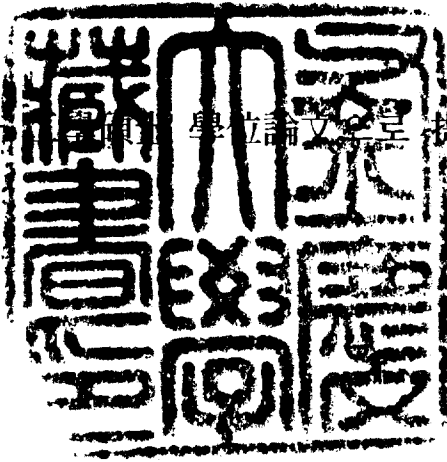


工學碩士 學位論文

키토산 처리가 식빵의 보존성 및
품질에 미치는 영향

指導教授 安東賢

이 論文을 學位論文으로 提出함



2002年 2月

釜慶大學校 産業大學院

食品産業工學科

金 進 映

이 論文을 金進映의 工學碩士
學位論文으로 認准함

2001年 12月 26日

主 審 水産學博士 趙 永 濟



委 員 工學博士 梁 志 榮



委 員 農學博士 安 東 賢



목 차

Abstract	1
서 론	3
재료 및 방법	
1. 재 료	
1-1. 키토산	6
1-2. 공시균주	6
2. 방 법	
2-1. 식빵의 제조	9
2-2. 효모 및 식빵의 부패에 관여하는 미생물의 생육억제능	11
2-3. 식빵의 보존성	11
2-4. 식빵의 향 산화성	12
2-5. 반죽의 부피팽창도	12
2-6. 식빵의 물성	12
2-7. 식빵의 색도	13
2-8. 반죽 및 식빵의 pH	13
2-9. 식빵의 수분활성도	13

3. 결과 및 고찰

1. 효모 및 식빵의 부패에 관여하는 미생물에 대한 키토산의 생육 억제 효과	14
2. 식빵의 보존성에 미치는 영향	
2-1. 키토산의 분자량에 따른 보존성	18
2-2. 키토산 첨가량에 따른 보존성	18
3. 식빵의 산화에 미치는 영향	24
4. 반죽의 부피 팽창도	
4-1. 키토산의 분자량에 따른 부피팽창도	24
4-2. 키토산의 첨가량에 따른 부피팽창도	28
5. 식빵의 물성	28
6. 식빵의 색도	29
7. 반죽 및 식빵의 pH 변화	34
8. 식빵의 수분활성	
8-1. 키토산 분자량에 따른 수분활성	42
8-2. 키토산 첨가량에 따른 수분활성	42
 요 약	 48
 참 고 문 헌	 51

Effects of Chitosan on Shelf Life and Quality of Bread

Jin-Young Kim

Department of Food Industrial Engineering

Graduate School of Industry

Pukyong National University

Abstract

As bread uses small amount of sugar and fat, that makes it hard during preservation. For that reason, when chitosan is added to bread, effects of preservation and quality improvement have been studied. Chitosan has many properties such as antibiosis and water holding capacity. Growth inhibition of chitosan to spoilage microbiology in bread was investigated. It was not much inhibited growth of yeast and fungi in bread, but another spoilage bacteria were strongly detected its effect to growth inhibition. The more concentration and molecular weight of chitosan the better preservation of bread. Result of measuring volume expansion of dough showed the largist expansion of volume when approximately

30 kDa and 120 kDa of molecular weight of chitosan was added. But 0.5% of about 120 kDa chitosan was added, the volume decreased rapidly. It was hardly change in the rate of water activity during 8 days of storage period. For improve the preservation and quality of bread, over 0.1% of 30 kDa chitosan will bring the best result.

서 론

키토산은 게, 새우 등 해산갑각류의 껍질, 메뚜기 등 곤충류의 갑피, 조개류, 오징어 등 연체 동물의 골격을 산·알카리 처리하여 얻어진 키틴을 탈 아세틸화하여 제조한 poly- β (1,4)-D-glucosamine이다(Skjak-Braet et al., 1989 ; Goosen, 1997). 이러한 키토산은 2-amino-2-deoxy- β -D-glucosamine의 반응성이 높은 amino기를 가지고 있어 산성 수용액 중에서 proton을 받아들여 양이온화 되고 그 특이적 기능을 발현할 뿐만 아니라 각종 유도체를 용이하게 만들 수 있어 여러 분야에 광범위하게 이용될 수 있다(Lee et al, 1997).

전 세계적으로 볼 때 갑각류의 폐기물은 약 1억 4,400만톤 이상이며 수산식품 제조과정에서 폐기되는 키틴의 양은 매년 12만톤씩 증가하고 있다(Muzzarelli, 1977). 키틴과 키토산의 공업적 생산은 1970년 일본에서 시작되어 현재 일본에서 연간 약 450톤의 키토산이 생산되고 있으며, 우리나라에서는 소규모 공장에서 키틴과 키토산이 생산되고 있다.

키토산은 cellulose의 구조에 아미노기가 포도당 단위마다 1개씩 결합하고 있는 천연 다당류의 일종으로 다당류의 일반 성질인 texture 개선성, 점도 조절성, 결합력 개선성, 증량성, 식감 개선성 등의 특성을 가진다. 또한 키토산 및 그 유도체를 이용하여 면역 활성화 및 콜레스테롤 저하 작용(Zikakis, 1984 ; Muzzarelli, 1977 ; Yamaguchi, 1986), 종양 억제 작용, 식물 병원성의 곰팡이에 대한 생육 억제 작용(Allan, 1979 ; Kendra, 1984 ; Jung et al, 1998), 항균 작용(Sanford, 1988), 보습성 및

유화 안정성(Fang et al, 1994 ; Shin et al, 1992), 저장성 향상(EI et al, 1991) 등의 효과까지 노릴 수 있어 식품에 이용 가능성이 클 것으로 기대된다. 실제로 키토산을 첨가하거나 표면 처리하여 어육 연제품의 유통 기간 연장(Cho et al, 1998), 메밀묵의 저장성 및 품질에 미치는 영향(Lee et al, 2001), 김치의 지나친 발효 억제와 저장성 향상(Kim et al, 1995; No et al, 1995; Son et al, 1996; Hur et al, 1997), 축육 소시지의 보존성 개선(Youn et al, 2000), 흰떡과 생면의 저장성 향상(Lee et al, 2000), 두부 제조 시 단백질의 응고 및 저장성의 향상(Chun et al, 1997), 과일(EI et al, 1991) 및 달걀의 표면처리에 따른 저장성 향상(Lee et al, 1996) 등에 관한 연구가 활발히 진행 중이며, 키토산 유도체를 이용한 발효빵의 품질 특성 향상(Lee et al, 1997) 등의 키토산 유도체에 관한 연구도 활발하다.

최근 급격한 사회, 경제적 발전과 문화수준이 향상됨에 따라 식생활의 양상은 많은 변화를 가져왔으며, 특히 빵의 이용은 간식에서 주식의 개념으로 점차 확대 보급되고 있다. 그 중 식빵은 달지 않고 부드러워 많이 이용되고 있는 식품이지만 설탕과 유지의 사용량이 다른 일반빵에 비해 적기 때문에 실온에 방치하였을 때 균의 증식 및 빵의 노화가 빨리 일어나는 것을 볼 수 있다. 일반적으로 빵의 노화를 지연시키기 위해서는 당, 유지, 계면활성제, 또는 보존료를 첨가하는데, 식빵의 경우는 계면활성제나 보존료를 넣어 노화를 지연시키는 것이 가능할 것이다.

한편 식품을 제조 가공할 때 식품의 보존성 증진, 혹은 제품 품질향상을 위하여 많은 종류의 식품 첨가물을 사용하게 되는데, 이러한 첨가

물은 대부분 화학적 합성품이 많으며 이들 합성품은 급만성 독성, 발암성, 돌연변이 유발성 등을 일으키는 것으로 보고되고 있어(Dutkiewicz, 1983) 안전성의 문제가 논의되고 있다. 또한 식품 첨가물의 안전성 기준이 강화되고 있을 뿐만 아니라 소비자들의 화학 합성품에 대한 기피로 인하여 천연 첨가물의 개발이 절실히 요구되고 있다. 그 예로써 국내에서는 멥게 껍질 섬유소를 첨가하여 빵의 품질향상(Yook et al, 2000), 신선초가루 첨가로 식빵의 노화도 및 기호도 향상(Choi et al, 1999), 부추 첨가에 의한 식빵의 물리화학적·관능적 특성 향상(Jung et al, 1999), 즉백 히노키티올 추출물 첨가로 식빵의 shelf-life 연장효과(Kang et al, 2000), carboxymethyl 키토산 첨가 발효빵의 품질 향상(Lee et al, 1997), 보리가루(Hwang, 1995)나 감잎가루(Bae et al, 2001), 그리고 메밀가루 첨가 빵의 품질 향상(Kim et al, 2000)에 관한 연구가 보고되었고, 국외에서는 완두, flax, 해바라기 껍질 등에 관한 제빵 특성 향상(Cadden, 1973), drum wheat, lupin, faba bean, pinto bean 및 고구마 복합분의 제빵성(Boucioglu, 1994; Sathe, 1981; Hamed, 1973; Campos, 1978)에 대한 연구가 이루어졌다.

본 연구에서는 식빵에 관련하여 여러 가지 첨가물 중 천연 보존료로 키토산을 이용하기 위한 방안으로 분자량이 각각 다른 키토산을 첨가함으로써 얻어지는 빵의 보존성과 품질 향상 효과에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1-1. 키토산

키토산은 분자량 약 1 kDa, 5 kDa, 30 kDa 및 120 kDa의 것을 이용하였다. 분자량 약 1 kDa과 5 kDa의 키토산은 탈 아세틸화도 95% 이상, 중금속 미 검출, 비소 미 검출의 (주) 키토라이프의 것을 이용했고, 분자량 약 30 kDa의 키토산은 탈 아세틸화도 92% 이상, 중금속 미 검출, 비소 미 검출의 (주) Biotech 제품을 이용했으며, 분자량 약 120 kDa의 키토산은 탈 아세틸화도 85% 이상, 중금속 20 ppm 이하(식품공전상의 허용기준), 비소 미 검출의 신영 키토산의 제품을 이용했다(Table 1).

1-2. 공시균주

실험용으로 사용된 균주는 표준 균주를 사용했는데, 그 목록은 Table 2에서와 같다.

Table 1. Characteristics of chitosan used for experiment

Molecular weights	Degree of deacetylation	Heavy metal	Arsenic
1 kDa	>95%	ND*	ND*
5 kDa	>95%	ND*	ND*
30 kDa	>92%	ND*	ND*
120 kDa	>85%	< 20 ppm	ND*

*Not detected

Table 2. The list of microorganisms submitted for the tests of antimicrobial activity of chitosan

Strain
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9372
<i>Bacillus licheniformis</i> KCTC 1026
<i>Serratia marcescens</i> KCTC 2216
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KCTC 7905
<i>Aspergillus niger</i> KCTC 6906
<i>Penicillium expansum</i> KCTC 6434

2. 방법

2-1. 식빵의 제조

강력분(대한제분, 1등급, 회분함량 0.45%, 표백밀가루) 100%를 기준으로 활성건조효모(프랑스산, (주)제니코에서 수입) 2%, 설탕(제일제당) 5%, 쇼트닝(서울하인즈) 4%, S-500(조흥화학) 1%, 물 63%를 직접반죽법에 따라 제조하였다(Table 3). 물과 쇼트닝을 제외한 모든 재료를 믹서기에 넣어 저속에서 2분간 혼합한 후 물을 첨가하고 저속으로 회전하면서 키토산 혼합용액을 투입하였다. 5분간 반죽한 다음 쇼트닝을 첨가하여 저속에서 5분, 중속에서 20분간으로 반죽을 완료하였다. 1차 발효는 온도 27℃, 상대습도 80%, 90분간 발효시키고, 반죽 75 g을 둥글리기 후, 온도 38℃, 상대습도 90%, 40분간 2차 발효를 하고 오븐의 상부 온도 210℃, 하부온도 150℃에서 11분간 굽기하였다.

식빵에 첨가한 키토산은 분자량 약 1 kDa, 5 kDa, 30 kDa 및 120 kDa의 것을 각각 0.01%, 0.1%, 0.3%, 0.5%의 농도로 이용했다. 이 중 분자량이 약 1 kDa, 5 kDa인 키토산은 물에 녹여 첨가하였고, 30 kDa, 120 kDa 키토산은 0.3% Lactic acid에 용해한 후 pH 5.5로 조절하여 사용하였다. 식빵 제조 시 물의 양은 첨가한 키토산 수용액 양을 제외하고 사용하였다. 또한 0.3% Lactic acid 수용액을 식빵에 첨가한 경우도 비교하였는데, 이 역시 물의 양을 조절하여 전체 사용한 물의 양을 일정하게 하였다.

Table 3. Ingredients for preparation of the bread

Wheat flour	100%
Activity dry yeast	2%
Sugar	5%
Shortening	4%
Salt	2%
Defatted milk flour	3%
S-500	1%
Water	63%

2-2. 효모 및 식빵의 부패에 관여하는 미생물의 생육 억제능

효모는 YPD 배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양하고, 식빵의 부패에 관여하는 세균은 Mueller Hinton Broth를 사용하여, *B. licheniformis*와 *B. subtilis*는 30°C에서 *S. marcescense*는 37°C에서 24시간 배양시킨 다음 O.D를 0.2로 일정하게 하여 균액 600 μ l씩 45 ml의 배지에 접종했다. 분자량 및 농도별 키토산을 1.5 ml씩 균액 1.5 ml와 혼합하여 균주에 따라 온도와 시간을 달리하여 생육 최적 조건에서 배양하면서 600 nm에서 흡광도를 측정하여 균들에 대한 키토산의 생육 억제능을 측정했다. *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*과 같은 식물병원곰팡이는 분자량 및 농도별 키토산 1.5 ml와 PDB(Potato Dextrose Broth) 1.5 ml를 혼합한 용액에 균액 300 μ l($10^3 \sim 10^4$ CFU/ml)를 접종하여 25°C, 24시간 진탕 배양하였다. 균 배양액을 멸균한 PBS(phosphate buffered saline) 용액으로 희석하여 PDAB(Potato Dextrose Agar Broth)에 고루 도말하여 편 다음 25°C에서 48시간 동안 배양하여 집락수(CFU)를 세어 균 감소율을 관찰하였다(Yun et al, 1999).

2-3. 식빵의 보존성

완성된 식빵을 포장 한 후 실온(온도 27°C \pm 2, 습도 75% \pm 10)에서 8일간 저장하면서 총균수(CFU)를 측정하였다. 각각의 시료 2.5 g을 무균적으로 취해 멸균한 PBS 용액 22.5 ml와 혼합하여 균질화(10,000 rpm, 10분간) 한 다음 10배 희석법으로 10^{-4} 까지 희석하여 Nutrient Agar에 도말 후, 37°C에서 48시간 배양하여 집락수(CFU)를 관찰하였다.

2-4. 식빵의 산화도

분쇄한 식빵 5 g에 3배의 초순수를 가하여 3,000 rpm에서 1분간 균질화시킨 후, glass wool에 여과시킨다. 여기서 취한 0.5 ml 여액에 초순수 0.5 ml와 7.2% BHT 50 μ l, TBA/TCA용액 2 ml를 첨가하여 끓는 물에 15분간 가열하였다. 이를 냉각한 다음 반응용액을 4℃, 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하고 그 상정액을 531 nm에서 흡광도를 측정하여 TBARS(Thiobarbituric Acid Reactive Substances)의 함량, 즉 식빵 kg당 malonaldehyde 양(mg)으로 나타내었다(Sinnhuber et al, 1977).

2-5. 반죽의 부피 팽창도

최종 온도를 27℃로 맞춘 각각의 반죽에서 50 g씩 떼어내서 250 ml mass cylinder에 담아 27℃, 상대습도 80%, 90분간 1차 발효하여 부피의 차이를 비교하였다.

2-6. 식빵의 물성

각각의 시료를 1.5×1.5×1 cm 크기로 자른 후 Texture meter(T-1-XT2, SMS Co., UK)로 Gumminess(겉성), Chewiness(씹힘성), Springiness(탄성), Cohesiveness(응집성), Resilience(복원성)을 20mm diameter cylinder로 1.0 mm/s의 속도로 2 mm깊이로 누른 후 측정하였다. Hardness(경도)는 전단력으로 나타냈다.

2-7. 식빵의 색도

식빵의 색은 각각의 시료를 $1.5 \times 1.5 \times 1$ cm 크기로 자르고, 표면과 내부색을 색차계(JC801, Color Techno System Co., Japan)를 사용하여 L^* (명도), a^* (적색도), b^* (황색도) 값으로 나타내었다. 이때 사용된 표준백판은 $L^* = 93.73$, $a^* = -0.12$, $b^* = 0.11$ 이었다.

2-8. 반죽 및 식빵의 pH

반죽의 pH는 1차 발효 전·후 각각 5 g씩, 식빵은 내부를 5 g씩 떼내어 10배의 증류수를 가한 뒤, 2분간 균질화 하여 pH meter(HM-30V, Toyo, Japan)로 측정하였다.

2-9. 식빵의 수분활성도

식빵을 실온에서 8일간 저장하면서 각각의 시료를 분쇄하여 수분활성 측정기(Rotronic Hygroscopec BT-RS1, Swiss)로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 효모 및 식빵의 부패에 관여하는 미생물에 대한 키토산의 생육억제효과

분자량이 약 1 kDa, 5 kDa, 30 kDa 및 120 kDa인 키토산을 0.001~0.5%까지 첨가하여 효모 및 빵의 부패에 관련하는 미생물에 대한 생육억제능을 측정한 결과, *S. cerevisiae*는 3시간 배양 후 분자량 약 30 kDa의 키토산을 0.01% 이상 첨가했을 때 약하게 생육억제효과가 나타나기 시작했고, 분자량 약 120 kDa의 키토산은 모든 경우에서 생육억제효과가 있었으나 75% 이하로 낮았다. 6시간 배양 후에는 분자량 약 5 kDa의 키토산을 0.2% 이상 첨가 시 억제 효과가 나타났고, 12시간 배양 후에는 분자량 약 1 kDa의 키토산을 0.1% 이상, 분자량 약 5 kDa의 키토산을 0.01% 이상 첨가한 경우 억제 효과를 보였다. 또한, 분자량 약 30 kDa의 키토산은 0.01% 이상에서부터 50% 이상, 분자량 약 120 kDa 키토산에서는 60% 이상의 억제 효과를 나타내었다(Table 4). 실제로 키토산이 발효의 소요되는 시간에는 그다지 효모의 생육을 크게 억제하지 않는 것으로 나타났다.

*B. licheniformis*는 12시간 배양 후 분자량 약 1 kDa 키토산 0.35%, 분자량 약 5 kDa 키토산 0.1%, 분자량 약 30 kDa 키토산 0.01%에서 90% 이상의 강한 생육 억제 효과를 보였다. *S. marcescens*은 모든 분자량 및 첨가량의 키토산에서 생육억제효과를 보였으나, 특히 분자량 약 30 kDa, 120 kDa 키토산의 0.1% 이상의 농도에서 강한 생육억제효과를 나타냈다. *B. subtilis*는 분자량 약 30 kDa 키토산의 농도가 0.01%

에서 90%에 가까운 생육억제효과를 보였다. 결과적으로 식빵의 부패에 관여하는 세균들은 분자량 약 30 kDa과 120 kDa 키토산의 0.1% 이상 농도에서 강하게 생육이 억제되었다(Table 4).

*Aspergillus niger*는 분자량 약 1 kDa, 5 kDa 키토산에서 25% 이하의 낮은 생육억제효과를 나타내었고, 분자량 약30 kDa과 120 kDa 키토산에서도 0.5% 농도에서 70% 이하의 낮은 억제 효과를 나타내었다(Table 5). *Penicillium expansum*은 분자량 약 1 kDa 키토산에서 생육억제효과가 전혀 나타나지 않았고, 분자량 약 5 kDa 키토산 0.5%의 농도에서는 약 37%로 생육억제효과가 낮게 나타났다. 분자량 약 30 kDa, 120 kDa 키토산에서는 0.5% 이상의 농도에서 80%의 생육억제효과를 나타내었으나 그 이하의 농도에서는 50% 이하로 낮은 생육억제효과를 나타냈다(Table 5). 이와 같이 곰팡이의 경우에는 효모 및 부패 세균에 비해 전반적으로 낮은 생육억제효과를 보였다.

효모와 곰팡이는 세균과는 달리 모두 진핵 미생물이지만 서로의 세포벽 성분에 차이가 있는데, 효모의 세포벽 성분은 키틴인데 비하여, 곰팡이의 성분은 종에 따라 키틴 또는 셀룰로스로 되어 있고, 이들은 키틴 분해 효소를 가진다. 또한 세균의 세포벽 성분은 N-acetylglucosamine-N-acetylmuramic acid의 중합체이다(Yun et al, 1999 ; Weiner et al, 1992). 세균, 효모와 곰팡이에 대한 키토산의 생육억제능 차이는 이들 미생물의 세포벽 성분의 차이에 기인한 것이 아닌가 사료된다.

따라서 식빵 발효 시 효모의 생육은 크게 저해하지 않고, 다른 부패 균주에는 큰 저해 효과를 낼 수 있는 키토산 분자량 약 30 kDa과 120 kDa을 0.1% 이상의 농도로 사용하는 것이 바람직하고 생각된다.

Table 4. Effect of growth inhibition of chitosans against yeast and spoilage bacteria in bread

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>			<i>Serratia marcescens</i>		<i>Bacillus licheniformis</i>		<i>Bacillus subtilis</i>	
	3hrs	6hrs	12hrs	12hrs	24hrs	12hrs	24hrs	24hrs	48hrs
1 kDa	0.001%	-	-	4.4	-	-	-	-	-
	0.010%	-	-	6.3	-	-	-	-	-
	0.100%	-	7.2	17.7	-	-	-	-	-
	0.200%	-	26.7	19.6	0.2	14.2	-	-	-
	0.350%	-	40.9	18.9	6.1	96.0	63.3	-	-
0.500%	-	47.5	25.2	7.5	98.1	97.1	-	-	
5 kDa	0.001%	-	-	8.5	-	-	-	-	-
	0.010%	-	7.3	9.4	-	-	-	-	-
	0.100%	-	36	16.0	-	2.0	-	-	-
	0.200%	-	0.6	44.4	8.0	93.8	35.6	9.0	-
	0.350%	-	1.5	47.2	37.8	28.2	98.6	70.6	29.2
0.500%	-	18.7	56.3	45.3	29.5	98.7	91.0	92.9	
30 kDa	0.001%	-	-	11.5	-	3.3	-	32.9	-
	0.010%	10.0	47.8	26.7	14.1	97.2	97.0	88.8	89.2
	0.100%	28.3	52.9	62.1	60.5	98.3	98.5	92.5	92.8
	0.200%	28.3	62.2	77.8	91.9	78.4	99.3	91.6	92.3
	0.350%	36.7	73.3	80.8	96.5	79.5	99.4	91.8	92.7
0.500%	55.0	83.7	84.5	98.2	79.9	99.6	98.6	91.8	92.6
120 kDa	0.001%	16.7	17.4	15.3	11.0	-	0.8	6.2	-
	0.010%	26.7	42.9	54.2	37.4	83.2	87.8	92.1	92.0
	0.100%	35.0	71.8	87.5	78.3	99.4	98.9	92.7	93.5
	0.200%	55.0	88.5	96.0	78.7	99.5	99.2	92.7	93.6
	0.350%	58.3	83.5	82.6	79.4	99.3	98.5	92.4	93.2
0.500%	75.0	86.5	88.9	96.8	80.3	99.5	98.6	92.4	93.0

Inhibition rate was indicated by percentage as follow. %= [1 - culture of chitosan(OD₆₀₀)/control(OD₆₀₀)] × 100

-: Not detected growth inhibition

Table 5. Effect of growth inhibition of chitosans against mold

Chitosan		<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium expansum</i>
1 kDa	0.01%	-	-
	0.10%	-	-
	0.35%	-	-
	0.50%	-	14.2
5 kDa	0.01%	-	-
	0.10%	-	-
	0.35%	-	16.4
	0.50%	37.0	25.5
30 kDa	0.01%	12.2	-
	0.10%	34.5	9.3
	0.35%	50.4	57.3
	0.50%	80.8	70.7
120 kDa	0.01%	21.4	-
	0.10%	36.8	0.0
	0.35%	41.7	56.0
	0.50%	81.0	65.3

Inhibition rate was indicated by percentage as follow.

$$\% = [\text{control} - \text{culture of chitosan} / \text{control}] \times 100$$

-: Not detected growth inhibitor

2. 식빵의 보존성

2-1. 키토산 분자량에 따른 보존성

0.3% Lactic acid 수용액을 첨가한 경우, 키토산 무첨가구에 비해 거의 차이가 없었다. 분자량 약 1 kDa과 5 kDa의 키토산을 0.1% 첨가한 경우는 무첨가구 보다 균수가 조금 감소하였으나, 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산을 0.1% 첨가한 경우에는 4일이 지난 후에 균이 측정되어 큰 보존 효과를 나타내었다(Fig. 1). 이는 식빵의 부패에 관여하는 미생물에 대한 키토산의 생육 억제 효과에서 분자량 약 1 kDa과 5 kDa 보다 분자량 약 30 kDa과 120 kDa에서 강한 효과를 보인 결과와 일치한다(Youn et al, 2000 ; Lee et al, 2001 ; Lee et al, 2000).

2-2. 키토산 첨가량에 따른 보존성

무첨가구와 비교해 볼 때, 분자량 약 1 kDa 키토산은 첨가량이 증가하여도 균수 차이가 거의 없었지만(Fig. 2), 분자량 약 5 kDa 키토산 첨가 시 0.1% 이상의 농도에서부터 균수가 조금 감소하였다(Fig. 3). 하지만 키토산 분자량 약 30 kDa, 120 kDa의 첨가구는 0.01%의 농도부터 효과가 있었는데, 특히 0.1% 이상 첨가 시 4일 경과 후부터 균이 측정되어 보존효과가 크게 나타났다(Fig. 4, Fig. 5). 또한 보존효과가 약한 분자량 약 1 kDa, 5 kDa 키토산 뿐만 아니라 분자량 약 30 kDa, 120 kDa에서 첨가량이 증가할수록 보존효과가 크게 나타났다. 이는 키토산의 첨가량이 많아질수록 보존효과가 크게 나타났다고 보고한 다른 연구 결과들과 일치한다(Cho et al, 1998 ; Youn et al, 2000 ; Lee et al, 2001 ; Lee et al, 2000).

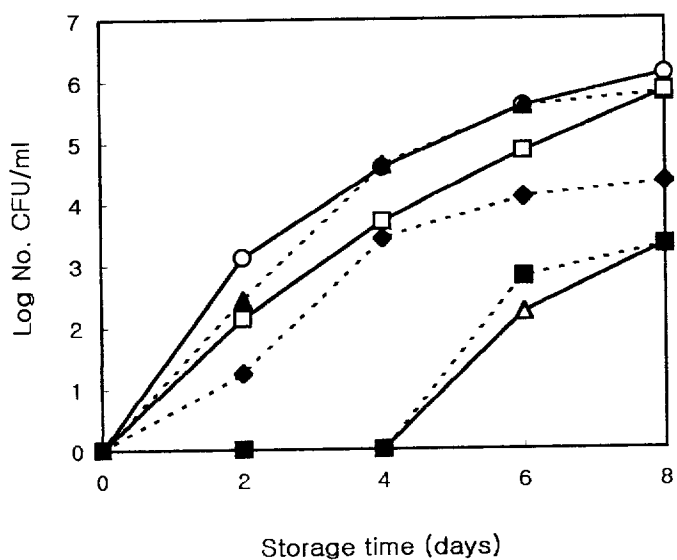


Fig. 1. Changes in total bacterial cell count of the bread by added various molecular weight of chitosans(0.1%) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲-- Chitosan 0% + Lactic acid 0.30% (Control)
- 1 kDa Chitosan
- ◆-- 5 kDa Chitosan
- △— 30 kDa Chitosan
- 120 kDa Chitosan

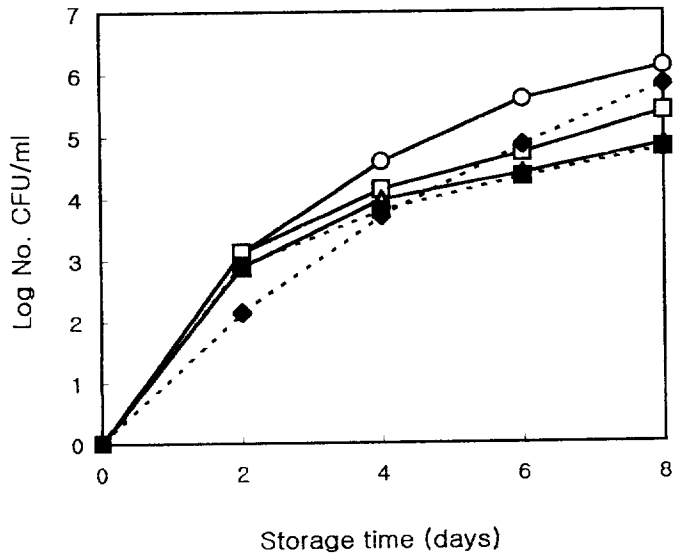


Fig. 2. Changes in total bacterial cell count of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 1 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- Chitosan 0.01%
- ◆·· Chitosan 0.10%
- △— Chitosan 0.30%
- Chitosan 0.50%

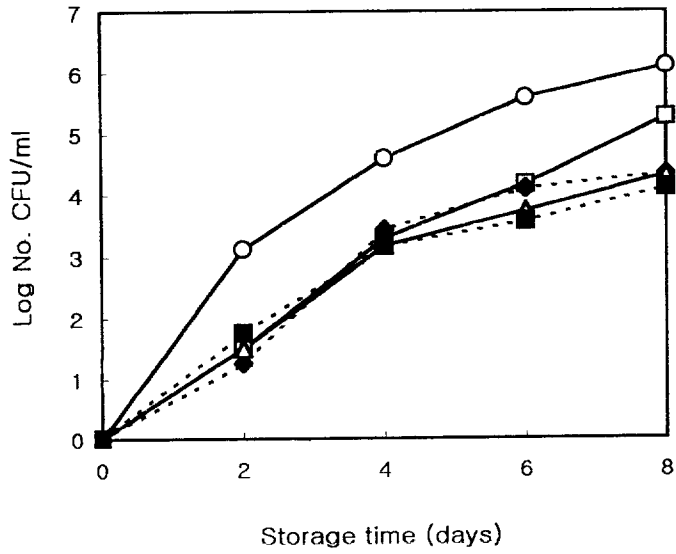


Fig. 3. Changes in total bacterial cell count of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 5 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- Chitosan 0.01%
- ◆·· Chitosan 0.10%
- △— Chitosan 0.30%
- Chitosan 0.50%

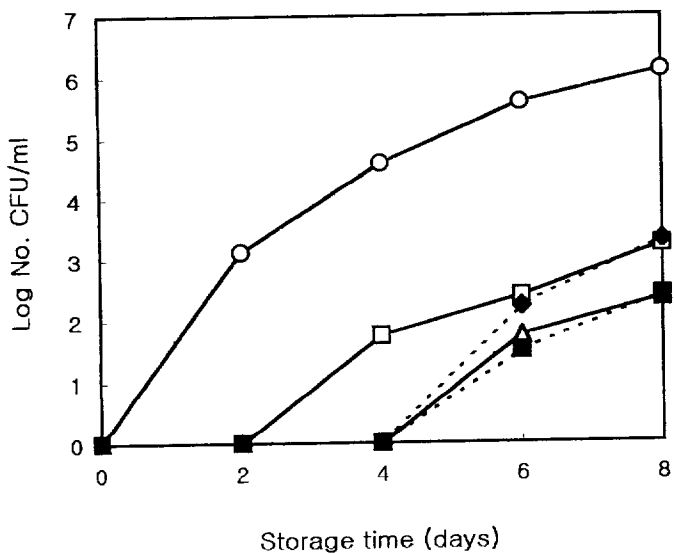


Fig. 4. Changes in total bacterial cell count of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 30 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- Chitosan 0.01%
- ◆-- Chitosan 0.10%
- △— Chitosan 0.30%
- Chitosan 0.50%

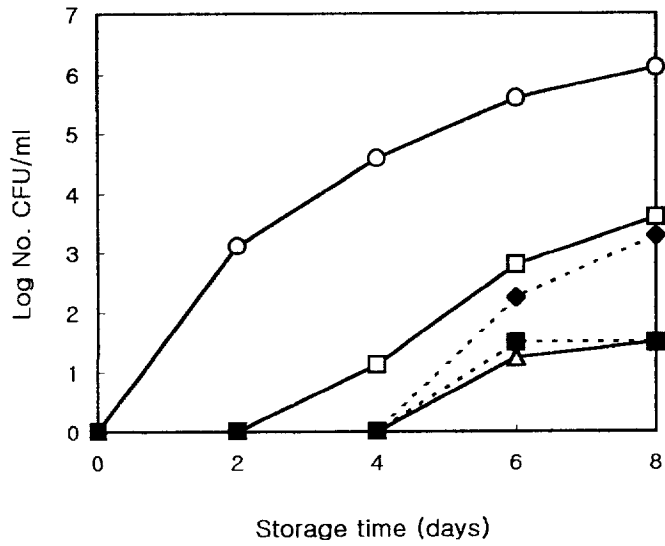


Fig. 5. Changes in total bacterial cell count of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 120 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- Chitosan 0.01%
- ◆-- Chitosan 0.10%
- △— Chitosan 0.30%
- Chitosan 0.50%

3. 식빵의 산화에 미치는 영향

Xue 등(1998)은 키토산이 항 산화 효과를 가지고 있다는 연구결과를 보고하였다. 이에 본 실험에서는 식빵에 대해 키토산을 첨가하여 저장 8일 동안 항 산화도를 측정하였다. 분자량 약 5 kDa 키토산에서는 첨가량이 증가할수록 항 산화 효과가 있었는데, 특히 0.3% 이상 첨가한 경우 효과가 좋았다(Fig. 6). 분자량 약 120 kDa 키토산에서는 0.1% 이상 첨가 시 항 산화 효과가 높았다(Fig. 7). 이상의 결과에서와 같이 키토산의 분자량 및 첨가량이 증가할수록 식빵의 산화를 지연시키는 것으로 나타났다. 이는 키토산의 항 산화능을 측정하였을 때 분자량 및 첨가량이 증가할수록 항 산화 효과가 높았다는 Youn 등(2001)의 결과와도 일치한다.

4. 반죽의 부피팽창도

4-1. 키토산 분자량에 따른 부피팽창도

0.3% Lactic acid 수용액과 분자량 약 1 kDa, 5 kDa 키토산을 0.1% 첨가한 경우는 부피가 줄어들거나, 비슷한 경향을 보였다. 그러나 분자량 약 30 kDa, 120 kDa 키토산을 0.1% 첨가한 경우에는 부피팽창도가 크게 나타났다(Fig. 8). 키토산의 분자량이 커질수록 키토산 수용액의 점성이 높아지는데(Lee et al, 2000 ; Kim et al, 1994), 이러한 특성은 반죽의 부피를 팽창시키는데 관여할 것이라 사료된다. 따라서 분자량 약 30 kDa 키토산을 반죽에 첨가하면 큰 부피의 제품을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

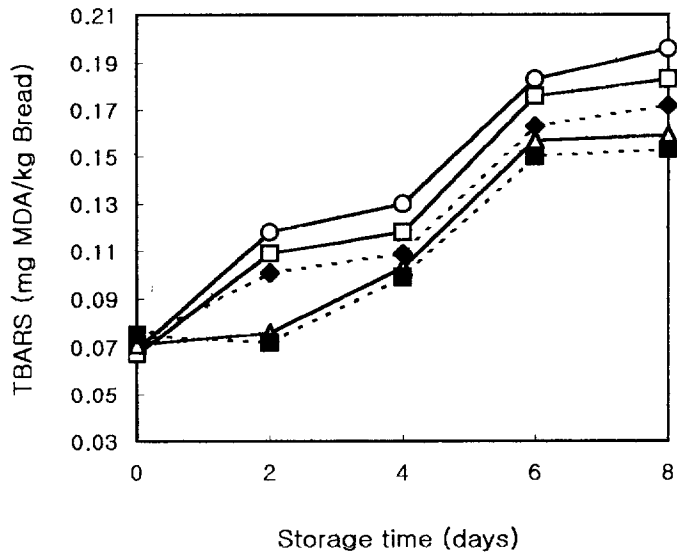


Fig. 6. Changes in TBARS value of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 5 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- Chitosan 0.01%
- ◆-- Chitosan 0.10%
- △— Chitosan 0.30%
- Chitosan 0.50%

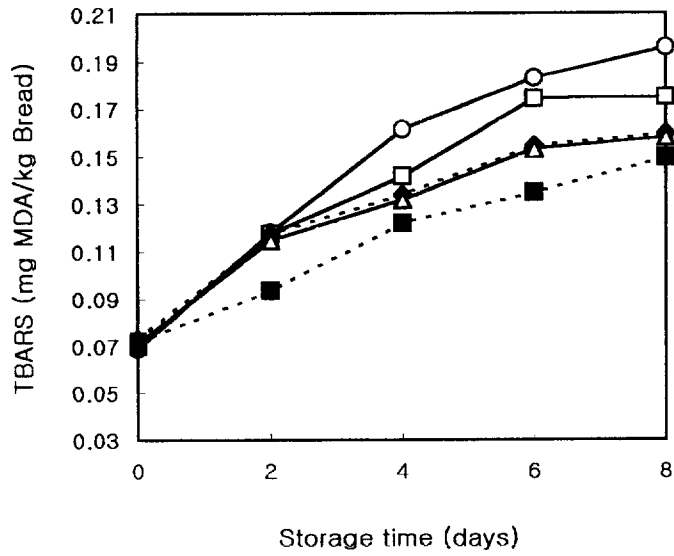


Fig. 7. Changes in TBARS value of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 120 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- Chitosan 0.01%
- ◆·· Chitosan 0.10%
- △— Chitosan 0.30%
- Chitosan 0.50%

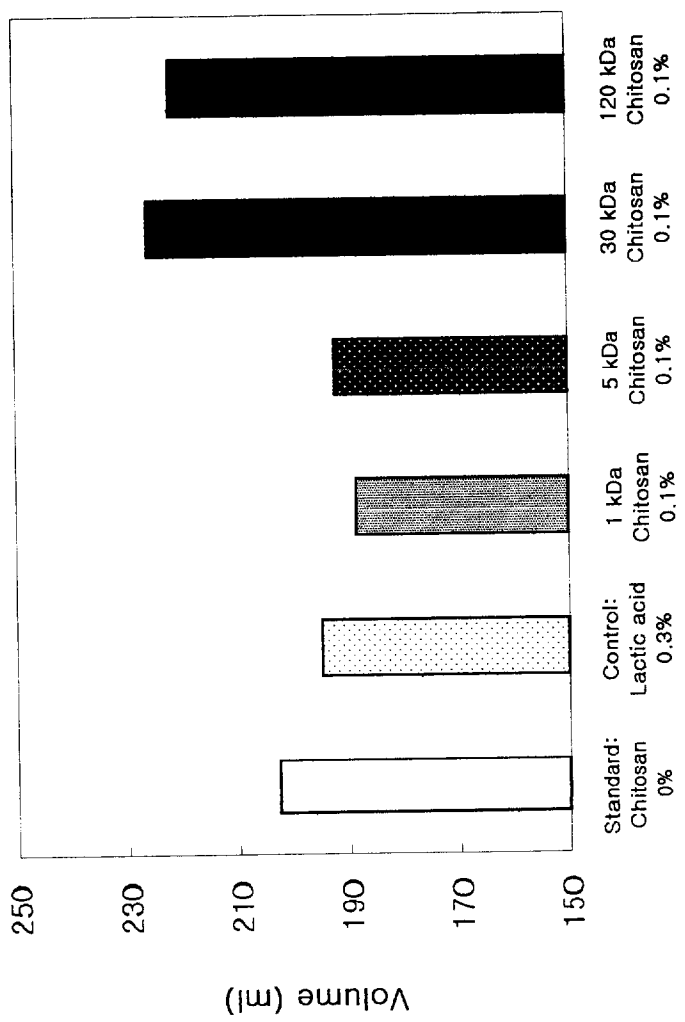


Fig. 8. Volume of the dough by added various molecular weight of chitosan.

4-2. 키토산 첨가량에 따른 부피팽창도

앞 서의 실험 결과에서 분자량 약 30 kDa, 120 kDa 키토산 첨가 시 부피팽창도가 크게 나타나 분자량 약 30 kDa, 120 kDa 키토산의 첨가량을 달리하여 부피팽창도를 살펴보았다. 분자량 약 30 kDa 키토산 첨가 시 0.1% 이상에서부터 부피가 증가하여 0.5% 첨가구에서 부피가 가장 컸다(Fig. 9). 분자량 약 120 kDa 키토산의 경우에도 첨가량이 많아질수록 부피팽창도가 증가했지만, 0.5% 첨가 시에는 부피가 급격히 감소하였다(Fig. 10). 키토산의 분자량 및 첨가량이 증가할수록 수용액의 점도 또한 높아지는데(Lee et al, 2000 ; Kim et al, 1994), 이와 같이 분자량 약 120 kDa 키토산을 0.5% 첨가한 경우에는 키토산 수용액의 지나치게 높은 점도로 인해 식빵의 부피팽창이 지해된 것으로 사료된다.

5. 식빵의 물성

키토산을 분자량별로 0.1% 첨가하여 물성을 측정하였다(Table 6). 겹성이란 음식을 삼키기 쉬운 상태로 분쇄하는데 필요한 에너지로 경도 및 응집성과 관련이 있다. 분자량 약 1 kDa과 5 kDa 키토산 첨가구는 무첨가구보다 겹성이 약간 떨어졌으나, 분자량 약 30 kDa 키토산 첨가구에서 약간 높아졌고, 분자량 약 120 kDa 키토산 첨가구에서는 가장 높아짐을 볼 수 있었다. 씹힘성란 씹는데 요구되는 에너지로 경도, 응집성 및 탄성과 관계가 있다. 키토산 무첨가구와 비교해 볼 때, 분자량 약 1 kDa과 5 kDa 키토산 첨가구는 씹힘성이 낮았으나, 분자량 약 30 kDa의 키토산 첨가구에서는 비슷했고, 분자량 약 120 kDa 키토산 첨가

구에서는 높게 나타났다. 탄성은 키토산 첨가구와 무첨가구의 차이가 거의 없었으나, 응집성과 복원력은 분자량 약 120 kDa 키토산 첨가구에서 약간 크게 나타났다. 이상을 종합해 보면, 분자량이 높은 키토산의 첨가는 물성에 약간의 영향을 미치는 것으로 사료된다.

경도는 저장초기에 첨가한 키토산의 분자량이 높을수록 더 높게 나타났다. 그러나, 저장기간이 길어질수록 키토산 무첨가구에서는 경도가 크게 증가했으나, 키토산 첨가구에서는 경도의 변화가 적게 나타나 오히려 4일 이후에는 키토산의 분자량이 높을수록 경도가 낮게 나타났다 (Fig. 11). 저장 중 경도변화의 주 요인은 전분의 노화에 의한 것으로, 본 결과로 미루어 보아 키토산을 첨가하면 식빵의 노화를 어느 정도 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

6. 식빵의 색도

제품을 평가하는 품목 중 색은 외관의 평가에서 매우 중요하게 여겨진다. 굽고 난 후 색이 좋아야 먹음직스럽게 보일 뿐만 아니라, 풍미를 향상시킬 수 있기 때문에 식빵은 황갈색을 띠어야 한다. 특히 껍질은 카라멜화(Caramelization) 반응과 메일라드(Maillard) 반응에 의해 갈색을 띠게 된다.

키토산의 첨가량에 따른 식빵의 색 변화를 측정된 결과 식빵 표면의 명도는 분자량 약 1 kDa 키토산 첨가구에서는 약간 높게, 분자량 약 30 kDa 키토산 첨가구에서는 비슷했고, 분자량 약 120 kDa 키토산 첨가구에서는 낮았다. 적색도 및 황색도 역시 명도와 유사한 경향을 나타내었다. 빵 내부의 명도는 분자량 약 1 kDa, 120 kDa 키토산 첨가구에서

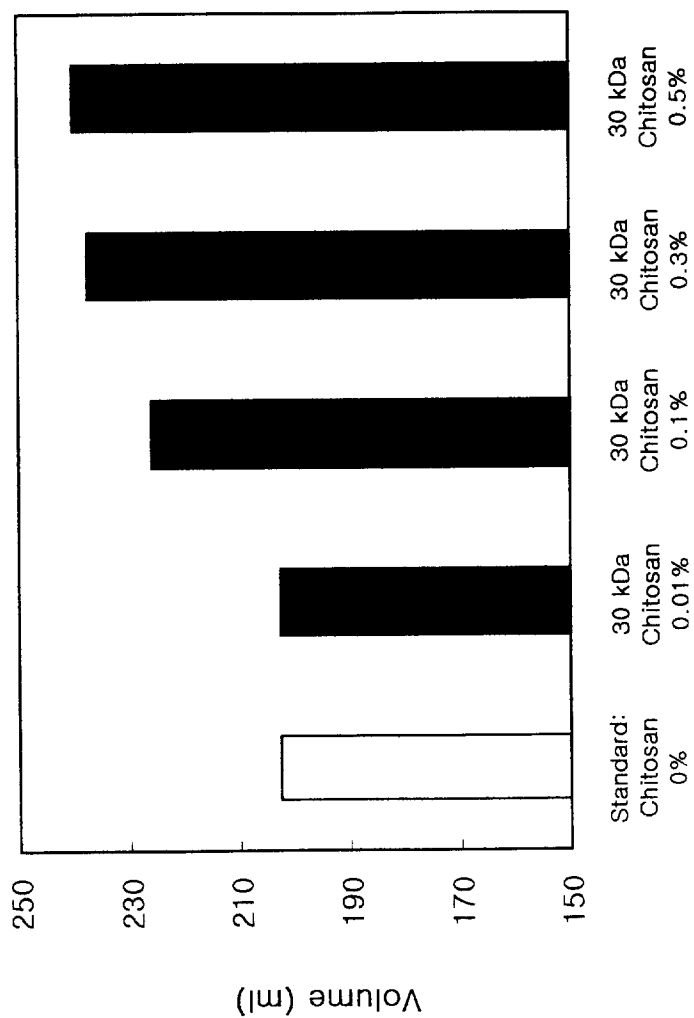


Fig. 9. Volume of the dough by added various concentration of M.W. 30 kDa chitosan.

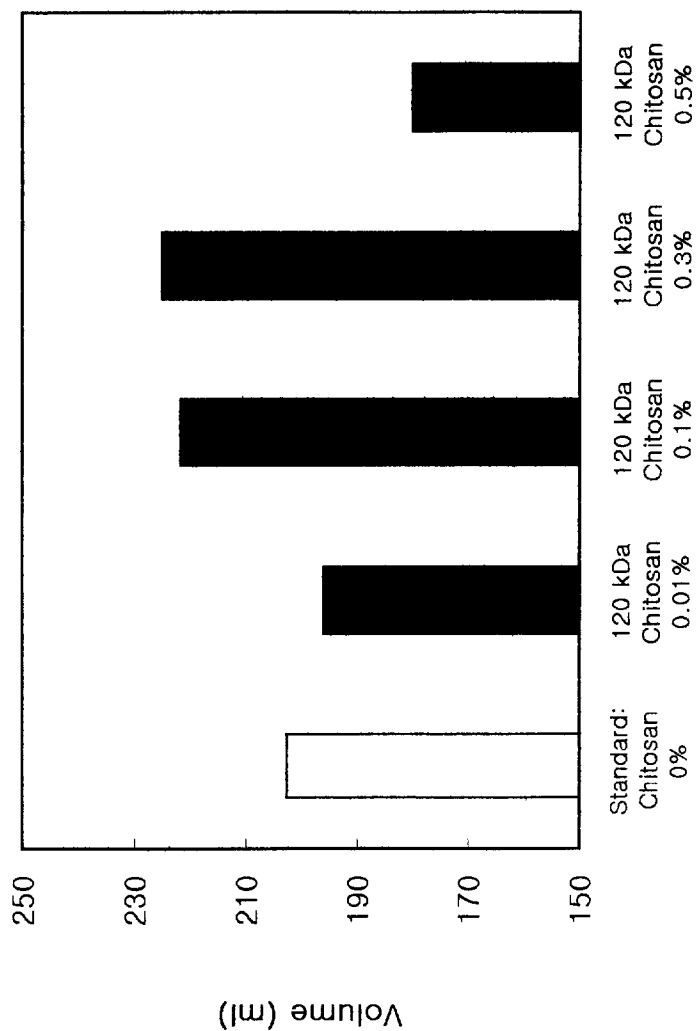


Fig. 10. Volume of the dough by added various concentration of M.W. 120 kDa chitosan.

Table 6 . Textural characteristics of the bread by added various molecular weight of chitosans

	Gumminess	Chewinness	Springiness	Cohesiveness	Resilience
Standard	59.70	61.00	0.996	0.573	0.362
Chitosan 1 kDa ^a	47.84	47.13	0.980	0.551	0.313
Chitosan 5 kDa ^a	48.72	48.43	0.952	0.542	0.319
Chitosan 30 kDa ^a	65.63	65.63	1.007	0.571	0.350
Chitosan 120 kDa ^a	70.08	70.08	0.992	0.602	0.387

a : Concentration of chitosan is 0.1%(w/w).

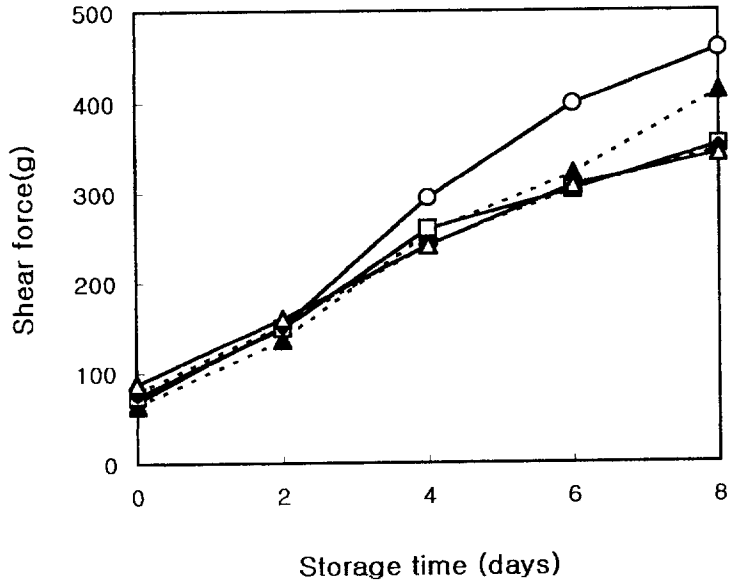


Fig.11. Changes in hardness of the bread by added various molecular weight of chitosans (0.1%) during storage at room temperature.

- Standard
- ▲·· 1 kDa Chitosan
- 5 kDa Chitosan
- ◆·· 30 kDa Chitosan
- △— 120 kDa Chitosan

약간 높았으나, 분자량 약 30 kDa 키토산 첨가구에서는 약간 낮았다. 적색도는 분자량 약 120 kDa 키토산 첨가구에서 조금 높았고, 황색도는 분자량 약 1 kDa 키토산 첨가구에서 조금 높았다(Table 7). 이상의 결과를 종합해 볼 때, 분자량 약 30 kDa 키토산 첨가구는 식빵 내부의 명도를 제외하고, 표면 및 내부의 색에는 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

7. 반죽 및 식빵의 pH 변화

발효가 진행됨에 따라 제빵용 효모가 만들어 내는 여러 가지 발효산물에 의해 pH는 빵 효모의 최적 pH인 4.5~4.9에 가까워진다. 분자량 및 첨가량을 달리하여 키토산을 반죽에 첨가한 경우 기존의 경우에 비해 pH가 조금 떨어진 것으로 나타났다(Table 8). 식빵에서는 분자량 약 1 kDa, 5 kDa, 30 kDa 키토산의 농도를 달리한 경우 기존의 경우에 비해 pH가 약간 낮게 나타났고, 분자량 약 120 kDa 키토산을 첨가한 경우에는 pH가 약간 높은 것으로 나타났으나 거의 차이가 나지 않았다(Table 9). 키토산의 분자량 및 농도별로 첨가·제조한 식빵을 실온에서 8일간 저장하는 동안 pH 변화를 살펴본 결과, 저장기간에 따른 pH 변화는 거의 없었다(Fig. 12, 13, 14, 15). 이는 첨가하는 키토산의 pH를 5.5로 미리 조절하였고, 또한 첨가된 키토산이 발효에 크게 영향을 미치지 않은 결과로 사료된다.

Table 7. Colors of the breads by added various molecular weight of chitosans

Samples	L*		a*		b*	
	surface	inside	surface	inside	surface	inside
Standard	72.73	75.61	4.39	0.82	20.43	9.58
Control	68.12	80.87	2.66	1.66	14.84	11.35
1 kDa Chitosan ^a	77.56	77.78	4.97	0.98	23.63	10.25
5 kDa Chitosan ^a	73.79	76.15	4.60	0.73	20.02	9.36
30 kDa Chitosan ^a	72.27	74.72	4.29	0.84	21.52	9.05
120 kDa Chitosan ^a	67.88	76.25	2.29	1.28	14.35	9.19

^a : concentration of chitosan is 0.1%(w/w).

Table 8. pH of the dough by added various molecular weight and concentration of chitosans

Sample	pH		
	before fermentation	after fermentation	
Standard	5.53	5.33	
Control	5.54	5.27	
1 kDa	0.01%	5.41	5.26
Chitosan	0.10%	5.41	5.26
	0.30%	5.40	5.25
	0.50%	5.40	5.24
5 kDa	0.01%	5.43	5.25
Chitosan	0.10%	5.41	5.24
	0.30%	5.46	5.26
	0.50%	5.41	5.26
30 kDa	0.01%	5.51	5.25
Chitosan	0.10%	5.53	5.25
	0.30%	5.52	5.26
	0.50%	5.54	5.26
120 kDa	0.01%	5.56	5.23
Chitosan	0.10%	5.52	5.26
	0.30%	5.56	5.25
	0.50%	5.55	5.25

Table 9. pH of the breads by added various molecular weight and concentration of chitosans

Sample	pH	Sample	pH
Standard	5.34	Control	5.26
1 kDa	0.01%	30 kDa	0.01%
	5.23		5.30
Chitosan	0.10%	Chitosan	0.10%
	5.25		5.25
	0.30%		0.30%
	5.18		5.30
	0.50%		0.50%
	5.18		5.27
5 kDa	0.01%	120 kDa	0.01%
	5.33		5.40
Chitosan	0.10%	Chitosan	0.10%
	5.27		5.28
	0.30%		0.30%
	5.26		5.39
	0.50%		0.50%
	5.24		5.41

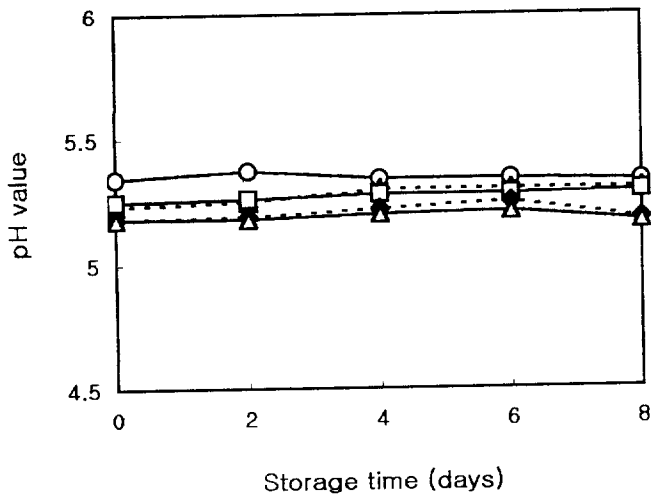


Fig. 12. Changes in pH of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 1 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲--- Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆--- Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

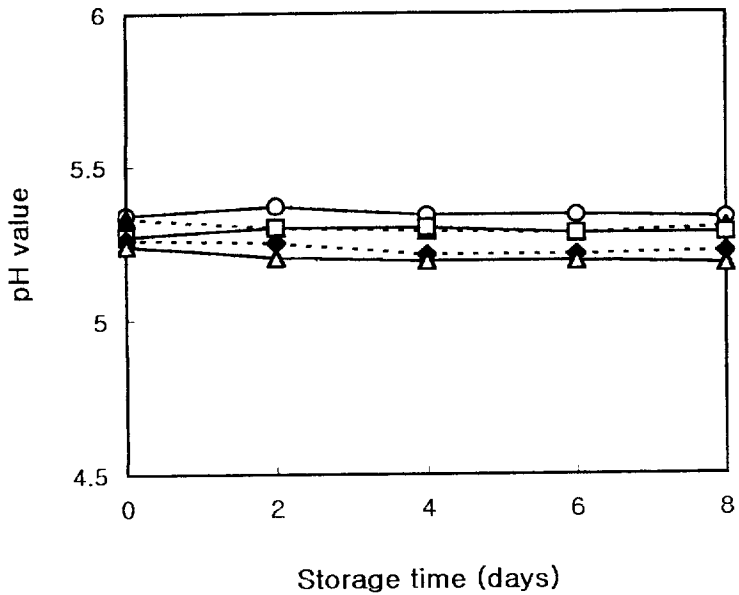


Fig. 13. Changes in pH of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 5 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲-- Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆-- Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

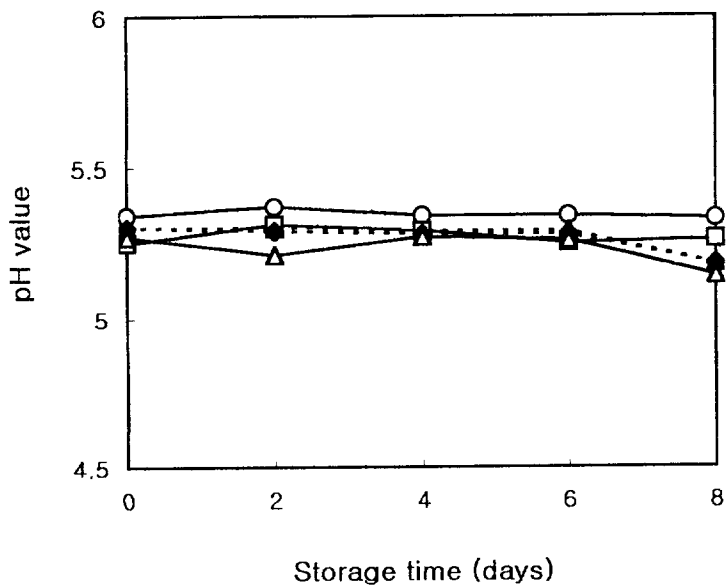


Fig. 14. Changes in pH of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 30 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲--- Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆--- Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

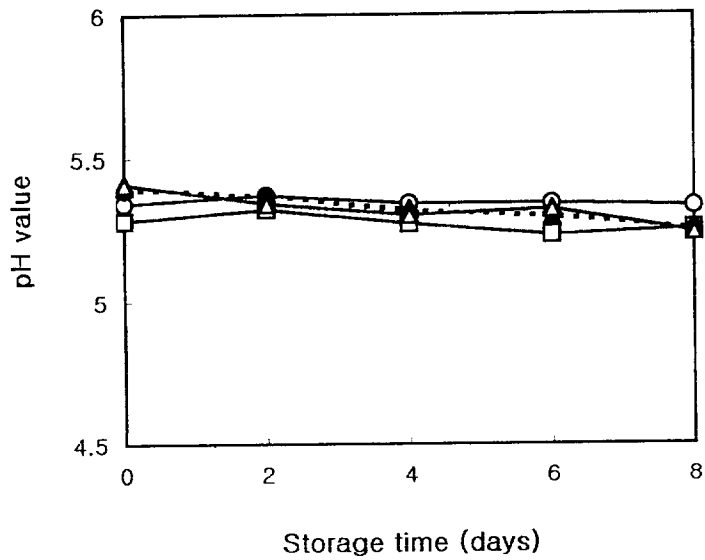


Fig. 15. Changes in pH of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 120 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲·· Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆·· Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

8. 식빵의 수분활성

8-1. 키토산 분자량에 따른 수분활성

분자량별 키토산을 0.1% 첨가한 식빵을 8일간 저장하면서 수분활성(Aw)의 변화를 알아보았다. 저장초기에는 키토산의 분자량이 커질수록 수분활성이 조금 낮게 나타났다. 이는 키토산의 분자량이 커질수록 보수력이 높아져 빵 내부의 결합수가 증가하기 때문인 것으로 생각된다(Knorr, 1982 ; Knorr, 1984) . 그리고 저장기간이 길어질수록 수분활성의 변화는 키토산을 첨가한 경우가 키토산을 첨가하지 않은 경우보다 그 폭이 적었다. 특히 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산 첨가경우는 변화가 거의 없었다(Table 10). 이와 같이 키토산이 지니고 있는 보수성이 저장 중 수분을 유지시킴으로써 식빵의 노화 억제에도 효과가 있을 것으로 사료된다(Shin et al, 1992 ; Lee et al, 2000).

8-2. 키토산 첨가량에 따른 수분활성

분자량별 키토산을 각각 농도를 달리하여 첨가한 후 8일간 저장하면서 수분활성변화를 살펴보았다. 분자량 약 1 kDa의 키토산을 0.3% 이상의 농도로 첨가한 경우 수분활성의 변화가 적었고(Fig. 16), 분자량 약 5 kDa 이상의 키토산을 첨가한 모든 경우에는 수분활성도가 비슷하였다(Fig. 17, 18, 19). 특히 분자량 약 30 kDa, 120 kDa의 키토산을 첨가한 경우 수분활성변화가 거의 없음을 볼 수 있었다(Fig. 18, 19). 이것은 분자량별 키토산이 지니는 보수성의 차이 때문인 것으로 사료된다.

Table 10. Changes in water activity (Aw) of the bread by added various molecular weight of chitosans during storage at room temperature

Sample	Storage time (days)				
	0	2	4	6	8
Standard	0.9680	0.9620	0.9555	0.9545	0.9550
Control	0.9620	0.9520	0.9495	0.9475	0.9445
1 kDa Chitosan ^a	0.9570	0.9575	0.9540	0.9515	0.9540
5 kDa Chitosan ^a	0.9570	0.9555	0.9495	0.9505	0.9530
30 kDa Chitosan ^a	0.9515	0.9515	0.9540	0.9500	0.9515
120 kDa Chitosan ^a	0.9510	0.9515	0.9495	0.9505	0.9505

^a : Concentration of chitosan is 0.1%(w/w).

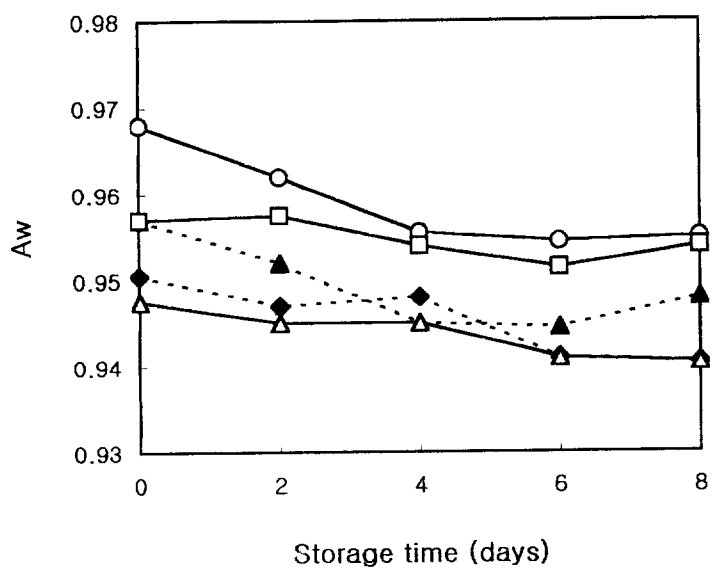


Fig. 16. Changes in water activity (A_w) of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 1 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲--- Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆--- Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

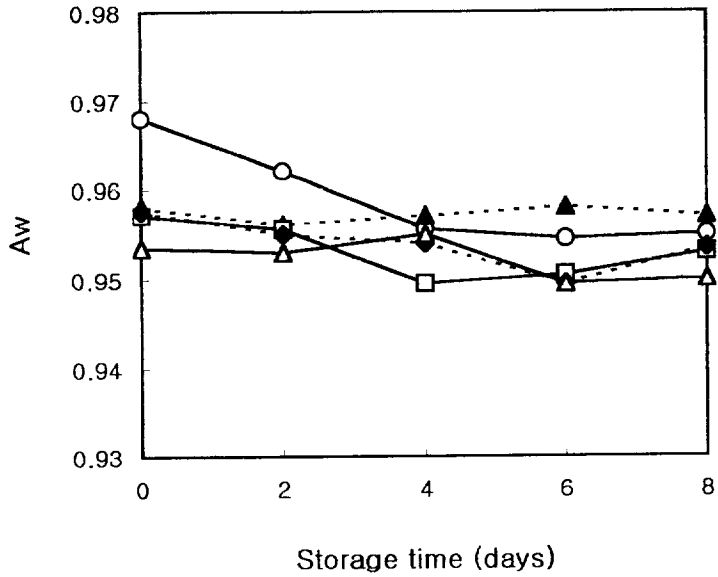


Fig. 17. Changes in water activity (A_w) of the bread by added various concentration of chitosan (M.W. 5 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲·· Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆·· Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

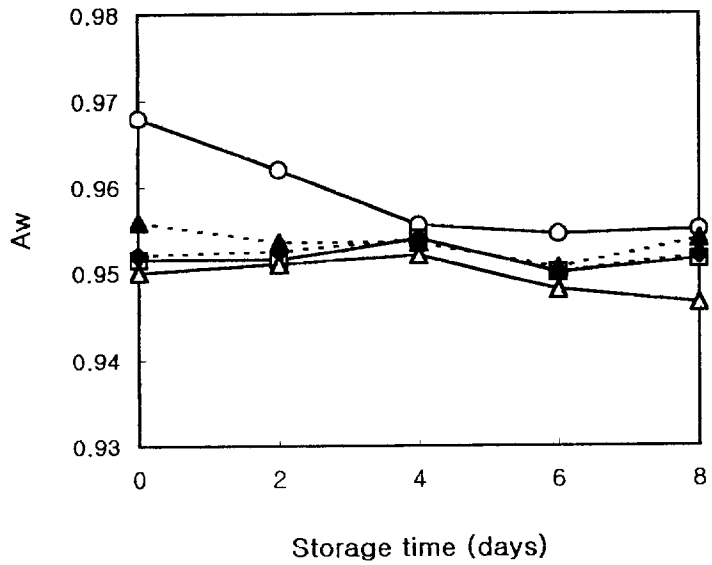


Fig. 18. Changes in water activity (A_w) of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 30 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- - ▲ - - Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- - ◆ - - Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

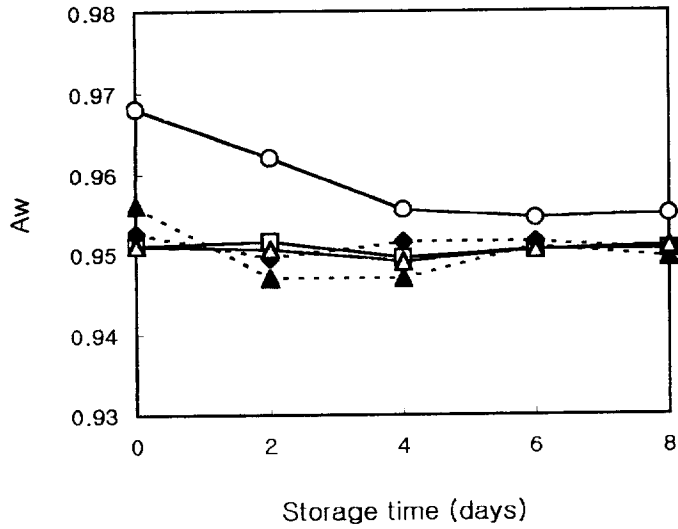


Fig. 19. Changes in water activity (A_w) of the bread by added various concentration of chitosan(M.W. 120 kDa) during storage at room temperature.

- Chitosan 0% (Standard)
- ▲-- Chitosan 0.01%
- Chitosan 0.10%
- ◆-- Chitosan 0.30%
- △— Chitosan 0.50%

요 약

식빵은 설탕과 유지의 사용량이 적기 때문에 보존성 감소와 함께 노화가 빨리 진행되어 딱딱해지는 등의 문제점을 가지게 된다. 따라서 키토산이 지니는 항균성 및 보습성 등의 여러 가지 성질을 응용하여 식빵에 키토산을 첨가하였을 때 얻을 수 있는 보존성 및 품질 향상 효과에 대해 연구한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 효모 및 식빵의 부패에 관여하는 미생물에 대한 키토산의 생육억제능을 측정해 본 결과, 전반적으로 키토산에 의한 효모의 생육억제효과는 낮게 나타났으며, 특히 실제 발효시간에 해당하는 조건에서는 생육억제 효과가 아주 낮게 나타났다. 또한 곰팡이에 대한 생육억제효과도 아주 낮게 나타났으나, 다른 부패 세균들은 키토산 분자량 약 30 kDa과 120 kDa에서 강하게 생육이 억제되었다.
2. 식빵의 보존효과는 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산을 첨가한 경우에 크게 나타났다. 또한 첨가량이 많을수록 보존효과가 큰 것으로 나타났다.
3. 식빵에 첨가한 키토산의 분자량 및 첨가농도가 높아질수록 저장기간 중 산화는 지연되었다.

4. 키토산 첨가반죽을 발효시켜 부피팽창도를 측정한 결과, 분자량 약 30 kDa, 120 kDa의 키토산 첨가 시 부피팽창이 크게 나타났고, 특히 분자량 약 30 kDa의 키토산을 첨가한 경우에서 효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 또한 키토산의 첨가농도가 증가할수록 부피팽창도는 높아졌으나 분자량 약 120 kDa의 키토산을 0.5% 첨가한 경우에는 부피가 급격히 감소했다.

5. 식빵의 물성은 분자량 약 120 kDa의 키토산 첨가 시 겹섬성, 씹힘성, 응집성, 복원성이, 30 kDa의 키토산 첨가 시 겹섬성과 씹힘성이 증가했다. 경도는 저장초기에는 분자량 약 30 kDa, 120 kDa의 키토산을 첨가한 경우에 높게 나타났으나, 저장 중에는 경도변화가 낮게 유지되어 저장기간동안 노화를 억제하는 것으로 나타났다.

6. 식빵의 색은 분자량 약 30 kDa의 키토산 첨가 시 빵의 내, 외부의 명도, 적색도, 황색도에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

7. 키토산을 첨가한 결과 반죽의 pH는 첨가하지 않은 경우보다 약간 저하했다. 또한 식빵의 pH는 분자량 약 120 kDa의 키토산을 첨가한 경우를 제외하고는 첨가하지 않은 경우보다 약간 저하했으나 키토산의 분자량과 첨가한 농도는 pH 변화에 큰 영향을 주지는 않았다.

8. 분자량별로 키토산을 첨가한 식빵을 8일간 저장하면서 수분활성(Aw)도를 측정 해 본 결과, 저장초기에는 키토산의 분자량이 높아질수록 수

(Aw)도를 측정 해 본 결과, 저장초기에는 키토산의 분자량이 높아질수록 수분활성도는 낮게 나타났는데, 8일 저장동안 수분활성변화는 거의 없게 나타나 수분이 유지됨을 알 수 있다.

이상의 결과로 미루어 볼 때, 식빵의 부패에 관여하는 미생물의 항균력은 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산에서 그 효과가 크게 나타났고, 식빵의 저장성에도 분자량 약 30 kDa과 120 kDa의 키토산이 뛰어났으며, 식빵의 물성에도 마찬가지로 생각된다. 또한, 분자량 약 30 kDa의 키토산 첨가 시 식빵의 내, 외부의 명도, 적색도, 황색도에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 그러나 키토산 분자량 약 120 kDa의 경우는 부피를 감소시켜 좋지 않은 영향을 주었다. 키토산의 농도에 있어서는 분자량 약 30 kDa 키토산의 0.1% 이상의 농도에서 저장성 향상 및 부피의 팽창효과를 나타냈다. 따라서 식빵의 보존성과 품질 향상을 위해서는, 키토산 분자량 약 30 kDa, 0.1% 이상 첨가 시 가장 좋을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- Skjak-Braek, G., Anthonsen, T., Sandford, P. (Eds.). 1989. Chitin and chitosan. *Elsevier Applied Science, London*, 560.
- Goosen, M. F. A. (Ed.). 1997. Applications of chitin and chitosan, *Technomic Publishing, Lancaster, USA*, 320.
- Lee, K. H., Lee, Y. C. 1997. Effect of Carboxymethyl Chitosan on Quality of Fermented Pan Bread. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29(1), 96~100.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977. Chitin. *Pergamon Press, New York*.
- Zikakis, J. P. 1984. Chitin, chitosan and relate enzymes. *Academic Press, San Diego*.
- Yamaguchi, H. 1986. Application of chitin-chitosan to food and medicine fields. *Shokuhin to Kaihatsu*, 21, 20~23.
- Allan, C. R., Hadwier, L. A. 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Exp. Mycol.*, 3: 285~287.

- Kendra, D. F., Hadwiger, L. A. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits Pisatin Formation in *Pisum sativum*. *Exp. Mycol.*, 8: 276~281.
- Jung, B. O., Kang, S. T., Chung, S. J. 1998. The Anti-Microbial Activity of Modified Chitosan. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 26(4). 338~344.
- Sanford, P. A. 1988. Chitosan, Commercial uses and potential applications. Pro. the 4th Inter. Conf. on Chitin/Chitosan held in Trondheim, Norway, 51~69.
- Fang, S. W., Li, C. F., Shih, Y. C. 1994. Antifungal activity of chitosan and its preservatives effect on low-sugar candied. *Kumguat. J. Food Prot.*, 57(2), 136~140.
- Shin, D. H., Kim, M. S., Bae, K. S. Kho, Y. H. 1992. Identification of putrefactive bacteria related to soybean curd. *Korean J. Food Sci. Thechnol.*, 24(1), 29~30.
- Cho, H. R., Chang, D. S., Lee, W. D., Jeong, E. T. and Lee, E. W. 1998. Utilization of chitosan hydrolysate as a natural food

preservative for fish meat paste products. *Korean J. Food Technol.*, 30(4), 817~822.

Lee, M. H., No, H. K., 2001, Effect of chitosan on shelf-life and quality of buckwheat starch jelly. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(5), 865~869.

Kim, K. O., Moon, H. A. and Jeon, D. W. 1995. The effect of low molecular weight chitosans on the characteristics of *kimchi* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(3), 420~427.

No, H. K., Park, I. K. and Kim, S. D. 1995. Extension of shelf-life of *kimchi* by addition of chitosan during salting. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 24(6), 11~15.

Son, Y. M., Kim, K. O., Jeon, D. W. and Kyung, K. H. 1996. The effect of low molecular weight chitosan with and without other preservatives on the characteristics of *kimchi* during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28(5), 888~896.

Hur, E. Y., Lee, M. H. and No, H. K. 1997. Verigation of conventional *kimchi* preservation methods. *J. Korean Soc.*

Food Sci. Nutr. 26(5). 807~813.

Youn, S. K., Park, S. M., Ahn, D. H. 2000. Studies on the improvement of storage property in meat sausage using chitosan-II, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(5), 849~853.

Lee, J. W., Lee, H. H. and Rhim, J. W. 2000. Shelf life extension of white rice cake and wet noodle by the treatment with chitosan. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 32(4), 828~833.

Chun, K. H., Kim, B. Y., Son, T. I. and Hahm, Y. T. 1997. The extension of *tofu* shelf-life with water-soluble degraded chitosan as immersion solution. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29(1), 476~481.

El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R., Boulet, M. 1991. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries, *J. Food Sci.*, 56(6), 1618~1631.

Lee, S. H., No, H. K. and Joung, Y. H. 1996. Effect of chitosan coating on quality of egg during storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 25(1), 288~293.

- Dutkiewicz, J. 1883. Some aspects of the reaction between chitosan and formaldehyde, *J. Macromol, Sci. Chem.*, 20(8), 877~885.
- Yook, H. S., Kim, Y. H., Ahn, H. J., Kim, D. H., Kim, J. O., Byun M. W. 2000. Rheological Properties of Wheat Flour Dough and Qualities of Bread Prepared with Dietary Fiber Purified from Ascidian (*Halocynthia roretzi*) Tunic. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 32(2), 387~395.
- Choi, O. J., Kim, Y. D., Kang, S. K., Jung, H. S., Ko, M. S., Lee, H. C. 1999. Properties on the Quality Characteristics of Bread Added with *Angelica keiskei* Koidz Flour. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28(1), 118~125.
- Jung, H. S., Noh, K. H., Go, M. K., Song, Y. S. 1999. Effect of Leek(*Allium tuberosum*) Powder on Physicochemical and Sensory Characteristics of Breads. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28(1), 113~117.
- Kang, K. J., Kim, J. S. 2000. Effects of Hinokitiol Extract of *Tunja orientalis* on Shelf-life of Bread. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(4), 624~628.

- Bae, J. H., Woo, H. S., Choi, H. J., Choi, C. 2001. Qualities of bread added with korean persimmon(*Diospyros kaki* L. folium) leaf powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(5), 882~887.
- Hwang, J. K., Kim, J. T., Cho, S. J., Kim, C. J. 1995. Characteristics of water soluble fractions of wheat bran treated with various thermal processes. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(3), 394~403.
- Weiner, M. L. 1992. An overview of the regulation status and of the safety of chitin and chitosan as food and pharmaceutical ingredients. *Elsevier Applied Science, London*, 663~670.
- Youn, S. K., Kim, Y. J., Ahn, D. H. 2001. Antioxidative effects of chitosan in meat sausage, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(3), 477~481.
- Choi, O. J., Jung, H. S., Ko, M. S., Kim, Y. D., Kang, S. K., Lee, H. C. 1999. Variation of Retrogradation and Preference of Bread with Added Flour of *Angelica keiskei* Koidz during the Storage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28(1), 126~131.

- Kim, B. R., Choi, Y. S., Lee, S. Y. 2000. Study on Bread-Making Quality with Mixture of Buckwheat-Wheat Flour. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(2), 241~247.
- Cadden, A. M., Sosulski, F. W., Olson, J. P, 1983. Physiological response of rats to high fiber bread diets containing several sources of hulls or bran. *J. Food Sci.*, 48(4), 1151~1156.
- Boycioglu, M. H., D'Appolonea, B. L. 1994. Characterization and utilization of durum wheat for bread making : 1. Comparison of chemical, rheological and baking properties between bread wheat flours and durum wheat flours. *Cereal Chem.*, 71, 21~28.
- Sathe, S. K., Ponte, J. G., Rangnekar, P. D., Salunkhe, D. K. 1981. Effects of addition of Great Northern bean flour and protein concentrates on rheological properties of dough and baking quality of bread. *Cereal Chem.*, 58, 97~100.
- Hamed, M. G. E., Refal, F. Y., Hussein, M. F., El-Samahy, S. K. 1973. Effect of adding sweet potato flour to wheat flour

- on physical dough properties and baking. *Cereal Chem.*, 50, 140~146.
- Campos, J. E., El-Dash, A. A. 1978. Effect of addition of full fat sweet lupine flour on rheological properties of dough and baking quality of bread. *Cereal Chem.*, 55, 619~627.
- Yun, Y. S., Kim, K. S., Lee, Y. N. 1999. Antibacterial and Antifungal Effect of Chitosan. *J. Chitin Chitosan*, 4(1), 8~14.
- Lee, J. W., Lee, Y. C. 2000. The Physico-chemical and Sensory Properties of Mike with Water Soluble Chitosan. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 22(4), 806~813.
- Kim, G. E., Cho, M, G. 1994. Chitin Contents and Antibacterial Activity of Chitosan Extracted from Biomass. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, 22(6), 643~645.
- Sinnhuber, R. O., Yu, T. C. 1977. The 2-thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidative determination occurring in fats and oils. *J. Jap. Soc. Fish Sci.*, 26, 259~267.

Knorr, D. 1982. Functional properties of chitin and chitosan. *J. Food Sci.*, 47(2), 593~595.

Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food. *Food Tech.*, 38(1), 85~96.

Lee, H. S., Park, H. Y., Choi, Y. J., Kim, J. J., Jung, B. O., Chung, S. J. 2000. Effect of chitosan on bread properties and shelf life. *Applied Chemistry*, 4(1), 133-136.