

원저

대한구강보건학회지 제 33권 제 3호, 2009
J Korean Acad Dent Health Vol. 33, No. 3, 2009

수용성환원키토산 배합 양치액의 구취 형성 억제 효과

배광학^{1,2}, 하정은^{1,2}, 전은주³, 한동현³, 백대일^{1,2}, 김진범³

¹서울대학교 치의학대학원 예방치학교실, ²서울대학교 치학연구소

³부산대학교 치의학대학원 예방치과학교실

색인 : 구취, 수용성환원키토산, 휘발성황화합물

1. 서 론

구취는 주위 사람이 불쾌하게 느끼는 호기의 냄새로, 이환율이 약 20-30%로 나타나는 구강 내 상태이며^{1,2,3}, 약 80-90%가 구강 내 요인에 의하여 발생된다⁴. 구강 내 요인에 의한 구취는 주로 황화수소 (hydrogen sulfide)와 메틸 머캡탄 (methyl mercaptan)으로 대표되는 휘발성 황화합물(VSC; volatile sulfur compounds)에 의하여 발현되는 것으로, 이것은 혀 후방부나 치간부위, 치은연하에서 혐기성세균이 황 성분을 함유하는 단백질을 분해함으로써 생성되는 것으로 알려져 있다^{4,5,6}.

구취를 억제시키기 위해서 잇솔질이나 헹글질과 같은 물리적 치면세균막관리 뿐만 아니라⁷, ZnCl₂⁸, cetylpyridinium chloride(CPC)⁹, chlorhexidine¹⁰ 등의 화학물질을 포함한 양치액 사용 등의 화학적 관리법도 병용하여 사용되고 있다.

하지만, 구강양치액에 포함된 화학물질은 구취를

유발하는 세균에 대하여 선택적으로 항균성을 갖고 있어야 하며, 장기간 사용 시, 인체 및 구강조직에 부작용을 일으키지 않아야 한다. 그리하여 최근에는 장기간 사용하여도 인체 부작용이 적을 수 있는 천연물질을 이용한 양치액의 개발이 이루어지고 있다.

키토산은 키틴에서 추출한 천연 다당체로써, 치아 우식증을 유발하는 대표적인 세균인 Streptococcus mutans^{11,12}와 치주질환의 원인균인 Actinobacillus actinomycetemcomitans¹¹ 및 Porphyromonas gingivalis¹³에 대하여 항균력을 갖고 있다고 몇몇 연구에서 보고되었다. 또한, Tarsi 등^{14,15}은 작은 분자량을 갖는 키토산은 Streptococcus mutans이 수산화 인회석에 부착하는 것을 방해한다고 보고하였고, Miyazaki 등¹⁶은 키토산이 생체부착 중합체로써 구강 내 잔류시간이 길다는 특징을 갖는다고 하였다. 하지만, 이러한 항균력과 치면세균막 형성억제능력에도 불구하고, 키토산은 물에 녹지 않고, 양치액 및 치약의 구성성분과 화학반응을 보일 가능성이 있으

연락처: 김진범. 우 626-770. 부산광역시 양산시 물금읍 범어리 부산대학교 치의학대학원 예방치과학교실

전화: 051-240-7819 전송: 051-245-8237 e-mail: jboomkim@pusan.ac.kr

본 연구는 서울대학교 신입교수 연구정착금으로 지원되는 연구비에 의하여 수행되었음

투고일자: 09. 08. 27 심사일자: 09. 08. 27 게재확정일자: 09. 09. 07

므로 구강환경관리용품에 배합하여 사용하기에는 다소 어려움이 있다.

이에, 본 연구팀은 환원반응을 통해 제조된, 아래와 같은 구조식의 수용성환원키토산을 배합한 양치액의 항균효과를 보고한 바 있다¹⁷⁾.

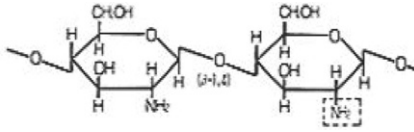


Fig. 1. The molecular formula of water-soluble reduced chitosan

본 연구자들은 이전 연구에서 항균효과가 입증된 수용성환원키토산 배합 양치액의 구취형성 억제효과를 평가하기 위하여, 4일간 치면세균막 재형성 실험방법¹⁸⁻²¹⁾으로 구강 내 휘발성 황화합물의 농도 변화에 수용성환원키토산 배합 양치액이 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

2. 연구대상 및 방법

본 연구는 4일간의 치면세균막 재형성 실험설계를 바탕으로 무작위 할당에 의한 이중맹검 교차실험설계에 따라 6주간 수행되었고, 본 연구의 타당도와 윤리적 문제에 대해서는 부산대학교 임상시험심의 윤리위원회(Institutional Review Board of Pusan National University)의 승인을 받았다.

2.1. 실험대상 양치액

실험대상 양치액으로는 1.0% 수용성환원키토산(영키토, 한국)을 사용하였다. 이 키토산의 pH는 6.0-6.5이고 분자량은 3,000-5,000 Da이며 탈아세틸화도는 70%이었다. 양성대조 양치액은 0.1% 클로르헥시딘(CHX; Corsodyl, Germany)을 사용하였고, 음성대조 양치액은 증류수(distilled water)를 사용하였다.

2.2. 실험대상자

실험대상자는 실험과정에 대한 설명을 충분히 듣고 서면으로 동의한 12명의 치과대학 학생으로 이루어졌다. 최근 3개월 이내, 항생제 및 치면세균막 성장에 영향을 미칠 수 있는 항균물질 투약자, 현존 치아갯수가 20개 미만인 자, 고정성 또는 가철성 교정장치 장착자, 부분의치 장착자, 실험대상 양치액에 알러지가 있는 자, 임부, 18세 미만인 대상자는 실험 대상에서 제외하였다.

2.3. 실험설계

실험 참여 첫째날에 실험대상자들은 기왕력문진과 전문가 치면세정 및 설배면세정을 받고, 실험주기를 제외한 기간에 사용할 잇솔과 세치제를 지급받았다. 대상자들은 각 실험주기의 첫 날(7, 21, 35일째)에 치면세균막을 완전히 없애기 위한 전문가 치면세정 및 설배면세정을 받고, 라틴방격설계에 따라 무작위로 할당된 양치액을 지급받았다. 대상자들에게는 4일간의 치면세균막 재형성 기간 동안 모든 구강위생관리를 중지하고, 나누어 준 양치액으로 아침과 저녁 식후 매일 2번 15 ml씩 1분간 양치하도록 하였다. 각 실험주기의 첫 날 첫 양치는 연구자가 지켜보는 가운데 이루어졌고, 나머지 양치는 각자 시행하도록 하되, 실험주기의 마지막 날, 지급한 양치액의 남은 양을 측정하여 대상자의 실험지침 준수 정도를 평가하였다. 각 실험주기 사이에는 10일간의 회귀기간을 두었는데, 이 시기에는 지급받은 잇솔과 세치제로 평소의 습관에 따라 구강위생관리를 하도록 하였다. 또한, 실험대상자들은 내방할 때마다 양치액 사용에 대한 부작용 여부를 검사하여 기록하였다(Table 1).

2.4. 휘발성황화합물의 농도 측정

황화수소와 메틸머captan 농도는 각 실험주기 첫째 날(7, 21, 35일째)과 마지막날(11, 25, 39일째) 아침

Table 1. Study design and schedule

Investigational events	day 0	Test cycle 1		Test cycle 2		Test cycle 3	
		day 7	day 11	day 21	day 25	day 35	day 39
Dental status	○						
Personal data	○						
Medical history	○						
Professional tooth cleaning	○	○	○	○	○	○	○
Tongue cleaning	○	○	○	○	○	○	○
Oral malodor			○		○		○
Side effects			○		○		○

Table 2. Mean hydrogen sulfide concentrations (ng/10 ml) at the baseline, after 96 h, and the difference in the changes at baseline and after 96 h

Solution	Baseline	96 h	Difference
Distilled water	1.67(1.75) ^a	4.30(2.44) ^a	2.63(2.00) ^a
Chitosan	2.22(2.13) ^a	2.33(1.00) ^b	0.11(1.95) ^b
Chlorhexidine digluconate	1.29(1.09) ^a	1.05(1.94) ^b	-0.23(2.22) ^b

^{a,b}The different letters indicate statistically significant differences between solutions by two-way analysis of variance and Students-Newman-Keuls test.

The standard deviation is shown in parenthesis.

에 측정되었으며, 측정기기는 이전 연구에서 타당도와 민감도가 입증된 간이 가스크로마토그래피인 오랄크로마(Oral Chroma®, Abilit Co., Japan)를 사용하였다^{22,23)}.

2.5. 통계분석

실험결과는 전산으로 입력하여 SPSS(Statistical Package of Social Science) ver. 11.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 분석하였다. 각 실험주기 첫째날과 마지막날의 황화수소와 메틸머캅탄의 농도 변화에 대한 양치액 간 차이는 two-way analysis of variance로 분석하고 Students-Newman-Keuls test로 사후분석을 시행하였다.

3. 연구성적

실험대상자는 12명으로 평균나이는 24세였고(최소 21세, 최대 30세), 남자는 9명, 여자는 3명이었다. 지급한 양치액 중 남은 양을 측정하여 대상자의 실험지침 준수정도를 평가한 결과, 준수정도는 높게

나타났다. 실험기간 중에 부작용은 전혀 나타나지 않았으며, 실험주기가 3회 반복되는 동안 치은지수는 0.2 이하로 나타나, 실험기간 동안 대상자들의 치주조직상태는 건강하게 유지되었다.

구강위생관리 중지 전의 황화수소와 메틸머캅탄의 농도는 양치액 사용군에 따른 차이가 없었다. 구강위생관리를 중지하고, 양치액을 사용한 96시간 후, 각 양치액 사용군에 따른 황화수소의 농도는 표 2와 같이, 수용성환원키토산 배합 양치액과 클로르헥시딘 양치액 사용군의 황화수소농도가 증류수 사용군보다 낮게 나타났다. 또한, 메틸머캅탄의 농도는 표 3과 같이, 클로르헥시딘 양치액 사용군의 메틸머캅탄 농도가 수용성환원키토산 배합 양치액과 증류수 사용군보다 낮게 나타났다. 하지만, 수용성 환원키토산 배합 양치액 사용군과 증류수 사용군 간의 차이는 없었다.

4. 고 안

구취는 주위 사람이 불쾌하게 느끼는 호기의 냄새

Table 3. Mean methyl mercaptan concentrations (ng/10 ml) at the baseline, after 96 h, and the difference in the changes at baseline and after 96 h

Solution	Baseline	96 h	Difference
Distilled water	0.35(0.54) ^a	1.88(1.12) ^a	1.53(0.77) ^a
Chitosan	0.28(0.36) ^a	1.17(0.92) ^a	0.89(1.12) ^a
Chlorhexidine digluconate	0.38(0.54) ^a	0.25(0.36) ^b	-0.13(0.57) ^b

^{a, b}The different letters indicate statistically significant differences between solutions by two-way analysis of variance and Student's Newman-Keuls test.

The standard deviation is shown in parenthesis.

로, 심각한 경우, 심리적 장애까지 일으킬 수 있는 구강 내 상태이다. Ekanayake 와 Perera²⁰⁾는 구취를 갖는 사람들의 구강건강관련 삶의 질이 그렇지 않은 경우보다 3배 더 낮게 나타났다고 보고하였고, 구취를 유발하는 휘발성 황화합물은 치주조직에 나쁜 영향을 미칠 수 있기 때문에²⁵⁻²⁷⁾, 저자는 구취를 효과적으로 관리하기 위한 양치액을 새롭게 개발하여, 이 양치액에 대한 구취 형성 억제효과를 알아보려고 하였다.

일반적으로 구취관련 임상실험에서 진성구취환자를 실험대상자로 모집하는 것이 가장 좋으나, 모집에 어려움이 있으므로, 구취 측정 시, 주로 기상직 후 호기측정모형(Morning breath model)을 적용한다^{7,28,29)}. 다수의 세균막 형성억제 실험연구에서 양치액에 포함된 성분의 세균막 형성 억제 효과를 평가하기 위하여, 4일간 치면세균막 재형성 실험방법을 적용하였는데¹⁸⁻²¹⁾, 4일 동안 생성된 치면세균막과 설배면세균막은 구취를 생성시킬 가능성이 충분하므로, 본 연구에서는 구취 생성에 이 실험방법을 활용하였다. 그 결과, 구강위생관리 중지 4일 후인, 96시간 후에 측정된 증류수 사용군의 황화수소와 메틸머캡탄의 농도는 기존 Tonzetich 등³⁰⁾의 연구에서 제시된 구취인지 경계 값보다 약 3배 높게 나타나, 본 연구에서 적용한 4일간 치면세균막 재형성 실험방법의 구취억제 실험에의 적용은 타당성이 높다고 사료되었다.

구취를 측정하는 방법 중에서 직접 사람의 후각을 이용하는 관능평가가 가장 기본적인 방법이지만, 객

관성 및 내적일관성이 부족한 측면이 있다. 한편, 가스 크로마토그래피는 휘발성 황화합물 농도를 측정하는데 있어서, 객관적이고, 감도가 높은 방법이므로, 표준 값으로써의 측정이 가능하다. 그리하여, 본 연구에서는 가스 크로마토그래피의 원리와 동일하며, 이전 연구에서 타당도와 민감도가 입증된 오랄 크로마(Oral Chroma®, Abilit Co., Japan)를 사용하였다^{22,23)}.

구강위생관리를 중지하기 전, 양치액 종류에 따른 구강 내 황화수소 및 메틸머캡탄 농도의 차이는 나타나지 않았다. 구강위생관리를 중지한 상태에서, 양치액을 사용한 96시간 이후, 수용성환원키토산 배합 양치액과 클로르헥시딘 양치액 사용군의 황화수소 농도 증가량은 증류수 사용군보다 매우 낮은 것으로 나타났으나, 키토산 사용군의 메틸머캡탄의 농도는 증류수군에 비하여 매우 낮았으나, 통계적으로 유의하지는 않았다.

수용성환원키토산 배합 양치액은 황화수소의 발생억제 효과에 있어서, 클로르헥시딘과 비슷한 효과를 나타내었다. 이것은 금속이온의 킬레이션과 세균 표면과의 킬레이트 복합체의 형성으로 세균 효소의 불활성화에 의하여 발생되거나, 인지질과 카르복실산과 같이, 세균의 세포벽의 음이온과 키토산의 아미노그룹 양이온의 이온결합에 의해서 항균성이 발휘되는 것으로 추측될 수 있으나, 정확한 작용기구의 파악을 위해서는 추후 연구가 필요하다고 검토되었다.

앞으로 수용성환원키토산에 대한 구취억제기구

를 확인할 수 있는 추가연구가 필요할 것으로 사료되었다. 추가적으로, 기존연구에서 뛰어난 항균성을 나타낸 클로르헥시딘과 수용성환원키토산의 혼합을 통한 상승효과에 대한 연구나, 4일간의 짧은 기간에서 항균력이 나타난 수용성환원키토산 배합 양치액에 대한 장기간 연구도 필요하다고 사료되었다.

5. 결 론

수용성환원키토산 배합 양치액의 구취형성 억제 효과를 평가하기 위하여 12명의 실험참가자를 대상으로 무작위 할당 이중맹검 교차실험설계에 의한 4일간 치면세균막재형성 실험을 실시하고, 수용성환원키토산 배합 양치액과 클로르헥시딘 양치액 및 증

류수 사용기간 구강 내 황화수소와 메틸머캅탄 농도 차이를 비교, 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 수용성환원키토산 배합 양치액은 증류수에 비하여 4일간 황화수소 농도증가를 유의미하게 억제할 수 있었다.
2. 수용성환원키토산 양치액은 증류수에 비하여 4일간 메틸머캅탄 농도증가를 상당히 억제할 수 있었으나, 통계학적으로 유의한 차이가 나타나지는 않았다.

총괄적으로, 수용성환원키토산 배합 양치액은 구취의 주요 원인인 휘발성황화합물 중 황화수소를 감소시켜, 구취형성 억제에 효과적일 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. 허혜영, 신승철, 조자원, 박광식. 성인에서 구취실태와 요인들 간의 상관관계에 관한 연구. 대한구강보건학회지 2005; 29(3):368-384.
2. Meskin LH. A breath of fresh air. J Am Dent Assoc 1996; 127(9):1282-1286.
3. Miyazaki H, Sakao S, Katoh Y, Takehara T. Correlation between volatile sulphur compounds and certain oral health measurements in the general population. J Periodontol 1995;66(8):679-684.
4. Tonzetch J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. J Periodontol 1977;48(1):13-20.
5. Rosenberg M. Clinical assessment of bad breath: current concepts. J Am Dent Assoc 1996;127(4):475-482.
6. Wåler SM. On the transformation of sulfur-containing amino acids and peptides to volatile sulfur compounds (VSC) in the human mouth. Eur J Oral Sci 105(5 pt 2):534-537.
7. Faveri M, Hayacibara MF, Pupio GC, Cury JA, Tsuzuki CO, Hayacibara RM. A cross-over study on the effect of various therapeutic approaches to morning breath odour. J Clin Periodontol 2006;33(8):555-560.
8. Schmidt NF, Tarbet WJ. The effect of oral rinses on organoleptic mouth odor ratings and levels of volatile sulfur compounds. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1978; 45(6):876-883.
9. Kozlovsky A, Goldberg S, Natour I, Rogatky-Gat A, Gelernter I, Rosenberg M. Efficacy of a 2-phase oil: water mouthrinse in controlling oral malodor, gingivitis, and plaque. J Periodontol 1996;67(6):577-582.
10. Quirynen M, Mongardini C, van Steenberghe D. The effect of a 1-stage full-mouth disinfection on oral malodor and microbial colonization of the tongue in periodontitis. A pilot study. J Periodontol 1998;69(3):374-382.
11. Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY. In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. Int J Antimicrob Agents 2001; 18(6):553-557.
12. Fujiwara M, Hayashi Y, Ohara N. Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of *Streptococcus mutans*. New Microbiol 2004;27(1):83-86.
13. İkinci G, Senel S, Akincibay H, Kas S, Ercis S, Wilson CG, et al. Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. Int J Pharm 2002;235(1-2):121-127.
14. Tarsi R, Corbin B, Pruzzo C, Muzzarelli RA. Effect of low-molecular-weight chitosans on the adhesive properties of oral streptococci. Oral Microbiol Immunol 1998;13(4):217-224.
15. Tarsi R, Muzzarelli RA, Guzman CA, Pruzzo C. Inhibition of

- Streptococcus mutans adsorption to hydroxyapatite by low-molecular-weight chitosans. *J Dent Res* 1997;76(2):665-672.
16. Miyazaki S, Nakayama A, Oda M, Takada M, Attwood D. Chitosan and sodium alginate based bioadhesive tablets for intraoral drug delivery. *Biol Pharm Bull* 1994;17(5):745-747.
 17. Bae K, Jun EJ, Lee SM, Paik DI, Kim JB. Effect of water-soluble reduced chitosan on Streptococcus mutans, reduce regrowth and biofilm vitality. *CI, Oral Investig* 2006;10(2):102-107.
 18. Addy M, Willis L, Moran J. Effect of toothpaste rinses compared with chlorhexidine on plaque formation during a 4-day period. *J Clin Periodontol* 1983;10(1):89-99.
 19. Arweiler NB, Auschill TM, Baguley N, Netuschil L, Sculean A. Efficacy of an amine fluoride-triclosan mouthrinse as compared to the individual active ingredients. *J Clin Periodontol* 2003;30(3):192-196.
 20. Arweiler NB, Henning G, Reich E, Netuschil L. Effect of an amine-fluoride-triclosan mouthrinse on plaque regrowth and biofilm vitality. *J Clin Periodontol* 2002;29(4):358-363.
 21. Binney A, Addy M, McKeown S, Everatt L. The choice of controls in toothpaste studies. The effect of a number of commercially available toothpastes compared to water on 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 1996;23(5):456-459.
 22. Hanada M, Koda H, Onaga K, Tanaka K, Okabayashi T, Itoh T, et al. Portable oral malodor analyzer using highly sensitive In₂O₃ gas sensor combined with a simple gas chromatography system. *Anal Chim Acta* 2003;475(1-2):27-35.
 23. Murata T, Rahardjo A, Fujiyama Y, Yamaga T, Hanada M, Yaegaki K, et al. Development of a compact and simple gas chromatography for oral malodor measurement. *J Periodontol* 2006;77(7):1142-1147.
 24. Ekanayake L, Perera I. The association between clinical oral health status and oral impacts experienced by older individuals in Sri Lanka. *J Oral Rehabil* 2004;31(9):831-836.
 25. Johnson P, Yaegaki K, Tonzetich J. Effect of methyl mercaptan on synthesis and degradation of collagen. *J Periodontal Res* 1996;31(5):323-329.
 26. Johnson PW, Ng W, Tonzetich J. Modulation of human gingival fibroblast cell metabolism by methyl mercaptan. *J Periodontal Res* 1992;27(5):476-483.
 27. Ratcliff PA, Johnson PW. The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. *J Periodontol* 1999;70(5):485-489.
 28. Carvalho MD, Tabchoury CM, Cury JA, Toledo S, Nogueira-Filho GR. Impact of mouthrinses on morning bad breath in healthy subjects. *J Clin Periodontol* 2004;31(2):85-90.
 29. Suarez FL, Furne JK, Springfield J, Levitt MD. Morning breath odor: influence of treatments on sulfur gases. *J Dent Res* 2000;79(10):1773-1777.
 30. Tonzetich J, Ng SK. Reduction of malodor by oral cleansing procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1976;42(2):172-181.

Abstract

Effect of water-soluble reduced chitosan on volatile sulfur compounds

Kwang-Hak Bae^{1,2}, Jung-Eun Ha^{1,2}, Eun-Ju Jun³, Dong-Hun Han³,
Dai-il Paik^{1,2}, Jin-Bom Kim³

¹*Department of Preventive and Public Health Dentistry, School of Dentistry, Seoul National University*

²*Dental Research Institute, School of Dentistry, Seoul National University*

³*Department of Preventive and Community Dentistry, College of Dentistry, Pusan National University*

Key words: oral malodor, volatile sulfur compounds, water-soluble reduced chitosan

Objectives: This study examined the effects of newly developed water-soluble reduced chitosan on the volatile sulfur compounds induced by 4-day plaque regrowth.

Methods: 1.0% water-soluble reduced chitosan with a pH ranging from 6.0 to 6.5, a molecular weight between 3,000 and 5,000 Da, and a 70% of degree of deacetylation was used. The amounts of volatile sulfur compounds in the mouth air were measured in vivo. Twelve dental students volunteered to participate in this double blind, randomized, 4-day plaque regrowth study. The subjects were divided into three groups and asked to rinse with the allocated mouthrinse solution and refraining from all mechanical oral hygiene measures.

Results: The chitosan mouthwash reduced significantly the amounts of hydrogen sulfide in the mouth air compared to DW.

Conclusions: The water-soluble reduced chitosan exhibited significant malodor-reducing activity during the 4-day plaque regrowth experiment.