

발간등록번호
안내서-0830-01



건강기능식품 기능성 평가 가이드[민원인 안내서]

- ‘치아건강에 도움을 줄 수 있음’ 편 -

2017. 12.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭	건강기능식품 기능성 평가 가이드_치아건강에 도움	
아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.		
등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :)	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서·안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2017 년 12 월 28 일		
담당자 확 인(부서장)		문 명 희 오 금 순

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식(‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2017년 12월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품 안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구팀으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4423

팩스번호: 043-719-4420

제 · 개정 이력

연번	제개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-0830-01	2017.12.28.	제정

* 약어	1
I. 서론	2
II. 일반적 사항	2
1. 개요	2
2. 보건학적 중요성	12
III. 기능성 시험방법	13
1. 바이오마커의 선정	13
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	17
3. 시험 설계 시 고려 사항	29
V.참고문헌	33

약 어

BHI	Brain Heart Infusion Broth
CEJ	Cemen to enamel junction
GTase	Glucosyltransferase
ICDAS	International Caries Detection and Assessment system
LB	Lactobacillus
SM	Streptococcus mutans
MSA	Mitis Salivarius Agar
QLF	Quantitative Light-induced Fluorescence
SMH	Surface Microhardness

I

서론

이 평가 가이드[민원인 안내서]는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 기능성(치아건강에 도움)에 대한 바이오마커 등의 정보를 제공함으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이하고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 치아의 구조 및 역할

1) 치아의 구조

치아는 법랑질에 쌓여 있는 치관(치아머리)과 치조골에 심어져 있는 치근(치아뿌리)으로 구분되며, 치관에서 치근으로 이어지는 경계 부는 치경선(Cervical line, cervical) 또는 백악사기질경계(Cement to enamel junction, CEJ)라고 하며 경조직과 연조직으로 구성되는데 경조직은 법랑질, 상아질, 백악질로 이루어져 있으며, 연조직은 치수조직으로 이루어져 있다.(그림 1)

가) 법랑질(enamel)

법랑질(enamel)은 치아를 구성하는 경조직 중 가장 외부에 존재하는

조직으로 인체에서 가장 단단한 고도로 석회화된 조직이며 구성성분은 수산화인회석(Hydroxyapatite)로 존재하며 무기질, 유기질, 수분으로 구성된다. 특징으로는 무기질을 다량으로 함유하여 단단하다. 그래서 치아에 가해지는 힘을 견딜 수 있으나, 깨지기 쉽고 색상은 무색 반투명하다.

나) 상아질(dentin)

상아질(dentin)은 치아구성 조직 중 가장 많은 부분을 차지하고 있으며 무기질, 유기질, 수분으로 구성되어있다. 형성 시기에 따라 1차 상아질, 2차 상아질, 3차 상아질로 구분된다. 1차 상아질은 치근형성 전 형성되고, 2차 상아질은 치근형성 후 형성되고 마지막으로 3차 상아질의 경우 이물질의 침입에 대해 방어기전으로 형성된다. 특징으로는 노출 시 자극에 예민하게 반응하여 통증이 유발된다. 색상은 황백색이다.

다) 치아연조직의 치수

치수의 경우 치아중심부에 위치한 연조직성 고유조직이다. 유기질과 수분으로 구성되어있으며 신경, 혈관, 림프관이 존재한다. 상아질을 형성하고, 치아의 영양공급과 자극을 담당한다. 치수강은 이 치수가 채워진 치아중심부를 이야기하며 특징으로는 치아의 외형과 유사하게 나타나고 치관에 해당되는 수실과 치근에 해당되는 치근관으로 구분된다. 수실(치관부의 치수강)은 수실개와 수실각으로 나뉘며 수실개는 치관의 절단 교합면부분이다. 수실각은 절치의 절단, 구치교두의 돌출부분이다. 치근관(치근부의 치수강)은 수상저, 치근관구, 치근침, 치근침공으로 나뉘며 수상저는 수실의 가장아랫부분이며 치근관구는 수실에서 치근관으로 연결통로이고 치근침은 치근관의 끝부분이고 치근침공은

혈관, 신경, 림프관이 연결되는 작은 구멍이다.

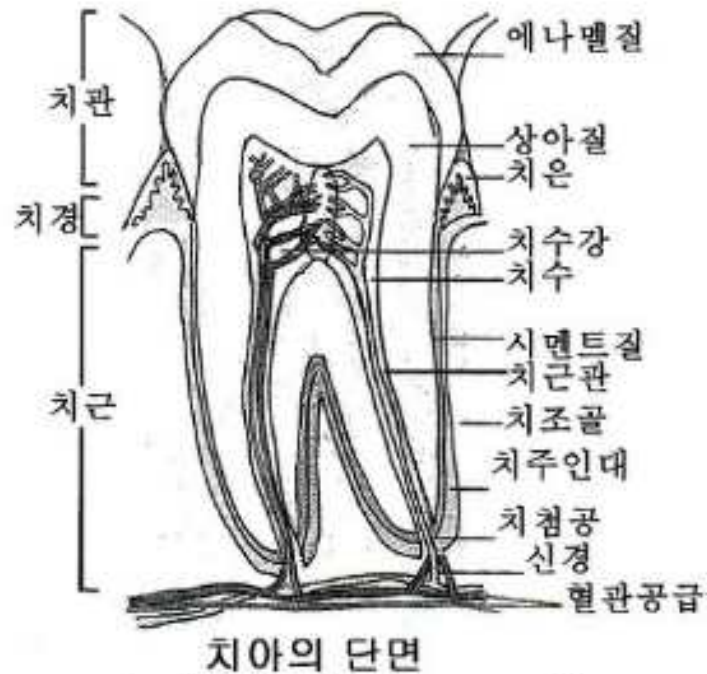


그림 1. 치아의 구조

[출처 : 해부생리학, 정문각, 2010]

2) 치아의 역할

치아는 음식물을 저작하고 발음에 관여하는 구강에 존재하는 기관으로 저작기능과 발음기능 및 미용기능을 발휘한다.

나. 구강건강과 치아건강의 정의

구강건강이란 질병에 이환되어 있지 않고 허약하지 않을 뿐만 아니라 정신작용과 사회생활에 장애가 되지 않는 치아와 악안면을 포함한 구강조직기관의 상태이다. 구강건강에 영향을 주는 큰 3가지 분야는 치아우식, 치주질환, 구취이다.

이중 치아건강의 범위는 치아를 구성하는 부분 중 경조직의 변화로, 구강 내의 여러 우식 및 부식발생요인에 의한 영향을 고려하고 정상적인 생체 기능을 조절하여 치아 경조직 손상의 위험성을 감소시키고, 구강건강을 유지하는 것으로 정의할 수 있다.

1) 치아우식 및 부식

치아우식증이란 치아경조직의 치질 중의 무기질이 탈회되고 유기질이 파괴되어 치아조직의 결손을 초래하는 치아조직질환으로서, 인류에서 가장 빈발하는 만성질환이다. 일단 발생한 치아우식증은 완전하게 치유되지 않아, 반드시 후유증을 남기며 세계 어느 곳에서도 발생된다. 따라서 치아우식증을 범발성 질환이라고 할 수 있다. 인종요인, 성별요인, 경제요인, 사회요인의 영향을 받으며 발생되므로 다인성 질환이라고 한다. 최근에는 치아우식예방을 위해 *Streptococcus mutans*(*S. mutans*)에 대한 항균, GTase 활성억제, cell adherence 억제, 산 생성억제 등에 효능이 있는 물질의 검색이 활발히 이루어지고 있다. 치아 부식은 치아의 화학적인 용해를 말하며 미생물에 의한 우식과는 구별된다. 산에 의한 노출, 음식물 중의 산성음료수, 과일즙 같은 외적 요인과 습관적인 위 내용물의 역류, 식도열공 탈출, 빈번한 구토 등의 내적인 원인에 의하여 발생한다. 내적인 원인에 대한 특징의 경우 설(혀)측면의 상아질과 노출을

동반한 법랑질의 균일한 소실을 관찰할 수 있으며, 과일즙 등에 의한 경우에는 순면과 설면 모두에서 치질소실(맞음) 을 볼 수 있다.

2) 치주질환

치주질환이란 치주 조직에 생기는 일체의 질병들을 말하며 비교적 발생빈도가 높은 치주질환은 만성치은염, 만성치주염, 소년치주염, 급성괴저성폐양성치은염을 예로 들 수 있다. 기 설명한 치아우식증과 마찬가지로 치주질환도 구강 내에 존재하는 세균에 의해 야기되는데, 치은연상 치면세균막(Supragingival plaque) 내에 있는 세균은 치은염(gingivitis)발생과 연관이 깊고, 치은연하 치면세균막(Subgingival plaque)의 세균은 치주염(Periodontitis)의 발생과 관련이 깊다고 알려져 있다. 일반적으로 모든 치은염이 치주염으로 이행된다고 볼 수는 없고 치주염은 치은염과 함께 발생되나 모든 치은염이 치주염으로 진행되는 것은 아니다.

치아우식증을 일으키는 세균과 치주질환을 일으키는 세균은 종이 다르다고 알려져있고 치아우식원인균은 호기성균인 반면에 치주질환을 일으키는 균은 혐기성균으로 주로 *Prophyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodents*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythius*, *Campylobacterrectus*, *Treponema (spirochetes)* 등이 관련 있는 것으로 보고되고 있다.

특히 치은염은 대부분 치은의 염증성 변화에 의해서 발생되므로 이때 적절한 관리를 통해서는 원상태로 회복이 가능하기도 하다.

정리하면 치아우식증과 마찬가지로 치주질환 역시 감염성 질환으로 다양한 요인에 의해서 발생하게 된다. 특히 병원균의 독작용과 숙주방어체계에 의해 일정 기간 동안 질병의 진행과 회복이 순환단계를

거치게 되는데, 치아우식증과 당질의 관계와는 달리 이 과정에 영양요인이 치주병 발생에 좀 더 미묘한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 즉 치주병은 적절한 영양섭취를 통해 감염을 예방하고 상처치유를 촉진시킬 수 있는 일련의 과정을 따른다고 할 수 있다. 이런 측면에서 보면 건강한 치은을 지닌 사람도 꾸준히 치주조직의 건강상태를 유지하기 위해서는 적절한 영양소의 섭취가 요구되고, 치주조직에 염증이 있는 경우에도 치유효과가 있는 영양소를 섭취할 필요가 있다.

3) 구취

구취는 입을 통하여 나오는 호기의 냄새다. 그러나 일반적으로 호기의 냄새 중에서도 타인으로 하여금 불쾌감을 느끼게 하는 냄새를 말한다. 구취는 많은 성인에게 영향을 미치는 일반적 불편이며, 대다수의 사람에 있어서 구강내의 미생물대사로 인해 발생하는 경우가 많다. 구취는 현실적으로 타인에게 불쾌감을 주는 요인이 되고 있음에도 불구하고, 사회구성원 개개인들은 각자의 입 냄새에 적응이 됨으로써 구취에 대한 특별한 인식을 하지 못하고 일상생활을 하며, 이와 반대로 구취가 심하게 나지 않음에도 불구하고 심한 구취를 가지고 있다고 걱정을 많이 하는 구취공포증을 가진 환자들도 다수 있다. Rosenberg 등은 구취공포증환자들은 일반적으로 사회적으로 대인관계를 꺼리게 되고, 자주 잇솔질을 하거나, 껌을 자주 씹고, 사탕을 섭취함으로써 구취를 제거하려는 노력을 하게 되며, 상대방과의 대화 시 일정간격을 유지하려고 함으로써 상대가 냄새를 인식하지 못하도록 하려는 노력을 하게 된다고 언급한 바 있다. 또한 Yaekaki는 구취가 심하거나 구취공포가 심할 때는 사회적으로 고립되고 자신의 치아를 모두 발거하기를 원하며 심지어 자살을 한 예를 보고한바 있다. 구취를

발생시키는 요인은 구강 내 국부요인과 구강 외 신체요인으로 구분할 수 있으며, 구강 내 국부요인으로는 구강부패작용, 구강음식물잔존 불량구강환경, 치아우식증, 설태 및 치주조직병 등을, 구강 외 신체요인으로는 공복 약물투여 및 구강 외 신체질환을 각각 열거할 수 있다.

따라서 구강환경을 잘 관리함으로써 구취를 억제시키거나 제거시키려는 목적으로 다양한 연구들이 이루어지고 있다. 한편, 대부분의 구취는 구내 미생물의 대사 작용에 의하여 발생됨이 알려졌는데 그 성분은 황 화합물, 저급지방산, 알코올, aldehyde 등 다양하다. 이 중에서도 특히 구취의 강도와 관련이 있는 성분은 hydrogen sulfide, methyl mercaptan, dimethyl sulfide 등의 휘발성 황 화합물로서 methyl mercaptan의 농도와 감각적으로 느끼는 구취 사이에는 비례적 상관관계가 있고 구취를 억제하기 위해서는 methyl mercaptan의 발생을 억제하는 것이 대단히 중요하다.

다. 치아의 경조직 손상 원인

치아의 경조직에 손상을 주는 요인은 크게 외상, 치아 마모, 치아우식증에 의한 손상이 존재하며 이의 원인이 되는 요인들이 굉장히 다양하다.

1) 외상

외상치아의 WHO 분류로는 크게 파절(골절) 손상과 변위손상으로 나누어진다. 파절 손상은 크게 잇몸 밖에 노출되어있는 치관파절과 잇몸 안쪽의 치근파절, 그리고 파절선이 두 부위를 모두 침범하는

치관-치근파절로 분류된다. 변위 손상은 치아자체에는 파절선이 없이 치조와로부터 치아가 분리된 손상으로 진탕, 아탈구, 탈구, 정출, 함입이 이에 속한다. (그림 2) 그 원인으로는 추락, 운동/놀이, 싸움, 교통사고 등으로 보고되고 있다.

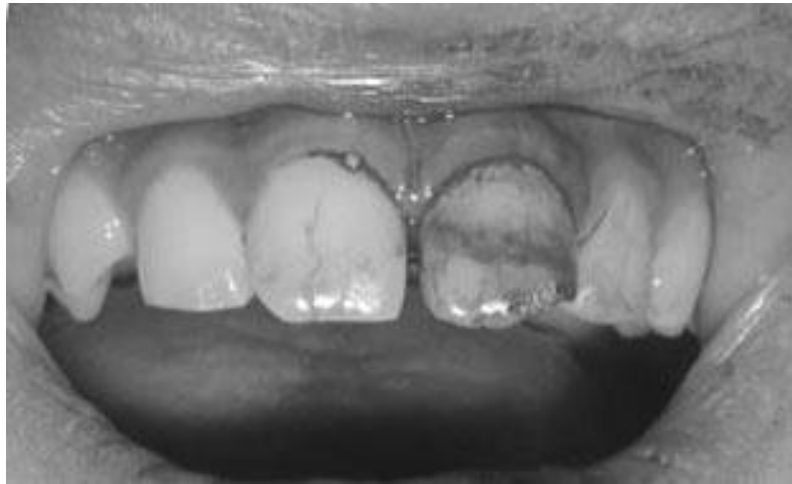


그림 2. 좌측 중절치의 탈구 및 치관파절 치아
[출처 : 박재홍, Korean Dental Association, 2013]

2) 치아 마모

주로 마찰, 마모 및 침식(부식)에 의한 손상으로 세 가지 과정에 의한 결과이며 마찰은 치아와 치아 사이의 물리적인 접촉에 의한 치아의 손상이며 음식물을 과도하게 강하게 씹거나 이갈이 등에 의한 원인에 의해 야기된다.

마모는 치아 이외의 물리적 수단에 의해 치아가 조금씩 손상되는 것을 말하며 잘못된 칫솔질, 파이프 흡연, 치실 또는 이쑤시개의 부적절한 사용 등에 의해 야기된다.

부식은 산에 의한 치아의 화학적인 용해를 말한다. 부식의 경우 치석의 박테리아가 산을 생성하여 부식되는 치아우식과는 구별되며 산성음식 또는 음료의 과도한 섭취, 반복된 위산의 역류 등에 의해 야기될 수 있다.

3) 치아우식증

초기 치아우식 병소는 적절한 1차 예방을 통해 원상태로 회복이 가능한 가역반응단계를 거치게 되는데 이 단계를 촉진시킬 수 있는 요인으로서는 타액 내 무기질 함량, 치면세균막 내 우식 원인 세균의 활성화도 저하, 재결정화 촉진 등을 들 수 있다.(그림 3)

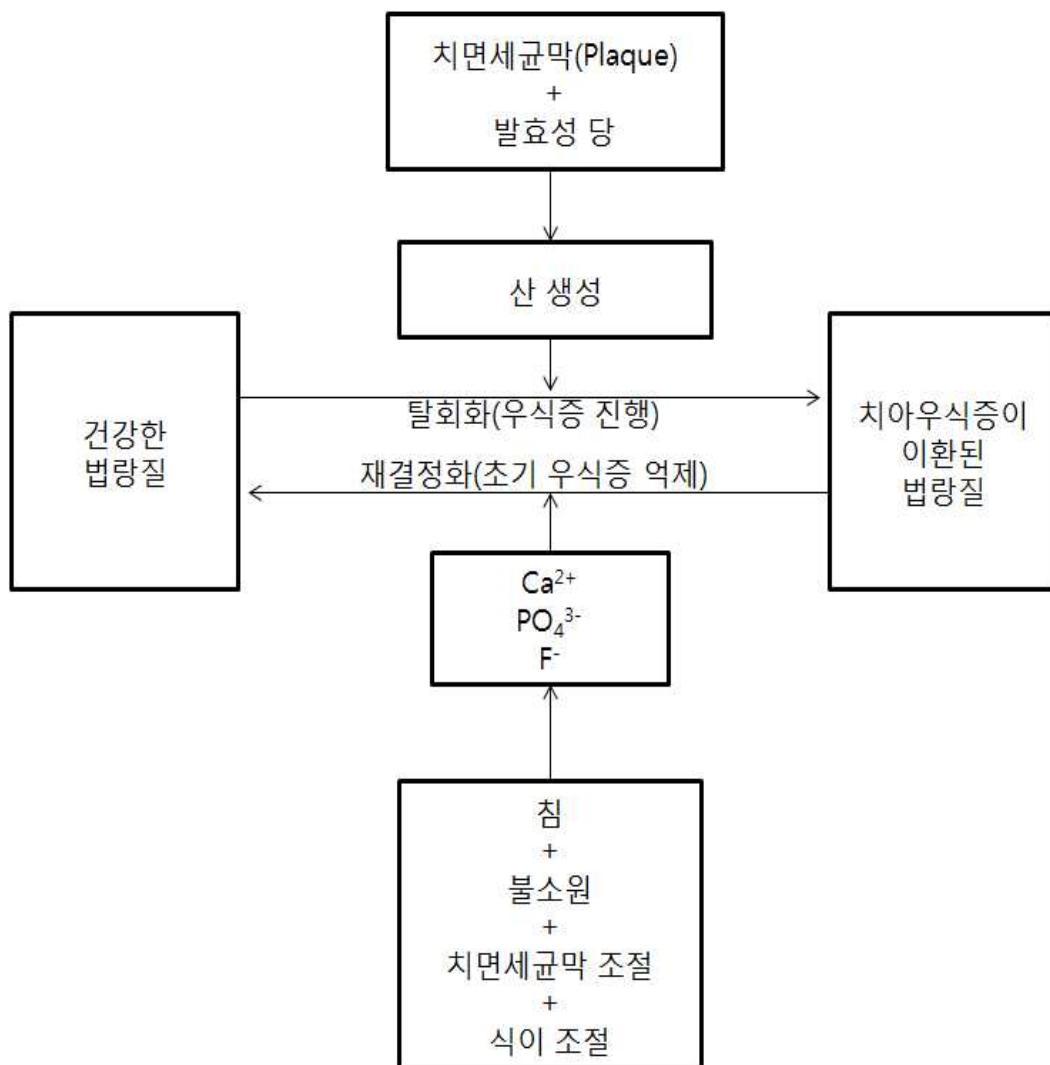


그림 3. 재결정화 탈회화 도식

[출처 : Selwitz, R.H.*et al.*, The lancet, 2007]

치아우식증의 발생기작은 *Mutans Streptococci* 라고 총칭되는 구강연쇄구균에 의해 발생하며, 사람의 구강에서는 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*의 2종이 분리된다. 처음 치아표면에 타액 내의 당단백질이 부착하여 얇은 막이 형성된다. 그 이후 자당을 통해 *S. mutans*가 생산한 GTase에 의해 불용성이며 접착력이 강한 glucan을 합성하여 *S. mutans*등의 균들을 치면에 부착시켜 균괴를 형성하게 된다. 이 균괴가 치면을 덮으면 치면세균막을 형성하게 되고 우식원인균 균들에 의해 유산, 유기산이 치면세균막 내부에 축적되어 pH의 저하되며 치아의 탈회가 유발되게 된다. 치면세균막의 경우 타액 내의 칼슘, 인산이 부착되면서 딱딱하게 변하여 치석이 형성되고 치석에 비례해 치아우식증이 촉진된다.

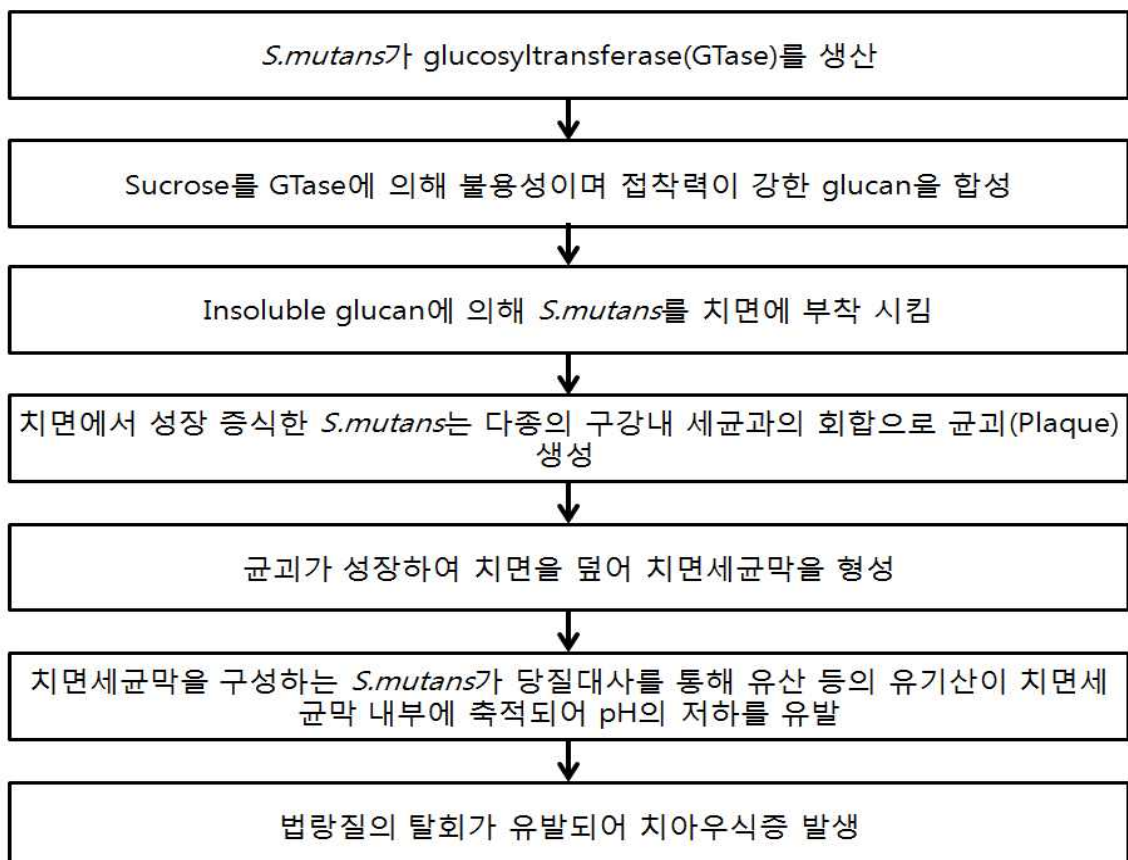


그림 4. *S. mutans* 치아우식증 유발 기작

[출처 : 이영기 외, Kor J Oral Maxillofac Pathol, 2009]

2. 보건학적 중요성

인간은 먹고 마시는 행위를 한다. 이는 생존을 위해 필수적인 현상이며 치아의 저작기능으로 지속된다. 그러므로 치아의 기능 가운데 저작기능의 감퇴나 상실은 생존현상의 결함이라 볼 수 있다. 그리고 치아와 악·안면구강조직기관의 기능 가운데에서 미용기능과 발음기능은 사회생활에 직접적인 영향을 미치며 사람들이 자연스럽게 서로 접하여 의견을 교환하며 협력하는 사회생활은 치아와 악안면구강조직기관의 미용기능과 발음기능의 결함으로 장애를 받는다. 그러므로 치아와 악안면구강조직기관의 기능을 계속 발휘시키려는 구강보건행위는 생활장애를 예방하고 제거하는 행위라고 보고 건설한 사회생활을 영위하기 위하여 구강건강을 합리적으로 관리하는 것이 중요하다. 더욱이 치아우식증 초기의 병증은 회복이 가능하기 때문에 모든 사람이 스스로 관심을 가지고 노력하는 행위가 중요하다.

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

치아 건강 기능성 평가 시 각 바이오마커 별 측정 가능한 시험 연구유형은 다음과 같다.

구분	바이오마커	측정 가능한 연구 유형		
		시험관	동물	인체
치면세균막 감소	치면세균막 균체 부착 정도	O		
	치면세균막 지수			O
구강내 우식 원인 세균 활성 억제	<i>S. mutans</i> 균수	O		O
치면세균막 산성화 억제	우식균의 유기산 생성량	O	O	
재결정화 촉진	탈회/재결정화 측정	O		
	미세 경도 측정	O	O	
치아우식진행지표	ICDAS(International Caries Detection and Assessment system)			O
	QLF(Quantitative Light-induced Fluorescence)			O

가. 주요 평가지표

1) 치면세균막 감소 지표

가) 치면세균막 내 균체 부착 정도

우식원인균은 구강 내 당단백질에 의해 생긴 치아표면의 막에 부착되어 생육하게 되고 치면세균막을 생성한다. 우식원인균이 생산한 우식의 원인 물질인 유기산들이 막 내에 잔류하여 우식이 진행된다. 따라서 *In vitro* 시험에서 시료 물질에 의한 치면세균막내 균체 부착 정도를 측정하여 치면세균막 감소 지표로 사용된다.

나) 치면세균막 지수

치면세균막은 치아에 부착된 균괴가 세균성바이오필름을 만들어 생성되며 우식원인균들의 생육을 위한 보호막으로써 역할을 한다.

치면세균막의 생성정도를 평가하기 위해서는 치면세균막 지수를 사용하는데 이는 인체적용 시험에서 염색을 통해 치면세균막의 범위를 확인하여 점수화 시켜 치면세균막 감소 지표로 사용 되고 있다.

2) 구강 내 우식 원인 세균 활성 억제

가) *S. mutans* 균수

*S. mutans*는 인간의 구강 내의 가장 큰 치아 우식 원인 세균이며 GTase를 통해 불용성 글루칸을 만들어 균체들을 치아표면에 부착시켜 치면세균막을 만들어 대사를 통해 유산, 유기산을 생산하여 치면세균막 내의 pH를 저하시켜 치아를 우식시킨다. *In vitro* 시험에서 시료의

항균성을 측정하고 인체적용시험에서는 우식원인균의 생균수를 측정함으로써 시료의 우식원인균 활성 억제 지표로 사용하고 있다.

3) 치면세균막 산성화 억제 지표

가) 치면세균막 유기산생성량

치면세균막 산성화 억제에 대한 정량적인 지표로써 산생성량을 측정한다.

4) 치아 법랑질 재결정화 지표

가) 탈회/재결정화 측정

초기 치아우식 병소는 적절한 1차 예방을 통해 원상태로 회복이 가능한 가역반응단계를 거치게 되는데 이 단계를 촉진시킬 수 있는 요인으로는 타액 내 무기질 함량, 재결정화 촉진 등을 들 수 있다. 따라서 시료의 탈회와 재결정화 정도를 측정하여 지표로 활용하고 있다.

나) 미세경도 측정

초기 법랑질 치아우식의 재결정화란 이온교환으로 인해 치아우식 이전의 상태의 법랑질 본래의 밀도를 회복하는 것을 의미하므로 재결정화 정도를 나타내는 지표로써 미세경도를 측정하기도 한다.

5) 치아우식 진행 지표

가) ICDAS

ICDAS CODES를 통해 치아 우식 진행 지표로 사용할 수 있다. 기존의 WHO 치아우식 분류기준보다 초기의 치아우식증에서 조금 더 세분화된 분류를 보여준다. 즉, 실질적인 우식에 대한 진단을 통해 치아우식증의 진행 여부를 판단 가능하다. 다만 치아우식증에 대한 증감효과는 장기적인 인체실험으로 평가하는 것이 유효하다.

나) Quantitative Light-induced Fluorescence(QLF)

QLF를 통해 치아 우식 진행 지표로 사용할 수 있다. QLF는 405 nm 파장의 푸른 색 가시광선 영역의 빛을 치아에 조사해서 초기 우식증을 탐지하는 장비이다. 건전 치질의 경우 빛이 조사되었을 때 반사되면서 녹색의 autofluorescence가 발생하나, 초기 우식증이 있는 경우에는 형광이 소실되어 어둡게 보인다. QLF를 사용하면 이 autofluorescence가 감소한 정도를 정량화하여 치아 우식증의 정도를 정량적으로 확인할 수 있다.

2. 주요 바이오마커의 측정방법

가. 치아 우식 원인(미생물) 관련 지표

1) 치면세균막 군체 부착 정도

가) *In vitro*

- ① 50 mL의 glass tube에 1% sucrose를 함유한 BHI(brain heart infusion) broth를 10 mL넣고 시료 추출물을 다양한 농도로 넣는다. 대조군은 시료 추출물 대신 멸균수를 첨가한다.
- ② *S. mutans*가 10^5 이 되도록 접종한다.
- ③ Glass tube를 30° 기울인 상태로 37°C의 incubator에서 24시간 동안 정치 배양한다.
- ④ 배양한 후 0.5 M NaOH 용액을 5 mL 가하여 벽면에 부착한 군체를 현탁시킨다.
- ⑤ 현탁액 1 mL를 취하여 550 nm에서 흡광도를 측정한다.

2) 치면세균막 지수(치면세균막 재형성율)

가) Human

- ① 실험 기간 동안 항생제의 복용과 실험에 영향을 미칠 수 있는 구강진료 수취를 금한다.
- ② 모든 실험 대상자에게 치면 세균막 부착 정도를 측정하고 치면 세마를 하여 치면세균막 지수가 0이 되도록 한 후 두 군으로 나누어 한 군에는 실험 시료를, 다른 한 군에는 대조 시료를 하루에 3회씩

식음하도록 한다.

- ③ 실험 시작 후 2주, 4주, 6주 동안 치면세균막 부착정도를 Quigley & Hein index를 이용하여 관찰한다. Turesky가 변형한 Quigley와 Hein의 치면 세균막 평점 기준에 따라, 각 실험 대상자의 협설측 치면을 각각 근심 원심 중앙치면으로 구분하여 6개 부위를 측정하고, 측정대상치아는 15, 13, 26, 36, 32, 44번 치아로 한다. Quigley와 Hein의 치면 세균막 지수는 아래와 같다.

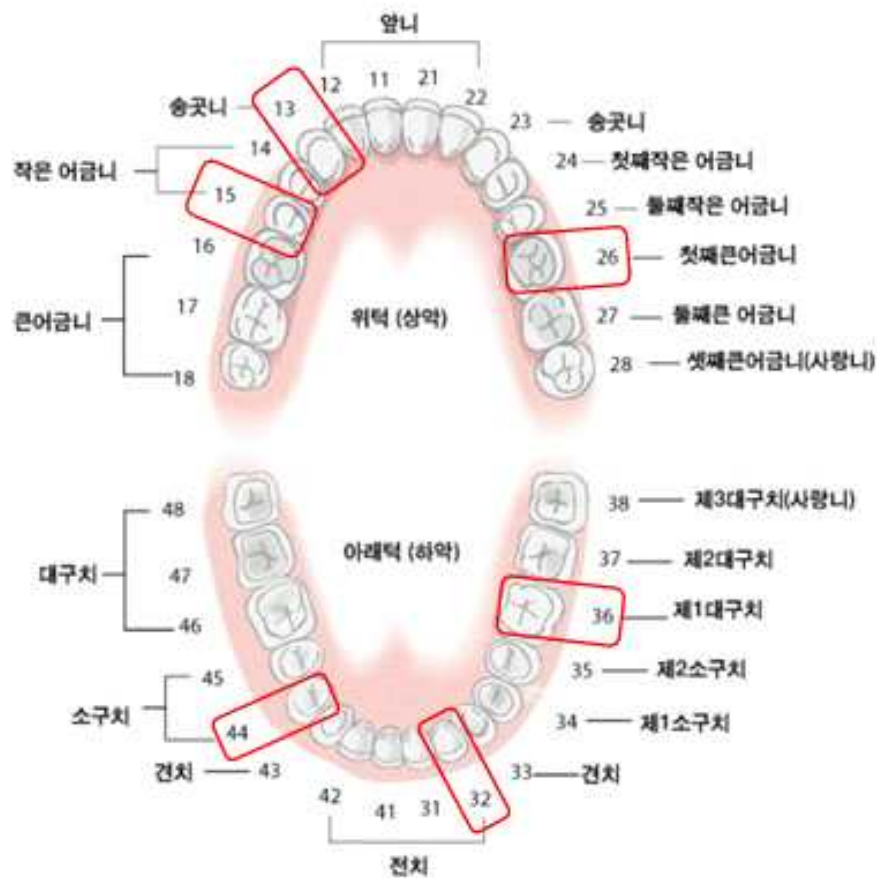


그림 5. 치면 세균막 측정 대상치아

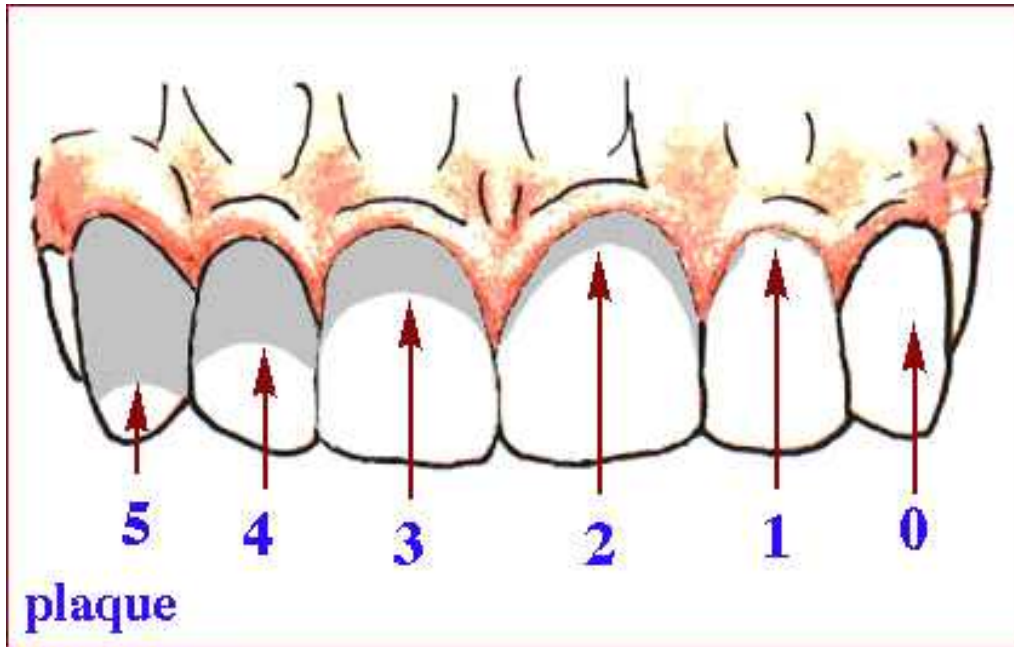


그림 6. Turesky가 변형한 Quigley와 Hein의 치면 세균막지수 기준
(ORAL HEALTH DATABASE)

[출처 : Modified by Turesky et al, Quigley Hein Index, 1970]

표 1. Turesky가 변형한 Quigley와 Hein의 치면 세균막지수의 기준

치면세균막 지수	치면세균막 부착정도
0	치면세균막 불부착
1	치은연부에 점상부착
2	치은연을 따라서 선상부착(넓이가 1mm이하)
3	치경부측 1/3까지 치면 세균막이 있는 경우
4	치경부측 2/3까지 치면 세균막이 있는 경우
5	치경부측 2/3를 넘어서 치면 세균막이 있는 경우

[출처 : 백대일 외, 치아건강관련 기능성 시험, 2004]

나. 구강 내 우식 원인 세균 활성 억제

1) *S. mutans* 군수

가) *In vitro*(항균성 측정)

- ① Brain heart infusion broth에 군수가 10^5 가 되도록 *S. mutans*를 배양한다.
- ② 37°C의 incubator에서 24시간 동안 배양한다.
- ③ 시료 추출물을 다양한 농도로 하여 넣는다. 대조군은 시료 추출물 대신 멸균수를 넣는다.
- ④ 37°C의 incubator에서 48시간 동안 배양한다.
- ⑤ Paper disc법을 이용하여 항균성을 측정한다.

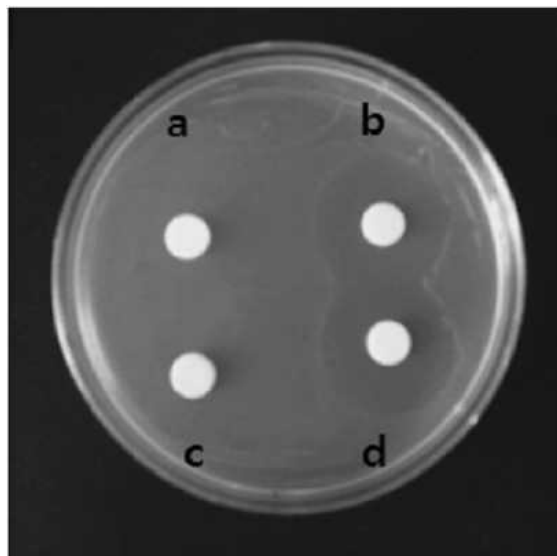


그림 7. Paper Disc 법

[출처: Ae-Ri S et al., J Korean Acad Oral Health, 2016]

나) Human

- ① 실험 기간 동안 항생제의 복용과 실험에 영향을 미칠 수 있는 구강진료 수취를 금한다.
- ② 모든 실험 대상자에게 *S. mutans* 수를 측정하기 위한 타액을 채취하고 치면 세마를 하여 치면세균막지수가 0이 되도록 한 후 두 군으로 나누어 한 군에는 실험 시료를, 다른 한 군에는 대조시료를 지급한다. 실험 대상자들은 하루에 3회씩 시료를 섭취하도록 한다.
- ③ 실험 시작일, 시작 후 2주, 4주, 6주에 소환하여 *S. mutans* 수를 측정하기 위한 타액을 채취한다.
- ④ 15 mL Falcon tube에 멸균된 0.1% 펩톤 용액을 5 mL씩 분주하여 40개를 준비한 후, 실험 대상자가 펩톤 용액을 15초간 수구(漱口)하게 한다.
- ⑤ 펩톤 용액을 멸균된 0.067 M Phosphate buffer 용액(pH 7.2)으로 10 배 희석한다.
- ⑥ 희석한 용액의 100 μ L를 취하여 Mitis Salivarius Agar(MSA)에 분주하고, 멸균된 bending glass로 평판에 전체적으로 도말하고, 37°C의 배양기에 12시간 배양 후, Anaerobic chamber에서 37°C, 48시간 동안 다시 배양하고, colony counter를 이용하여 각 배지에서 *S. mutans*의 colony를 측정하여 기록한다.

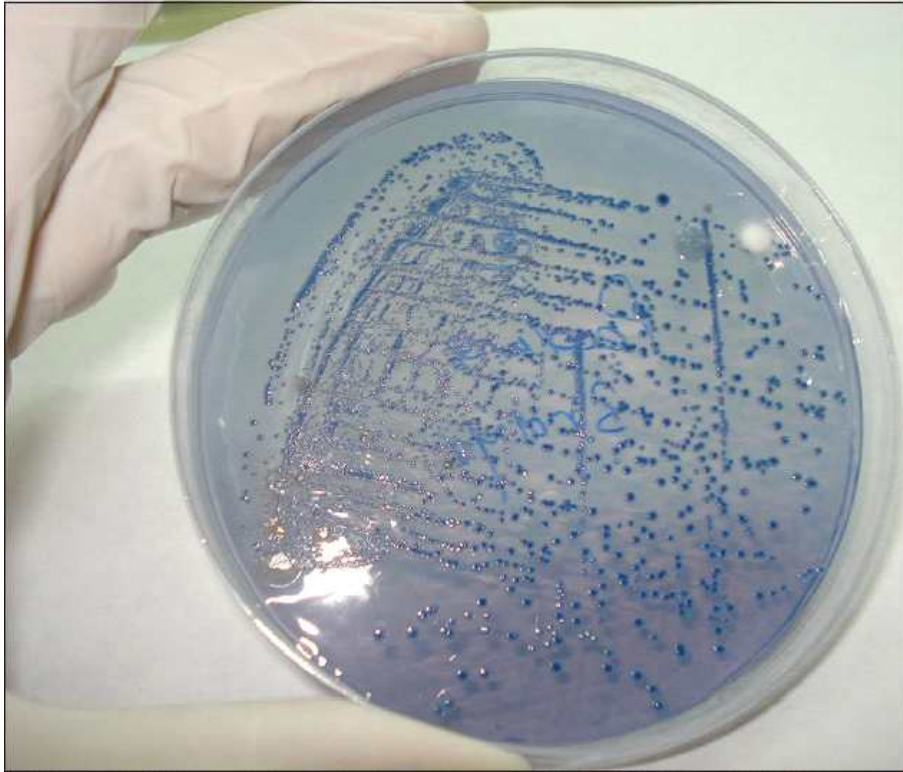


그림 8. MSA배지의 *S.mutans* 배양

[출처: Wirz-Justice A *et al*, J Clin Psychiatry, 2011]

다. 치면세균막 산성화 억제 지표

1) 치면세균막 유기산 생성량

가) *In vitro*

- ① Brain heart infusion broth에 시료 추출액을 다양한 농도로 넣는다.
대조군은 시료 추출물 대신 멸균수를 첨가한다.
- ② 균수가 $10^5 \sim 10^6$ 이 되도록 *S. mutans*를 접종한다.
- ③ 37°C의 incubator에서 48시간 동안 배양한다.
- ④ 배지 속에 분비된 산 생성량을 HPLC를 이용하여 측정한다.

나) *In vivo*

- ① 턱을 무균 처리하여 제거하고 275 mM glucose solution 30 μ L로 5분 동안 tooth surface를 씻어낸다.
- ② 냉동된 HPLC reagent 1 mL에 넣고 320 W에서 three 10-s bursts해서 Braun-sonic 1510 probe로 sonication 시킨다.
- ③ suspension은 10분 동안 1200 g 냉동 centrifuge에서 centrifuge 0.2 μ m microfiltrefuge tube를 통해 거르고 -20℃에서 얼린다.
- ④ Carboxylic acid를 분리하기 위해 Perkin-Elmer chromatograph와 partition HPLC column을 사용하는 HPLC로 분석한다.
- ⑤ Citric, pyruvic, succinic, lactic, formic, acetic, propionic, isobutyric, butyric, isovaleric acid로 standard를 잡아서 HPLC 결과와 비교한다.

라. 치아 법랑질 재결정화 지표

1) 탈회재결정화 측정

가) *In vitro*

- ① 제작된 시편을 주사전자현미경을 통해 관찰하고 시편을 그룹 당 10개씩 비슷한 군으로 분류한다.
- ② 탈회(석회화된 조직들은 고정을 완료한 후 조직 과정단계를 거치기 전에 석회화된 부위에 침착되어 있는 칼슘염이나 인산염을 제거하여 조직을 연화하는 과정)를 유발한다.
- ③ 시료의 정해진 순서에 따라 일정시간 담군 뒤 주사전자현미경을 통해 법랑질 표면 변화양상을 관찰한다.

2) 미세 경도 측정

가) *In vitro*

- ① Initial hardness test - 초기경도 측정 후 범랑질 시편을 그룹 당 10개씩 비슷한 군이 되도록 분류한다.
- ② 탈회 유발한다.
- ③ SMH(Surface Microhardness)를 4~6군데에서 Hardness 측정한다.
- ④ 시료에 정해진 순서에 따라 일정시간 담그고 SMH 측정한다.

나) *In vivo*

- ① Sprague-Dawley계 암컷의 흰쥐 60마리를 생후 3주령을 분양받아 1주일간의 적응기간을 가지도록 한다.
- ② 원하는 기간 동안 다양한 농도로 시료를 제공한다.(단, 실험 기간은 적어도 8주 이상이 되도록 한다.)
- ③ 섭취 기간이 끝나면, ethyl ether로 흡입 마취시킨 후 dental rotary engine에 연결된 low speed용 disk로 흰쥐 절치를 gingival line 상에서 절단한다.
- ④ 절단한 치아 시료는 수세, 세마시킨 후 생리식염수에 담아 4℃의 냉장고에 보관한다.
- ⑤ window가 형성된 흰쥐 절치 시료를 청량음료 20 cc에 2시간 침지시킨다.
- ⑥ 채취된 흰쥐 상악절치는 가능한 4 mm²이상의 절편이 나오도록 절단하여 총 72개의 범랑질 시편을 만들어 탈회된 평활면을 제외한 모든 면이 포매되도록 unsaturated polyester를 이용하여 지름 10 mm, 높이 15 mm 정도의 원기둥을 제작하고, 포매된 시편의 장축에

대해 범랑질 조직표면이 수직이 되도록 #1200 silicone carbide paper로 연마하고, 알루미나 분말로 최종 연마하여 표면미세경도 측정을 위한 시료로 준비한 후 Vicker's diamond indenter가 부착된 미세경도측정기를 이용하여 시편 당 3개 부위의 미세경도를 측정한다.

- ⑦ 이상과 같이 초기표면미세경도를 측정한 시료들의 평균을 구하여 $\text{mean} \pm \text{S.D}$ 내의 시료만을 수집하여 이들 시료만을 대상으로 청량음료에 침지시킨 후 다시 표면미세경도를 측정한다.

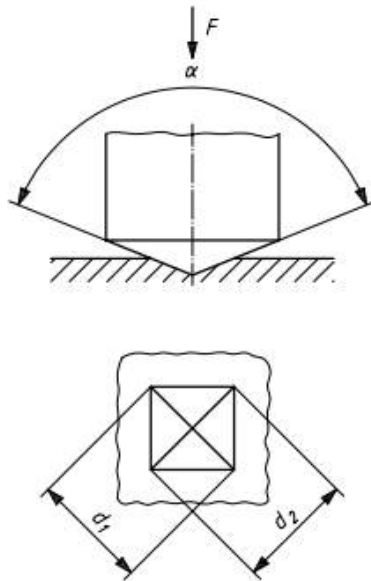


그림 9. Vicker' s hardness test

[출처 : INTERNATIONAL STANDARD, ISO 6507-1, 2005]

(F = test force, N, α = angle, 136° ,d1,d2 = Lenth of the diagonals of the indentation, mm).

마. 치아우식 진행 지표

1) ICDAS CODES

치관부의 치아우식증은 병소의 진행 정도에 따라 코드 0에서 6까지 총 7단계의 순서척도로 평가된다. 치면의 특성에 소와 열구¹⁾ 부분과 인접면을 포함한 평활면을 세분화하기도 하고, 치아의 인접면과 수복물 또는 실란트 주변의 이차 우식증에 대한 기록도 용이하도록 세분화되어 있으나, 모든 치면에 대한 일반적 평가기준은 아래의 표 2 및 그림 9와 같다.

표 2. ICDAS 평가 체계의 기준

CODE 0	건전한 치아를 가리킨다.
CODE 1	법랑질에 국한된 초기의 시각적인 변화를 보이는 병소를 나타낸다.
CODE 2	시각적으로 뚜렷한 색 변화를 감지할 수 있는 병소상태를 나타낸다.
CODE 3	상아질까지 이환되지 않은 병소 상태로 법랑질에 국한되어 치면에 국소적인 소실이 발생한 경우를 나타낸다.
CODE 4	법랑질의 손상여부와는 상관없이 우식 병소가 상아질까지 진행되어 치면 아래로 치아 내부의 어두운 변색이 감지되는 병소를 나타낸다.
CODE 5	상아질이 노출된 뚜렷한 병소를 나타낸다.
CODE 6	CODE 5보다 병소의 범위가 좀 더 광범위하게 확장되어 치면의 절반 이상이 이환된 상아질 병소를 나타낸다.

1) 치아는 음식물을 씹어내기 위해 거친 형태를 띄고 있는데 거친 형태 사이에 눈에 잘 보이지 않는 구멍과 선들이 존재한다. 이를 소와 열구라 한다.










Code 0	Code 1	Code 2	Code 3	Code 4	Code 5	Code 6
SOUND	OPACITY First Visible Change only after airdrying: WHITE, BROWN	OPACITY Distinct Visible Change without air-drying: WHITE, BROWN	LOCALISED ENAMEL BREAKDOWN SURFACE INTEGRITY LOSS	UNDERLYING DARK SHADOW +/- SURFACE INTEGRITY LOSS	DISTINCT CAVITY WITH VISIBLE DENTINE	EXTENSIVE DISTINCT CAVITY WITH VISIBLE DENTINE
	 	 				

그림 10. ICDAS detection criteria and samples of caries lesions

[출처 : Hee-Eun K et al., JKSDH, 2014]

2) Quantitative Light-induced Fluorescence(QLF)

QLF-D Biluminator™ system(Inspektor Research Systems)는 가시광선 영역의 빛을 치아에 조사해서 초기우식증을 탐지할 수 있는 장비이다. 이 장비는 과거에 실험실 영역에서 TMR(Transvers Microradiography)와 같은 장비로 탐색이 가능했던 치아 표면의 미세한 무기질 소실량을 임상 현장에서도 평가할 수 있도록 만든 획기적인 제품이다.

QLF에서 활용하고 있는 빛은 405 nm 정도의 푸른색의 가시광선이다. 이 빛을 치아에 조사하면 건전한 치아의 경우 빛이 상아-법랑질 경계(DEJ)까지 투과한 뒤 반사되면서 녹색의 자연 형광(autofluorescence)이 발생하게 된다.

QLF-D Biluminator™ system(Inspektor Research Systems)에서는 아래의 세 가지 측정 변수를 시간 간격을 두고 측정한다.(그림 10)

- ① ΔF (Delta F): 정상치질의 녹색 형광에 비하여 초기 우식병소에서

소실된 녹색 형광량을 나타낸다.

② 병소의 크기(Area): mm²의 단위로 측정 가능하다.

③ 병소의 3차원적 특성(ΔQ)은 Delta F(ΔF)와 병소의 크기(Area)를 곱한 수치로 제시할 수 있다.

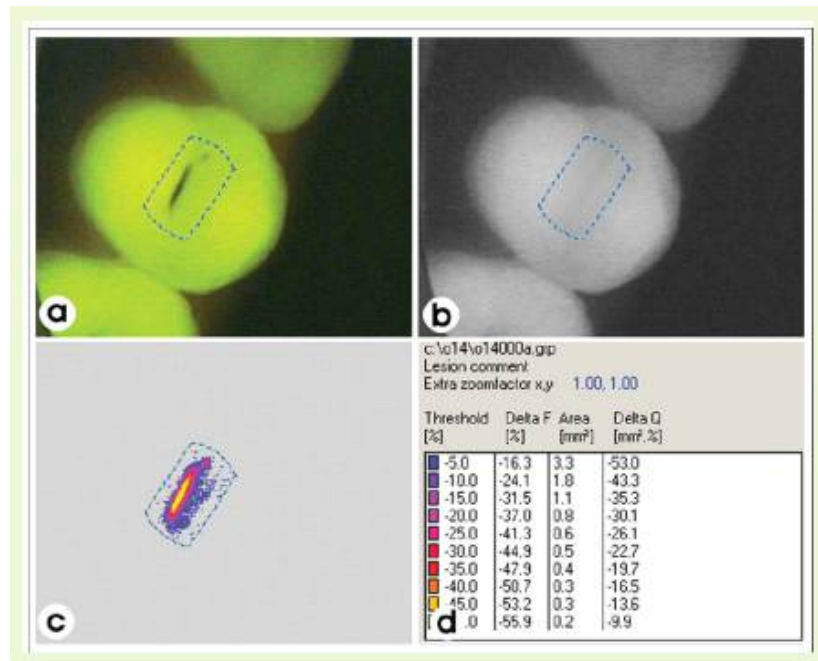


그림11. QLF를 이용하여 병소를 분석하는 예

[김백일, QLF의 원리와 임상적 활용, Korean Dental Association, 2011]

- (a) 소구치 교합면에 건전치질 위에 존재하는 초기 우식 병소를 인식하여 패치를 위치시킴
- (b) 표면이 동일하게 보이도록 패치 부위를 재조합한 모습
- (c) 병소의 탈회 심도에 따라서 추출된 병소를 보여줌
- (d) 다양한 수준의 형광소실 정도를 수치로 보여줌

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관시험

1) 법랑질 시편제작(Bovine Incisor/Human Premolar)

가) 매몰형 모델(embedded model)

우전치의 순면을 직경 6 mm되게 다이아몬드드릴로 삭제한 후에 methyl methacrylate 레진에 포맷한다. 법랑질의 표면은 200~600 grit의 연마제로 연마한다.

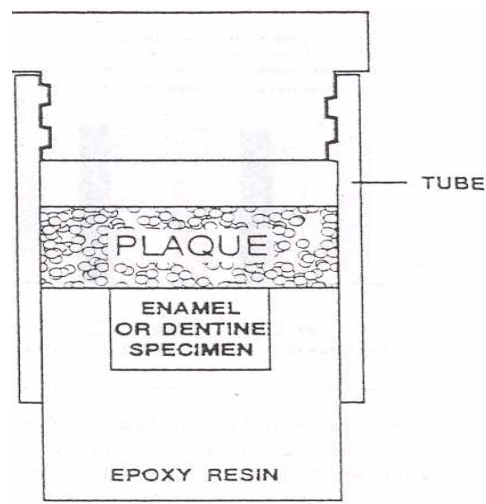


그림 12. Embedded model.

[출처: 백대일 외, 치아건강관련 기능성 시험, 2004]

나) 원판 모델(DISC model)

법랑질을 직경이 3 mm가 되게 원통형을 제작한 후에 0.5 mm두께가 되게 법랑질 부분을 micro-sectioning machine으로 자른다. 모든 원판을

현미경으로 관찰하여 상아질 부위를 완전히 제거한 뒤에, 표면을 silicon-carbide paper(1,200~4,000 grit)로 연마한다. 원판을 에탄올(70%) 세척과 초음파 세척하여 잔사를 제거하고 건조시킨다. 원판의 측면과 바닥을 Platinum 코팅을 하거나 레커칠을 한다.

2) 수산화인회석원판 제작

- ① 10 mL의 증류수에 acrylamide gel 9 g과 bisacrylamide 0.24 g을 넣어 용해한다.
- ② ①용액 4 mL에 증류수 1.7 mL와 ammonium persulfate (0.15 g/10 mL) 및 TEMED 2 μ L를 혼합하여, 60%의 polyacrylamide gel을 제조한다.
- ③ 3 g의 수산화인회석현탁액을 넣은 삼각플라스크에 첨가하여, vortexing한다.
- ④ ③을 micropipette으로 300 μ L씩 multiwell plate에 분주한다.
- ⑤ 상온에서 4시간 경화한다.
- ⑥ 건조된 polyacrylamide 수산화인회석원판을 multiwell plate에서 분리한다.
- ⑦ 180°C furnace에서 10분간 굽는다.

3) 탈회용액의 예시

- ① 0.05 M KCl 완충용액(1 mM phosphate(pH 6.0), 1 mM CaCl_2 , 0.1 mM MgCl_2)을 준비한다.
- ② 0.1 M lactic acid에 6wt% hydroxyethyl cellulose를 첨가하고, NaOH로 pH 4.0이 되게 조정한다.

4) 인공치면세균막 형성법 예시

0.75% agarose와 50 mmol/L glucose를 첨가한 YEPC(0.5% yeast extract, 0.1% peptone, 0.85% NaCl, 0.05% L-cysteine HCl, 10% v/v glycerin)에 *S.mutans* cells(A660= 3.0)접종하여 37℃에서 22시간 배양한다.

나. 동물시험

- 1) 동물모델은 일반 실험동물(Sprague-Dawley 등) 중 21~28일령을 사용할 수 있고, 각 군당 10마리 이상을 실험한다.
- 2) 투여경로는 경구투여(자유급식)를 기본으로 하고, 2주 정도 도입기간이 필요하며, 2주 간격으로 6~8주 정도 평가한다.
- 3) 바이오마커는 치아우식경험도(하악 대구치) 및 치면세균막지수를 측정한다.
- 4) 통계처리: 시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

다. 인체적용시험

1) 시험대상자

- 치아 조건은 이상 검사로 현재 진행 중인 우식병소의 증거가 없는 건강인 또는 관찰 가능한 초기우식병소를 1개 이상 지닌 경계역의 반건강인을 대상으로 한다.

- 타액 조건
 - 자극성 타액 분비량 정상(>1.0 mL/min, 전타액)
 - LB/SM 구강내 우식 원인 세균수 : 10⁵ CFU/mL 이상
 - Baseline gingival index : 1.5 이하(Silness-Loe)
 - Baseline plaque index : 1.5 이하
- 실험기간동안 항생제를 복용했거나 실험에 영향을 미칠 수 있는 구강진료를 받은 자는 제외한다.
- 명백한 우식발생이 관찰되는 경우에는 실험을 중단시켜야 한다.

2) 시험설계 : 무작위배정, 위약대조연구(randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

3) 바이오마커 : 치면세균막 지수, *S. mutans* 군수, ICDAS, QLF 등을 측정할 수 있다.

4) 통계처리 : 시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

1. Aguirre-zero O, Zero D. T., Proskin H. M.. Effect of chewing xylitol chewing gum on salivary flow rate and the acidogenic potential of dental plaque. Caries Research 23:55-59, 1993
2. Assev Sm Stug Sm Scgeue Aaa. Cariogenic traits in xyiltol-resistant and xylitol-sensivtive mutans streptococci. Oral Microbiology and Immunology 17:95-99, 2002
3. Cai F, Manton DJ, Shen P, Walker GD, Cross KJ, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ. Caries Res 41:377-383, 2007
4. Cock Pd., Makinen K., Honkala E., Saag M., Kennepohl E., Eapen A. Erythritol is more effective than xylitol and sorbitol in managing oral health endpoints. International Journal of dentistry 15page, 2016
5. Cross KJ, Huq NL, Reynolds EC. Casein Phosphopeptides in oral health - Chemistry and clinical applications. Current Pharmaceutical Design 13(8):793-800, 2007
6. Deshpande A, Jadad AR. The impact of polyol-containing chewing gums on dental caries: A systematic review of original randomized controlled trials and observational studies. JADA 139(12):1602-1614, 2008
7. Falony G., Honkala S., Runnel R., Olak j., Nommela R., Russak S., Saag M., Makinen P., Makinen K., Vaj;berg T., Honkala E.. Long-term

effect of erythritol on dental caries development during childhood: a posttreatment survival analysis *Caries Research* 50:579-588, 2016

8. Hanno AG., Alamoudi NM., Almushayt AS., Masoud MI., Sabbagh HJ., Farsi NM.. Effect of xylitol on dental caries and salivary streptococcus mutans levels among a group of mother-child pairs. *J Clin Pediatr Dent* 36(1):25-30, 2011
9. Kamasaka H, Uchida M, Kusaka K, Yoshikawa K, Yamamoto K, Okada S, Ichikawa T. Inhibitory effect of phosphorylated oligosaccharides prepared from potato starch on the formation of calcium phosphate. *Biosci Biotech Biochem* 59(8):1412-1416, 1995
10. Kitasako Y, Sadr A, Hamba H, Ikeda M, Tagmi J. Gum containing calcium Fluoride reinforces enamel subsurface lesions in situ. *J Dent Res* 91(4):370-375, 2012
11. Kitasako Y, Tanaka M, Sadr A, Hamba H, Ikeda M, Tagami J. Effects of a chewing gum containing phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) and fluoride on remineralization and crystallization of enamel subsurface lesions in situ. *Journal of Dentistry* 39:771-779, 2011
12. Lee W., Spiekerman C., Heima M., Eggertsson H., Ferretti G., Milgrom P., Nelson S.. The effectiveness of xylitol in a school-based cluster-randomized clinical trial. *Caries Research* 49:41-49, 2015
13. Lijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-Free chewing gum containing casein phosphopetide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 38:551-556, 2004

14. Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC. The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res* 42:171-184, 2008
15. Nogueira VKC., Bussanelli DG., Tagliaferro EPDS., Spin-Neto R., Escobar A., Cordeiro RDCL.. Examiner's experience and the outcome interpretation of ICDAS and Nyvad's system - a prospective in vitro study. *Acta odontologica Scandinavica*. 1-8, 2017
16. Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 82(3), 2003
17. Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, Perich JW. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 74(6): 1272-1279, 1995
18. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: A review. *Special Care in Dentistry* 18(1), 1998
19. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 76(9):1587-1595, 1997
20. Salli KM., Forssten SD., Llahtinen SJ., Ouwehand AC.. Influence of sucrose and xylitol on an early streptococcus mutans biofilm in a dental simulator. *Archives of Oral Biology* 70:39-46, 2016

21. Schüpbach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res* 75(10):1779-1788, 1996
22. Selwitz RH., Iismael A., Pitts N.. Dental caries. *Lancet* 369:51-59, 2007
23. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 80(12), 2001
24. Soderling E., Makinen K. K., C.-Y. Chen, Pape H. R., Jr., Loesche W., Makinen P. -L. Effect of sorbitol, xylitol, and xylitol/sorbitol chewing gums on dental plaque 23:378-384, 1989
25. Stoleriu S, Iovan G, Ghiorghe A, Nica I, Pancu G, Georgescu A, Andrian S. Comparative study regarding the reduction of dental hard tissues demineralization using different commercial remineralizing products. *REV CHIM* 66(11), 2015
26. Takahashi N., Washio J.. Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm in vivo. *J Dent Research* 90(12):1463-1468, 2011
27. Tanaka T, Kobayashi T, Takii H, Kamasaka H, Ohta N, Matsuo T, Yagi N, Kuriki T. Optimization of calcium concentration of saliva with phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) for enamel remineralization in vitro. *Archives of Oral Biology* 58:174-180, 2013
28. 곽영준, 김의성, 박성호, 공형규, 이윤, 이찬영. pH 5.5에서 재광화 용액의 포화도 변화가 인공 탈회된 법랑질의 재광화에 미치는 영향. *대한치과보존학회지* Vol. 33. No. 5, 2008

29. 김민석, 김선현, 김홍중, 김희진, 박병건. 치아형태학. 2016
30. 김종배 et al. 공중구강보건학. 고문사, 2001
31. 백대일, 진보형, 황인경, 치아 관련 기능성 시험
32. 이재춘, 이광희, 김대업. 자일리톨 함유 식품이 합성 수산화인회석에 대한 *Sterptococcus mutans*의 부착에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. J Korean Acad Pediatr Dent 29(1), 2002
33. 임도선, 반유희, 민영은, 박진주, 유예진, 인소라, 주현지, 정선영, 황영선. 시판 탄산수에 의한 우치 법랑질 침식과 침착 효과. J Dent Hyg Sci 15(4):437-444, 2015
34. 정수진, 이미라. 산부식 시간과 도포 횟수에 따른 불화 카제인포스포 펩타이드-아모르포우스칼슘포스페이트의 치아 법랑질 재광화 효과. 한국산학기술학회 논문지 15(9):5602-5609, 2014
35. M.R. Alammara, P.W. Smith, E. de Josselin de Jonga, S.M. Higham, Quantitative light-induced fluorescence (QLF): A tool for early occlusal dental caries detection and supporting decision making in vivo. J Dent 41(2):127-132, 2013
36. 김백일. QLF의 원리와 임상적 활용. 대한치과의사협회지 49(8):443-450, 2011

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서) - ‘차아건강에 도움을 줄 수 있음’ 편 -

발 행 인 : 이선희

편 집 위 원 장 : 홍진환

편 집 위 원 : 오금순, 권용관, 이화정, 허수정, 문명희, 오재명,
서일원, 서은채, 구태현, 강윤정, 신용운, 황경미,
배민주, 정태용, 성예지

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2017. 12. 28

문 의 처 : 영양기능연구팀(043-719-4423)



“청렴한 식약처 국민 안심의 시작”

공익신고자 보호제도란?

-공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로
인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장**, **불이익보호조치**,
신변보호조치 등을 통하여 보호하는 제도

♣보호조치 요구 방법

우편(30102) 세종특별자치시 도움5로 20 정부세종청사 7동, 국민권익위원회 공
익보호지원과/전화 044-200-7773/팩스 044-200-7949