

## 제조조건이 다른 새우껍질 chitosan의 물리·화학적 성질 및 깍두기의 보존성에 미치는 영향

김광옥 · 강현전

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과  
(1994년 2월 22일 접수)

### Physicochemical properties of chitosans produced from shrimp shell under the different conditions and their influences on the properties of Kakdugi during storage

Kwang-Ok Kim and Hyen-Jun Kang

Department of Foods and Nutrition, College of Home Science and Management,  
Ewha Womans University

(Received February 22, 1994)

#### Abstract

This study was undertaken to investigate the physicochemical properties of chitosans produced from chitins which were prepared from shrimp shell under the 4 different conditions(HCl concentration : 1 N, 4 N and reaction temperature 0°C, 20°C). The effects of chitosan on the properties of Kakdugi during storage also were examined. Viscosity of chitosan was markedly different(313.1~98.8 cps) depending on the production condition. Chitosan solution showed pseudoplastic property. The infrared(IR) spectrums of chitosans prepared under the conditions of this study were very similar, and the degree of deacetylation of chitosan was relatively high(92~96%) independent of the extraction conditions of chitin. As the storage period was extended, markedly lower pH and higher titratable acidity were resulted in all the groups. Throughout the storage period, pH and titratable acidity of kakdugies with chitosan were higher and lower, respectively than those of control. Viscosity of kakdugi juice was significantly different among the groups and as the storage period increased, the juice viscosity decreased. At the eighth day of storage, the juice of control group was more viscous than those of kakdugies containing chitosan. Throughout the storage period the numbers of total microorganisms and of microorganisms of *Leuconostoc genus* in control kakdugi tended to be higher and lower, respectively than those in kakdugies containing chitosan. The growth of *Lac. plantarum* was slightly lower in kakdugi containing chitosan C produced at low HCl concentration and high temperature compared to the others.

#### I. 서 론

최근 기능성 다당류로 관심이 고조되고 있는 천연 다당류인 chitosan의 제조 원료가 되는 chitin은, 새우 등 갑각류의 껍질, 바퀴벌레 등 곤충류의 cuticle층, 오징어나 krill과 같은 연체동물의 골격과 껍질에 존재할 뿐만 아니라 버섯과 같은 균주의 세포벽에 함유되어 있는 biopolymer이다<sup>1)</sup>. Chitin은 높은 온도에서 강알칼리로 처리하면 chitin 내의 아세틸기가 떨어져

나가 70~95% 정도 탈아세틸화되어 chitosan이 생성되는데<sup>2)</sup>, 이 chitosan은 chitin과 달리 초산 등 묽은 산 용액에 용해되어 점성이 있는 용액이 되며<sup>3)</sup>, 분자내 유리 아미노기가 존재하여 여러 분야에서 이용가능성이 높다고 알려져 있다<sup>2,4)</sup>.

Chitosan의 물리화학적 특성 및 응용에 관한 연구가 최근 들어 활발히 진행되고 있다. Chitosan은 dietary fiber로써 사용이 가능할 뿐만 아니라<sup>5)</sup> film을 형성하는 능력이 있어서 식품의 edible wrap으로 이용될 수 있기

때문에<sup>6)</sup> 식품의 포장재로서 사용이 가능하다<sup>7,8)</sup>. 그 밖에도 액체 식품에서 중금속등 기타 유해한 물질의 제거<sup>9)</sup>와 음료수의 청정효과가 높은 것으로 보고되고 있다<sup>10)</sup>. 또한 chitin과 chitosan에 대한 안전성 실험결과 인체에 무해하다고 보고되었다<sup>11)</sup>.

Chitosan은 미생물의 성장을 억제하여<sup>12)</sup> 식품 보존제로써 이용이 가능하다는 연구가 최근 보고되었다. Kentra 등<sup>13)</sup>은 chitosan 가수분해물이 식물 병원성 곰팡이인 *Fusarium solani*의 생육을 저지시키는 효과가 있으며, 内田 泰<sup>14)</sup>는 chitosan이 *E. coli*와 *Staphylococcus aureus* 및 유산균에 항균력이 있음을 주장하였다. 倉木 등<sup>15)</sup>은 유산균 발효유의 보존중 산도 상승을 억제시키는 효과가 있다고 언급하였으며, 이밖에 장내 bifidobacteria의 증식에 도움을 준다는 연구<sup>2)</sup>도 보고된 바 있다.

본 연구에서는 제조 조건을 달리한 chitins으로부터 chitosan을 제조하고, 이들의 물리화학적 특성을 측정하였으며, 또한 깎두기의 저장중 chitosan 첨가에 따른 특성 변화 및 몇가지 미생물의 수에 미치는 영향을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용된 chitosan의 원료는 우리나라 근해에서 잡히는 대롱수염새우(*Solenocera prominentis*)였다. 깎두기 제조용 무우는 1993년에 생산된 무우로써 깎두기를 제조하는 당일에 구입하였고, 고추가루는 영양 고추로써 농협에서 한꺼번에 구입하여 냉동보관하면서 사용하였다. 또한 파, 마늘 및 생강은 깎두기 제조 당일에 신선한 것을 구입하여 사용하였고, 소금은 99% 정제염(주식회사 한주)을 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) Chitin의 제조

건조된 새우껍질을 cutting mill(Dietz-mortoren GmbH and Co. KG, W. Germany)을 이용하여 분쇄하고 6 mesh 체를 통과시킨 후 다시 45 mesh 체를 통과시켰다. 분말상태의 새우껍질로부터 Hackman방법<sup>16)</sup>을 변형하여 아래와 같은 방법으로 chitin을 제조하였다. 분말 상태의 새우껍질 125g에 염산 1400ml를 첨가하여 교반하면서 석회질을 용해시켰다. 이때 염산 용액의 농도는 1N과 4N로 하고, 반응 온도는 0℃와 20℃로 하였으며, 반응 시간은 14시간으로 고정하였다. 반응이 끝나면 중성이 될 때까지 물로 세척하고, 여과한 후 남은 고형물을 진공 오븐(40℃)에서 건조시켰다.

이렇게 하여 얻은 crude chitin을 5% NaOH 용액으로 100℃에서 3시간 환류(refluxing)시키면서 단백질을 제거한 후 상징액이 중성이 될 때까지 수세한 다음 여과시킨 잔사를 65℃ 진공 오븐에서 건조하였다.

#### 2) Chitosan의 제조

위와 같은 방법으로 제조한 4종류의 chitin을 원료로 하여 No 등<sup>17)</sup>의 방법에 따라 chitosan을 제조하였다. 즉 chitin에 40% NaOH(w/w) 용액을 1000ml 첨가한 후 질소가스를 주입하면서 교반하여 반응시켰다. 이때의 반응 온도는 100℃, 반응 시간은 3시간으로 하였다. 반응이 완료된 후에 얼음물로 급속히 냉각하고 수세와 여과를 통해 상징액이 중성이 될 때까지 반복하였다. 위와 같은 탈아세틸화 반응을 2번 반복하여 실시하였다. 두번째 단계에서는 상징액이 중성이 될 때까지 수세한 다음 여과하고 남은 고형물을 에탄올에 48시간 침지시켰다가 여과하여 에탄올을 제거시켰다. 이것을 하룻밤 실온에서 건조시킨 후 다시 40℃ 진공 오븐에서 건조하였다.

#### 3) 깎두기의 제조

무우를 씻은 후 양 끝에서 5cm씩 제거하고 2×2×2 cm<sup>3</sup>의 크기로 썰은 후 골고루 섞었다. 무우 100g에 대해 2%의 소금을 첨가하였으며, 이밖에 고춧가루 2g, 파 3g, 마늘 2g, 생강 0.7g 및 증류수 15ml를 모든 실험군에 첨가하였다. 재료를 모두 혼합한 후 유리용기(500ml)에 담아 가열한 뚜껑을 덮어 밀봉한 다음 20℃의 항온기에서 2, 4, 6, 그리고 8일간 저장하였다. Chitosan을 함유한 깎두기 제조시에는 4종류의 chitosan을 무우 100g에 대해 1%씩 첨가하였으며 다른 부재료, 제조방법 및 저장조건은 위와 동일하게 하였다.

#### 4) Chitosan의 이화학적 특성 측정

##### (1) 점도

Chitosan의 점도는 1% 초산용액에 0.5% chitosan을 첨가한 용액을 사용하여 Haake viscometer(Rotovisco RV20 2.4.3 Serial No.930059, HAAKE Co.; Germany)로 측정하였다. 4종류의 chitosan 용액을 준비하여 24시간 동안 방치한 후, 30℃에서 저점도용 센서인 NV를 사용하여 점도를 측정하였다. 이때 chitosan 용액의 점도측정을 위해 1분 동안 전단 속도(shear rate,  $\gamma$ )를 0에서 100으로 증가시킨 다음 1분 동안 100으로 유지하였다가 다시 1분 동안 100에서 0으로 감소시키면서 점도의 변화를 측정하였다. Chitosan 용액들의 점도는 전단 속도(shear rate,  $\gamma$ )가 100일 때 평균 점도를 수치로 나타내어 비교하였다.

##### (2) 탈아세틸화도

Chitosan 0.1g을 1% 초산용액 20ml에 녹인 후 24시간 실온에서 방치하였다. Weighing boat에 chitosan

용액 10 ml를 넣고 얇게 펼친 후 50°C 오븐에서 건조하여 film을 제조하였다. 4종류의 chitosan film을 IR Spectrophotometer(Magna 750, Nicolet Co ; U.S.A.)로 분석한 후, IR spectrum을 통해 chitosan의 화학 구조를 확인하고, 아래의 공식에 의해 탈아세틸화도를 계산하였다<sup>18)</sup>.

$$\% \text{ deacetylation} = \left( 1 - \frac{A_{1655}}{A_{3450}} \times \frac{1}{1.33} \right) \times 100$$

5) Chitosan이 첨가된 깎두기의 저장 특성 측정

(1) 깎두기의 pH 및 적정산도

깎두기 시료 한병을 전부 Waring blender(GFM-350 B, 금성사)로 3분간 마쇄한 후 20 g을 취하여 증류수 180 ml로 희석하고 여과지(Whatman paper No. 4)로 걸러서 여액을 준비하였다. 시료액의 pH는 pH meter (Corning pH meter ; U.S.A)로 실온에서 측정하였다. 적정산도는 시료액 50 ml를 취하여 0.1% phenolphthalein 지시약을 첨가한 후 0.05% NaOH로 적정하였으며, 소요된 NaOH 용액을 % lactic acid로 환산하여 측정하였다<sup>19)</sup>.

(2) 깎두기 국물의 점도

깎두기 국물을 3점의 cheese cloth로 여과한 후 증류수의 흐름시간이 37.5초(20°C)인 Ostwald 점도계를 이용하여 5번의 흐름시간을 측정한 뒤 가장 근접한 3개의 측정치의 평균값을 비교점도로 계산하였다.

(3) 깎두기의 미생물 수 변화

깎두기 시료에서 즙액 1 ml를 무균적으로 취해 적절한 배수로 희석시키고 50 µl를 취한 후 총균수는 TGY (tryptone-glucose-yeast extract) 고체배지<sup>20)</sup>에, *Leuconostoc* 속 미생물 수는 sodium azide sucrose 고체배지<sup>21)</sup>에, *Streptococcus* 속 미생물의 수는 bile esculin azide 고체배지<sup>22)</sup>에 도말봉을 사용하여 접종하였다. 이것을 30°C에서 48시간 배양한 후 plate count agar 방법을 이용하여 colony가 30~300개인 것을 취해 계수하였다. *Lactobacillus plantarum*의 수는 Rogosa SL

액체배지에 에탄올이 7%(v/v) 포함된 modified Rogosa SL 액체배지<sup>23,24)</sup>를 이용하여 30~37°C에서 2~3일간 배양하여 최확수(MPN)법으로 계수하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Chitosan의 이화학적 특성

1) 점도

Chitosan의 분자량을 예측하기 위하여 측정된 chitosan의 점도는 Table 1과 같다. 본 연구에서 제조된 chitosan의 점도는 98.8~313.1 cps로 다양하게 나타났다. 탈아세틸화도가 96%이고 1% 초산용액에 용해시킨 0.5% chitosan 용액의 점도가 200 cps일 때 분자량이 5×10<sup>5</sup> 정도로 추정되므로<sup>25)</sup> 본 실험에서 제조된 chitosan의 경우 chitosan D를 제외한 나머지 chitosan의 분자량은 이보다 높으리라 생각된다.

Chitin 제조시 석회질을 용해시킬 때의 염산의 농도와 반응 온도에 따라 점도가 크게 달라졌는데 염산의 농도가 1N에서 4N로 높아지면 점도는 감소하며, 염산 농도가 1N에서 4N로 되었을 때 점도의 감소는 0°C에서 보다는 20°C에서 더 크게 나타났다. 또한 동일한 염산 농도에서는 석회질을 용해시킬 때의 반응 온도가 높은 경우 점도가 낮게 나타났다. 본 연구에서 가장 처리조건이 심했던 chitosan D는 다른 chitosan의 점도에 비해 매우 낮은 점도를 나타냈다.

Chitosan의 제조 조건에 따른 유동학적 특성을 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. 점도가 가장 낮은 chitosan D는 전단 속도의 증가에 따른 점도의 감소가 매우 적었다. 모든 chitosan 용액들은 전단 속도가 증가함에 따라 점도가 감소하는 의사소성 유체(pseudoplastic fluid)의 특징을 나타냈으며, 이것은 조의 결과<sup>26)</sup>와 일치하였다.

2) 화학구조 및 탈아세틸화도

본 실험에서 제조된 chitosan의 탈아세틸화도는 Table 1과 같으며, chitosan의 전형적인 IR spectrum은

Table 1. Physical and chemical properties of various chitosans.

Sample	Treatment condition <sup>1)</sup>		Viscosity <sup>2)</sup> (cps)	Degree of deacetylation <sup>3)</sup> (%)
	Temp.	HCl conc.		
Chitosan A	0°C	1 N	313.1	94
Chitosan B	0°C	4 N	271.5	96
Chitosan C	20°C	1 N	266.5	96
Chitosan D	20°C	4 N	98.8	92

<sup>1)</sup> Demineralization condition for 14 hrs, <sup>2)</sup> Means of duplication, <sup>3)</sup> Calculated by Blair's equation.

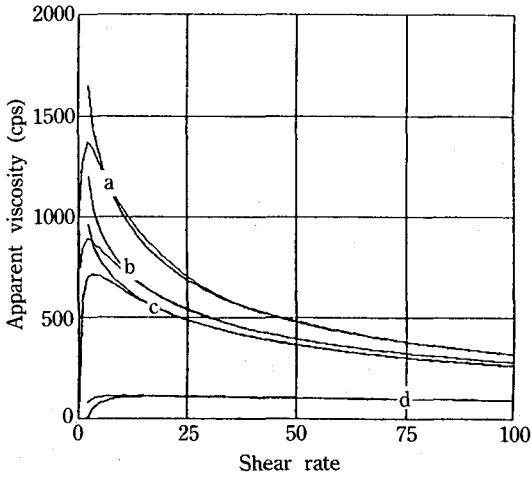


Fig. 1. Apparent viscosity versus shear rate of various chitosans at 30°C (a: Chitosan A, b: Chitosan B, c: Chitosan C, d: Chitosan D).

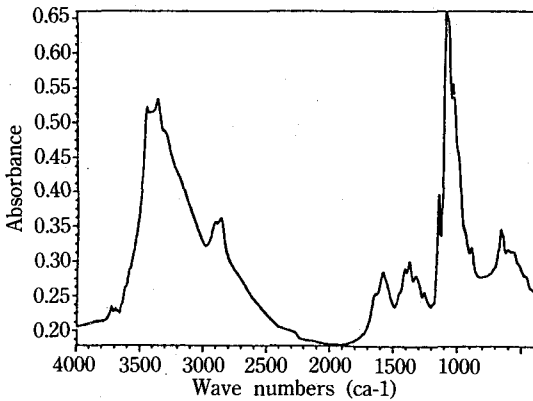


Fig. 2. Infrared spectrum of chitosan.

Fig. 2에 나타나 있다. 먼저 본 연구에서 제조된 chitosan의 화학 구조를 살펴보면, 4종류 모두에서 chitosan의 N-H의 신장(stretching)을 나타내는 3450 cm<sup>-1</sup> 부근의 peak가 선명하고 chitin의 amide I bond를 나타내는 1650 cm<sup>-1</sup> 부근의 peak가 거의 없어졌으며, 상대적으로 1590 cm<sup>-1</sup> 부근에서 chitosan의 아미노기 말단의 deformation peak가 선명하게 나타났다. 이것은 Miya 등<sup>27)</sup>의 결과와 일치하는 것으로 본 실험에서 제조된 chitosan의 탈아세틸화도도 높을 것이라 예상되었다. Blair 등<sup>18)</sup>이 제시한 공식에 대입하여 chitosan의 탈아세틸화도를 계산한 결과 92.3~96.0%로 높게 나타나 chitosan의 탈아세틸화도는 chitosan의 원료가 되는 chitin의 제조 조건에 의해 큰 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.

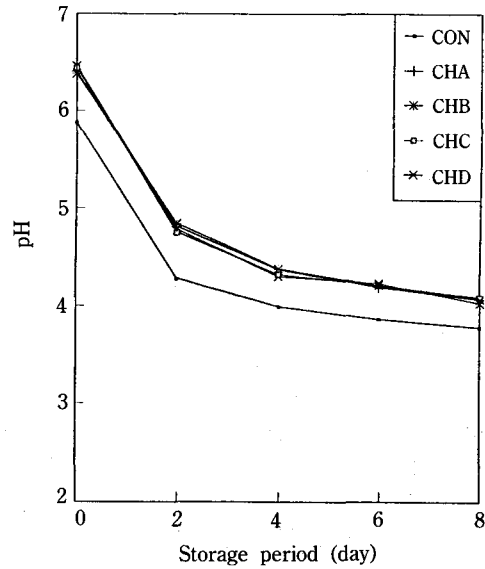


Fig. 3. Change in pH various kakkugies during storage at 20°C (CON: Kakdugi containing no chitosan, CHA, CHB, CHC, CHD: Kakdugi containing 1% chitosan A, B, C, D, respectively).

2. Chitosan이 첨가된 깍두기의 저장 특성

1) 깍두기의 pH 및 적정산도

Chitosan을 첨가하거나 첨가하지 않은 깍두기의 저장 기간에 따른 pH 및 적정산도 측정결과는 Fig. 3 및 4와 같다. 전 저장기간 동안 pH와 적정산도는 시료들 간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, chitosan 첨가군의 pH가 계속적으로 약간 높게 나타났다. 적정산도의 경우도 pH와 마찬가지로 전 저장기간 동안 깍두기 시료들간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 대조군에 비해 chitosan 첨가군의 적정산도가 계속적으로 약간 낮게 나타났다. 제조당일 높았던 pH가 대조군에서는 저장 2일 이후, chitosan 첨가군에서는 저장 2일이 지나 4일 사이에 급속히 감소하다가 그 이후에는 느린 속도로 감소하였다. 깍두기의 적정산도는 대조군과 chitosan 첨가군 모두에서 현저하게 증가하였는데 대조군의 경우 4일까지, chitosan 첨가군은 6일까지 증가속도가 빨랐으며, 그 이후에는 속도가 다소 감소하는 경향을 나타냈다.

2) 깍두기 국물의 점도

저장기간에 따른 깍두기 국물의 점도 측정결과는 Fig. 5에 나타난 바와 같다. 대조군과 chitosan 첨가군 모두에서 저장일수가 길어질수록 깍두기 국물의 점도가 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 대조군에 있어서는 6일째까지 점도의 변화가 없다가 그후 감소하는 경향을

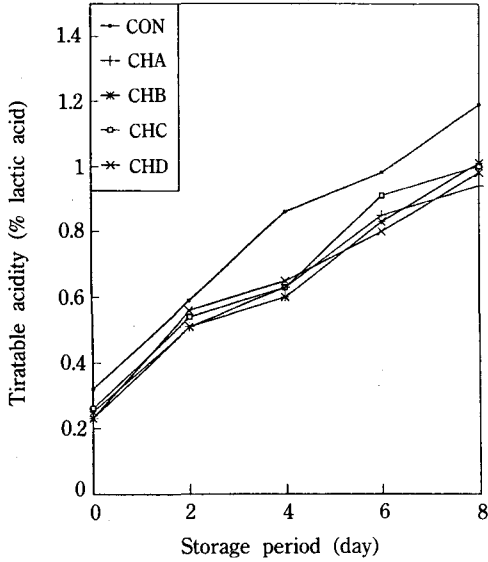


Fig. 4. Change in titratable acidity of various kakdugis during storage at 20°C (CON: Kakdugi containing no chitosan, CHA, CHB, CHC, CHD: Kakdugi containing 1% chitosan A, B, C, D, respectively).

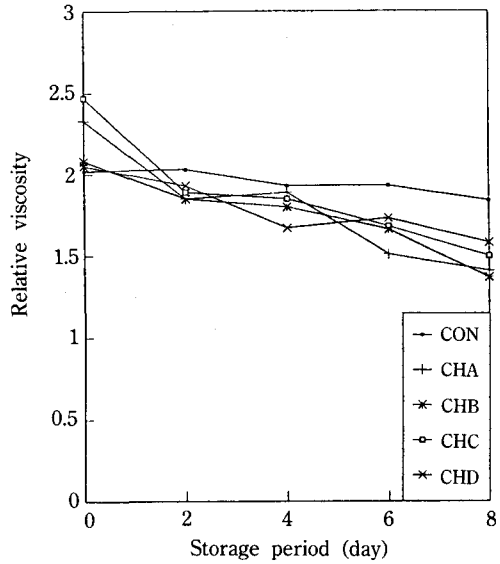


Fig. 5. Change in relative viscosity of various kakdugis during storage at 20°C (CON: Kakdugi containing no chitosan, CHA, CHB, CHC, CHD: Kakdugi containing 1% chitosan A, B, C, D, respectively).

나타냈다. 그러나 chitosan 첨가군은 전 저장기간을 통해 점도가 계속적으로 감소하는 경향을 보였으며, 대조군과 비교하여 불 때 점도의 감소 폭도 컸다. 전체적으로 불 때 chitosan 첨가군의 점도가 대조군에 비해 더 낮게 나타났다. 이와 같은 chitosan 첨가 효과에 대한 설명을 위해서는 앞으로 지속적인 연구가 요구된다.

### 3) 각두기의 미생물 변화

각두기의 숙성기간에 따른 미생물수의 변화를 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 저장기간이 길어짐에 따라 대조군과 chitosan 첨가군간의 총균수의 변화를 보면(Fig. 6(a)), 김치를 담근 직후에는 대조군과 chitosan 첨가군에 있어서 그 수가 거의 비슷하였으며, 대조군과 chitosan 첨가군 모두 저장 2일째에 최대치에 도달한 후 감소하는 경향을 나타냈다. 저장기간 전반에 걸쳐서 chitosan 첨가군에 비해 대조군이 총균의 수가 많았다.

김치의 주요 발효균으로 알려진 *Leuconostoc* 속 미생물수를 살펴보면(Fig. 6(b)), 모든 시료군간에 수적으로는 큰 차이가 나타나지는 않았으나 대조군에 비해 chitosan 첨가군의 경우가 약간 많았다. 저장기간에 따른 *Leuconostoc* 속 미생물수는 저장 2일째에 최대치에 도달하였다가 그후에는 감소하는 경향을 보였다.

*Lactobacillus plantarum*의 저장기간에 따른 변화는 Fig. 6(c)에 나타난 바와 같다. 김치 제조 당일에는 나

타나지 않았지만 그 이후에는 전 기간을 거쳐 계속적으로 증가하였다. 대조군과 chitosan 첨가군 사이에 있어서는 차이가 없었으나, 제조시 HCl의 농도가 낮고, 반응 온도가 높은 chitosan C를 첨가한 군의 경우 *Lac. plantarum*의 증가가 다소 느리게 나타났다.

김치의 발효초기에 발견되는 *Streptococcus* 속 미생물의 변화를 살펴보면(Fig. 6(d)), 김치 제조 당일에는 나타나지 않았지만 저장 2일째에 모든 시료군에서 최고치에 이르렀다가 이후에는 그 수가 감소하여 총균수 측정결과와 비슷한 경향을 나타냈다.

위와 같은 결과를 종합하여 볼 때, 본 연구에서 사용된 제조 조건이 다른 4 종류의 chitosan은 각두기의 저장성과 관련된 미생물의 성장에 단지 약간의 영향만을 미치는 것을 알 수 있다. 앞으로 김치에 있어서 chitosan의 보존 효과를 명확하게 관찰하기 위해서는 chitosan의 제조조건을 달리하여 chitosan의 분자량을 변화시킨 보다 확장된 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## IV. 요약

제조 조건을 달리한 4가지 chitin으로부터 제조된 chitosan의 물리·화학적 특성인 점도와 탈아세틸화도를 측정하였으며, 4종류의 chitosan이 첨가된 각두기를 제조하여 chitosan을 첨가하지 않은 각두기를 대조군

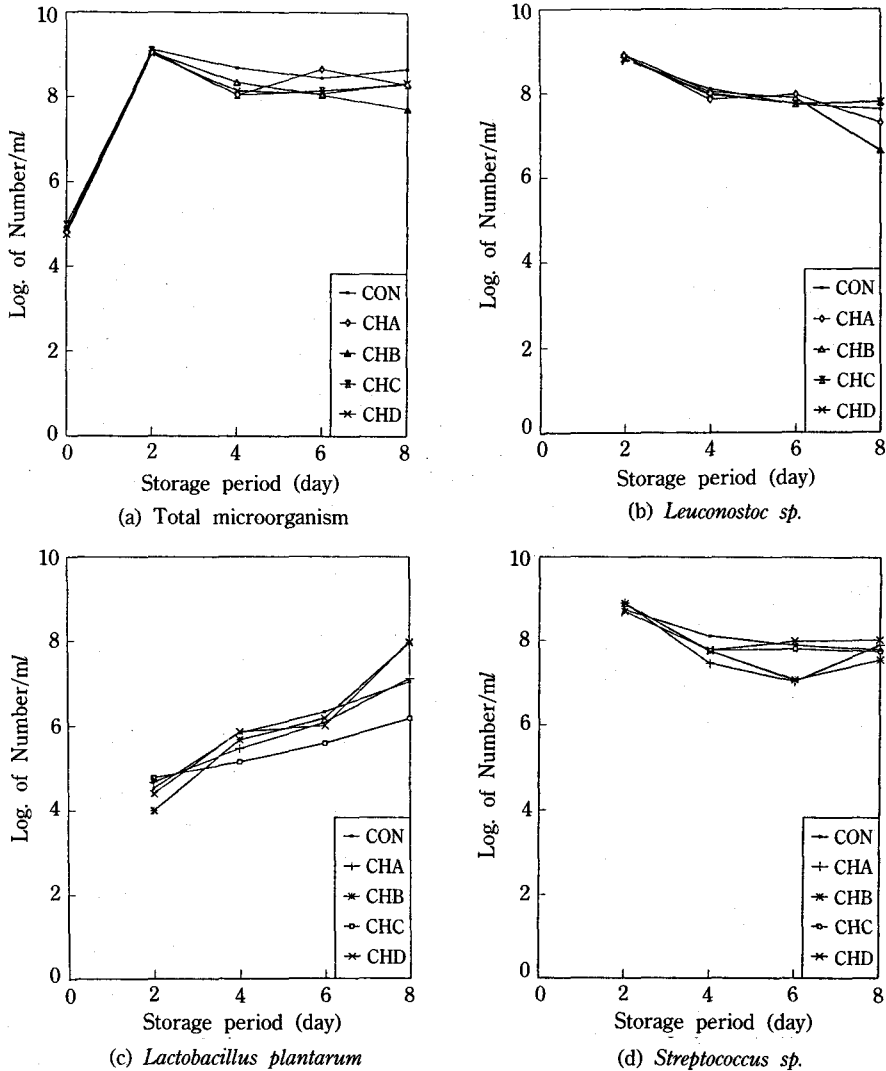


Fig. 6. Change in various microorganisms of various kakkugies during storage at 20°C (CON: Kakkugi containing no chitosan, CHA, CHB, CHC, CHD: Kakkugi containing 1% chitosan A, B, C, D, respectively).

으로 하여 20°C 에서 2일, 4일, 6일, 8일간 저장하면서 저장기간에 따른 pH, 적정산도, 각두기 국물의 점도 및 미생물 수의 변화를 측정 한 결과는 다음과 같다.

Chitosan 용액의 점도는 313.1~98.8 cps로 나타났으며, chitin 추출시 염산의 농도가 낮은 것이 점도가 높았으며, 반응 온도가 낮을 때 더 높은 점도를 나타냈다. 그리고 chitosan 용액의 유동학적 특성은 의가소성 유체(pseudoplastic fluid)의 특성을 나타내었다. IR 분석 결과 chitosan의 탈아세틸화도는 92~96%로 높게 나타나, 점도와는 달리 chitosan의 원료가 되는 chitin의 제조조건에 의해서는 크게 영향받지 않았다.

모든 시료군에서 저장기간이 길어짐에 따라 pH는 감소하고 적정산도는 증가하는 경향을 나타냈으며, 대조군에 비해 chitosan 첨가군이 pH는 높고 적정산도는 낮은 값을 계속 유지하였다. 각두기 국물의 점도는 저장기간이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 나타냈고, 저장 8일째에는 대조군이 chitosan 첨가군에 비해 점도가 높게 나타났다. 총균수는 저장기간 전반에 걸쳐 chitosan 첨가군의 경우가 대조군에 비해 약간 많았고, *Leuconostoc* 속 미생물 수는 약간 적은 경향을 나타냈다. 또한 김치의 부패균으로 알려진 *Lac. plantarum*의 수에 있어서는 제조시 HCl의 농도가 낮고, 반응 온도가

높은 chitosan C를 첨가한 균이 대조군이나 다른 chitosan 첨가군에 비해 저장시 증가 속도가 약간 느렸다.

### 감사의 글

본 연구는 1992년도 이화여자대학교 교수연구기금에 의해 수행된 것으로 심심한 감사를 드립니다.

### 참고문헌

1. Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. and Sandford, P. Chitin and chitosan. Elsevier, New York. 1989.
2. Austin, P.R., Brine, C.J., Castle, J.E. and Zikakis, J.P. Chitin: New facets of research. Science **212**: 749, 1981.
3. Muzzarelli, R.A.A. Chitin. Pergamon press, Oxford. p 58, 1977.
4. Mathur, N.K., Narrang, C.K. Chitin and chitosan, versatile polysaccharide from marine animals. J. Chem. Educa. **67**: 938, 1990.
5. Knorr, D. Use of chitinous polymer in food-a challenge for food research and development. Food Technol. **38**: 85, 1984.
6. Klenzie-sterzer, C.A., Rodriguez-Sandhez, D. and Rha, C. Mechanical properties of chitosan film: Effect of solvent acid. Macromol. Chem. **183**: 1353, 1982.
7. Klenzie-sterzer, C.A., Rodriguez-Sandhez, D. and Rha, C. Stress and relaxation of a polyelectrolytes network as affected by ionic strength. Macromolecules **15**: 631, 1981.
8. Vorlop, K.D. and Klein, J. Formation of spherical chitosan biocatalysts by ionotropic gelation. Biotechnol. Letter **3**: 1, 1981.
9. Volsky, B. Biosorbents for metal recovery. Trend Biotechnol. **5**: 96, 1987.
10. Imeri, A.G. and Knorr, D. Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. J. Food Sci. **53**: 1707, 1988.
11. Bough, W.A. and Landes, D.R. Recovery and nutritional evaluation of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. J. Dairy Sci. **59**: 1874, 1976.
12. Papineus, A.M., Hoover, D.G. and Knorr, D. Antimicrobial activity of chitosan. Food Biotechnol. 1990.
13. Kendra, D.F. and Hadwiger, L.A. Characterization of the smallest chitosan oligomer that maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits piastin formation in *Pisum sativum*. Exp. Mycol. **8**: 276, 1984.
14. 内田 泰. 天然保存料シリーズ, キトサン. 日添協會報 **7**: 9, 1988.
15. 倉木俊美. 保存中の酸度上昇を抑制した醗酵乳及その製造法. JP 平3-292853. 1990.
16. Hackman, R.H. Studies on chitin I. Enzyme degradation of chitin and chitin-ester. Aust. J. Biol. **7**: 168, 1954.
17. No, H.K., Meyer, S.P. and Lee, K.S. Isolation and characterization of chitin from craw fish shell waste. J. Agri. Food Chem. **37**: 575, 1989.
18. Blair, H.S., Guthrie, J., Law, T.K. and Turkington, D. Chitosan and modified chitosan. I. preparation and characterization. J. Appl. Polymer Sci. **33**: 641, 1987.
19. 박경자, 우순자. Na-acetate 및 Na-malate와 K-sorbate가 김치 발효중 pH, 산도 및 산미에 미치는 효과. 한국식품과학회지 **20**(1): 40, 1988.
20. Pederson, C.S. and Albury, M.H. New York State Agr. Exp. Station Geneva, Cornell Uni. Bulletin No. 824. 1961.
21. Mayeux, J.V. and Colmer, J.R. Selective medium for *Leuconostoc* detection. J. Bacterol. **81**: 1009, 1961.
22. Difco manual. Difco Lab. 10th ed. p. 130. 1984.
23. Mundt, J.O. and Hamer, J.L. Suppression of *Leuconostoc mesenteroides* during isolation of *Lactobacilli*. Appl. Microbiol. **14**: 1044, 1966.
24. Mundt, J.O. and Hamer, J.L. *Lactobacilli* on plants. Appl. Microbiol. **16**: 1326, 1968.
25. やぶきみのる. キチン, キトサンの應用. キチン, キトサン研究會編. 技報堂出版 p. 71. 1990.
26. 조정숙, 한정준, 이철호. 꽃게 껍질에서 분리제조한 키틴산 필름의 물성에 관한 연구. 한국식품과학회지 **14**(6): 574, 1992.
27. Miya, M., Mima, S., Iwamoto, R. and Yoshikawa, S. Highly deacetylated chitosan properties. J. Appl. Polymer Sci. **28**: 1909, 1983.