

## 김치로부터 분리한 Exopolysaccharide생성 유산균 *Leuconostoc kimchii* GJ2의 마우스에 대한 급성독성

이재준 · 이유미 · 장해춘 · 이명렬\*

조선대학교 식품영양학과

Received February 14, 2007 / Accepted March 8, 2007

**Acute Toxicity of *Leuconostoc kimchii* GJ2, An Exopolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimchi, in Mice.** Jae Joon Lee, Yu Mi Lee, Hae Choon Chang and Myung Yul Lee\*. Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 500-759, Korea – The present study was carried out to investigate the acute toxicity of *Leuconostoc kimchii* GJ2(*Leu. kimchii* GJ2), an exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolated from kimchi, in ICR male and female mice. The test article was intraperitoneally or orally administered to both sexes of mice. Then followed a 14-day period of observation. In intraperitoneal acute toxicity test, mice were injected intraperitoneally with dosage of 0, 700, 900, 1,100, 1,300, 1,500, 1,700, 1,900, 2,100, 2,300 and 2,500 mg/kg. Intraperitoneal 50% lethal doses(LD<sub>50</sub>) of *Leu. kimchii* GJ2 was >2,500 mg/kg in male and female mice. In oral acute toxicity test, male and female mice were gavaged with *Leu. kimchii* GJ2 of five doses(0, 625, 1,500, 2,500 and 5,000 mg/kg). Oral LD<sub>50</sub> of *Leu. kimchii* GJ2 was consider to be higher than 5,000 mg/kg. Furthermore, no significant changes in general conditions, body weights, clinical signs and any gross lesions were observed in both sexes of mice administered intraperitoneally or orally with *Leu. kimchii* GJ2. In conclusion, our results suggest that no adverse effect level of *Leu. kimchii* GJ2 is estimated to be over 2,500 mg/kg in the intraperitoneal route and 5,000 mg/kg in the oral route, respectively.

**Key words** – *Leuconostoc kimchii* GJ2, exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria, acute toxicity mice

### 서 론

세포벽의 일부인 exopolysaccharides(EPS)는 물에 녹거나 분산되는 긴 사슬의 고분자 중합체로 세포벽 주위에 협막을 형성하거나 세포벽 외부에 slime형태로서 발효 중에 축적되는 미생물의 1차 또는 2차 대사산물인 다당류이다[7]. EPS는 에너지원으로 이용되지는 않으나 건조, 식균작용, 원생동물의 습식, 항생제, 독성화합물, 삼투압 스트레스 등과 같은 외부환경으로부터 자신을 보호하는 작용을 한다[5]. EPS는 실제적 측면에서 미생물이 가장 다량으로 생성하는 다당류이며, 배양액으로부터 회수가 쉽고, 정제비용이 적게 들므로 상업적인 잠재력이 가장 높은 다당류이다[12].

일부의 유산균 속은 EPS를 생합성하여 제품의 조직과 점성 향상으로 식가공품에서 농후제나 젤링화에 중요한 역할을 한다[14]. 특히 생성된 EPS는 유산균 발효유제품에서 큰 문제였던 유청 분리 현상을 완화시키고 점성을 증가시키며 조직을 부드럽게 하여 섭취 시 구강 내 포만감과 조직감을 부여해 준다[1,13]. 따라서 서유럽 특히 프랑스, 덴마크, 네델란드 등에서는 발효유에 대한 안정제 대체원으로서 발효유제품의 종균으로 EPS생성 유산균들이 매우 오래 전부터 사

용되어 왔다[3,11,14].

최근에 와서는 EPS가 과거의 단순 물성 기능소재로써가 아니고 생체 중요 정보물질로서의 생리기능소재로서 주목받고 있는데, 유산균 중 *Bifidobacteria*와 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgalicus*, *Lactobacillus helveticus* var. *jugurti*로부터 유래한 EPS의 항암효과[9], *Streptococci*로부터 생산된 EPS의 면역학적 효과와 항궤양 효과 및 cholesterol저하 활성이 보고되었다[2]. 그러나 지금까지 유산균으로부터 생산된 EPS에 관한 많은 연구는 대부분 요구르트와 치즈 등과 같은 발효유제품의 물성 기능소재로서의 종균이용에 관한 것이거나 EPS 생산 균주의 탐색이나 특성에 관한 연구도 거의 발효유제품에서 분리한 유산균에 국한되고 있다. 그러나 채소발효식품, 특히 김치에서 분리한 경우는 Eom 등[4]에 의한 동치미에서 고활성 dextranucrase를 생성하는 *Leuconostoc mesenteroides*와 Kim 등[6]이 보고한 김치로부터 dextran생성 *Leuconostoc lactis*의 분리에 관한 보고로 매우 미미한 편이다.

따라서 본 연구에서는 Kim[8]이 김치로부터 분리·동정하여 장에 정착성이 우수하고 내산성, 인공위액, 인공담즙에 높은 저항성을 나타낸 EPS생성 유산균인 *Leuconostoc kimchii* GJ2의 안전성을 평가하고자 식품의약품안전청 국립독성연구소 독성·약리·병리시험 표준작업지침서(I)(1999. 12)의 일반독성시험기준에 따라 마우스에서 단회투여에 의한 독성 시험을 실시하였다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-62-230-7722, Fax : +82-62-225-7726

E-mail : mylee@mail.chosun.ac.kr

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 사육환경

시험구역은 조선대학교 실험동물센터이며, 시험동물은 (주)대한실험동물센터에서 분양받은 특정병원체부재(SPF) 암수 ICR계 마우스를 온도 23±1°C, 습도 55±5%, 배기 횟수는 시간당 10~18회이며, 형광등 명암 12 시간 cycle(08:00~20:00), 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(220W × 270L × 130H mm)케이지에 5마리씩 암·수 각각 따로 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간동안에 임상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였으며, 실험동물이 6주령이 될 때 시험을 실시하였다. 사료는 실험동물용 고품사료(제일사료주식회사)를 자유 섭취시켰으며, 음수는 상수도수를 자유섭취시켰다.

### EPS생성 유산균주의 분리

김치로부터 분리되어 유산균으로 확인된 김치유산균주를 sucrose(trypton 10 g, yeast extract 5 g, dipotassium phosphate 5 g, diammonium citrate 5 g, sucrose 50 g/1 L, pH 7.0) 고체배지에 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후, mucoid colony를 나타내는 점질균을 선정하고, 다시 sucrose 액체배지에서 점성물질을 분비하는 것을 확인하여 EPS생성 균주로 선정하였다. 분리 균주는 MRS(Difco, France) 액체배지에 배양한 후 대수기에 있는 배양액에 glycerol이 25% (v/v)가 되게 첨가하여 -70°C에서 보관하였으며, 실험에 사용할 경우 5 mL MRS 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양한 후 MRS 액체배지에 1차 계대하고, 다시 sucrose 액체배지에 2차 계대하여 30°C에서 48시간 배양하여 사용하였다.

### 시험물질

김치에서 분리·배양한 EPS생성 유산균 *Leuconostoc kimchii* GJ2(*Leu. kimchii* GJ2, 이하 시료라 함)를 4,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 배양액중의 균체를 회수하고 다시 phosphate-buffered saline(PBS)으로 3회 세척한 후 50 mL PBS에 현탁시켰다. 현탁되어진 균을 초음파 분쇄기를 이용하여 25분 간격으로 1시간 동안 균체를 파쇄한 후 5,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 회수하였고 파쇄되지 않아 침전된 균체(cell debris)는 동일 조건하에서 초음파 파쇄를 재실시하여 균체를 완전히 파쇄한 후 상등액을 회수하였다. Perchloric acid 처리로 핵산이 제거된 용액을 12시간 정도 동결 건조하여 최종적으로 실험에 사용할 시료를 powder 형태로 얻었다. 이를 주사용 증류수에 투여 용량을 고려하여 각 농도 별로 용해하였다. 경구투여의 경우는 존대를 이용하여, 복강주사의 경우 복강내에 1회용 멸균주사기를 이용하여 1회 주사하였다. 주사용 증류수를 대조물질로

사용하였다.

### 군 분리 및 투여용량의 설정

순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중(22±2 g)에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군 분리를 실시하였다.

투여용량의 설정에서, 복강급성독성시험의 경우 투여 용량은 시료의 용해도 및 예비실험결과를 토대로 최고 용량을 2,500 mg/kg으로 하고, 등차를 200으로 체중 kg당 700, 900, 1,100, 1,300, 1,500, 1,700, 1,900, 2,100, 2,300 및 2,500 mg의 10군을 설정하였다. 경구급성독성시험의 경우, 최고 용량을 5,000 mg/kg으로 하고, 등비를 500으로 하여 체중 kg당 625, 1,250, 2,500, 5,000 mg으로 설정하였다. 투여 용량이 경구투여 시는 10 g 당 0.2 mL을, 복강내 투여 시는 0.1 mL이 넘지 않게 일정한 액량으로 시험물질의 각 농도가 들어가게 조제하여 투여 액량을 결정하였다.

### 임상증상 및 사망의 관찰

*Leu. kimchii* GJ2를 복강 투여한 후 모든 동물에 대한 임상 증상 및 사망률 관찰은 투여 당일은 투여 후 6시간까지 매 시간마다 일반상태를 관찰하였고, 투여 다음날부터 14일까지는 매일 1회씩 일반상태의 변화, 중독 증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다. *Leu. kimchii* GJ2를 경구 투여한 후의 생존률과 임상증상 관찰은 복강급성독성시험법에 준하여 실시하였다.

### 체중변화

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

### 부검

시험기간 중 사망동물에 대해서는 발견 즉시 부검을 실시하여 육안검사를 하였으며, 시료물질 복강 혹은 경구 투여 후 14일째까지 생존한 동물은 시험 종료 후 동물을 CO<sub>2</sub>로 가법게 마취시킨 다음 절박도살을 실시하고 후대동맥을 절단하여 방혈시킨 후에 외관 및 내부 장기의 이상 유무를 육안 소견으로 관찰하였다.

### 자료의 통계학적 해석

LD<sub>50</sub> 산출은 Litchfield와 Wilcoxon 방법[10], 기타 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

**결과 및 고찰**

**사망률 및 LD<sub>50</sub>치**

*Leu. kimchii* GJ2를 복강 혹은 경구 투여한 후 암수 ICR 마우스를 14일 동안 관찰한 결과 사망동물과 LD<sub>50</sub>치는 Table 1과 2와 같다.

Table 1에서와 같이 복강급성독성시험의 경우, 수컷 마우스는 *Leu. kimchii* GJ2 2,300 mg/kg 투여군에서 24시간 이내에 1레가, 암컷 마우스는 1,900 및 2,100 mg/kg 투여군에서 24시간 이내에 각각 1레씩 죽었을 뿐 나머지는 계속 생존하여 2,500 mg/kg 까지는 치사량(LD<sub>50</sub>)이 산출되지 않아 본 시험물질은 복강주사 시 2,500 mg/kg 이상에서도 독성을 나타내지 않는 저독성 물질로 판단되어진다. 시료물질을 복강 투여한 후 2-3시간 이내에 사망하였는데, 이는 부검 시 장출혈 현상이 있는 것으로 보아 사망의 원인이 시험물질에 의한 것이 아닌 투여 실수에 의한 것으로 판단되었다.

경구급성독성시험의 경우, Table 2에서와 같이 암수 마우스에 *Leu. kimchii* GJ2를 1회 경구 투여한 후 14일 동안 관찰한 결과, 수컷 5,000 mg/kg 투여군에서 투여 3시간 후 1마리가 사망하였는데, 부검 시 폐에 시험물질로 추정되는 액체가 가득 차 있는 것으로 미루어 많은 투여액량으로 인하여 투여도중 시료의 기도 내 역류에 의하여 사망한 것으로 확인되었

다. 따라서 경구투여 시 본 실험의 경우 5,000 mg/kg까지 투여하여도 사망을 관찰할 수 없어 본 연구에서는 LD<sub>50</sub>은 적어도 5,000 mg/kg 이상으로 산출하였다.

**체중변화**

*Leu. kimchii* GJ2를 복강 혹은 경구로 단회 투여한 후 체중증감의 변화는 Table 3과 4에서와 같이 대조군과 시료투여군 간의 차이를 관찰할 수 없었다.

복강급성독성시험의 경우 투여한 후 Table 3에서와 같이 1일째 체중이 대조군을 제외하고 암수 마우스 모두 시료투여군들이 개시체중에 비하여 유의차는 없었으나 약간 저하되었고, 3일째 개시체중으로 회복되었으며 시료투여군과 대조군 사이에는 체중변화가 나타나지 않았다.

경구급성독성시험 동물의 경우도 *Leu. kimchii* GJ2 투여 후 대조군과 시료투여군 간의 유의성 있는 체중변화가 발견되지 않았다. 다만 경구급성 독성에 있어 가장 특징적인 것은 시험물질을 고농도로 투여한 2,500 mg/kg 투여군과 5,000 mg/kg 투여군에서 투여한 후 1일째 체중이 암수 모두 대조군에 비하여 약간 저하되었으나 바로 회복되어 다른 군들과 유사한 경향이었다(Table 4).

또한, 투여용량군 사이의 체중변화는 복강 및 경구투여한 모든 군에서 용량의존성을 나타나지 않았다(Table 3과 4).

Table 1. Mortality of male and female ICR mice treated intraperitoneally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment					Final Mortality	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
		0	1	3	7	14		
Male	Vehicle	0/10 <sup>1)</sup>	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	>2,500
	700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	900	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,300	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,900	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	2,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	2,300	0/10	1/10	0/9	0/9	0/9	1/10	
2,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10		
Female	Vehicle	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	>2,500
	700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	900	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,300	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	1,900	0/10	1/10	0/9	0/9	0/9	1/10	
	2,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	
	2,300	0/10	1/10	0/9	0/9	0/9	1/10	
2,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10		

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

Table 2. Mortality of male and female ICR mice treated orally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment					Final Mortality	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
		0	1	3	7	14		
Male	Vehicle	0/10 <sup>1)</sup>	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	>5,000
	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	1/10	0/9	0/9	0/9	1/10	
Female	Vehicle	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	>5,000
	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	

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

**임상증상의 관찰**

*Leu. kimchii* GJ2를 복강 혹은 경구투여한 후 전 기간동안 압수 동물 모두 본 시료물질의 투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상 소견이 관찰되지 않았다(Table 5와 6). 다만 복강 및 경구투여직후부터 40-50분 이내에 일부 마우스에서 웅크림, 활동력 감소, 이상보행 등이 일시적으로 관찰되었으며, 또한 연변과 설사도 나타났으나 이러한 증상은 투여 1일 후에는 거의 모든 개체가 정상으로 회복되었다.

즉 Table 5에서와 같이 복강급성독성시험의 경우 시료물질의 복강투여 후 40-50분 이내에 수컷 마우스의 경우 설사가 대조군과 1,500 mg/kg 투여군에서 각각 1례씩, 활동력 감소가 2,300 mg/kg 투여군에서 1례, 연변은 2,500 mg/kg 투여군에서 1례가 관찰되었으며, 암컷의 경우 설사가 1,300 mg/kg 투여군과 2,500 mg/kg 투여군에서 각각 1례씩, 활동력 감소가 1,900 mg/kg 투여군에서 1례가 관찰되었으나 투여 1일 후에는 모두 정상으로 회복되었다.

Table 3. Body weights in male and female ICR mice treated intraperitoneally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	Vehicle	22.6±1.6 <sup>1)</sup>	22.9±1.3	23.3±1.6	25.1±2.1	30.2±2.0
	700	21.9±2.0	20.1±0.8	22.0±2.3	24.7±0.9	28.9±1.8
	900	22.8±1.5	20.2±2.3	22.8±1.5	24.9±1.6	30.2±0.9
	1,100	21.6±1.4	19.8±2.7	22.5±1.6	24.1±2.4	29.4±1.6
	1,300	23.0±0.9	21.1±0.4	23.2±2.1	24.8±1.7	28.8±2.3
	1,500	22.8±1.7	21.0±0.9	22.9±2.6	24.6±2.2	29.6±0.9
	1,700	22.1±0.7	20.1±1.8	22.6±0.4	25.0±2.2	29.1±0.6
	1,900	21.8±1.6	20.0±0.8	22.0±2.4	24.1±1.6	28.9±1.5
	2,100	23.0±2.1	21.9±1.6	23.1±2.5	23.9±1.3	28.4±0.4
	2,300	22.4±1.5	20.5±2.0	22.1±1.5	24.4±1.8	29.0±1.6
Female	Vehicle	22.7±1.7	22.9±0.9	25.1±1.6	28.6±1.6	30.4±2.5
	700	22.6±0.4	20.6±1.3	24.5±1.0	27.8±2.3	30.1±1.5
	900	21.5±1.6	19.8±0.8	26.2±2.6	28.4±0.8	28.4±1.3
	1,100	22.9±0.9	19.1±1.6	25.9±1.3	29.0±2.1	29.6±2.6
	1,300	21.9±2.3	20.2±1.8	24.1±1.7	27.6±2.3	28.3±0.8
	1,500	22.8±1.9	19.1±0.7	25.4±0.9	28.6±1.4	29.1±2.3
	1,700	23.1±0.9	20.9±1.2	26.4±1.3	27.0±0.7	29.7±0.6
	1,900	23.6±1.5	20.9±2.4	25.9±2.0	28.9±2.4	30.1±2.6
	2,100	21.6±2.2	19.0±1.2	25.1±0.9	29.0±2.0	29.9±0.5
	2,300	23.3±2.7	20.6±1.9	26.0±1.8	28.2±1.2	28.6±2.4
2,500	21.1±1.3	19.9±1.4	25.8±1.4	28.1±0.9	28.1±0.4	

<sup>1)</sup>Values are mean ± S.E. for nine to ten mice.

Table 4. Body weights in male and female ICR mice treated orally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	Vehicle	22.1±0.8 <sup>1)</sup>	22.6±2.1 <sup>1)</sup>	23.9±1.4	24.1±1.5	28.9±1.4
	625	22.9±1.4	22.8±1.5	22.2±1.6	24.6±0.9	27.6±0.9
	1,250	22.1±1.6	22.2±1.9	23.4±0.8	23.1±2.1	27.0±2.3
	2,500	22.2±0.4	19.2±0.6	21.4±1.5	23.0±1.3	26.9±1.4
	5,000	22.1±0.9	18.0±0.8	21.6±0.3	23.5±0.5	27.2±1.0
Female	Vehicle	22.1±1.3	22.9±0.6	23.4±2.0	24.6±0.8	28.8±0.9
	625	21.9±1.0	22.8±1.3	22.1±0.9	24.9±1.3	27.5±1.8
	1,250	22.5±0.5	22.0±1.4	23.0±2.6	24.7±2.1	26.0±1.2
	2,500	22.9±1.6	18.4±0.8	21.1±1.4	23.4±1.0	26.7±0.4
	5,000	22.7±0.3	18.0±1.7	20.7±0.7	23.1±1.4	26.3±1.8

<sup>1)</sup>Values are mean ± S.E. for nine to ten mice.

경구급성독성시험은 *Leu. kimchii* GJ2를 투여한 후 임상증상을 관찰한 결과는 Table 6과 같다. 시료물질 고용량 투여한 2,500 mg/kg 투여군과 5,000 mg/kg 투여군의 일부 마우스에서 투여직후 약간의 활동성 감소가 나타났고, 연변이나 설사와 유사한 상태로 시료가 배설되었으나, 기타 시료에 기인한 중독증상은 관찰되지 않았으며, 이러한 증상은 곧 소실되었다. 즉 수컷 마우스의 경우 시료투여 후 설사가 5,000 mg/kg 투여군에서 1례, 연변이 2,500 mg/kg 투여군에서 1례가 관찰

되었으며, 암컷 마우스는 설사가 대조군에서 1례, 연변과 활동력 감소가 5,000 mg/kg 투여군에서 1례가 관찰되었으나 시료물질의 투여와는 관련이 없는 것으로 판단되었다.

**육안적 변화**

복강 및 경구투여 후 도중 사망동물 및 시험 종료 후 생존 동물 모두를 부검하여 주요 장기의 육안적 소견을 관찰한 결과 Table 7과 8에서와 같이 대조군과 시료투여군 모두에서

Table 5. Clinical signs in male and female ICR mice treated intraperitoneally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Signs						
		Loss of Fur	Diarrhea	Polyuria	Soft Stool	Decreased Motor Activity	Tremor	Edema
Male	Vehicle	0/10 <sup>1)</sup>	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	900	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,300	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,500	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,900	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,300	0/9	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9	0/9
	2,500	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
Female	Vehicle	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10
	700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	900	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,300	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,500	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,700	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1,900	0/9	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9	0/9
	2,100	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	2,300	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	2,500	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

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

Table 6. Clinical signs in male and female ICR mice treated orally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Signs						
		Loss of Fur	Diarrhea	Polyuria	Soft Stool	Decreased Motor Activity	Tremor	Edema
Male	Vehicle	0/10 <sup>1)</sup>	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	1/10	0/10	0/10	0/10
	5,000	0/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
Female	Vehicle	0/10	1/10	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	1/10	1/10	0/10	0/10

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

Table 7. Gross findings in male and female ICR mice treated intraperitoneally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Observation	Frequency
Male	Vehicle	N.G.F <sup>1)</sup>	0/10 <sup>2)</sup>
	700	N.G.F	0/10
	900	N.G.F	0/10
	1,100	N.G.F	0/10
	1,300	N.G.F	0/10
	1,500	N.G.F	0/10
	1,700	N.G.F	0/10
	1,900	N.G.F	0/10
	2,100	N.G.F	0/10
	2,300	N.G.F	0/9
	2,500	N.G.F	0/10
Female	Vehicle	N.G.F	0/10
	700	N.G.F	0/10
	900	N.G.F	0/10
	1,100	N.G.F	0/10
	1,300	N.G.F	0/10
	1,500	N.G.F	0/10
	1,700	N.G.F	0/10
	1,900	N.G.F	0/9
	2,100	N.G.F	0/10
	2,300	N.G.F	0/9
	2,500	N.G.F	0/10

<sup>1)</sup>N.G.F. : no gross finding.

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

외관상이나 내부 장기에 어떠한 이상이나 병변이 발견되지 않았다.

요 약

본 연구는 김치로부터 분리한 EPS생성 유산균 *Leu. kimchii*

Table 8. Gross findings in male and female ICR mice treated orally with *Leu. kimchii* GJ2

Sex	Dose (mg/kg)	Observation	Frequency
Male	Vehicle	N.G.F <sup>1)</sup>	0/10 <sup>2)</sup>
	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	0/9
Female	Vehicle	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

<sup>1)</sup>N.G.F. : no gross finding.

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

GJ2에 대한 급성독성시험을 위하여 복강 및 경구로 1회 시료 물질을 최고 용량(복강: 2,500 mg/kg, 경구: 5,000 mg/kg)으로, 10마리 ICR계통 암수 마우스에게 투여한 후 14일간의 일 반증상, 사망률, 체중, 임상증상 및 육안적 소견을 관찰하였다. 복강 및 경구투여한 후 24시간 이내에 일부 시료투여군에서 부분적으로 사망례가 관찰되었으나 나머지 시험동물은 계속 생존하여 평균치사량을 산출할 수 없었다. 복강 혹은 경구투여한 후 마우스의 체중변화에 있어서도 암수 모두 대조군과 시료물질 투여군 사이에 유의성 있는 차이는 보이지 않았으며, 생존동물의 부검결과에서도 내부장기의 육안적 이상 소견도 관찰되지 않았다. 이상의 결과로부터 시험물질인 *Leu. kimchii* GJ2는 복강 및 경구투여 시 마우스에서 독성학적인 변화가 관찰되지 않았으며, LD<sub>50</sub>은 복강투여가 2,500 mg/kg, 경구투여가 5,000 mg/kg 이상인 저독성의 안전한 물질로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 산업자원부 광주·전남김치사업육성사업(과제 번호: K950218013-3)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고 문헌

1. Bae, I. H. and J. W. Huh. 2002. Isolation of *Lactobacillus* ssp. producing exopolysaccharide and optimization of its production. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **17**, 169-175.
2. Cerning, J., C. Bouilanne, M. Desmazeaud and M. Landon. 1998. Exocellular polysaccharide production by *Streptococcus thermophilus*. *Biotechnol. Lett.* **10**, 255-260.
3. Duboc, P. and B. Mollet. 2001. Application of exopolysaccharides in the dairy industry. *Int. Dairy J.* **11**, 759-768.
4. Eom, H. J., D. M. Seo, H. S. Yoon, H. B. Lee and N. S. Han. 2002. Strain selection of psychrotrophic *Leuconostoc mesenteriods* producing a highly active dextranucrase from kimchi. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 1085-1090.
5. Kang, H. J., S. C. Baick and J. H. Yu. 2005. Studies on the properties of the stirred yogurt manufactured by exopolysaccharide producing lactic acid bacteria. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **25**, 84-91.
6. Kim, B. J., B. H. Min, J. H. Kim and H. U. Han. 2001. Isolation of dextran-producing *Leuconostoc lactis* from kimchi. *J. Microbiol.* **39**, 11-16.
7. Kim, D. J. and S. Y. Lee. 2001. Isolation of exopolysaccharide producing *Enterobacter* sp. and physiochemical properties of the polysaccharide produced by this strain. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **16**, 270-375.
8. Kim, H. J. 2006. Isolation and characterization of the exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria from kimchi. *MS Thesis*. Chosun University.
9. Kimmel, S. A., R. F. Roberts and G. R. Zieger. 1998. Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* RR grown in a semi-defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 659-664.
10. Litchfield, J. T. and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method for evaluation dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **96**, 99-113.
11. Ruas-Madiedo, P., J. Hugenholtz and P. Zoon. 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* **12**, 163-171.
12. Sutherland, I. W. 1998. Novel and established applications of microbial polysaccharide and optimization of its production. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **17**, 169-175.
13. Vanningelgem, F., M. Zamfir, F. Mozzi, T. Adriany, M. Vancanneyt, J. Sings and L. D. Vuyst. 2004. Biodiversity of exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* strains is reflected in their production and their molecular and functional characteristics. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 900-912.
14. Welmen, A. D. and I. S. Maddox. 2003. Exopolysaccharide from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology.* **21**, 269-274.