6mg/l ( $p<0.05$ ), 30분 후 39.0±9.4mg/l ( $p<0.05$ ), 45분 후 38.1±8.1mg/l, 60분 후 37.5±7.6mg/l 로 서서히 감소되었다. 포도당 용액으로 양치한 후 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 양치 직후 37.3±6.9mg/l 로 떨어졌으나, 5분 후 48.6±11.1mg/l 로 자당과 같이 급격히 높아졌고( $p<0.05$ ), 10분 후 43.1±7.1mg/l ( $p<0.05$ ), 20분 후 41.6±3.6mg/l, 30분 후 40.4±3.2mg/l, 45분 후 39.9±2.6mg/l, 60분 후 38.7±8.3mg/l 로 서서히 감소되었으나, 자당에 비해 포도당으로 양치할 경우 더 빨리 회복됨을 확인하였다. 즉, 타액 내 칼슘 이온 농도는 설탕물(자당, 포도당) 양치 후 즉시 모두 떨어졌으나, 양치 5분 후 빠르게 증가되었고, 양치 후 20분까지 서서히 감소되어 설탕물 양치 전 타액 내 칼슘 이온 농도에 근접하게 회복됨을 확인하였다( $p<0.05$ ).

대조 타액과 설탕물 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관관계수에 대한 연구 결과는 대조 타액과 자당 용액 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도는 양치 후 즉시 채취한 타액( $r=0.52$ )과 20분 뒤에 채취한 타액( $r=0.53$ )내에서 유의한 양의 상관성을 보였다. 또한 대조 타액과 포도당 용액 양치 후 타액 내 칼슘 이온 농도는 양치 후 5분 뒤에 채취한 타액( $r=0.35$ )와 20분 뒤에 채취한 타액( $r=0.52$ )내에서 유의한 양의 상관성을 보였다. 그러나 자당과 포도당 양치 간의 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관성은 95% 신뢰수준에서 유의하게 관찰되지 않았다.

따라서 타액 내 칼슘 이온 농도는 구강 pH의 스테판 곡선과 유사하게 측정되었고, 설탕물 양치 5분 후에 얻은 타액에서 가장 높았지만, 설탕물 양치 20분 후에 대조 타액 내 칼슘 이온 농도로 회복되었던 본 연구결과를 바탕으로, 치아의 탈회는 당 대사 후 타액 산성화 및 무기질의 용해 과정 이후에 진행됨을 유추할 수 있다.

그러나, 설탕물(자당과 포도당) 양치 전과 후의 타액 내 칼슘 이온의 함량은 선행연구와 같이, 엄청난 개체 간 변이를 나타내며 화학적 또는 생리학적 자극에 쉽게 변화되는 인체의 개별 특성으로 칼슘 이온 함량을 표준화하거나 분류하는 것은 어렵다. 그럼에도 불구하고 타액에 관한 지속적인 연구를 통해 이온 농도와 변이 및 각 화합물과의 관계 또는 건강 상태에 관한 자료를 축적하는 것에 본 연구의 의미가 있다고 사료된다.

그러나 본 연구는 첫째, 연구대상자가 20대 여성으로 한정되어 있어 성별과 나이 변수의 비교가 불가하다. 따라서 향후 연구는 다양한 연령대의 성별에 따른 비교도 평가되어야 할 필요성이

있다. 둘째, 타액은 칼슘 뿐만 아니라 마그네슘, 칼륨, 나트륨, 암모늄 등의 양이온과 음이온, 무기질이 존재한다. 그러므로 본 연구에서 평가되지 않은 타액 내 성분으로 인한 정성 분석과 다각도의 연구가 향후 필요할 것이라 사료된다. 셋째, 본 논문은 자극성 타액 내 칼슘 이온의 정량 분석만 연구된 제한점이 있다. 따라서 향후 논문은 자극성 타액과 비 자극성 타액의 성분 비교와 구강 및 전신에 미치는 영향에 관한 연구가 필요할 것이다.

## V. 결론

본 논문은 설탕물(자당과 포도당) 양치 후 타액 내 칼슘 이온의 농도를 정량 분석하기 위하여, 구강질환과 전신질환이 없는 건강한 20대 여성 34명을 대상으로 연구하였다. 타액 샘플은 4시간 전부터 음료 및 음식의 섭취를 제한하고 잇솔질을 삼간 채 채취하였기에, 간섭 인자로의 영향을 비교적 받지 않도록 설계하였으며, 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 본 연구에 사용된 타액 샘플은 50mg/l 까지 우수한 선형성 ( $r^2 > 0.9996$ )을 보였고, 선형 방정식의 기울기는 0.6264이며, 검출한계(LOD)는 0.047mg/l, 정량한계(LOQ)는 0.141mg/l로 분석되었다.
2. 타액 시료 샘플의 칼슘 이온 함량과 설탕물 양치 후의 평균 농도 변화를 분석하기 위하여 설탕물은 자당과 포도당을 사용하였고, 자당으로 양치하기 전의 대조 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 39.7±8.7mg/l이며, 포도당으로 양치하기 전의 대조 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 41.1±3.7mg/l이었다.
3. 자당 용액으로 양치한 후 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 양치 직후에는 38.4±12.1mg/l로 약간 떨어졌으나, 5분 후 48.1±12.6mg/l로 급격히 높아졌고, 10분 후 47.7±12.7mg/l, 20분 후 45.9±10.3mg/l, 30분 후 43.5±9.4mg/l로 서서히 감소되었고, 95% 신뢰수준에서 유의하게 분석되었다.
4. 포도당 용액으로 양치한 후 타액 내 칼슘 이온의 평균 농도는 양치 직후 37.3±6.9mg/l로 떨어졌으나, 5분 후 48.6±11.1mg/l로 자당과 같이 급격히 높아졌고, 10분 후 43.1±7.1mg/l로 서서히 감소되었고, 95% 신뢰수준에서 유의하게 분석되었으며, 자당에 비해 포도당으로 양치할 경우 더 빨리 회복됨을 확인하였다.
5. 대조 타액(Control)과 설탕물(자당, 포도당) 양치 후 경과

시간에 따른 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관계수를 분석하였다. 자당 용액으로 양치 후 즉시 채취한 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관계수는  $r=0.52$ 이며, 20분 뒤에 채취한 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관계수는  $r=0.53$ 로 유의한 양의 상관성을 보였다.

6. 대조 타액(Control)과 포도당 양치 후 경과 시간에 따른 타액 내 칼슘 이온 농도의 상관계수는 양치 후 5분 뒤에 채취한 타액에서 0.35, 20분 뒤에 채취한 타액 내에서 0.52로 조사되었으며, 유의한 양의 상관성을 보였다.

즉, 타액 내 칼슘 이온 농도는 자당과 포도당 용액 양치 후 즉시 떨어졌으나, 양치 5분 후 빠르게 증가되었고, 양치 후 20분까지 서서히 감소되어 설탕물 양치 전 타액 내 칼슘 이온 농도에 근접하게 회복됨을 확인하였다.

## REFERENCES

1. W J Loesche: Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiology reviews 50(4):353-380, 1986.
2. S. Hamada, T. Koga, T. Ooshima: Virulence Factors of Streptococcus mutans and Dental Caries Prevention. Journal of dental research 63(3):407-411, 1984.
3. Hong SJ, Park KH, Oh JS, Jeong SS, Choi CH, Lim HS: Effects of herb extracts on plaque formation and artificial caries enamel. Journal of korean academy of preventive dentistry and oral health 28(4):536-547, 2004.
4. Jang KA, Kim HY: Synergistic Effect of Methanol Extract of Salvia Miltiorrhiza and Antibiotics against Dental Caries Pathogens. Journal of microbiology and biotechnology 38(3):289-294, 2010.
5. Shon WY, Chun YH, Lee JY, Cho HG, Hong JP: A study of relationship between halitosis and salivary gland function. Journal of Oral Medicine and Pain 23(4):353-359, 1998.
6. Edgar M, Dawes C, O'Mullane D: Saliva and oral health (3rd, ISBN0-334904588-87-4). British dental association, 2004.
7. Neyraud E: Role of saliva in oral food perception. Monogr Oral Sci 24:61-70, 2014.
8. Dawes C: Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. Journal of american dental association 139:18-24, 2008.

9. Park YD, Jang JH, Oh YJ, Kwon HJ: Analyses of organic acids and inorganic anions and their relationship in human saliva before and after glucose intake. *Arch Oral Biol* 59(1):1-11, 2014.
10. Shannon IL, Suddick RP, Dowd FJ: In Saliva; Composition and Secretion. *Monogr Oral Sci* 2:1-103, 1974.
11. Kim JG, Kim YS, Baik BJ, Yang YM: Relationship between salivary caries-related tests and dental caries experience in Korean dental college students. *Journal of Korean Academy Pediatric Dentistry* 32(1):67-74, 2005.
12. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C, et al.: Biological factors in dental caries-role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization(part 1). *J Clin Pediatr Dent* 28(1):47-52, 2003.
13. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V: Saliva and dental caries. *Adv Dent Res* 14:40-7, 2000
14. Clapham, D.E.: Calcium signaling. *Cell* 80(2):259-268, 1995.
15. Lee JS, Seo JT, Lee SI, Lee JG, Sohn HK: Effect of octanol, the gap junction blocker on the regulation of fluid secretion and intracellular calcium concentration in salivary acinar cells. *Journal of Korean Academy of Pediatric Dentistry* 26(2):399-415, 1999.
16. Rabiei M, Masooleh IS, Leyli EK et al.: Salivary calcium concentration as a screening tool for postmenopausal osteoporosis *Int J of Rheum Dis* 16(2):198-202, 2013.
17. Shpitzer T, Bahar G, Feinmesser R, Nagler RM: A comprehensive salivary analysis for oral cancer diagnosis. *Journal of Canc Res Clin Oncol* 133(9):613-617, 2007.
18. Rockenbach MI, Marinho SA, Veeck EB, Lindemann L, Shinkai RS: Salivary flow rate, pH, and concentrations of calcium, phosphate, and sIgA in Brazilian pregnant and non-pregnant women. *Journal of head and face medicine* 2(1):44-48, 2006.
19. Farzaneh AH, Iraj MD, Moghaddam PP, Akrad ZT: Stimulated whole salivary flow rate and composition in menopausal women with oral dryness feeling. *Journal of oral diseases* 13(3):320-323, 2007.
20. Hassan SA, Al-Sandook TA: Salivary calcium concentration in patients with high incidence of calculus formation. *Journal of international society of preventive and community dentistry* 5(1):88-90, 2005.
21. Moreira AR, Passos IA, Sampaio FC, Sampaio, Soares M.S.M, Oliveira R.J.: Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Brazilian journal of medical and biological research* 42(8):707-711, 2009.
22. Taek-je Kim: Ion Chromatography/IC, The science and technology 27(12):92-94. 1994.
23. Ambudkar IS: Regulation of calcium in salivary gland secretion. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 11:4-25, 2000.
24. Nauntofte, B.: Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells. *Am. J. Physiol* 263(6):823-837, 1992.
25. Humphrey SP, Williamson RT: A review of saliva; Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthet Dent* 85(2):162-169, 2001.
26. Park JE, Hwang SY, Kim SA: The effect of calcium and magnesium concentration in saliva on dental caries activity after consuming calcium. *Journal of Korean Society of Dental Hygiene* 17(2):283-294, 2017.
27. Flood A, Peters U, Chatterjee N, Lacey JV Jr, Schairer C, Schatzkin A: Calcium from diet and supplements is associated with reduced risk of colorectal cancer in a prospective cohort of women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14(1):126-132, 2005.
28. Danielsson NL, Hernell O, Johansson I: Human milk compounds inhibiting adhesion of mutans streptococci to host ligand-coated hydroxyapatite in vitro. *Caries Res* 43(3): 171-178, 2009.
29. Llena-Puy C: The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11(5):449-455, 2006.
30. Guidozi F, MacLennan M, Graham KM, Jooste CP: Salivary calcium, magnesium, phosphate, chloride, sodium and potassium in pregnancy and labour. *S Afr Med J* 81(3): 152-154, 1992.
31. Itota T, Carrick TE, Rusby S, Alnaimi OT, Yoshiyama M, McCabe JF: Determination of fluoride ions released from resin-based dental materials using ion-selective electrode and ion chromatograph. *J Dent* 32(2):117-122, 2004.
32. Jung YM: Determination of cariogenic organic acids in human saliva after sugar intake. doctoral dissertation, Kyung-Hee University, Seoul, 2013.