

## 공초점 레이저주사현미경을 이용한 산부식 시간에 따른 법랑질 표면 양상에 관한 연구

감동훈 · 김정욱 · 장기택 · 이상훈 · 김종철 · 한세현

서울대학교 치과대학 소아치과학교실 및 치학연구소

### 국문초록

공초점 레이저주사현미경(confocal laser scanning microscopy)을 이용하여 산부식시간에 따른 법랑질표면의 변화양상을 관찰하고, 접착에 필요한 표면의 양상을 얻을 수 있으면서도 법랑질의 소실을 최소화할 수 있는 산부식시간을 측정하고자, 60개의 발치된 건전대구치를 협면이 노출되도록 아크릴봉에 자가중합레진을 이용하여 매몰한 뒤, 220, 500, 800, 1000, 2000, 4000번 SiC 연마지를 이용하여 순차적으로 연마하였다. 연마된 시편을 임의로 10개씩 6개의 군으로 나누고, 37% 인산으로 10초, 20초, 30초, 40초, 50초, 60초간 산부식하고 충분한 물로 세척한 후 air syringe로 건조시킨 후, 공초점 레이저주사현미경으로 표면영상을 얻은 후 조도분석을 시행하고, 5개의 계측치(Sa, Sq, Sz, Sdr, Ra)를 통계분석한 결과, 모두 30초 산부식의 경우가 가장 높은 조도를 나타내었다. 특히 Sz의 경우 10초의 경우가 통계적으로 유의하게 낮은 값을 보였으며, 30초의 경우 통계적으로 유의하게 높은 값을 보였다( $p < 0.05$ ).

**주요어** : 법랑질, 표면조도, 산부식시간, 공초점 레이저주사현미경

### I. 서 론

산부식법과 복합레진의 개발로 인해 접착치과학이 심미치과 분야를 중심으로 치과 전 분야에서 널리 응용되고 있다. 법랑질과 상아질에 대한 접착기전에 대한 많은 연구를 통하여, 법랑질과의 접착은 미세기계적인 결합으로 이루어지며, 상아질에 대한 결합은 치질과의 화학적 결합과 노출된 교원섬유와의 결합, 그리고 미세기계적인 결합이 함께 이루어지는 것으로 밝혀졌다<sup>1)</sup>.

법랑질의 산부식처리에는 반드시 어느 정도의 법랑질 소실이 함께 이루어지므로, 적절한 정도의 결합력을 얻을 수 있는 정도로만 산처리를 해야 불필요한 법랑질의 비가역적인 손실을 줄일 수 있는데, 국내에서는 권 등<sup>2)</sup>과 남 등<sup>3)</sup>이 산부식시간을 달리한 후 표면의 양상을 관찰하고, 전단결합강도를 측정하여 보고한 바 있으며, 국외에서는 Hermsen과 Vrijhoef<sup>4)</sup>가 산부식시의 법랑질의 소실양에 대해 인산과 말레익산을 비교하였으며, Goes 등<sup>5)</sup>은 법랑질과 상아질의 산부식시간을 달리한 후 표면양상을 주사전자현미경으로 관찰하여 보고하였고, Osorio 등<sup>6)</sup>은 법랑질에 대한 교정용 브러켓의 접착강도를 비교하여 15초보다 60초 동안의 산부식이 더 높은 접착강도를 보였다고 한 반면, Johnston 등<sup>7)</sup>은 유사한 실험에서 60초까지의 긴 산부식시간은

필요치 않으나, 15초는 부족하고 30초 정도는 산부식을 하여야 한다고 주장하였다. 이처럼 적정 산부식시간을 결정하는데 있어서 현재까지의 연구는 주로 접착재료를 이용하여 접착강도를 인장결합강도나 전단결합강도를 이용하여 측정하고 이것이 더 이상 증가하지 않는 정도의 산부식시간을 적정 산부식시간으로 제시하여 왔다.

그러나, 기존의 방법은 접착재료에 따른 변이나 실험조건의 상이함 등으로 실험간의 상당한 차이를 보여왔다. 법랑질과의 결합이 미세기계적인 것이 주를 이루므로 일단 산부식시간의 변화에 따른 법랑질표면의 변화를 관찰하여 최적의 조건이 이루어진 것을 확인하는 것으로 적정 산부식시간을 얻는 것이 바람직하며, 접착재료에 따른 변이 등을 배제시킬 수 있을 것으로 사료된다. 이에 시료표면의 미세구조를 비접촉식으로 관찰하여 그 표면의 입체적인 영상재구축과 표면조도(surface roughness)를 측정할 수 있는 공초점 레이저주사현미경(confocal laser scanning microscopy)을 이용하여 산부식시간에 따른 법랑질표면의 변화양상을 관찰하고, 접착에 필요한 표면의 양상을 얻을 수 있으면서도 법랑질의 소실을 최소화할 수 있는 산부식시간을 측정하고자 하였다.

\*이 연구는 서울대학교 발전기금 및 간접연구경비에서 지원되는 연구비에 의하여 수행되었음.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

60개의 발치된 건전대구치를 이용하여 협면이 노출되도록 아크릴봉에 자가중합레진을 이용하여 매몰한 뒤, 220, 500, 800, 1000, 2000, 4000번 SiC 연마지를 이용하여 순차적으로 연마하였다. 연마된 시편을 임의로 10개씩 6개의 군으로 나누고, 37% 인산(7423, 3M ESPE Scotchbond Etchant, USA)으로 10초, 20초, 30초, 40초, 50초, 60초간 산부식하고 충분한 물로 세척한 후 air syringe로 건조시켰다.

### 2. 연구방법

준비된 산부식 시편을 공초점 레이저주사현미경(LSM 5 Pascal, Carl Zeiss Microscopy, Germany)으로 표면영상을

얻은 후 조도분석을 시행하였다. 표면영상은 파장이 488nm인 아르곤레이저하에서 20배 대물렌즈(20X/0.5)를 이용하여 반사모드로 측정하였으며 필터는 사용하지 않았고 시편의 평면을 맞추기 위하여 평면보정을 사용하였다. 실제 측정된 영역은 460.7 $\mu$ m $\times$ 460.7 $\mu$ m이었고, 조도의 측정치는 Sa, Sq, Sz, Sdr, Ra의 5개를 사용하였다(Table 1). 통계는 산부식시간에 따른 측정치의 변화를 ANOVA와 Duncan 사후검정방법으로 처리하였다.

## III. 연구 성적

산부식시간에 따른 각각의 변수에 대한 측정치는 Table 2와 같으며, 통계처리의 결과는 Table 3과 같다. 각 변수의 경우 모두 30초 산부식의 경우가 가장 높은 조도를 나타내었다. 특히 Sz의 경우 10초의 경우가 통계적으로 유의하게 낮은 값을 보였으며, 30초의 경우 통계적으로 유의하게 높은 값을 보였다(p<0.05).

**Table 1.** Roughness parameters

Roughness parameter	Description
Sa	Arithmetic mean deviation of all surface height values
Sq	Quadratic mean deviation of all surface height values
Sz	Average roughness depth
	Averaging of Rt-values of all the 25 single area elements.
	Maximum roughness depth Rt (= Peak to Valley / PV) Rt = Zmax - Zmin
Sdr	Developed surface area ratio: $\Sigma(\text{surface area}_{ij}) - \Sigma(\text{projected area}_{ij}) / \Sigma(\text{projected area}_{ij}) \times 100 \%$
Ra	Arithmetic mean deviation of all profile height values

**Table 2.** Roughness values

	10 sec	20 sec	30 sec	40 sec	50 sec	60 sec
Sa( $\mu$ m)	2.518 $\pm$ 0.087	2.570 $\pm$ 0.062	2.598 $\pm$ 0.035	2.589 $\pm$ 0.077	2.579 $\pm$ 0.043	2.573 $\pm$ 0.086
Sq( $\mu$ m)	3.166 $\pm$ 0.118	3.236 $\pm$ 0.092	3.285 $\pm$ 0.044	3.252 $\pm$ 0.089	3.261 $\pm$ 0.062	3.241 $\pm$ 0.067
Sz( $\mu$ m)	23.163 $\pm$ 0.573	24.102 $\pm$ 0.940	25.101 $\pm$ 0.633	24.267 $\pm$ 1.007	24.146 $\pm$ 0.646	24.089 $\pm$ 0.563
Sdr(%)	1760.893 $\pm$ 99.689	1825.832 $\pm$ 118.105	1931.434 $\pm$ 91.904	1877.873 $\pm$ 115.731	1870.169 $\pm$ 56.208	1851.498 $\pm$ 98.823
Ra( $\mu$ m)	2.187 $\pm$ 0.080	2.190 $\pm$ 0.066	2.233 $\pm$ 0.084	2.229 $\pm$ 0.092	2.203 $\pm$ 0.072	2.200 $\pm$ 0.114

**Table 3.** Statistical result

	10 sec	20 sec	30 sec	40 sec	50 sec	60 sec
Sa( $\mu$ m)	a	a,b	b	b	a,b	a,b
Sq( $\mu$ m)	a	a,b	b	b	b	a,b
Sz( $\mu$ m)	a	b	c	b	b	b
Sdr(%)	a	a,b	c	b,c	b,c	a,b,c
Ra( $\mu$ m)	a	a	a	a	a	a

; same letters mean homogeneous subsets in each parameter(p>0.05).

#### IV. 총괄 및 고찰

임상적으로 최적의 결합강도를 얻으면서도 법랑질의 불필요한 소실을 최소화하려는 시도가 계속되어 왔는데, 주로 현재까지의 연구들은 법랑질을 부식시키는데 사용되는 산부식제와 적정 산부식시간을 주사전자현미경을 통한 정성적인 표면관찰이나 전단결합강도 등을 비교하여 이루어졌다.

전단결합강도 측정을 통하여 Osorio 등<sup>6)</sup>은 37% 인산으로 소구치 협면에 산부식 15초와 60초 시행하고 비교한 후 60초간 산부식할 것을 주장하였고, Johnston 등<sup>7)</sup>과 Holtan 등<sup>8)</sup>은 37% 인산으로 대구치 협면 법랑질에 산부식 15초, 30초, 60초간의 비교에서 30초를 적정 산부식시간으로 추천하였다. 반면 Triolo 등<sup>9)</sup>은 여러 가지 산부식제재를 이용하여 15초, 30초, 60초간 산부식시킨 후의 비교연구에서 35% 인산이 가장 높은 결합강도를 나타내었고, 이 경우 유의차는 없으나 15초 적용시에 가장 높은 결합강도를 얻음을 보고한 바 있다. 더욱이 Olsen 등<sup>10)</sup>은 소구치를 이용한 실험에서 37% 인산으로 5, 10, 15, 20, 30초 동안 산부식시킨 후에 10초 이상 산부식시킨 구간에는 유의한 차이가 없음을 보고하였다.

주사전자현미경을 이용하여 정성적인 평가를 계량화한 연구에서 Gardner와 Hobson<sup>11)</sup>은 37% 인산과 2.5% 질산을 각각 15, 30, 60초간 하악 소구치에 적용시킨 후 37% 인산으로 30초간 산부식시킬 것을 추천하였으나, Uno와 Finger<sup>12)</sup>는 15, 30, 60, 120초 동안 35% 인산으로 부식시켜서 전단결합강도를 비교하였는데, 15초 적용시킨 경우 법랑질이 산부식된 것으로 육안으로 확인되었으며, 각 구간 전단결합강도의 차이가 없다고 하였다.

이처럼 여러 연구결과에서 상이한 결과를 보이는 이유는 접착강도를 측정하는데 사용된 접착제나 레진의 강도, 실험조건이 서로 상이한 점 등을 들 수 있으며, 또한 치아자체 변이도 상당한 영향이 있을 것으로 사료되며, 여기에는 치아가 구강 내에서 유지되고 있던 기간, 불소함유량, 무기질함량 등에 의한 산에 대한 저항성차이 또한 상당한 변이를 일으켰을 것으로 사료된다. 실제로 Hobson 등<sup>13)</sup>은 37% 인산으로 30초간 여러 치아들을 산부식시킨 후 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 치아의 종류에 따라서 산부식되는 양상에 유의한 차이가 있음을 보고하면서 결합강도를 측정하는 실험에서는 한 종류의 치아를 사용하거나 다른 종류의 치아가 포함되어야 한다면 같은 수를 포함하게 할 것을 제안하였다. 따라서 본 연구에서는 대구치만을 이용하였고, 연마하지 않았을 경우 치아자체의 곡면효과나 표면특성을 배제하기 위하여 연마표본을 사용하였다.

산부식된 치아의 표면을 조도분석을 통하여 정량적으로 계측해 보고자하는 시도는 오래전부터 이루어져왔다. 주로 접촉식 표면조도분석기를 이용하여 분석을 하였는데<sup>14,15)</sup>, 이를 사용하여 측정할 경우 넓은 범위를 측정할 수 있고 또한 측정표준이 마련되어 있기에 표준값을 측정할 수 있지만, 이 경우 표면의 강도, 측정 탐침(probe)의 크기 및 측정압에 영향을 받으며, 치

아표면의 산부식된 약한 법랑질구조가 파괴되어 정확한 측정이 이루어지지 않을 가능성이 있을 뿐만 아니라, 측정된 부분에는 측정흔적이 남아 비파괴적인 검사가 이루어지지 않는 단점이 있다.

따라서 표면의 조도를 좀더 정확히 비접촉식으로 측정하는 방식이 최근 많이 사용되는데, 레이저를 탐침으로 사용하는 표면조도측정방식(laser-stylus profilometry)과 백색광 주사 간섭법(White-light scanning interferometry), 원자간력현미경(Atomic Forced Microscopy, AFM), 공초점 레이저주사현미경 등이 이용될 수 있다<sup>16)</sup>.

원자간력현미경을 이용하면 시료 표면의 초미세구조를 관찰할 수도 있는데<sup>17-19)</sup>, 표면의 구조뿐만 아니라 표면의 전자기적인 성질과 탄성성질을 이용하여 정성적인 분석도 가능하지만, 매우 작은 영역의 관찰만이 가능하고, 수직적으로 측정할 수 있는 한계가 매우 작다는 단점이 있다. 따라서 치아표면의 관찰과 이를 통한 적정 조도의 평가에 있어서 이러한 국소적인 변화를 측정하므로써 전체적인 변화를 설명할 수 있는지는 의문스럽다. 균일한 성질을 갖는 반도체표면이나 임플란트의 표면코팅 같은 부분은 대표적인 수치로 이용될 수도 있으나, 치아와 같이 산부식시에 균일하게 부식되지 않고 부분마다 상이한 산부식양상을 나타낼 수 있는 표면의 경우는 아주 작은 부분만을 선택한 다거나 특정부분만의 2차원적인 특징을 선택한다면 대표값으로서 사용하기가 곤란할 수도 있기 때문이다.

생물학분야에서 사용되기 시작한 공초점 레이저주사현미경이 표면분석에 활용되기 시작한 이래로, 반도체나 기계연마면 등의 분석에 사용되었고 이후 생체막이나 임플란트 및 다양한 종류의 치과재료의 표면을 관찰하고 분석하는데 사용되어왔다<sup>20-22)</sup>. 이의 장점으로는 표본의 처리가 거의 필요하지 않다고 할 수 있으며, 비파괴적인 검사가 이루어지고, 표면의 3차원 구조를 분석할 수 있으며 직접 표면조도의 분석을 시행할 수 있다는 점을 들 수 있겠다. 또한 렌즈의 배율을 변화시킴으로써 분석하고자 하는 영역과 해상도를 조절할 수도 있다.

본 연구에서는 측정영역을 20배의 대물렌즈를 사용하여  $460.7\mu\text{m} \times 460.7\mu\text{m}$ 의 영역을 측정하였는데, 이는 연마된 표면이라는 점과 변이는 있으나 법랑소주의 평균폭이  $5\mu\text{m}$ 라는 점을 고려하여<sup>23)</sup> 충분한 양의 법랑소주를 포함하기 위함이었다. 그러나 더욱 미세한 구조의 변화를 보기 위하여 고해상도의 렌즈를 사용하여 보다 작은 부분만을 측정한다거나 더욱 광범위한 부분을 포함시키기 위하여 저해상도의 렌즈를 사용하였을 경우 다른 결과가 나올 수도 있다. 해상도가 높은 경우에 좁은 범위에서는 법랑소주가 모두 포함되지 않을 가능성이 있고 따라서 측정값이 결합강도를 충분히 반영하지 못할 수도 있기 때문이다. 또한 낮은 해상도로 더 넓은 부분을 계측한 경우에 발생한 표면조도를 정확히 계측해내지 못할 가능성이 있기 때문이다. 또한 법랑질과 재료간의 결합강도가 표면의 미세한 거칠기에 의존하는지 아니면 좀더 큰 굴곡에 영향을 받는지 아직 확립되지 않았는데, Ariyaratnam 등<sup>24)</sup>은 레이저로 처리한 법랑질과

산부식된 법랑질의 표면조도와 결합강도가 전혀 연관성이 없게 나타났음을 보고한 바 있다.

또한 3차원적인 계측기기를 통한 표면조도분석의 표준이 아직 마련되지 않았고, 따라서 현재 제시되고 있는 여러 가지 계측변수 중 어느 것이 치아 표면의 조도를 대변할 수 있는지에 대하여 더 많은 연구가 필요할 것으로 여겨지며, 이러한 방법을 통하여 법랑질의 소실을 최소화하면서도 최대의 접착력을 얻을 수 있는 법랑질의 표면처리를 위한 산부식시간을 얻어 실제 임상에 적용해 나가면, 보다 우수한 접착 수복물을 얻는데 많은 도움이 될 것으로 사료되며, 치아와 다양한 수복재료의 성공적인 결합을 위한 조건이 접착제나 실험환경 등의 변수를 배제한 상황에서 얻어질 수 있을 것으로 사료된다.

### V. 결 론

적정 산부식시간을 표면조도분석으로 측정하기 위하여 각기 다른 시간동안 산부식된 연마법랑질 시편을 공초점 레이저주사 현미경으로 관찰하고, 5개의 변수(Sa, Sq, Sz, Sdr, Ra)를 분석한 결과 30초 동안 산부식한 군에서 가장 높은 표면조도를 나타내었다.

### 참고문헌

- Roulet JF, Degrange M : Adhesion: the silent revolution in dentistry. Quintessence Publishing Co, Chicago, 2000.
- 권소란, 윤태현, 박동수 : 수종의 All-Etching Agent와 산부식시간에 따른 법랑질 산부식형태 및 전단 결합강도에 관한 연구. 대한치과보존학회지 21:136-149, 1996.
- 남동석, 서정훈, 양원식, 등. : 산부식시간이 법랑질 표면부식형태와 교정장치의 전단접착강도에 미치는 영향에 관한 연구. 대한치과교정학회지 27:771-779, 1997.
- Hermsen RJ, Vrijhoef MM : Loss of enamel due to etching with phosphoric or maleic acid. Dent Mater 9:332-336, 1993.
- Goes MF, Sinhoreti MA, Consani S, et al. : Morphological effect of the type, concentration and etching time of acid solutions on enamel and dentin surfaces. Braz Dent J 9:3-10, 1998.
- Osorio R, Toledano M, Garcia-Godoy F. : Bracket bonding with 15- or 60-second etching and adhesive remaining on enamel after debonding. Angle Orthod 69:45-48, 1999.
- Johnston CD, Burden DJ, Hussey DL, et al. : Bonding to molars-the effect of etch time (an in vitro study). Eur J Orthod 20:195-159, 1998.
- Holtan JR, Nystrom GP, Phelps RA, et al. : Influence of different etchants and etching times on shear bond strength. Oper Dent 20:94-99, 1995.
- Triolo PT Jr, Swift EJ Jr, Mudgil A, et al. : Effects of etching time on enamel bond strengths. Am J Dent 6:302-304, 1993.
- Olsen ME, Bishara SE, Boyer DB, et al. : Effect of varying etching times on the bond strength of ceramic brackets. Am J Orthod Dentofacial Orthop 109:403-409, 1996.
- Gardner A, Hobson R : Variations in acid-etch patterns with different acids and etch times. Am J Orthofacial Orthop 120:64-67, 2001.
- Uno S, Finger WJ : Effect of acid etchant composition and etch duration on enamel loss and resin composite bonding. Am J Dent 8:165-169, 1995.
- Hobson RS, Rugg-Gunn AJ, Booth TA : Acid-etch patterns on the buccal surface of human permanent teeth. Arch Oral Biol 47:407-412, 2002.
- Arcoria CJ, Lippas MG, Vitasek BA : Enamel surface roughness analysis after laser ablation and acid-etching. J Oral Rehabil 20:213-224, 1993.
- Willems G, Lambrechts P, Braem M, et al. : The surface roughness of enamel-to-enamel contact areas compared with the intrinsic roughness of dental resin composites. J Dent Res 70:1299-1305, 1991.
- Bennett JM : Introduction to surface roughness and scattering. 2nd ed., Optical Society of America, Washington, 1999.
- Finke M, Jandt KD, Parker DM : The early stages of native enamel dissolution studied with atomic force microscopy. J Colloid Interface Sci 232:156-164, 2000.
- Watari F : In-situ etching observation of human teeth in acid agent by atomic force microscopy. J Electron Microsc 48:537-544, 1999.
- Farina M, Schemmel A, Weissmuller G, et al. : Atomic force microscopy study of tooth surfaces. J Struct Biol 125:39-49, 1999.
- Linez-Bataillon P, Monchau F, Bigerelle M, et al. : In vitro MC3T3 osteoblast adhesion with respect to surface roughness of Ti6Al4V substrates. Biomol Eng 19:133-141, 2002.
- Heydorn A, Ersboll B, Kato J, et al. : Statistical analysis of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development: impact of mutations in genes involved in twitching motility, cell-to-cell signaling, and stationary-phase sigma factor expression. Appl Environ

- Microbiol 68:2008-2017, 2002.
22. Abu-Bakr N, Han L, Okamoto A, Iwaku M : Evaluation of the surface roughness of compomer by laser scanning microscopy. Dent Mater J 20:172-180, 2001.
23. Ten Cate R : Oral histology: development, structure, and function. 5th ed., Mosby-Year book Inc., St. Louis, 1998.
24. Ariyaratnam MT, Wilson MA, Mackie IC, et al. : A comparison of surface roughness and composite/enamel bond strength of human enamel following the application of the Nd:YAG laser and etching with phosphoric acid. Dent Mater 13:51-55, 1997.

---

**Reprint request to:**

**Jung-Wook Kim**, D.D.S., M.S.D., Ph.D.

Department of Pediatric Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University

28-1, Yeongun-Dong, Chongno-Gu, Seoul, 110-749, Korea

E-mail : pedoman@snu.ac.kr

**Abstract**

**EFFECT OF ETCHING TIME ON ENAMEL SURFACE ROUGHNESS:  
CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPIC STUDY**

**Dong-Hoon Kam, Jung-Wook Kim, Ki-Taeg Jang, Sang-Hoon Lee,  
Chong-Chul Kim, Se-Hyun Hahn**

*Department of Pediatric Dentistry and Dental Research Institute, College of Dentistry, Seoul National University*

In order to evaluate the sufficient etching time for successful bonding and also minimizing unnecessary mineral loss, the enamel surface roughness analysis was performed using confocal laser scanning microscopy. Sixty extracted sound human molar teeth were imbedded in the center of acrylic cylinder using self-curing clear resin exposing buccal surface, and then polished with series of SiC paper(220, 500, 800, 1000, 2000, 4000 grit). Each specimen was randomly assigned to six groups(N=10). 37% phosphoric acid was applied to the polished tooth surface for 10, 20, 30, 40, 50, 60 seconds respectively and washed with copious water. After the surface roughness analysis, five roughness parameters(Sa, Sq, Sz, Sdr, Ra) were statistically analysed by ANOVA and Duncan post hoc test. We found that the all five parameters had higher roughness value in 30 seconds etching time, especially parameter Sz showed the lowest value in 10 seconds etching time and the highest value in 30 seconds etching time compared with the other etching times(p<0.05).

**Key words** : Enamel, Surface roughness, Etching time, Confocal laser scanning microscopy