

## 乳酸菌製劑의 製造工程에 따른 安定性

柳韓洋行 品質管理部長 黃 正 燮

It is well known that lactobacillus products are a living bacterial preparation, which acts as the antibacterial and antidiarrhea agents.

Beause of the specificity as the living bacterial preparation, this preparation should be remarkably considered to the stabilities in its manufacturing process and storage more than any others.

In this report, it has been considered about its stabilities as the following items.

- 1) Selection of strains.
- 2) Control of seed strains.
- 3) Cultivation and its conditions.
- 4) Dry of microorganisms.
- 5) Manufacture of products.
- 6) Products storage.
- 7) Concerning to administration.

### 緒 論

일찍이 Grieve(1784)가 原始 酸乳 Koumys의 醫療價値를 報告하였고 그 후 Pateur가 1865년에 乳酸菌을 처음으로 發見하였으나 오늘날과 같은 製劑形으로 乳酸菌의 効用이 널리 一般에게 注目되기 始作한 것은 Metschnikoff(1908)가 乳酸菌에 依한 長壽說을 提唱한 以後부터이다.

乳酸菌製劑는 乳酸菌이 生産하는 乳酸에 依한 整腸作用을 主目的으로 하는 醫藥品으로서 乳酸菌의 腸內에서의 主作用은

- 1) 營養 代謝面에서는 各種 Vitamin(B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, 葉酸 nicotinic acid等)을 合成하고,
- 2) 他種細菌에 對한 增殖抑制, 感染防禦面으로는 抗菌性物質(pilococcin, nisin, lactolin, enterocin等)의 生産
- 3) 腸內에서 增殖定着하여 正常細菌叢의 不均型을 正常化 等이다.

이와 같은 作用을 하는 乳酸菌을 含有하는 乳酸菌製劑는 生菌製劑이기 때문에 製造工程 및 製品保存中の 安定성이 매우 不良하다. 그러므로 乳酸菌製劑의 品質管理面에서 本來 製造工程 및 保存中の 諸 要因에 依한 安定성을 確保하기 爲하여서는 多方面으로 研究 檢討 되어야 할 製劑로 생각된다.

이에 著者는 乳酸菌製劑의 安定성에 關與되는 諸 要因에 對하여 簡略하게 紹介하고자 한다.

## 製造工程上的 安定性

### (1) 菌株의 選擇

製劑用 乳酸菌株의 理想的 選擇條件은 ① 腸內에서 잘 增殖定着하고 宿主에 對한 毒性이 전혀없이 宿主의 營養, 消化, 吸收 등을 돕는 菌株, ② 製劑化하였을 때 經時的으로 安定性(活性)이 長期間 維持될 수 있는 菌株이어야 한다.

그러나 이와 같은 理想的인 條件을 滿足시키는 菌株를 얻기란 매우 困難하므로 菌株選擇 時에 ① 項에 適合한 菌株를 擇하여 製劑의 製造工程 및 保存時의 安定성에 미치는 諸 要因을 研究 檢討하는 것이 最善의 方法으로 생각된다.

現在 使用되고 있는 乳酸菌株는 *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. bifidus*, *L. sporogenus* 및 *streptococcus faecalis* 등으로 이들 單一製劑 및 複合製劑가 있으며, 特히 우리나라에서 主로 使用되는 菌株는 *Sc. faecalis* 및 *L. sporogenes*이며, 此外 *L. bifidus*를 使用한 製劑도 있다.

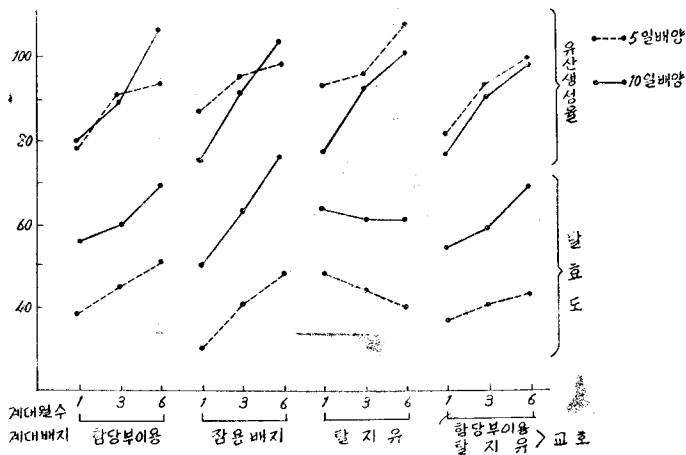
美國 및 유럽계통에서는 *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* 및 *E. coli*(腸內에서 酸을 生産하므로 乳酸菌과 같은 作用을 한다)를 使用한 製劑들이 많다.

(2) 種菌의 管理

選擇한 菌株의 種菌은 變異mutation이 일어남으로 인한 生化學的性質 및 活性도가 減少하지 않도록 管理해야 한다. 즉 菌株가 갖는 모든 生化學的性質을 充分히 발휘하고 또한 製劑가 要求하는 活性를 나타내도록 種菌의 계대용培地 계대일수 및 保管溫度等을 檢討하여 이에 맞는 管理를 하도록 해야 한다.

그림 1은 *Sc. faecalis*에 있어서 種菌의 계대배지에 따라 그 乳酸生成率 및 醱酵度에 差異가 있음을 보여준다.

그림 1. *Sc. faecalis* 계대각균주의 발효도 및 유산생성률



또한 계대배지에 따라 分解할 수 있는 糖의 種類도 달라진다. 即 *Sc. faecalis*를 잠용배지에 계대하였을 경우에는 raffinose를 分解하는 能力이 있으나 含糖 pepsin이나 脫脂油배지에 계대하면 그 分解能이 消失된다.

(3) 培養과 條件

製劑化하기 爲한 增殖培養過程에서 菌의 增殖이 어느 程度로 되었을 때 培養을 完了하여 製劑化하여야 되는가 하는 問題는 乳酸菌製劑의 安定性面에서 볼 때 그 菌株의 生化學的性質, 活生 및 生殘菌數에 미치는 영향이 크다. 그러므로 增殖培養過程에서 菌株에 따른 增殖培地의 種類, 溫度와 時間等을 決定하여야 한다.

表 1에 依하면 *Sc. faecalis*의 增殖培養에서 培養夜中의 最高菌數는 培養時間이 18時間이지만 이것의 乾燥菌體의 保存性은 20時間 培養한 경우보다 良好하다.

表 1. *Sc. faecalis* 菌體의 保存成績

培養時間數	培養菌數 (1ml當)	乾燥 菌體의 保存性(1g중)		
		最初의 菌數	10日後의 菌數	菌生殘率(%)
10	$126 \times 10^7$	$108 \times 10^7$	$11 \times 10^8$	1
15	$320 \times 10^7$	209 "	51 "	2
18	$421 \times 10^7$	280 "	462 "	16
20	$390 \times 10^7$	269 "	753 "	28
25	$218 \times 10^7$	215 "	194 "	9
30	$187 \times 10^7$	126 "	130 "	10

※ 保存 條件은 45°, 10日間

또한 表 2에서 알 수 있는 바와 같이 有孢子性 乳酸菌의 孢子形成能도 培地의 成分에 따라 差가 있다.

表 2. 유포자 유산균의 배양

육수배지에 첨가한 량		균 발 육	포 자 형 성
Glucose(%)	Peptone(%)		
1.0	0.5	++++	+
1.0	0	—	—
0.5	1.0	+++	++
0.5	0.5	+++	++
0	1.0	+++	+++

※ 40°, 3일간 진탕배양, 단 통기는 하지 않음

#### (4) 菌體의 乾燥

菌體의 乾燥方法으로는 凍結後 眞空乾燥하는 方法과 賦形劑에 吸着시킨 후 眞空乾燥하는 方法等을 생각할 수 있으나 이때 고려하여야 할 點은 菌株와 培養培地에 따라 保存間의 生殘率이 좋은 方法과 條件(凍結媒體, 乾燥溫度, 時間等)을 檢討할 必要가 있다. 即 同一한 凍結方法을 *L. bifidus*의 여러 菌種에 適用했을 때에도 凍結溶解後의 菌生殘率에는 상당한 變化가 있다(表 3).

表 4의 경우는 *Sc. faecalis*의 培養培地 種類에 따라 菌體 乾燥後 保存間의 生殘率의 差

表 3. *L. bifidus*의 동결

사 용 균 수	동 결 방 법	최초의 균수	동결 용해후의 균수	균 생 산 율
S-7	氷 NaCl	46×10 <sup>8</sup>	33×10 <sup>8</sup>	65.2%
	dry ice		28×10 <sup>8</sup>	60.9%
15-1	NaCl	818×10 <sup>8</sup>	747×10 <sup>8</sup>	87.9%
	dryice		704×10 <sup>8</sup>	82.8%
I-B	NaCl	80×10 <sup>8</sup>	80×10 <sup>8</sup>	100.0%
	dry ice		73×10 <sup>8</sup>	91.2%

를 보여 주는 것으로 1% 乳糖培地와 10% 잠용즙배지의 경우에서 심한 差를 볼 수 있다. 1% 乳糖과 10% 잠용즙배지의 乾燥前의 菌數는 거의 同一하였으나 乾燥直後의 生殘率은 1% 乳糖이 良好한 반면에 保存間의 生殘率은 10% 잠용즙배지에서 90%로 훨씬 양호하다.

表 4. *Sc faecalis*의 동결조건과 보존

Medium	건조전의균수 10 <sup>8</sup> /ml	건조직후의균 수(생잔율) 10 <sup>8</sup> /ml(%)	보존간의 균수10 <sup>8</sup> /ml			
			3개월후	6개월후	1년후	2년 후 (생잔율%)
정 계 수	7.13	1.31(18)	1.29	1.27	1.17	1.13(86)
생 리 식 염 수	6.73	0.09(1)	0.33	0.22	0.01	0.01(11)
1% 펠 톤	6.10	4.87(79)	4.20	3.75	3.53	2.97(60)
10% 펠 톤	6.60	4.17(63)	3.80	3.35	3.30	3.20(75)
1% Lactose	6.43	4.15(64)	0.71	0.51	0.49	0.48(11)
1% Sucrose	6.93	3.35(48)	1.31	0.91	0.88	0.07(2)
50% 육즙	7.50	5.13(68)	4.90	4.25	3.92	3.00(58)
10% 잠용즙	6.40	2.42(37)	2.73	2.25	2.20	2.19(90)
1% Gelatin	4.80	2.51(52)	2.40	2.04	1.80	1.06(56)
1% Tragacanthgum	5.70	2.17(38)	1.59	1.30	1.15	0.72(33)
1% Dextrin	67.3	0.88(1)	0.21	0.09	0.04	0.02(3)
1% 전분	5.06	2.22(43)	1.34	0.93	0.65	0.44(19)
1% 가용성전분	5.60	2.62(46)	0.70	0.62	0.52	0.52(19)
1% Na-glycollate cellulose	5.20	2.27(43)	1.59	1.58	1.55	1.35(59)

(5) 製劑의 製造

乳酸菌의 乾燥粉末로 製劑化하는 過程에서는 菌數의 현저한 減少가 생긴다.

製造過程에서 菌의 生殘率에 영향을 주는 要人으로는 主로 乾燥溫度, 時間 및 含濕量이라 생각되며 特히 錠劑의 경우는 打錠壓力에 의한 영향이甚하고 또한 製劑에 使用하는 賦形劑와配合되는 藥劑에 따른 영향이 크므로 이에 대한 檢討도 要望된다.

一般적으로 乳酸菌製劑는 錠劑보다는 顆粒, 顆粒보다는 粉末製劑에서의 安定性이 良好하

다. 製劑의 製造時 乾燥溫度는 낮을 수록(40°C 程度), 時間은 짧을수록 菌生殘率이 높고 錠劑의 경우 打錠壓力이 強할수록 菌生殘率이 減少한다.

또한 配合藥劑의 경우 乾燥酵母. vitaminC는 生殘率에 미치는 영향이 至大하다(表 5,6,7).

表 5. *Sc. faecalis*원말의 건조온도에 의한 생산율

온도	시간	1 시간 후	2 시간 후	3 시간 후
40°C		95.0	90.1	84.7
50		94.5	84.0	82.7
60		90.2	83.2	80.4
70		88.3	81.9	71.3
80		85.4	80.4	70.5
90		70.4	50.2	40.8

※ 유산균 원말(수분 0.65%)

表 6. *Sc. faecalis*제제의 타정압력에 의한 영향

시	료	경	도 (kg)	생	잔	율 (%)
타	정	전(타정용과립)				100%
타	정	후(정제)	1.0~1.5			82.1
	"	"	2.0~2.5			70.2
	"	"	3.0~3.5			60.4
	"	"	4.0~4.5			59.7

表 7. *Sc. faecalis*제제의 배합약제에 의한 영향

배합약제종류	1 개 월		3 개 월	
	저	실	저	실
V-B <sub>1</sub>	99.8	99.5	90.5	82.7
V-B <sub>2</sub>	99.7	99.6	95.2	84.0
V-C	99.7	82.7	82.1	75.8
Dry yeast	99.8	94.7	90.2	60.4
MgCO <sub>3</sub>	92.7	92.6	90.3	89.4
MgO	99.9	98.2	93.2	92.4
CaCO <sub>3</sub>	99.5	89.2	99.2	84.8
Taurine	99.5	90.3	89.7	82.4

※ 부형제 : 전분

저온 : 10°C

실온 : 20~25°C

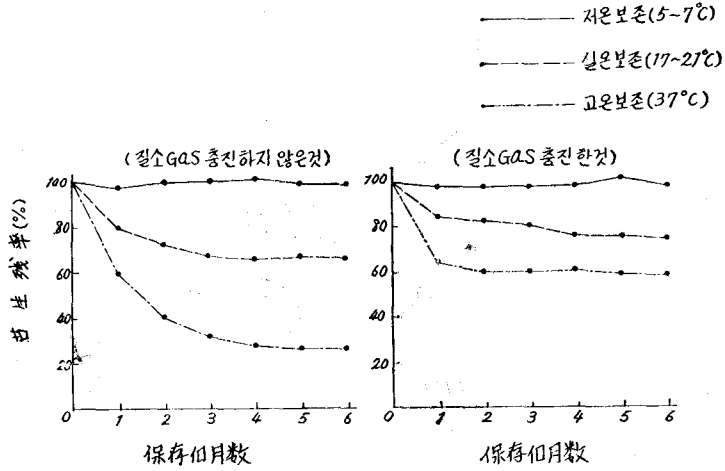
(6) 製劑의 保存

乳酸菌製劑는 製品의 水分含量과 保存溫度에 따라 菌의 生殘率이 左右된다.

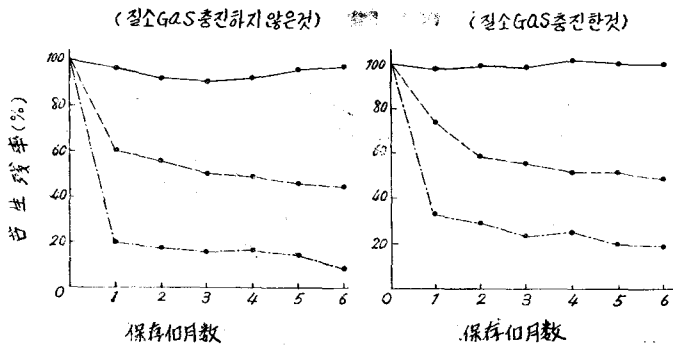
그림 (2)의 結果와 같이 保存溫度, 水分含量 및 질소 gas치환 如與에 따라 經時的 菌數

의 減少가 크므로 乳酸菌製劑는 될 수 있는 한 그 含濕量을 줄이고 낮은 溫度에서 保存하도록 해야 한다.

그림 2. *Sc. faecalis* 試製劑의 保存期間과 菌數의 生殘百分率  
試製劑 I (水分 9.5%)



試製劑 II (水分 15.3%)



### 乳酸菌製劑의 服用時間

乳酸菌製劑의 安定性에 있어서 추가로 다루어져야 할 문제는 服用時間이라 할 수 있다. 乳酸菌製劑의 服用時間 決定은 服用効果와 밀접한 關係가 있는 것으로 胃液의 pH가 低下되었을 때 服用한다면 투여된 生菌이 全滅할 우려가 다분히 있으므로 그 活生을 기대할 수가 없게 된다. 上田等은 食物을 섭취한 후 약 30~40分 程度에서 胃液의 pH가 3.5~6으로 된다고 報告하였으며 또한 表 8의 乳酸菌(*Sc. faecalis*)의 pH에 따른 菌의 死滅率에 依한다면 乳酸菌製劑의 服用은 空腹시를 피하여야 그 整腸効果를 기대할 수 있으리라 본다.

表 8. pH에 따른 균의 감소

회석배수	pH	1.2	2	3	4	5.4
10 <sup>4</sup> 액		—	—	9	1,032	1,380
10 <sup>5</sup> 액		—	—	1	73	140

### 結 論

乳酸菌製劑는 上記한 바와 같이 安定성에 미치는 諸要因이 多樣하고 複合的이므로 앞으로 이의 解決을 爲한 꾸준한 研究가 계속되어야 하겠고 또한 本 製劑에 對한 有效菌數(菌含量) 및 製型等에 關한 많은 問題點을 內包하고 있는 製劑라고 생각되는 바이다.

### 參 考 文 獻

- 1) 北原覺雄: '乳酸菌의 研究'(1966)
- 2) 趙. 金等: 「乳酸菌製劑의 力價 및 安定度에 關한 研究」(1970.11.25)
- 3) 孫, 朴, 趙等: 「乳酸菌製劑의 微生物學的 檢定에 關한 研究」 國立保健院報 vol. 6. (1969)
- 4) 李, 朴等: 「乳酸菌製劑에 關한 研究」(乳酸菌製劑의 經時變化에 對한 微生物學的 研究) 國立保健院報 vol 7(1970)
- 5) 岩間敏彥: 「市販 乳酸菌製劑의 人工胃液의 酸度變化에 對한 抵抗性과 抗菌數」 藥局 vol.21, no. 5(1970),