

## 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* AF1의 흰쥐에 대한 반복투여독성

이재준 · 김아라 · 장해춘 · 이명렬<sup>†</sup>

조선대학교 식품영양학과

### Repeated-Dose Oral Toxicity Study of *Lactobacillus Plantarum* AF1 Isolated from Kimchi in Rats

Jae-Joon Lee, Ah-Ra Kim, Hae-Choon Chang, and Myung-Yul Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

#### Abstract

This study was performed to investigate the 4-week repeated-dose toxicity of *Lactobacillus plantarum* AF1 (*Lb. plantarum* AF1), a lactic acid bacteria isolated from kimchi, in male and female rats. Sprague-Dawley male and female rats were divided into four groups, with 10 animals in each group. The test article was administered once daily by gavage to rats at dosage levels of 0, 0.5, 1.0, and 2.0 g/kg/day for 4-weeks. There were no test article-related deaths or abnormal clinical signs in either gender of rat during the observation period. Furthermore, no differences were found between the control and treatment groups in terms of body weight changes, food intake, and water consumptions. Hematological parameters, serum biochemical analysis, and any other findings also showed no significant or dose-dependent alterations. There were no alterations in organ weights upon administration of *Lb. plantarum* AF1. These results suggest that there were no adverse effects of oral application of *Lb. plantarum* AF1 up to a dosage level of 2.0 g/kg in both male and female rats.

**Key words:** *Lactobacillus plantarum* AF1, repeated four-week oral toxicity, rats

#### 서 론

식품발효에 관여하는 미생물 중 유산균은 기능성 probiotic 미생물로서 주목을 받고 있는 유익한 생균으로 항균 활성, 항종양 활성, 대장암 예방효과, 면역활성 증진효과, 혈청 콜레스테롤 저하효과 및 정장작용 등 다양한 생리기능을 나타낸다고 보고(1-3)되었다. 유산균은 또한 발효식품의 풍미증가와 더불어 식품 보존 작용을 하는 것으로 알려져 있으며, 유산균이 식품보존 기능은 유산균이 생산하는 유기산에 의한 pH 저하, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, diacetyl, bacteriocin 등의 항균물질들을 생산하여 유해 미생물의 생육을 저해한다고 한다(4,5).

우리나라 전통발효식품인 김치는 숙성과정 중에 다양한 김치 유산균이 증식하여 발효에 관여하므로 유용 유산균의 훌륭한 보고이며, 김치 유래 주요 유산균은 *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella* 및 *Pediococcus* 속이 있는 것으로 알려져 있다(6,7). 최근에 김치에서 분리한 유산균이 조류독감 바이러스(AI virus)의 감염 억제효과가 있다고 알려지면서 식품과 사료업계에서 김치 유래 유산균이 주목을 받고 있다(8). 따라서 유산균의 항세균 활성과 항세균 물질(bacteriocin), 항진균 활성에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있

다(8-15).

유산균 중 항세균 혹은 항진균 활성이 있는 것으로 알려진 *Lactobacillus plantarum*(*Lb. plantarum*)에 관한 연구를 살펴보면, Lee 등(10)이 김치에서 분리한 *Lb. plantarum* LHC52는 병원성 미생물 중 *E. coli*에 대한 높은 항균효과가 있다고 하였다. 또한 김치로부터 분리한 *Lb. plantarum* AF1은 식품 부패 곰팡이와 병원성 곰팡이에 강한 생육 저해활성을 나타내었으며, 항진균 활성이 특히 우수하다고 보고되었다(12, 13). Cho 등(8)도 생균제로 이용 가능성이 있는 유산균주인 *Lb. plantarum* JK-01을 동정하였다. 이외에도 *Lb. plantarum* KC21(14), *Lb. plantarum* LP31(15), *Lb. plantarum* LHB55(10) 및 *Lb. plantarum* KK3(11)이 병원성 미생물 성장을 억제한다고 보고하였다. 이와 같은 *Lb. plantarum*의 항세균 및 항진균 활성 때문에 천연항균제로서 개발하는데 가장 적합한 균주로 여겨지고 있다. 따라서 무분별한 항생제 사용으로 인한 항생제 내성균을 줄일 수 있는 방안으로 유산균이 생성하는 bacteriocin과 같은 천연 항균제 개발이 절실히 요구되고 있다.

전통적으로 식용으로 섭취된 식물들은 오랜 경험적 사용과 시간에 따라 안전하다고 여겨지지만 안전성과 독성에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 이와 관련된 연구로는

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: mylee@mail.chosun.ac.kr  
Phone: 82-62-230-7722, Fax: 82-62-225-7726

Donohue 등(16)이 유산균의 급성독성연구에서 마우스의 최소치사량이 6 g/kg 이상이라고 보고하면서 매우 안전한 물질이라고 하였다. *Lb. acidophilus* HN017, *Lb. rhamnosus* HN001 및 *Bifidobacterium lactis* HN019 생균과 사균을 마우스에게 7일간 매일 경구투여 하였는데 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다고 하였다(17). 또한 김치로부터 분리한 exopolysaccharide 생성 유산균인 *Leuconostoc kimchii* GJ2에 대한 급성독성시험 결과 시료 물질 투여로 인한 어떠한 독성학적인 변화를 관찰할 수 없었다(18). 우수한 발효능, 박테리오 생성능 및 박테리오 생성 유도 작용을 동시에 갖춘 유량 종균으로 알려진 *Leuconostoc citrum* GJ7의 안전성 평가에서도 유산균은 저독성의 안전한 물질로 보고하였다(19). 또한 Son(20)이 김치로부터 분리·동정하여 장에 정착성이 우수하고 내산성, 인공위액, 인공담즙에 높은 저항성을 나타낸 *Helicobacter pylori* 억제능이 우수한 유산균주로 선별된 *Pediococcus pentosaceus* MD1의 4주 반복 투여 독성 시험에서도 최고 용량 투여군인 2,000 mg/kg에서 일반증상, 체중변화, 사료섭취량 및 물 섭취량을 측정된 결과, 시험물질과 관련된 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다고 보고(21)하였다.

본 연구는 김치로부터 분리·동정하여 항세균뿐만 아니라 항진균 활성을 지닌 *Lb. plantarum* AF1을 천연항균제로의 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 먼저 안정성 평가의 일환으로 반복 투여 시 나타날 수 있는 독성평가를 위해 Sprague-Dawley 계열 흰쥐를 이용하여 4주간 반복독성시험을 “의약품 등의 독성시험 기준(식품의약품안정청고시 제 1999-61호)”에 준하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질

시험 유산균주는 광주광역시와 전라남도 등지에서 수집한 잘 익은 배추김치에서 분리한 것으로 조선대학교 식품영양학과 식품미생물실험실에서 항진균 및 항세균 활성이 우수하다고 알려진 유산균주인 *Lb. plantarum* AF1을 선별하여 시험에 사용하였다(12,13). 유산균 성장배지는 MRS(Difco laboratories, Detroit, MI, USA)의 액체를 사용하였으며, 배양조건은 30°C incubator(Vision Co., Seoul, Korea)에서 24시간 정치 배양하였다. 배양한 *Lb. plantarum* AF1을 4,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 배양액중의 균체를 회수하여 시료로 사용하였다.

### 공시동물 및 사육환경

Sprague-Dawley(SD) 계통의 특정병원균 부재 암수 흰쥐 각각 5주령 40마리를 중앙실험동물(주)(Seoul, Korea)로부터 구입하여 공급처에서 제공한 시험계의 병원체 검사 성적서를 참고로 하여 입수동물의 검수검역을 실시하였다. SD 계통 흰쥐는 전 세계적으로 반복 투여독성 등의 시험에 널리

사용하고 있어 비교할 만한 시험 기초자료(22-24)가 축적되어 선택하였다. 실험 전 7일간의 순화사육 기간 동안에 임상 관찰 등을 시행하여 체중감소가 없는 건강하고 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 시험동물은 온도 23±1°C, 상대습도 55±5%, 환기 회수는 시간당 10~18회, 조명은 12시간 명암주기(08:00~20:00), 조도는 300~500 Lux의 사육환경에서 스테인리스 스틸케이지에 1마리씩 암수 각각 넣어 4주간 사육하였다. 사료는 실험동물용 고품사료(Jeilfeed Co., Daejeon, Korea)를 자유 급여하였으며, 음수는 여과된 정제수를 자유 섭취시켰다.

### 시험군의 구성 및 투여용량의 설정

실험동물은 순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군 분리를 실시하였다. 투여 용량은 미국 환경보호청(US Environmental Protection Agency)에서 무해물질 분류 기준에 근거하여 설정하였다. 투여용량 설정은 예비 독성시험 결과를 바탕으로 하였으며, 반복투여 독성시험에서 시험물질의 독성이 매우 적고 중독량을 정하기가 어려운 경우 투여량의 상한선은 기술적으로 투여할 수 있는 최대량으로 하는 것이 기본이어서, 암수 모두 최고 용량을 2,000 mg/kg/day로 하고, 등비를 1/2로 하여 체중 kg당 500, 1,000 및 2,000 mg을 설정하여 저 용량군, 중간 용량군 및 고 용량군으로 설정하였다. 각 군의 동물 수는 암수 각각 10마리씩으로 하였다. 투여 용량은 경구투여 시 10 g당 0.2 mL를 넘지 않게 일정한 액량으로 시료 물질의 각 농도가 들어 가게 조제하여 투여 액량을 결정하였는데 투여량은 투여직전 체중에 따라 산출하였다. 시험물질인 *Lb. plantarum* AF1은 투여 용량을 고려하여 주사용 멸균증류수에 각 농도 별로 용해하여 사용하였다. 시험물질의 투여는 투여 개시 전에 잘 현탁 시킨 다음 매일 1회 4주간 경구투여용 콘대를 사용하여 위 내에 직접 주입하였으며, 대조물질로는 주사용 멸균증류수를 사용하였다.

### 일반증상 및 사망동물의 관찰

시험물질 투여 당일은 경구투여 후 6시간까지 계속적으로 관찰하였고, 투여 다음 날부터 모든 실험동물에 대하여 매일 1회 이상씩 일반상태의 변화, 중독 증상발현, 사망동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험물질에 의하여 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였으며(25), 이상이 있었던 경우는 증상의 종류, 발견 및 증상의 정도를 개별적으로 기록하였다. 모든 동물에 대하여 매일 폐사나 빈사상태를 살폈다.

### 체중변화, 사료섭취량 및 수분섭취량 측정

모든 동물에 대하여 시험물질 투여 직전 및 투여 후 4주 동안에 매 주마다 일정한 시간에 1회 측정하였다. 사료섭취량 및 수분섭취량은 매주 3회 측정하여 산출하였다.

### 혈액학적 검사

부검 전 12시간 절식시킨 동물을 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취시킨 후 복대정맥으로부터 전 채혈하여 얻은 혈액의 일부를 EDTA로 항응고 처리한 tube에 넣어 보관한 다음 1시간 이내에 자동혈액측정기(MEK-6318J/K, Nihon Kohden, Tokyo, Japan)를 이용하여 총 적혈구수(red blood cells, RBC), 혈중 적혈구 비율(hematocrit, HCT), 헤모글로빈 함량(hemoglobin, Hb), 평균 적혈구 용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균 적혈구 혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균 적혈구 혈색소 농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 혈소판(platelets), 망상적혈구수(reticulocytes), 총 백혈구수(white blood cells, WBC), 호중구(neutrophils), 호산구(eosinophils), 호염기구(basophils), 림프구(lymphocytes) 및 단핵구(monocytes)의 백분율을 측정하였다.

### 혈액 생화학적 검사

부검 당일 채혈한 혈액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리해서 얻은 혈청에 대하여 혈액생화학적 검사를 자동분석기(Hitachi-747, Hitachi Medical., Tokyo, Japan)를 사용하여 알려진 아미노기전이효소(alanine transaminase, ALT), 아스파라진산 아미노기전이효소(aspartate transaminase, AST), 아스파라진산 아미노기전이효소(alkaline phosphatase, ALP), 포도당(glucose, GLU), 요소(blood urea nitrogen, BUN), 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), 중성지질(triglyceride, TG), 총 단백질(total protein, TP), 알부민(albumin) 및 크레아티닌(creatinine, CRE)을 측정하였다.

### 부검 및 육안검사

시료물질 투여 후 28일째까지 생존한 동물은 CO<sub>2</sub>로 마취시킨 후 방혈 치사시킨 다음 부검하여 육안적 외부소견, 피하, 내부 장기 및 뇌의 이상 유무를 관찰한 후, 장기를 적출한 다음 무게를 측정하였다.

### 병리조직학적 검사

모든 실험동물의 최종 부검일에 시료물질을 투여한 모든 실험동물의 육안적 병변을 관찰한 후, 심장, 폐장, 간장, 비

장, 신장, 뇌, 뇌하수체, 고환, 부고환, 난소, 자궁, 전립선, 부신, 가슴샘, 위, 췌장, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 타액선, 임파절, 대퇴근, 좌골신경, 피부, 전립샘 등을 적출하여 고환, 부고환 및 소화기 각 부위는 Boulin액에 고정하였고, 나머지는 10% 중성완충포르말린 용액으로 고정하였다. 또한 안구는 Davidson액에 고정하였다. 그 다음 파라핀 포매를 실시하고 3~4 μm의 절편을 준비하여 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하였다.

### 통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0 P/C package(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., New York, NY, USA)를 이용하여 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치분산분석(one way, ANOVA)을 실시하였으며, 사후검정은 Tukey's test에 의하여 시행하였다. 본 연구에 이용된 통계적 유의성 검증은 p<0.05 수준에서 이루어졌다.

## 결과 및 고찰

### 사망률 및 일반증상

김치로부터 분리한 항세균 및 항진균 활성을 지닌 유산균인 *Lb. plantarum* AF1을 암수 흰쥐에게 4주간 경구투여한 후 사망률과 일반증상을 관찰한 결과는 Table 1과 2와 같다. 식품의약품안전청의 독성시험기준을 참고하여 전 시험기간 동안 실험동물을 매일 일정한 시간에 관찰한 결과 사망동물은 관찰되지 않았다(Table 1). 또한 Table 2에서와 같이 시험기간 동안 암수 흰쥐 모두 대조군을 포함한 실험물질 저(500 mg/kg/day), 중(1,000 mg/kg/day) 및 고(2,000 mg/kg/day) 용량 투여군 모두에서 유의할 만한 이상증상이 관찰되지 않았다. 이와 같이 경구투여 독성 한계 용량인 2,000 mg/kg/day에서 시험물질에 의한 이상 증상이 관찰되지 않았음은 SD계통의 흰쥐에서 본 시험물질의 최소치사량이 암수 모두 2,000 mg/kg/day 이상을 상회할 것으로 보인다.

### 체중 변화

암수 흰쥐에게 *Lb. plantarum* AF1을 농도 별로 달리하여 4주간 경구투여한 후 체중의 변화를 살펴본 결과는 Table

Table 1. Mortality of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Dose (mg/kg)	No. of animal	Days after treatment					End	Final mortality
			0	7	14	21	28		
Male	0	10	0/10 <sup>1)</sup>	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S <sup>2)</sup>	0/10
	500	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10
	1,000	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10
	2,000	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10
Female	0	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10
	500	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10
	1,000	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10
	2,000	10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	T.S	0/10

<sup>1)</sup>Values are expressed as the numbers of dead animals/total numbers of animals.

<sup>2)</sup>T.S: terminal sacrifice.

Table 2. Clinical signs of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Dose (mg/kg)	Clinical signs	Days after treatment				
			0	7	14	21	28
Male	0	NAD <sup>1)</sup>	0/10 <sup>2)</sup>	0/10	0/10	0/10	0/10
	500	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,000	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,000	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	0	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	500	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,000	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,000	NAD	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

<sup>1)</sup>NAD: no abnormalities detected.

<sup>2)</sup>Values are expressed as number of animals with the sign/number of animals examined.

Table 3. Body weight changes of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Dose (mg/kg)	Body weight (g)				
		Days after treatment				
		0	7	14	21	28
Male	0	111.14±2.99 <sup>1)NS2)</sup>	151.34±5.53 <sup>NS</sup>	203.81±14.39 <sup>NS</sup>	252.89±12.58 <sup>NS</sup>	307.82±11.28 <sup>NS</sup>
	500	111.81±3.08	153.77±3.83	209.60±9.25	258.21±19.76	315.91±15.71
	1,000	110.28±1.81	154.80±2.18	207.07±9.08	249.00±8.46	312.50±12.82
	2,000	111.49±3.02	147.91±5.25	206.40±5.62	258.45±16.72	308.13±13.76
Female	0	96.71±2.66 <sup>NS</sup>	121.62±14.32 <sup>NS</sup>	154.06±9.39 <sup>NS</sup>	192.42±16.30 <sup>NS</sup>	221.82±15.75 <sup>NS</sup>
	500	96.65±4.15	124.14±7.08	157.92±7.50	199.20±15.52	230.07±13.87
	1,000	95.92±2.47	116.23±14.27	159.80±13.54	192.14±12.66	225.61±18.69
	2,000	95.99±1.53	119.81±4.05	155.71±8.72	199.42±10.71	229.25±11.94

<sup>1)</sup>Values are expressed as means±SE (n=10). <sup>2)</sup>NS: not significantly different among groups.

3과 같다. 전 시험기간 동안 체중의 변화는 암수 흰쥐 모두 대조군과 항세균 및 항진균 활성 기능을 지니고 있는 유산균인 *Lb. plantarum* AF1 저(500 mg/kg/day), 중(1,000 mg/kg/day) 및 고(2,000 mg/kg/day) 용량 투여군 모두에서 유의할 만한 체중 변화는 관찰되지 않았다. 또한 시험물질 투여일로부터 시험 종료 시까지 대조군과 시료 투여군 모두 매주 간 체중의 고른 증가율을 보였으며, 대조군을 포함한 모든 시험군에서 4주간 암컷은 75 g, 수컷은 150 g 정도 내외의 정상적인 체중이 증가되는 현상을 보였다. 최근 유산균 중 *Lb. plantarum* 균주의 생리활성 연구 중 항비만효과에 관한 연구가 수행되었는데(26,27), 건강한 유아의 분변과 발효식품으로부터 분리한 유산균인 *Lb. plantarum* PL62를 고지방식을 급여한 마우스에게 4주간 경구투여 하였을 경우 고지방식이만을 급여한 마우스에 비하여 체중이 유의하게 저하되어 항비만효과가 있다고 보고하였다(26). 또한 건강한 성인 남자 분변으로부터 분리한 *Lb. plantarum* 9-41-A 을 고콜레스테롤식사와 병행하여 6주간 투여하였을 경우 고콜레스테롤식이만을 급여한 흰쥐에 비하여 식이섭취량은 차이가 없었으나 체중이 저하되었으며, 내장지방, 등지방 및 부고환지방조직의 무게가 현저히 저하되었다고 하였다(27). 그러나 본 연구에서는 *Lb. plantarum* AF1 투여로 체중의 변화가 없었는데 이는 정상식을 급여하면서 유산균을 투여하였고, 항비만효과가 나타난 연구에서는 고지방 혹은 고콜레스테롤식을 급여하였기 때문에 다른 결과가 나타난

것으로 보인다.

#### 사료섭취량 및 수분섭취량

사료섭취량의 경우 Table 4에서와 같이 시험기간 동안 암수 모두 시험물질 투여군과 대조군 간에 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 또한 암수 모두 시료물질 투여에 의한 수분섭취량도 Table 5에서와 같이 유의성 있는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

#### 부검결과

실험동물을 부검 후 주요 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과 Table 6에서와 같이 암수 흰쥐 모두 대조군과 시험물질 투여군에서 장기의 유의성 있는 변화나 시험물질의 투여로 인한 용량 의존적인 특이할 만한 부검소견은 관찰되지 않았다.

#### 장기무게

시험기간 중 사망한 동물이 없었으므로 항진균 및 항세균 활성을 지닌 유산균 *Lb. plantarum* AF1을 저(500 mg/kg/day), 중(1,000 mg/kg/day) 및 고(2,000 mg/kg/day) 용량으로 암수 각각의 흰쥐에게 4주간 반복 투여 후 장기무게를 측정한 결과는 Table 7과 같다. 뇌(brain), 폐(lung), 고환(testis), 난소(ovary), 좌우 신장(kidney), 심장(heart), 췌장(spleen) 및 간(liver)의 무게는 암수 모두 시료물질 투여에 의한 차이가 발견되지 않았으며, 투여 용량 의존적인 이상 변화도 관찰되지 않았다. 독성이 있는 물질이 섭취가 되면 가장 먼저 간에서 해독작용이 일어나 간이 가장 큰 영향을

Table 4. Daily food consumption of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Dose (mg/kg)	Food consumption (g/day/rat)			
		Days after treatment			
		7	14	21	28
Male	0	15.32±4.29 <sup>1)NS2)</sup>	20.47±1.99 <sup>NS</sup>	25.26±2.14 <sup>NS</sup>	29.32±2.79 <sup>NS</sup>
	500	15.09±2.01	21.42±2.78	24.91±3.65	28.14±3.74
	1,000	17.09±2.13	20.14±1.45	26.17±1.78	29.17±1.99
	2,000	15.43±1.79	19.81±1.88	24.12±2.33	28.90±3.74
Female	0	13.42±2.44 <sup>NS</sup>	14.20±1.99 <sup>NS</sup>	19.97±3.01 <sup>NS</sup>	23.01±2.13 <sup>NS</sup>
	500	13.09±3.64	14.08±3.01	18.34±2.46	22.39±3.41
	1,000	12.52±2.49	13.61±4.16	18.02±1.18	22.10±5.01
	2,000	13.64±4.29	13.08±2.08	17.96±4.57	21.38±4.11

<sup>1)</sup>Values are expressed as means±SE (n=10). <sup>2)</sup>NS: not significantly different among groups.

Table 5. Daily water consumption of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Dose (mg/kg)	Water consumption (mL/day/rat)			
		Days after treatment			
		7	14	21	28
Male	0	26.22±3.21 <sup>1)NS2)</sup>	33.78±3.26 <sup>NS</sup>	41.33±2.14 <sup>NS</sup>	45.20±2.14 <sup>NS</sup>
	500	27.00±3.66	35.02±5.01	40.65±3.12	47.31±8.84
	1,000	26.23±5.01	36.48±9.18	43.26±9.95	46.01±6.28
	2,000	25.63±2.29	35.23±8.42	42.09±3.21	48.11±5.97
Female	0	21.28±2.19 <sup>NS</sup>	29.20±2.01 <sup>NS</sup>	42.01±2.15 <sup>NS</sup>	46.33±5.23 <sup>NS</sup>
	500	23.09±2.36	28.69±5.04	42.64±4.01	47.43±6.78
	1,000	23.21±2.26	30.51±9.02	41.08±1.98	48.21±5.47
	2,000	26.23±4.33	32.36±5.21	43.45±2.49	49.97±6.28

<sup>1)</sup>Values are expressed as means±SE (n=10). <sup>2)</sup>NS: not significantly different among groups.

Table 6. Gross findings of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Dose (mg/kg)	Male				Female			
	0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
Thyroid gland NGF <sup>1)</sup>	10(100) <sup>2)</sup>	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Brain NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Heart NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Liver NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Kidney NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Lung NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Spleen NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Adrenal gland NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Testes NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)				
Ovary NGF					10(100)	10(100)	10(100)	10(100)
Thymus NGF	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)	10(100)

<sup>1)</sup>NGF: no gross finding. <sup>2)</sup>Values are expressed as animal numbers (the percentage of animal numbers).

줄 수 있는데(28), 간의 무게를 살펴보면 각 군 간에 유의할 만한 차이점이 보이지 않았다. 비장의 무게는 암수 흰쥐 모두 고(2,000 mg/kg/day) 용량으로 투여한 경우 증가하였으나 유의차는 나지 않았으며 정상 비장 무게의 범위 내에 속하였다. 이는 다른 장기의 무게와 달리 비장의 무게 증가는 생체 외 이물질을 반복 투여할 때 흔히 나타나는 소견으로, 비장 무게의 증가는 오히려 면역기능의 항진과 관련이 있는 것으로 추론하고 있다(29). 따라서 *Lb. plantarum* AF1 투여는 장기무게의 변화에 영향을 끼치지 않는 것으로 사료된다.

#### 혈액학적 검사소견

부검 후 혈구 측정기를 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구

수(RBC), 혈색소량(Hb), 헤마토크리트치(HCT), 총 적혈구수(red blood cells, RBC), 평균 적혈구 용적(MCV), 평균 적혈구 혈색소량(MCH), 평균 적혈구 혈색소 농도(MCHC), 혈소판(platelets), 망상적혈구수(reticulocytes), 호중구(neutrophils), 호산구(eosinophils), 호염기구(basophils), 림프구(lymphocytes) 및 단핵구(monocytes)의 백분율을 측정하고, Table 8에서와 같이 암수 모두 시험물질 투여군과 대조군 간에는 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 혈액학적 검사 결과 대조군과 시료투여군 모두 정상 범위에 속하였으며, 용량 의존성도 보이지 않았다. 이는 Kang 등(30)이 보고한 SD계 흰쥐를 이용한 4주 반복투여 독성시험에서의 혈액학적 기초 자료에서 보고한 범위와 유사하였다.

Table 7. Organ weights of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days (unit: g)

Sex	Organs	Dose (mg/kg)			
		0	500	1,000	2,000
Male	Brain	1.85±0.18 <sup>1)NS2)</sup>	1.86±0.12	1.84±0.15	1.83±0.13
	Lungs	1.30±0.14 <sup>NS</sup>	1.28±0.09	1.29±0.07	1.29±0.15
	Testes	2.86±0.31 <sup>NS</sup>	2.82±0.25	2.79±0.34	2.82±0.45
	Kidney-L	1.17±0.03 <sup>NS</sup>	1.20±0.05	1.12±0.06	1.12±0.10
	Kidney-R	1.18±0.04 <sup>NS</sup>	1.19±0.06	1.12±0.06	1.16±0.02
	Heart	0.92±0.09 <sup>NS</sup>	0.88±0.19	0.86±0.07	0.85±0.19
	Spleen	0.68±0.01 <sup>NS</sup>	0.67±0.08	0.69±0.10	0.70±0.08
	Liver	8.81±0.36 <sup>NS</sup>	8.77±0.67	8.75±0.65	8.72±0.27
Female	Brain	1.62±0.10 <sup>NS</sup>	1.60±0.58	1.63±0.81	1.62±0.26
	Lungs	1.09±0.09 <sup>NS</sup>	0.98±0.04	0.99±0.02	1.01±0.05
	Ovaries	0.062±0.01 <sup>NS</sup>	0.061±0.01	0.062±0.01	0.060±0.02
	Kidney-L	0.88±0.02 <sup>NS</sup>	0.87±0.02	0.81±0.09	0.83±0.07
	Kidney-R	0.89±0.04 <sup>NS</sup>	0.86±0.03	0.82±0.09	0.82±0.06
	Heart	0.70±0.09 <sup>NS</sup>	0.75±0.04	0.77±0.07	0.72±0.07
	Spleen	0.50±0.03 <sup>NS</sup>	0.52±0.05	0.53±0.04	0.55±0.04
	Liver	6.30±0.23 <sup>NS</sup>	6.84±0.46	6.74±0.80	6.50±0.31

<sup>1)</sup>Values are expressed as means±SE (n=10). <sup>2)</sup>NS: not significantly different among groups.

Table 8. Hematology of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Parameters	Dose (mg/kg)			
		0	500	1,000	2,000
Male	WBC (×10 <sup>3</sup> /μL)	7.36±0.45 <sup>1)NS2)</sup>	7.32±0.35	7.38±0.51	7.55±0.47
	RBC (×10 <sup>3</sup> /μL)	7.42±0.98 <sup>NS</sup>	7.30±0.36	7.61±0.76	7.02±0.92
	Hb (%)	14.36±1.24 <sup>NS</sup>	14.96±0.52	14.01±0.66	14.94±0.46
	HCT (%)	45.82±5.27 <sup>NS</sup>	46.12±1.73	43.16±9.96	46.32±4.69
	MCV (fL)	62.48±0.88 <sup>NS</sup>	61.12±0.58	60.82±0.71	60.44±0.99
	MCH (pg)	20.28±0.83 <sup>NS</sup>	20.46±0.52	19.24±0.92	19.62±1.22
	MCHC (g/dL)	32.18±1.36 <sup>NS</sup>	33.46±0.74	31.86±1.67	32.29±2.12
	Platelets (×10 <sup>3</sup> /μL)	891.61±86.85 <sup>NS</sup>	924.84±71.74	903.06±49.73	882.66±90.25
	Reticulocytes (%)	3.81±0.27 <sup>NS</sup>	3.87±0.50	3.80±0.74	3.85±0.75
	Neutropils (%)	7.21±1.01 <sup>NS</sup>	7.99±1.21	6.97±0.79	7.01±0.87
	Eosinopils (%)	0.65±0.10 <sup>NS</sup>	0.61±0.09	0.62±0.12	0.62±0.08
	Basophils (%)	0.98±0.13 <sup>NS</sup>	0.93±0.09	0.94±0.08	0.93±0.05
	Lymphocytes (%)	86.61±4.29 <sup>NS</sup>	85.34±5.10	84.14±6.29	85.45±9.97
	Monocytes (%)	0.99±0.02 <sup>NS</sup>	1.05±0.08	0.91±0.12	0.98±0.21
	Female	WBC (×10 <sup>3</sup> /μL)	6.86±0.71 <sup>NS</sup>	6.94±1.26	5.66±0.68
RBC (×10 <sup>3</sup> /μL)		6.28±0.15 <sup>NS</sup>	5.92±0.99	6.19±0.48	5.94±0.85
Hb (%)		13.34±0.39 <sup>NS</sup>	13.70±1.02	12.98±0.92	13.96±0.34
HCT (%)		41.38±0.61 <sup>NS</sup>	39.28±5.07	41.14±2.82	40.90±4.48
MCV (fL)		59.46±0.34 <sup>NS</sup>	57.82±0.75	60.26±0.88	59.46±1.19
MCH (pg)		19.66±0.34 <sup>NS</sup>	18.82±0.58	19.54±1.64	19.88±0.75
MCHC (g/dL)		30.12±0.79 <sup>NS</sup>	29.36±1.36	29.74±2.9	28.28±1.36
Platelets (×10 <sup>3</sup> /μL)		854.2±57.84 <sup>NS</sup>	888.2±91.96	839.8±91.16	881.6±106.31
Reticulocytes (%)		2.55±0.52 <sup>NS</sup>	2.46±0.61	2.59±0.24	2.47±0.46
Neutropils (%)		6.59±0.84 <sup>NS</sup>	6.69±0.57	6.44±1.10	6.52±1.00
Eosinopils (%)		0.59±0.12 <sup>NS</sup>	0.58±0.07	0.55±0.12	0.50±0.15
Basophils (%)		0.99±0.07 <sup>NS</sup>	0.93±0.06	0.96±0.11	0.92±0.07
Lymphocytes (%)		85.04±5.98 <sup>NS</sup>	86.16±9.12	88.37±8.87	84.12±2.46
Monocytes (%)		0.92±0.07 <sup>NS</sup>	0.91±0.11	0.96±0.10	0.90±0.12

<sup>1)</sup>Values are expressed as means±SE (n=10). <sup>2)</sup>NS: not significantly different among groups.

혈액 생화학적 검사소견

복대정맥 혈액으로부터 분리한 혈장으로 부터 혈액생화학 적분석기를 이용하여 혈액생화학 적 지표인 알라닌 아미노기전이효소(ALT), 아스파라진산 아미노기전이효소(AST), 알칼리성 인산분해효소(ALP), 포도당(GLU), 요소(BUN), 총 콜레스테롤(TC), 중성지질(TG), 총 단백질(TP), 알부민

(albumin) 및 크레아티닌(CRE)을 측정 한 결과, Table 9에서와 같이 암수 모든 투여군은 대조군에 비하여 시험물질 투여에 기인한 유의성 있는 혈청 생화학 적 변화가 관찰되지 않았 으며, 대조군과 *Lb. plantarum* AF1 투여군 모두 정상 수치를 나타내었다. 다만 수컷의 경우 *Lb. plantarum* AF1 투여 용량이 증가할수록 혈장 중 총 콜레스테롤과 중성지방 함량

Table 9. Levels of serum biochemical indices of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Sex	Parameters	Dose (mg/kg)			
		0	500	1,000	2,000
Male	ALT (U/L)	36.12±15.26 <sup>1)NS2)</sup>	37.26±9.12	35.26±6.29	35.23±2.69
	AST (U/L)	151.23±35.26 <sup>NS</sup>	141.29±29.46	154.13±51.23	135.21±30.12
	ALP (U/L)	131.23±32.12 <sup>NS</sup>	123.22±21.45	126.31±40.00	130.09±24.11
	GLU (mg/dL)	111.22±11.46 <sup>NS</sup>	103.22±32.14	99.77±21.11	100.32±22.88
	BUN (mg/dL)	12.46±3.21 <sup>NS</sup>	13.26±5.01	12.29±1.04	11.61±2.51
	TC (mg/dL)	70.23±4.29 <sup>NS</sup>	69.29±9.12	66.79±4.29	65.19±5.319
	TG (mg/dL)	99.13±10.26 <sup>NS</sup>	95.23±9.12	90.08±12.78	89.26±9.26
	TP (g/dL)	6.29±1.02 <sup>NS</sup>	6.09±0.42	6.96±0.33	6.23±0.91
	Albumin (mg/dL)	3.22±0.23 <sup>NS</sup>	3.42±0.90	3.51±0.30	3.91±0.74
Female	CRE (mg/dL)	0.62±0.07 <sup>NS</sup>	0.60±0.04	0.59±0.24	0.65±0.07
	ALT (U/L)	39.23±3.69 <sup>NS</sup>	39.77±9.02	36.17±5.49	39.02±9.13
	AST (U/L)	150.23±32.65 <sup>NS</sup>	142.21±24.08	152.71±50.12	158.89±41.23
	ALP (U/L)	103.21±66.02 <sup>NS</sup>	99.78±21.03	107.27±27.46	109.32±35.26
	GLU (mg/dL)	90.26±26.34 <sup>NS</sup>	93.17±15.96	97.16±30.21	99.29±12.46
	BUN (mg/dL)	11.26±2.01 <sup>NS</sup>	12.16±0.98	10.49±3.26	11.62±0.87
	TC (mg/dL)	72.36±5.64 <sup>NS</sup>	70.12±4.78	69.29±9.17	71.78±8.23
	TG (mg/dL)	91.46±24.23 <sup>NS</sup>	90.69±21.22	85.16±9.78	84.79±20.31
	TP (g/dL)	5.92±0.27 <sup>NS</sup>	6.20±0.91	6.36±0.46	5.99±0.24
Albumin (mg/dL)	3.17±0.17 <sup>NS</sup>	3.60±0.47	3.55±0.17	3.54±0.61	
CRE (mg/dL)	0.59±0.07 <sup>NS</sup>	0.51±0.01	0.60±0.09	0.59±0.04	

<sup>1)</sup>Values are expressed as means±SE (n=10). <sup>2)</sup>NS: not significantly different among groups.

은 용량 의존적으로 감소하는 경향이었으나 유의차는 없었다. 유산균의 생리활성 기능 중 담즙산 탈포합 활성을 갖는 균주를 분리하여 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시킬 수 있는 기능성식품으로의 개발을 시도하고자 다양한 선행연구가 진행되어 이중 *Lb. plantarum*은 *in vitro* 또는 *in vivo* 연구에 의하면 콜레스테롤 저하효과가 있는 것으로 보고되었다 (31-34). 김치로부터 분리한 *Lb. plantarum* NR74 균주(31)와 *Lb. plantarum* CIB 001 균주(32)는 *in vitro* 연구에서 담즙산 분해능이 우수한 것으로 보고되었으며, 건강한 유아의 분변으로부터 분리한 유산균인 *Lb. plantarum* CK 102와 고콜레스테롤식이를 6주간 함께 급여한 흰쥐가 고콜레스테롤식이만을 급여한 흰쥐보다 혈청 중 총콜레스테롤, 중성지질, LDL-콜레스테롤 및 유리콜레스테롤 함량이 저하되었다고 하였다(33). 건강한 성인 남자 분변으로부터 분리한 유산균인 *Lb. plantarum* 9-41-A도 고콜레스테롤식이와 함께 투여한 흰쥐는 고콜레스테롤식이만을 급여한 흰쥐에 비하여 혈청 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지질 함량이 저하되었으며, 간조직 중 중성지질 및 총콜레스테롤 함량도 저하되었고, 분변으로의 콜레스테롤 및 담즙산의 배설이 증

가되어 지질대사 개선효과가 있다고 보고하였다(27). 또한 *Lb. plantarum* PL62 균주를 고지방식이와 함께 마우스에게 투여하였을 경우 고지방식이만을 급여한 마우스에 비하여 혈청 중 중성지질 함량이 용량 의존적으로 유의하게 저하되었다고 하였다(26). 대부분 실험동물을 이용한 혈청 중 콜레스테롤 함량 저하효과에 관한 연구는 정상식이를 급여한 연구가 아니라 고콜레스테롤식이 혹은 고지방식이를 급여한 연구로 본 연구는 정상식이를 급여하면서 유산균을 투여하였기에 혈청 지질대사 개선효과가 유의하게 나타나지 않은 것으로 판단되어진다.

#### 병리조직학적 검사

병리조직학적 검사 결과 Table 10에서와 같이 수컷의 경우 폐장의 출혈이 대조군과 2,000 mg/kg 투여군에서 각각 1례씩 관찰되었고, 간장의 공포변성이 500 mg/kg 투여군에서 1례 관찰되었다. 암컷의 경우는 폐장의 암적색 반점이 500 mg/kg 투여군에서 1례가 관찰되었고, 간장의 공포변성이 1,000 mg/kg 투여군에서 1례 관찰되었다. 이와 같이 병리조직학적 검사결과 일부 장기에 다소간의 병변이 발생하였으나 대조군과 시료물질 투여군에서 모든 개체는 장기의 유

Table 10. Histopathological changes of male and female SD rats treated orally with *Lb. plantarum* AF1 for 28 days

Organ and histopathology	Sex Dose (mg/kg)	Male				Female			
		0	500	1,000	2,000	0	500	1,000	2,000
Lung									
focal hemorrhage		1/10 <sup>1)</sup>	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10
dark red spots		0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10
Liver									
focal fatty change		0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10

<sup>1)</sup>Number of observed showing gross findings/total observed animals.

의성 있는 변화나 시험물질 투여로 인한 용량의존적인 특이할 만한 소견을 나타나지 않아 시험물질 투여에 기인한 변화라고 볼 수는 없다.

## 요 약

본 연구는 항진균 및 항세균 활성이 있는 김치 유래 유산균인 *Lb. plantarum* AF1을 가지고 천연항균제로서 사용 적합성 및 안정성을 평가하고자 *Lb. plantarum* AF1을 SD 계통의 흰쥐에게 4주간 반복 경구투여를 통하여 장기투여에 의한 안전성을 확인하고자 식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준에 따라 실시하였다. SD 계열의 암수 흰쥐에 시험물질을 0, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg/day의 용량으로 4주간 반복 경구투여한 후 사망률, 일반증상, 체중변화, 사료 섭취량, 수분섭취량, 혈액학적 및 혈액생화학적 변화, 부검 소견 및 장기무게의 변화를 관찰하였다. 모든 시험군에서 시험기간 시험물질로 인한 일반증상 및 사망동물이 관찰되지 않았다. 전 시험기간 동안 *Lb. plantarum* AF1의 4주간의 경구투여 결과 체중이 지속적으로 증가되었지만 대조군과 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 또한 혈액학적, 혈액생화학적 검사, 장기의 육안적 관찰, 장기 중량변화 및 조직병리학적 소견에서도 모든 시험물질 투여군이 대조군과 유의성이 있는 차이를 보이지 않았으며, 모두 정상 범위를 벗어나지 않아 시험물질에 기인하는 이상 소견을 발견할 수 없었다. 이상의 결과로 보아 4주 반복투여 독성시험 결과 항진균 및 항세균 활성을 지닌 유산균인 *Lb. plantarum* AF1은 저독성 물질로 판정되었으며, 안전성 확인을 통하여 천연항균제로의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 식품기술개발사업에 의한 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Chang JH, Shim YY, Cha SK, Chee KM. 2010. Probiotics characteristics of lactic acid bacteria from kimchi. *J Appl Microbiol* 109: 220-230.
- Ha CG, Cho JK, Lee CH, Chai YG, Ha YA, Shin SH. 2006. Cholesterol lowering effect of *Lactobacillus plantarum* from human feces. *J Microbiol Biotechnol* 16: 1201-1209.
- Wang Y, Xu N, Xi A, Ahmed Z, Zhang B, Bai X. 2009. Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats on high-cholesterol diet. *Appl Microbiol Biotechnol* 84: 341-347.
- Klaenhammer TR. 1988. Bacteriocin of lactic acid bacteria. *Biochim* 70: 337-349.
- Stiles ME 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leewenhoek* 70: 331-345.
- Lee HJ, Baek JH, Yang HU, Ko YD, Kim HJ. 1993. Characterization of lactic acid bacterial community during kimchi fermentation by temperature downshift. *Kor J Microbiol* 31: 346-353.
- Shim ST, Kyung KH, Yoo YJ. 1990. Lactic acid bacteria isolated from fermented kimchi and their fermentation of Chinese cabbage juice. *Korean J Food Sci Technol* 22: 373-379.
- Cho JK, Li GH, Cho SJ, Yoon YC, Hwang SG, Heo KC, Choe IS. 2007. The identification and physiological properties of *Lactobacillus plantarum* JK-01 isolated from Kimchi. *Korean J Food Sci Ani Resour* 27: 363-370.
- Kim EA, Baik SC, Chung WH. 2002. A study on growth inhibition of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by lactic acid bacteria. *J Anim Sci Technol (Kor)* 44: 491-498.
- Lee SG, Lee YJ, Kim MK, Han KS, Jeong SG, Oh MH, Jang A, Kim DH, Bae IH, Ham JS. 2010. A study on the yogurt manufacture suitability and antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* LHB55 isolated from Kimchi. *J Anim Sci Technol (Kor)* 52: 141-148.
- Chung JH, Bae YS, Kim YJ, Lee JH. 2010. Characteristics of bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain isolated from Kimchi. *Kor J Microbiol Biotechnol* 38: 481-485.
- Yang EJ, Chang HC. 2008. Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from Kimchi. *Kor J Microbiol Biotechnol* 36: 275-284.
- Yang EJ, Chang HC. 2010. Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi. *Int J Food Microbiol* 139: 56-63.
- Lim SM, Im DS. 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid isolated from Korean fermented foods. *J Microbiol Biotechnol* 19: 178-186.
- Muller DM, Carrasen MS, Tonarelli GG, Simonetta AC. 2009. Characterization and purification of a new bacteriocin with a broad inhibitory spectrum produced by *Lactobacillus plantarum* lp31 strain isolated from dry-fermented sausage. *J Appl Microbiol* 106: 2031-2040.
- Donohue DC, Deighton M, Ahokas JT, Salminen S. 1993. Toxicity of lactic acid bacteria. In *Lactic Acid Bacteria*. Salminen S, von Wright A, eds. Marcel Dekker, New York, NY, USA p. 307-313.
- Shu Q, Zhou JS, Ruterfurd KJ, Birtles MJ, Prasad J, Gopal PK, Gill HS. 1999. Probiotic lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus* HN017, *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Bifidobacterium lactis* HN019) have no adverse effects on the health of mice. *Int Dairy J* 9: 831-836.
- Lee JJ, Lee YM, Chang HC, Lee MY. 2007. Acute toxicity of *Leuconostoc kimchii* GJ2, an exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolated from Kimchi, in mice. *Korean J Life Sci* 17: 561-657.
- Lee JJ, Chang HC, Lee MY. 2007. Acute toxicity of *Leuconostoc citrum* GJ7 isolated from Kimchi in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 534-539.
- Son JY. 2007. Isolation and characterization of kimchi lactic acid bacteria harboring anti-*Helicobacter pylori* activity. *MS Thesis*. Chosun University, Gwangju, Korea.
- Lee JJ, Lee YM, Chang HC, Lee MY. 2007. Repeated-dose toxicity study of *Pediococcus pentosaceus* MD1, an anti-*Helicobacter pylori* activity lactic acid bacteria isolated from Kimchi, in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 975-982.
- Wolford ST, Schroer RA, Gohs FX, Gallo PP, Brodes M, Falk HB, Ruhren FR. 1986. Reference range data for serum



- chemistry and hematology values in laboratory animals. *J Toxicol Env Health* 18: 161-188.
23. Kwon HS, Kim DH, Shin HK, Yu CY, Kim MJ, Lim JD, Park JK. 2007. Fourteen-day repeated-dose oral toxicity of the ethanol extracts isolated from *Oplopanax elatus* in Sprague-Dawley rat. *Korean J Food Sci Technol* 39: 470-475.
  24. Jin JY, Yang HK, Kim JM, Ko MS, Hong HJ, Jin YG, Kim DG, Kim SC, Lim I, Kang SC, Kim JH, Lee YJ. 2006. Four-week repeated oral toxicity study of the extract of *Aralia elata* in rats. *J Toxicol Pub Health* 22: 445-452.
  25. Hayes AW. 1984. *Hayes Toxicology*. Raven press, New York, NY, USA. p 17-19.
  26. Lee K, Paek K, Lee HY, Park JH, Lee Y. 2007. Antiobesity effect of trans-10,cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice. *J Appl Microbiol* 103: 1140-1146.
  27. Xie N, Cui Y, Yin YN, Zhao X, Yang JW, Wang ZG, Fu N, Tang Y, Wang XH, Liu XW, Wang CL, Lu FG. 2011. Effects of two *Lactobacillus* strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high-cholesterol diet. *BMC Complement Altern Med* 11: 1-11.
  28. Hong CO, Seo MY, Koo YC, Nam MH, Lee HA, Kim JH, Wang Z, Yang SY, Lee SH, No SH, Lee KW. 2009. Single and 14-day repeated oral toxicity studies of 70% ethanol extract of *Lindera obtusiloba* blume leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1324-1330.
  29. Lim DW, Kim DH, You DY. 1999. Effects of *Kamiguibitang* (KGT) on immunological control function. *J Orient Gynecol* 12: 253-280.
  30. Kang BH, Kim YB, Lee HS, Kim YH, Im WJ, Ha CS. 2004. Background data on hematology, blood biochemistry and organ weights for 2 weeks and 4 weeks repeated-dose toxicity studies using Sprague-Dawley (SD) rats. *Korean J Lab Ani Sci* 20: 134-140.
  31. Lee H, Yoon H, Ji Y, Kim H, Park H, Lee J, Shin H, Holzapfel W. 2011. Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. *Int J Food Microbiol* 145: 155-161.
  32. Cha SD, Kim TW, Lee DH. 2010. Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* CIB 001 with bile salt deconjugation activity from Kimchi. *Kor J Microbiol Biotechnol* 38: 222-226.
  33. Ha CG, Cho JK, Lee CH, Chai TG, Ha YA, Shin SH. 2006. Cholesterol lowering effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from human feces. *J Microbiol Biotechnol* 16: 1201-1209.
  34. Kim DW, Yang DH, Kim SY, Kim KS, Chung MG, Kang SM. 2009. Hypocholesterolemic effect of lyophilized, heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Kor J Microbiol Biotechnol* 37: 69-74.

(2012년 3월 2일 접수; 2012년 3월 30일 채택)