

인공탈회된 법랑질에 대한 카제이나트륨의 재광화 효과

임희정 · 정임희 · 임도선*

을지대학교 보건과학대학 치위생학과

1. 서론

치아우식증은 전세계적으로 유병률이 꾸준히 증가해 오고 있는 대표적인 구강 내 만성질환이다. 우리나라의 2014년 국민건강영양조사 구강검진결과, 만 19세 이상 영구치우식 유병률은 전체 30.9%로 주요 선진국에 비하여 여전히 높은 수준이고, 영구치우식 경험률은 전체 89.4%로 대다수의 사람들이 치아우식증을 경험한 것으로 보고되었다¹⁾. 또한, 건강보험심사평가원에서 발표한 2014년 통계자료에 따르면, 외래 환자 다빈도 질환 중 치주질환과 함께 치아우식증이 상위에 놓여 있어 상당한 요양급여비용이 지출되고 있는 것으로 평가되고 있다²⁾.

현재 초기 치아우식증의 재광화와 치아우식증 예방에 가장 널리 사용되고 있는 제제는 불소이다. 그러나 용량을 과다하게 적용했을 경우 반점치가 발생하거나, 영유아나 신체 장애로 인해 행동조절이 어려운 장애인에게는 적용에 어려움이 있어 이러한 한계를 극

복할 만한 제재 개발의 필요성이 요구되고 있다³⁾.

따라서 치의학계에서는 치약, 구강양치액, 음식 등에 첨가할 수 있는 비독성적이고 항우식적(anticariogenic)인 제재를 개발하기 위해 노력해 왔다. 지금까지 항우식 성질을 갖는 것으로 널리 인식되어 온 음식군은 우유, 분유, 치즈 등의 유제품군으로 특히 우유의 주요 단백질군으로 전 단백질의 약 80%를 카제인(casein)이 구성한다⁴⁾. 카제인은 칼슘과 인이 상호작용하며 *in vitro*와 *in situ* 실험을 통해 항우식 성질을 갖는 주요 성분으로 확인되었고^{5,6)}, 침식증으로부터 치아를 보호할 수 있다는 가능성도 확인하였다^{7,8)}.

카제인 포스포펩타이드(casein phosphopeptides, CPP)는 우유의 카제인과 단백질분해효소인 트립신을 반응시켜 생성되는 펩타이드로, 불소이온과 함께 치면 세균막에 붙어 치아표면에 칼슘과 인 이온의 높은 농도로 안정화되면서 법랑질 표면 아래 병소에 침투하여 효과적으로 재광화를 증가시킬 수 있게 되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 무정형인산칼슘(amorphous calcium phosphate, ACP)은 칼슘과 인 이온을 각각 결합하여 구강 내 존재하며 치면 내 칼슘이 포화상태가 되어 완충작용을 함으로써 치아우식증을 예방한다고 알려져 있다. Guggenheim 등¹⁰⁾은 동물 실험에서 카제인 혹은 CPP 교질입자가 포함된 우식성 식품이 치아에

접수일: 2022년 6월 9일 최종수정일: 2022년 6월 14일

게재 확정일: 2022년 6월 20일

교신저자: 임도선, (13135) 경기도 성남시 수정구 삼성대로 553
을지대학교 치위생학과

Tel: +82-31-740-7229, Fax: +82-31-740-7352

E-mail: idsun@eulji.ac.kr

Streptococcus sobrinus 군집을 감소시킨다고 보여주어 CPP에 의해 치아우식을 예방할 수 있음을 제안하였다. CPP와 ACP를 배합한 CPP-ACP는 재광화를 강화시키고 침식된 법랑질의 미세경도를 증가시킨다고 보고하였고, CPP-ACP를 함유한 물질의 규칙적인 사용은 치아우식증 예방과 법랑질 재광화에 효과적이라는 임상적인 증거가 여러 메타분석을 통해 입증되고 있다^{11,12)}.

타액 내 이온을 이용하는 불소와는 달리 제재 자체에 재광화 필수 이온이 충분히 포함되어 있는 CPP-ACP가 재광화에 유리하며, 우유에서 추출한 단백질로서 섭취 시 인체에 무해하므로 구강양치액이나 껌, 연고, 치약 등에 첨가되고 있고, 많은 임상 연구에서 그 효능을 보고하고 있다¹³⁾. 그러나 카제인이 분해된 CPP와 갈슘과 인의 화합물인 ACP를 결합시킨 CPP-ACP가 아닌, 카제인 단독으로의 재광화 효과를 실험한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구의 목적은 우유에서 추출한 순수 카제인이 치아 법랑질에 미치는 재광화 효과를 평가하는 것이다. 인공 탈회시킨 법랑질에 증류수, 불화나트륨, CPP-ACP를 적용한 후 미세경도 변화를 통하여 카제인의 재광화 효과를 확인하고, 주사전자현미경으로 법랑질 표면의 변화를 관찰하여 이를 비교 분석하고자 한다.

2. 연구대상 및 방법

2.1. 연구대상

(1) 치아의 선정

임상실습을 위해 MOU를 맺은 A치과병원에 교정치료를 위해 내원한 환자에게 발거된 치아를 실험에 사용하는 것에 충분한 설명을 통해 동의를 얻은 후, 치아를 수거하였다. 이후, 을지대학교 기관생명윤리위원회에 심의를 받아(EU15-14) 실험을 수행하였다. 실험에 사용한 치아는 발거 1개월 이내의 우식이 없는 건전한 소구치 10개, 대구치 15개 총 25개 치아를 선

정하였다.

(2) 인공탈회용액 및 재광화용액

인공탈회용액으로 코카콜라(pH 2.30)를 사용하였고, 재광화용액은 대조군으로 증류수를 사용하였으며, 실험군으로 3% Casein, 10% Casein, CPP-ACP, 0.05% NaF를 사용하였다.

2.2. 연구방법

(1) 시편 제작

발치된 치아 표면의 잔존 조직과 치석 등을 스케일러로 제거하고, 불소와 글리세린이 포함 되어 있지 않은 pumice로 5초간 치면세마하였다. 증류수로 세척한 소구치와 영구치는 치관만 노출되도록 경석고로 매몰하여 커팅이 용이하도록 하였다. 그런 다음, diamond saw(MTI diamond, Incheon, Korea)와 저속 핸드피스를 이용하여 치아 장축 방향으로 소구치는 2등분, 대구치는 4등분 하였고 치근부를 제거하여 총 75개의 시편을 준비하였다. 시편의 연마를 위해 협면이 노출되도록 아크릴 레진(SNAP Parkell, Farmingdale, NY, USA)에 2×3mm 크기로 매몰하였다. 이후, 연마기(Struers LaboPol-5, Copenhagen, Denmark)를 이용하여 시편의 표면이 평면이 되도록 주수 하에 600, 1200, 2400 grit의 연마지(Carbimet, Buehler, Illinois, USA)를 사용하여 순차적으로 연마하였다. 이후, 각 군당 15개씩 배정하였다(Table 1).

Table 1. Experimental groups

Group	N
Distilled water (Control)	15
3% Casein	15
10% Casein	15
CPP-ACP	15
0.05% NaF	15
Total	75

(2) 인공탈회용액 및 재광화용액 처리

코카콜라에 노출되는 시간에 따른 법랑질 탈회 정

도가 30분 동안 노출된 치아보다 60분, 120분 동안 노출된 치아에서 법랑질 탈회가 심하게 나타났고, 60분과 120분 시료의 차이는 크지 않았다는 결과¹⁴⁾를 토대로 시편을 코카콜라 100ml에 1시간 동안 침지시켜 탈회시켰다.

재광화를 위해 실험군 별 100ml의 용액을 준비하였고, 탈회된 시편은 3% 및 10% Casein에 10분, CPP-ACP에 4분, 0.05% NaF에 1분간 침지하였다. 인공타액의 사용을 참작하여 재광화용액을 1일 1회 적용하여 1주일간 시행함¹⁵⁾에 따라 매일 오후 6시에 1회 침지하였고, 총 1주일간 반복 시행하였다.

(3) 표면미세경도 측정

탈회된 시편의 재광화용액에 침지 전과 후의 표면미세경도 측정을 위해 미세경도계(MMT-X7B, Matsuzawa, Japan)를 이용하여 표면미세경도(Vickers hardness number, VHN)를 측정하였다. 시편 중앙부를 기준으로 인접한 3부위를 300g의 하중으로 10초 동안 압인하였고, 각 시편 당 3회 측정하였으며, 각 시편의 미세경도를 평균값으로 하였다¹⁶⁾.

(4) 주사전자현미경 관찰

법랑질 표면의 형태 변화를 관찰하기 위하여 처리된 시편을 알코올 농도 상승 순으로 탈수한 후, 임계점 건조기(HCP-2, Hitachi, Tokyo, Japan)로 건조하였다. 이후, Aluminum stub에 고정하고 Ion sputter(E-1030, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 gold-palladium을 200nm의 두께로 피복시키고 주사전자현미경(S-4700,

Hitachi, Tokyo, Japan)으로 가속전압 15kV 하에서 1,000배의 배율로 관찰하였다.

(5) 통계분석

각 군의 탈회 전과 후에 대한 표면미세경도값의 평균 비교는 Paired t-test로 시행하였다. 대조군과 실험군의 표면미세경도 값의 평균을 구하고, 평균값의 유의성 검정은 일원배치분산분석을 실시하였으며, 사후검정은 Scheffe test로 분석하였다. 모든 자료의 통계분석은 SPSS 21.0 프로그램(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하였고 통계적 유의 수준은 0.05로 설정하였다.

3. 연구결과

3.1. 재광화용액 침지 후 법랑질 표면경도 변화

탈회된 시편의 법랑질 표면 경도는 각 실험군 간에 유의한 차이는 없었으나, 재광화용액에 60분 침지 후의 표면경도 변화량을 군별로 비교한 결과, 모든 군에서 유의할 만한 표면 경도 증가가 나타났다. 평균 표면 경도 증가량은 CPP-ACP가 49.68로 가장 큰 증가량을 보였고, 0.05% NaF가 36.15, 10% 카제인나트륨이 35.76으로 비슷한 증가량을 나타냈다. 증류수는 16.82, 3% 카제인나트륨이 6.62의 증가량을 보였다($p < 0.05$) (Table 2). 그러나 재광화용액 침지 후 대조군과 실험군 모두, 군 간 차이는 통계적으로 유의하지 않는 것으로 확인되었다.

Table 2. Change in surface microhardness before and after remineralization solution treatment for 60 minutes (Unit: VHN)

Group	N	Treatment		ΔVHN
		Before	After	
Distilled water	15	311.84 ± 7.02	328.66 ± 8.29	16.82 ± 6.48 ^a
3% Casein	15	305.62 ± 6.35	312.24 ± 5.98	6.62 ± 0.97 ^a
10% Casein	15	314.10 ± 7.23	349.86 ± 7.21	35.76 ± 4.68 ^a
CPP-ACP	15	297.46 ± 6.62	347.15 ± 8.98	49.68 ± 8.46 ^a
0.05% NaF	15	303.20 ± 5.32	339.35 ± 5.03	36.15 ± 5.42 ^a

Values are presented as the mean ± standard deviation.

^a Obtained from Paired t-test.

ΔVHN denotes statistical significance at $p < 0.05$.

3.2. 재광화용액 침지 전과 후의 법랑질 표면 변화

탈회된 시편과 재광화용액에 침지 후 법랑질 표면의 변화를 관찰한 결과, 탈회된 시편의 모든 군에서 법랑질 표면의 무기성분과 유기성분이 용해되어 전체적으로 거친 표면과 법랑소주가 소실되어 벌집 모양의 표면이 관찰되었다(Fig. 1).

그러나 재광화용액에 침지 후에는 3% 카제인나트륨의 일부분을 제외하고 모든 군에서 무기성분의 침착으로 벌집 모양의 법랑소주가 메워지면서 손상되었던 법랑질이 회복된 양상이 관찰되었다. 또한, 법랑질 표면이 전체적으로 매끄러운 형태를 나타내어 법랑질이 재광화 되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

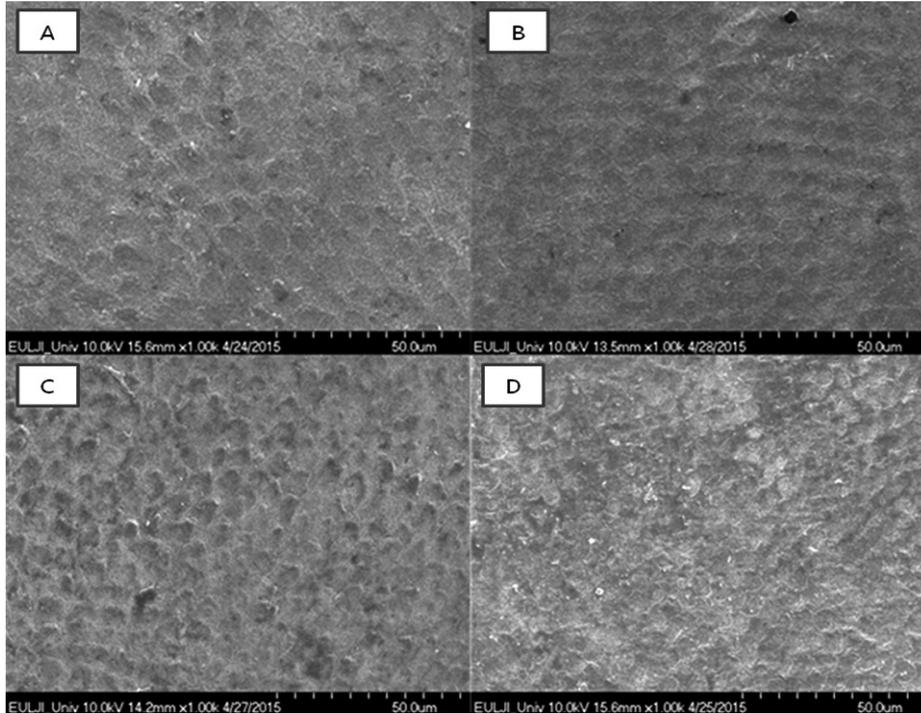


Fig. 1. Scanning electron microscope images after demineralization. In all groups, the enamel rod was lost and a honeycomb-shaped rough surface was observed. (A) 3% Casein, (B) 10% Casein, (C) CPP-ACP, (D) 0.05% NaF. All magnification is x1,000.

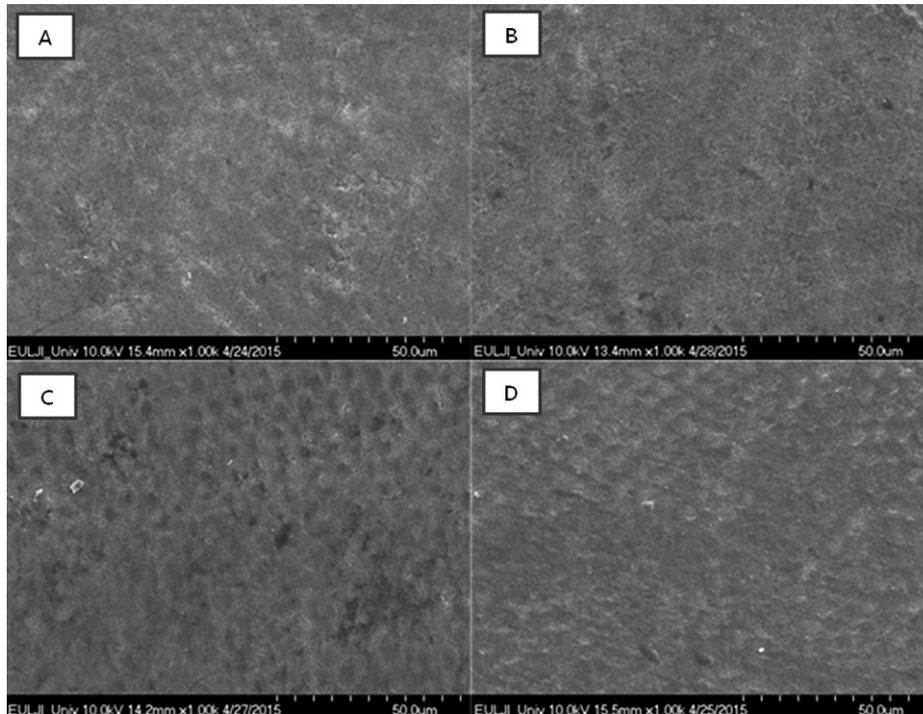


Fig. 2. Scanning electron microscope images after applying remineralization substances. In all groups, enamel, which had been damaged by deposition of inorganic components, was recovered. In addition, the overall enamel surface was observed to be smooth. (A) 3% Casein, (B) 10% Casein, (C) CPP-ACP, (D) 0.05% NaF. All magnification is x1,000.

4. 고찰

치아우식증은 복잡한 바이오필름 내의 미생물학적 변화로 시작하여 타액량과 성분, 불소의 노출, 설탕 소비와 예방적인 행동 등에 영향을 받는 다인성질환 (multifactorial disease)이다¹⁷⁾. 그 메커니즘(mechanism)은 바이오필름 내의 박테리아가 탄수화물의 대사과정에서 나온 부산물로써 유기산을 생산하고, 이 산은 pH 값을 임계 수치 아래로 떨어지게 만들어 치아 조직의 탈회가 발생한다. 그 후 치아로부터 칼슘, 인, 탄산염이 빠져나가게 되어 우식이 지속적으로 발생될 수 있는 조건을 계속해서 만들어주게 되는 것이다. 반대로 탈회된 치면은 칼슘, 인산, 그리고 불소의 흡착을 통해 초기 단계에서는 회복이 가능하기 때문에 구강 내 치아우식증 과정은 탈회와 재광화 사이의 균형에 달려있고 할 수 있다¹⁷⁾. 재광화와 탈회가 반복되는 상황에서 재광화를 좀 더 활성화 시켜줄 수 있는 조치를

취한다면 치아우식증을 예방할 수 있다¹⁸⁾.

대표적인 치아우식예방의 예로 불소 이용법을 들 수 있는데, 과량 사용 시에 따른 부작용과 최근 우식 및 불소의 예방 기전에 대한 개념들이 변화하면서 적은 양의 불소를 사용하고자 하는 전략으로 변하기 시작했다¹⁹⁾. 특히 영유아 환자에 대한 전문가 불포도포의 경우 방법이 어렵고, 불소를 삼키는 경우가 있어 도포 과정이 쉽지 않아 활용하기에 한계가 있다. 이에 아동에 대한 불소 노출량을 낮추자는 주장과 함께 불소를 대신하고자 하는 대체 제재들도 연구되기 시작했는데 자일리톨, trimetaphosphate, CPP-ACP, CPP-ACP에 불소이온을 결합시킨 CPP-ACFP 등이 대표적이고 최근에는 CPP-ACFP가 크림형태로 상품화됨에 따라 그 밖의 새로운 물질에 대한 연구와 관심이 증가하고 있는 추세이다²⁰⁾.

지금까지 국내외 논문을 검토해 본 바, 카제인나트륨의 농도에 따른 재광화 효과를 비교 분석한 논문은

거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 카제인이 분해된 CPP와 칼슘과 인의 화합물인 ACP를 결합시킨 CPP-ACP가 아닌, 카제인 단독으로의 법랑질 재광화 효과를 알아보고, 향후 임상제재로의 실용성을 검토해보고자 하였다.

본 연구에서는 우치 시편 75개를 선정하여 탈회시킨 후, 표면미세경도기를 이용해 경도를 측정하였다. 치면의 성상을 관찰하는 데에는 Reynolds²¹⁾와 Choi 등²²⁾이 주로 사용한 광도계, 주사전자현미경, 에너지분광분석법이 있고, Lee 등²³⁾은 표면미세경도기, Kang 등²⁴⁾은 편광현미경 등 여러가지 방법들이 사용되어 왔다. 본 실험에서 사용한 표면미세경도는 초기 병소의 탈회량을 간접적으로 측정하는 방법으로서 표면의 미세 변화를 측정하는데 효과적이다²⁵⁾. 본 실험에서 사용한 미세 표면경도는 미세한 무기질에 대한 소실량과 무기질 분포를 관찰하는 것이 불가능하다는 단점이 있다. 하지만 관찰면이 편평하다면, 간편하게 반복적인 측정이 가능하고 우식의 깊이와도 선형 관계를 보이므로 신뢰성이 높은 결과를 보인다고 할 수 있다^{26,27)}. 제작된 시편은 연마기를 이용하여 법랑질 표면이 평면이 되고 광택이 나도록 주수 하에 600, 1200, 2400 grit의 sic 연마지로 연마하여 법랑질 시편을 제작하였다. Edwards 등²⁸⁾의 연구에서 연마된 법랑질 표면은 산에 빠른 반응을 보이기 때문에 구강 내에서와 유사한 환경에서 최외층의 무소주 법랑질층에 대한 산의 침식 유발도를 평가하기 위해서는 연마되지 않은 법랑질 표면이 필요하다고 하였지만, 시편의 표면경도 측정에 있어 굴곡이 있는 표면에는 적용하기 어렵기 때문에 현실적으로 연마된 평활한 표면이 필요하였다. 따라서 본 연구에서 나타난 치아 침식과 재광화 정도가 실제 구강 내 상황보다 다소 과장되게 나타났을 것으로 추정된다.

또한, 법랑질 표면 탈회 후 재광화 정도를 알아보고자 인공적으로 우식을 만들어 탈회를 나타내었는데 장기간에 걸쳐 구강내에서 자연적으로 나타난 우식이 아니라 단기간에 인공적으로 나타난 우식이기 때문에 인공우식의 발생 구조가 자연우식과 완전히 일치하지 않아 실제 구강에서의 양상과 다르게 나타날 수 있다.

본 실험은 탈회용액 처리 후 증류수로 1분간 세척하고 생리적인 재광화 과정을 묘사하기 위해 인공타액의 사용을 참작하여 재광화 제재를 1일 1회 적용하여 1주일간 시행에 따라 매일 오후 6시에 1회 침지하였으며, 총 1주일간 순환 반복을 시행하였다. 그러나 본 연구에서 정한 탈회시간 및 재광화 용액의 적용시간을 결정함에 있어 구강 내 환경을 완전히 재현하는데 한계가 있다. Yamaguchi 등²⁹⁾은 우치에서 pH순환모형 처리를 한 후 CPP-ACP 효과를 실험하였는데, 추후 pH변화 주기 및 구강 내 환경 재현을 위한 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

본 연구의 결과, 10% 카제인나트륨은 CPP-ACP와 0.05% 불화나트륨과 유사한 법랑질 재광화 효과가 나타났다. 하지만 카제인나트륨만의 재광화 효과를 연구한 문헌은 찾기 어려워 구체적인 결과 비교는 어려웠다. 유사 연구로는 김 등³⁰⁾이 타액과 0.05% 불화나트륨, 우유로 재광화 효과를 비교한 연구가 있는데, 이 연구에서 타액이나 0.05% 불화나트륨용액이 아닌 카제인 성분이 포함된 우유로 처치한 경우 재광화 효과가 더욱 효과적이었다고 보고하였다. 이는 우유에 함유된 무기질과 대표적인 인단백질인 카제인에 의한 무기질의 침착효과가 커서 우유 성분과 같은 재광화 용액으로 법랑질 표면에 적용하는 것도 방법이라고 하였다. Kang 등²⁴⁾은 처음으로 우치에서 Acidulated Phosphate Fluoride (APF) gel과 CPP-ACP 제재와의 재광화 효과를 비교하였는데, APF gel에서보다 CPP-ACP 제재에서 표면미세경도의 증가폭이 컸으며, 더 두터운 재광화층을 보여 재광화에 더욱 효과적임을 보고하였다. 본 연구에서는 우리나라에서 정부주도의 학교구강보건사업으로 진행되고 있는 불소용액양치 사업의 적정 불소량인 0.05% 불소와, CPP-ACP, 두 가지 농도의 카제인나트륨을 다양하게 비교한 연구이다. 그러나 구체적인 카제인나트륨 농도와 적용시간에 대한 연구가 부족한 실정이기 때문에 효과적인 재광화 용액의 농도 및 적용 시간을 위한 추가적인 연구가 필요하다.

본 실험은 생체 외 실험의 한계를 보완하기 위해 탈

회와 재광화를 주기적으로 적용하여 구강 내와 비슷하게 재현하려고 노력하였다. 하지만 법랑질 탈회는 pH 농도, 적절한 산도, 식이습관, 타액과 구강위생상태, 불소 등과 같은 다양한 요소의 영향을 받는 복잡한 과정이다³¹⁾. 본 실험은 탈회실험에서 음료의 pH와 침식 시간만 적용하였고 재광화 실험에서는 실험용액의 재광화 요인만 적용하여 실험결과에 영향을 미치는 다양한 구강 내 요소를 고려하지 못하였다. 탈회시간 및 재광화 용액의 적용 시간을 결합함에 있어 일어날 수 있는 변수들을 만족시키기 어려워 구강 내 환경을 완전 재현하는데 어려움이 있으며 실제 구강환경에서의 효과를 구강 외 실험 결과로 추론하는 데는 한계가 있다.

본 연구를 통해 탈회된 법랑질 표면을 카제인나트륨 용액에 침지하였을 때 재광화 효과가 확인되었는데 이는 10%의 카제인나트륨 용액을 사용하였을 때 효과가 더 크게 나타났다. 비록 CPP-ACP 보다는 다소 재광화 효과가 낮았지만, 카제인 나트륨의 재광화 효과를 위한 최적의 농도를 찾는다면, 복잡한 과정을 거치지 않고 카제인나트륨의 광범위한 적용이 가능할 것으로 사료된다. 카제인나트륨을 일상적으로 사용하는 치약이나 치과용 시멘트뿐 아니라 예방제제 등 다양한 치과 재료와 혼합하여 사용한다면 치아우식증을 예방하는 도움이 될 수 있을 것이다. 따라서 저렴하고 효율적인 방법으로 카제인나트륨의 농도와 적용시간에 대한 추가적인 실험과 분석이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

5. 결론

본 연구에서는 건전한 구치의 법랑질 표본을 제작하여 인공탈회용액에 60분간 침지시켜 탈회하였으며, 증류수(대조군), 3%·10% 카제인나트륨, CPP-ACP, 0.05% 불화나트륨에 각각 재광화 용액에 침지하여 법랑질 표면의 재광화 양상을 표면미세경도계와 주사전자현미경 관찰을 통해 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 인공 탈회 된 법랑질 표면을 네가지 방법으로 처리하여 경도의 증가를 비교한 결과, 모든 군에서 유의한 증가를 보였다($p < 0.05$).
2. 각 군별 정도 증가량은 CPP-ACP, 0.05% 불화나트륨, 10% 카제인나트륨, 대조군, 3% 카제인나트륨 순으로 나타났다. 그러나 군 간 비교에서는 유의한 차이가 없었다($p < 0.05$).
3. 주사전자현미경 관찰 결과, 재광화 과정을 거친 실험군 모두에서 탈회되었던 법랑질 표면에 보이는 벌집모양의 법랑소주가 메워진 모습을 관찰할 수 있었다.

이상의 연구결과로 카제인나트륨의 재광화 효과는 입증되었지만, 현재 보편적으로 쓰이고 있는 CPP-ACP에 비해서는 재광화 효과가 다소 떨어진다는 결과가 나타났다. 그러나 0.05% 불화나트륨과는 유사한 효과를 보였다. 따라서 추후 연구를 통해 카제인의 재광화 효과를 최대한으로 발휘할 수 있는 농도를 찾아내어 사용하거나, 다른 물질과의 결합 등을 통하여 CPP-ACP와 불소를 대체할 수 있는 재광화 물질로써 발전시킬 수 있을 것으로 사료된다.

ORCID ID

Hee-Jung Lim, <https://orcid.org/0000-0002-4738-3032>

Im-Hee Jung, <https://orcid.org/0000-0002-8645-1587>

Do-Seon Lim, <https://orcid.org/0000-0003-4602-3323>

References

1. Korea Centers for Disease Control and Prevention, The fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. Cheongwongun: Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2014.

2. Ministry of Health and Welfare. Health Insurance Review and Assessment Service. Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2014.
3. Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 1990;69 Spec No:614-619; discussion 634-616. <https://doi.org/10.1177/00220345900690S120>.
4. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr* 2004;134:989s-995s. <https://doi.org/10.1093/jn/134.4.989S>
5. Reynolds EC, Johnson IH. Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. *Arch Oral Biol* 1981;26:445-451. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(81\)90042-x](https://doi.org/10.1016/0003-9969(81)90042-x).
6. Rosen S, et al. Effect of cheese, with and without sucrose, on dental caries and recovery of *Streptococcus mutans* in rats. *J Dent Res* 1984;63:894-896. <https://doi.org/10.1177/00220345840630061601>.
7. Gedalia I, et al. Enamel softening with Coca-Cola and rehardening with milk or saliva. *Am J Dent* 1991;4:120-122.
8. Gedalia I, et al. Tooth enamel softening with a cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva in situ. *J Oral Rehabil* 1991; 18:501-506. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.1991.tb00072.x>
9. Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J* 2008;53:268-273. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00061.x>
10. Guggenheim B, et al. Powdered milk micellar casein prevents oral colonization by *Streptococcus sobrinus* and dental caries in rats: a basis for the caries-protective effect of dairy products. *Caries Res* 1999;33:446-454. <https://doi.org/10.1159/000016550>
11. Llana C, et al. Anticariogenicity of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a review of the literature. *J Contemp Dent Pract* 2009;10:1-9.
12. Yengopal V, Mickenautsch S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand* 2009;67:321-332. <https://doi.org/10.1080/00016350903160563>
13. Reema SD, et al. Review of casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate. *Chin J Dent Res* 2014;17:7-14.
14. Agency KC. Survey on the safety of the beverages. Korea: Korea Consumer Agency, 2001.
15. Hong HS, et al. Effect of remineralization and inhibition to demineralization after fluoride gel or hydroxyapatite paste application on stripped enamel. *Korean J Orthod* 2010;40:212-226. <https://doi.org/10.4041/kjod.2010.40.4.212>
16. Ahn HY, et al. Erosion of tooth enamel by acidic drinks and remineralization by artificial saliva. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2002;29:84-91.
17. Selwitz RH, et al. Dental caries. *Lancet* 2007; 369(9555):51-59. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60031-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60031-2)
18. Carter WJ, et al. The formation of lactic acid in dental plaques. I. Caries-active individuals. *J Dent Res* 1956;35:778-785. <https://doi.org/10.1177/00220345560350051801>
19. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38:182-191. <https://doi.org/10.1159/000077753>
20. Kim KB, et al. Comparative study of the remineralization effects using CPP-ACP and fluoride on the artificial enamel lesion. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2009;36:38-45.

21. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide–stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997;76:1587–1595.
<https://doi.org/10.1177/00220345970760091101>
22. Choi HJ, et al. Remineralization depth of CPP–ACP on demineralization human enamel in vitro. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2008;35:276–278.
23. Lee YJ, et al. Occluding effect of the application of fluoride compounds and desensitizers on dentinal tubules. *J Dent Hyg Sci* 2016;16:272–283.
<https://doi.org/10.17135/jdhs.2016.16.4.272>
24. Kang JS, et al. Remineralization effects by APF gel CPP–ACP paste on incipient artificial caries of enamel. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2008;35:684–691.
25. Curzon ME, Hefferren JJ. Modern methods for assessing the cariogenic and erosive potential of foods. *Br Dent J* 2001;191:41–46.
<https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4801087>
26. White DJ. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res* 1987;21:126–140.
<https://doi.org/10.1159/000231013>
27. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992;71 Spec No:924–928.
<https://doi.org/10.1177/002203459207100S27>
28. Edwards M, et al. Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion. *J Oral Rehabil* 1999;26:923–927.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2842.1999.00494.x>
29. Yamaguchi K, et al. Effect of CPP–ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 2006;34:230–236.
<https://doi.org/10.1016/j.jdent.2005.06.005>
30. Kim KS, et al. Remineralization of eroded enamel surface by milk and 0.05% sodium fluoride solution. *J Korean Acad Dent Health* 2002;26:405–418.
31. West NX, et al. A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel. *J Dent* 1998;26:329–335.
[https://doi.org/10.1016/s0300-5712\(97\)00025-0](https://doi.org/10.1016/s0300-5712(97)00025-0)

ABSTRACT

Remineralization effect of sodium caseinate on artificially demineralized enamel

Hee-Jung Lim · Im-Hee Jung · Do-Seon Lim^{*}

Department of Dental Hygiene, College of Health Science, Eulji University

Background: This study aimed to compare the remineralization effects of sodium caseinate and other substances on artificially demineralized enamel.

Methods: We selected 25 healthy human premolars and molars and produced a total of 75 specimens by dividing them into five groups: control group, with distilled water; experimental group 1 (EG1), with 3% sodium caseinate; EG2, with 10% sodium caseinate; EG3, with casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP-ACP); and EG4, with 0.05% NaF. Subsequently, the specimens were immersed in an artificial demineralization solution for 60 min. The demineralized specimens were then immersed in a remineralization solution for 7 days. Surface microhardness was measured using a microhardness tester, and remineralized lesions were observed under a scanning electron microscope (SEM). Regarding statistical analysis, the paired *t*-test and analysis of variance were performed using the SPSS program.

Results: Although the surface hardness of the remineralized lesions increased significantly in all groups ($p < 0.05$), the average increment did not differ significantly between the groups. The surface microhardness of CPP-ACP was the highest, followed by that of 0.05% NaF and 10% sodium caseinate. The remineralization effect of sodium caseinate was similar to that of 0.05% NaF. SEM confirmed that all groups treated with the remineralization solution were remineralized.

Conclusions: Although the remineralization effect of sodium caseinate was slightly lower than that of CPP-ACP, it was similar to that of 0.05% NaF. Therefore, to enhance the remineralization effect of sodium caseinate, the appropriate concentration and application time should be determined.

Keywords: Microhardness, Remineralization, Scanning electron microscope, Sodium caseinate