

# 프로바이오틱스 균주 개발 및 상용화

## Development of Probiotics and Industrialization

박명수<sup>1,3</sup>, 지근억<sup>2,3</sup>

Myeong Soo Park<sup>1,3</sup>, Geun Eog Ji<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>연성대학교 호텔조리과, <sup>2</sup>서울대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>(주)비피도

<sup>1</sup>Department of Hotel Culinary Arts, Yeonsung University,

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Seoul National University, <sup>3</sup>Research Center, BIFIDO Co., Ltd

### 1. 프로바이오틱스의 정의

프로바이오틱스(probiotics)라는 용어는 ‘pro-life’의 의미로, 1965년도에 Lilly와 Stillwell에 의하여 ‘미생물이 생산하는 생육촉진인자’로 처음 정의되었으며 장건강 뿐 아니라 전반적인 건강에 관련된 다양한 효능 등에 대한 더 많은 연구가 진행됨에 따라 여러 차례 수정 보완되어 2002년도에 FAO-WHO에 의하여 ‘살아있는 미생물로 적정량 섭취하였을 때 기주의 건강에 유익한 작용을 하는 균’으로 정의되어 사용되고 있다.

FAO-WHO에서는 프로바이오틱스의 대표적인 균으로서 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus*를 권장하고 있다. 이들은 일반적으로 유산균으로 분류되는데, 유산균은 그람양성 세균으로서 포도당을 분해하여 주로 젖산을 생산하는 균을 말한다. 비피더스균(*Bifidobacterium*)은 분류학상으로는 Ac-

tinomycetales에 속하지만 일반적으로 유산균으로 분류한다. 현행 건강기능식품법에서는 다음과 같은 종의 균들을 프로바이오틱스로 사용할 수 있도록 허용하고 있으며 이들에 대하여 ‘유산균 증식 및 유해균 억제·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음’이라는 기능성 내용을 홍보에 이용할 수 있도록 하고 있다. 이는 프로바이오틱스 전반에 걸쳐서 일반적으로 인정되는 효능이며 이 기능성 이외의 효능에 대해서는 별도의 심의 절차를 거쳐서 ‘개별인정형’ 원료로 허가하고 있다.

### 2. 프로바이오틱스의 건강 기능 효과

우선 매우 중요한 사실은 인체의 장내에 성인 기준으로 약 1 킬로그램에 달하는 수백조의 장내 균들이 있다는 것이다. 이들 중에는 병원균, 식중독 균들도 존재하고 있고 암모니아, 아

Corresponding Author: Geun Eog Ji  
Department of Food and Nutrition, Seoul National University  
Seoul, 151-747, Republic of Korea  
Tel: +82-2-880-8749  
Fax: +82-2-884-0305  
E-mail: geji@sun.ac.kr

Table 1. Definitions of probiotics

Authors	Definition
Lilly and Stillwell (1965)	Growth promoting factors produced by microorganisms
Parker (1974)	Organisms and substances with beneficial effects for animals by influencing the intestinal microflora
Fuller (1989)	A live microbial feed supplement which beneficially affects the host animal by improving its intestinal microbial balance
Havenaar and Huis Int Veld (1992)	A mono- or mixed culture of live microorganisms which, applied to animal or man, affect beneficially the host by improving the properties of the indigenous microflora
ILSI Europe Working Group (1998)	A viable microbial food supplement which beneficially influences the health of the host
Naidu et al (1999)	A microbial dietary adjuvant that beneficially affects the host physiology by modulating mucosal and systemic immunity, as well as improving nutritional and microbial balance in the intestinal tract
Schrezenmeir and de Vrese (2001)	A preparation of a product containing viable, defined microorganism in sufficient numbers, which alter the microflora in a compartment of the host and by that exert beneficial health effects in this host
FAO-WHO (2002)	Live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host

Table 2. 건강기능식품법에 등재되어 있는 프로바이오틱스

Probiotic Strains	
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. gasei</i> , <i>L. delbruecki sp. bulgaricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. salivarius</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. animalis sp. lactis</i>

민, 황화 수소 등의 유해 물질을 지속적으로 생산하는 균들도 있다. 반면에 이들 유해균의 증식을 방해할 수 있는 유익균들도 살고 있다. 따라서, 프로바이오틱스를 추가적으로 섭취하면 장내의 유익균 비중을 증가시키고 유해균의 비율을 감소시켜 장내의 환경 개선에 도움이 된다. 참고로 장의 부위에 따라 서식하는 유익균의 종류가 다른데 소장에서는 *Lactobacillus* 등이 잘 살 수 있지만 대장에서는 *Bifidobacterium*이 정착하고 *Lactobacillus*는 잘 자라지 못한다. 필자의 연구나 다른 연구자들의 연구 결과에 의하면 요쿠르트나 김치를 섭취하더라도 *Lactobacillus* 등의 일반 유산균은 대장 내에서 주요균으로 자리잡지 못한다. 사실 대부분의 세균이 서식하는 곳은 대장이기 때문에 대장의 건강한 균총을 만

들기 위하여 *Bifidobacterium*을 섭취하는 것이 중요하다. *Bifidobacterium*은 절대 혐기성균이기 때문에 일반적으로 발효 식품에서는 잘 자라지 못하여 보통은 건강기능식품 형태로 섭취하게 된다. 필자는 한국인의 유아와 청장년 및 노인층의 장내 균총을 연구하여 발표한 바 있는데 모유를 섭취하는 유아의 경우 *Bifidobacterium*이 장내의 우세 균총으로 자리잡다가 이유식섭취를 기점으로 *Bifidobacterium*은 일생동안 현저히 지속적으로 감소하고 이유식 이후에는 *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium* 등 유해성을 갖는 균들이 우세하여 진다는 것을 발표하였다. 따라서, 프로바이오틱스 섭취를 통하여 지속적으로 장내의 균들의 균형을 유지시켜준다면 장내 환경 개선을 통한 건강 유지에 도움이 된다는 것을 잘 이



Table 3. Summary of plausible health benefits and mechanisms of probiotics

프로바이오틱스의 효과	제안된 작용 기작
· 유당불내증의 개선	· 프로바이오틱스의 $\beta$ -galactosidase에 의한 유당의 분해
· 장내균총 개선	· 유해균의 성장 억제 및 독성대사물질의 생산 감소 · 항균활성 물질 생산
· 장내감염 억제	· 면역보조제로 작용하여 항체 생산 증진 · 면역반응 촉진 · 감염균에 대한 경쟁적 배제 · pH 저하, 단쇄지방산, bacteriocins 생산에 의하여 병원성 세균에 불리한 장내환경 조성 · 독소 결합부위의 변형 · 장내균총 조절 · 장점막에 부착하여 병원성세균의 부착 방지 · 영양소에 대한 경쟁
· 면역체계의 강화	· 감염에 대한 비특이적 방어시스템 강화 · 백혈구 세포의 식세포 작용 강화 · <i>Salmonella typhimurium</i> 감염후의 혈장 IgA 생산 증진 · IgA 생산 증진 · 점막내 임파구의 분화 촉진 · 면역강화 보조제로 작용 · Th1/Th2 균형 조절 및 cytokine 합성 유도
· 염증이나 알레르기 반응 감소	· 면역시스템의 항상성 회복 · 사이토카인 합성 조절 · 항원의 혈류내로의 전이 방지
· 대장암 억제 활성화	· 돌연변이원에 대한 흡착 · 발암물질 불활성화 · 발암물질 생성 장내세균 억제 · 면역반응 · 2차 담즙산 농도 감소
· 혈중 지질 및 심장병예방	· 콜레스테롤의 흡착 · 담즙산 탈복합효소 활성 조절 · 항산화 활성화
· 고혈압 예방	· 우유 단백질에 대한 펩티다아제 활성으로 항고혈압 펩티드 생산 · 세포벽 성분이 항고혈압인자로 작용
· 요로감염 억제	· 요로 및 질내에 흡착하여 경쟁적 배제 작용 · 과산화수소수 및 생물학적 계면활성제 등 저해물질 생산
· <i>Helicobacter pylori</i> 감염 억제	· 경쟁적 배제 · 젖산 생산 · 프로바이오틱스 배양액의 섭취에 따른 <i>H. pylori</i> 의 유레아제 활성 약화
· 변비 개선	· 장의 운동성 개선

해할 수 있다.

프로바이오틱스의 질병 관련 효과에 대한 메타 분석에 의하면 프로바이오틱스의 섭취가 설

사, 영유아 아토피, 과민성 장 증상에 대한 긍정적인 효과를 나타낸다. 설사에 대하여는 로타바이러스 설사, 항생제 투여에 수반되는 설사와

*Clostridium difficile* 설사 증상의 개선에 도움이 되며 특히 설사의 기간이 단축되는 결과들이 나타났다. 프로바이오틱스의 섭취는 과민성 장 증상을 가진 사람의 삶의 질 개선 및 과민성 장 증상에 수반되는 복통의 개선 등에 효과가 있었다. 과민성 장 증상은 설사형, 변비형, 설사와 변비의 교대형 등이 있는데 스트레스성 생활환경과 정도의 염증이 과민성 증상의 발현과 관련이 있다고 알려져 있다. 과민성 장 증상 개선에는 특히 *Bifidobacterium*이 *Lactobacillus* 등에 비하여 더욱 우수한 효과를 나타낸다는 보고가 있지만 이에 대한 검증을 위해서는 추가 연구가 진행되어야 할 것이다. 최근에는 프로바이오틱스의 섭취가 아토피 피부염의 발병을 억제한다는 연구 보고가 많다. 지금까지의 긍정적인 결과들은 주로 출산 전 산모가 섭취하고 출산 후 신생아에게 이어져 섭취하는 perinatal 간접 연구에서 얻어졌다. 한국에서 수행된 인체 실험에서도 *Bifidobacterium bifidum* BGN4를 포함하는 프로바이오틱스 섭취

가 아기들의 아토피를 예방하는 것으로 나타났다. 아직 정확한 작용기작이 알려져 있는 것은 아니지만 프로바이오틱스가 장내 면역계의 균형 유지, 장점막 세포의 정상적인 조직 유지 및 유해물질의 장 점막 투과 억제, 유해균에 대한 항균 작용 등 건강한 장 환경 균형을 유지하는데 기여하는 것으로 사료된다. 위와 같은 프로바이오틱스 관련 연구 결과들을 검토하여 보면 프로바이오틱스가 질병에 대한 분명한 치료효과를 나타내는 것이라기보다는 건강한 장과 생체 방어를 유지하는데 도움이 되면서 관련 질병 관리에 보조적으로 활용할 수 있다는 것을 알 수 있다. 이상의 내용들을 종합적으로 볼 때 프로바이오틱스는 건강기능식품으로 활용할 만한 충분한 가치가 있다고 결론 내릴 수 있다. 또한 현재 판매되고 있는 프로바이오틱스 관련 제품이 외에도 새로운 가치를 창출하는 프로바이오틱스 첨가 식품 및 프로바이오틱스 기반의 다양한 발효 식품의 개발이 기대된다. 아직은 특정 증상

Table 4. Procedure for the isolation and characterization of novel probiotics

Steps	To be Considered
Isolation	• Origin of the isolates (animal, human, food, environment)
Identification	• Physiological, taxonomic classification
Functional Characterization	• Resistance to gastric conditions (acids and bile) • Adherence to mucus and human epithelial cells • Antimicrobial activity against potential pathogens • Inhibition or displacement of pathogen adhesion • In vitro health promoting effect
Safety	• Antibiotics resistance • Assessment of metabolic activity • Production of toxic component • Hemolytic potential • Dose dependent toxicity • Genome sequencing
Technological properties	• Growth in the commercial medium • Resistance to process stress (pH, NaCl, Temperature, Oxygen, Shear force etc.) • Survival under processing and storage conditions
Efficacy	• Animal test • Human clinical studies (double blind, randomized, placebo controlled) for safety and efficacy



에 대한 특정 균주의 효과가 명확하게 증명된 것은 아닌 점을 고려하여 인체실험에서의 효과가 입증된 균주들을 중심으로 소장에서 증식하는 *Lactobacillus* 등의 유산균과 대장에서 증식하는 *Bifidobacterium*의 균주를 함께 포함하는 것이 장내 건강관리에 도움이 될 것이다.

### 3. 프로바이오틱스 상용화를 위한 고려 사항

특정 프로바이오틱스 균주를 개발하기 위한 일반적인 프로세스는 다음과 같이 정리 할 수 있을 것이다. 적절한 시료에서 균주를 분리하고 유전자 수준까지의 동정을 거쳐 프로바이오틱스 예비 균주 library를 확보한 후 이들을 대상으로 기본적인 기능성 및 안전성과 다양한 타깃 효능에 대한 선발과정을 통해 선발된 잠재적 프로바이오틱스를 확보하게 된다. 최근에는 각국에서 균주의 동정 및 안전성 측면에서 선발균주의 계통정보를 요구하고 있으므로 이에 대한 대비도 필요하다.

#### 3.1 균주 특이적 효능

위에서 살펴본 바와 같이 프로바이오틱스의 효능에 대한 연구는 매우 광범위하게 이루어지고 있고 특히 최근에는 장 건강 등 일차적인 기능성 이외에도 대사증후군, 뇌건강 등 신체 전반의 건강에 미치는 프로바이오틱스의 효능이 연구되고 있는 실정이다. 이러한 과정에서 매우 빈번하게 알려지는 특징으로는 프로바이오틱스의 효능은 균주 특이적(strain specific)이라는 점이다. 즉, 동일한 종(species)과 속(genus)에 해당하는 균주라도 효능은 매우 다를 수 있다는 의미이다. 일례로 본 연구진에 의하여 연구되었던 비피더스 균들 중에서 장 상피세포 부착능에 대한 연구결과를 보면 비피더스균들 간에 특히 동일한 종과 속에 속하는 미생물들 간의 효능의 차이가 매우 큼을 알 수 있다.

아직은 특별한 국적의 사람에게 적합한 균이

**Table 1.** Adhesion of the *Bifidobacterium* to Caco-2 cells.

<i>Bifidobacterium</i> strains	Adherent bacteria*
BGN-4	500
E2-18	168
E-15	132
JS-9	84
RD-54	67
SI	61
SH-2	47
RD-60	42
<i>B. bifidum</i> ATCC 2952	35
CN-2	30
SJ-32	26
KJ	24
HJ-30	23
<i>B. animalis</i> ATCC 2552	22
SH-5	17
<i>B. adolescentis</i> ATCC 15703	19
<i>B. infantis</i> ATCC 15697	15
<i>B. longum</i> ATCC 15707	11
M-6	10
MS-1	10

\*Mean numbers of adhering bifidobacteria per 50 Caco-2 cells.

그림 1. Caco-2 Cell에 대한 *Bifidobacterium*의 부착능 비교(J. Microbiol. Biotechnol. 2003, 13(2), 276-281)

존재한다고 증명된 것은 아니지만 유전적 및 환경적 요인에 따른 적응균의 종류가 다른 점을 고려하면 한국인의 식생활에 따른 대사에 적응하여 장내 대사를 수행하는 균의 생리활동 및 알맞게 적응한 균주의 존재 가능성에 대한 연구도 흥미로울 것이다. 식생활에 따른 서로 다른 장내 균의 조성이 형성되는 것은 영아기 대상에서 매우 분명하게 증명되어진다. 모유를 섭취하는 아기는 분유를 섭취하는 아기에 비하여 *Bifidobacterium* 균수가 현저히 많다. 프로바이오틱스의 유익 작용에 대한 평가는 인체 실험을 통하여 증명되는 것이 바람직하지만 현재는 과거의 섭취 경험으로부터 유익하다고 간주되어온 균들도 프로바이오틱스로 유통되고 있다.

#### 3.2 균주의 유래

프로바이오틱스 균주를 선택할 때 장내에서 잘 정착하는 것을 고려하여 인체 유래 프로바이오

Table 5. 프로바이오틱스 생산 공정에서 고려할 사항

공정	고려사항	공정변수	기타
배양	발효배지	탄소원, 질소원, 미량원소, 생육촉진인자 등	모든 공정이 외부 잡균의 오염을 막을 수 있도록 조치
	배양조건	pH, 온도 등	
	단가고려	각종 배지의 단가고려	
	회수시기	어느 시점에서 발효를 중단하고 회수할 것인가?	
회수 및 동결 건조	회수조건	균체 분리 회수	
	보호제	생존률을 높일 수 있는 동결보호제의 선택	
	동결건조	동결건조 조건을 어떻게 할 것인가	
제품화	저장성	저장 조건에 따른 생존률 평가	
	가속화	가속화 실험을 통한 평가	
	표준화	제품의 균일성 유지를 위한 표준화	

틱스 균이 바람직하다. 사실 시험관내 실험 결과를 인체 실험 결과에 그대로 적용하는 것은 무리가 많다. 시험관내에서 내산성 결과와 내담즙성이 좋은 균주가 장에 잘 정착하는 것도 아니고 인체내에서 일상적으로 잘 살고 있는 균들이 내산성 내담즙성이 특별히 우수한 것도 아니다. 따라서, 인체 장내에서 잘 정착할 수 있는 균주들을 활용하는 것이 바람직하고 그 평가는 인체 실험을 통하여 이루어져야 한다. 그동안 많은 균주들이 외국으로부터 수입되어 사용되어 왔는데 외국에서 개발된 균주들 중 일부는 개발 단계에서 실험실내의 내산성 및 내담즙성이 강한 균주들을 선발하는 과정을 거치면서 결과적으로 동물 유래 유산균이 선발되어 상용화되기도 하였다. 앞으로 프로바이오틱스의 사용균주, 사용량, 최선의 제품 배합 조성, 적합한 섭취 대상자, 섭취 시기 등에 대한 보다 면밀한 연구들이 진행될 것이지만 현재까지 밝혀져 있는 프로바이오틱스에 대한 과학적 사실로 볼 때 프로바이오틱스의 적절한 사용은 다양한 사람들의 건강 유지 및 증진에 기여할 것으로 사료된다.

### 3.3 생리활성 프로바이오틱스의 산업적 생산

이상에서 살펴본 바와 같이 다양한 기능성을

가지는 프로바이오틱스를 분리하였을 경우 이를 상용화하기 위해서는 경제적인 균체의 생산을 위한 연구가 수반되어야 한다. 생산 공정은 starter 배양, 본 배양, 회수, 동결건조, 원말화로 나누어 질 수 있으며 각 공정마다 다양한 변수들이 존재하므로 이에 대한 최적화의 과정이 필요하다. 이 또한 생산하는 균주의 특성에 의하여 결정되는 것이 많으므로 일괄적인 기준으로 모든 균에 동일할 공정변수를 적용할 수 없다. 일본이나 유럽의 선진기술을 보유한 기업에서는 종균원말의 제조과정을 비밀로 하고 있는 실정으로 국내에서도 (주)비피도, 켈바이오텍 등에서 많은 종균 원말을 산업화하기 위한 노력을 경주하여 국제적으로 경쟁력 있는 프로바이오틱스 원말 제품을 생산하고 있다. 하지만 발효유의 제조에 사용되는 대부분의 종균은 여전히 외국기업에 의존하고 있는 현실이다. 산업적 규모의 생산을 위해서는 반드시 고농도 배양 조건을 탐색하여야 한다. 고농도배양은 종균의 특성에 따라 최적배지를 선발하고 생육증식인자를 포함시켜 배양하는 기술로 가장 기본적인 기술에 해당한다. 이를 위해서는 배지의 최적화, 배양 조건의 최적화 및 스케일 업에 관한 심도 있는 연구가 필요하고 또한 고농도 배양 후 고 효율로 회수할 수 있는 down stream 공정에 대한 공정개발이 함께 이

**Table 6.** 본 연구진의 한국인 유래의 프로바이오틱스 효능평가 요약 (*in vitro*, *in vivo*, human trial)

	실험물질	실험계	실험방법	결과
시험 관연 구	<i>B. lactis</i> AD011, <i>B. bifidum</i> BGN4, <i>Lb. casei</i> IBS041 <i>Lb. acidophilus</i> AD031	Mouse dendritic cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mouse DC 는 단독 또는 상피세포와 배양하여, heat-killed 4종 mixture 로 자극함.</li> <li>• 배양 상청액에서 Cytokine 농도 측정</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 장 모사 co-culture 배양에서 균주 특이적으로 염증성 cytokine 인 IL-6와 TNF-<math>\alpha</math> 의 생산을 감소시키고 면역 조절성 사이토카인인 IL-10 또는 TGF-<math>\beta</math> 을 증가시킴.</li> </ul> <p>World J Gastroenterol. 18(12): 1308-1318, 2012</p>
	<i>B. bifidum</i> BGN4 의 whole cell, cell free fraction, cell wall	Mice의 대식세포 비장세포 Peyer's patches	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RAW 264.7 배양액에서의 대식세포의 활성 측정 : 식세포%</li> <li>• 비장세포와 pp cell 배양액에서의 NO, IL-6 및 IL-10 농도</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>B. bifidum</i> BGN4의 fraction 들은 식세포를 활성화시킬 수 있으며 비장세포와 Peyer's 세포에서 BGN4 세포 분획물들이 염증지표인 NO와 IL-6들을 억제하고 조절성 사이토카인 IL-10을 증가시킬 수 있음.</li> </ul> <p>J. Microbiol. Biotechnol. 16(4) : 584-589, 2006</p>
동물 실험	<i>B. lactis</i> AD011, <i>Lb. acidophilus</i> AD031 또는 2종 Mixture	오발부민(OVA) 감작 female C3H/HeJ mice	알레르기 유발 2주전 부터 7주간/경구	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 프로바이오틱스 단독 또는 혼합 투여군들이 specific IgE, IL-4 등을 억제하고 알레르기 억제성 IL-10과 INF-<math>\gamma</math>농도를 유의적으로 증가시킴.</li> <li>• 프로바이오틱스 투여가 비만세포의 탈과립, eosinophil granule, 알레르기 증상 등을 유의적으로 감소시킴.</li> </ul> <p>J. Microbiol. Biotechnol. 18(8), 1393-1400, 2008</p>
	<i>B. bifidum</i> BGN4	오발부민(OVA) 감작 female C3H/HeJ mice	감작 2 주전부터 7 주간/경구	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BGN4는 OVA-specific IgE 농도 및 총 IgE농도를 유의적으로 감소시킴.</li> <li>• 알레르기 증상(코리 손상중등도) 유의적으로 감소시킴.</li> <li>• 귀조직에서의 비만세포 탈과립율은 유의적으로 감소시킴.</li> </ul> <p>FEMS Immunol Med Microbiol. 45(2):259-67, 2005</p>
	<i>B. bifidum</i> BGN4	CD4+ CD45RBhigh T cell transfer colitis model (IBD)	0.3%의 BGN4+ skim milk/4 주 (0.9- 1.5 $\times$ 10 <sup>9</sup> )# 대조군 : skim milk-fed mice	<ul style="list-style-type: none"> <li>• skim milk-fed mice 는 체중 감소 및 연변 그리고 심각한 대장염이 나타난 반면, BGN4 는 대장염 증상에 수반된 체중감소, 연변 등을 감소시킴.</li> <li>• 비장 및 대장에서 염증성 림프구 침윤을 감소시킴.</li> <li>• 비장과 대장의 CD4+ T cells %는 skim milk-fed mice 와 비교시 유의적으로 감소하였으며 대장에서의 CD4+ CD69+ 수도 유의적으로 감소함 (p&lt;0.05).</li> <li>• 비장과 대장의 단핵세포의 IFN-<math>\gamma</math> 와 TNF-<math>\alpha</math> 농도는 skim milk fed mice 와 비교시 유의적으로 감소함(p&lt;0.05). 반대로 Th2-type cytokines, IL-4, IL-5, IL-10 농도는 두 군간에 유사하였음.</li> <li>• anti-CD3 mAb activated splenocytes 와 배양된 장내 상피세포에서 IFN-<math>\gamma</math> 와 MCP-1 합성과 같은 Th1-type cytokine의 생성을 저해하는 것으로 나타남.</li> </ul> <p>Clinical Immunology 123:30-39, 2007</p>

	실험물질	실험계	실험방법	결과
동물 실험	<i>B. bifidum</i> BGN4	오발부민(OVA) 감작C3H/HeJ mice	초기 감작 2 주전부터 7 주까지 or 초기감작 2 주 후 /식이 (OVA 및 choleratox 으로 3, 4, 6 주째에 감작)	<ul style="list-style-type: none"> <li>감작전부터 BGN4를 섭취시키는 것이 감작 후부터 섭취시키는 것보다 알레르기 증상, specific IgE 등을 효과적으로 감소시킴.</li> <li>비장세포 배양액에서 감작 전 BGN4 를 섭취 시작한 군과 감작 2 주 후 BGN4 를 섭취 시작한 군 모두 IFN-<math>\gamma</math> 가 증가하였으나, IL-6 및 IL-18농도는 감소함.</li> </ul> Biotechnol. Lett. 27: 1361-1367, 2005
	<i>B. bifidum</i> BGN4	오발부민(OVA) 감작 C3H/HeJ mice (OVA 감작 : 0, 1, 2, 7, 21 일)	감작 2 주전부터 21일/식이	<ul style="list-style-type: none"> <li>Th1 과 관련된 IFN-<math>\gamma</math> 및 IgG2a 농도는 대조군보다 높았으며, IL-4 는 감소함.</li> </ul> J. Microbiol. Biotechnol 15(2) : 265-268, 2005
	<i>B. bifidum</i> BGN4	5 주령의 오발 부민(OVA) 감작 C3H/HeJ mice	BGN4의 새균, 사균, 파쇄균 비교	생균, 사균, 파쇄균 모두 알레르기 억제 효과가 있었지만 생균이 가장 효과적. 감작 IgE와 알레르기 증상 점수 등을 낮춤. J. Microbiol. Biotechnol 16(7) : 1010-1016, 2006
임상 연구	<i>B. bifidum</i> BGN4, <i>B. lactis</i> AD011, <i>Lb. acidophilus</i> AD031	알러지 병력이 있는 112명의 임 산부	무작위 이중맹검 위약 대조(IRB 승인)	<ul style="list-style-type: none"> <li>6개월째, 습진의 유병률은 시험군이 대조군의 절반 정도였으며, 1년째에는 유의적인 감소를 보임 (p&lt;0.05).</li> <li>습진의 1년간 누적발생율도 시험군이 대조군에 비해 유의적 감소를 보임(p&lt;0.05).</li> </ul> Pediatr Allergy Immunol 21: e386-e393, 2010
	<i>B. bifidum</i> BGN4; <i>B. lactis</i> AD011; <i>Lb. acidophilus</i> AD031; <i>Lb. casei</i> IBS041	IBS(파민성 대장 증후군)로 진단 받은 19-75세의 성인 70명(진단 : Rome III)	무작위 이중맹검 위약 대조(IRB 승인)	<ul style="list-style-type: none"> <li>섭취 8주 후, 복통 score는 유의적으로 감소하였으며 배변장애 score 는 섭취 4주 후 유의적으로 감소함(대조군 대비, p=0.045, p=0.043).</li> <li>baseline 에서의 Bristol stool form scale 이 3이상인 58명의 Subgroup 분석결과, 복통(4, 8주 대조군 대비, p=0.04, p=0.06),배변장애(4주 대조군 대비, p=0.013) 그리고 총 score(4주, 8주 대조군 대비, p=0.013)가 좀 더 유의적으로 감소되는 것이 확인됨.</li> </ul> Gut and Liver, 3(2): 101-107, 2009
	<i>B. bifidum</i> BGN4, <i>B. lactis</i> AD011, <i>Lb. acidophilus</i> AD031	생후 1년째의 유아 48명에서 얻 은 혈액	무작위 이중맹검 위약 대조(IRB 승인)	<ul style="list-style-type: none"> <li>23명 시험군, 25명 대조군</li> <li>생후 1년 째, 시험군의 아토피 피부염 누적 발생률이 대조군보다 유의적으로 낮았음 (30.4% vs. 68.0%; p =0.009).</li> <li>IL-10와 IFN-<math>\gamma</math> 농도는 시험군이 대조군보다 높았으나, 두 군간에 유의적 차이는 나타나지 않음.</li> <li>TGF-<math>\beta</math> 농도는 시험군이 대조군보다 유의적으로 높았음(p=0.043).</li> </ul> J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 54(6): 944-948, 2011



<p>적용 제품</p>		
	<p>양산용 배양시스템</p>	<p>(주)비피도 전경</p>

루어져야 한다. 즉 회수 시기, 회수방법, 건조 방법, 동결보호제, 보존방법 등에 대한 고려를 하여야 한다.

### 3.4 배양조건 최적화

균주의 대량생산을 위해서는 먼저 각 균주에 적합하도록 배지의 조건을 확립하는 것이 우선되어야 한다. 각 균주마다 필요한 영양요구성이나 생육특성이 다양하기 때문에 각 균주에 대한 탄소원, 질소원, 미량원소 등의 종류와 농도에 대한 최적화가 되어야 한다. 특히 비피더스균의 경

우는 절대 혐기성 균으로 배양 및 회수공정에서 혐기적인 상태의 유지를 위한 조치가 반드시 필요하다. 일반적으로 유업에 사용되는 종균용 배지는 skim milk를 기본으로 하기도 한다. 최근에는 두유를 이용한 연구도 되고 있는데 이는 콜레스테롤과 lactose가 없고 경제적으로 비용이 적게 드는 장점이 있다. 유산균은 기본적으로 유기산을 생성하며 자신이 생산한 유기산에 의해 군체가 사멸되는 현상이 발생하여 배양 중에 적절하게 pH를 조절하는 조건의 설정이 필요하다. 또한 프로바이오틱스의 생산에 있어서 배지가 단가에 차지하는 비중이 상당히 많기 때문에 낮은 비용의

배지 개발이 필요하다.

배지의 최적화를 위해서는 다양한 시행착오가 있게 되므로 이를 줄이기 위한 전략적인 접근방법을 세우고 각 변수를 종합적으로 판단할 수 있도록 실험조건을 설정할 필요가 있다.

프로바이오틱스의 경우는 생균수를 최대로 달성할 수 있는 생산조건을 설정하는 것이 가장 중요하다. 따라서 균체의 양으로 판단하기 보다는 각 생육 단계별로 생균수를 측정하여 어느 시점에서 배양을 종료하는 지를 결정해야 한다.

#### 4. 프로바이오틱스 상용화 사례

본 연구자는 개발단계에서부터 인체 적합성 및 생리활성을 고려하여 한국인으로부터 분리한 *B. bifidum* BGN4, *B. longum* BORI, *B. longum* RD47, *B. lactis* AD011, *Lb. acidophilus* AD031, *Lb. casei*

IBS041 균등을 사용하여 *in vitro*, 동물실험 등을 거쳐 서울대학교 병원에서 과민성 장 증상 개선, 성균관 대학교 삼성서울병원에서 유아 아토피 개선 효과, 연세대학교 병원에서 로타바이러스 설사 개선 등의 인체적용효과를 이중맹검법을 통하여 언어 학술 발표를 하여 왔다. 이를 대량배양 조건(SKI)에서 경제적인 수율로 생산하기 위한 최적화 공정을 통하여 상용화한 이들 개발 균주들은 판매되고 있는 대부분의 수입 균과는 현저히 다른 특성을 나타내며 장내 정착성 및 다당류 생산성 등에서 상당히 흥미로운 특징을 보인다. 이상의 프로바이오틱스 균들 중에서 *B. bifidum* BGN4, *B. longum* BORI, *B. longum* RD47, *B. lactis* AD011의 경우는 전체 계놈에 대한 분석을 통하여 안전성 및 고유성에 대한 근거자료를 확보하였으며 다른 중균들에 대한 계놈분석 작업도 진행하고 있다.