

가공유의 품질개선을 위한 Chitosan의 이용

하태조 · 이신호[†]

대구가톨릭대학교 식품공학과

Utilization of Chitosan to Improve the Quality of Processed Milk

Tae-Jo Ha and Shin-Ho Lee[†]

Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-702, Korea

Abstract

The effect of chitosan on the quality of processed milk was investigated to minimize the microbial spoilage occurred by contaminant bacteria and yeast. Yeast and bacteria isolated from commercial processed milk were identified as *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas fluorescens* by Api 20C and 20E Aux kit, respectively. The growth of isolated yeast and bacteria inhibited in YM broth and TSB containing 0.03% chitosan at 25°C and 37°C for 24 hour, respectively. Viable cells of processed milk artificially contaminated with *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas fluorescens* were reduced about 2~3 log₁₀ cycle by addition of 0.03% chitosan at 25°C and 37°C for 24 hour, respectively. The physico-chemical and microbiological characteristics such as pH, acidity and total bacteria were changed from after storage for 10 day at 4°C, 7 day at 10°C and 1 day at 25°C in chitosan no added processed milk during storage for 15 day. But The change of physico-chemical and microbiological characteristics could not observe in 0.3% chitosan added processed milk during storage 15 day at 4°C, 10°C and 25°C, respectively. The sensory quality of processed milk with 0.3% chitosan was different significantly from control in taste, texture and overall acceptability (p<0.05).

Key words: chitosan, processed milk, contaminant yeast, quality

서 론

가공유는 우유에 과즙 등을 첨가하여 우유의 성분을 변화시킨 우유로서 백색 시유와는 달리 가공 공정 중 각종 첨가물에 의해 마생물어, 오염되어 품질악화를 초래할 수도 있다. 시유의 경우에는 제품 제조시 사용되는 원료가 원유로만 한정되어 있어 비교적 간단한 공정으로 제품을 제조할 수 있는데 비하여 가공유는 제품특성상 소비자의 기호를 맞추기 위하여 원유에 여러 가지 성분을 혼합하여야 하기 때문에 첨가되는 성분별 미생물오염이 제품의 위생학적 안정성에 영향을 미치므로 안전한 제품의 생산과 유통을 위해 위생적으로 취급·처리·가공되어야 한다.

Chitosan의 항균작용은 여러 연구에 의해 알려져 왔다. 최근 10여년 동안 항균 및 항곰팡이 활성이 연구보고되고 있는데(1,2) 그 중 chitosan과 그 염산 가수 분해물이 식물 병원성 곰팡이(*Fusarium solani*)에 대해 생육 저지 효과를 나타낸다는 사실이 Hadwiger 등(3)에 의하여 보고되었고, Kendra와 Hadwiger(4)는 저분자 형태인 chitosan oligomer의 항곰팡이 효과를 보고한 바 있다. Wang(5)은 5종의 식중독을 유발하

는 병원성균 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*에 대해 chitosan 처리는 성장 저해 효과와 사멸 효과를 나타내었다고 보고하였다. 그러나 이렇게 우수한 chitosan의 효능에도 불구하고, 우유에 첨가시 발생하는 용해문제와 이화학적 특성의 변화로 인하여 아직까지 유제품에는 본격적으로 chitosan이 이용되지 못하고 있는 실정이다. 미생물에 의한 유제품의 오염 방지는 모든 유제품의 처리·가공과 품질 관리 면에서 가장 중요한 문제로 특히, 유제품 가공에 있어 흔하게 발생하는 yeast의 오염은 유제품의 저장·유통기간 동안 swelling이나 다른 형태의 심각한 품질 저하를 가져올 수 있다(6,7). 이를 막기 위해서는 제조 공정에서의 yeast 오염을 완전 통제하거나, 오염된 yeast의 성장을 억제할 수 있는 보존제 등을 적절히 사용하여 제품 중 yeast가 존재하지 않도록 하는 것이 근본적인 대책이라고 사료된다. 따라서 본 연구는 가공유의 swelling 현상이나 유통 중 오염 미생물에 의한 품질변화를 방지할 수 있는 방안을 모색하기 위하여 chitosan의 이용 가능성을 검토하고 아울러 chitosan의 기능성이 부가된 새로운 형태의 유제품 개발 가능성을 검토하였다.

[†]Corresponding author. E-mail: leesh@cuth.cataegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3217, Fax: 82-53-850-3217

재료 및 방법

시판가공유에서 오염미생물의 분리 및 동정

현재 시판중인 가공유(바나나유)를 분리원으로 bacteria는 tryptic soy agar(tryptose 17 g, soytone 3 g, glucose 2.5 g, sodium chloride 5 g, dipotassium phosphate 2.5 g, agar 15 g, distilled water 1 L)를 이용 순수 분리하여, api 20E kit (bioMerieux, France)를 이용 동정하였다. Yeast는 tartaric acid를 함유한 YM agar(yeast extract 3.0 g, malt extract 3.0 g, peptone 5.0 g, glucose 10.0 g, agar 15 g, distilled water 1 L)를 사용하여 순수 분리하여, api 20C AUX kit(bioMerieux, France)를 이용하여 동정하였다.

Chitosan 용액의 제조

본 실험에 사용한 chitosan은 (주)금호화성의 수용성 chitosan(food grade)를 사용하였다. 1% chitosan 용액을 stock solution으로 제조하여 121°C에서 15분간 멸균한 후 배지 및 가공유에 적정농도로 첨가하여 사용하였다.

Chitosan의 항미생물 효과 측정

1% 멸균 chitosan stock solution을 이용하여 chitosan 농도를 0.01, 0.03, 0.05, 0.1%로 조정된 tryptic soy broth(Difco, USA)에 가공유에서 분리한 *P. fluorescens*를 접종한 후 37°C에서 24시간 배양하면서 tryptic soy agar를 사용하여 생균수를 측정하여 대조구와 비교하였고, 분리한 *S. cerevisiae*는 chitosan 0.01, 0.03, 0.05, 0.1%를 함유한 YM broth에 각각 접종한 다음 25°C, 24시간 배양하면서 일정 시간 간격으로 시료를 채취하여 0.1% peptone수로 적정 희석한 후 PDA (Potato Dextrose Agar, Difco, USA)에 접종하여 25°C에서 24시간 배양한 후 생균수를 측정하여 대조구와 비교하였다. 가공유에서의 chitosan의 항균효과는 0.03% chitosan을 첨가한 가공유에 분리 *P. fluorescens*와 *S. cerevisiae*를 인위적으로 오염시켜(각각 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL) 37°C와 25°C에서 72 시간동안 각각 배양하면서 24시간 간격으로 생균수를 측정하여 대조구와 비교하였다.

Chitosan 첨가 가공유의 저장성

살균 가공유에 멸균 1% chitosan stock solution을 첨가하여 0.03% chitosan 농도로 조절된 가공유를 4°C, 10°C와 25°C에서 15일간 저장하면서 1일 간격으로 저장 중 pH, 산도, 그리고 총균수의 변화를 측정하여 대조구와 비교하였다. pH는 pH meter(TOA HM-30G, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 산도는 시료 10 mL를 취하여 증류수 10 mL를 가한 후 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여 소비량을 lactic acid %로 환산하였다. 총균수는 시료를 0.1% peptone 수로 적정 희석하여 plate count agar에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 나타난 colony수를 계측하였다.

Chitosan 첨가 가공유의 관능 검사

Chitosan을 첨가한 가공유의 기호성 검사는 A 유업회사 10

명의 훈련된 관능요원을 선발하여 taste, odor, texture, color, overall acceptability에 대해 5점 채점법(1점 매우 나쁘다, 2점 나쁘다, 3점 보통이다, 4점 좋다, 5점 매우좋다)으로 실시하였으며, SPSS software package로 유의성을 검증하였다(8).

결과 및 고찰

시판 가공유에서 분리한 미생물에 대한 chitosan의 항균 효과

시판 가공유를 분리원으로 하여 bacteria와 yeast를 각각 분리하여 api 20E kit와 api 20C AUX kit를 사용하여 *Pseudomonas fluorescens* CDFM1과 *Saccharomyces cerevisiae* CDFM Y2를 분리 동정하였다. Claude 등(9)은 저온 보존중인 원유 중에서 *Pseudomonas spp.*는 Gram 음성 간균 중 약 50% 정도를 차지한다고 보고하였다. 저온성미생물은 유제품 가공시 저온살균이나 초고온살균과 같은 원유처리과정에서 균체는 사멸되지만 균체외로 분비하는 내열성효소는 잔존하여 유제품의 품질 및 수율의 저하를 일으키게 되므로(10, 11) 원유 처리시 특별히 주의할 기울여야 한 것으로 생각되어진다. 하절기 yeast 오염에 인한 발효유 및 가공유의 용기 팽창현상(swelling)을 일으키는 yeast는 *Candida spp.*의 검출 빈도가 높다고 알려져 있지만(6,12,13) 본 실험에서는 *S. cerevisiae*가 검출되었다. 이러한 결과는 생산 환경이나 원·부재료의 종류에 기인된 것으로 판단되었다.

가공유에서 분리한 균에 대한 chitosan의 항균효과를 검토한 결과는 Fig. 1과 같다. 가공유에서 분리한 *P. fluorescens* CDFM1의 경우 chitosan 0.01% 첨가시 control에 비하여 12시간 이후부터 성장이 억제현상을 나타내었으나, chitosan 0.03, 0.05%와 0.1% 첨가구의 경우 배양 12시간 이후부터 2 log cycle 이상의 뚜렷한 성장 억제 현상을 나타내었다. Hadwiger 등(3)은 chitosan을 0.1% 첨가시 식물 병원성 곰팡이 *Furarium solani*의 생육이 저지되었다고 보고하였다. 분리

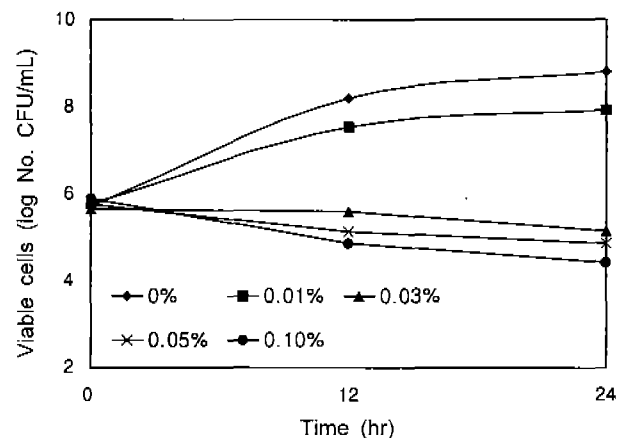


Fig. 1. Effect of chitosan concentrations on growth of *Pseudomonas fluorescens* CDFM 01 isolated from commercial processed milk in TSB at 37°C.

yeast인 *S. cerevisiae* CDFM Y2의 chitosan의 첨가에 따른 성장은 Fig. 2와 같다. Chitosan 0.03, 0.05, 0.1%첨가구에서 배양초기 10^5 CFU/mL부터 서서히 감소하다가 12시간 이후 부터는 검출되지 않았으며 0.01% 첨가구에서는 control에 비해 yeast의 성장이 다소 저해되는 경향으로 나타나 0.01% 첨가구의 경우 뚜렷한 성장억제효과는 기대할 수 없는 것으로 판단되었다. Son(14)은 chitosan의 최종농도가 0.1, 0.2, 0.3%가 되도록 YM broth에 첨가하여 요구르트에서 분리한 yeast의 성장을 억제도를 실험한 결과 chitosan 첨가구에서 6시간 이후부터 yeast가 검출되지 않았다고 보고한 바 있다. 이러한 chitosan 및 그 유도체에서 나타나는 항균성은 이들 물질이 가지고 있는 polycation성 및 단백질과의 affinity(15)와 분자고유의 cationic한 특성에 의한 흡착과 결합 등의 물리적 방법에 의한 세포벽과 결합하여 손상을 유발하여 세포 내 물질의 유출과 세포막 대사 저해 등의 기작으로 항균 활성(16)을 나타낸다고 사료되며, 본 실험에서 실시한 yeast의 성장 검사 결과로 보아 chitosan의 첨가로 인해 yeast오염으로 인한 가공유의 변패 현상을 방지할 수 있을 것으로 판단되었다.

인위적으로 오염시킨 가공유에서 chitosan의 항균효과 오염된 가공유에서 chitosan의 항균효과를 알아보기 위하여 *P. fluorescens* CDFM1와 *S. cerevisiae* CDFMY 2을 chitosan이 0.03% 함유된 가공유에 각각 $10^5 \sim 10^6$ CFU/mL 정도로 오염시킨 다음 37와 25°C에서 72시간 동안 배양하면서 24시간 간격으로 성장 억제 정도를 검토하였다. 가공유에서 분리한 *P. fluorescens* CDFM01(Fig. 3)은 배양 72시간 후 대조구는 10^8 CFU/mL의 성장을 보인 반면, chitosan 첨가구는 배양초기와 비슷한 10^6 CFU/mL의 수준을 유지하여 약 2 log cycle수준의 성장 억제 정도를 나타내었다. *S. cerevisiae* CDFMY 2의 성장은 배양 72시간에는 대조구에 비해 약 3 log cycle 정도 억제하는 경향을 나타내었으며(Fig. 4), Son(14)이 chitosan과 chitooligosaccharides를 첨가한 요구르트는

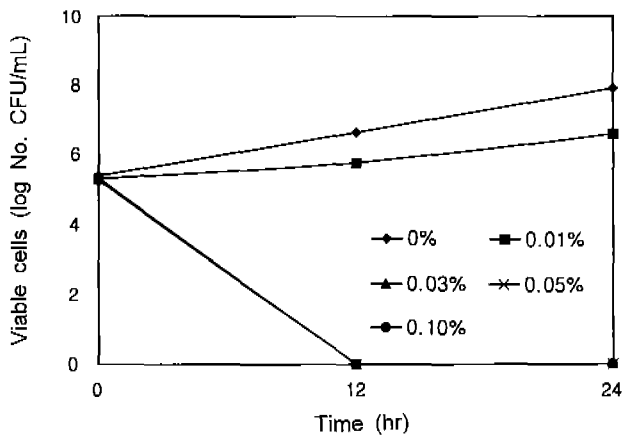


Fig. 2. Effect of chitosan concentrations on growth of *Saccharomyces cerevisiae* CDFM Y2 isolated from commercial processed milk in YM broth at 25°C.

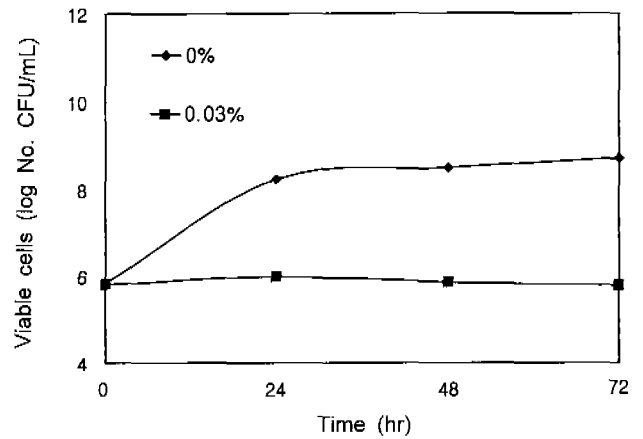


Fig. 3. Effect of chitosan on growth of *Pseudomonas fluorescens* CDFM 01 isolated from commercial processed milk with 0.03% chitosan for 72 hr at 37°C.

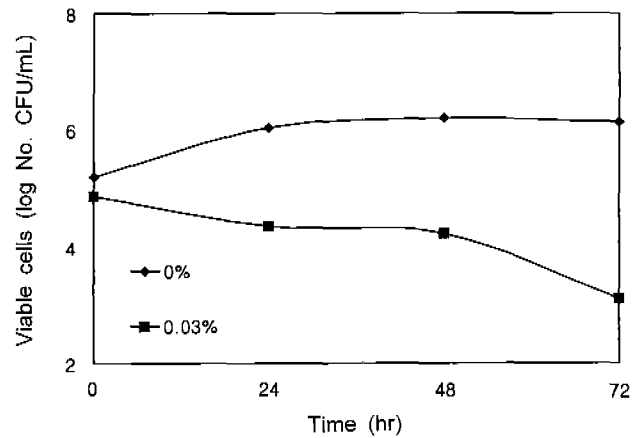


Fig. 4. Effect of chitosan concentrations on growth of *Saccharomyces cerevisiae* CDFM Y2 isolated from commercial processed milk 0.03% chitosan for 72 hr at 25°C.

병원성 미생물이나 부패성 미생물의 성장 억제 효과가 있다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

Chitosan 첨가 가공유의 저장성

Chitosan을 첨가한 가공유의 저장중 품질특성을 조사하기 위하여 0.03% chitosan 함유 가공유를 4°C, 10°C 그리고 25°C에서 15일간 저장하면서 pH, 산도 및 총균수의 변화를 대조구와 비교 조사하였다.

저장 중 pH와 산도의 변화(Table 1)는 15일간의 저장기간 중 4°C와 10°C에서는 chitosan 첨가 효과가 뚜렷한 차이는 없었으나 저장 6일 이후 다소의 차이는 관찰할 수 있었으며, 25°C 저장의 경우 chitosan 첨가구는 저장초기 pH 6.9에서부터 저장 15일째까지 거의 변화가 없었으나 대조구는 저장 1일째부터 감소하기 시작하여 저장 15일째는 pH 4.9를 나타내어 chitosan 첨가효과가 뚜렷하였다.

가공유의 저장 중 총균수의 변화(Fig. 5)는 4°C와 10°C 저장 시 대조구는 각각 8일째, 5일째부터 미생물의 성장이 관찰되었으며, chitosan 첨가구의 경우는 4°C와 10°C 모두 미생물

Table 1. Effect of chitosan on changes in pH and acidity of commercial banana flavored milk during storages for 15 day at 4°C, 10°C and 25°C

Storage tem.	Storage days	pH		Acidity (%)	
		A ¹⁾	B ²⁾	A	B
4°C	0	6.86 ^{a3)}	6.86 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a
	3	6.82 ^a	6.85 ^b	0.12 ^a	0.12 ^a
	6	6.82 ^a	6.85 ^b	0.12 ^a	0.12 ^a
	9	6.80 ^a	6.84 ^b	0.13 ^a	0.12 ^b
	12	6.66 ^a	6.85 ^b	0.14 ^a	0.12 ^b
	15	6.60 ^a	6.84 ^b	0.15 ^a	0.12 ^b
10°C	0	6.87 ^a	6.86 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a
	3	6.76 ^a	6.85 ^b	0.13 ^a	0.12 ^b
	6	6.72 ^a	6.85 ^b	0.13 ^a	0.12 ^b
	9	6.68 ^a	6.84 ^b	0.15 ^a	0.12 ^b
	12	6.57 ^a	6.85 ^b	0.15 ^a	0.12 ^b
	15	6.13 ^a	6.84 ^b	0.17 ^a	0.12 ^b
25°C	0	6.86 ^a	6.86 ^a	0.12 ^a	0.12 ^a
	3	6.13 ^a	6.60 ^b	0.27 ^a	0.15 ^b
	6	5.27 ^a	6.58 ^b	0.47 ^a	0.15 ^b
	9	5.13 ^a	6.59 ^b	0.47 ^a	0.15 ^b
	12	5.04 ^a	6.60 ^b	0.51 ^a	0.15 ^b
	15	4.81 ^a	6.60 ^b	0.53 ^a	0.15 ^b

¹⁾ A: commercial banana flavored process milk.
²⁾ B: commercial banana flavored process milk containing 0.03% chitosan.
³⁾ Mean within the same row with different superscripts are significantly different (p<0.05).

Table 2. Effect of chitosan on sensory quality of processed milk

	Control	0.03% chitosan
Taste	3.35 ^{b1)}	3.05 ^a
Odor	3.50 ^a	3.50 ^a
Texture	2.85 ^a	3.25 ^b
Color	3.10 ^a	3.10 ^a
Overall acceptability	2.95 ^a	3.15 ^b

1: very poor, 2: poor, 3: moderate, 4: good, 5: very good.
¹⁾ Means within each row with no common superscripts are significantly different (p<0.05).

성장이 관찰되지 않았다. 25°C의 경우 대조구는 저장 1일째부터 미생물이 증식하였으며 저장 15일째 약 10⁵ CFU/mL까지 미생물이 증가하였으나 chitosan 첨가구의 경우는 저장 2일째까지는 미생물이 증가하는 경향을 보이다가 이후 감소하여 저장 15일째까지 미생물의 증식이 억제되는 경향을 보였다. 이는 Lee와 Lee(17)의 chitosan 첨가는 커피우유의 저장 중 총균수의 변화를 억제시켰다는 보고와 유사하였다. Chitosan의 첨가에 의해 실제 유제품의 저장·유통과정 중에서 일어날 수 있는 세균에 의한 2차적 오염과 yeast의 성장이 진행됨에 따른 심한 yeast flavor 생성, 용기의 팽창 등을 방지할 수 있어, chitosan은 유제품 가공시 품질 보존제로 사용이 가능할 것으로 판단되었다.

Chitosan을 첨가한 가공유의 관능검사

Chitosan 0.03%를 첨가한 가공유의 taste, odor, texture, color 그리고 overall acceptability의 관능적 검사를 실시한 결과는 Table 2에 나타낸 바와 같다.

Taste의 경우 chitosan 첨가구가 대조구에 비하여 낮게 나타났으며, color와 odor의 경우 대조구와 chitosan 첨가구가 같은 수준으로 나타났다. 또한, texture와 overall acceptability의 경우 chitosan 첨가구가 대조구에 비하여 양호하였다. 이러한 결과로 볼 때 chitosan 0.03% 첨가가 가공유의 기호성을 감소시키지 않을 것으로 판단되었다.

이상의 결과로 미루어 보아 chitosan을 가공유 제조시 첨가하면 제조과정 중 오염된 미생물에 의한 품질악화 현상을 방지할 수 있으며, 특히 하절기에 흔히 발생하는 yeast에 의한 팽창현상을 방지할 수 있을 것으로 판단되었다. Chitosan은 항균작용, 항암작용, 면역활성 증강 작용(4,18-20), 콜레스테롤 저하작용(21,22) 및 지혈작용(23) 등의 생리활성이 있다고 밝혀져 가공유 제조에 사용하면 기호성이 저하되지 않고 오염 미생물에 의한 변패를 방지할 수 있으며, 나아가 건강식품으로서의 기능이 보강될 것으로 판단된다. 따라서 chitosan이 유제품 제조시 식품첨가물로서 이용될 수 있도록 보다 광범위한 연구수행과 행정적 조치가 조속히 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

가공유는 우유에 과즙 등을 첨가하여 우유의 성분을 변화

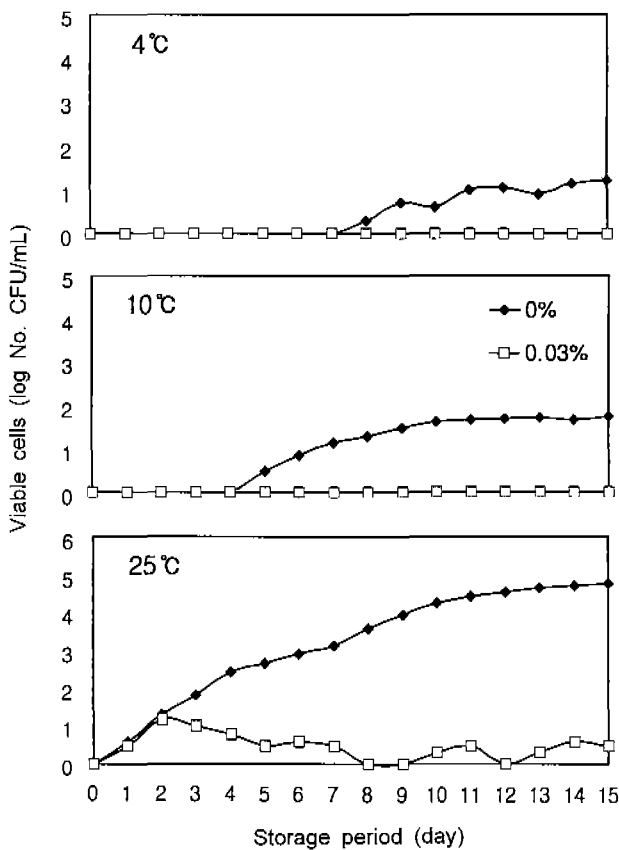


Fig. 5. Effect of chitosan on microbial changes of banana flavored milk during storage for 15 day at 4°C, 10°C and 25°C.

시킨 우유로서 백색 시유와는 달리 가공공정 중 각종 첨가물에 의해 미생물이 오염되어 품질악화를 초래할 수도 있다. 미생물 오염에 의한 가공유의 품질악화를 방지하고 품질개선을 위해 chitosan의 이용 가능성을 검토하였다. 시판 가공유에서 api 20E kit와 api 20C AUX kit로 동정한 결과 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Pseudomonas fluorescence*를 분리 동정하였다. 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.1% chitosan을 함유한 YM broth에서 분리 yeast의 성장을 측정한 결과 0.03% chitosan 첨가구에서 배양 12시간 후 성장이 완전히 저해되었다. 분리 *P. fluorescence*는 chitosan 0.03%를 함유한 TSB에서 2~3 log₁₀ cycle 성장이 억제되었다. Chitosan 0.03%를 첨가한 가공 시유를 제조하여 15일 동안 4°C, 10°C, 25°C에서 저장하면서 품질특성을 조사한 결과 4°C와 10°C에서는 대조구와 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으나 25°C 저장의 경우 대조구는 저장 2일째부터 이화학적 변화(pH, 산도)를 나타낸 반면 chitosan 첨가구의 경우 저장 15일 동안 저장초기와 거의 같은 수준을 나타내었다. Chitosan 첨가 가공유는 5% 유의수준에서 taste는 감소하였으며 texture는 증가하여, chitosan 첨가에 의한 가공유의 기호성 저하는 없었다.

감사의 말

본 연구는 2000학년도 대구가톨릭대학교 학술연구비의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

1. Amoke, K.A., Umeda, A. and Murata, K. : Arrangement of peptidoglycan in the cell wall of *Staphylococcus* spp. *J. Bacteriol.*, **150**, 844-850 (1982)
2. Allan, G.G., Altman, L.C., Bensiner, R.E., Ghosh, D.K., Hirabayashi, Y. and Neogi, S. : Biomedical application of chitin and chitosan. In *Chitin, Chitosan and Related Enzyme*, Zikakis, J.P. (ed.), Academic press, Inc., Orlando, FL, p.119-133 (1984)
3. Hadwiger, L.A., Fristensky, B. and Riggleman, F.C. : Chitosan, a natural regulation in plant-fungal pathogen interactions increases crop yield. In *Chitin, Chitosan and Related Enzyme*, Zikakis, J.P. (ed.), Academic press, Inc., Orlando, FL, p.291-303 (1984)
4. Kendra, D.F. and Hadwiger, L.A. : Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and *Elicitics lisatin* formation in *Pisum sativum*. *Exp. Mycology*, **8**, 276-281 (1984)
5. Wang, G.H. : Inhibition and inactivation of five species of foodborn pathogens by chitosan. *J. Food Prot.*, **55**, 916-919 (1992)
6. Perigo, J.A., Gimbert, B.L. and Bashford, T.E. : The effect of carbonation, benzoic acid and pH on the growth rate of a soft drink spoilage yeast as determined by a turbidostatic continuous culture apparatus. *J. Appl. Bact.*, **27**, 315-318 (1964)
7. Suh, D.C. and Hwang, I.K. : Isolation and identification of yeasts occurred in inflated yoghurts. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **15**, 15-20 (1987)
8. Chae, S.I. and Kim, B.J. : *Statistical analysis for SPSS/pc*. Bub-Moon Publishing Co., Seoul (1995)
9. Claude, P.C., Richard, R.L., Denis, R., Akier, A.M. and Mansel, W.G. : Psychrotrophs in dairy products : Their effects and their control critical reviews. *J. Food Sci. Nutr.*, **34**, 1-30 (1994)
10. Witer, L.D. : Psychrotrophic bacteria-A review. *J. Dairy Sci.*, **44**, 983-987 (1961)
11. Cousin, M.A. : Presence and activity of psychrotrophic microorganism in milk and dairy product. A review. *J. Food Prot.*, **45**, 172-178 (1982)
12. Suriyarachchi, V.R. and Fleet, G.H. : Occurrence and growth of yeasts in yogurts. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 57-579 (1981)
13. Suh, D.C. and Hwang, I.K. : Isolation and identification of yeasts occurred in inflated yoghurts. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **15**, 15-20 (1987)
14. Son, S.J. : Effect of chitosan and chitoooligosaccharides on inhibition of contaminated yeast and quality of yogurt. *Ph. D. Dissertation*, Catholic University of Daegu (1999)
15. Yun, Y.S., Kim, K.S. and Lee, Y.N. : Antibacterial and antifungal effect of chitosan. *J. Chitin Chitosan*, **4**, 8-14 (1999)
16. Oh, S.W., Hong, S.P., Kim, H.J. and Choi, Y.J. : Antimicrobial effect of chitosans on *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **32**, 218-224 (2000)
17. Lee, J.W. and Lee, Y.C. : The physico-chemical and sensory properties of milk with water soluble chitosan. *J. Food Sci. Technol.*, **32**, 806-813 (2000)
18. Amako, K., Shimodori, S., Imoto, T., Miyake, S. and Umeda, A. : Effects of chitin and its soluble derivatives on survival of *Vibrio cholerae* O1 at low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 603-605 (1987)
19. Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Tokura, S. and Azuma, I. : Immunological activity of chitin and its derivatives. *Vaccine*, **2**, 93-99 (1984)
20. Tokoro, A., Kobayashi, M., Tatewaki, N., Suzuki, S. and Suzuki, M. : Protective effect of N-acetylchitohexaose on *Listeria monocytogenes* infection in mice. *Microbiol. Immunol.*, **33**, 357-369 (1989)
21. Sugano, M., Yoshida, K., Hashimoto, H., Enomoto, K. and Hirano, S. : Hypocholesterolemic activity of partially hydrolyzed chitosans in rats. Proceedings from the 5th international conference on chitin and chitosan, p.472-478 (1992)
22. Maezaki, Y.M. and Tsuji, K. : Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult mouse. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1439-1442 (1993)
23. Hirano, S. : Application of chitin and chitosan in the ecological and environment folds. In *Application of Chitin and Chitosan*, Technomic Publishing Co., Basel, p.31-56 (1997)

(2001년 5월 15일 접수)