



ORIGINAL ARTICLE

Comparison of Caries Activity of Some Children's Beverages Inoculated with *Streptococcus mutans*

Young-Nam PARK

Department of Dental Hygiene, Gimcheon University, Gimcheon, Korea

*Streptococcus mutans*를 접종한 일부 어린이 음료의
우식활성능 비교

박영남

김천대학교 치위생학과

ARTICLE INFO

Received August 26, 2023
Revised 1st September 4, 2023
Revised 2nd September 7, 2023
Accepted September 7, 2023

Key words

Buffer capacity
Caries activity
Children's beverages
Dental caries
Streptococcus mutans

ABSTRACT

The caries activities of some commercially available children's beverages were measured to determine the risk of dental caries and provide basic data for preventing dental caries. For the experimental beverage, the beverages with the highest market share among carbonated beverages, fruit beverages, milk, and fermented milk products sold in the domestic market were selected. As a control, 0.25% glucose trypticase soy broth was prepared and used. The pH of the beverages, titrate acid and buffering capacity, and the acid production and vitality were measured over time after inoculating the beverages with *Streptococcus mutans*. The pH of children's beverages was the lowest in soda (2.61 ± 0.02), and milk had the lowest in titratable acid (14.00 ± 0.58). Fermented milk (80.33 ± 3.64) had the highest buffering capacity, and carbonated beverage (9.40 ± 1.06) had the lowest ($P < 0.05$). Carbonated beverages (3 hr and 25 min) had the highest acid production, and milk (4 hr) had the lowest. In conclusion, thorough oral hygiene management is necessary after consuming children's beverages because they have a low pH promote high acid production of *S. mutans*.

Copyright © 2023 The Korean Society for Clinical Laboratory Science.

서론

치아우식증은 당을 포함한 발효성 탄수화물을 치면세균막 내 세균들이 섭취하여 산을 형성함으로써 치아법랑질 표면에 무기질이 탈회되고 유기조직이 분해되는 치아경조직 질환으로 치아 탈회를 유발시키는 위험요인으로는 당분함량, 완충력, 수소가 온농도, 치면세균막 내 세균의 산 생성 능력과 관계가 있다. 가장 큰 위험요인은 당분함량으로 한국소비자 보호원의 보고에 의하면 국내 시판 중인 어린이 음료 14종에 대하여 당류 함량을 시험

검사한 결과 100 mL당 최소 4.3 g~13.1 g의 당류를 함유하고 있고 당분과다 섭취와 식품첨가물 등의 안전성에 대한 우려의 의견이 있다[1].

최근 소비자의 건강에 대한 관심이 증가하면서 어린이들의 성장과 건강에 도움을 주는 영양성분을 강화한 홍삼 음료 및 발효 유제품이 다양하게 개발, 생산되어 판매량이 증가되고 있는 추세이다[1]. 다양한 캐릭터 상품과 함께 많은 종류의 어린이 음료가 생산됨에 따라 어린이들의 음료 소비가 증가하면서 치아우식증의 감수성이 높고 자정능력이 떨어지는 어린이들에게 치아우식증을 유발시키는 영향력은 매우 높을 것으로 생각된다.

특히 어린이 음료는 대부분 마개를 당겨서 소량씩 빨아먹는 포장 용기를 사용하므로 일반적으로 마시는 음료보다 치아에 접촉하는 시간이 길고 음료를 자주 섭취할 경우 구강 내에 머무는 시간

Corresponding author: Young-Nam PARK

Department of Dental Hygiene, Gimcheon University, 214 Deahak-ro, Gimcheon 39528, Korea

E-mail: ivy9797@empas.com

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-7279-7172>

이 길어져 치아표면에 좋지 않을 것이다. 또한 음료가 가지고 있는 수소이온농도는 타액의 완충작용에 의해 일반적으로 pH 5.5까지는 중화될 수 있으나 pH 5.5 이하의 상태가 지속되면 치아 법랑질의 탈회와 충치를 유발할 수 있다고 알려져 있다. 식품의약품안전청은 국내 시판되는 어린이 음료의 평균 pH는 3.4이고 발효유가 평균 pH 3.8로 나타나 음료를 자주 섭취하거나 입안에 오래 머금을 경우 충치유발 우려가 클 것으로 지적하고 있다[2].

음료에 의한 치아 경조직 손상에 관한 연구는 오래전부터 문제로 제기되었지만 치아우식보다는 치아부식과 관련하여 연구되었으며 치아우식 유발요인인 당분함량과 수소이온농도에 대한 연구는 이루어져 있지만[3] 음료가 가지는 완충력이나 우식 원인균에 의한 산 생성력에 대한 연구는 거의 이루어지고 있지 않다.

국외 연구에서 음료의 설탕 첨가물과 습관적인 음료섭취로 인한 구강 내 노출에 의하여 우식을 가져오며, 치아의 탈회는 음료의 pH보다는 음료의 적정산에 의해 더 좌우된다고 하였고[4, 5] Larsen과 Nyvad [4]는 음료의 pH와는 별개로 법랑질 탈회 능력은 타액과 희석되지 않고 pH를 유지시키려는 음료의 완충 효과에 의존한다고 하였다. 국내에서 치아우식과 관련하여 음료의 완충력과 수소이온농도 및 산 생성력에 관한 성인 음료에 대한 연구는 보고된 바가 있으나[6] 어린이 음료의 완충력과 구강 내 미생물에 의한 산 생성능에 관한 연구가 필요하다고 생각되었다. Choi 등[6]은 구강 내에 많은 미생물과 타액이 존재하는 것을 고려할 때 각 음료의 pH를 일정하게 만들어 치아부식의 위험성을 제거한 후 음료에 동일한 정도의 산 생성균을 넣어 배양하면서 세균이 만들어 내는 산에 의한 pH 변화량을 확인하여 각 음료의 우식활성도를 평가할 수 있다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 국내 시판 중인 어린이 음료의 우식활성능을 조사하기 위하여 어린이 음료의 pH를 측정하여 어린이 음료가 가지고 있는 고유 산도를 알아보고 음료 pH 7.0으로 중화시키는데 필요한 NaOH의 적정량을 측정하여 음료가 가지고 있는 완충력을 알아보았다. 또한 음료 내 세균의 산 생성력을 보기 위해 대표적인 우식 유발 산 생성균인 *Streptococcus mutans* 균주를

어린이 음료 내에 접종하여 배양하면서 시간에 따른 pH 변화량을 측정하였다. 음료 내에 *S. mutans* 균의 시간에 따른 성장 정도를 파악하기 위하여 세균을 배양하여 세균 수를 측정하였다.

본 연구는 국내 시판 중인 일부 어린이 음료의 우식활성능을 평가하여 치아우식을 일으킬 수 있는 요인을 찾아내고 어린이에게 발생하는 초기 우식증과 우유병 우식증, 치아침식증을 예방하기 위한 올바른 정보를 제공하고 기초자료를 제공하고자 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험음료 선정

국내 대형마트에 시판 중인 어린이 음료를 탄산음료류(carbonated drinks), 과실음료류(fruit drink), 우유류(milk), 발효유류(fermented milk) 군으로 구분하여 가장 시장점유율이 높은 음료를 5개씩 구입하였다. 실험군은 각 음료의 pH를 측정 후 pH가 가장 낮은 음료를 1가지씩 선정하여 사용하였고, 대조군은 음료가 없는 상태에서 세균 증식에 따른 pH 변화를 보기 위해 0.25% glucose tryptic soy broth (TSB)를 제조하여 사용하였다.

0.25% glucose TSB는 3차 증류수 100 mL에 TSB 분말 2.75 g과 glucose 분말(D-(+)-glucose) 0.25 g을 혼합하여 교반한 후 121°C에서 15분간 멸균 후 사용하였다. 실험에 사용된 실험군과 대조군의 성분은 Table 1과 같다.

2. 실험균주

S. mutans ATCC 31989를 사용하였으며, 동결건조로 보관 중인 것을 0.25% glucose TSB 용액에 접종하여 37°C 배양기에서 24시간 동안 3차 계대 배양하였다.

3. 어린이 음료의 pH 측정

선정된 실험군과 대조군 음료는 동일한 온도 조건하에서 pH

Table 1. Characteristics of drinks and control group

Group	Product name (company)	Composition
C	Coca-cola (Coca-cola Korea bottling)	Liquefied fructose, carbonic acid gas, caramel color, phosphoric acid
F	Minute maid Koo Grape (Coca-cola beverage)	Citric acid, grape fruit juice, sucralose, vitamin C, sugar syrup, calcium lactate
F. milk	EO (Namyang company)	Skim milk 23.726%, powdered skim milk 1.074%, liquefied fructose, dextrose, lactobacillus bifidus, xylitol, sucralose, cyclodextrin cyrup
Milk	Seoul milk (Seoul milk)	Korea cow's milk 100%
Control	0.25% glucose TSB	0.25% glucose (D-(+)-glucose), TSB, deionized water

Abbreviations: C, carbonated drink; F, fruit drink; F. milk, fermented milk; TSB, trypticase soy broth.

를 측정하기 위해 6시간 동안 실온에서 보관한 후 각 비이커에 50 mL씩 나누어 담고 탄산가스를 배출시켜 pH를 안정적으로 측정하기 위하여 1시간 동안 교반하였다. pH meter (920A pH meter; Thermo Electron Orion)를 이용하여 pH를 측정하였고 각 음료에서 3회 반복 실험하였다.

4. 어린이 음료의 적정산과 완충력 측정

실험군과 대조군 음료를 각각 50 mL씩 담고 1시간 동안 교반한 후 50% NaOH로 초기 pH에서 pH 7.0까지 중화시키는데 필요한 양을 3회 반복 측정하였다. 음료의 pH 1.0을 올리는데 필요한 50% NaOH의 양을 완충력으로 정의하고 완충력은 pH 7.0에서 음료의 초기 pH를 뺀 값으로 중화시키는데 필요한 적정량을 나누어 계산하였다.

5. 어린이 음료 내 *S. mutans*균의 산 생성력 측정

음료를 선택하여 50 mL를 멸균된 비커에 담고 1시간 동안 교반한 후 pH 7.0으로 중화하였다. pH meter (710A pH/ISE meter; Thermo Electron Orion)와 electrode를 컴퓨터에 내장된 프로그램 하이퍼터미널에 연결하여 30분마다 pH가 자동 모니터링 되도록 실행시킨 후 배양기에 위치시키기 전에 pH electrode는 70% 알코올 용액으로 수세하고 멸균수로 다시 충분히 수세한 후 배양기에 준비시켰다.

0.25% glucose TSB 용액을 제조회사 지시에 따라 제조한 후 멸균 소독하여 준비하고 pH 7.0으로 중화된 음료 10 mL과 0.25% glucose TSB용액 10 mL에 3차 계대 배양된 *S. mutans* 배양액 2 mL을 첨가하여 1~2초간 혼합 후 배양기에 넣어 미리 준비된 pH electrode에 연결시켰다.

모든 실험은 3회 반복 시행되었고 그 측정값의 평균을 내었다. 각 음료 내 *S. mutans*의 산 생성에 의해 pH 5.5 이하로 떨어지는데 걸리는 평균 소요시간을 조사하였다.

6. 어린이 음료 내 *S. mutans*균의 생활력 측정

음료 50 mL를 1시간 동안 교반 후 50% NaOH로 pH 7.0까지 적정시켰다. 적정된 음료에 0.5 mL *S. mutans*를 넣고 혼합한 후 접종 직후, 1시간, 4시간, 8시간, 12시간, 24시간 동안 배양기에서 배양 후 시간 별로 꺼내어 각 음료를 1,000 µL씩 분주하여 10⁴~10⁶까지 희석한 후 미리 만들어 놓은 mitis salivarius agar plate에 접종하였다. 접종 후 72시간 동안 배양기에서 배양한 후 각 시간마다 꺼내어 음료의 종류에 따라 각 시간 별 집락 형성 세균 수(colony forming unit)를 세어 음료 내 세균의 생활력을 측정하였다.

7. 통계분석

음료에 대한 초기 pH와 적정산, 음료에 대한 산 생성력 측정인 각 시간 별 pH, 음료의 각 시간 별 세균 수는 평균과 표준편차를 산출하였다.

각 군간의 pH 7.0까지 적정된 음료가 *S. mutans*의 산 생성에 따라 pH 5.5 이하로 떨어지는데 걸리는 평균 소요시간의 차이를 비교하기 위해 Kruscal-Wallis test를 시행하였고, 두 군간의 차이검정은 Mann-Whitney test를 시행하였다. 음료 내 세균의 각 시간 별 세균 집락 형성수의 차이 비교는 Repeated measured ANOVA를 시행하였다. 통계분석은 SPSS (Statistical Packages for Social Science 20.0; IBM SPSS Corp.) 통계 프로그램을 이용하여 수행하였다.

결 과

1. 실험음료의 pH와 적정산

실험 음료의 고유산도는 탄산음료(2.61±0.02)가 가장 낮았으며, 0.25% glucose TSB 용액(7.13±0.02)이 가장 높았다.

Table 2. The pH, titrated acid and buffer effect of drinks

Group	pH**	Modified pH** (7.0 - pH)	Titrated acid** (µL/50 mL)	Buffer effect** (µL/ΔpH)
C	2.61±0.02 ^{a)}	4.39±0.02	41.30±4.72 ^{a)}	9.40±1.06 ^{a)}
F	3.08±0.26 ^{b)}	3.92±0.12	150.21±2.08 ^{b)}	38.31±1.82 ^{b)}
F. milk	3.62±0.03 ^{c)}	3.39±0.03	272.32±10.60 ^{c)}	80.33±3.64 ^{c)}
Milk	6.81±0.04 ^{d)}	0.19±0.04	14.00±0.58 ^{d)}	73.68±14.85 ^{c)}
0.25% glucose TSB (control)	7.13±0.02 ^{e)}	0	0	0

mean±SD.

Buffer effect: titrated acid/modified pH.

**P<0.01, by Kruscal-Wallis test.

a), b), c), d), e) The same letter indicates no significant difference by Mann-Whitney test.

Abbreviations: C, carbonated drink; F, fruit drink; F. milk, fermented milk; TSB, trypticase soy broth.

Table 3. The pH change of the soft drinks by incubation time unit: pH

Time (hr:min)	Group				Control
	C	F	F. milk	Milk	0.25% glucose TSB
0:00	6.89±0.09	6.70±0.05	6.77±0.02	6.86±0.03	6.93±0.08
0:30	6.56±0.02	6.42±0.02	6.66±0.05	6.65±0.06	6.76±0.04
1:00	6.46±0.02	6.38±0.04	6.52±0.03	6.57±0.08	6.65±0.03
1:30	6.36±0.03	6.33±0.02	6.39±0.03	6.45±0.11	6.55±0.01
2:00	6.22±0.05	6.20±0.03	6.25±0.03	6.30±0.15	6.44±0.01
2:30	5.95±0.15	6.08±0.02	6.10±0.02	6.11±0.16	6.27±0.03
3:00	5.63±0.20	5.95±0.03	5.90±0.03	5.89±0.13	6.00±0.08
3:30	5.25±0.18	5.81±0.02	5.68±0.02	5.70±0.13	5.54±0.15
4:00	4.86±0.16	5.64±0.02	5.47±0.01	5.50±0.16	5.08±0.12
4:30	4.64±0.07	5.52±0.03	5.26±0.01	5.24±0.15	4.78±0.08
5:00	4.47±0.05	5.35±0.06	5.10±0.03	5.01±0.13	4.69±0.03
5:30	4.38±0.01	5.08±0.07	4.96±0.04	4.82±0.13	4.68±0.02
6:00	4.31±0.01	4.93±0.04	4.84±0.05	4.67±0.12	4.67±0.02
6:30	4.26±0.02	4.75±0.04	4.72±0.06	4.53±0.11	4.67±0.02
7:00	4.23±0.03	4.63±0.03	4.62±0.07	4.44±0.09	4.68±0.03
7:30	4.19±0.03	4.51±0.06	4.54±0.07	4.36±0.09	4.68±0.03
8:00	4.17±0.03	4.46±0.04	4.48±0.08	4.31±0.08	4.68±0.03
8:30	4.15±0.04	4.41±0.02	4.42±0.09	4.27±0.08	4.61±0.10
9:00	4.13±0.04	4.36±0.02	4.38±0.09	4.24±0.08	4.69±0.03
9:30	4.11±0.04	4.32±0.02	4.35±0.09	4.21±0.09	4.68±0.03
10:00	4.09±0.04	4.30±0.03	4.32±0.10	4.19±0.09	4.68±0.03
10:30	4.09±0.05	4.25±0.02	4.29±0.10	4.17±0.10	4.68±0.03
11:00	4.09±0.05	4.21±0.03	4.27±0.10	4.16±0.10	4.68±0.03
11:30	4.07±0.05	4.18±0.02	4.25±0.11	4.15±0.10	4.68±0.03
12:00	4.07±0.05	4.17±0.02	4.23±0.12	4.15±0.10	4.68±0.03

mean±SD.

Abbreviations: C, carbonated drink; F, fruit drink; F. milk, fermented milk; TSB, trypticase soy broth.

각 음료의 적정산은 우유(14.00±0.58)가 가장 낮았으며 발효유(272.32±10.60)가 가장 높았다. 각 음료에서 pH 1.0을 올리는 데 필요한 NaOH의 양을 완충력으로 정의했을 때 가장 완충력이 낮았던 것은 콜라(9.40±1.06)이고, 발효유(80.33±3.64)가 가장 높았다(Table 2). 각 음료군 간에 pH와 적정산, 완충력에는 통계적으로 유의한 차이가 있었다($P<0.01$).

2. 각 음료에 *S. mutans* 접종 후 산 생성력 측정

pH 7.0으로 적정된 음료와 0.25% glucose TSB 용액에 *S. mutans*를 접종하여 배양시킨 후 12시간 동안 pH가 치아탈회임계 pH인 5.5까지 떨어지는데 걸리는 시간을 산출하였다. 탄산음료는 초기 pH 6.88에서 3시간 30분 내에 pH 5.5 이하로 떨어져서 pH 5.25가 되었다. 과일음료는 초기 pH 6.88에서 5시간 이내에 pH 5.35으로 떨어졌다. 또한 발효유는 초기 pH 6.77에서 4시간 이내에 pH 5.47으로 떨어졌으며 우유도 4시간 이내에 초기 pH 6.86에서 pH 5.50로 떨어졌다. 대조군인 0.25% glucose TSB 용액은 4시간 이내에 초기 pH 6.93에서 pH 5.08

Table 4. Spending time dropped to the pH 5.5 by acid product of *Streptococcus mutans*

Group	Time (hr:min)**
C	3:25 ^{a)}
F	4:48 ^{d)}
F. milk	3:50 ^{b), c)}
Milk	4:00 ^{c), d)}
0.25% glucose TSB (control)	3:40 ^{a), b)}

** $P<0.01$, by Kruskal-Wallis test.

a), b), c), d)The same letter indicates no significant difference by Mann-Whitney test.

Abbreviations: C, carbonated drink; F, fruit drink; F. milk, fermented milk; TSB, trypticase soy broth.

로 떨어졌다(Table 3).

음료를 pH 7.0으로 적정한 후 0.25% glucose TSB 용액과 *S. mutans*를 접종하여 치아탈회임계 pH 5.5까지 떨어지는 시간을 비교하였을 때 각 음료 간에는 차이가 있는 것으로 나타났으며 탄산음료가 3시간 25분으로 가장 빨리 떨어졌고, 과일음료가 4시간 48분으로 가장 늦게 떨어지는 것으로 나타났다(Table

Table 5. The colony forming unit of *Streptococcus mutans* in drinks by incubating time

unit: CFU/mL

Time (hr)	Group				Control
	C ^{a)}	F ^{a)}	F. milk ^{a)}	Milk ^{b)}	0.25% glucose TSB ^{c)}
0	6.99±0.01	7.07±0.02	6.85±0.03	7.01±0.02	7.01±0.01
1	6.95±0.03	6.98±0.05	6.85±0.23	7.14±0.17	7.14±0.01
4	7.04±0.01	7.04±0.04	7.03±0.03	7.28±0.01	7.59±0.01
8	7.08±0.08	7.03±0.01	7.00±0.04	7.57±0.02	8.93±0.01
12	7.07±0.01	7.02±0.07	6.93±0.00	8.02±0.14	9.07±0.03
24	6.62±0.01	6.61±0.03	6.08±0.02	8.08±0.16	7.88±0.03

mean±SD.

Statistically significant by repeated measured ANOVA at the 0.01 level.

a), b), c) The same letter indicates no significant difference by Tukey.

Abbreviations: CFU, colony forming unit; C, carbonated drink; F, fruit drink; F. milk, fermented milk; TSB, trypticase soy broth.

4). 각 음료군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다($P<0.01$).

3. 각 음료에 *S. mutans* 접종 후 세균의 생활력 측정

pH 7.0으로 적정된 음료에 *S. mutans*를 넣은 후 각 시간마다 꺼내어 접종한 다음 24시간 동안 배양한 후 세균 수를 세어본 결과 0.25% glucose TSB가 가장 많은 세균이 자랐고, 우유는 시간이 지나감에 따라 계속적으로 증가하였다. 탄산음료는 8시간 이후부터 감소되었고 과실음료와 발효유는 4시간까지 성장하다가 그 이후부터 감소되었다(Table 5). 시간에 따른 각 음료군간에 세균의 생활력은 통계적으로 유의한 차이가 있었다($P<0.01$).

고 찰

만성 질환인 치아우식증은 역학적으로 성인보다는 유아나 어린이에서 빈발하는 다인성 질환으로 어린이 음료의 소비가 증가됨에 따라 치아우식 발생위험도가 증가할 가능성이 높다. 특히 어린이는 음료를 선택 시 제품의 품질이나 안전성보다 좀 더 자극적인 맛이나 좋아하는 캐릭터와 화려한 색상의 제품을 선호하는 경향이 있어 어린이 음료가 치아건강에 미치는 영향은 매우 클 것으로 생각된다[2]. 본 연구에서 어린이 음료 내에 *S. mutans*의 우식활성능을 측정하기 위하여 음료의 pH, 적정산, 완충력과 대표적인 우식 유발성 세균인 *S. mutans*를 접종하여 음료 내에서의 세균의 생활력과 산 생성력을 측정하였다.

어린이 음료의 pH는 탈회임계 pH 5.0~5.5와 비교하였을 때 탄산음료(2.61±0.02), 과실음료(3.06±0.26), 발효유(3.62±0.03)는 매우 낮은 것으로 나타났고, 우유(6.81±0.04)만 탈회임계 pH 이상으로 나타났다. 이것은 Rytömaa 등[7]이 범랑질 용해가 발생하는 임계가 pH 5.5이며 pH 4보다 낮은 산성식품

은 침식증을 일으킬 위험이 높다고 보고한 것과 Gregory-Head와 Curtis [8]가 구강 내 정상치 pH 6.5로부터 pH 1씩 낮아질 때마다 치아의 용해도가 7~8배 증가한다고 보고한 것에 따라 탄산음료, 과실음료, 발효유는 치아의 탈회와 부식에 위험성이 있을 것으로 보여진다. 이것은 성인음료를 가지고 연구한 Choi 등[6]의 결과와 비교하여 탄산음료(2.42±0.02), 과실음료(3.84±0.01)와 비슷한 결과를 나타냈다. 음료의 pH가 낮은 이유와 맛과 청량감을 살리고 미생물의 증식을 억제하기 위한 것인데, 낮은 pH의 산성음료를 지속적으로 섭취할 경우 치아표면의 pH가 5.5 이하로 낮아지고 치아의 미세경도가 저하되기 때문에 치아 침식증이 발생할 수 있을 것이다. 특히 타액 분비율이 낮아질 경우 연하횟수가 감소하고 자정작용이 잘 되지 않아 산에 노출된 치면에 손상을 일으키고 구강 내에서도 타액의 완충능 또한 감소될 것이다[9].

산성음료에 의한 치아침식은 음료의 산도에 의해 좌우될 것으로 생각되지만 산성도와 치아침식이 직접적으로 비례하지 않는 것은 음료의 산도가 구강 내에서 적정산도로 바뀌기 때문이다[10]. 따라서 음료의 pH와는 별개로 범랑질 탈회 정도는 타액과 희석되지 않고 pH를 유지시키려는 음료의 완충효과가 더욱 중요하다. 산성의 어린이 음료를 pH 7.0까지 중화시키는데 필요한 50% NaOH의 양을 측정하여 적정량과 완충효과를 평가해 본 결과 적정량은 발효유가 가장 높았고, 과실음료, 탄산음료, 우유의 순서로 높았다. 음료의 pH 1.0을 올리는데 필요한 적정량을 완충효과로 보았을 때 음료 초기 pH에서 중화시키는 pH 7.0까지의 차이를 구하여 적정량을 나누어 계산하였다. 이 결과 완충작용이 가장 높은 것은 발효유였고, 우유, 과실음료의 순이었으며 탄산음료의 완충작용이 가장 낮았다. 음료의 pH가 낮을 때 음료의 완충효과가 높으면 음료가 가지는 고유의 산도를 유지시키려는 작용이 높다는 것으로 생각할 수 있는 바 구강 내에

서 정상 pH로 회복되는 속도는 상대적으로 늦어지므로 발효유는 치아의 탈회작용에 나쁜 영향을 줄 것으로 보이며, 반면 음료의 pH가 중성에 가까운 우유의 경우 음료 내 들어있는 칼슘이나 여러 무기질 성분에 의해 음료가 가지고 있는 완충작용이 높아 오히려 치아탈회에는 크게 영향을 주지 않을 것이다. 완충효과가 적은 탄산음료의 경우는 음료의 고유 산도가 매우 낮기 때문에 치아의 탈회에는 많은 영향을 줄 것이라고 보여진다. Choi와 Shin [11]의 연구에서도 음료를 섭취하면 구강 내 타액과 혼합되어 타액의 완충작용으로 섭취 전후의 pH가 달라진다고 하였다. 그러므로 치아를 탈회시키는 요인으로는 음료의 pH 뿐만 아니라 적정산도(titratable acidity), 구강 내 완충작용, 음료 내 성분 등 여러 가지 복합적인 요인들이 영향을 줄 수 있을 것이다.

어린이 음료의 세균에 의한 우식활성능을 평가하기 위하여 음료 내에 *S. mutans*균을 접종하여 세균의 산 생성력을 측정할 결과 치아 탈회 임계 pH인 5.5까지 떨어지는데 걸리는 시간은 탄산음료가 3시간 25분으로 가장 빠르게 떨어져 음료 내에서 세균의 산 생성력이 가장 높았고, 0.25% glucose TSB, 발효유, 우유가 4시간 전후로 떨어졌으며 과일음료의 순이었다. 이 결과는 Choi 등[6]의 결과와 비교하였을 때 우유를 제외하고 비슷한 결과를 나타냈다. 탄산음료가 비교적 빠르게 pH가 떨어진 것은 음료의 완충력이 낮고 탄산음료내의 당 성분 함량을 고려해 볼 수 있다. 한국소비자보호원[12]에 의하면 어린이 음료 11종에 대하여 당류 함량을 조사한 결과 1인 분량 평균 25.4 g의 당류를 함유하고 있으며 특히 국내 시판중인 콜라는 포도당 7.1 g, 과당 5.1 g, 설탕 0.4 g이 들어있어 미국의 11.1 g과 일본의 10.5 g에 비해 다소 높게 나타났다[2]. 일부 어린이 음료는 마개를 당겨서 소량씩 빨아먹는 용기를 사용하므로 치아에 접촉하는 시간이 길고 치아건강에 좋지 않은 영향을 미칠 우려가 있다. 실제로 Baek 등[13]의 연구에 따르면 음료로 30초 동안 양치시킨 후 치아의 산도가 pH 3.3~4.6까지 하강하며 20~30분의 시간 동안 pH 5.7 미만의 상태를 유지하였다고 보고되었다. Ireland 등 [14]은 표면장력과 접촉각의 측정을 이용해 여러 음료의 부착능을 측정할 결과 콜라의 치면 부착은 타액보다 더 강하게 나타났으며 콜라가 타액보다 더 강하게 법랑질에 부착되므로 탄산을 포함한 음료는 법랑질에 더 위대한 작용을 할 수 있음을 보고하였다. 따라서 콜라와 같은 탄산음료는 소아나 다발성 우식증 환자, 구강건조증의 경우 섭취에 대한 식이지도가 필요할 것으로 보인다. 음료 내에서 세균의 산 생성력에 영향을 줄 요인은 음료 내 당분의 함량과 종류, 무기질 성분 등이 있으며 또한 음료 내에 적정시 들어갔던 NaOH의 화학적 성분에 의한 작용도 영향을 주었을 것이라고 생각되었다. Choi 등[6]의 연구에서 우유가

8시간에 pH가 5.5로 떨어진 것에 비해 본 연구에서는 4시간에 떨어진 것은 세균의 종류와 환경적인 요인의 차이로 보이며 다양한 우식 원인균에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각되었다.

*S. mutans*의 음료 내에서의 생활력을 측정하기 위해 pH 7.0으로 적정된 음료에 *S. mutans*를 접종한 후 각 시간마다 꺼내어 세균 수를 세어본 결과 0.25% glucose TSB에서 가장 많은 성장력을 보였으며 우유는 시간이 지남에 따라 지속적으로 성장하는 것을 볼 수 있었다. 탄산음료는 8시간까지 성장하다가 그 이후부터 감소되었으며 발효유는 4시간 이후부터 감소되었다. 과일음료는 시간에 따라 세균의 성장력이 감소되었다. 혼합음료와 과일음료는 우식활성능이 낮았으며 음료 내에서 세균의 성장력도 역시 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 세균 성장을 억제하는 적당한 양의 구연산이 함유되어 있어 미생물의 성장을 억제할 결과라고 보인다.

Grenby와 Saldanha [15]에 의하면 당분이 있는 음료 내에 1%의 구연산과 사과산이 함유될 경우 구강미생물의 활성을 억제한다고 보고하고 있다. 본 연구에서 과일음료의 경우 구연산이 첨가되어 있었는데 정확한 양은 측정하지 않아서 알 수 없지만 이로 인한 세균 성장 억제효과로 우식활성능이 낮게 나타난 것으로 보여진다. 그러나 Pollard 등[16]과 Duke 등[17]은 구연산이 미생물의 활성을 억제할 수 있는 반면 음료 내에 함유되어 있을 경우 침식 가능성을 높일 것이며 침식이 발생하는 경우 치아 경조직 손상에 따른 우식 발생 가능성에도 영향을 줄 것이라고 보고하고 있다[18, 19]. 따라서 음료에 의한 치아의 위해성 평가시 치아우식 위험과 치아침식 위험을 함께 고려해야 할 것이며 음료 내에 함유된 구연산 등 유기산의 함량과 적절한 양을 고려한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각된다.

우유의 경우 pH 5.5까지 떨어지는 시간이 4시간 전후로 빠르게 나타났으며 음료 내에서의 세균 성장력이 계속적으로 증가하는 것을 볼 수 있었다. Moynihan [20]은 우유 내에 칼슘, 인, 카제인, 지방 성분들이 함유되어 있어 보호인자로 작용하므로 우식을 예방하는데 기여한다고 보고하고 있으며 Rugg-Gunn 등 [21]과 Bowen와 Pearson [22]의 연구에서는 우유 내 들어있는 카제인은 매우 안정적인 결합체로서 우유단백질의 높은 완충력에 의해 치아표면을 보호하여 우식 잠재성이 낮은 것으로 보고하였다[22]. 그러나 설치류를 대상으로 실험한 연구에서 우유는 우식 잠재성이 거의 없지만 일정기간 동안 우유병을 사용하는 경우 타액의 흐름이 잘되지 않아 우식을 일으킬 수 있다고 하였다[23]. 따라서 다발성 우식증을 가진 어린이나 특히 우유병을 사용하는 소아의 경우 우유의 치아 우식 잠재성이 있을 것으로 생각되며 우유 섭취시 우유병 보다는 컵을 사용하고 특히 잠을

잘 때 물고 자지 않도록 주의해야 할 것이며 세균이 항상 존재하고 있는 구강 내 환경을 고려하여 우유를 섭취한 후에 반드시 양치를 하거나 적절한 구강위생관리가 필요할 것이다.

이 연구의 제한점으로는 pH 7.0으로 중화시키는데 사용한 NaOH에 대한 화학적 영향력과 우식활성에 영향을 주는 음료 내 다양한 성분에 대한 분석이 필요하며 다양한 우식 원인균종에 따른 차이를 연구하여 균이 가지고 있는 특성에 따라 음료 내 우식 잠재성에 대한 비교 연구가 필요할 것으로 생각된다. 음료와 관련하여 치아의 위해 요인으로는 개인의 타액 및 치면세균막의 pH, 타액의 분비율과 완충력, 음료 섭취습관과 구강위생 관리 수준, 음료의 pH, 음료의 완충능 등에 따른 차이를 들 수가 있다[24]. 특히 어린이와 같이 당분을 좋아하고 구강위생관리가 잘 되지 않은 경우 치아우식 위험도는 매우 높을 것이다. 따라서 관련업체에서는 음료의 맛과 품질의 안전성들이 크게 저해되지 않는 범위에서 어린이 음료의 pH를 높이고 대체당과 같은 비우식성 성분을 사용하여 제조할 수 있는 방안을 마련해야 할 것이다.

요 약

본 연구는 국내 시판중인 일부 어린이 음료의 우식활성능을 측정하여 치아우식의 위험도를 알아보아 치아우식증을 예방하기 위한 기초자료를 제공하고자 시행하였다.

실험음료는 국내 시판중인 탄산음료류, 과실음료류, 우유류, 발효유류 중에서 가장 시장점유율이 높은 음료를 선택하였고, 대조군으로는 0.25% glucose trypticase soy broth를 제조하여 사용하였다.

실험은 음료의 pH, 적정산과 완충력, 음료에 *S. mutans*를 접종한 후 시간 별로 산 생성력과 생활력을 측정하였다. 결과 어린이 음료의 pH는 탄산음료(2.61 ± 0.02)가 가장 낮았고 적정산은 우유(14.00 ± 0.58)가 가장 낮았다. 완충력이 높은 것은 발효유(80.33 ± 3.64)이고, 탄산음료(9.40 ± 1.06)가 가장 낮았다 ($P < 0.05$). 산 생성력 측정결과, 탄산음료(3시간 25분)가 가장 높았고 우유(4시간)가 가장 낮았다. 음료에 *S. mutans*를 접종하여 성장력 측정 결과, 우유는 계속적으로 증가하였다. 결론적으로 어린이 음료는 pH가 낮고 *S. mutans*의 산 생성력이 높으므로 어린이 음료 섭취 후 철저한 구강위생관리가 필요하다고 생각한다.

Funding: This paper is based on the support of academic research at Gimcheon University in 2022.

Acknowledgements: This article is a condensed form of

the first author's master's thesis.

Conflict of interest: None

Author's information (Position): Park YN, Professor.

Author Contributions: The article is prepared by a single author.

Ethics approval

This article does not require IRB approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Young-Nam PARK <https://orcid.org/0009-0005-7279-7172>

REFERENCES

1. Korea Consumer Agency. Children's beverage quality comparison test results [Internet]. Korea Consumer Agency [cited 2018 May 9]. Available from: <https://www.kca.go.kr/smartconsumer/sub.do?menukey=7301&mode=view&no=1002646435>
2. Ministry of Food and Drug Safety. Status of quality certification for children's favorite foods [Internet]. Ministry of Food and Drug Safety [cited 2023 June 30]. Available from: <https://impfood.mfds.go.kr/CFBBB01F02/getCntntsDetail?cntntsSn=526196&cntntsMngId=00032>
3. Jeon HS, Mun SJ, Lee YJ. Analysis of acidity and sugar content of beverages for children marketed in Korea. J Korean Soc Dent Hyg. 2019;19:1077-1087. <http://doi.org/10.13065/jksdh.20190093>
4. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. Caries Res. 1999;33:81-87. <https://doi.org/10.1159/000016499>
5. Grenby TH, Mistry M, Desai T. Potential dental effects of infants' fruit drinks studied in vitro. Br J Nutr. 1990;64:273-283. <https://doi.org/10.1079/bjn19900028>
6. Choi CH, Youn HJ, Jeong SS, Kim JY, Ha MO, Hong SJ. A study of dental caries activity on some commercial drinks. J Korean Acad Oral Health. 2007;31:11-19.
7. Rytömaa I, Meurman JH, Koskinen J, Laakso T, Gharazi L, Turunen R. In vitro erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other foodstuffs. Scand J Dent Res. 1988;96:324-333. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1988.tb01563.x>
8. Gregory-Head B, Curtis DA. Erosion caused by gastroesophageal reflux: diagnostic considerations. J Prosthodont. 1997;6:278-285. <https://doi.org/10.1111/j.1532-849x.1997.tb00108.x>
9. Sim JH, Jeong TS, Kim S. A study on the enamel erosion by fermented milks. J Korean Acad Pediatr Dent. 2004;31:555-563.
10. Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. Eur J Oral Sci. 1996;104(2 Pt 2):199-206. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1996.tb00068.x>
11. Choi DY, Shin SC. A study on pH of several beverages in Korea. J Korean Acad Oral Health. 1996;20:399-410.
12. Korea Consumer Agency. Children's beverage and fermented milk safety survey [Internet]. Korea Consumer Agency [cited 2008

- January 10]. Available from: <https://www.ciss.go.kr/www/selectBbsNttView.do?bbsNo=84&nttNo=3721&key=187>
13. Baek HJ, Kang KH, Kim JH. An experimental study on the effect of children's range beverage on bovine enamel. *J Korea Acad-Ind Coop Soc.* 2009;10:2523-9. <https://doi.org/10.5762/KAIS.2009.10.9.2523>
 14. Ireland AJ, McGuinness N, Sherriff M. An investigation into the ability of soft drinks to adhere to enamel. *Caries Res.* 1995;29:470-476. <https://doi.org/10.1159/000262117>
 15. Grenby TH, Saldanha MG. Comparison of Lycasin versus sucrose sweets in demineralization studies of human enamel and hydroxylapatite. *Caries Res.* 1988;22:269-275. <https://doi.org/10.1159/000261119>
 16. Pollard MA, Duggal MS, Curzon ME. Effect of citrate on the potential cariogenicity of drinks. *Caries Res.* 1993;27:191-194. <https://doi.org/10.1159/000261540>
 17. Duke SA, Molyneux K, Jackson RJ. The effect of citrate in drinks on plaque pH. *Br Dent J.* 1988;164:80-82. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4806361>
 18. Youn HJ, Jeong SS, Hong SJ, Choi CH. Surface microhardness changes caused by commercial drinks on sound enamel of bovine teeth. *J Korean Acad Oral Health.* 2006;30:23-36.
 19. Choi CH, Youn HJ, Jeong SS, Ha MO, Hong SJ. Effect of drinks on the surface microhardness of artificial carious enamel. *J Korean Acad Oral Health.* 2006;30:316-324.
 20. Moynihan P. Foods and factors that protect against dental caries. *Nutr Bull.* 2000;25:281-286. <https://doi.org/10.1046/j.1467-3010.2000.00033.x>
 21. Rugg-Gunn AJ, Roberts GJ, Wright WG. Effect of human milk on plaque pH in situ and enamel dissolution in vitro compared with bovine milk, lactose, and sucrose. *Caries Res.* 1985;19:327-334. <https://doi.org/10.1159/000260863>
 22. Bowen WH, Pearson SK. Effect of milk on cariogenesis. *Caries Res.* 1993;27:461-466. <https://doi.org/10.1159/000261581>
 23. Peres RC, Coppi LC, Franco EM, Volpato MC, Groppo FC, Rosalen PL. Cariogenicity of different types of milk: an experimental study using animal model. *Braz Dent J.* 2002;13:27-32.
 24. Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J.* 1998;48:529-539. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595x.1998.tb00488.x>