

Acute Toxicity of *Leuconostoc Citreum* GR1 Isolated from Kimchi in Mice

Hwan Lee, Seon-Suk Cha, Myung-Yul Lee, Hae-Choon Chang, and Jae-Joon Lee[†]
Department of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 500-759, Korea

김치로부터 분리한 *Leuconostoc citreum* GR1의 마우스에 대한 급성독성

이환 · 차선숙 · 이명렬 · 장해춘 · 이재준[†]
조선대학교 식품영양학과

Abstract

The present study was carried out to investigate the *in vivo* single-dose acute toxicity of *Leuconostoc citreum* GR1 (*Leuc. citreum* GR1), a lactic acid bacteria isolated from kimchi, in ICR male and female mice. The test article was orally administered once to both sexes of mice. The mortalities, clinical findings, autopsy findings, and body weight changes were monitored daily for two weeks. The male and female mice were gavaged with *Leuc. kimchi* GR1 of four doses (625, 1,250, 2,500 and 5,000 mg/kg). The oral LD₅₀ of *Leuc. citreum* GR1 was considered higher than 5,000 mg/kg. No significant changes in the general conditions, body weights, clinical signs and presence of gross lesions were observed in both sexes of mice to whom *Leuc. citreum* GR1 was administered orally. The results indicated that the 5,000 mg/kg dose of *Leuc. citreum* GR1 showed no adverse effect.

Key words : *Leuconostoc citreum* GR1, acute toxicity, mice

서 론

우리나라는 최근 서구화 된 식사패턴으로 에너지 과잉 및 지질섭취의 증가로 동맥경화, 고혈압, 뇌혈관질환, 심혈관계 질환 환자의 수가 급격하게 늘어나고 있다(1). WHO에서 보고된 바에 의하면 미국이나 유럽에 비하여 한국인의 관상심장질환으로 인한 사망률이 낮은 것으로 나타났는데 이는 한국의 채식위주의 식단과 한국의 전통음식인 김치 속에 들어있는 균들도 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다.

김치가 숙성되는 과정에서 유산균이 생성되는데 유산균은 자연계뿐만 아니라 인간 및 동물의 건강한 장내에 주로 서식을 하고 있는 유용한 세균으로 알려져 있다(2). 인간의 장내에는 여러 균들이 있는데 이 균들은 소화 흡수, 배설, 물질합성 등에 관여 한다. 우리 몸에 이로운 균의 번식이 장 질환을 막아 건강을 유지할 수 있는 방법이다(3). 또한 유산균은 김치 및 각종 채소류의 발효식품에 다량 함유되어

있으며, 이 식품들 속에 존재하는 유해한 병원성미생물에 대하여 항세균 활성을 발휘하는 것으로 알려져 있다(4). 김치는 다른 나라의 절임채소와 달리 다량의 생리활성물질들이 존재하고 다양한 재료를 사용하여 만들어져 여러 효소와 미생물들이 관여하는 복잡한 발효과정을 거쳐 또 다른 생리활성물질들이 생성된다(5). 이와 같이 유산균은 항세균 활성 및 유용한 물질의 생산능력으로 인간의 건강 및 식품산업 등에 활용되고 있어 유산균은 살아있는 생균제로서 여러 장점들이 발견되면서 유산균 활용에 대한 인식이 재평가되고 있다(6-8).

김치 유산균 중 *Lactobacillus* 속과 *Leuconostoc* 속들은 발효과정 중에서 증식과 대사에 의하여 여러 물질들이 생산되는 것으로 알려져 있다(9). 김치의 발효 과정에서 나타나는 유산균은 초기에 *Leuc. mesenteroides*가 우세 균종으로 김치 내용물을 산성화하여 혐기적 상태로 유지하며(10) 호기성 세균의 성장을 억제하나 그 이후에는 *Lactobacillus plantarum* 균종이 나타나는 것으로 알려져 있다(11). 국내, 외에서 *Leuconostoc* 속에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있는데 그 중 *Leuc. citreum*은 식중독균 물질에 대한 탁월한

[†]Corresponding author. E-mail : leejj80@chosun.ac.kr
Phone : 82-62-230-7725, Fax : 82-62-225-7726

항균작용을 가지고 있어 식중독 균주를 포함한 병원균들에 강한 저해활성을 나타낸다는 결과도 보고(12)되어 있다. 이로 인해 *Leuc. citreum*은 넓은 범위의 항진균과 항세균 활성을 나타내므로 천연 식품보존제 및 사료보존제로서의 활용이 기대되고 있다. 또한 박테리옌은 미생물이 생산하는 천연의 무독성 방부제로 주목받고 있는 항균성 단백질이며 잘 발효된 김치의 유산균에 의해 생성된다. 유산균을 이용한 미생물 제어효과는 인체에 무독하고 잔류성이 없다는 점에서 식품 등의 천연 방부제 및 미생물 제어제로 관심이 증대되고 있다(13).

식품공전 [제 1장 식품일반에 대한 공통기준 및 규격]에 따르면 ‘유산균 함유제품에 사용되는 유산균 등은 식용 가능하고 식품위생상 안전한 것이어야 한다.’ 라고 명시되어 있다(14). 유산균은 GRAS (generally regarded as safe) 등급 미생물로 분류되고 있으나 실제 식품에 적용 시에는 안전성이 검증되어야 하고 이의 식품 적용 여부 가능성을 식품의약품안전청에서 검토 받아야 한다. 이미 유럽에서도 새로운 식품으로서 probiotic 유산균, prebiotics, 유전자 조작 세균 등을 사용하고자 할 때에는 안전성 측면에서 급성 독성 (toxicity)과 관련된 기초자료를 요구하고 있다(15).

따라서 본 연구에서는 김치에서 분리한 김치 숙성에 관여하는 우수한 발효능, 박테리옌 생성능 및 박테리옌 생성 유도작용 보유능을 동시에 갖춘 김치발효 우량 종균(16)이며, 항균 활성이 우수한 *Leuc. citreum* GR1을 분리하여 안정성 평가의 일환으로 단회 투여 시 나타날 수 있는 독성 평가를 위해 식품의약품안전청 국립독성연구소 독성·약리·병리시험 표준작업지침서의 일반 독성 시험기준 (17,18)에 따라 마우스에서 단회 경구투여에 의한 급성 독성을 평가하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험 유산균주는 광주광역시와 전라남도 등지에서 수집한 잘 익은 배추김치에서 분리한 것으로 조선대학교 식품영양학과 식품미생물실험실에서 유산균주인 *Leuc. citreum* GR1을 선별하여 실험에 사용하였다. 유산균 성장배지는 MRS (Difco laboratories, MI, USA)의 액체를 사용하였으며, 배양조건은 30°C incubator (Vision Co, Seoul, Korea)에서 24시간 정치 배양하였다. 배양한 *Leuc. citreum* GR1을 4,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 배양액중의 균체를 회수하여 시료로 사용하였다. 시료균주인 *Leuc. citreum* GR1의 유산균수는 $1.0 \sim 1.5 \times 10^{11}$ CFU/g이었다.

시험동물 및 사육환경

시험동물은 (주)코아텍(Pyeongtaek, Gyeonggi-Do)에서 분

양받은 특정병원체부재(SPF) 5주령의 암·수 ICR계 마우스를 사용하였다. 1주일간의 순화사육 기간 동안에 임상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안 사육환경은 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 배기 횟수는 시간당 10~18회이며, 형광등 명암 12 시간 cycle (08:00~20:00), 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 케이지(220 W × 270 L × 130 H mm)에 넣어 사육하였다. 사료는 실험동물용 고품사료(Jeil feed Corporation, Daejeon)를 음수는 상수도수를 자유 섭취시켰다. 실험동물은 꼬리에 개별 인식 처리를 한 다음 각 실험동물을 관찰하기 쉽도록 폴리카보네이트 케이지에 투여 용량별로 5마리씩 암·수 각각 따로 사육하였다. 동물실험은 조선대학교 동물실험윤리위원회의 사전 심의를 받아 동물실험윤리위원회규정에 따라 수행하였다.

투여용량 설정 및 시험물질의 투여

본 연구에서는 시험물질 투여 전 4시간 정도 절식시킨 다음 체중을 측정하여 체중 범위에 따른 무작위법에 의거하여 실험군을 분리하였으며, 식품의약품안전청의 독성시험기준(1992, 12)과 OECD guideline (19)에 의하여 *Leuc. citreum* GR1은 경구투여 가능 최대 용량인 5,000 mg/kg을 최고 용량으로 하고 등비를 0.5로 하여 5,000, 2,500, 1,250 및 625 mg/kg로 정하고, 정제 증류수로 희석하여 시험물질을 제조하였다. 투여방법은 금속제 경구투여용 존대를 이용하여 강제 경구투여 방식으로 위 내에 직접 주입하였다. 투여액은 1일 1회 체중을 기준으로 체중 kg 당 10 mL를 투여하였으며, 대조군은 정제 증류수만 투여하였다. 시험물질 투여 후 2시간 동안은 사료를 제한하였으며, 물은 제한 없이 계속 공급하였다.

일반증상 및 폐사의 관찰

식품의약품안전청 독성시험기준에 따라 투여 당일은 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 특별한 주의를 가지고 관찰하였고, 투여 다음날부터 14일 까지는 일반증상 관찰법에 의하여(20,21) 매일 1회 모든 동물에 대해 일정한 시간에 일반 증상 및 중독 증상, 사망의 유무를 전 실험 기간 동안 관찰하였으며, 이상증상 및 정도를 개별적으로 기록하였다.

체중변화

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 복강 투여 직전과 투여 후 1일, 3일, 5일, 7일과 부검 직전인 14일째에 각각 체중을 측정하였다.

부검

14일간 시험물질 투여 후 마우스를 희생하기 전날 12시간 절식시킨 후 CO₂로 가볍게 마취시킨 다음 절박도살을

실시하고 후대동맥을 절단하여 방혈시킨 후에 개복하여 주요 내부 장기의 병변을 육안적으로 관찰하였다. 이후 간, 심장, 신장, 폐, 비장을 적출하여 생리식염수로 세척한 다음 수분을 제거하고 각각의 무게를 측정하였다

통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0 P/C package를 이용하여 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치분산분석(one way ANOVA)을 실시하였으며, 사후검정은 Tukey-test에 의하여 실행하였다. 본 연구에 이용된 통계적 유의성 검증은 $p < 0.05$ 수준에서 이루어졌다. 본 시험에서는 사망동물이 관찰되지 않아 반수치사량(LD₅₀)의 산출을 위한 통계처리는 실시하지 않았다.

결과 및 고찰

사망동물 및 LD₅₀치

Leuc. citreum GR1을 625, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 1회 경구투여 후 암·수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 사망동물과 LD₅₀치는 Table 1과 같다. Table 1에서와 같이 사망 유무를 관찰한 결과 시험물질 투여에 기인한 사망은 관찰되지 않았다. 일반적으로 급성독성시험의 경우 사망 예를 관찰 할 수 없는 경우에는 최고 용량을 5,000 mg/kg 까지 투여 용량으로 하여 시험을 실시(22,23)하기 때문에 예비실험결과를 토대로 최고 용량 5,000 mg/kg 까지 투여하였다. 따라서 *Leuc. citreum* GR1의 단회 경구투여 시 용량을 5,000 mg/kg 까지 투여하여도 사망을 관찰할 수 없어 독성학적 영향을 받지 않는 최소치사량은 암·수 마우스 모두에서 적어도 5,000 mg/kg을 상회하는 것으로

Table 1. Mortality of male and female ICR mice treated orally with *Leuc. citreum* GR1

| Sex | Dose (mg/kg) | Days after treatment | | | | | Final Mortality | LD ₅₀ (mg/kg) |
|--------|--------------|----------------------|------|------|------|------|-----------------|--------------------------|
| | | 0 | 1 | 3 | 7 | 14 | | |
| Male | 0 | 0/10 ¹⁾ | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | >5,000 mg/kg |
| | 625 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| | 1,250 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| | 2,500 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| | 5,000 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| Female | 0 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | >5,000 mg/kg |
| | 625 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| | 1,250 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| | 2,500 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |
| | 5,000 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | |

¹⁾Values are expressed as number of dead animals/total animals.

나타났다. US Environmental Protection Agency OPPTS 870.00에 의하면 반수치사량이 5,000-15,000 mg/kg인 물질을 무독성 물질로 규정하고 있다(24).

단회투여에 의한 체중변화

625, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 용량의 시료물질을 1회 용량별 경구투여한 후 14일간 급성독성시험에 따른 체중증감의 변화를 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 경구투여 후 시험물질 투여군과 대조군 모두 개시체중에 비하여 체중이 증가하였으며, 투여 전, 투여 후 1, 3, 7, 14일 모두 시험물질 투여군과 대조군 간의 유의성 있는 체중변화를 관찰할 수 없었다. 경구급성 독성에 있어 가장 특징적인 것은 시험물질을 고농도로 투여한 5,000 mg/kg 투여군에서 투여한 후 1일째 체중이 암컷 대조군에 비하여 약간 저하되었으나 바로 회복되어 다른 군들과 유사한 경향이었다. 투여 용량군 사이의 체중변화는 경구 투여한 모든 군에서 용량의존성을 나타내지 않았다. 이러한 결과는 Lee 등이 김치발효 우량종균으로 알려진 *Leuc. citreum* GJ7 (25)와 김치에서 분리한 산막효모제어능을 지닌 항진균 및 항세균 활성을 나타내는 *Lb. plantarum* AF1 (26)의 경구 급성독성 연구에서도 고용량 시료물질 투여 첫날 일시적 체중 감소현상을 보고한 결과와 유사한 경향이었으며, 이는 고용량 시험물질 투여로 사료섭취량도 감소현상을 나타나 초기의 체중 감소현상은 사료섭취량 저하에 의하여 기인된 것으로 사료된다고 보고한 결과와 유사한 경향이었다.

임상증상

Table 3에서와 같이 625, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 용량의 *Leuc. citreum* GR1을 경구로 단회 투여한 시험물질과 대조군의 암·수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 털 빠짐 현상, 설사, 다뇨, 연변, 활동저하현상, 진전 및 부종 등 시험물질의 투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상 소견이 관찰되지 않았다. 다만 고용량(5,000 mg/kg) 경구 투여한 수컷 마우스의 경우 1시간 이내에 활동력 감소 1례가 일시적으로 관찰되었으나 이러한 증상은 투여 1일 후에는 모든 개체가 정상으로 회복되었다. 이러한 결과는 김치로부터 분리한 exopolysaccharide 생성 유산균인 *Leuc. kimchii* GJ2에 대한 급성독성시험연구에서 시료를 경구투여로 1회 최고 용량인 5,000 mg/kg으로 투여한 마우스에서 시료물질 투여로 인한 약간의 활동성 감소가 나타났고, 연변이나 설사와 유사한 상태로 시료가 배설되었으나, 기타 시료에 기인한 중독증상은 관찰되지 않았으며, 이러한 증상은 투여 초기에 일시적으로 나타났다가 곧 바로 회복되었다는 연구결과와 유사한 경향이었다(27).

부검 소견 및 장기무게 측정

단회 경구투여 한 후 시험 종료한 다음 생존동물 모두를

Table 2. Body weights in male and female ICR mice treated orally with *Leuc. citreum* GR1

| Sex | Dose (mg/kg) | Body weights (g) | | | | |
|--------|--------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | Days after treatment | | | | |
| | | 0 | 1 | 3 | 7 | 14 |
| Male | 0 | 28.16±2.73 ^{1)NS2)} | 30.52±0.52 ^{NS} | 32.82±0.56 ^{NS} | 33.90±1.07 ^{NS} | 35.42±1.52 ^{NS} |
| | 625 | 28.20±1.12 | 31.19±0.76 | 33.41±0.68 | 34.12±0.87 | 36.13±1.90 |
| | 1,250 | 28.52±0.81 | 30.91±0.89 | 31.62±1.14 | 33.21±0.62 | 34.89±2.08 |
| | 2,500 | 28.18±2.25 | 31.42±1.13 | 32.52±1.42 | 33.45±1.40 | 35.01±1.54 |
| | 5,000 | 28.03±0.65 | 30.01±0.33 | 32.21±1.02 | 33.62±0.32 | 35.23±3.02 |
| Female | 0 | 23.73±0.62 ^{NS} | 25.25±0.92 ^{NS} | 25.62±0.91 ^{NS} | 26.53±0.91 ^{NS} | 27.44±1.03 ^{NS} |
| | 625 | 23.71±0.51 | 25.41±0.14 | 26.51±0.47 | 27.62±0.76 | 27.95±0.43 |
| | 1,250 | 24.22±0.37 | 25.20±0.37 | 25.42±0.35 | 25.89±0.41 | 26.11±2.51 |
| | 2,500 | 23.75±0.41 | 25.16±0.58 | 25.76±0.44 | 26.60±0.52 | 27.30±1.73 |
| | 5,000 | 23.10±0.35 | 24.37±0.28 | 25.22±0.23 | 25.91±0.39 | 26.82±2.51 |

¹⁾Values are expressed as means ± S.E. (n=10).
²⁾NS: not significantly different among groups.

Table 3. Clinical signs in male and female ICR mice treated orally with *Leuc. citreum* GR1

| Sex | Dose (mg/kg) | Signs | | | | | | |
|--------|--------------|--------------------|----------|----------|------------|--------------------------|--------|-------|
| | | Loss of fur | Diarrhea | Polyuria | Soft stool | Decreased motor activity | Tremor | Edema |
| Male | 0 | 0/10 ¹⁾ | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 625 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 1,250 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 2,500 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 5,000 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| Female | 0 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 625 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 1,250 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 2,500 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 5,000 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |

¹⁾Values are expressed as number of animals with the sign/number of animals examined.

부검하여 주요 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과, 모든 실험동물에서 심장, 폐, 신장, 부신, 간, 위, 비장, 흉선, 대장, 맹장 등의 주요 내부 장기에 대한 외관상이나 내부 장기에 어떠한 육안적 이상소견이나 병변이 발견되지 않았다. 단 회투여 독성시험의 경우 육안적 이상소견이 관찰된 장기 및 조직에 대하여 병리조직학적 검사가 포함되어야 한다는 “의약품 등의 독성시험기준(식품의약품안전청고시 제 2005-60호, 2005. 10.21)”이 명시되었다. 그러나 본 실험에서는 모든 실험동물에서 이상소견이 관찰되지 않았기에 조직검사는 시행하지 않았다. 또한 Table 4와 같이 장기의 무게를 측정된 결과 간, 신장(좌우), 심장, 폐, 비장 모두에서

정상 대조군과 시험물질과 비교해서 유의차가 없었다.

Table 4. Gross findings in male and female ICR mice treated orally with *Leuc. citreum* GR1

| Sex | Dose (mg/kg) | Observation | Frequency |
|--------|--------------|---------------------|--------------------|
| Male | 0 | N.G.F ¹⁾ | 0/10 ²⁾ |
| | 625 | N.G.F | 0/10 |
| | 1,250 | N.G.F | 0/10 |
| | 2,500 | N.G.F | 0/10 |
| | 5,000 | N.G.F | 0/10 |
| Female | 0 | N.G.F | 0/10 |
| | 625 | N.G.F | 0/10 |
| | 1,250 | N.G.F | 0/10 |
| | 2,500 | N.G.F | 0/10 |
| | 5,000 | N.G.F | 0/10 |

¹⁾N.G.F. : no gross finding.

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

요 약

본 연구는 김치에서 분리한 우수한 항균활성을 나타내는 *Leuc. citreum* GR1을 분리하여 단기투여에 의한 안전성을 확인하고자 식품의약품안전청의 의약품 등의 독성시험기준에 따라 실시하였다. 시험물질인 *Leuc. citreum* GR1의 임상적용 경로가 구강이므로 경구투여용 존데를 사용하여 단회 경구 투여를 수행하였으며, 투여용량은 단회 경구투여 최고용량인 5,000 mg/kg을 고농도로 설정하였다. 급성독

Table 5. Organ weights of male and female ICR mice treated orally with *Leuc. citreum* GR1

| Sex | Dose (mg/kg) | No. of animal | Weight of organs (g) | | | | | | |
|--------|--------------|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | | Liver | Kidney (L) | Kidney (R) | Spleen | Heart | Lung | Brain |
| Male | 0 | 10 | 2.01±0.23 ^{NS} | 0.24±0.04 ^{NS} | 0.24±0.02 ^{NS} | 0.12±0.03 ^{NS} | 0.16±0.01 ^{NS} | 0.22±0.02 ^{NS} | 0.48±0.02 ^{NS} |
| | 625 | 10 | 2.24±0.41 | 0.22±0.02 | 0.23±0.04 | 0.11±0.02 | 0.15±0.02 | 0.21±0.03 | 0.47±0.01 |
| | 1,250 | 10 | 2.07±0.19 | 0.23±0.02 | 0.23±0.03 | 0.10±0.01 | 0.15±0.01 | 0.22±0.01 | 0.46±0.02 |
| | 2,500 | 10 | 2.06±0.09 | 0.24±0.03 | 0.25±0.01 | 0.12±0.01 | 0.16±0.02 | 0.22±0.02 | 0.45±0.03 |
| | 5,000 | 10 | 2.11±0.34 | 0.24±0.01 | 0.24±0.03 | 0.11±0.02 | 0.15±0.03 | 0.21±0.01 | 0.48±0.02 |
| Female | 0 | 10 | 1.39±0.12 ^{NS} | 0.15±0.01 ^{NS} | 0.15±0.03 ^{NS} | 0.09±0.02 ^{NS} | 0.11±0.03 ^{NS} | 0.19±0.01 ^{NS} | 0.41±0.02 ^{NS} |
| | 625 | 10 | 1.36±0.26 | 0.17±0.02 | 0.17±0.02 | 0.11±0.01 | 0.12±0.02 | 0.19±0.03 | 0.42±0.03 |
| | 1,250 | 10 | 1.37±0.21 | 0.16±0.03 | 0.15±0.04 | 0.12±0.02 | 0.12±0.01 | 0.20±0.01 | 0.40±0.01 |
| | 2,500 | 10 | 1.38±0.09 | 0.16±0.01 | 0.16±0.02 | 0.10±0.02 | 0.10±0.04 | 0.19±0.04 | 0.41±0.02 |
| | 5,000 | 10 | 1.36±0.08 | 0.15±0.04 | 0.15±0.01 | 0.10±0.01 | 0.11±0.01 | 0.20±0.02 | 0.42±0.03 |

¹⁾Values are expressed as means ± S.E. (n=10).

²⁾NS: not significantly different among groups.

성시험을 위하여 경구 1회 시험물질을 625, 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg 투여 용량으로 하여 ICR계 암·수 마우스에 게 용량별 각 군당 10마리씩 시험물질을 투여한 후 14일간의 일반증상, 사망률, 체중, 임상증상 및 육안적 소견을 관찰하였다. 단회 경구투여한 후 모든 시험군에서 사망례가 관찰되지 않았으며, 시험동물은 시험 종료 시까지 계속 생존하여 평균치사량을 산출할 수 없었다. 경구투여한 후 마우스의 체중변화에 있어서도 암·수 모두 대조군과 시료물질 투여군 사이에 유의성 있는 차이는 보이지 않았으며, 용량 의존적인 차이도 볼 수 없었다. 단회 경구투여 후 시험 종료한 다음 생존동물 모두를 부검하여 주요 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과 대조군과 시료투여군 모두에서 외관상이나 내부 장기에 어떠한 이상소견이나 병변이 관찰되지 않았다. 이상의 결과로부터 시험물질인 *Leuc. citreum* GR1는 경구투여 시 ICR계 암·수 마우스에서 독성학적인 변화가 관찰되지 않았으며, 경구투여가 5,000 mg/kg 이상인 저독성의 안전한 물질로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 식품기술개발사업에 의한 연구비로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- The Bureau of Statistic (2000) Annual statistical report on the causes of death in 1998.
- Gilliland SE (1990) Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Lett, 57, 175-188
- Perdigon, Nader de Macias Me, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Holgado AA (1990) Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. J Dairy Res, 57, 255-264.
- Jang JS, Lee YD, Park JH (2003) Growth inhibition of newly emerging *Arcobacter butzleri* by organic acids and trisodium phosphate. Korean J Food Sci Technol, 35, 1169-1173
- Cheigh HS, Hwang JH (2000) Antioxidative characteristics of kimchi. Food Ind Nutr, 5, 52-56
- Fuller, R (1989) Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol, 66, 365-378
- Seo JG, Lee GS, Kim JE, Chung MJ (2010) Development of probiotic products and challenges. KSBB J, 25, 303-310
- Seo JH, Lee H (2007) Characteristics and immunomodulating activity of lactic acid bacteria for potential probiotics. Korean J Food Sci Technol, 39, 681-687
- Cheigh HS (2005) The physiological ingredient of the kimchi and health functionality. Food Preserv Processing Ind, 4, 2-10
- Mheen TI, Kwon TW (1984) Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. Korean J Food Sci Technol, 16, 443-450
- Lee YH, Kang MS (1996) Characteristics of beta galactosidase activity in *Lactobacillus plantarum* from kimchi. Agr Chem Biotechnol, 39, 60-66
- Han HU, Kang YW, Kim JH (1999) Sliced kimchi and

- kimchi juice made by using *Leuconostoc citreum* IH22. Korean Intellectual Property Office. Patent 1003306740000
13. Jang SH (2011) Control of *Listeria monocytogenes* on smoked salmon by antimicrobial effect of lactic acid bacteria. Food Ind Nutr, 16, 1-4
 14. Korea Food and Drug Administration (2012) Korean food standards codex. KFDA. p 11
 15. Donohue DC, Salminen S (1996) Safety of probiotic bacteria. Asia Pac J Clin Nutr, 5, 25-28
 16. Ryu EH. (2011) Probiotic assessment of kimchi lactic acid bacteria. MS Thesis, Chosun University, Korea
 17. Korea Food and Drug Administration (2009) Guidelines for toxicity tests of drugs and related materials notification. KFDA. 116, 1-5
 18. Korea Food and Drug Administration (2009) Good laboratory practice regulation for non-clinical laboratory studies. KFDA. 183, 1-74
 19. Organization for economic cooperation and development (OECD) (2001) OECD guideline for the testing of chemicals revised draft guideline 420
 20. Hayes AW (1984) Principles and methods of toxicology. Raven press, New York, USA, p 17-19.
 21. Ma JY, Huang DS, Yu YB, Ha HK, Shin HK (2007) Acute toxicity study on Sagunja-tang (Sijunzi-tang) in ICR mice. J Kor Ori Med, 28, 200-204
 22. Ryu JC, Kim KR, Kim HJ, Jung SO, Kim MK, Park HS, Kim YH (1998) Acute and genetic toxicity study of DK1002, a drug candidate for analgesics. J Toxicol Pub Health, 14, 427-433
 23. Litchfield JT, Wilcoxon F (1949) A simplified method for evaluation dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther, 96, 99-113
 24. U.S Environmental Protection Agency (1998) Health effects test guidelines OPPTS 870.100, Acute toxicity testing background. Washington, USA
 25. Lee JJ, Chang HC, Lee MY (2007) Acute toxicity of *Leuconostoc citreum* GJ7 isolated from kimchi in mice. J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 534-539
 26. Lee H, Lee JJ, Chang HC, Lee MY (2012) Acute toxicity of *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi in mice. Korean J Food Preserv, 19, 315-321
 27. 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. J Life Sci, 17, 561-567

(접수 2012년 11월 26일 수정 2013년 1월 11일 채택 2013년 1월 11일)