Korean Journal of Clinical Dental Hygiene

Original Article

# 카보폴 종류에 따른 인공 초기우식병소의 비교

김영석
경북대학교 치위생학과

# Comparison of the Effect of Artificial Early Caries Lesion Formation According to Carbopol Type

Young-Seok Kim
Department of Dental Hygiene, College of Science & Technology, Kyungpook University, Sangju city, 37224, Korea

*Corresponding Author: 김영석, (37224) 경상북도 상주시 경상대로 2559, 치위생학과, Tel: (054) 530-1424, Fax: (054) 530-1429, E-mail: young1224@knu.ac.kr

Received: January 27, 2023
Revised: February 17, 2023
Accepted: February 20, 2023

## Abstract

**Objective:** This study aimed to identify the possibility of using Carbopol 940, 941, and 980 as alternatives of Carbopol 2050. **Methods:** Using Carbopol 940, 941, 980, and 2050, 1% demineralization solution of pH 4.8 was prepared, and the bovine teeth were immersed for 96 h. Early carious lesions formed in each group were compared and observed using quantitative light-induced fluorescence-digital Vickers microhardness and polarized light microscope. **Results:** After 96 h, early carious lesions were observed and occurred in all groups. Among them, the surface microhardness, fluorescence loss values, and histological characteristics of Carbopol 940 and 941 were similar to those of Carbopol 2050. **Conclusions:** The Carbopol 940 and 941 can be alternatives of Carbopol 2050.

**Key words:** Artificial carious lesion, Carbopol, Polyacrylic acid

**색인:** 인공 초기우식병소, 카보폴, 폴리아크릴산

## 1. 서론

치아우식증은 양대구강병의 하나로 구강건강을 파탄시키는 질환이다(1, 2). 이러한 치아우식증은 치아 내부의 미네랄이 용해되면 나타나는 현상인데 Sliverstone(3, 4)은 구강 내에서 자연적으로 발생되는 초기 치아우식을 조직학적 특성에 따라 투명층(translucent zone), 암흑층(dark zone), 병소 본체(body of lesion), 건전 표층(surface zone) 4개의 특징적인 층으로 구별하였다.


Copyright © 2023 by Korean Journal of Clinical Dental Hygiene. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0)

부식증은 법랑질 표면이 침식되어 움푹 들어간 형상을 나타내지만 초기 치아우식증의 경우 단단한 법랑질 표면층이 유지되어 건전법랑질과 같은 선상으로 건전 표층이 나타난다(1). 와동이 생긴 치아우식증은 회복할 수 없기 때문에 침습적인 치료를 통해 와동이 생긴 병소를 제거하고 치과재료를 이용하여 수복치료를 해야하지만, 초기 치아우식증의 경우 적절한 재광화와 구강환경관리를 통해 정지우식으로 변화시킬 수 있다. 불소활용의 확대와 위생환경의 개선으로 치아우식증에 대한 패러다임이 진행우식증에서 초기 치아우식증으로, 침습적인 치료보다는 비침습적 또는 최소한의 침습적인 치료에 대한 관점으로 이동하게 되면서 연구들의 주제도 치아우식증을 초기에 탐지하고 개입(intervention)하는 것으로 이동하였다(5).

이를 위해서 초기 치아우식증을 생성하는 것이 중요한데 임상에서 사람에게 발생하는 초기 치아우식증을 연구에 이용하기에는 윤리적인 문제나 진단과 파괴적 검사 등의 어려움으로 인해 많은 제약이 있다. 이에 실험실에서 재현가능한 초기 치아우식증을 활용하고자 많은 연구가 진행되었다(6-8). 다양한 방법 중 표면 보호제를 사용하는 방법이 실험에 많이 사용되었는데, 표면 보호제를 사용하면 실제 초기 치아우식증처럼 표면은 보호하면서 치아 내부의 무기질만 탈회시키기 때문이다(6). 이를 위해 연구자들은 다양한 표면 보호제를 활용하였는데 Gray(7)는 가용성 유기 중합체인 Hydroxyethyl cellulose (HEC)의 수용액을, Sliverstone(8)은 Gelatin, White(6)는 Polyacrylic acid를 이용하여 인공 초기우식병소의 표면을 보호하여 실제 구강 내 환경을 재현하고자 하였다.

그 중 White의 연구방법이 현재까지도 널리 사용되고 있는데 이 Polyacrylic acid에서 중요한 재료가 바로 합성 폴리머 겔인 카보폴(Carbopol)이다. 카보폴은 점증제로 다양한 분야에서 활용되고 있는 재료이다. 카보폴은 보통 산성의 분말타입으로 염기를 첨가함에 따라 점도가 증가하는 특성을 가지고 있어 헤어제품이나 스킨제품 등 다양한 제품에 응용되고 있다.

White(9, 10)는 카보폴 907을 처음 사용하였는데 카보폴 907은 발암 유발물질로 구분되며 생산이 중단되었고, 그 후 새로운 대체 물질로 카보폴 2050을 실험에 주로 사용하였다. 그러나 카보폴 2050은 전량 수입으로 쉽게 구하기가 어려워 손쉽게 국내에서 구할 수 있는 다른 대체물질의 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구는 카보폴 2050의 대체 물질로서 현재 손쉽게 구할 수 있고 다양한 제품에 활용되고 있는 카보폴 940, 941, 980을 이용하여 탈회용액을 만들어 법랑질의 탈회 능력을 비교, 분석해보고자 하였다.

## 2. 연구재료 및 방법

### 2.1. 시편 제작

건전한 우전치를 선택하여 디스크(Superflex Diamond Disc No. 506.104.358.524.220, NTI-Kahla, Kahla, Germany)와 저속 핸드피스를 이용하여 6×4 mm 크기로 시편을 24개 준비한 뒤, 법랑질 시편을 아크릴 블록(2×1×0.9 ㎤)내에 위치시키고 아크릴 레진(Ortho-Jet, Lang Dental Mfg. Co., Inc., IL, USA)으로 매몰하였다. 법랑질 표면을 노출시키기 위해 연마기(M-prep 5™ grinder/polisher, Allied High Tech Products Inc., CA, USA)의 냉각수 공급 하에서 시편의 표면을 400, 800, 1,000, 1,200 grit의 연마지(Ortho-Jet, Lang Dental Mfg. Co., Inc., IL, USA)를 이용하여 단계적으로 연마하였다. 마지막으로 시편의 노출된 법랑질 ½ 부분(3×4 mm)에 투명테이프를 부착하고 nail varnish (Top coat, BNCKorea, Seoul, Korea)를 도포하여 탈회로부터 법랑질을 보호하여 분석 시 대조군으로 사용하고자 하였고, 나머지 시편의 ½ (3×4 mm)은 테이프를 제거하고 탈회용액에 노출되도록 하였다.

### 2.2. 탈회용액 제조 및 인공 초기우식병소 형성

탈회용액은 김 등(9)이 사용한 방법을 참고하여 제작하였다. 카보폴 2050, 940, 941, 980을 2.0%의 농도로 포함시킨 탈회용액을 만들기 위하여 증류수에 카보폴을 전체 부피의 2%가 되도록 혼합하여 24시간 동안 교반한 후, 50% NaOH (50%-sodium hydroxide solution, Daejung, Seoul, Korea)를 첨가하여 최종 pH가 7.0 되도록 조절하였다.

1.0 M Lactic acid용액 50 ㎖와 증류수를 혼합하여 500 ㎖로 맞추고, 수산화인회석(Calcium phosphate tribasic, Junsei, Tokyo, Japan) 1.5 g을 첨가하고 pH를 4.8로 조정한 뒤, 여과하였다. 여과된 용액에 카보폴 2050, 940, 941, 980을 전체 부피의 1.0%가 되도록 첨가하였으며, 최종적으로 50% HCl (Hydrochloricacid, Daejung, Seoul, Korea)를 첨가하여 pH 4.8이 되도록 제조하였다.

이후 시편 12개씩을 각각 카보폴 2050, 940, 941, 980 탈회용액 40 ㎖에 표면에 기포가 형성되지 않도록 넣어 37°C의 Incubator에서 96시간 동안 침적시켜 인공 초기우식병소를 형성하였다.

## 2.3. 정량광형광기를 이용한 인공 초기우식병소 분석

시편을 탈회용액에 침적 후 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후의 탈회된 시편의 법랑질 표면의 변화를 정량광형광기(Quantitative light-induced fluorescence-Digital; QLF-D, Inspektor Research Systems BV, Amsterdam, Netherlands)와 촬영프로그램 C3 v1.18(Inspektor Research System BV, Amsterdam, Netherlands)로 일반사진과 형광사진을 촬영하고 전용 분석프로그램인 QA v1.18 (Inspektor Research System BV, Amsterdam, Netherlands)을 이용하여 탈회정도를 나타내는 형광 소실값 '△F(%)'를 측정하였다.

## 2.4. 표면 미세경도 측정

시편의 법랑질 표면 미세경도는 비커스 미세경도기(Vickers microhardness tester, Mitutoyo, Kanagawa, Japan)를 이용하여 비커스 미세경도(Vickers microhardness number, VHN)를 측정하였다. 시편의 건전한 법랑질 표면 세 부위에서 비커스 경도기를 HV10(10 kgf = 98.08 N)의 하중으로 5초간 압인하여 초기 표면 미세경도(VHNbefore)를 측정하였다. 초기 경도(VHNbefore)와 동일한 방법으로 탈회 된 법랑질의 표면 미세경도(VHNafter)를 측정하였다. 각 시편에서 초기 표면 미세경도에 대비한 탈회 후의 표면 미세경도의 감소량(Surface microhardness reduction, SMHR)을 산출하여 비교하였다 [SMHR = VHNbefore - VHNafter].

## 2.5. 편광현미경을 이용한 병소의 조직학적 평가

병소의 조직학적 평가를 위해 각 시편을 절단기(TechCut 4™ Precision Low Speed Saw, Allied High Tech Products Inc., CA, USA)를 이용하여 약 1 ㎜ 두께로 잘라낸 후, 균일한 두께를 유지할 수 있도록 바닥이 편평한 곳에서 400 grit의 연마지를 이용하여 80 ~ 100 ㎛의 두께로 연마하였다. 연마된 시편을 증류수로 세척한 뒤 슬라이드 글라스에 올려 커버를 덮고, 편광현미경(Polarized light microscope, PLM; eclipse e200, Nikon, Tokyo, Japan)에서 40 배율과 100 배율로 확대된 영상을 HK Basic v3.7 (HK Basic v3.7, Koptic, Seoul. Korea) 소프트웨어를 이용하여 촬영하였다.

100 배율의 사진에서 관찰되는 시편의 법랑질 표면에서 검은색 경계까지를 Demineralized layer라고 명명하고 병소의 형태를 관찰하였다.

## 2.6. 통계분석

24시간, 48시간, 96시간마다 각 카보폴 군에 침적된 시편의 초기우식치아 표면의 형광 소실 값(△F)과 표면 미세경도의 차이를 파악하기 위해 one-way ANOVA을 사용하였고 통계적으로 유의한 차이가 있는 경우 사후 검정으로 Bonferroni를 이용하였다. 통계분석은 SPSS (IBM SPSS Statistics 25.0, IBM Corp., NY, USA) 통계프로그램을 사용하였으며, 통계적 유의수준은 0.05로 설정하였다.

https://doi.org/10.12972/kjcdh.20230004

# 3. 연구결과

## 3.1. 인공 초기우식병소의 형광 소실 값(△F) 변화

각 탈회용액에서 96시간 동안 침적시켜 관찰한 인공 초기우식치아 표면의 형광 소실 값은 (Table 1)과 같다. 초기경도에는 실험군 간에 유의한 차이가 없었으며, 시간의 흐름에 따라 모든 군에서 형광 소실값이 증가하는 것으로 나타났지만, 카보폴의 종류에 따른 형광 소실 값의 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 탈회 96시간 이후, 형광 소실값 변화는 카보폴 941, 2050, 940, 980 순으로 크게 나타났으나, 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다.

**Table 1.** Comparison of changes in demineralization lesions (△F) between carbopols using the QLF-D

| | Carbopol 2050 | Carbopol 940 | Carbopol 941 | Carbopol 980 | *p*-value* |
|---|---|---|---|---|---|
| 24h | -4.6±3.7 | -4.2±3.2 | -5.6±2.8 | -5.8±3.2 | 0.553 |
| 48h | -5.2±2.6 | -5.0±3.1 | -4.3±3.2 | -5.4±3.9 | 0.852 |
| 72h | -6.0±2.1 | -6.8±2.5 | -6.9±1.1 | -6.9±3.3 | 0.744 |
| 96h | -12.5±4.9 | -11.7±4.3 | -13.8±5.5 | -9.0±3.4 | 0.087 |

All values are means (standard deviation).
*$p$-values by ANOVA

## 3.2. 표면 미세경도 변화

탈회 96시간 후, 각 실험군간의 표면 미세경도 차이를 비교한 결과, 일부 실험군간에서 표면 미세경도 차이가 유의하게 나타났다(Table 2). 카보폴 2050의 미세경도 감소량이 172.0±16.7로 가장 높았고, 카보폴 980과 유의한 차이를 보였다($p$=0.002).

**Table 2.** Comparison of changes in the surface microhardness between carbopols

| Type | Carbopol 2050 | Carbopol 940 | Carbopol 941 | Carbopol 980 | *p*-value* |
|---|---|---|---|---|---|
| surface microhardness | 172.0±16.7[a] | 160.9±20.1[a,b] | 152.5±16.8[a,b] | 139.4±25.3[b] | 0.002 |

All values are means (standard deviation).
*$p$-values by ANOVA
Within same column, different superscript letters denote significant differences between groups by Bonferroni post hoc analysis at α=0.05.

## 3.3. 병소의 조직학적 특성

편광현미경 상에서 관찰한 병소의 표면은 정상법랑질의 표면과 일직선상으로 연결되어 부식되지 않았음을 확인하였다 (Figure 1). 또한 모든 군에서 초기우식병소의 표면층이 명확하게 형성되어 있는 것을 확인할 수 있으며, 병소 하방의 암흑층도 확인할 수 있었다.

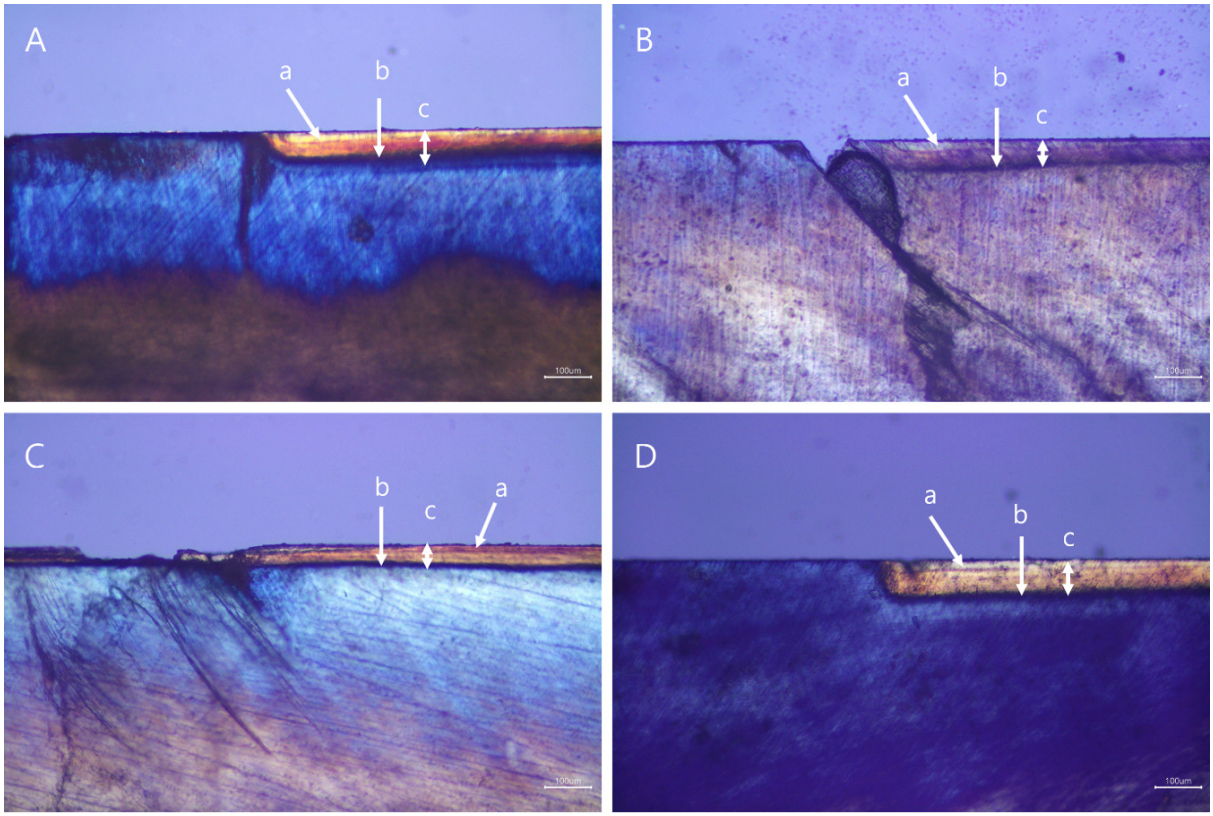



**Figure 1.** Polarized light micrographs (× 100) of enamel specimens of each group after demineralization. (A) 940 (B) 941 (C) 980 (D) 2050 (a = enamel surface; b = dark layer; c = depth of demineralized layer).

## 4. 고안

이번 연구는 기존에 인공 우식병소 유발을 위해 사용하던 카보폴 2050의 대체제를 찾기 위해 다양한 카보폴을 이용한 인공 우식병소를 비교해보고자 하였다. 카보폴과 같은 점증제는 물체의 표면 점착성을 높이기 위해 첨가하는 약품으로 탈회용액에 카보폴을 첨가하는 이유는 바이오필름처럼 법랑질 표면에 탈회용액이 점착하여 탈회용액의 낮은 pH로 인한 탈회를 유발함과 동시에 탈회용액에 포함되어 있는 미네랄성분을 통해 표면을 보호하기 위함이다(11). 이미 많은 선행연구를 통해 카보폴을 이용한 탈회용액이 실제 초기우식병소와 유사한 조직학적 특성을 나타내는 것으로 알려져있다(6, 9-11). 이번 연구에서 대체제로 사용한 카보폴 940, 941, 980 역시 기존의 카보폴 2050과 유사한 기능을 하는 것으로 나타났다.

법랑질 탈회정도를 QLF-D를 이용하여 측정한 결과 모든 카보폴 군에서 시간의 흐름에 따라 탈회가 진행되었으나, 실험군간의 탈회정도에는 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 그나마 카보폴 980의 경우 형광 소실 값이 가장 적게 나타났으며 이러한 현상은 표면 미세경도 측정에서도 확인할 수 있었는데 카보폴 980만이 다른 군에 비해 유의하게 적은 경도 감소를 나타내었지만 그 값의 차이는 다른 군과 크지 않았다. 다른 카보폴 940과 941의 경우 카보폴 2050과 유사한 경도 감소를 나타냈으며 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 이러한 차이를 보았을 때 카보폴 자체의 물성은 치아 탈회에 많은 영향을 주지는 않는 것으로 사료된다.

모든 카보폴은 점도를 가지고 있지만 제품에 따라 그 특성이 다르다. 카보폴 2050, 940, 941, 980 모두 homopolymer로 allyl sucrose 또는 allyl pentaerythritol와 가교결합된 아크릴산이지만 카보폴 2050과 980의 경우 cyclohexane과 ethyl acetate를 이용한 cosolvent 시스템에서 중합한 것이고, 카보폴 940과 941은 벤젠에서 중합한 제품이다. 카보폴에 따라 점도

도 다양하게 나타나는데 카보폴 940과 980의 경우 pH 7.5의 0.5 wt%에서 40,000 ~ 60,000정도의 높은 점도를 가지고 있는 반면 카보폴 941의 경우 4,000 ~ 10,000정도의 낮은 점도를, 카보폴 2050은 10,000 ~ 15,000정도의 중간정도 점도를 갖는다(12). 또한 카보폴은 전해질과 만나면 점도가 증가하는데 이러한 전해질에 견딜 수 있는 이온저항도(relative ion tolerance)가 다양하며, 이번 연구에 사용된 카보폴에서는 카보폴 2050 > 941 > 940 = 980 순으로 이온저항도가 높다고 알려져 있다(13).

이렇듯 실험에 사용된 카보폴들의 물성은 다양한 데 실험결과를 보면 특성에 따른 병소의 차이는 거의 없는 것으로 나타났다. 이는 점성과 상관없이 탈회용액 제조에 필요한 재료들만 카보폴 용액에 충분히 용해가 된다면 법랑질 표면을 보호하면서 치아 시편 내부의 병소만 탈회시키는 작용이 가능한 것으로 사료된다.

선행연구에서도 같은 카보폴 2050이어도 농도에 따라 점도의 차이가 발생하는데 농도의 차이에 의한 법랑질 표면 미세경도의 차이는 크지 않다고 결론내렸으며, 이는 카보폴 907을 이용한 연구에서도 마찬가지의 결과가 나타났다(6, 9).

이번 연구에서는 편광현미경을 통해 병소의 내부를 관찰하였는데 편광현미경은 병소의 조직학적 특성과 병소의 깊이와 무기질 소실등을 확인할 수 있다(14, 15). 이번 연구에서 병소의 횡단면을 편광현미경으로 관찰한 결과 병소의 표면은 침식되지 않고 건전법랑질과 같은 선상에서 있는 것으로 관찰되었다. 이는 병소 표면은 잘 보호하면서 병소가 형성된 것을 의미한다. 또한 카보폴의 종류에 상관없이 병소의 표층이 모두 명확하게 관찰가능한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 높은 점도를 가진 카보폴의 경우 병소의 표면층을 형성하는데 낮은 점도의 카보폴보다 시간이 오래 걸리기 때문에 편광현미경상에서 병소의 표면층이 불명확하게 나타난다고 하였던 선행연구와는 다른 결과이다(9). 이번 연구에서는 pH 4.8의 카보폴을 사용하였기 때문에 법랑질 내부와 탈회용액 간의 무기질 이온 이동양상이 좀 더 활발하여 표면층을 명확하게 만들었을 것으로 보인다(16, 17).

본 연구는 인공 초기우식병소를 만들기 위해 기존의 카보폴 2050과 비교하여 국내에서 손쉽게 구할 수 있는 다양한 카보폴 940, 941, 980의 활용가능성을 평가한 기초연구이다. 추후 병소의 횡절단면 경도 측정 같은 다양하고 정확한 분석과 다양한 카보폴의 조성 비교를 통해 실제 우식병소와 유사한 인공 우식병소를 개발이 필요할 것이다.

## 5. 결론

본 연구의 목적은 인공 초기우식병소를 형성하기위해 수입이 어려운 카보폴 2050의 대체 물질로서 카보폴 940, 941, 980의 활용 가능성을 파악하고자 하였다. 이를 위해 다양한 카보폴을 pH 4.8의 1%로 조정한 탈회용액에 96시간동안 시편을 침적시켜 인공 초기우식병소의 변화양상을 비교, 분석하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. OLF-D를 이용하여 형광 소실 값을 측정한 결과, 시간의 흐름에 따라 모든 군에서 형광 소실 값이 증가하는 것을 확인하였으며, 카보폴의 종류에 따른 유의한 차이는 보이지 않았다.

2. 96시간의 탈회 후 표면 미세경도를 측정한 결과, 카보폴 2050의 미세경도 감소량이 172.0±16.7로 가장 높았으나, 카보폴 940, 941과는 유의한 차이가 없었고, 카보폴 980과는 유의한 차이를 보였다($p$=0.002).

3. 편광현미경 사진에서 관찰된 모든 실험군의 병소 표면은 정상법랑질의 표면과 일직선상으로 연결되어 부식되지 않고 보호되었으며, 명확한 표면층과 암흑층을 모두 확인할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 카보폴 940, 941, 980은 카보폴 2050의 대체 물질로 사용할 수 있으나, 특히 카보폴 940과 941이 카보폴 2050과 가장 유사하게 탈회시간에 따라 명확한 무기질 감소가 일어나고 있어 대체 물질로 가장 적합할 것이라고 사료된다.

## References

1. Featherstone JDB. Dental caries: a dynamic disease process. Aust Dent J 2008;53(3):286-291. 10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x.

2. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Laverty D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis–a comprehensive review. J Clin Periodontol 2017;44:S94-S105. 10.1111/jcpe.12677.
3. Silverstone LM. Observations on the dark zone in early enamel caries and artificial caries-like lesions. Caries Res 1967;1(3):261-274.
4. Silverstone LM. The surface zone in caries and in caries-like lesions produced in vitro. Br Dent J 1968;125(4):145-157.
5. Steinberg S. A paradigm shift in the treatment of caries. Gen Dent 2002;50(4):333-338.
6. White DJ. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. Caries Res 1987;21(3):228-242. 10.1159/000261026.
7. Gray JA. Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient caries-like lesions. Arch Oral Biol 1966;11(4):397-422. 10.1016/0003-9969(66)90105-1.
8. Silverstone LM. The primary translucent zone of enamel caries and of arificial carieslike lesions. Br Dent J 1966;120(10):461-471.
9. Kim BR, Kim HE, Kwon HK, Kim BI. Effect of polyacrylic acid concentration on producing artificial carious enamel lesions. J Korean Acad Oral Health 2011;35(1):23-31.
10. Lee JH. Comparison of the rate of demineralization of enamel using carbopol 907 and carbopol 2550[Unpublished doctoral dissertation]. Yongin: Dankook University College of dentistry;2009.
11. Lee JH, Shin JS, Kim JS. Comparison of the rate of demineralization of enamel using synthetic polymer gel. J Korean Acad Pediatr Dent 2019;46(2):190-199. 10.5933/JKAPD.2019.46.2.190.
12. Rosen, Meyer R. Harry's Cosmeticolohy. 9th edition. USA: Chemical Publishing Company;2015:768-806.
13. Lubrizol. Carbopol® Polymer Products. [online] https://www.lubrizol.com/Health/Pharmaceuticals/Excipients/Carbopol-Polymer-Products. 2023.1.26.
14. Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. J Dent Res 1986;65(1):2-11. 10.1177/00220345860650010201.
15. Huysmans MC, Longbottom C. The challenges of validating diagnostic methods and selecting appropriate gold standards. J Dent Res 2004;83(1):48-52. 10.1177/154405910408301s10.
16. Anderson P, Elliott JC. Coupled diffusion as basis for subsurface demineralization in dental caries. Caries Res 1987;21(6):522-525. 10.1159/000261061.
17. Theuns HM, van Dijk JW, Driessens FC, Groeneveld A. The surface layer during artificial carious lesion formation. Caries Res 1984;18(2):97-102. 10.1159/000260756.