

醫藥品の加熱滅菌

禹 鍾 鶴

서울대학교 藥學大學

The Heat Sterilization of Drugs

Chong Hak Woo*

(Received Feb. 16, 1976)

모든 醫藥品은 汚染 特히 微生物의 汚染으로부터 防止하여야 한다는 것은 當然한 處事이라고 본다. 모든 醫藥品을 모두 無菌狀態로 한다는 것은 극히 바람직한 事項이나 이와 같이 하려면 醫藥品의 生産價의 昂騰, 貯藏의 困難, 取扱의 難點등 여러가지 問題點과 隘路가 隨伴하게 된다.

그러므로 現時點에서는 모든 醫藥品을 모두 無菌으로 한다는 것은 考慮할 問題라고 본다. 그러나 이와 같은 隘路가 있다하더라도 滅菌을 不可避한 必要條件으로 하여야 하는 製劑가 있다. 예컨대 注射劑, 眼科用劑등이 바로 이것이다. 이들은 그 使用 部位가 人體內 特히 注射劑에 있어서는 皮膚를 經由하여 人體內에 直接 注入 適用되는 것이므로 無菌으로 하여야 한다는 것이 絕對的으로 必要하다.

그러므로 이와 같은 製劑는 滅菌에서 일어나는 여러가지 問題點에 至大한 關心과 滅菌을 施行하는 데 있어서의 여러가지 問題點에 對한 解決의 實踐이 반드시 必要하다(注射劑中 滅菌外에 發熱性物質에 關한 問題의 解決이 必要한 것도 있으나 여기에서는 省略하기로 한다).

滅菌方法으로서 現在 利用되고 있는 것으로서는 加熱滅菌法, 藥劑滅菌法, 放射線滅菌法, 超音波滅菌法, 高周波滅菌法, 除菌에 依한 滅菌法, 無菌操作法등 여러가지 方法이 있으나 여기에서는 이中 加熱滅菌에 關한 事項을 緒論, 微生物의 耐熱性, 濕熱에 依한 微生物의 殺滅, 乾熱에 依한 微生物의 殺滅, 加熱滅菌의 機構, 微生物의 耐熱성에 미치는 影響因子, 加熱滅菌條件의 選定, 無菌試驗, 考察등으로 나누어 이 加熱滅菌法이 無菌을 要하는 製劑에 利用되는 데 있어서의 여러가지 問題點에 關한 事項 即 實驗研究事項과 報文에 關한 事項中 重要한 것을 들어 이를 綜合하여 보기로 한다.

* College of Pharmacy, Seoul National University

滅菌이라 함은 物質에서 모든 微生物 및 芽胞를 殺滅시키든가 또는 除去하는 것을 말한다. 第2改正 大韓藥典¹⁾에서 定義하고 있으며 滅菌法으로서는 加熱에 依한 殺菌法과 細菌濾過器에 依한 除去 및 無菌操作의 方法 등이 收載되어 있고 藥劑 및 放射線에 依한 滅菌法 등은 收載되어 있지 않다. 藥典에 收載된 方法은 大部分 加熱滅菌法으로서 이를 分類한다면 ① 火焰滅菌, ② 乾熱滅菌, ③ 高壓蒸氣滅菌, ④ 流通蒸氣滅菌, ⑤ 煮沸滅菌, ⑥ 低溫間歇滅菌 등 여러가지 方法이 있다.

이러한 方法에 따른 滅菌條件에 對하여는 藥典에 規定되어 있으나 最近 Higuchi²⁾, Murphy³⁾ 등은 從來 熱에 不安定하다고 生覺하여 온 醫藥品도 加壓 高熱 短時間加熱法에 依하여 安全하게 滅菌을 施行할 수 있다고 하였으므로 法定滅菌法도 再檢討를 할 必要가 있다고 生覺된다.

그 理由로서는 加熱滅菌法은 藥物自體의 性質은 檢討하지 말고도 注射藥製造時混入의 憂慮가 있는 微生物의 種類, 性狀, 藥液의 水素이온濃度, 容器의 形狀, 大小等의 各因子에 依하며 殺滅되어야 할 微生物의 死滅狀態 即 所謂 死滅時間曲線³⁻⁶⁾ (thermal death time curve)는 當然히 變化할 것이라고 生覺되는 까닭이다. 그러므로 이 曲線과 醫藥品의 安全性을 比較檢討하여 適當한 滅菌溫度와 時間을 決定하여야 한다는 것이다.

이와같이 함으로서 個個의 醫藥品의 適當한 滅菌法이 設定되어지고 이를 量產할 때 時間短縮에 따라 能率이 向上될 것이고 또 燃料의 經濟的 使用은 生産價의 低下도 可能케 할 것이며 製品의 分解防止 등 여러가지로 合理化의 效果를 얻을 수 있을 것이라고 본다.

微生物의 耐熱性—殺菌의 對象이 되는 微生物과 溫度와의 關係는 Porter와 Ball, Olsen 등이 報告한 바와 같이 增殖可能한 溫度範圍가 一般 生物에 比하여 顯著히 廣範圍하다는 것이다^{5) 6)}.

이들 微生物은 그의 增殖可能한 溫度限界로 부터 低溫性(psychrophilic), 中溫性(mesophilic) 好熱性(thermophilic)의 三群으로 大別할 수 있다.

이들 微生物은 發育限界를 넘으면 發育의 阻害域에 들어가게 되고 結局 急速히 死滅하여가는 溫度域을 發見할 수 있다. 低溫에서는 이와 같은 死滅溫度域은 없지만 高溫에서는 比較的 明確하다. 그러나 菌種, 菌株, 環境 등 諸條件 등에 따라 顯著하게 이러한 溫度域은 變動한다는 것이 認定된다.

微生物의 耐熱性を 表現하는 方法으로서는 여러가지 方法이 있다⁹⁾. 其中 加熱致死溫度(thermal death point)라 함은 微生物을 10分間 處理하여서 死滅시킬 수 있는 最低溫度라고 定義하고 있고 加熱致死時間(thermal death time)이라 함은 어떠한 條件下에서 微生物을 死滅시키는데 要하는 時間을 指示하는 것이다. 또 加熱致死速度(thermal death rate)라 함은 死滅할 때의 速度이며 微生物의 加熱에 依한 死滅速度는 對數法則에 따른다는 것으로서 이 死滅速度를 가지고 耐熱性を 나타내고 있다.

加熱殺菌을 施行할 때 水分의 存否에 따라 濕熱과 乾熱로 分類할 수 있으며 水分은 微生物의 殺菌에 큰 影響을 준다. 따라서 前者는 顯著하게 좋은 殺菌效果를 나타낸다.

濕熱에 의한 微生物의 殺菌——菌種, 菌株에 따라서 耐熱성이 顯著하게 다르다는 것이 認定되며 一般的으로 細菌의 榮養細胞의 耐熱성은 다음과 같은 條件이 있다.

- ① 桿菌보다는 球菌이 더 耐熱性이다.
- ② 發育의 最適最高溫度가 낮은 것일수록 耐熱성이 強하다.
- ③ 顯著하게 塊狀이 된 것이나 莢膜을 形成하고 있는 것은 耐熱성이 크다.
- ④ 脂肪含有量이 많은 細胞는 耐熱성이 크다.

細菌 孢子는 耐熱성이 強하며 따라서 이는 加熱殺滅에서 問題가 되고 있으며, 이 때에도 菌種, 菌株에 따라 顯著한 變動이 認定되고 또 環境등 여러가지 條件에 따라서도 變化한다⁹⁾. Shibasaki는 無孢子細菌의 耐熱성에 關하여 詳細히 報告하였으며 一般的으로 無孢子細菌은 80°, 10分 前後의 濕熱處理로서 充分히 殺滅시킬 수 있다고 하였다^{9) 10)}.

Parkin¹¹⁾, 植村¹²⁾ 등에 依하면 過去文獻을 收集한 細菌孢子의 耐熱성에 關한 報告를 보면 *B. subtilis*는 100°에서 6~17分間이면 殺滅되지만 130°以上の 濕熱에서도 數分間 生存하는 耐性있는 細菌孢子가 數種 存在하고 있다는 것이다. 이로 보아 加熱滅菌에 있어서도 100°로서는 不充分하다는 것을 表示하고 있다.

乾熱에 의한 微生物의 殺菌——微生物이 液體培地中 또는 直接 飽和水蒸氣에 露出되었을 때의 加熱方式은 濕熱殺菌이지만 이에 對하여 微生物이 加熱空氣에 依하여 加熱殺滅 되는 것을 乾熱殺菌이라고 한다. 그러나 乾熱에 의한 殺菌은 適用에 制限이 있어 比較的 研究가 적고 또 耐熱性的의 試驗方法도 不正確하다. Perkin은 乾熱處理에 對한 細菌孢子의 耐熱성을 比較하여 이를 報告하였다¹³⁾. 이 報告에 따르면 一般的으로 乾熱에 의한 殺菌效果는 濕熱인 때에 比하여 顯著히 劣等하며 抵抗性的의 變動도 크다고 되어 있다. 이것들은 여러가지의 因子, 微生物의 殺菌裝置內에서의 保護程度의 相違, 加熱의 不均一性등에 따라 變動되는 것이라고 生覺된다.

Pflug는 微生物의 乾熱에 對한 抵抗性的의 正確한 測定裝置를 만들고 여러가지의 問題點을 檢討하였으며 *B. subtilis* 孢子의 耐熱성을 比較하여 濕熱에서는 250°에서 0.35分, 乾熱에서는 350°에서 0.57分에 死滅하였다는 것을 實驗報告함으로서 濕熱의 滅菌效果가 더 크다는 것을 立證하였다¹⁴⁾.

Rahn은 여러가지 殺菌手段에 對하여 芽胞의 抵抗성을 나타내는 數値로서, *E. coli*의 抵抗성을 1로 하고 이를 基準으로 하여 細菌芽胞, 곰팡이 孢子등의 抵抗성을 測定하였다. 이에 따르면 細菌芽胞는 phenol에 100,000,000倍, formalin에 250倍, 乾熱에 1,000倍, 濕熱에 3,000,000倍의 抵抗성을 나타낸다고 한다.

그러나 紫外線에 對한 抵抗성은 生長形의 菌에 對하여 겨우 數倍에 지나지 않는다¹⁵⁾. 이와 같은 例外는 此外에 가스滅菌에 使用하는 알킬化劑(ethylene oxide)에 對하여도 알려져 있다.

加熱滅菌의 機毒——一般的으로 微生物의 細胞나 孢子의 浮遊液을 加熱處理할 때에는 다음 Fig. 1에서와 같은 死滅過程을 갖게 된다¹⁶⁾.

Figure 1은 penicillin의 子囊孢子에 對한 例이지만 이 集團은 大端히 熱感受性이 크고 極히 少數의 것만이 耐熱性으로서 處理集團의 耐熱性이 均一하지 않다는 것을 나타내며 細菌인 때나 또는 其他 殺菌手段을 適用할 때에도 일어난다. 曲線 4는 penicillin의 菌核의 耐熱性을 表示한 曲線이다. 曲線 2,3은 典型的인 對數法則에 合當하다는 것을 表示한 曲線이다.

一般的으로 微生物은 加熱에 依하여 形態學的으로 病態學的으로 또 以外에도 代謝에서도 變化를 주게 된다. 이는 細胞內에 있는 物質의 化學的 變化에 依한 것이라고 生覺되며 따라서 加熱滅菌을 施行할 때에도 이와같은 化學的 變化가 細胞內에서 일어난다고 生覺되며 따라서 往往히 이 現象을 다시 말하여 殺滅되어가는 現象 即 그 速度를 一分子反應이라고 生覺할 수도 있다. 이를 式으로 表示하면

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{C_0}{C}$$

但 $C_0 \dots \dots t$ 가 0인 때의 微生物의 濃度(數)

$C \dots \dots$ 時間經過後의 微生物의 濃度(數)

와 같다.

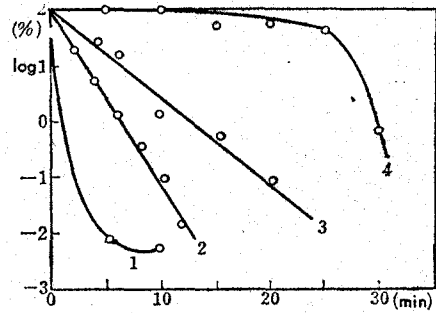
이 式에 依하여 얻어지는 滅菌에 必要한 時間을 死滅時間(thermal death time=TDT)이라고 呼稱한다. 一般的으로 微生物의 加熱滅菌速度를 對數的이라고는 하지만 여러가지 理由로서 이에 該當하지 않은 때도 있다.

微生物의 死滅曲線이 對數的 經過를 받지 않은 影響因子로서 Stambo¹⁷⁾는 다음과 같은 것을 例示하였다.

- ① 細菌孢子 發芽에 對한 加熱活性化
- ② 耐熱性이 相違한 集團의 混合
- ③ 塊狀을 形成한 細胞群의 存在
- ④ 加熱中の 細胞의 凝集
- ⑤ 加熱中の 解凝集
- ⑥ 加熱處理後 培養에 使用하는 培地의 性質과 其他 條件

乾熱殺菌에서의 溫度係數는 濕熱殺菌에 比하여 적으며 2~3程度로서 一般化學反應과 같은 水準이나 乾熱殺菌에 關한 定量的인 研究結果는 적으므로 殺菌機構는 充分히 究明되어 있지 않다. 그러나 近年 宇宙科學의 發達은 이 問題에도 關心을 갖게 되었으며 宇宙船의 滅菌 問題를 解決하기 爲하여 乾熱 滅菌 問題도 詳細하게 研究하게 되었다¹⁸⁾.

그러나 窒素가스 또는 眞空中에서 乾燥菌을 加熱할 때에는 空氣中인 때에 比하여 더 死滅



1 : Penicillium Ascospore 81°C
 2 : Putrefactive anaerobe 115°C
 3 : Es. coli 51.7°C
 4 : Penicillium Sclerotia 90.5°C

Figure 1—Survivor curves of microbes

速度가 늦는다. 이로 볼때 空氣中の 水分이 없는 곳에서 細菌을 加熱할 때의 死滅은 적어도 部分的으로는 酸化過程이라고 生覺되며 酸素가 없을 때에 일어나는 殺滅에 關한 反應은 아직 그 本態를 모르고 있다.

水分이 存在하고있는 곳에서의 濕熱殺菌의 機構에 對하여는 여러가지 理論이 있다¹⁹⁾.

이中 微生物에 對하여 必須한 細胞內蛋白質 酵素의 不活性化의 結果로서 일어난다고 하는 蛋白質說이 가장 有力한 것이다.

微生物의 耐熱성에 미치는 影響因子——微生物은 榮養細胞의 사이 외에도 또 榮養細胞와 孢子와의 사이에도 顯著한 耐熱性的의 相違가 認定된다.

또 一般的으로 耐熱성이 크다고 하는 細菌孢子的 사이에서도 큰 變動이 있다는 것이 알려져 있다.

이와같은 微生物의 耐熱성은 複雜한 生理的 및 形態的인 性質의 總合 結果로서 나타나는 것임으로 遺傳的인 制約을 받는다고 生覺할 수도 있으나 他分 微生物이 놓여지는 環境條件에 依한 微生物의 조그마한 變化의 起因에도 耐熱성이 變化한다는 것도 考慮하여야 한다. 微生物의 細胞나 孢子集團에는 當然히 耐熱성에 關한 分布가 存在할 것이며 이로써 適應과 選擇의 過程에 따라 耐熱성이 強한 것을 얻을려고 하는 試圖가 있었으나 다음과 같이 반드시 그 成績은 一致하고 있지 않다²⁰⁾.

耐熱性的의 增強을 認定하였다고 하는것……Bigelow, Esty(1920, 好熱性 細菌), Magoon(1926, *B. mycoides*), Williams(1929, *B. subtilis*, 1936, *B. maycoides*), Davis, Williams(1948, *B. Globigii*)

耐熱性的의 增強을 認定치 못한것……Morrison, Rettger(1930), Sommer(1930, *Cl. botulinum*), Williams(1936, *B. graveoleus*, *B. subtilis*, *Clostridium*), Desosier, Esselen(1951, 嫌氣性腐敗細菌), 微生物耐熱성에 對하여 影響을 끼치는 因子로서는 加熱前 加熱時 및 加熱後의 셋으로 大別할 수 있다.

1) 加熱前에 關係되는 因子……微生物의 耐熱성에 對한 加熱前의 影響因子로서 들 수 있는 것은

- ① 細胞自體의 內部因子……遺傳性, 細胞組成, 細胞形態, 細胞의 培養期間
- ② 環境因子……榮養, 發育溫度, pH, 代謝產物 등 細胞組成과 耐熱성에 對하여도 無機成分, 脂肪酸 등과의 相互 關連에 對하여 論하고 있으나 그의 量的인 差보다도 個個의 成分의 性質에 起因한다고 生覺하는 것이 더 좋을때가 많은것 같다.

Walker 등이 *Staph. aureus*의 細胞의 耐熱성에 미치는 培養時間의 影響을 본 結果, 增殖이 旺盛한 對數期的 細胞에 比하여 定常期에 든 古細胞가 더 耐熱성이 強하다는 것을 알았다²¹⁾

Sugigama는 또 *Cl. botulinum* 孢자를 使用하며 高級脂肪酸을 培地에 넣어 培養한 孢자는 耐熱성이 커진다는 것을 報告하였다²²⁾.

培養溫度에 對하여는 發育最適溫度에서 培養하여서 얻은 細菌孢자의 耐熱성이 가장 크다고는 하지만 最高溫度 또는 最低溫度에서 얻어진 것도 最大의 耐熱성을 가진다는 例도 있음

으로 보아 이는 菌種 菌株에 依한 것이라고 본다. 또 培地 pH의 影響은 培養中 極端히 變化하지 않은限 影響이 없다고 한다. 그러나 代謝生産物에 長時間 曝露된 細胞 또는 孢子는 耐熱性이 低下할 수가 있다고 한다²³⁾.

2) 加熱時에 關係되는 因子……加熱時에 微生物의 耐熱性에 미치는 因子로서는 加熱時間 溫度는 勿論이고 細胞의 濃度, 菌塊의 存在, 加熱時의 液性(水分, 內容成分, pH등)등을 더 들 수 있다.

① 水分……乾熱보다는 濕熱인때가 더 殺菌作用이 크다는 것은 이미 記述하였으며 濕熱에 關한 問題는 다음 高壓加熱滅菌에서 더 論述하기로 한다.

② pH……一般的으로 微生物 耐熱性은 中性 또는 中性附近에서 가장 크며 酸性 또는 알칼리성이 될수록 耐熱性은 低下된다.

Bigelow²⁴⁾, Sakaguchi²⁵⁾ Walker²⁶⁾ 등은 各各 各孢子가 中性附近에서 最高耐熱性이 있다는 것을 發表하였고 Woo²⁷⁾ 등은 *B. subtilis*에 對한 pH의 影響을 詳細히 實驗하여 報告하였다. 此外에 Anderson²⁸⁾ Levine²⁹⁾ 등이 有機酸과 알칼리가 孢子의 耐熱性에 미치는 影響을 實驗 報告하였다.

③ 無機鹽……無機鹽類도 細菌孢子에 對한 耐熱性에 影響을 준다. 食鹽에 있어는 2~4%에서는 保護의이나 80%以上이 되면 耐熱性을 低下시킨다. 이와같이 濃度가 微生物의 耐熱性에 支配的인 因子가 된다.

다음 Figure 2는 食鹽 0%와 1.5%인때에 芽胞의 耐熱性을 實驗한 것이다³⁰⁾.

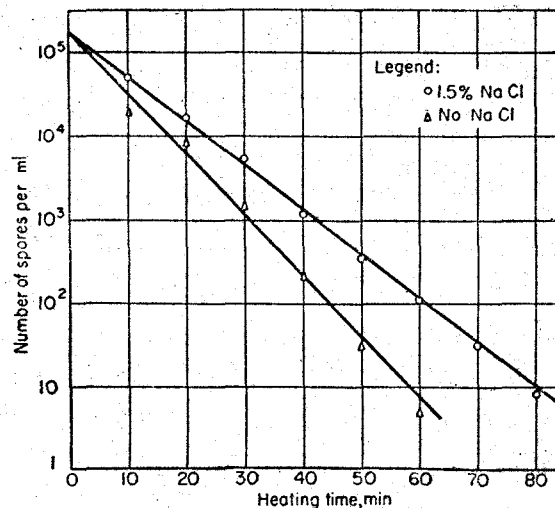


Figure 2—Survivor curves at 110°C for pea liquor with and without salt.

Sugiyama²²⁾는 Ca^{+2} Mg^{+2} 을 가하면 芽胞의 耐熱성이 低下된다는 것을 報告하고 Frank³¹⁾는 cation을 가지고 廣範圍하게 實驗研究하였다. Alderton³²⁾은 細菌胞子는 陽이온 交換體와 같이 作用하여 胞子表面에 陽이온 이 吸着한다는 것을 報告하였다.

④ 其他添加物の 影響……Amaha등은 葡萄糖, 蔗糖등은 低濃度보다는 高濃度에서 耐熱성이 增加된다는 것을 報告하였고³³⁾ glycerin의 10~50% 添加는 影響이 없다는 것을 發表하였다³⁴⁾. Lewis 및 Michener등은 過去文獻을 調査分析한 結果 精油, 抗生物質, 防腐劑에는 微生物에 對하여 耐熱성을 低下시키는 것이 있다는 것을 綜合報告하였으며³⁵⁾ Michener, Tompson등은 *Clostridium Sp.* PA 3679胞子の 耐熱성을 各種物質을 가지고 廣範圍로 研究報告하였다³⁶⁾.

3) 加熱後에 關係있는 因子……어떠한 激甚한 處理를 받은 後 多幸히 生殘된 微生物細胞는 어떠한 損傷을 받았으며 따라서 正常的인 集團보다 營養要求가 甚하게 될 때가 많다. 이러한 現象은 熱處理를 한 胞子에도 該當된다. Knaysi는 培養溫度, 熱 Shock處理, 浸透壓, 表面張力등에 關하여 研究報告하였다³⁷⁾. Olsen는 澱粉添加가 *Bacillus, Clostridium*의 回收率을 增加시키었다고 하였다³⁸⁾. Heater등은 또 아미노酸中, 메디오닌, 그리신, 히스티딘, 구루타민등의 添加가 有效하다고 하였다³⁹⁾.

熱處理後의 生存菌 回收의 適用條件에 對하여는 以上과 같이 檢討되었으나 加熱處理細胞의 發芽遲延 또는 休眠이라는 問題가 또 있다.

加熱滅菌條件의 選定——加熱滅菌을 하여야하는 對象에 따라 滅菌條件을 選定하여야 한다 各 國公定書에서는 여러가지 方法을 收載하고 있다.

1) 火焰滅菌……火焰滅菌에서 大規模的인 것은 火焰放射器로서 傳染病이 發生한 곳이나 物件을 燒却하는 때이며 小規模로서는 金屬匙, 약절구 약막자 등의 滅菌에 利用된다.

醫藥品을 直接 이方法으로 滅菌하는 것은 없다고 할 수 있으나 無菌操作이나 無菌試驗에서 利用할 수가 있다. 一般的으로 滅菌하고자 하는 物體를 20秒 以上 火焰에 曝露시키며 物體가 暗赤色이 될때까지 燒却할 必要가 있다^{40, 41)}. 即 火焰에 暫時만 대이면 不充分할 때가 많다⁴²⁾.

2) 乾熱滅菌……乾熱滅菌은 前記한 바와 같이 濕熱滅菌에 比하여 研究가 늦었으나 最近 無菌動物의 飼育⁴³⁾과 宇宙船의 滅菌¹⁸⁾에서 必要性을 느끼게 되며 어느 程度 發展하게 되었다.

乾熱滅菌도 濕熱인때와 같이 菌의 死滅은 對數的이며 濕度와의 사이에는 直線關係가 認定된다.

乾熱滅菌이 濕熱滅菌보다 高熱이 必要하다는 것은 水分이 含有한 油脂와 水分이 含有치 않은 油脂의 加熱 滅菌時의 殺菌效果가 卵黃알부민의 熱變化에 對한 水分이 미치는 影響등을 Nomura가 報告한 것을 보아도 充分히 理解할 수가 있다^{44, 45)}.

Grainger등은 各種 滅菌爐中에서의 熱의 分布가 送風機가 없을 때에는 50°C以上の 溫度差

가 있다는 것을 報告하였다⁴⁶⁾.

3) 高壓蒸氣滅菌……濕熱에 依한 滅菌은 乾熱滅菌에 比하여 比較的 低溫, 短時間에서 滅菌效果를 얻을 수 있지만 물의 沸點과 壓力사이에는 큰 關係⁴⁷⁾가 있으므로 어느 程度의 壓力을 加하지 않으면 滅菌의 必要한 溫度를 얻을 수가 없다. 따라서 이에 是 autoclave가 必要하다.

Autoclave內의 空氣는 加熱時 蒸氣와 完全히 置換되어야 한다. 이에 對한 報告로서는 Underwood가 實驗研究한 바가 있다⁴⁸⁾.

이 報告에 따르면 autoclave內의 空氣를 完全히 排除, 2/3排除, 1/2排除, 1/3排除, 未排除時에 最終溫度에 있어서 큰 差異가 있으며 完全排除와 未排除 사이에는 近 25°C程度의 差異가 있다고 한다.

BeGelow는 또 耐熱性이 強한 芽胞滅菌에 必要한 時間을 研究 實驗하여 140°C에서는 數分內에 殺滅되지만 115~110°C에서는 70時間에도 殺滅하기 어렵다는 것을 報告하였다⁴⁹⁾.

또 autoclave內의 場所에 따른 滅菌效果의 差異를 Mclanghlin⁵⁰⁾, Shotton⁵¹⁾ 등이 實驗 報告한 바 있다. 이로 보면 autoclave內에서도 場所에 따라 差異가 있으며 이 點을 銘心하여야 한다.

高壓蒸氣內에서의 滅菌速度는 前記한바와 같이 大體로 一次反應의 法則에 따르며 이를 Higuchi¹⁾, Murphy²⁾, Phleg^{52), 53)}, Wilkinson⁵⁴⁾, Woo⁵⁵⁾ 등이 各各 이와 같다는 것을 實驗 報告하였다.

Autoclave內에서의 滅菌時 滅菌에 必要한 物體의 크기에 따라 溫度變化가 있으며 이에 對하여 Iketa등은 容量 30ml, 1,000ml의 것을 實驗材料로 하여 研究한 結果 다음 Fig. 3과 같이 報告하였으며⁵⁶⁾ 또 phenobarbital溶液을 滅菌할때의 分解率과 滅菌과의 關係도 研究 報告하였다.

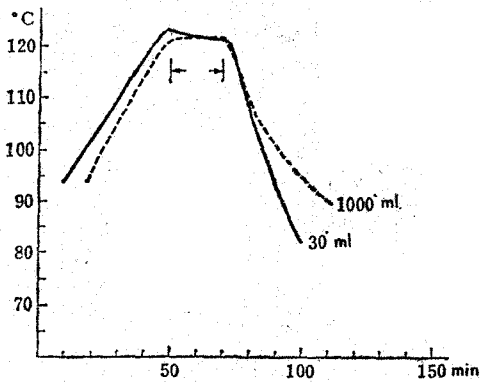


Figure 3—Cool Curves

4) 流通蒸氣滅菌, 煮沸滅菌, 低溫間歇滅菌…

熱에 不安定한 藥液의 滅菌에는 藥液의 安定性에 따라 流動蒸氣, 煮沸, 低溫間歇등의 方法에 依하여 滅菌한다. 이들의 方法은 藥典規定에 따라 모두 24時間마다 間歇的으로 滅菌하여야 한다^{58), 59)}. 이 滅菌法으로서 滅菌된 것은 滅菌休止中에도 20°C 以上의 適當한 濕度에서 保存되어야 한다. 間歇的으로 滅菌한다는 것의 意義는 微生物의 芽胞가 그의 成長形보다 抵抗性이 強하는데 基因한다.

그러나 近來 間歇滅菌法의 價値性을 疑心하게 되어 USP, IP, BP, 에서는 이를 拋棄하고 있다.

그 理由로서는

① 流通蒸氣中에서 100°C로 加熱하는 方法은 여러가지 嫌氣性菌의 芽胞를 破壞시킬 수

없다.

② 藥液에 細菌의 榮養價가 含有되어 있을 때에는 別問題이지만 大概是 細菌의 芽胞가 成長形으로 變形하는데 適當치 않은 非榮養物質이 含有되어 있음으로 芽胞로서만 殘留하게 될 憂慮가 單다.

③ 熱에 不安定한 藥液을 低温에서 되풀이하며 滅菌을 施行하는것 보다는 高温에서 短時間 滅菌하는 것이 도리어 藥液의 分解가 적다.

BP, IP,에서는 間歇滅菌代身 殺菌劑를 添加하며 98~100°에서 20分間 加熱滅菌하는 方法이 收載되고 있다⁶⁰⁾.

熱에 不安定한 藥液을 滅菌하는데 低温으로 長時間滅菌하는 方法과 高温으로서 短時間 滅菌하는 方法을 Higuchi¹⁾가 比較하여 다음과 같이 報告하였다. 即 滅菌에 要하는 時間은 菌의 種類 및 그의 狀態에 따라 相異하지만 實驗的으로 滅菌의 最終段階에서도 一次反應의 法則이 適用되며 化學反應일 때의 Arrhenius式에 該當하는 다음과 같은 式이 얻어진다.

$$\ln td = \Delta H_s^* / RT + k$$

td = 滅菌에 必要한 時間

ΔH_s^* = 가장 耐熱性이 강한 菌種의 殺菌에 必要한 活性化에너지

R = 氣體定數

T = 絕對溫度

k = 가장 耐熱性이 강한 菌의 數와 種類에 따라 定하여지는 定數

一方 藥品의 半減期를 $t_{0.5}$ 라 하고 活性化에너지를 ΔH_d^* 라고 하면 이에 따라

$$\ln t_{0.5} = \Delta H_d^* / RT + C$$

ΔH_s^* 는 가장 熱에 不安定한 菌이라도 50cal 以上이고 一般藥品에서는 ΔH_d^* 는 20cal/mol 前後임으로 이의 二式의 關係를 圖示하며는 다음 Figure 4와 같이 된다.

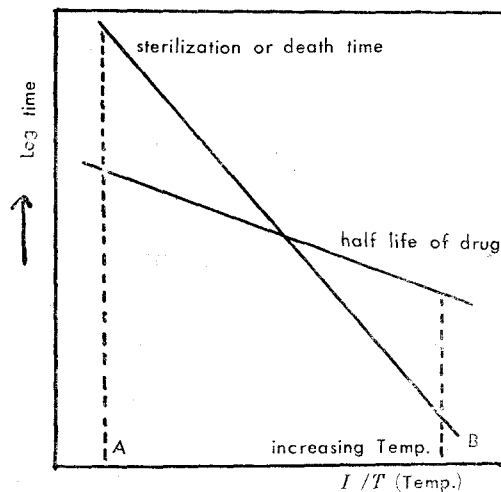


Figure 4—Relationship of sterilization time and half life to temperature.

Figure 4로 보아 明白한 것과 같이 低温(A)에서는 藥品의 半減期는 滅菌에 必要한 時間보다 많이 적으나 더 高温(B)에서는 半減期에 이르는 時間보다 以前時間에 滅菌이 終了된다는 것을 알 수 있다. 그럼으로 比較的 低温에서 長時間 滅菌하는 것보다는 高温에서 短時間 滅菌을 施行하는 것이 보다 効果的이라는 것을 알 수 있다.

이것을 바꾸어 말한다면 一般的으로 化學反應의 速度는 10° 上昇하는 때 마다 2~3배가 되나 이에 反하여 滅菌 또는 細菌이 死滅하는 速度는 10° 上昇하는 때 마다 6~7배가 된다. 그럼으로 滅菌에 要하는 時間은 1/6~1/7이면 充分하다는 結論이 된다.

熱에 不安定한 藥品·특히 알카로이드 鹽類의 溶液과 같은 것은 從來에는 商高壓蒸氣滅菌法으로는 不適當하다고 하였으나 Murphy²⁾ 등은 費酸아트로핀, 鹽酸코카인 등의 藥品에 對하여 短時間 高壓蒸氣 滅菌法을 施行하여 分解는 最少限으로 줄이고 滅菌을 最大限으로 效果의으로 施行된다는 것을 實驗報告하였다²⁾.

이때 藥液의 pH值는 모두 滅菌後에는 多少 低下하고 있다. 이는 藥에 防腐劑로서 加한 클로로부타놀의 加水分解에 依한 pH值의 低下이라고 生覺된다. 以外에 着色, 沈澱 등의 外觀上의 變化는 認定되지 않았다고 한다.

結果로 보아 熱에 不安定한 어떠한 藥物의 溶液에 對하여 高壓蒸氣滅菌法은 主藥의 效力에 큰 影響을 주지 아니하고 利用할 수 있다는 것을 推測케 한다.

無菌試驗——滅菌狀態의 保證 手段으로서 無菌試驗法이 各國의 藥典에 收載되어 있다⁶¹⁻⁶³⁾ 藥典의 滅菌의 定義로서는 完全히 微生物의 生菌이 不在하여야 한다.

이는 概念的으로는 틀림없이 簡單明瞭하며 疑心할 餘地가 없지만 이것을 實際的으로 證明한다는 것은 그리 簡單치 아니하다. 現在各國 藥典의 無菌試驗法은 完全한 것은 아니며 今後도 研究改善하여야 할 問題이라고 본다.

Bowman은 無菌試驗法의 問題點에 對한 總說을 發表하였으며⁶⁴⁾ 1975년에 公布된 USP 에도 無菌試驗法에 對하여 여러가지 條件을 收載하고 있다⁶⁵⁾. 無菌試驗이 하나의 破壞試驗인 以上 無菌인가의 判定은 抽出된 sample의 結果로서 推定하는 수 밖에 없다. 이제 汚染率(0.1~40%)에 對應하는 sampling法으로서 sample數를 10~500으로 變更하였을 때 그 結果가 無菌이라고 判定되는 確率을 Beloran등에 依하여 報告되었다⁶⁵⁾ 이 報告에 依하면 예컨대 0.1%가 汚染되었을 때 sample數를 500으로 하여도 無菌이라고 判定되는 確率은 實로 61%나 된다. 또 10%가 汚染되었다고 하였을 때에는 sample數를 100까지 增加시키어야 만이 비로소 汚染된 Lot는 確實히 不合格이라고 判定할 수 있는 狀態가 되는 것이다. 이와 같이 無菌試驗法에서는 比較的 넓은 汚染率인 때가 아니면 無菌이라고 判定하고야 마는 危險性이 極히 많다.

無菌試驗法으로는 藥典에 倍地를 使用하는 方法이 收載되었으며 殺菌劑를 添加한 醫藥品의 無菌試驗에는 membrane filtration method가 利用되고 있다⁶⁶⁾.

이 filtration method를 처음으로 試圖한 사람은 Holdowsky⁶⁷⁾이며 Bowman에 依하여 抗生物質의 無菌試驗의 無菌試驗에 이를 처음으로 利用하였고⁶⁸⁾ 다음 여러 學者들에 依하

이 방법이 抗生物質의 無菌試驗法으로 利用할 수 있다는 것을 確固히 하였다.

考 察

醫藥품을 滅菌한다고 하는 것은 어떠한 製制에서는 不可避한 操作이라고 할 수 있으며 따라서 醫藥품의 安定性和 殺菌과의 關係를 說明하여 이를 施行한다는 것은 바람직한 일이라 본다.

現在까지의 滅菌方法으로서는 加熱滅菌法 以外에 藥劑殺菌法, 放射線殺菌法, 除菌法, 無菌操作法등 여러가지가 있으나 注射劑등을 滅菌하는 方法으로서는 아직까지는 加熱滅菌法이 가장 많이 利用되는 方法이다.

이中 現在까지의 研究結果로 보면 高熱加壓短時間 滅菌法이 가장 優秀한 滅菌方法이라고 할 수 있다.

高熱에 分解하기 容易한 醫藥품의 溶液은 殺菌劑를 넣고 比較的 低溫에서 加熱滅菌하는 方法도 優秀한 方法이라고 할 수 있으나 그러나 이方法으로 滅菌할 수 있는 條件이 具備되어야 한다. 그럼으로 이와 같은 醫藥품의 溶液으로서 殺菌劑를 加하여 滅菌하지도 못하고 또 高熱加壓短時間滅菌法으로도 滅菌하지 못하는 醫藥품의 藥液은 除菌法이나 其他 方法으로 滅菌하여야 할 것이다.

滅菌한 다음 無菌試驗法에도 아직 研究改善할 問題點이 많으며 더욱 研究를 거듭함으로서 優秀한 醫藥품의 出現을 期待하는 바이다.

文 獻

- 1) "Korean Pharmacopoeia", 2nd rev., Vol. I, 1967, p.633~634.
- 2) T.Higuchi and L.W. Busse, *J. Amer. Pharm. Ass., Sci., Ed.*, **39**, 411(1950).
- 3) J.T. Murphy *et al.*, *Bull. Amer. Soc. Hosp. Pharm.*, **9**, 94 (1952).
- 4) C.C Williams, C.M. Merrill, and E.G. Cameron, *Food Research*, **2**, 369(1937).
- 5) J.R. Porter, "Bacterial Chemistry and Physiology", 1946, p.172~192.
- 6) C.O. Ball and F.C.W. Olsen, "Sterilization in Food Technology", 1957, p. 137-182.
- 7) C.T. Townsend, J.R. Esty, and F.C. Baselt, *Food Research*, **3**, 323 (1938).
- 8) C.O. Ball and F.C. W. Olsen, "Sterilization in Food Technology", 1957, p.157~192.
- 9) K.Schibaski, "Schokuhin Sakkin Kogaku, Korin," Tokyo, Japan, 1972, p.7~8.
- 10) W.C. Frazier, "Food Microbiology", Mcgraw-Hill, New York, N. Y., 1958, p.96.
- 11) J.J. Parkin, "Antiseptics, Disinfectants, Fungicides and Chemicals and Physical Sterilization", Henry Kimpion, 1954, p.671.
- 12) Uemura *et al.*, "Microphysiology", Asakura, Toryo, Japan 1960, p.802.
- 13) J.J. Parkin, "Antiseptics, Disinfectants, Fungicides and Chemicals and Physical Sterilization" Henry Kimpion, 1954, p. 702.

- 14) I. J. Pflug, *Food Technology*, **14**, 483 (1960).
- 15) O. Rahn, *Bacteriol. Rev.*, **9**, 35(1945).
- 16) C. C. Williams, E. T. Cameron and O. B. Williams, *Food Research*, **6**, 72(1941).
- 17) C. R. Stumbo, "Thermobacteriology in Food Processing", Academic, New York, N. Y., 1965, p. 60.
- 18) R. Angelotti, J. H. Maryanski, T. F. Butler, J. T. Peeler, and J. E. Campbell, *Appl. Microbiol.*, **16**, 735(1968).
- 19) C. O. Ball and F. C. W. Olsen, "Sterilization in Food Technology", McGraw-Hill, New York, N. Y. 1957, p. 157~172.
- 20) C. F. Schmidt, "Antiseptics, Disinfectants, Fungicides and Chemical and Physical Sterilization", Henry Kimpion, 1954, p. 720.
- 21) G. C. Walker and L. G. Harmon, *Appl. Microbiol.*, **14**, 584(1966).
- 22) Hiugiyama, *J. Bact.*, **62**, 81(1951).
- 23) K. Schibasaki, "Schokuhin-Sakkin-Kogaku", Korin, Tokyo, Japan, 1972, p. 17~18.
- 24) W. D. Bigelow and J. R. Esty, *J. Infect. Diseases*, **27**, 456(1953).
- 25) Sakakuchi *et al.*, "Nogei-Kagaku" **27**, 456 (1953).
- 26) H. W. Walker, *J. Food Science*, **29**, 360(1964).
- 27) C. H. Woo and S. K. Kim, *Seoul Univ. J. (c)* **17**, 123(1966).
- 28) E. E. Anderson, W. B. Esselen and C. R. Fellers, *Food Research*, **14**, 499(1948).
- 29) M. Levine, *Bacteriol. Rev.*, **16**, 117(1952).
- 30) J. A. Viljoen, *J. Infections Diseases*, **39**, 288(1926).
- 31) H. A. Frank, *Food Research*, **20**, 315(1955).
- 32) G. Alderion and N. Snell, *Biochem. Biophys. Research Comm.*, **10**, 139(1963).
- 33) M. Amaha and Z. I. Ordal, *J. Bact.*, **74**, 596(1957).
- 34) M. Amaha and K. Sakaguchi, *J. Bact.*, **68**, 338(1954).
- 35) J. C. Lewis and H. D. Michener, *Agr. Food Chem.*, **2**, 298(1954).
- 36) H. D. Michener, P. A. Thompson and J. C. Lewis, *Appl. Microbiol.*, **7**, 166(1959).
- 37) G. Knaysi, *Bacteriol. Rev.*, **12**, 19(1948).
- 38) A. M. Olsen and W. J. Scott, *Austrlian J. Sci. Res.*, **3**, 219(1950).
- 39) C. D. Heater and W. C. Van Der Zant, *Food Res.*, **22**, 164 (1954).
- 40) "Korean Pharmacopeia", 2nd Rev., Vol. I, 1967., p. 633.
- 41) "Japanese Pharmacopeia", 8th Rev., (Exp.), Shira-Kawa, Tokyo, Japan, 1971, P. B-472.
- 42) G. Melliger and P. Speiser, *Pharm. Acta Heiv.*, **41**, 500(1966).
- 43) M. K. Bruch and F. W. Smith, *Appl. Microbiol.*, **16**, 1841(1968).
- 44) Y. Nomura, *Pract. Pharm.*, **11**, 197(1960).
- 45) Y. Nomura, *Pract. Pharm.*, **11**, 198(1960).
- 46) Grainger *et al.*, *Public Pharm.*, **15**, 39(1958).
- 47) Y. Nomura, *Pract. Pharm.*, **11**, 199(1960).
- 48) W. Underwood, "A Textbook of Sterilization", 2nd ed., (1945).
- 49) W. D. Bigelow and J. R. Esty, Jr., *J. Infections Diseases*, **27**, 602~617(1920).
- 50) C. B. McLaughlin *et al.*, *Bull. Parent. Drug Assoc.*, Jan~Feb. (1957).
- 51) E. Shotton *et al.*, *Pharm.* **145**, May 2, 315 (1959)
- 52) I. J. Pflug and W. B. Esselen, *Food Res.*, **19**, 93(1954)
- 53) I. J. Pflug and C. F. Schmidt, "Disinfection, Sterilization and Preservation", 1948, p. 63

- 54) G. R. Wilkinson and L. C. Baker, *Advances in Pharm. Sci.*, 1, 274(1964).
- 55) C. H. Woo, *J. Pharm. Soc. Korea*, 7, 51(1963).
- 56) K. Ikeda and Y. K. Tajiri, *Yakuzaigaku*, 20, 199(1960).
- 57) K. Ikeda and Y. K. Tajiri, *ibid.* 20, 194(1960).
- 58) "Korean Pharmacopeia", 2nd Rev., Vol. 1, 1967, p. 634.
- 59) "Japanese Pharmacopeia", 8th Rev., (Exp.), Shira-Kawa Tokyo, Japan, 1971, p. B-473.
- 60) "British Pharmacopeia", 1948, p. 494.
- 61) "Korean Pharmacopeia", 2nd Rev., Vol. 1, 1967, p. 634~637).
- 62) "Japanese Pharmacopeia", 8th Rev., (Exp.), Shira-Kawa, Tokyo, Japan, 1971, p. B214-222.
- 63) "The United States Pharmacopeia" 19th Rev., 1975, p. 592~595.
- 64) F. W. Bowman, *J. Pharm. Sci.*, 58, 1301(1969).
- 65) A. Beloian and L. S. Stewart, "Disinfection, Sterilization and Preservation", 1968, p. 114.
- 66) "The United States Pharmacopeia", 19th Rev., 1975, p. 594~595.
- 67) S. Holdowsky, Antiliot, *Chemotherapy*, 2, 49 (1957).
- 68) F. W. Bowman, *J. Pharm. Sci.*, 55, 818 (1966).