

ISSN 1229-8565 (print) ISSN 2287-5190 (on-line)
한국지역사회생활과학회지 26(3) : 511~522, 2015
Korean J Community Living Sci 26(3) : 511~522, 2015
<http://dx.doi.org/10.7856/kjcls.2015.26.3.511>

Lactobacillus plantarum AF1과 *Lactobacillus plantarum*

HD1이 생성한 조항균 물질의 독성평가

장 해 춘 · 고 상 범¹⁾ · 이 재 준[†]

조선대학교 식품영양학과 · 한국화학융합시험연구원 헬스케어연구소¹⁾

Oral Toxicity of Crude Antifungal Compounds Produced by *Lactobacillus Plantarum* AF1 and *Lactobacillus Plantarum* HD1

Hae-Choon Chang, Sang-Bum Koh¹⁾, Jae-Joon Lee[†]

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju, Korea

Korea Testing & Research Institute, Health Care Research Laboratory, Hwasun, Korea¹⁾

ABSTRACT

This study investigates the acute and repeated-dose oral toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 (*Lb. plantarum* AF1) and *Lactobacillus plantarum* HD1 (*Lb. plantarum* HD1) in male and female Sprague Dawley rats. In the acute toxicity study, crude antifungal compounds (500, 1,000, and 2,000 mg/kg) did not reduce mortality or produce significant changes in general behaviors or the gross appearance of external and internal organs. In the repeated-dose toxicity study, crude antifungal compounds were administered orally to rats at doses of 500, 1,000, and 2,000 mg/kg daily for 28 days. There were no test-article-related deaths, abnormal clinical signs, or body weight changes. In addition, there were no significant differences between groups treated with crude antifungal compounds and the control group in their organ weight, hematological and serum biochemical parameters, or any other factors. These results suggest that the acute or repeated-dose oral administration of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 plus *Lb. plantarum* HD1 is not toxic in male and female rats.

Key words: *Lactobacillus plantarum* AF1, *Lactobacillus plantarum* HD1, crude antifungal compounds, acute toxicity, repeated-dose toxicity

This research was supported by High Value-added Food Technology Development Program, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Republic of Korea.

접수일: 2015년 6월 4일 심사일: 2015년 7월 3일 게재확정일: 2015년 7월 7일

[†]Corresponding Author: Jae-Joon Lee Tel: 82-62-230-7725 E-mail: leejj80@chosun.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

I. 서론

김치는 다양한 종류의 유산균이 토양 또는 김치의 주재료인 배추나 무 등에 젓갈류와 같은 부재료로부터 유입되어 자연적으로 발효되는 한국의 대표적인 전통발효식품이다. 김치의 주요 유산균은 *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* 및 *Weissella*속 등으로 100여종 이상이 관여한다고 알려져 있다(Mheen & Kwon 1984; Lee & Kang 1996). 김치의 발효과정에서 나타나는 유산균은 초기에 *Leuconostoc mesenteroides*가 우세 균종으로 김치 내용물을 산성화하여 혐기적 상태를 만들게 되고, 발효 말기에는 *Lactobacillus* 속 균종들이 주로 나타나는 것으로 알려져 있으며, *Lactobacillus* 속에는 *Lb. plantarum*, *Lb. sakei* 및 *Lb. brevis* 등이 있다(Lee et al. 2014).

김치 유산균의 생리활성에 관한 연구가 주로 이루어 졌으나, 최근에는 김치 유산균 자체가 생성한 γ -aminobutyric acid, exopolysaccharide, conjugated linoleic acid, bacteriocin, 항진균 물질 등과 같은 기능성 물질이 분리되면서 이들 물질에 대한 관심이 증가하고 있다. 그 중에서 항균활성이 입증된 김치 유산균과 유산균이 생성한 항진균 물질은 생물학적 보존제(biopreservative) 또는 생물제어제(bioregulator)로서 천연 유래 식품보존제로의 사용 가능성이 시사되면서 이들에 관한 연구가 다양하게 진행되고 있다(Yang & Chang 2008; Lim & Im 2009; Muller et al. 2009). 김치 유산균 중 *Lb. plantarum*의 관한 연구들을 보면 *Lb. plantarum* KC21은 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균효과가 매우 높은 것으로 나타났다(Lim & Im 2009). *Lb. plantarum* LP31의 경우는 이 유산균이 생성한 항균물질인 plantaricin이 병원성 미생물의 성장을 억제한다고 보고하였다(Muller et al. 2009). 김치로부터 분리한 *Lb. plantarum* AF1이 생성한 조항진균 물질은 정제된 형태가 아닌 배양액의 농축물 상태에서도 병원성 곰팡이뿐만 아니라 식중독 균주를 포함한 그람 양성 및 음성 세균들에 강한 저해활성을 나타내어 넓은 항미생물 활성 범위를 갖는다고 보고하였다(Yang & Chang 2008). 또한 김치에서 분리한 *Lb. plantarum* HD1이 생성한 항진균

물질의 분리 및 특성 규명에 관한 연구도 수행되어 *Lb. plantarum* HD1이 생성한 항진균 물질도 항균효과가 우수한 것으로 나타났다(Ryu et al. 2014).

미생물이 probiotics로서 이용되기 위해서는 안전성뿐만 아니라 기능성 및 기술적인 요소에 대한 검증을 거쳐야 하는데 최근에는 probiotics에 관한 안정성에 관한 규제와 검증이 강화되고 있는 실정이다. 유산균 균주에 관한 안정성에 관한 연구로는 김치로부터 분리한 우량 균주인 *Leuc. citrum* GJ7의 저독성의 안전한 물질로 보고하였으며(Lee et al. 2007), exopolysaccharide를 생성하는 *Leuc. kimchii* GJ2에 대한 급성독성시험 결과도 시료 물질 투여로 인한 어떠한 독성학적인 변화를 관찰할 수 없었다(Lee et al. 2007). 또한 김치에서 분리한 산막효모제어능을 가진 *Lb. plantarum* AF1을 분리하여 마우스와 흰쥐에 단회투여 및 반복투여 독성시험 결과 모두에서 외관상이나 내부 장기에 시험물질에 기인하는 이상 소견이나 병변이 관찰되지 않았다(Lee et al. 2012a, 2012b). 지금까지 유산균의 독성연구는 주로 유산균 균주만을 가지고 이루어졌으며, 이들이 생산하는 물질인 항진균 물질에 관한 독성연구는 미비한 실정이다. *Lb. plantarum* AF1과 *Lb. plantarum* HD1이 각각 생산한 조항진균 물질의 부분 정제물은 항균물질이 다르고, 항균활성이 다르기 때문에 같이 식품첨가제 혹은 사료첨가제로 동량으로 넣으면 효과가 좋을 것으로 사료되어 동량으로 섞어서 본 연구에서는 사용하였다. 식품의약품안전처에서는 식품원료 사용가능 여부를 판단하기 위한 자료 제출요구시 안전성을 입증할 수 있는 독성시험자료를 제출하도록 되어 있어 조항진균 물질의 독성여부를 확인하기 위하여 연구를 하였다.

따라서 본 연구는 김치로부터 분리·동정하여 항진균 활성을 지닌 유산균인 *Lb. plantarum* AF1과 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질의 부분 정제물을 식품보존제 혹은 사료첨가제로서 활용하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 안전성 평가의 일환으로 Sprague-Dawley 계열 흰쥐를 이용하여 단회투여(급성) 및 반복투여(아급성)에 의한 독성시험을 실시하였다.

II. 연구방법

1. 시험물질

시험 유산균주는 광주광역시와 전라남도 지역에서 수집한 잘 익은 배추김치에서 분리한 것으로 조선대학교 식품영양학과 식품미생물실험실에서 항진균 활성이 우수하다고 알려진 유산균주인 *Lb. plantarum* AF1과 *Lb. plantarum* HD1을 선별하여 각각 생산한 조항진균 물질을 사용하였다(Yang 2008). 분리 유산균을 5 mL MRS(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) 액체배지에 접종하여 30°C incubator(Vision Co., Seoul, Korea)에서 24시간 정치 배양하였다. 100 mL MRS 액체 배지에 1% 전배양액을 접종하고, 다시 30°C에서 24시간 동안 본 배양을 하였다. 본 배양액을 4°C에서 원심분리(9,500×g, 15 min)하여 얻은 상정액을 0.45 µm membrane filter로 제균하여 각각의 배양 상정액을 준비하였다.

2. 조항진균 물질의 정제

Lb. plantarum AF1과 *Lb. plantarum* HD1의 조항진균 물질 분리를 위하여 solid phase extraction(SPE) 정제과정을 통해 실시하였다. Methanol과 10 mM sodium acetate 완충액을 흘려 equilibration 상태인 SPE column(Isolute, C18 EC, 10 g, Unternational Sorbent Technology Ltd, Hengoed, UK)에 제균된 상정액 2.5 L를 통과시킨 후, 5% aqueous acetonitrile (HPLC-grade, Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, USA)로 칼럼을 세척하고 95% aqueous acetonitrile로 3 mL 씩 수집하였다. 용출된 시료는 Speed vac concentrator (CentraVac VS-802, Vision Co., Speed, Seoul, Korea)를 이용하여 용매를 완전히 제거한 후 시료로 사용하였다.

3. 시험동물

시험동물은 중앙실험동물(주)에서 분양받은 특정 병원체 부재(SPF) 5주령의 암·수 Sprague-Dawley (SD) 계통의 흰쥐를 사용하였다. 동물은 한국화학융합시험연구원 헬스케어 연구소(화순, 전남)의 동물사

육실의 환경 하에서 1주일간 순회사육 기간 동안 임상관찰 등을 시행하여 건강한 정상적인 동물만 시험에 사용하였으며, 체중 범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 시험동물은 온도 23 ± 1°C, 습도 55 ± 5%, 배기 횟수는 시간당 10~18회, 형광등 명암 12시간 cycle(09:00~21:00), 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육 상자(220 W × 270 L × 130 H mm) 케이지에 넣어 사육하였다. 실험동물 꼬리에 개별 인식 표시를 한 다음 투여 용량별로 5마리씩 암·수 각각 따로 넣어 사육하였다. 사료는 방사선 멸균된 Laddiet 5L79 (Laddiet, NJ, USA)를, 음수는 R/O수를 UV살균하여 자유급여 하였다.

4. 단회투여(급성) 독성시험

본 연구를 위해 실험동물은 시험물질 투여 전 12시간을 절식시킨 후, 체중을 측정하고 다음 예비시험결과를 토대로 독성징후가 관찰되지 않아 식품의약품안전처의 독성시험기준(KFDA 2009a, 2009b)에 근거하여 암·수 모두 최고 용량을 2,000 mg/kg/day로 하고, 등비를 1/2로 하여 체중 kg 당 500, 1,000 및 2,000 mg을 설정하여 저용량 투여군, 중용량 투여군 및 고용량 투여군으로 설정하였다. 시험물질은 멸균 증류수로 희석하여 제조하였으며, 대조군은 멸균증류수만 투여하였다. 투여액은 1일 1회 당일 체중을 기준으로 체중 kg당 10 mL를 경구투여용 зонде(zonde)를 장착한 주사기를 이용하여 위 내에 직접 강제 주입하였다. 시험동물은 시험물질 투여 후 2시간 동안은 사료섭취를 제한하였으나, 물은 시험기간 동안 계속적으로 공급하였다. 체중은 도입 시, 군 분리 시, 시험물질 투여 개시 직전, 투여 개시 후 7일 및 14일 째에 측정하였다. 시험물질 경구 투여 후 30분 이내에 1회 이상 관찰하고, 24시간 이내에 주기적으로 관찰(특히 6시간 이내는 세심하게 관찰)하였으며, 다음 날부터는 모든 실험동물에 대하여 매일 1회 이상씩 일반상태와 변화, 중독증상의 발현 등 임상증상 및 사망동물의 유무를 총 14일 동안 관찰하였다. 14일간 시험물질 투여 후 희생하기 전날 12시간 절식시킨

후, CO₂로 마취시키고, 방혈시킨 후에 주요 내부 장기의 병변을 육안적으로 검사하였다.

5. 반복투여 독성시험

본 시험물질은 한계 용량에 대한 기준이 없기 때문에 시험물질의 투여 용량은 OECD Guideline (OECD, 2001), Principles and Methods of Toxicology(Hayes 1984) 및 미국 환경보호청(US Environmental Protection Agency)에서 무해물질 분류 기준에 근거(De Vuyst & Vandamme 1994)하여 설정하였다. 투여용량 설정은 반복투여 경구 독성시험에서 시험물질의 독성이 매우 적고 중독량을 정하기가 어려운 경우 투여량의 상한선은 기술적으로 투여할 수 있는 최대량으로 하는 것이 기본 이어서, 암·수 모두 최고 용량을 2,000 mg/kg/day로 하고, 등비를 1/2로 하여 체중 kg 당 500, 1,000 및 2,000 mg을 설정하여 저용량 투여군, 중용량 투여군 및 고용량 투여군으로 설정하였다. 시험물질의 투여는 투여 개시 전에 잘 현탁시킨 다음 매일 1회 4주간 경구투여용 зонде(zonde)를 정착한 주사기를 이용하여 위 내에 직접 투입하였으며, 대조 물질로는 멸균증류수를 사용하였다. 시험동물은 시험물질 투여 후 2시간 동안은 사료를 제한하지 않았으며, 전 시험기간 동안 물은 자유롭게 섭취시켰다.

6. 일반증상 및 사망동물의 관찰

시험물질 투여 당일은 시료물질 경구투여 후 1시간부터 6시간까지 관찰하였고, 투여 다음 날부터 28일간 모든 실험동물에 대하여 매일 1회 이상씩 일정한 시간에 일반상태의 변화, 중독 증상발현, 사망동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험물질에 의하여 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였고, 일반증상은 식욕부진, 타액분비, 설사, 구토, 다뇨 및 무뇨, 분변의 변화를 중심으로 관찰하였다(Lorke 1983). 또한 실험기간 중 매일 functional observation battery(FOB) test에 기초(Irwin 1968)하여 실험동물의 행동, 자극에 대한 반응성, 각성도 및 경계성, 자세 및 보행 등에 관한 임상증상도 관찰하였다.

7. 체중변화 및 사료섭취량 측정

모든 실험동물의 체중은 시험물질 투여 개시 전에 실시하였으며, 투여 개시 후에는 시험기간 중 매주마다 일정한 시간에 1회 및 부검 전에 측정하였다. 사료섭취량은 매주 1회 측정하여 산출하였다.

8. 부검 및 장기 중량 측정

시료물질 투여 후 28일째 까지 생존한 동물은 isoflurane으로 마취하에 체혈 및 안락사 시킨 다음, 체표 및 모든 체공(external surface와 all orifices), 두 개강(cranial cavity), 흉강 및 복강의 모든 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 모든 동물에 대한 육안적 검사를 실시한 후에 장기를 적출한 다음 뇌, 뇌하수체, 폐, 흉선, 비장, 부신, 전립선, 고환, 난소, 자궁, 신장, 심장, 췌장 및 간의 습중량을 측정하고, 절식 체중에 대한 상대 장기 중량비를 산출하였다. 좌우가 있는 장기는 좌우를 별도로 측정하여 무게를 합산 산출하였다.

9. 혈액학적 검사

모든 동물에 대하여 체혈 전에 약 12시간 이상 절식시킨 실험동물을 isoflurane을 이용하여 마취시킨 후 복대동맥으로부터 체혈하였다. 채취한 혈액 중 일부를 EDTA로 항응고 처리한 tube(EDTA 2K, BD vacutainer, NJ, USA)에 혈액을 채취한 후 혈액분석기(ADVIA, 120E, Seimens, USA)를 이용하여 총 백혈구 수(white blood cells, WBC), 총 적혈구수(total erythrocyte count, RBC), 헤모글로빈 함량(hemoglobin, Hb), 혈 중 적혈구 비율(hematocrit, HCT), 평균 적혈구 용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균 적혈구 혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균 적혈구 혈색소 농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 망상적혈구수(reticulocytes), 혈소판(platelets), 프로트롬빈 시간(prothrombin time, PT), 활성화 부분 트롬보플라스틴 시간(activated partial thromboplastin time, APTT), 호중구(neutrophils), 호산구(eosinophils), 호염기구(basophils), 림프구(lymphocytes) 및 단핵구(monocytes)

의 백분율을 측정하였다. 혈액응고시간의 측정은 채혈한 후 vacutainer (9NC sodium citrate, BD vacutainer, NJ, USA)에 취하여 냉장원심분리(3000 rpm, 4℃, 10분)하여 얻은 혈장을 혈액응고분석기(ACL 7000, Instrumentation Laboratory, NY, USA)를 이용하여 측정하였다.

10. 혈액 생화학적 검사

부검 당일 채혈한 혈액을 3,000rpm에서 20분간 원심분리해서 얻은 혈청에 대하여 혈액생화학적 검사를 자동분석기(Hitachi-747, Hitachi Medical., Tokyo, Japan)를 사용하여 인산분해효소(alkaline phosphatase, ALP), 아스파라진산 아미노전이효소(aspartate aminotransferase, AST), 알라닌 아미노기전이효소(alanine aminotransferase, ALT), 감마-글루타밀전이효소(γ -glutamyl transferase, GGT), 포도당(glucose, GLU), 요소(blood urea nitrogen, BUN), 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC), HDL-콜레스테롤(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C), LDL-콜레스테롤(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C), 중성지질(triglyceride, TG), 총 단백질(total protein, TP), 알부민(albumin), 알부민/글로불린 비(albuminglobulin ratio, A/G), 총 빌리루빈(total bilirubin, T-BIL), 크레아티닌(creatinine, CRE), 칼슘(Ca), 무기인(IP), 크레아틴 인산화효소(creatine kinase, CK), 나트륨(Na), 칼륨(K) 및 염소(Cl)를 측정하였다.

11. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 19.0 P/C package를 이용하여 통계처리 하였다. 단회독성시험은 먼저, Levene's test를 통해 등분산 검정을 수행하였고, 이후 일원배치분산분석(one way, ANOVA test)을 실시하여 각 군 간의 유의성을 확인하였다. 4주간 반복투여 독성시험은 체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 장기 중량의 자료에 대하여 일원배치분산(one way, ANOVA) test를 실시하였다. 그 결과 유의성이 인정된 경우에는 Levene's test를 실시

한 후 분산이 동질성을 갖는 경우 사후검정으로 Scheffe 다중검정을 실시하고, 이질적이면 Dunnett's T3를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 단회투여(급성)에 의한 독성평가

김치유산균 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질 부분 정제물을 동량 섞어 500, 1,000 및 2,000 mg/kg 씩 1회 경구투여 후 암·수 흰쥐에게 14일간 일반증상 관찰 결과, 시험물질 투여에 의한 사망동물 및 이상소견은 관찰되지 않았다. OECD guideline은 2,000 mg/kg에서 사망 개체가 없는 경우 무독성으로 간주하므로 본 실험에서 사용한 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질부분 정제물의 안전성을 확인할 수 있었다. 체중의 변화를 관찰한 결과는 Table 1과 같이 정상적인 체중 증가가 관찰되었다. 대조군을 포함한 시험물질 투여군 모두에서 유의할 만한 체중 변화는 관찰되지 않았다. 부검 소견 결과도 모든 투여군에서 시험물질 투여와 관련된 특이할 만한 이상소견은 관찰되지 않았다. Son et al.(2013)은 *Lb. plantarum* AF1이 생성한 조항진균 물질 부분 정제물만을 암수 ICR 마우스에게 단회 투여한 결과 사망률이 관찰되지 않았으며, 체중의 변화를 관찰한 결과 시험물질 투여군과 대조군간의 유의적인 체중변화는 없는 것으로 보고하였다.

2. 사망률, 일반증상, 체중변화 및 사료섭취량

김치유산균 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질 부분 정제물 500, 1,000 및 2,000 mg/kg을 암·수 흰쥐에게 4주간 매일 1회 경구투여한 후 사망률, 일반증상을 관찰한 결과, 시험기간 동안 암·수 모든 시험군에서 빈사 및 폐사 동물은 관찰되지 않았다. 또한 일반증상 관찰 결과, 특이한 이상증상을 보인 동물은 관찰되지 않았다. 체중의 변화를 관찰한 결과는 Table 2와 같이 정상적인 체중 증가가 관찰되었다. 대조군을 포함한 시

Table 1. Body weight changes in rats under the acute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Dose (mg/kg B.W.)	Days after administration (g)		
		0	7	14
Male	0	160.8 ± 8.5 ^{1),NS,2)}	242.4 ± 16.2	300.9 ± 29.3
	500	157.9 ± 4.4	241.0 ± 7.1	300.2 ± 11.2
	1000	157.1 ± 3.9	239.5 ± 9.1	298.3 ± 16.9
	2000	158.0 ± 8.4	237.3 ± 9.8	290.0 ± 12.5
Female	0	126.4 ± 5.0	175.0 ± 2.0	198.5 ± 9.6
	500	124.7 ± 8.0	176.5 ± 4.7	200.3 ± 11.9
	1000	124.0 ± 7.4	174.3 ± 8.2	202.3 ± 16.4
	2000	124.6 ± 3.6	175.0 ± 9.5	198.4 ± 10.6

1) Values are expressed as means ± SD (n=5).

2) NS : No significant differences between groups.

Table 2. Body weight changes in rats under the subacute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Dose (mg/kg)	Days after administration (g)				
		1	8	15	22	28
Male	0	197.2 ± 4.7 ^{1),NS,2)}	269.5 ± 6.4	309.1 ± 19.7	342.6 ± 27.9	372.0 ± 32.7
	500	197.9 ± 4.3	263.9 ± 12.1	301.4 ± 9.2	330.5 ± 14.3	362.3 ± 12.3
	1000	198.6 ± 6.8	263.2 ± 5.6	295.0 ± 6.9	326.1 ± 10.7	349.2 ± 14.8
	2000	197.9 ± 5.1	266.4 ± 9.7	303.9 ± 10.5	341.7 ± 11.6	368.7 ± 12.5
Female	0	151.1 ± 6.1	185.4 ± 6.1	206.5 ± 9.1	224.8 ± 12.5	238.2 ± 10.2
	500	151.0 ± 6.9	185.8 ± 12.3	205.6 ± 12.0	222.6 ± 12.3	238.9 ± 19.3
	1000	149.9 ± 10.1	187.3 ± 10.9	210.6 ± 10.7	230.9 ± 12.6	246.0 ± 13.0
	2000	152.3 ± 8.6	179.6 ± 8.0	198.3 ± 8.9	220.3 ± 7.7	230.3 ± 7.4

1) Values are expressed as means ± SD (n=5).

2) NS : No significant differences between groups.

험물질 투여군 모두에서 유의할 만한 체중 변화는 관찰되지 않았다. 사료섭취량의 경우 Table 3과 같이 투여 2주차에 수컷 1000 mg/kg 군에서 대조군에 비해 유의하게 감소하였고, 암컷에서는 대조군과 시험물질 투여군 간의 유의적 차이가 관찰되지 않았다. Lee et al.(2013)은 *Lb. plantarum* AF1이 생성한 조항진균 물질 부분 정제물을 4주 동안 반복투여 실험결과 암수 흰쥐 모두 대조군을 포함한 시험물질 투여군 모두에서 사망동물이 관찰되지 않았으며, 특이적인 임상증상도 관찰되지 않았다고 보고하였다.

3. 부검소견

실험동물을 부검 시 암·수 모든 동물의 외관 및 주요장기에 대한 육안적 검사를 실시하였는데, 암·수 흰쥐 모두 대조군과 시험물질 투여군 모두에서 시험물질 투여로 인한 용량 의존적인 특이할 만한 외관상 이상 증상이나 부검소견은 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 김치유산균 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질 부분 정제물이 본 연구에서 사용된 농도 범위에서 장기에 손상을 유발하지 않는 것으로 사료된다.

Table 3. Food consumption in rats under the subacute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Dose (mg/kg)	Days after administration (mL)			
		8	15	22	28
Male	0	26.8 ± 2.0 ^{1),NS,2)}	31.0 ± 2.4	30.9 ± 2.1	29.9 ± 0.8
	500	26.1 ± 0.1	29.7 ± 0.2	30.5 ± 1.5	30.7 ± 1.8
	1000	25.8 ± 0.2	25.0 ± 1.9 ³⁾	28.9 ± 0.2	29.3 ± 1.6
	2000	28.3 ± 0.1	30.5 ± 1.6	34.1 ± 2.4	29.6 ± 0.4
Female	0	20.6 ± 2.3	20.1 ± 0.9	22.8 ± 0.6	21.2 ± 0.6
	500	20.0 ± 1.9	19.3 ± 0.3	25.1 ± 1.1	22.5 ± 4.1
	1000	20.6 ± 0.8	20.3 ± 0.7	23.3 ± 3.8	22.4 ± 1.0
	2000	17.9 ± 1.0	20.9 ± 1.1	23.6 ± 1.2	22.1 ± 1.4

¹⁾ Values are expressed as means ± SD (n=5).

²⁾ NS : No significant differences between groups.

³⁾ Statistically different from the control (*p<0.05).

4. 장기 중량

암·수 각각의 흰쥐에게 4주간 반복투여 후 절대 장기중량 및 상대 장기중량을 측정된 결과는 Table 4 및 Table 5와 같다. 간, 신장, 비장, 고환, 난소, 뇌, 폐, 심장, 흉선, 전립선, 자궁, 부신, 뇌하수체의 무게는 암·수 흰쥐 모두 시료물질 투여에 의한 차이가 발견되지 않았고, 투여 용량 의존적인 이상 변화도 관찰되지 않았다. 일반적으로 독성이 있는 물질을 섭취하게 되면 가장 먼저 간에서의 해독작용으로 인하여 간이 가장 큰 영향을 받을 수 있는데(Lee et al. 2010), 간의 무게를 살펴보면 각 군 간에 유의할 만한 차이가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 김치유산균 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질 부분 정제물 투여는 장기무게의 변화에 영향을 끼치지 않는 것으로 사료된다.

5. 혈액학적 검사

부검 후 혈구 측정기를 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소량(Hb), 헤마토크리트치(Hct), 평균 적혈구 용적(MCV), 평균 적혈구 혈색소량(MCH), 평균 적혈구 혈색소 농도(MCHC), 망상적혈구수(reticulocytes), 혈소판(platelets), 프로트롬빈 시간(PT), 활성화 부분 트롬보플라스틴 시간(APTT), 호중구(neutrophils), 호산구(eosinophils), 호염기구

(basophils), 림프구(lymphocytes) 및 단핵구(monocytes)의 백분위를 측정된 결과, Table 6과 같이 암·수 모두 대조군과 시험물질 투여군 간에는 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 혈액학적 검사 결과 대조군과 시험물질 투여군 모두 정상 범위에 속했으며, 용량 의존성도 나타나지 않았다. 이러한 결과는 4주 반복 투여 독성시험에 사용된 SD계 흰쥐의 혈액학적 기초 자료에서 보고한 범위와 유사하였다(Kang et al. 2004). 따라서 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산한 조항진균 물질 부분 정제물 투여로 인한 혈액세포들에 유해한 작용을 하지 않는 것으로 사료된다.

6. 혈액생화학적 검사

복대정맥 혈액으로부터 분리한 혈장으로부터 혈액 생화학적 분석기를 이용하여 혈액생화학적 지표인 알칼리성 인산분해효소(ALP), 아스파라진산 아미노전이효소(AST), 알라닌 아미노기전이효소(ALT), 감마-글루타밀전이효소(GGT), 포도당(GLU), 요소(BUN), 총 콜레스테롤(TC), HDL-콜레스테롤(HDL-C), LDL-콜레스테롤(LDL-C), 중성지방(TG), 총 단백질(TP), 알부민(albumin), 알부민/글로불린 비(A/G), 총 빌리루빈(T-BIL), 크레아티닌(CRE), 칼슘(Ca), 무기인(IP), 크레아틴 인산화효소(CK), 나트륨(Na), 칼륨(K) 및

Table 4. Organ weights of rats under the subacute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Organs	Dose (mg/kg)			
		0	500	1000	2000
Male	Liver (g)	10.29 ± 0.91 ^{1),NS,2)}	9.69 ± 0.67	8.95 ± 0.65	9.83 ± 0.25
	Kidney (g)	2.59 ± 0.16	2.49 ± 0.07	2.41 ± 0.15	2.41 ± 0.12
	Spleen (g)	0.70 ± 0.16	0.67 ± 0.05	0.59 ± 0.04	0.74 ± 0.12
	Testis (g)	3.02 ± 0.22	3.07 ± 0.18	3.20 ± 0.30	2.86 ± 0.33
	Brain (g)	2.10 ± 0.13	1.98 ± 0.07	2.00 ± 0.06	2.07 ± 0.07
	Lung (g)	1.40 ± 0.10	1.39 ± 0.11	1.32 ± 0.05	1.54 ± 0.18
	Heart (g)	1.27 ± 0.19	1.17 ± 0.05	1.16 ± 0.08	1.25 ± 0.02
	Thymus (g)	0.47 ± 0.10	0.46 ± 0.09	0.41 ± 0.05	0.42 ± 0.08
	Prostate (g)	0.45 ± 0.07	0.54 ± 0.07	0.49 ± 0.07	0.54 ± 0.12
	Adrenal gland (g)	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01
	Pituitary gland (g)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
	Female	Liver (g)	6.42 ± 0.36	6.54 ± 0.60	6.80 ± 0.57
Kidney (g)		1.82 ± 0.17	1.84 ± 0.15	1.93 ± 0.15	1.75 ± 0.07
Spleen (g)		0.54 ± 0.05	0.49 ± 0.07	0.53 ± 0.06	0.49 ± 0.07
Ovary (g)		0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.03	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.02
Brain (g)		1.94 ± 0.06	2.04 ± 0.10	1.94 ± 0.09	1.95 ± 0.09
Lung (g)		1.16 ± 0.09	1.16 ± 0.06	1.20 ± 0.09	1.14 ± 0.09
Heart (g)		0.88 ± 0.05	0.91 ± 0.08	0.99 ± 0.05	0.84 ± 0.07
Thymus (g)		0.48 ± 0.11	0.45 ± 0.08	0.51 ± 0.05	0.44 ± 0.10
Uterus (g)		0.64 ± 0.23	0.65 ± 0.24	0.74 ± 0.25	0.51 ± 0.09
Adrenal gland (g)		0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01
Pituitary gland (g)		0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01

¹⁾ Values are expressed as means ± SD (n=5).

²⁾ NS: No significant differences between groups.

Table 5. Relative organ weight of rats under the subacute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Organs	Dose (mg/kg)			
		0	500	1000	2000
Male	Body weight (g)	337.20 ± 30.80 ^{1),NS,2)}	329.50 ± 9.60	321.60 ± 11.50	334.70 ± 10.90
	Liver (%)	3.06 ± 0.23	2.94 ± 0.21	2.79 ± 0.20	2.94 ± 0.15
	Kidney (%)	0.77 ± 0.05	0.76 ± 0.03	0.75 ± 0.04	0.72 ± 0.04
	Spleen (%)	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.22 ± 0.03
	Testis (%)	0.45 ± 0.04	0.47 ± 0.04	0.50 ± 0.05	0.43 ± 0.05
	Brain (%)	0.62 ± 0.02	0.60 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.62 ± 0.02
	Lung (%)	0.42 ± 0.02	0.42 ± 0.04	0.41 ± 0.01	0.46 ± 0.05
	Heart (%)	0.37 ± 0.03	0.35 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.38 ± 0.02
	Thymus (%)	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02
	Prostate (%)	0.13 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.04
	Adrenal gland (%)	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
	Pituitary gland (%)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00

Table 5. Continued

Sex	Organs	Dose (mg/kg)			
		0	500	1000	2000
Female	Body weight (g)	217.20 ± 10.60	216.40 ± 17.40	224.80 ± 12.70	209.10 ± 5.60
	Liver (%)	2.96 ± 0.04	3.02 ± 0.13	3.02 ± 0.16	3.05 ± 0.06
	Kidney (%)	0.84 ± 0.04	0.85 ± 0.07	0.86 ± 0.04	0.84 ± 0.05
	Spleen (%)	0.25 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.03
	Ovary (%)	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.01
	Brain (%)	0.89 ± 0.03	0.95 ± 0.08	0.87 ± 0.08	0.93 ± 0.05
	Lung (%)	0.53 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.54 ± 0.04	0.55 ± 0.04
	Heart (%)	0.41 ± 0.03	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.03	0.40 ± 0.04
	Thymus (%)	0.22 ± 0.05	0.21 ± 0.04	0.23 ± 0.02	0.21 ± 0.04
	Uterus (%)	0.30 ± 0.12	0.30 ± 0.10	0.33 ± 0.11	0.24 ± 0.04
	Adrenal gland (%)	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
Pituitary gland (%)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	

1) Values are expressed as means ± SD (n=5).

2) NS : No significant differences between groups.

Table 6. Hematology of rats under the subacute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Organs	Dose (mg/kg)			
		0	500	1000	2000
Male	WBC (103/uL)	4.39 ± 1.28 ^{1),NS,2)}	4.55 ± 0.50	4.60 ± 1.27	5.35 ± 2.44
	RBC (106/uL)	7.42 ± 0.30	7.65 ± 0.35	7.74 ± 0.49	7.62 ± 0.59
	Hb (g/dL)	14.4 ± 0.5	14.8 ± 0.6	14.7 ± 0.6	15.0 ± 0.8
	hCT (%)	42.0 ± 1.3	43.5 ± 1.8	43.6 ± 2.0	44.4 ± 2.4
	MCV (fL)	56.6 ± 0.9	56.9 ± 1.1	56.4 ± 2.0	58.4 ± 2.3
	MCH(pg)	19.4 ± 0.2	19.3 ± 0.4	19.1 ± 0.8	19.8 ± 0.8
	MCHC (g/dL)	34.2 ± 0.4	33.9 ± 0.4	33.8 ± 0.5	33.9 ± 0.3
	Reticulocytes (%)	3.04 ± 0.59	3.34 ± 0.35	2.92 ± 0.41	3.45 ± 0.55
	Platelets (103/uL)	1154 ± 185	1030 ± 172	1062 ± 107	1093 ± 127
	PT (sec)	13.2 ± 1.1	14.0 ± 0.7	13.8 ± 0.5	13.5 ± 0.2
	APTT (sec)	20.4 ± 1.3	20.1 ± 1.9	20.0 ± 1.2	19.7 ± 2.2
	Neutrophils (%)	18.4 ± 4.1	18.5 ± 3.1	20.3 ± 6.4	18.2 ± 6.6
	Eosinophils (%)	2.5 ± 0.7	1.8 ± 0.5	2.3 ± 0.7	1.9 ± 0.8
	Basophils (%)	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
	Lymphocytes (%)	76.3 ± 4.7	76.0 ± 3.4	75.0 ± 6.4	77.3 ± 7.1
	Monocytes (%)	2.2 ± 0.5	3.1 ± 1.2	2.0 ± 0.4	2.1 ± 0.8
Female	WBC (103/uL)	5.25 ± 1.37	5.51 ± 1.11	4.48 ± 2.05	4.29 ± 2.14
	RBC (106/uL)	7.47 ± 0.26	7.67 ± 0.28	7.45 ± 0.45	7.92 ± 0.45
	Hb (g/dL)	14.6 ± 0.4	14.9 ± 0.2	14.8 ± 0.8	15.4 ± 0.6
	hCT (%)	42.4 ± 1.0	42.9 ± 0.5	43.0 ± 2.4	44.1 ± 2.1
	MCV (fL)	56.9 ± 1.3	56.0 ± 1.7	57.7 ± 1.2	55.8 ± 1.8
	MCH (pg)	19.6 ± 0.4	19.4 ± 0.6	19.9 ± 0.3	19.4 ± 0.6
	MCHC (g/dL)	34.5 ± 0.3	34.6 ± 0.1	34.4 ± 0.4	34.9 ± 0.5
	Reticulocytes (%)	2.62 ± 0.45	2.25 ± 0.42	2.70 ± 0.27	2.10 ± 0.45
	Platelets (103/uL)	1198 ± 83	1182 ± 171	1119 ± 73	1022 ± 131
	PT (sec)	13.6 ± 0.2	13.3 ± 0.3	13.3 ± 0.6	13.3 ± 0.2
	APTT (sec)	16.9 ± 1.8	17.8 ± 1.4	19.2 ± 1.4	17.0 ± 1.6
	Neutrophils (%)	15.0 ± 7.9	11.3 ± 4.0	13.7 ± 2.3	13.8 ± 5.0
	Eosinophils (%)	2.0 ± 0.6	1.9 ± 0.3	2.1 ± 0.5	2.8 ± 1.4
	Basophils (%)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
	Lymphocytes (%)	80.5 ± 8.0	83.5 ± 4.1	80.3 ± 1.4	80.6 ± 5.5
	Monocytes (%)	1.7 ± 0.5	2.2 ± 1.0	2.8 ± 1.2	2.0 ± 0.7

1) Values are expressed as means ± SD (n=5).

2) NS: No significant differences between groups.

Table 7. Levels of serum biochemical indices of rats under the subacute toxicity of crude antifungal compounds produced by *Lb. plantarum* AF1 and *Lb. plantarum* HD1

Sex	Organs	Dose (mg/kg)			
		0	500	1000	2000
Male	ALP (U/L)	609 ± 92 ^{1),NS,2)}	557 ± 35	566 ± 99	636 ± 152
	AST (U/L)	108 ± 23	99 ± 22	102 ± 25	100 ± 26
	ALT (U/L)	35 ± 10	28 ± 3	33 ± 3	31 ± 4
	GGT (IU/L)	0.8 ± 1.3	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.5	0.2 ± 0.4
	GLU (mg/dL)	143 ± 9	153 ± 15	160 ± 47	167 ± 22
	BUN (mg/dL)	14.3 ± 3.7	14.5 ± 3.0	15.1 ± 2.8	15.6 ± 3.1
	TC (mg/dL)	64 ± 25	57 ± 9	55 ± 10	54 ± 11
	HDL-C (mg/dL)	43 ± 15	39 ± 6	37 ± 7	37 ± 6
	LDL-C (mg/dL)	12 ± 6	10 ± 2	12 ± 3	11 ± 4
	TG (mg/dL)	33 ± 11	32 ± 14	24 ± 11	23 ± 8
	TP (g/dL)	6.0 ± 0.2	5.8 ± 0.1	6.0 ± 0.1	5.9 ± 0.2
	Albumin (mg/dL)	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1
	A/G	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.1
	T-BIL(mg/dL)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.03
	CREA (mg/dL)	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0
	Ca (mg/dL)	9.9 ± 0.3	9.8 ± 0.2	9.7 ± 0.3	9.7 ± 0.2
	IP (mg/dL)	7.1 ± 0.6	7.2 ± 0.4	7.5 ± 0.4	7.5 ± 0.2
	CK (IU/L)	552 ± 301	474 ± 253	559 ± 341	483 ± 352
	Na (mmol/L)	143.0 ± 0.9	142.9 ± 0.9	143.8 ± 1.0	143.5 ± 1.5
	K (mmol/L)	4.50 ± 0.30	4.54 ± 0.32	4.58 ± 0.29	4.71 ± 0.18
Cl (mmol/L)	104.6 ± 1.4	103.8 ± 1.6	104.5 ± 1.1	104.2 ± 0.8	
Female	ALP (U/L)	345 ± 76	336 ± 50	410 ± 102	335 ± 68
	AST (U/L)	81 ± 23	77 ± 17	86 ± 16	86 ± 30
	ALT (U/L)	22 ± 4	22 ± 3	21 ± 1	18 ± 3
	GGT (IU/L)	1.0 ± 1.5	0.5 ± 0.5	1.1 ± 1.0	1.8 ± 1.5
	GLU (mg/dL)	138 ± 19	139 ± 20	144 ± 24	135 ± 15
	BUN (mg/dL)	17.9 ± 5.0	20.4 ± 6.4	16.6 ± 1.9	16.9 ± 7.1
	TC (mg/dL)	75 ± 11	81 ± 12	76 ± 8	72 ± 7
	HDL-C (mg/dL)	49 ± 10	51 ± 3	48 ± 8	48 ± 3
	LDL-C (mg/dL)	11 ± 3	11 ± 2	10 ± 2	10 ± 2
	TG (mg/dL)	12 ± 3	19 ± 6	15 ± 3	11 ± 2
	TP (g/dL)	6.3 ± 0.4	6.4 ± 0.3	6.3 ± 0.2	6.1 ± 0.3
	Albumin (mg/dL)	4.1 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.1 ± 0.1	4.0 ± 0.2
	A/G	1.8 ± 0.1	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1
	T-BIL (mg/dL)	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.02
	CREA (mg/dL)	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
	Ca (mg/dL)	10.0 ± 0.3	10.2 ± 0.1	10.1 ± 0.3	10.0 ± 0.3
	IP (mg/dL)	7.3 ± 0.9	7.4 ± 0.8	7.5 ± 0.5	7.7 ± 0.5
	CK (IU/L)	231 ± 144	251 ± 171	308 ± 193	431 ± 278
	Na (mmol/L)	142.1 ± 0.6	142.0 ± 0.9	142.2 ± 0.8	142.1 ± 0.5
	K (mmol/L)	4.23 ± 0.30	4.31 ± 0.34	4.21 ± 0.31	4.22 ± 0.32
Cl (mmol/L)	106.0 ± 1.2	105.5 ± 0.4	105.1 ± 1.0	105.3 ± 1.9	

1) Values are expressed as means ± SD (n=5).

2) NS : No significant differences between groups.

염소(Cl)를 측정한 결과, Table 7에서와 같이 암·수 모든 투여군은 대조군에 비하여 시험물질 투여에 기인한 유의성 있는 혈청 생화학적 변화가 관찰되지 않았다. 간 지능지표 효소인 혈청 ALP, AST 및 ALT 활성은 간세포의 독성 시에 간세포 장애로 간세포가 파괴되어 혈액으로 이들 효소의 방출이 항진되어 활성이 증가한다. 또한 담즙산 배설장애가 유발되어 혈청 콜레스테롤 함량을 상승시키는 것으로 알려졌다. 신장 손상에 의해 CRE, BUN 등은 혈액으로 유리된다 (Plaa & Charbonneau 1994). 본 혈액생화학적 검사 결과 대조군과 시험물질 투여군 모두 정상 수치 (Wolford et al. 1986)를 나타내어 시험물질 투여로 인한 독성학적 작용은 나타나지 않는 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 김치에서 분리한 항진균과 항세균 활성이 있는 유산균인 *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산하는 조항진균 물질의 부분 정제물을 동량으로 섞어 SD 계통의 흰쥐에게 단회투여 및 4주 반복투여 독성시험을 실시하였다. 단회투여 독성시험을 위해 시험물질을 500, 1,000 및 2,000 mg/kg의 용량으로 투여한 결과 모든 시험군에서 사망동물이 관찰되지 않았으며, 일반증상, 체중, 임상증상 및 육안적 소견 모두 시험물질 투여와 관련된 특이할 만한 이상소견은 관찰되지 않았다. 반복투여 독성시험을 위해 시험물질을 500, 1,000 및 2,000 mg/kg/day의 용량으로 1일 1회 4주간 투여한 결과 모든 시험군에서 임상증상 및 사망 동물이 관찰되지 않았다. 체중의 변화는 4주간 지속적으로 증가되었지만 대조군과 시험물질 투여군과의 유의적 차이는 없었다. 또한 장기의 육안적 소견, 장기 중량변화, 혈액학적, 혈액생화학적 검사에서도 모든 시험물질 투여군이 대조군과 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, 모두 정상 범위내의 수치로 시험물질에 기인하는 이상소견을 발견할 수 없었다. 단회투여 및 4주 반복투여 독성시험 결과, *Lb. plantarum* AF1와 *Lb. plantarum* HD1이 생산하는 조항진균 물질의 부분 정제물은 저독성

의 안전한 물질로 판정되었으며, 안전성 확인을 통하여 천연 식품보존제로서 실제 식품에 적용시킬 수 있는 방법에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

References

- De Vuyst L, Vandamme EJ(1994) Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*: properties, biosynthesis, fermentation and application. In: De Vuyst L, Vandamme EJ, eds. Bacteriocins of lactic acid bacteria. London: Blackie Academic and Professional, pp152-221
- 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(2), 134-140
- KFDA(2009a) Good laboratory practice regulation for non-clinical laboratory studies. Korea, pp1-74
- KFDA(2009b) Guidelines for toxicity tests of drugs and related materials notification. Korea, pp1-5
- Hayes AW(1984) Hayes toxicology. New York: Raven press, pp17-19
- Irwin S(1968) Comprehensive observational assessment: Ia. A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiological state of the mouse. Psychopharmacol 13(3), 222-257
- Lee H, Lee JJ, Chang HC, Lee MY(2012a) Acute toxicity of *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi in mice. Korean J Food Preserv 19(2), 315-321
- Lee H, Lee MY, Chang HC, Lee JJ(2013) Repeated-dose oral toxicity study of crude antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 in rat. Korean J Food Preserv 20(3), 394-403
- Lee HJ, Choi HJ, Seo MJ(2014) Characteristics of bacteriocins by lactic acid bacteria isolated from kimchi. Curr Top Lactic Acid Bac Probio 2(1), 1-6
- 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(5), 531-539
- 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(4), 561-567
- Lee JJ, Kim AR, Chang HC, Lee MY(2012b) Repeated-dose oral toxicity study of *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi in rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 41(5), 612-620
- Lee SG, Han KS, Jeong SG, Oh MH, Jang AR, Kim DH,

- Bae IH, Ham JS (2010) A study on the sensory characteristic of yogurt and antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* LHC52 isolated from kimchi. Korean J Food Sci Ani Resour 30(2), 328-335
- Lee YH, Kang MS(1996) Characteristics of beta galactosidase activity in *Lactobacillus plantarum* from kimchi. Agr Chem Biotechnol 39(1), 60-66
- Lim SM, Im DS(2009) Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. J Microbiol Biotechnol 19(2), 178-186
- Lorke DA(1983) A new approach to practical acute toxicity testing. Arch Toxicol 54(4), 275-287
- Mheen TI, Kwon TW(1984) Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. Korean J Food Sci Technol 16(4), 443-450
- Muller DM, Carrasco 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(6), 2031-2040
- Organization for Economic Cooperation and Development: OECD (2001) OECD Guideline for the testing of chemicals, acute oral toxicity; Up-down- Procedure (UDP). p425
- Plaa GL, Charbonneau M(1994) Detection and evaluation of chemically induced liver injury. In Principles and Methods of Toxicology. Hayes AW, ed. New York: Raven Press, pp839-870
- Ryu EH, Yang EJ, Woo ER, Chang HC(2014) Purification and characterization of antifungal compounds from *Lactobacillus plantarum* HD1 isolated from kimchi. Food Microbiol 41(1), 19-26
- Son HK, Lee MY, Chang HC, Lee JJ(2013) Acute toxicity of crude anti-fungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* AF1. J Korean Soc Food Sci Nutr 42(6), 892-897
- Wolford ST, Schroer RA, Cohs FX(1986) Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. J Tox Env Health 18(2), 161-188
- Yang EJ(2008) Application of kimchi lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis* for development of novel antibiotics and edible vaccine. PhD Dissertation, Chosun University,
- Yang EJ, Chang HC(2008) Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi. Korean J Microbiol Biotechnol 36(4), 276-284