

발 간 등 록 번 호

안내서-1347-01

국민의 더 건강한
내일을 위한 정부혁신

보다나은 식약처

건강기능식품 기능성 평가 가이드

(민원인 안내서)

구취 관련

2023. 12.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

건강기능식품 기능성 평가 가이드
(구취 관련)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 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 :)	
	☐ 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 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	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞지침서) ☒ 아니오
	☐ 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(☞안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음. 2023년 12 월 일 담당자 확 인(부서장) 이 혜 영		

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 2023년 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 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과으로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1347-01	2023.12.	제정

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
------------------------	---

※ 약어	3
------------	---

I 서론	5
-------------	---

II 일반적 사항	5
------------------	---

1. 개요	5
2. 보건학적 중요성	11

III 기능성 시험 방법	14
----------------------	----

1. 바이오마커의 선정	14
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	18
3. 시험 설계 시 고려사항	24
4. 안전성 평가	30

IV 참고문헌	31
----------------	----

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

건강기능식품법률 제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

□ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

□ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 ¹⁾	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험(RCT)에서 확보 되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 가능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체 적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용 시험에서 일관성 있게 확인되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 경우 인정

약 어

Aa	Actinobacillus actinomycetemcomitans
ABL	alveolar bone loss
ALP	alkaline phosphatase
AP-1	activator protein-1
AST	Aspartate aminotransferase
BOP	bleeding on probing
BHI	Brain Heart Infusion Broth
CAL	Clinical attachment level
CEJ	Cement to enamel junction
CFU	Colony forming unit
CTX	C-telopeptide
DPPH	1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
EA	Elastase
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GC	Gas chromatography
GCF	Gingival crevicular fluid
GI	gingival index
GM CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor
GTase	Glucosyltransferase
ICDAS	International Caries Detection and Assessment system
IgA	Immunoglobulin A
IL	interleukin
LB	Lactobacillus
LPS	lipopolysaccharide
MBC	Minimum bactericidal concentration
Mgld	Methionine gammalyasedeaminase
MIC	Minimum inhibitory concentration

MMP	matrix metalloproteinase
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol)-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide
MS	Streptococcus mutans
MSA	Mitis Salivarius Agar
NF- κ B	nuclear factor-kappa B
OD	Optical density
OLT	Organoleptic score
OPG	osteoprotegerin
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PD	probing pocket depth
PDL	periodontal ligament
PI	Plaque index
PCR	Polymerase chain reaction
RANKL	receptor activator of nuclear factor- κ B ligand
ROS	reactive oxygen species
SBC	Salivary buffer capacity
SM	Streptococcus mutans
SMH	Surface Microhardness
TCS	Tongue coating score
TIMP	tissue inhibitor of metalloproteinase
TNF	tumor necrosis factor
TRAP	tartrate-resistant acid phosphatase
UWSFR	Unstimulated whole salivary flow rate
QLF	Quantitative Light-induced Fluorescence
VAS	visual analogue scale
VSC	Volatile sulfur compounds

I 서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품 의약품안전처의 기능성(구취 관련) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II 일반적 사항

1. 개요

가. 구취의 정의

구취(bad breath, halitosis, oral malodor)란 구강을 통하여 나오는 호기의 냄새로서 타인으로 하여금 불쾌감을 느끼게 하는 냄새를 의미한다. 구취는 크게 진성구취(genuine halitosis), 망상 구취(delusional halitosis)로 분류할 수 있다. 이 중 망상구취는 객관적인 검사로 실체를 확인할 수 있는 진성구취와는 달리 객관적인 증상이 없고 타인에 의해서도 지각되지 못하나 자신에게 구취가 난다고 느끼는 경우를 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 사회적 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. 구취를 발생시키는 요인은 구강 내 국부요인과 구강 외 신체요인으로 구분할 수 있으며, 구강 내 국부요인으로는 구강 부패작용, 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. 구취는 크게 진성구취(genuine halitosis), 망상 구취(delusional halitosis)로 분류할 수 있다. 이 중 망상구취는 객관적인 검사로 실체를 확인할 수 있는 진성구취와는 달리 객관적인 증상이 없고 타인에 의해서도 지각되지 못하나 자신에게 구취가 난다고 느끼는 경우를 말한다.

나. 구취의 분류

구취는 크게 진성구취(genuine halitosis), 망상 구취(delusional halitosis)로 분류할 수 있다. 이 중 망상구취는 객관적인 검사로 실체를 확인할 수 있는 진성구취와는 달리 객관적인 증상이 없고 타인에 의해서도 지각되지 못하나 자신에게 구취가 난다고 느끼는 경우를 말한다.

(1) 진성구취(genuine halitosis)

진성구취는 생리적(physiologic) 원인의 구취와 병리적 (pathologic) 원인의 구취로 구분한다.

(가) 생리적(physiologic) 원인의 구취

생리적 원인의 구취는 일시적이며 가역적인 냄새로 잠에서 깨어난 직후의 구취, 공복, 기아나 월경 및 임신과 같은 생리적 현상에 의해 발생하는 구취를 말한다. 구강내 원인 중 혀의 뒤쪽 측면에서 발생하는 악취가 있는 설태가 가장 일반적인 이유이다.

(나) 병리적(pathologic)원인의 구취

병리적 원인의 구취는 신체의 발생원을 기준으로 구강내 원인의 구취와 구강 외 원인의 구취로 나눌 수 있다. 병리적 원인의 구취는 강력한 구취로써 구강내 원인일 경우에는 그람 음성 혐기성 세균의 부패작용에 의해 휘발성 황화합물을 지속적으로 배출시킴으로써 구취를 유발시킨다.

(2) 망상 구취(delusional halitosis)

망상구취(delusional halitosis)는 호흡 냄새가 불쾌하고 사회적 불쾌감의 원인이라고 믿는 상태이지만 어떤 임상이나 다른 사람이 그 존재를 인지할 수 없다. 망상구취는 객관적으로 구취가 나지 않는데도 불구하고 입뿐만 아니라 코나 귀 등에서 악취가 난다고 호소하는 경우를 말하며, 환자는 본인만이 느끼는 구취를 호소한다. 망상구취는 가성구취와 구취공포증으로 나뉜다(그림 1).

(가) 가성구취(Pseudo halitosis)

가성구취(Pseudo halitosis) 환자는 실제로 문제가 없는 상태에서 구강 악취를 호소하며 결국 진단과 치료 중에 질병이 없는 상태로 확진된다. 구취를 호소하는 환자의 28%는 구취의 징후를 나타내지 않았다는 보고가 있다.

(나) 구취공포증(halitophobia)

기질적 원인이 없음에도 불구하고, 구취가 나타나는 것을 두려워 하는 구취공포증(halitophobia)은 성인 인구의 적어도 0.5~1%에서 나타난다. 이러한 환자는 심리 상담이 필요하며, 상담 중에 충분한 시간을 써야 한다.



그림 1. 구취의 분류

[출처: Izidoro C et al, Int J Environ Res Public Health. 2022]

다. 구취의 원인

구취의 약 80-90%는 구강내에서 원인을 찾을 수 있으며 나머지 10% 구강 외 원인으로 비강 및 기도의 감염, 폐질환, 위장질환, 간질환, 신장질환, 당뇨, 특정 약물 복용 등이 있다. 본 기능성에서는 구취의 주된 원인인 구강 내 문제로 국한하고자 한다.

구강 내 원인으로는 치아 우식증과 치석 형성, 치주염 등 잇몸질환이 대표적이다. 이외에 구취를 생성할 수 있는 구강 내 조건으로는 과다한 치태 및 설태, 구강연조직 감염, 구강칸디다증, 구강암, 의치 장착, 혀질환 및 열구성 혀, 불량 보존물 및 보철물, 구강건조증 등이 있다. 구강점막 탈락 상피세포, 타액, 치은 열구액, 혈액, 음식물 등으로부터 기인한 단백질 성분(특히 황, 질소를 함유한 아미노산)이 구강내 세균(주로 혐기성 그람음성균)에 의해 대사되어 발생된 황, 질소화합물이 구강내 악취의 약 90% 이상을 차지한다. 특히 휘발성 황화합물(Volatile Sulfur Compounds, VSCs) 중에서도 황화수소(Hydrogen sulfide, H_2S), 메틸메르캡탄(Methyl mercaptan, CH_3SH), 그리고 디메틸설파이드(Dimethyl sulfide, CH_3SCH_3) 등이 전체 휘발성 화합물 중 90%를 차지한다. 휘발성 황화합물의 생성은 특정 원인균과 기질 외에도 설태 및 치태의 양, 타액의 pH, 타액분비율 등에 의해서도 영향을 받는다. 또한 음식물 중에도 마늘과 양파 등은 황화합물을 다량 포함하고 있으므로 섭취 시에는 구취의 원인이 되기도 한다.

‘구강 건강 관련’ 기능성 평가가이드에서는 구취 완화와 관련하여 건강기능식품으로 접근 가능한 혐기성 그람음성균, 설태 및 치태, 그리고 타액에 대해서 다루고자 한다.

(1) 혐기성 그람음성균(Gram-negative anaerobic bacteria)

구강 내 구취의 주요 원인 물질은 구강 세균들의 과증식 특히, cysteine, cystine, methionine 등과 같이 황을 함유한 아미노산이 포함된 단백질을 분해하여 황화수소, 메틸메르캡탄, 디메틸설파이드 같은 휘발성 황화합물을 생산하는 세균종들의 이상 증식이 구취를 유발하거나 구취 유발에 기여한다(그림2). 사실 구강에 서식하는 다수의 구강미생물들이 시스테인으로부터 황화수소 또는 메티오닌(methionine)으로부터 메틸메르캡탄을 만들 수 있음이 밝혀졌다(표1). 이러한 휘발성황화합물을 생성하는 세균 종들은 *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* 등이 있으며 특히 *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* 등은 치주질환과도 연관이 있는 균으로도

알려져 있다. 많은 연구에서 이러한 구강 미생물들은 대부분 그람 음성의 혐기성 세균이고 다수가 간균에 속한다고 보고하였다. 하지만 구취는 이들만이 아닌 다양한 여러 세균 종들간의 복합적 상호작용의 결과물일로 생각되어지고 있다.

표 1. 구강내 휘발성 황화합물 생성 주요 세균

시스테인으로부터 황화수소 생성	메티오닌으로부터 메틸메르캅탄 생성	혈청으로부터 황화수소 생성	혈청으로부터 메틸메르캅탄 생성
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Eubacterium limosum</i> <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Centipeda periodontii</i> , <i>Selenomonas artermidis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Fusobacterium periodonticum</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i>	<i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella loescheii</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i>	<i>Treponema denticola</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Porphyromonas endodontalis</i>

[출처: Aylıkçı BU et al., J Nat Sci Biol Med. 2013]

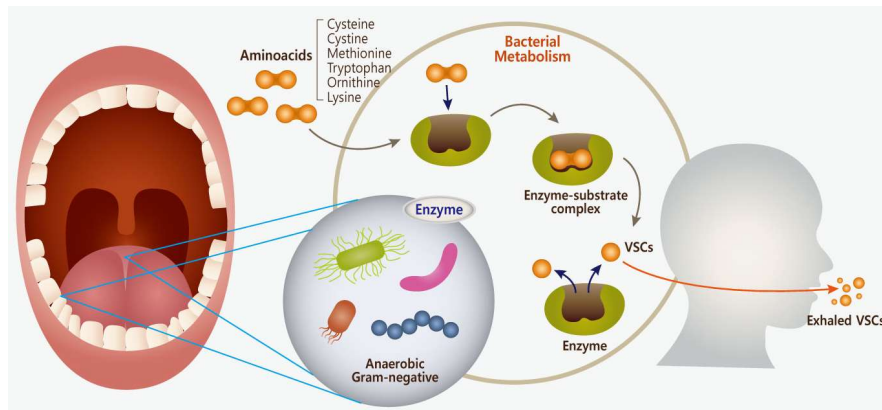


그림 2. 구취의 발생

[출처: Izidoro C et al., Int J Environ Res Public Health. 2022]

(2) 설태 및 치태

설태(tongue coating)는 주로 탈락된 상피 세포, 음식물 찌꺼기, 타액, 세균 등으로 이루어지며 혀의 후방 1/3 부분에 많이 분포하는 혐기성 그람음성세균이 설태에 포함된 단백질과 펩타이드를 분해하여 황화합물을 만들어낸다.

구강내 세균과 그 산물, 그리고 타액(침)으로부터 유래하는 물질로 구성된 치태(dental plaque) 및 이 치태의 깊은 층 안에 칼슘과 인산염 이온이 퇴적되어 생기는 치석(calculus)도 치아 우식증이나 치주염을 일으키고 구취를 유발하는 원인이 될 수 있다.

(3) 타액

타액은 구강의 기능에서 매우 중요한 역할을 한다. 타액은 윤활작용을 통하여 입안의 운동을 원활하게 하고 음식물이 잘 씹이도록 하며 삼킬 수 있게 덩어리를 형성하도록 한다. 타액은 구강점막 및 치아를 보호할 뿐만 아니라 많은 항균물질이 존재하여 입 안 세균을 감소시키며, 지속적으로 구강을 깨끗하게 하는 자정작용을 수행한다. 타액 분비가 적어지는 구강 내 환경에서는 타액의 자정 능력이 떨어지 산소 공급이 억제되어 혐기성 세균의 증식이 활성화된다.

그 외에도 타액은 구취를 유발하는 휘발성 물질을 용해시켜 휘발을 방지함으로써 구취발생을 줄인다. 반면, 타액 내 단백질은 구취발생의 전구물질로서의 역할도 한다. 일반적으로 구강건조증은 구취발생을 증가시키는데, 이는 타액이 구취감소효과가 증가 효과보다 더욱 뚜렷하기 때문이다.

2. 보건학적 중요성

가. 구취 완화의 필요성

구취의 유병율은 보고에 따라 차이를 보이는데 이는 연구방법에 따른 차이 및 구취 진단에 개입되는 주관성에 따른 것으로 사료된다. 폴란드 대학생을 대상으로 한 연구에서 구취 유병율은 24%였으며, 미국에서 이루어진 치과의를 대상으로 한 연구에서 자신의 환자 중 41%에서 구취를 진단하였다. 청소년을 대상으로 한국, 브라질, 스웨덴에서 이루어진 설문연구 결과 구취 유병율은 약 25%로 나타났다. 미국치과의사협회는 미국 성인의 25% 정도가 만성적인 심한 구취감을 느낀다고 하였다. 구취측정기를 이용한 결과 중국인의 20-35%, 일본인의 20%에서 기준치 이상의 구취 농도가 검출되었고, 한국에서는 25.9%를 나타냈으나 구취 치료를 희망하는 사람은 이보다 많은 54.2%라고 발표되었다. 건강보험 심사평가원 통계에 따르면 2015년 기준 구취증 진료 인원은 5천851명으로 그중 여성이 3천31명(51.8%), 남성이 2천820명(48.2%)으로 비슷한 양상을 보였다(그림 3). 최근에는 COVID-19 팬데믹 발생 이후 마스크 착용이 의무화되면서 구취의 발생 및 악화를 호소하는 환자가 증가하고 있다.

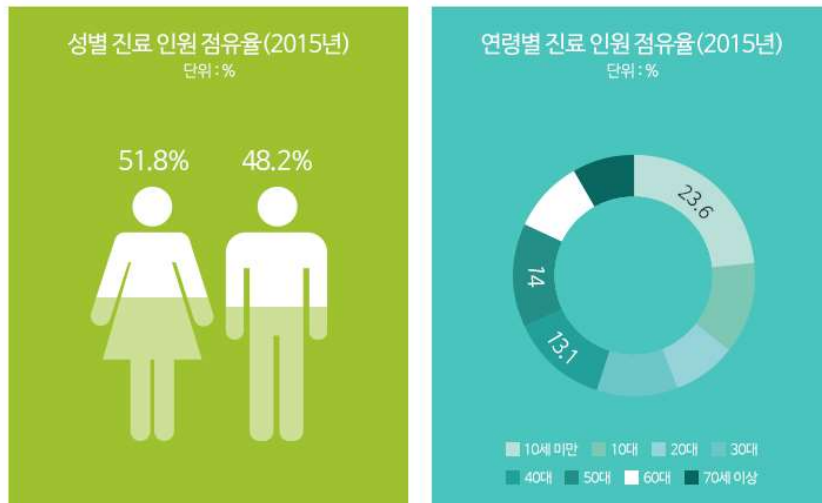


그림 3. 구취증 진료인원

[출처: 건강보험심사평가원]

구취를 유발하는 그람 음성 혐기성 세균 중 *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythensis*와 같은 세균은 구취뿐만 아니라 치은염, 치주염, 임플란트 주위염과 같은 치주질환의 발병과 연관되어 있으며 설태에서도 발견되는 세균으로 각종 구강질환을 일으키는 것으로 알려져 있다. 구강 내 유해균과 이들이 발생하는 독소는 잇몸의 혈관으로 침투하여 치매, 관절염, 저체중아 출산, 심혈관계질환 등 각종 전신질환을 일으킨다는 다수의 연구가 보고되어 있다. 구취는 상대방에게 불쾌감을 줄 뿐만 아니라 대인관계의 위축, 자신감 하락 등으로 삶의 질을 크게 저하시킬 수 있으며 이로 인한 스트레스, 우울증, 불안장애 등 정신적인 문제를 야기할 수 있다. 이는 앞서 언급한 구강세균에 의한 각종 구강 및 전신질환에 더해 환자의 부담을 더욱 가중시키기 때문에 구취의 예방 및 개선이 매우 중요하다(그림 4).

구취의 개선은 우선 구강 내 혐기성 세균증식을 억제하는 것이 효과적이다. 세균증식 호발 부위인 혀의 세균성 기질 제거를 위해 혀 세정기(tongue scraper)를 이용한 설태 제거와 더불어 그람음성세균의 성장과 대사를 조절함으로써 휘발성 황 화합물의 생성을 감소시킬 수 있는 항균성분이 포함된 구강세정제의 사용이 방법이 될 수 있다.

치아와 혀에 세균부착을 줄이는데 목적을 둔 치료들은 구취를 줄이는데 반드시 필요한 접근법이다. 혐기성 세균이 효과적으로 증식하는 혐기성 환경을 제거하기 위하여 증식에 부적절한 산소의 공급은 두꺼운 치태의 제거를 통해 이루어질 수 있다. 치석표면은 항상 살아있는 세균성 치태(플라그)로 덮여 있다. 거칠고 다공성인 치석표면은 세균이 부착하기 좋은 조건을 제공하며, 아무리 노력해도 치석표면에는 수많은 세균이 남아있게 된다. 따라서, 정기적인 스케일링으로 세균의 온상이 되는 치석을 제거하여 구취를 예방할 수 있다.

타액은 인체에서 혈액과 더불어 가장 중요한 역할을 하는 체액 중 하나로 소화기계의 출입구이자 첫 번째 방어 관문인 구강에서 면역기능을 수행한다. 이러한 타액 분비의 감소는 타액 자체의 항균 및 점막 보호 기능의 감소를 수반하게 된다. 따라서, 다른 구강세균과 함께 혐기성 그람 음성 세균의 증식이 일어난다. 결과적으로 구취의 발생이 증가하는 환경이 이차적으로 조성되며 이러한 타액 분비가 감소된 환자에게는 타액 분비 촉진제를 제공하는 것이 일차적인 치료가 된다. 그러나 타액 분비 촉진제에 반응하지 않는 환자와 이를 적절히 활용할 수 없는 환자의 경우에는 인공 타액으로 정상적인 타액 설포 및 타액선 도관의 분비기능에 의해 생기는 타액을 대신할 수 있다.

입냄새 유발 음식으로는 우리가 자주 먹는 술과 단 음식, 커피가 대표적이다. 술은 탈수 증세로 입안을 건조하게 만들 수 있으며, 단 음식은 입안의 세균을 증식하면서 구취를 유발한다. 습관적으로 마시는 커피 또한 위나 식도역류를 자극하고, 침 분비를 감소시켜 입냄새를 심하게 할 수 있다. 식재료로는 양파와 마늘, 파, 달걀 등이 손꼽힌다. 반면 입냄새를 막아주는 음식들도 있다. 이제야 알게 된 자신의 입냄새 때문에 고민된다면 평소 식단에서 참고하는 것도 좋은 방법이다.

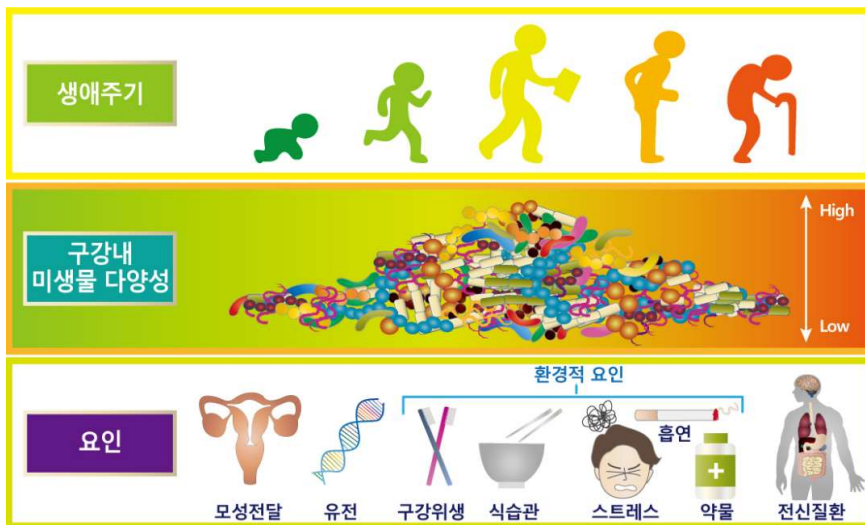


그림 4. 구강내 세균과 전신질환

[출처: Sedghi et al., Periodontology 2000, 2021]

III 기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 연구유형별 바이오마커

구강 내 세균증식을 억제하여 구취 완화에 도움을 줄 수 있음의 기능성을 확인하기 위한 측정 가능한 연구유형별 바이오마커(biomarker)는 다음 표 2와 같다. 본 기능성에서는 구강 내 원인으로 인한 구취로 국한한다. 각 바이오마커는 구강내 문제로 인한 구취완화와 관련된 기전을 확인할 수 있는 바이오마커와 임상적 평가를 위한 바이오마커로 구분된다.

* 작용 기전 또는 인체적용시험 설계에 따라 적절한 바이오마커를 선택할 수 있음

표 2. 구취완화 기능성 확인을 위한 바이오마커

구분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>Human</i>
구강내 미생물 개선	유해균(<i>Treponema denticola</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> 등) 감소	○	○	○
	유익균(<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> 등) 증가	○	○	○
	구강내 미생물 총량(Total microbial loading) 감소	○	○	○
	Oral epithelial cell 부착을 억제	○		
구취 성분 생성 억제	Methionine gammalyasedeaminease (Mgld) 활성	○		
	<i>mgl</i> gene 발현정도	○		
구강내 상태 개선	비자극시 전타액분비량 (UWSFR, unstimulated whole salivary flow rate)		○	○
	타액 완충능력(SBC, salivary buffer capacity)		○	○
	설태지수(TCS, tongue coating score)		○	○
구취 개선도 평가	관능적 검사(OLT, organoleptic score)			○
	주관적 구취개선도 평가			○
	구취 원인 구강 가스 농도	○		○

나. 바이오마커 설명

구취완화 관련 바이오마커는 구강 내 구취유발세균 활성 억제, 구취 성분생성 억제, 구강내 상태 개선, 구취 개선도 평가 관련 바이오마커로 구분되어 있다.

(1) 구강내 미생물 개선

구강내 구취의 주요 원인 물질은 구강 상주균들의 과증식 특히, cysteine, cystine, methionine 등과 같이 황을 함유한 아미노산이 포함된 단백질을 분해하여 황화수소, 메틸메르캡탄, 디메틸설파이드 같은 휘발성 황화합물을 생산하는 세균종들의 이상 증식이 구취를 유발하거나 구취 유발에 기여한다. 따라서 이러한 세균의 활성을 억제함으로써 구취를 완화시킬 수 있다.

(가) 유해균 감소

구강 내 서식하는 세균의 수와 종류를 측정함으로써 구강 내 환경의 적합성을 판단하는데 이용된다. 구취의 개선은 우선 구강 내 혐기성 세균증식을 억제하는 것이 효과적이다. 세균의 성장과 대사를 조절할 수 있는 기능성식품의 섭취가 휘발성 황 화합물의 생성을 감소시킬 수 있는 좋은 방법이 될 수 있다.

(나) 유익균 증가

Lactobacillus 및 *Bifidobacterium*와 같은 유산균들은 유해균들의 부착과 성장을 억제하여 구강내 환경을 개선할 수 있는 것으로 알려져 있다. 구취 발생에 영향력이 큰 치면, 혀, 타액에서의 구강미생물 변화를 밝히기 위해 치면세균막, 설태, 타액을 채취하여 적절한 배지에 도말한 뒤 일정시간 혐기적·호기적 배양하여 배양된 집락의 수를 계수하여 주요한 유익균 또는 유해균의 분포를 확인할 수 있다.

(다) 구강내 미생물 총량(Total microbial loading)

구강내 세균은 종류와 수가 많고, 혐기적 조건이 필요한 경우가 있어 세포배양을 통해 특정 미생물을 분리동정하기 어려운 한계가 있다. 따라서, CFU법으로 전체세균의 분포를 확인하거나 PCR법을 통해 미생물 총량을 확인할 수 있다.

(라) Oral epithelial cell 부착을 억제

치아와 혀에 세균부착을 줄이는데 목적을 둔 치료들은 구취를 줄이는데 반드시 필요한 접근법일 수 있다. 혀에 부착된 미생물이 많아지면, 타액 내 황 함유 물질 간에 접촉 시간이 길어지게 되어 구취의 원인인 휘발성 황화물과 지방산의 생성이 증가하게 된다.

(2) 구취 성분 생성 억제

구취는 구강내 세균들이 시스테인으로부터 황화수소 또는 메티오닌으로부터 메틸메르캡탄과 같은 휘발성 황화합물을 생성하여 발생한다. 이들의 생성과 관련된 효소의 활성 또는 유전자발현을 조절함으로써 구취를 완화할 수 있다.

(가) Methionine gammalyasedeaminase (Mgld) 활성

Methionine gammalyasedeaminase(Mgld)는 메티오닌을 분해하여 Methyl mercaptan을 만든다. Mgld의 불활성화는 휘발성황화물의 생성을 억제할 수 있는 전략이 될 수 있다.

(나) *mgI* gene 발현정도

L-methionine- α -deamino- γ -mercaptomethane-lyase(METase)는 L-methionine으로부터 CH_3SH , α -ketobutyrate, ammonia를 생성한다. *P. gingivalis*는 METase를 통해 다량의 CH_3SH 를 생성하는 것으로 알려져 있다. METase는 *mgI* gene에 의해 발현된다. METase는 VSC를 감소시키는 타겟으로 사용될 수 있다.

(3) 구강내 상태 개선

휘발성 황화합물의 생성은 특정 원인균 외에도 타액, 설태, 치태, 구강내 pH 등에 의해서도 영향을 받는다.

(가) 타액

타액은 구강의 기능에서 매우 중요한 역할을 수행한다. 타액은 구강점막 및 치아를 보호할 뿐만 아니라 많은 항균물질이 존재하여 입 안 세균을 감소시키며, 지속적으로 구강을 깨끗하게 하는 자정작용을 수행한다. 타액 분비가 적어지는 구강 내 환경에서는 타액의 자정 능력이 떨어지고 산소 공급이 억제되어 혐기성 세균의 증식이 활성화된다. 그 외에도 타액은 구취를 유발하는 휘발성 물질을 용해시켜 휘발을 방지함으로써 구취발생을 줄인다.

(나) 설태 및 치태

설태(tongue coating)는 주로 탈락된 상피 세포, 음식물 찌꺼기, 타액, 세균 등으로 이루어지며 혀의 후방 1/3 부분에 많이 분포하는 혐기성 그람음성세균이 설태에 포함된 단백질과 펩타이드를 분해하여 황화합물을 만들어낸다.

구강 내 세균과 그 산물, 그리고 타액으로부터 유래하는 화합물로 구성된 치태(dental plaque) 및 이 치태의 깊은 층 안에 칼슘과 인산염 이온이 퇴적되어 생기는 치석(calculus)도 치아 우식증이나 치주염을 일으키고 구취를 유발하는 원인이 될 수 있다.

(4) 구취 개선도 평가

구취를 측정하는 방법은 기계를 이용하여 휘발성황화합물의 농도를 측정하는 방법, 환자 자신에 의해 구취의 존재 여부, 정도를 평가하는 주관적인 방법, 훈련된 검사자가 피험자의 호기 시 공기의 냄새를 맡아 직접 평가하는 관능적 검사 등이 있다.

(가) 관능적 검사(OLT, organoleptic score)

관능검사는 의사가 직접 환자의 입과 코에서 냄새를 맡아보고 판단하는 방법이다. 관능적 구취 검사의 이점은 저렴하고, 장비가 필요 없고, 다양한 냄새가 감지 가능하다는 것이다. 단점은 테스트의 주관성, 정량화 부족 및 검사의 재현성이 부족하다는 것이다.

(나) 주관적 구취 개선도 평가(self assessment of halitosis)

우리나라에서는 국가단위의 구강보건사업을 위한 구강보건의식조사시 주관적 구강건강인식 문항을 채택하여 사용하고 있고 국민건강보험공단에서 실시하는 피보험자 대상의 구강검진 문진표에도 유사한 항목이 포함되어 있기도 하다. 주관적 구취개선도 평가는 구취에 대한 개인의 주관적 평가이므로 관능적 검사보다 개인의 삶의 질을 오히려 더 잘 반영할 수 있으며 전통적으로 이용되어 온 역학적 지표에 비해 측정이 간편하고 정책적 적용이 쉬우며, 치과의료서비스 이용과도 연관성이 높다고 보고된 바 있다.

(다) 구취원인 구강 가스 농도: 휘발성 황화합물(VSC) 농도

대부분의 구취는 구강 내에서 숙주성분과 음식물 잔류물이 세균에 의해 부패된 결과로 나타나며, 구강 내에 존재하는 세균은 단백질을 아미노산을 분해하여 휘발성 황화물, Hydrogen sulfide, Methyl mercaptan 및 Di-methyl sulfide 등을 구강 내에 방출됨으로써 악취를 풍기게 되는 것이다. 기계를 이용해 검사하는 방식에는 가스크로마토그래피(Gas chromatography), 할리미터(Halimeter) 등을 이용하여 황화합물의 농도를 검사하는 방법이 가장 대표적이다.

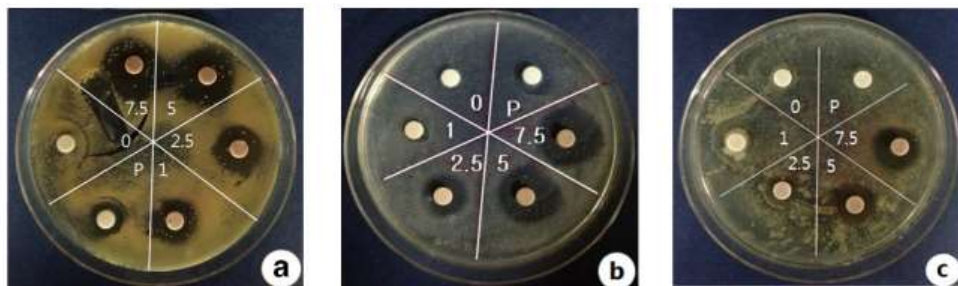
2. 주요 바이오마커의 측정 방법

가. 구강내 미생물 개선

(1) 유해균 감소

(가) 유해균 억제활성

- Disc법을 이용한 항균성 실험: 증식된 세균을 Brain heart infusion(BHI)액체배지와 agar가 첨가된 BHI 한천배지를 이용한다. BHI 한천배지 위에 균을 plating한 후, 직경 6mm disc를 놓고 실험물질 50 μ l를 첨가하여 24시간 배양한다. 배양한 후 생육저해환(clear zone)의 직경을 측정한다(그림 5).



(Fig. 1) Clear zone of *S. mutans* (a), *E. coli* (b) and *C. albicans* (c) according to concentrations of Omija extract, P, Penicillin.

그림 5. Disc법 예시

[출처: 양수현 외, 대한구강보건학회지 2016]

- 미생물 최소억제농도 측정: 각 실험 균주에 대한 실험물질의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)를 측정하기 위하여, BHI 액체배지를 가지고 실험물질 농도별(1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 등) 희석하여 접종한 후 24시간 배양하여 어느 농도에서부터 성장이 억제되었는가를 조사한다. 접종 24시간 후 육안으로 관찰하여 균이 발견되지 않는 실험 물질의 최소농도를 MIC로 결정한다.

(2) 세균 동정 및 세균 수

구취 발생에 영향력이 큰 치면, 혀, 타액에서의 구강미생물 변화를 밝히기 위해 치면세균막, 설태, 타액을 채취한다. 치면세균막의 경우 제 2소구치와 제 1대구치 협면을, 설태의 경우 설배의 중앙부를 멸균한 팁으로 적당한 힘을 가해 긁은 후 1ml의 멸균증류수에 1분간 강하게 진탕한 후 실험에 사용하고 십진 희석법으로 희석한다. 타액과 채취한 희석 용액은 세균동정을 위해 선택배지를 사용하여 특정한 미생물의 수를 검출할 수 있다.

(3) 구강내 미생물 총량(Total microbial loading) 감소

(가) CFU법

7일 동안 배양 후 즉시 집락 계산기를 사용하여 생성된 집락 수를 산출한다. 부득이할 경우에는 4°C에 보존시켜 24시간 이내에 산정하였으며 집락 수의 계산은 확산 집락이 없고 1개의 배지에 30~300개의 집락을 생성한 배지를 택하여 집락 수를 계산한다.

(나) PCR법

유전체 DNA는 High Pure PCR Template Preparation Kit(Roche, Basel, Switzerland)를 이용하여 제조회사의 지시에 따라 검체 시료로부터 추출한다. 구강미생물의 정량분석을 위하여 PerioGen™ Perio Real-Time PCR Kit (Microis, Korea)를 이용한다. 구강 내 존재하는 전체 미생물의 검출을 위해서는 16s rDNA 단편을 증폭한다.

(4) Oral epithelial cell 부착율 억제

KB human mouth epithelial cells(Korean Cell Line Bank 10017)과 HeLa cells를 5% CO₂, 37°C에서 2mmol/L L-glutamine과 10% fetal bovine serum을 함유한 minimal essential medium with Earle's salts(Hyclone, Logan, Utah, USA)에서 배양한다. 부착검사는 4-well Lab-Tek II chamber slide system(Nalge Nunc International, Naperville, USA)을 사용한다. 상피세포를 well당 10⁵ 세포를 가하여 5% CO₂, 37°C에서 18시간 배양한 후, 세포를 PBS로 두차례 세척하고 아무것도 처리하지 않은 구강세균 및 실험물질을 처리한 구강세균(10⁹ bacteria ml⁻¹)을 25μl 가한다. 부착되도록 5% CO₂에서 37°C, 30분간 방치한 다음, 세포를 PBS로 세 차례 세척하고 methanol로 고정하고 30분간 Giemsa 염색한 후, PBS로 세척하고 건조시킨다. 각 상피세포에 부착된 분리균주는 현미경을 사용하여 관찰한다.

나. 구취 성분 생성 억제

(1) Methionine gammalyasedeaminase (Mgld) 활성

정제된 Mgld (2mg/mL)을 30 μ M aqueous solution of propargylglycine (PGLY)과 함께 10분 동안 preincubation 한 후에 'the mineral oil overlay DTNB assay'에 따라서 lyase half reaction을 측정한다.

(2) *mgld* gene 발현정도

실험물질과 함께 *P. gingivalis*를 배양한 후 원심분리를 통해 균체를 harvest한다. Total RNA extraction kit(iNtRON)를 이용하여 RNA를 추출한 후, real-time PCR를 통해 *mgld* 유전자 발현정도를 측정한다.

다. 구강내 상태 개선

(1) 비자극시 전타액분비량(UWSFR, unstimulated whole salivary flow rate)

타액을 채취하기 전 5분 동안 연구대상을 편안한 상태에서 말없이 휴식을 취하게 한다. 타액 채취 직전에는 연구대상으로 하여금 구강내의 타액을 모두 삼키도록 한 후 시험관에 10분 동안 채취를 시행하고, 타액 채취는 입안에 타액이 자연스럽게 고이면 분당 1-2회씩 시험관에 뱉도록 하는 spitting 법을 이용한다. 채취 시간이 종료되면 구강내 타액을 모두 뱉도록 한 다음 그 총량을 측정하고 이를 분당 분비율(ml/min)로 환산한다.

(2) 타액 완충능력(SBC, salivary buffer capacity)

검사는 대상자에게 파라핀 조각을 저작시켜 자극성 타액을 채취한 후 Denrobuff 테스트 검사지를 이용하여 측정한다. 청색일 경우 1로서 pH6.5 이상, 녹색일 경우 2로서 pH4.5~6.5 사이, 황갈색은 3으로 pH4.5 이하를 나타내는 것으로 판별한다.

(3) 설태지수(TCS, tongue coating score)

입냄새의 구강내 원인 중 많은 비중을 차지하는 설태 측정에 다양한 검사법 및 평가 기준이 있다. 현재 전 세계적으로 가장 널리 쓰이는 방법은 윈켈 설태 지표(Winkel tongue coating index)이다. 아래 그림 6에서와 같이 혀를 전체적으로 9등분하여 설태가 없는 경우를 0점, 얇게 있는 경우 1점, 두껍게 있는 경우는 2점으로 점수를 매긴다(그림 6).

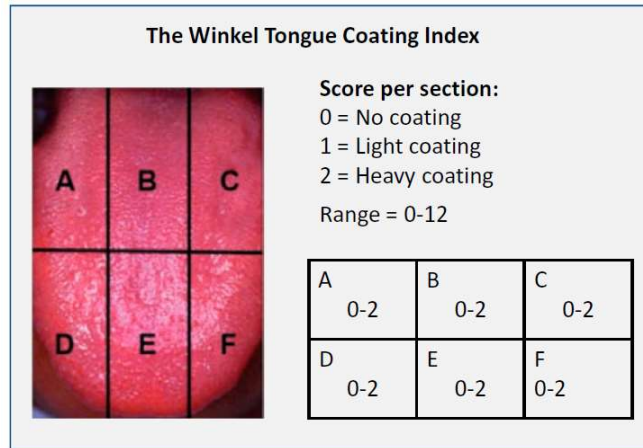


그림 6. Winkel Tongue Coating Index.

[출처: Renvert S et al., Clin Cosmet Investig Dent 2020]

(4) 치태지수(PI, plaque index):

- Silness & Loe plaque index: 구강내를 착색제로 착색 후 6개 치아(16, 21, 24, 36, 41, 44)를 4면(협면, 설면, 근심면, 원심면)으로 분류하여 치면세균막 부착정도를 0-3점으로 측정한다. 판정기준은 치면세균막 부착이 없는 경우는 0점, 치은연에 얇은 치면세균막이 존재할 경우 1점, 치은연을 따라 중등도의 치면세균막이 존재할 경우 2점, 치은연에 아주 많은 치면세균막이 존재하는 경우, 치간부에 치면세균막이 채워져 있는 경우는 3점으로 분류한다. 그리고 총점수의 합을 검사한 총 치면수로 나누어 대상자 각각의 치태지수를 산출한다.
- Quigley and Heind plaque index: 치태가 침착되어 있는 양태와 면적에 따라 0부터 5로 총 6단계로 평가한다. 0점 = 전혀 치태가 없는 경우 0점, 치태가 연결되지 않고 한 개의 섬 형태를 지닐 경우 1점, 치은변연을 따라 선의 형태로 치태가 있는 경우 2점, 치경부 1/3 부위에 치태가 있는 경우 3점, 치관의 2/3 부위에 치태가 있는 경우 4점, 치관 전체를 거의 치태가 덮은 경우 5점으로 분류한다. 그리고 총점수의 합을 검사한 총 치면수로 나누어 대상자 각각의 치태지수를 산출한다.

라. 구취 개선도 평가

구취 개선도는 관능적 검사(OLT, organoleptic score) 및 주관적 구취개선도 평가, 휘발성 황화합물(VSC) 농도 등을 통해서 평가할 수 있다.

(1) 관능적 검사(OLT, organoleptic score)

관능적 평가시에는 가림막을 사이에 두고 빨대를 입에 물게하여 5-10초간 숨을 내쉬게 하여 가림막 뒤의 2인 이상의 전문가가 organoleptic assesment(OLT)점수 (0 : 없음, 1 : 거의 느껴지지 않음, 2 : 약간 느껴짐, 3 : 대체로 느껴짐, 4 : 강하게 느껴짐, 5 : 아주 심하게 느껴짐)를 평가한다.

(2) 주관적 구취개선도 평가(self assessment of halitosis)

대상자 자신이 평소에 느끼는 구취의 정도를 0~2의 척도로 평가한다. 0은 구취를 자각하지 못함, 1은 가끔 구취를 자각함, 그리고 2는 자주 구취를 자각하는 것을 의미한다.

(3) 구취원인 구강 가스 농도: 휘발성 황화합물(VSC) 농도

기계를 이용해 검사하는 방식에는 트윈브레서(Twin breasor), 오랄크로마(OralChroma), 할리미터(Halimeter) 등이 있다.

- 트윈브레서(Twin breasor): 구강가스의 주요 구취유발 성분으로 알려진 휘발성 황화합물을 크로마토그래피(chromatography) 방식을 이용하여 황화수소와 메틸메르캅탄으로 분리하여 각각의 농도를 측정하는 방법으로, 대상자는 검사 기기에 연결된 빨대를 문 상태로 1분 간 대기하도록 하였으며 약 10~15 ml의 가스 채집을 통해 입 안 공기에 함유된 황화수소와 메틸메르캅탄의 농도를 분석한다.
- 오랄크로마(OralChroma): 할리미터가 휘발성 황화합물의 총량을 측정한다면 휴대용 가스크로마토그래피인 OralChroma는 황화합물을 3요소 가스(황화수소, 메틸메르캅탄, 디메틸설파이드)로 분리하여 가스 농도를 측정할 수 있기에 입냄새 원인을 확인하는데 큰 역할을 한다.

구취성분별 농도를 측정하기 위해 모든 대상자에게 측정 3시간 전부터 식사 및 음료 섭취, 흡연, 칫솔질, 양치액 사용을 피하게 하였고, 24시간 동안 음주를 금하게 한다. 생리적 대사활동에 방해가 되지 않도록 전신질환자의 약물 복용은 제한하지 않았다. 실내 공기 오염은 측정 결과에 영향을 미칠 수 있기 때문에 측정전 환기시킨다. 기기는 측정 최소 30분 전에 전원을 연결시켜 놓고, 대상자에게 구강 내에 휘발성 황 화합물을 모을 수 있도록 5분간 입을 다물도록 한다. 입을 다문 상태에서 구강 내 가스 채취용 1 ml 시린지(TOP Corp, Taiwan)를 시린지 끝에 혀나 타액이 닿지 않도록 하여 대상자의 입안 깊숙이 넣어 가스를 채취하고, 시린지 용 주입 침을 장착하여 본체의 가스 주입구에 삽입한다.

- 할리미터(Halimeter): 먼저 검사에 앞서, 3시간 동안 식사나 음료를 피하게 하였으며 24시간 동안 구강 양취액의 사용이나 방향성 음식, alcohol 섭취 등을 금하게 하였다. 측정하기 전 환자에게 3분간 입을 다물고 있게 한 후 모니터의 air inlet에 부착된 플라스틱 straw를 4cm정도 구강내 삽입시켜 중앙에 위치시킨 후 입을 약간 다문상태에서 측정하게 한다. 측정 기간 동안 코로 숨을 쉬게 하였으며 VSC가 최대에 이르는 값을 VSC농도로 기록한다. 오차를 줄이기 위해 위 방법을 한별 3회 시행하여 평균값을 산출한다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가 시험관 시험

(1) 시험계

구강 내 세균증식을 억제하여 구취 완화에 도움을 주는 시험물질의 효능을 평가하기 위한 구강세균은 *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* 등이 있다.

(2) 바이오마커

시험물질이 구취 완화에 미치는 영향을 구강 내 세균활성 억제, 구취성분생성억제 등의 작용기전에 대한 바이오마커를 평가할 수 있다. 실험 방법으로는 세균증식 억제, Oral epithelial cell 부착을 억제, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

(3) 통계처리

시험결과는 시험물질 처리에 따른 변화 또는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

나. 동물시험

(1) 시험계

동물실험을 할 때 고려하여야 가장 중요한 점은 실험에 사용한 동물모델이 인간에게 적절하게 적용될 수 있어야 한다는 것이다. 구취는 구강건조증 또는 치주염으로 인해 발생이 될 수 있다. 이에, 구강건조증이나 치주염을 유도한 동물모델 등을 활용하여 실험물질의 구취완화 효과를 평가할 수 있다(표 3).

표 3. 구강 내 세균증식을 억제하여 구취 완화에 도움을 줄 수 있는 실험동물 모델 예시

세포	특징
치주염을 유도한 동물모델	6~7주령의 Sprague-Dawley rat과 같은 실험동물을 tiletamine/zolazepam 혼합액 (Zoletil 50, Virbac Lab, Carroscedex, France)으로 전신 마취 후 하악 제 1 대구치에 멸균된 봉합사(3-0, nylon thread)로 결찰하여 치주염을 유발한다.
구강건조증 유발 모델	구강건조증을 유발하기 위하여 사용된 4-DAMP를 생리식염수에 희석하여 1 mg/kg의 농도로 1 mL의 용량으로 실험동물(Sprague-Dawley계의 200~230 g의 생후 6~7주령의 수컷)에 복강투여한다. 투여 후 1시간 경과시점에서 20% urethane (0.5 mL/kg)을 복강 투여하여 안정위 상태로 마취시킨 다음 면구(cotton ball)를 구강 내 악하선의 분비 도관부에 위치시키고 면구의 타액 흡수 전 후의 무게 차이를 분비된 타액량으로 간주하여 30분간 측정한 결과 타액 분비량이 현저하게 감소된 것을 확인하여 구강건조증이 유발되었음을 확인한다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 한 가지 지표의 변화가 아닌 기전에 따른 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

다. 인체적용시험

(1) 시험대상

(가) 시험대상자(예시)

- 구강 내 세균증식을 억제하여 구취 완화에 도움을 줄 수 있음

- 만 18세 이상~70세 이하의 성인
- 구취 관능검사 (organoleptic test)에서 2점 이상인 자
- H₂S 1.5 ng/10 mL 이상 또는 CH₃SH 0.5 ng/10 mL 이상인 자

(나) 대상자 제외기준(예시)

- 질병상태
 - 구취를 유발할 만한 전신질환(간질환, 신질환, 쇼그렌증후군, 류마티스질환, 축농증, 정신질환, 내분비계질환 등)으로 현재 치료 중이거나 과거력이 있는 자(단, 대상자의 상태를 고려하여 시험책임자의 판단에 따라 시험에 참여 가능)
 - 치료받지 않은 심한 치과질환(치주염, 치아우식증, 구강건조증)이 있는 자
 - 조절되지 않는 고혈압이 있는 자(160/100 mmHg 이상, 시험대상자 5분 안정 후 측정기준)
 - 공복 혈당이 126 mg/100 mL 이상이거나 무작위 혈당이 200 mg/100 mL 이상인 경우, 또는 경구 혈당강하제 또는 인슐린을 복용하고 있는 당뇨병 환자
 - AST(GOT) 또는 ALT(GPT) 혈중치가 해당기관 정상 상한치의 3배 이상인 자
 - Creatinine 혈중치가 해당기관 정상 상한치의 2배 이상인 자
- 생리적 상태
 - 임신 또는 수유 중이거나 6개월 내에 임신을 계획하고 있는 자
- 약물복용
 - 스크리닝(구취 측정) 전 2주 이내에 항생제를 복용한 자
 - 타액 분비 저하를 유발하는 약물(전립선 비대 치료제 등)이나 세균 조성에 영향을 줄 수 있는 약물(항생제 등)을 시험 전 일정기간 섭취한 자
- 알레르기
 - 시험물질에 대한 알레르기/부작용이 있는 자
- 기타
 - 치과 치료 중이거나 구취 완화를 위한 약물이나 건강기능식품을 섭취중인 자
 - 최근 3개월 내 다른 인체적용시험 및 임상시험 참가자
 - 그 외 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 자

(2) 시험설계

시험결과에 영향을 미칠 수 있는 중요한 요소(성별, 연령, 흡연, 음주습관, 치아우식정도, 치주건강상태정도, 구취관능평가점수 등)가 편중되지 않도록 한다. 피험자가 섭취량 및 섭취 방법 설명서에 따라 시험제품 및 대조제품을 최소 4주 연속 사용하게 한 다음, 구취 관능검사, 구취 원인 구강 가스(휘발성 황화합물, VSC) 농도 등을 통해 대조군과 시험군의 결과를 비교하여 구취 완화 기능성을 평가하고, 이후 구취 완화가 지속되는지 평가해야 한다(최소 3 시간). 단, 구취개선 평가 측정 전 2주간 항생제 복용을 금하고, 구취개선 평가 측정 전 3시간 동안 식사나 음료 섭취를 하지 말아야 하며, 구강위생행위를 하지 않아야 한다. 또한, 측정 전 24시간 동안 구강 양치액의 사용이나 방향성 음식 섭취 및 음주와 흡연을 금해야 한다. 시험 기간 중, 구강건조증을 유발할 수 있는 약품은 복용하지 않도록 하고, 치과치료를 개시한 피험자는 drop-out한다.

(3) 바이오마커

인체적용시험에서 '구취완화'에 해당하는 기능성 내용을 확인할 수 있는 바이오마커(관능적평가, 구취성분 등)들을 함께 측정하여 한 가지 지표의 변화가 아닌 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(4) 고려사항

인체적용시험 적용 전 구강점막 세포에 대한 독성이 존재하는지 여부를 검증해야 한다. 복용에 따른 일반적인 안전성 항목에 대한 모니터링이 필요하다.

문진을 통한 안전성 평가로 연구자의 관찰에 의해 설문은 출혈감, 농양, 소양감, 통증 등에 대한 피험자의 주관적인 느낌을 조사하는 항목으로 구성할 수 있다. 여기에 부작용에 대해 조사하는 항목을 첨가한다.

(5) 통계처리

인구학적 자료 및 기초특성의 측정지표에 대한 통계분석방법을 기술하고 분석군(ITT, FAS, PP)에 대해 명확하게 정의하여 주분석군 설정에 대한 설명이 계획서와 결과보고서에 기술되도록 한다. 또한, 기능성 평가지표에 대한 통계분석방법 및 중도탈락자 및 결측 처리에 대한 통계분석방법을 명확히 한다. 연구 개시 후 측정 시기 및 방법의 변화가 있는 경우, 그 변경 사유를 기술하여야 하며, 층화 분석, 보정분석 등이 제출된 경우, 사전 계획 여부가

기술되도록 한다. 이때, 각 군별 기능성 평가지표에 대한 분석결과에 사용된 통계분석방법, 군간 통계적 유의성, 시험대상자 수, 평균, 표준편차 등이 확인될 수 있도록 하여야 하며 통계분석방법의 변경이 있는 경우, 변경사항에 대해 기술 하도록 한다.

1. 종속변수가 범주형일 경우

- 범주형 변수는 크게 명목 척도와 순위 척도로 구분할 수 있음
 - 명목 척도 : 성별, 국가, 흡연 여부 등 연속되지 않으며 범주 간 서열이 존재하지 않는 범주형 척도
 - 순위 척도 : 질병의 병기(1기, 2기, 3기) 등 연속되지 않으나 범주 간 서열이 존재하는 범주형 척도
 - 연속형 변수는 수치화된 변수로 연속성이 있으며, 평균, 표준편차 등을 계산할 수 있는 변수임

1.1. Chi-square test

- 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨
 - * 빈도가 5 미만인 항목이 있는 경우 Fisher's exact test를 사용

1.2. McNemar's test

- 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

2. 종속변수가 연속형이고 비교군이 2개일 경우

※ 연구 내 비교군이 2개(대조군, 시험군)일 경우 사용되는 분석 모델임

2.1. Paired T-test : 군 내의 전후 차이를 비교할 때 사용됨

2.1.1. Wilcoxon's signed-ranks T-test

- 군 내의 전후 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용됨

2.2. Independent T-test : 두 군간의 차이를 비교할 때 사용됨

2.2.1. Wilcoxon's rank sum T-test

- 두 군간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포*를 따르지 않는 경우 사용됨

2.3. Linear mixed effect model

- 유효성 평가 지표 측정 시점이 3회 이상일 경우 사용할 수 있음*

* 방문 시점 간의 공분산 구조(covariance structure)를 결정하여 분석에 적용할 수 있는 모델이며, 효과의 크기(slope), linear function의 절편(intercept) 등의 방문시점, 대상자 등에 따른 고정효과(fixed effect) 또는 무작위효과(random effect)의 여부를 결정하여 model안에 혼합(mixed effect)하여 적용할 수 있음

3. 종속변수가 연속형일 경우 AND 비교군이 3개 이상일 경우

※ 연구 내 비교군이 3개(대조군, 시험군1, 시험군2 등)일 경우 사용되는 분석 모델임

3.1. ANOVA(Analysis of variance) : 군 간의 차이를 비교할 때 사용

3.2. Kruskal Wallis test : 군 간의 차이 비교 시, 변수의 분포가 정규분포를 따르지 않는 경우 사용

※ 변수 분포의 정규성 검정

- 정규성 검정 방법은 Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test 등의 방법으로 검정할 수 있음. 일반적으로 p value가 0.05 미만일 경우, 정규분포를 따르지 않는 것으로 판단함. 그러나 현실에서 해당 기준에서 정규분포를 따르는 경우가 많지 않으므로, p value가 0.05 이상이라도 marginal한 p value를 확인하거나 Q-Q plot을 육안으로 확인하는 등 연구자가 자의적으로 정규분포를 따르는 것으로 판단할 수 있음
- 군 당 sample size가 30 이상인 경우, 중심극한정리를 이용하여 정규성을 가정하는 경우가 있음. 그러나 중심극한정리는 표본집단이 대표하는 모집단이 무한모집단이라는 가정 하에 사용됨. 즉, 모집단에 대한 가정이 불확실한 경우 또는 유한모집단인 경우가 있으므로 군 당 sample size가 30 이상이라고 해도 정규성 검정이 필요할 수 있음. 또한 30명이라는 기준은 연구자가 임의적으로 설정한 것임을 고려하여 절대적인 기준이 되지 않을 수 있음

4. 교란변수 보정이 필요한 경우

- Randomized Clinical Trial(중재연구)은 randomization을 통해 대상자가 군에 배정 되므로, 교란변수를 통제할 수 있는 설계의 연구임. 그러나 우연에 의해 baseline의 특성이 군 간 차이를 보이는 경우가 발생할 수 있음. 이럴 경우, 연구자는 해당 변수를 공변량(covariate)으로 model에 포함시켜 분석할 수 있음. 그러나 가능할 경우, randomization block으로 생성하여 randomization 단계에서 층화무작위배정 등으로 미리 불균형을 방지하는 것이 바람직할 수 있음

4.1. ANCOVA

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

4.2. Linear mixed effect model

- 보정하고자 하는 변수를 모델 내 공변량(covariate)으로 추가할 수 있음

4. 안전성 평가

인체적용시험에서 시험물질의 섭취로 인한 안전성 평가를 위해 일반적으로 활력징후, 심전도 검사, 혈액학적 검사, 혈액화학적 검사, 뇨검사를 실시하는 것이 일반적이며 기능성 원료의 특성과 기능성 내용에 따라 안전성 평가항목이 추가될 수 있다.

※ [참고] 안전성 검사항목(예시)

- (활력징후) 체중, 체온, 맥박, 혈압 등
- (혈액학적 검사) WBC, RBC, Hb, Hct, PLT, MCV, MCH, MCHC, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil 등
- (혈액화학적 검사항목) AST, ALT, BUN, creatinine, glucose, total protein, albumin, total cholesterol, LDL, HDL, triglyceride, GGT, ALP, CPK, LDH 등
- (뇨검사) pH, Nitrite, specific gravity, Protein, Glucose, Ketone, Bilirubin, Blood, Urobilinogen, Color 등

IV 참고문헌

1. 강미선, Meishan P, 신부안, 이현철, 오종석. 상피세포에 대한 *Weissella cibaria* 유산균의 부착력에 영향을 미치는 인자. *Journal of Bacteriology and Virology* 36(3):151-157, 2006
2. 강지송, 김정주, 배지영, 정승화, 주보라, 정순정. 구강위생용품이 구취와 구강미생물 감소에 미치는 영향. *한국구강보건과학회지* 4(1):23-31, 2016
3. 권진희, 장문택, 류성훈, 김형섭. 구취와 치주질환의 상관성에 관한 연구. *대한치주과학회지* 30(1):203-210, 2000
4. 김다희, 강미선, 여지은, 이명구, 조자원. 프로바이오틱 세균인 *Weissella cibaria* CMU의 구취 억제 효과. *대한구강보건과학회지* 44(4):246-252, 2020
5. 김도경, 변유경, 최현지, 이가람, 최유리, 최유진. 구취에 다른 구강 내 형태별 세균의 분포 및 운동성, 진균 군사 분석. *대한치과의료관리학회지* 6(1):28-35, 2018
6. 김도윤, 신금백, 장기완. Chitosan이 구취 관련 구강 세균의 증식에 미치는 억제효과. *대한구강내과학회지* 27(1):1-14, 2002
7. 김미형, 김선미. 구취를 유발하는 혐기성 세균의 증식을 억제하는 유산 간균의 분리 및 동정. *한국치위생교육학회지* 4(2):153-163, 2004
8. 김상아, 정현정. 프로폴리스의 구강구취균에 대한 항균성. *한국식품과학학회지* 45(3):370-375, 2013
9. 김선아, 장해진, 유영근, 추용식, 박양호, 박준우. 해양심층수를 이용한 구강청정제의 효과. *대한구강악안면외과학회지* 33:601-608, 2007
10. 김선호, 전양현, 이진용, 조한국, 홍정표. 스트레스에 의한 혈당변화가 타액선내 Clusterin 발현에 미치는 영향. *대한구강내과학회지* 23(4):309-324, 1998
11. 김세은, 심경미, 유경훈, 유지원, 고흥범, 문창종, 김종춘, 김성호, 강성수, 배춘식. 개에서 구취와 치주질환 지표의 상관성에 관한 연구. *J Vet Clin* 24(2):192-196, 2007
12. 김수경, 조혜원, 백세림, 이경희. 구취제거효과에 따른 구강관리용품의 만족도. *한국치위생학회지* 14(3):311-317, 2014

13. 김영진, 박경민. 입체조가 노인의 타액분비량, 구내건조증 및 구취에 미치는 영향. 대한간호학회지 42(6):896-906, 2012
14. 김현대, 이혜진, 김민영, 박현민, 문덕환. 생강추출물의 구취억제활성도 분석. 한국구강보건과학회 1(1):1-9, 2013
15. 도경효, 박호은, 강미선, 김종태, 여지은, 이완규. Weissella cibaria CMU 경구투여가 비글의 구취 저하에 미치는 효과. 대한수의학회지 58(2):87-94, 2018
16. 류성용, 안형준, 권정승, 박주현, 김재영, 최종훈. Witch hazel(Hamamelis virginiana)의 구강병원균에 대한 항균 효과. 대한구강내과학회지 33(2):159-166, 2008
17. 문성희, 손주리, 신성진, 오승한, 김성환. 치주질환 예방 및 개선제로서 숲개밀 추출물의 효능. 대한치과재료학회지 47(4): 235-244, 2020
18. 박문수, 김영구, 정성창, 이승우. 한국인 구취발생 빈도에 관한 연구. 대한구강내과학회지 26(2):107-114, 2001
19. 박재봉, 어규식, 전양현, 이진용, 홍정표. 피톤치드의 입냄새 제거효과. 대한구강내과학회지 32(2):151-156, 2007
20. 박준혁, 이해수, 양용모. 한련초 추출물의 치주염 개선 효과에 관한 연구. 대한한의학회지 39(1):63-74, 2018
21. 박태훈, 조정훈, 성영은, 조준철, 신계호. 시각적 염색 방법을 이용한 마우스위시의 구강균에 대한 항균효과 확인. 대한화장품학회지 40(2):187-193, 2014
22. 배수민, 이주연, 최점일, 김성조. Full mouth disinfection이 치주질환자에서의 구취에 미치는 영향. 대한치주과학회지 36(4): 829-837, 2006
23. 송지아, 허명행. A-solution을 이용한 구강 가글링이 수술 전 금식 환자의 구취와 구강 상태에 미치는 효과. 대한간호학회지 42(3):405-413, 2012
24. 심혜윤, 박정환, 이상훈, 김호준. 체질량지수와 구강건강지표 사이의 상관성에 대한 연구. 한방비만학회지 21(1), 32-41, 2021
25. 안형준, 유지원, 김기서, 김종열, 최종훈. 키토올리고당과 자일리톨 및 아연이 포함된 구강청정제(마이센스액)의 구취감소, 치태형성 및 재부착 억제, 치은염 완화 효과에 대한 연구. 대한구강내과학회지 28(2):185-195, 2003

26. 양수현, 박수진, 이로운, 이지원, 이재희, 차지현, 정순정. 오미자추출액의 구강미생물에 대한 항균과 구취억제 효과. 대한구강보건학회지 4(2):93-98, 2016
27. 유지원, 김세은, 심경미, 강성수. 구취와 치주질환 지표와의 상관성 및 의식하 진정이 구취측정에 미치는 영향에 대한 연구. J Vet Clin 24(4):573-576, 2007
28. 이승우. 구취의 진단과 치료. 대한치과의사협회지 36(1):36-40, 1998
29. 이연희. 구강건조증과 구취:최신 지견의 고찰. 대한치과의사협회지 55(9):640-656, 2017
30. 임남희, 마진열. 구강미생물에 대한 강향(降香) 추출물의 항균 효과. 한약정보연구회지 8(2):243-254, 2020
31. 장선영, 박재우, 윤성우, 류봉하, 김진성. 구강함수제 개발을 위한 오매, 비파엽, 오가피, 백지의 구취억제효과 연구. 대한한의학회지 31(4):115-128, 2010
32. 장화석, 황희정, 강은희, 이재훈, 정다정, 양우종, 정옥현, 김대현, 박우대, 김휘율. 개의 치주질환에 대한 녹차 티백의 효과. 한국임상수의학회지 26(1):41-47, 2009
33. 조은덕, 한경순. 구취에 영향을 미치는 요인. 대한구강보건학회지 36(4):272-281, 2012
34. 지민경. 구취 유발요인과 성분 간의 관계 연구. 한국전자통신학회논문지 8(12):1971-1977, 2013
35. 지윤정, 김정술, 이정화, 전은숙. 구취발생과 구강환경의 연관성에 관한 연구. 한국치위생과학회 10(2):101-107, 2010
36. 홍정표. 구취와 구강질환. 대한치과의사협회지 36(1):29-31, 1998
37. 홍해경, 최은미, 이수련, 김영수. 생리적 구취환자의 타액요인에 영향을 미치는 융복합적 공통요인에 관한 통계적 분석 연구. 한국융합학회논문지 9(4):99-110, 2018
38. 황수정, 정윤지, 이수경, 이지은, 이희소, 전희주, 김도경. 잇솔질 시 양치물 온도, 치약사용, 혀클리너 사용에 따른 구취의 영향. 대한치과의료관리학회지 7(1):44-49, 2019
39. Abu-Mostafa NA, Alqahtani A, Abu-Hasna M, Alhokail A, Aladsani A. A randomized clinical trial compared the effect of intra-alveolar 0.2 % Chlorohexidine bio-adhesive gel versus 0.12% Chlorohexidine rinse in reducing alveolar osteitis following molar teeth extractions. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 20(1):e82-87, 2015

40. Aksit Bıçak D, Akyuz S, Kıratlı B, Usta M, Urgancı N, Alev B, Yarat A, Sahin F. The investigation of *Helicobacter pylori* in the dental biofilm and saliva samples of children with dyspeptic complaints. *BMC Oral Health* 17(1):67, 2017
41. Ashu Agbor M, Naidoo S. Ethnomedicinal Plants Used by Traditional Healers to Treat Oral Health Problems in Cameroon. *Evid Based Complement Alternat Med* 649832, 2015
42. Aydin M, Harvey-Woodworth CN. Halitosis: a new definition and classification. *Br Dent J* 217(1):E1, 2014
43. Aylıkçı BU, Colak H. Halitosis: From diagnosis to management. *J Nat Sci Biol Med* 4(1):14-23, 2013
44. Carvalho BF, Alves MG, Dutra MT, Balducci I, Nicodemo D, Almeida JD. Persistent dysgeusia post-halitosis treatment: How does it impact the patients' quality of life?. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 24(3):e319-325, 2019
45. Caygur A, Albaba MR, Berberoglu A, Yilmaz HG. Efficacy of glycine powder air-polishing combined with scaling and root planing in the treatment of periodontitis and halitosis: A randomised clinical study. *J Int Med Res* 45(3):1168-1174, 2017
46. Chen C, Hei Z, Xing J, Zhu Q, Qiu R, Liu J, Gong C, Cheng N, Zhou S, Shen N. Laryngoscopic techniques modulate anaesthesiologists' perception of halitosis in patients: A randomised controlled trial. *Eur J Anaesthesiol* 36(12):918-923, 2019
47. Dereci Ö, Hatipoğlu M, Sindel A, Tozoğlu S, Üstün K. The efficacy of Er,Cr:YSGG laser supported periodontal therapy on the reduction of periodontal disease related oral malodor: a randomized clinical study. *Head Face Med* 12(1):20, 2016
48. Di Cerbo A, Pezzuto F, Canello S, Guidetti G, Palmieri B. Therapeutic Effectiveness of a Dietary Supplement for Management of Halitosis in Dogs. *J Vis Exp* 101:e52717, 2015

49. Dou W, Li J, Xu L, Zhu J, Hu K, Sui Z, Wang J, Xu L, Wang S, Yin G. Halitosis and helicobacter pylori infection: A meta-analysis. *Medicine* 95(39):e4223, 2016
50. Du M, Li L, Jiang H, Zheng Y, Zhang J. Prevalence and relevant factors of halitosis in Chinese subjects: a clinical research. *BMC Oral Health* 19(1):45, 2019
51. Graziano TS, Calil CM, Sartoratto A, Franco GC, Groppo FC, Cogo-Muller K. In vitro effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on growth and production of volatile sulphur compounds by oral bacteria. *J Appl Oral Sci* 24(6):582-589, 2016
52. Guedes CC, Bussadori SK, Garcia ACM, Motta LJ, Gomes AO, Weber R, Amancio OMS. Accuracy of a portable breath meter test for the detection of halitosis in children and adolescents. *Clinics* 75:e1764, 2020
53. Hashemian F, Jafari Moez H, Seif Rabiei MA, Jahanshahi J. Comparing the Efficacy of Temperature-Controlled Radiofrequency Tonsil Ablation versus CO₂-Laser Cryptolysis in the Treatment of Halitosis. *Iran J Otorhinolaryngol* 30(98):159-166, 2018
54. Izidoro C, Botelho J, Machado V, Reis AM, Proenca L, Alves RC, Mendes JJ. Revisiting Standard and Novel Therapeutic Approaches in Halitosis: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. 19(18):11303, 2022
55. Kandalam U, Ledra N, Laubach H, Venkatachalam KV. Inhibition of methionine gamma lyase deaminase and the growth of *Porphyromonas gingivalis*: A therapeutic target for halitosis/periodontitis. *Arch Oral Biol* 90:27-32, 2018
56. Karbalaee M, Keikha M, Kobylak NM, Khatib Zadeh Z, Yousefi B, Eslami M. Alleviation of halitosis by use of probiotics and their protective mechanisms in the oral cavity. *New Microbes New Infect* 42:100887, 2021
57. Kim HJ, Yeu JE, Lee DS, Kang MS. *Weissella cibaria* CMU suppresses *mgI* gene expression and enzyme activity associated with bad breath. *Int Oral Biol* 44:152-159, 2019

58. Kim MJ, Kang SK, Chun YH, Hong JP, Auh QS. Clinical Evaluation of Halitosis Patients in Korea. *J Oral Med Pain* 39(2):63-68, 2014
59. Koga C, Yoneda M, Nakayama K, Yokoue S, Harage M, Oie T, Suga A, Okada F, Matsuura H, Tsue F, Suzuki N, Hirofuji T. The detection of *Candida* species in patients with halitosis. *Int J Dent* 2014:857647, 2014
60. Lee JY, Hwang I, Hwang SH. Halitosis Reduction Effect of a Natural Extract-Containing Toothpaste In Vivo. *Int J Prev Dent* 15(4):183-187, 2019
61. Lee KH, Baek DH. Beneficial Effects of *Lactobacillus casei* ATCC 334 on Halitosis Induced by Periodontopathogens. *Int J Oral Bio* 39(1):35-40, 2014
62. Lee YH, Chung SW, Auh QS, Hong SJ, Lee YA, Jung J, Lee GJ, Park HJ, Shin SI, Hong JY. Progress in Oral Microbiome Related to Oral and Systemic Diseases: An Update. *Diagnostics* 11(7):1283, 2021
63. Loesche WJ, Kazor C. Microbiology and treatment of halitosis. *Periodontol* 2000 28:256-279, 2002
64. Luo JW, Lin CH, Zhu YB, Zheng XY, Wu YX, Chen WW, Yang X. Association of Tongue Bacterial Flora and Subtypes of Liver-Fire Hyperactivity Syndrome in Hypertensive Patients. *Evid Based Complement Alternat* 2018:9536924, 2018
65. Mamgain P, Kandwal A, Mamgain RK. Comparative Evaluation of Triphala and Ela Decoction With 0.2% Chlorhexidine as Mouthwash in the Treatment of Plaque-Induced Gingivitis and Halitosis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Evid Based Complementary Altern Med* 22(3):468-472, 2017
66. Matos FZ, Aranha AMF, Borges AH, Pedro FLM, Raslan SA, Hamida F, Veiga K, Porto AN. Can different stages of leprosy treatment influence the profile of oral health? Oral status in leprosy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 23(4):e376, 2018
67. Moghbel A, Farjzadeh A, Aghel N, Agheli H, Raisi N. Evaluation of the effect of green tea extract on mouth bacterial activity in the presence of propylene glycol. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 7(2):56-60, 2012

68. Morcos D, Schmier BJ, Malhotra A, Venkatachalam KV. Purification and Characterization of Methionine Gamma Lyase-Deaminase(Mgld) from the Oral Pathogenic Organism *Porphyromonas gingivalis*. *Biochem Anal Biochem* 4(4):1-6, 2015
69. Moriyama CM, Santos EM, Santos EM, Tubel CA, Silva MPD, Nascimento VAW, Teixeira VP, Sobral APT, Horliana ACRT, Motta LJ, Paula EA, Magalhaes GTZA, Magalhaes JCA, Deana AM, Sakiyama KI, Bussadori SK. Evaluation of the efficacy of a commercially available regimen vs brushing alone on established plaque and gingivitis on adolescents: Study protocol for a randomized, controlled, blind clinical trial. *Medicine* 99(45):e23092, 2020
70. Motta LJ, Bachiega JC, Guedes CC, Laranja LT, Bussadori SK. Association between halitosis and mouth breathing in children. *Clinics* 66(6):939-942, 2011
71. Nakhleh MK, Quatredeniens M, Haick H. Detection of halitosis in breath: Between the past, present, and future. *Oral Dis* 24(5):685-695, 2017
72. Ouhara K, Iwasaki Y, Kajiya M, Savitri IJ, Kitagawa M, Tokunaga N, Shintani T, Ogawa I, Hino T, Fujita T, Shiba H, Kurihara H. The differential expression of mgl mRNA by *Porphyromonas gingivalis* affects the production of methyl mercaptan. *Oral Dis* 21(5):626-633, 2015
73. Rad M, Kakoie S, Niliye BF, Pourdamghan N. Effect of Long-term Smoking on Whole-mouth Salivary Flow Rate and Oral Health. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 4(4):110-114, 2010
74. Renvert S, Noack MJ, Lequart C, Roldan S, Laine ML. The Underestimated Problem of Intra-Oral Halitosis in Dental Practice: An Expert Consensus Review. *Clin Cosmet Investig Dent* 12:251-262, 2020
75. Santaella NG, Maciel AP, Simpione G, Santos PS. Halitosis, reduced salivary flow and the quality of life in pre-kidney transplantation patients. *J Clin Exp Dent* 12(11):e1045-1049, 2020

76. Sayedi SJ, Modaresi MR, Saneian H. Effect of Metronidazole on Halitosis of 2 to 10 Years Old Children. *Iran J Pediatr* 25(1):e252, 2015
77. Schmidt J, Krause F, Haak R. Halitosis: measurement in daily practice. *Quintessence Int* 46(7):633-641, 2015
78. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol 2000* 87(1):107-131, 2021
79. Sokucu O, Akpınar A, Ozdemir H, Birlik M, Çalışır M. The effect of fixed appliances on oral malodor from beginning of treatment till 1 year. *BMC Oral Health* 16:14, 2016
80. Sopapornamorn P, Ueno M, Shinada K, Vachirarojpisan T, Kawaguchi Y. Clinical application of a VSCs monitor for oral malodour assessment. *Oral Health Prev Dent* 4(2):91-97, 2006
81. Suzuki N, Fujimoto A, Yoneda M, Watanabe T, Hirofuji T, Hanioka T. Resting salivary flow independently associated with oral malodor. *BMC Oral Health* 17(1):23, 2016
82. Suzuki N, Yoneda M, Tanabe K, Fujimoto A, Iha K, Seno K, Yamada K, Iwamoto T, Masuo Y, Hirofuji T. Lactobacillus salivarius WB21--containing tablets for the treatment of oral malodor: a double-blind, randomized, placebo-controlled crossover trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 117(4):462-470, 2014
83. Tanaka M, Toe M, Nagata H, Ojima M, Kuboniwa M, Shimizu K, Osawa K, Shizukuishi S. Effect of eucalyptus-extract chewing gum on oral malodor: a double-masked, randomized trial. *J periodontol* 81(11):1564-1571, 2010
84. Tolentino EDS, Chinellato LEM, Tarzia O. Saliva and tongue coating pH before and after use of mouthwashes and relationship with parameters of halitosis. *J Appl Oral Sci* 19(2):90-94, 2011
85. Vaernewyck V, Arzi B, Sanders NN, Cox E, Devriendt B. Mucosal Vaccination Against Periodontal Disease: Current Status and Opportunities. *Front Immunol* 12:768397, 2021

86. Veilleux MP, Grenier D. Determination of the effects of cinnamon bark fractions on *Candida albicans* and oral epithelial cells. *BMC Complement Altern Med* 19(1):303, 2019
87. Wang F, Qiao W, Bao B, Wang S, Regenstein J, Shi Y, Wu W, Ma M. Effect of IgY on Periodontitis and Halitosis Induced by *Fusobacterium nucleatum*. *J Microbiol Biotechnol* 29(2):311-320, 2019
88. Watanabe K, Hiramane H, Toyama T, Hamada N. Effects of French Pine Bark Extract Chewing Gum on Oral Malodor and Salivary Bacteria. *J Nutr Sci Vitaminol* 64(3):185-191, 2018
89. Wu T, He X, Lu H, Bradshaw DJ, Axe A, Loewy Z, Liu H, Shi W, Lux R. Development of In Vitro Denture Biofilm Models for Halitosis Related Bacteria and their Application in Testing the Efficacy of Antimicrobial Agents. *Open Dent J* 9:125-131, 2015
90. Xu X, Zhou XD, Wu CD. Tea catechin EGCg suppresses the *mgl* gene associated with halitosis. *J Dent Res* 89(11):1304-1308, 2010
91. Yaegaki K, Coil JM. Examination, Classification, and Treatment of Halitosis: Clinical Perspectives. *J Can Dent Assoc* 66(5):257-261, 2000
92. Yamaki S, Hachimura H, Ogawa M, Kanegae S, Sugimoto T, Amimoto A. Long-term follow-up study after administration of a canine interferon- α preparation for feline gingivitis. *J Vet Med Sci* 82(2):232-236, 2020
93. Yildizer Keri, E, Atabek D, Gungor K. Effects of fixed and removable space maintainers on halitosis. *BMC Oral Health* 16(1):99, 2016
94. Yoo HJ, Jwa SK, Kim DH, Ji YJ. Inhibitory effect of *Streptococcus salivarius* K12 and M18 on halitosis in vitro. *Clin Exp Dent Res* 6(2):207-214, 2020
95. Zanetti F, Zivkovic Semren T, Battey JND, Guy PA, Ivanov NV, van der Plas A, Hoeng J. A Literature Review and Framework Proposal for Halitosis Assessment in Cigarette Smokers and Alternative Nicotine-Delivery Products Users. *Front Oral Health* 2:777442, 2021

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 구취 관련 -

발 행 인 : 식품의약품안전평가원장 박윤주

편 집 위 원 장 : 식품위해평가부장 오금순

편 집 위 원 : 이해영, 김용무, 권광일, 서은채, 고수일, 이수은, 정유경, 김규현,
김남숙, 이미영, 최정호, 전해련, 이세윤, 이민아

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

주 소 : 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187

문 의 처 : 영양기능연구과(043-719-4402)
