

키토산 첨가가 청국장의 품질특성에 미치는 영향

정유경 · 이예경 · 노홍균 · 김순동[†]

대구가톨릭대학교 식품의식산업학부 식품공학전공

Effect of Chitosan on Quality Characteristics of Chungkukjang

Yoo-Kyung Jung, Ye-Kyung Lee, Hong-Kyoon No and Soon-Dong Kim[†]

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

Abstract

Effect of chitosan addition (0, 0.5 and 1% of steamed soybeans) on quality of chungkukjang fermented by *Bacillus licheniformis* at 40°C for 48 hr was investigated. Chitosan addition did not affect the pH and slime content of chungkukjang, irrespective of chitosan concentrations. The number of total microbes was slightly lower for chungkukjang added with 1% chitosan compared with those added with 0 and 0.5% chitosan. Color L* and b* values decreased while a* value increased with increasing chitosan concentration. The contents of glucosamine, lipid, total free amino acids, and fatty acids increased with increasing chitosan concentration. Chungkukjang added with 1% chitosan showed better overall acceptability compared with those added with 0 and 0.5% chitosan.

Key words: chitosan, chungkukjang, quality, *Bacillus licheniformis*

서 론

청국장은 대두를 이용한 전통발효식품으로 볶짚 위에 찐 콩을 담아 40°C에서 2~3일간 발효 숙성시키면 고초균(*Bacillus subtilis*)이 생산하는 효소에 의하여 단백질과 당질이 분해되어 levan form fructan과 polyglutamate로 구성된 끈끈한 점질물이 생성되면서 특유한 냄새와 고유한 맛을 낸다(1). 청국장은 소화흡수율이 높고 다른 장류에 비해서 단백질, 지질의 함량이 높아 고영양식으로 자리하고 있다(2). 최근, 우리나라 전통발효식품의 우수성에 대한 관심이 높아지면서 청국장의 기능성에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 현재까지 밝혀진 청국장의 기능성으로는 혈중 콜레스테롤 저하(3), 고혈압 예방(4), 항암(5), 항산화(6), 혈전용해(7) 및 골다공증 예방(8) 등 다양한 효과에 대한 보고가 있다. 우리나라 전통 청국장은 균주를 접종하지 않고 발효시키는 자연발효법에 의하여 제조되고 있으나, 최근에는 우수균주의 사용(9)과 기능성 증진을 위한 천연재료로 감초(10), Yucca(11) 등을 첨가한 연구가 보고되고 있다. 본 연구자들은 청국장 자연발효법을 개선할 목적으로 재래청국장으로부터 분리한 수종의 균주를 단일균주로 사용하여 제조한 청국장의 향동연변이 활성, 점질물, 유리아미노산 함량 및 관능검사를 행하여 우수균주로 *Bacillus licheniformis*를 선발한 바 있다(12).

한편, 키토산은 2-amino-2-deoxy-β-1,4-D-glucan의 기본구조를 가진 일종의 식이섬유로서 계, 새우 등의 갑각류 껍질이나 곤충의 표피, 버섯, 균류 세포벽에 널리 분포되어 있는 천연고분자 물질인 키틴으로부터 얻어진다. 키토산은 강한 양전하를 띠고 있어 다양한 생리활성을 나타내며(13), 대장균 생육억제(14), 항균, 보습성 및 유화안정성, 식이섬유가 갖는 생리적 기능성(15), 약물전달(16), 혈액응고방지(17) 및 중금속 흡착(18) 등의 특성이 있다. 또한 키토산은 체내에서 단백질 대사에는 영향을 주지 않으면서 지질을 흡착하여 배설됨으로서 비만예방(19)과 지방의 과다섭취로 나타나는 Crohn's병의 치유 또는 예방효과(20)와 비타민 C의 항산화능을 향상시키는 작용이 알려져 있다(21).

본 연구에서는 키토산이 청국장의 발효와 품질특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 재래청국장으로부터 우수균주로 선발된 *Bacillus licheniformis*균주(12)를 이용한 청국장 제조 시 키토산의 첨가효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

콩은 국내산 은하콩(*Glycine max* Eunha)을 사용하였으며, 키토산(금호화성, 서울)은 분자량 2,025 kDa의 100 mesh 이하의 분말을 사용하였다.

[†]Corresponding author. E-mail: kimsd@cu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3216. Fax: 82-53-850-3216

청국장지의 제조

청국장지의 제조는 콩을 상온에서 8시간동안 수침하여 121°C에서 60분간 증자한 후 키토산을 0(대조구), 0.5 및 1.0%(w/w)가 되게 골고루 혼합한 후 Bacto™ tryptic soy broth(Becton, Dickinson & Co, USA)에 *Bacillus licheniformis*를 접종하여 40°C에서 24시간 동안 배양한 배양액(10⁹ cells/mL)을 2%(v/w)가 되게 분무, 접종하여 플라스틱 용기(40×50×10 cm)에 1 kg씩 담은 후 표면에 두께 0.01 mm polyethylene film을 가법게 덮어 40°C에서 48시간 발효시켰다.

pH, 총균수 및 색상

pH는 청국장 5 g에 증류수 30 mL를 가하여 ACE homogenizer(AM-10, Nihonseiki Kaisha Ltd, Japan)로 균질화한 후 15,000×g에서 10분간 원심분리한 상정액을 pH meter(632, Metrohm, Herisou, Switzerland)로 측정하였다. 총균수는 Kim 등(22)의 방법에 준하여 상기 균질액 5 mL를 취하여 멸균 1% peptone수로 희석한 후 nutrient agar (Becton, Dickinson & Co., USA) plate에 도말하여 37°C에서 48시간 배양한 후 나타난 colony수를 계측하였다. 색상은 색차계(Chromameter, CR-200, Minolta, Japan)로 청국장 표면의 L*(lightness), a*(redness), b*(yellowness) 값을 측정하였다(23).

점질물, glucosamine 및 일반성분 함량

점질물 함량은 Hwang 등(10)의 방법에 따라 청국장 5 g에 증류수 30 mL를 가하여 난알이 부서지지 않게 저어 추출한 후 15,000×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액을 동결 건조하여 중량을 측정하였다. Glucosamine 함량은 Morgan-Elson법(24)에 준하여 청국장 5 g에 증류수 30 mL를 가하여 ACE homogenizer로 파쇄한 후 15,000×g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻었다. 이 액 400 µL에 2,4-pentadione 용액 800 µL를 가하여 100°C에서 60분간 가열한 다음 Ehrlich 시약 800 µL를 가하여 1시간이내에 530 nm에서 흡광도(UV-160A, Shimadzu Co., Japan)를 측정하였다. 함량은 표준품 glucosamine(Sigma Co., USA)의 검량선에 의하여 산출하였다. 일반성분의 함량은 AOAC법(25)에 준하였다.

유리아미노산 함량

Seo 등(26)의 방법에 준하여 청국장 50 g에 75% ethanol 250 mL를 가하여 균질화하고 실온에서 24시간동안 추출, 3,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상정액은 40°C에서 감압농축한 후 0.2 M citrate buffer(pH 2.2) 50 mL로 정용하였으며, 0.45 µm의 membrane filter로 여과하여 amino acid autoanalyzer(Hitachi L-8800, Japan)로 분석하였다. 이때 컬럼은 Ultrapac II 양이온 수지 250 mm, 완충용액은 pH 2.80, 3.00, 3.15, 3.50, 3.55의 citrate buffer, 완충용액 유속 20 mL/hr, ninhydrin 유속 20 mL/hr, 컬럼온도 35~80°C, 차트속도 2 mm/min, 주입량은 40 µL로 하였다.

지방산조성과 함량

Choi 등(27)의 방법에 따라 청국장 10 g에 chloroform:methanol(2:1, v/v) 혼액 150 mL를 가하여 ACE homogenizer로 10분간 파쇄한 후 Whatman No. 1 여과지로 여과하였다. 잔사는 다시 동일용매 100 mL씩을 가하여 2회 반복 추출하였다. 이 추출액에 1/3량의 증류수를 가하여 3,000×g로 10분간 원심분리하여 지방층을 얻은 후 sodium sulfate를 가하여 탈수하였다. 다음에 N₂ 가스 기류하에서 rotary evaporator(N-1000, Aikakikai Co., Ltd, Tokyo, Japan)로 60~65°C에서 농축하였다. 다음에 0.5 N NaOH methanol 용액 1 mL를 가하여 90°C에서 30분간 가열, 냉각한 후 BF₃-methanol 용액(Sigma Co., USA) 2 mL를 가하여 같은 온도로 가열하여 메틸화하였다. 이 액 0.5 mL에 1 mL의 heptane과 2 mL의 포화 NaCl용액을 가하여 30분간 방치한 후 얻어진 상층액 0.5 µL를 취하여 GC(HP-5890A, Hewlett Packard)로 분석하였다. 컬럼은 30 m×0.25 mm×0.25 µm의 Omegawax 모세관 컬럼(Supelco Co., USA)을 사용하였으며, 주입기의 온도는 220°C, 검출기 온도는 250°C로 하였다.

관능검사

식품공학을 전공하는 대학생 및 대학원생으로 구성된 25명의 관능요원에 의하여 쓴맛, 구수한맛, 청국장 냄새, 종합적 기호도를 9점 scale법(28)으로 전혀 없다 또는 아주 싫다(1점), 아주 약하다 또는 싫다(2점), 보통 약하다 또는 보통 싫다(3점), 약간 약하다 또는 약간 싫다(4점), 약하지도 강하지도 않다 또는 좋지도 싫지도 않다(5점), 약간 강하다 또는 약간 좋다(6점), 보통 강하다 또는 보통 좋다(7점), 강하다 또는 좋다(8점) 및 아주 강하다 또는 아주 좋다(9점)로 평가하였다.

통계처리

유리아미노산과 지방산 분석은 2회 반복 측정된 평균치로, 기타 분석은 3회 반복으로 행하여 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 관능검사 결과는 관능요원 25명의 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 version 12의 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software package를 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

결과 및 고찰

pH, 총균수, 색상, 점질물 및 glucosamine 함량

*Bacillus licheniformis*로 발효한 청국장 제조시 증자콩에 대하여 키토산 분말을 0, 0.5 및 1%되게 첨가하여 발효시킨 청국장지의 pH, 총균수, 색상, 점질물 및 glucosamine 함량을 조사한 결과는 Table 1과 같다.

청국장지의 pH와 총균수는 각각 8.04~8.17 및 8.60~9.01 log CFU/g 범위로 키토산의 첨가량에 따라 pH는 유의차가

Table 1. pH, total viable cell count, color, slime and glucosamine content of chungkukjang fermented with different concentrations of chitosan powder (wet basis)

Measurement	Concentration of chitosan (%)		
	0	0.5	1
pH	8.17±0.21 ¹⁾²⁾	8.11±0.10 ^a	8.04±0.12 ^a
Total viable cell (log CFU/g)	9.01±0.06 ³⁾	8.93±0.02 ^a	8.60±0.01 ^b
Color L*	49.82±2.99 ^b	45.41±2.43 ^{ab}	43.64±2.17 ^b
a*	2.68±0.07 ^c	3.64±0.12 ^b	4.99±0.14 ^a
b*	13.85±0.45 ²⁾	11.62±0.38 ^b	10.47±0.31 ^c
Slime (% w/w)	5.24±0.79 ^a	5.39±1.52 ^a	5.65±0.75 ^a
Glucosamine (mg%, w/w)	4.36±2.63 ^c	20.87±3.98 ^b	41.49±3.98 ^a

¹⁾Values are means±SD of triplicate determinations.

²⁾Means with different superscripts within a row indicate significant differences at p<0.05.

없었다. 청국장의 pH는 발효 중에 생성되는 아미노산과 ammonia에 의해서 높아지는데, Seok 등(29)은 증자콩의 pH는 6.23이나 청국장의 pH는 8.05정도로 하였으며, Youn 등(30)은 *B. licheniformis*로 발효시킨 청국장의 pH는 8.68로 *Bacillus*속 균주 중 가장 높았다고 하였다. Kim 등(31)은 볶짚으로 발효시킨 청국장의 pH는 6.84라 하였으며, Son 등(32)은 *Bacillus* sp. CS-17로 발효시킨 청국장의 pH는 8.56이라 하였다. 그러나 pH와 청국장의 품질과의 관계에 대하여는 보고된 바 없으며 ammonia의 생성이 단백질이나 아미노산의 탈아미노 반응에 의하여 생성됨을 고려할 때 지나치게 높을 경우는 오히려 품질이 좋지 않을 것으로 생각된다.

총균수는 1%를 첨가한 경우에 다소 낮았다. 이러한 현상은 키토산의 *Bacillus*속 미생물에 대한 항균력(33)과 관련이 있는 것으로 생각되며, 키토산 1% 첨가 시는 발효를 다소 억제시키나 0.5% 첨가 시에는 뚜렷한 영향이 없는 것으로 사료된다.

색상 중 L*값은 키토산 무첨가 청국장에서는 49.82였으나 0.5 및 1% 키토산 첨가 청국장에서는 각각 45.41 및 43.64로 키토산 첨가량이 증가함에 따라 다소 낮아지는 경향을 보였다. 그러나 a*값은 키토산의 첨가량이 증가함에 따라 증가하였으나 b*값은 반대의 현상을 나타내었다. 키토산의 첨가로 청국장의 색상변화가 일어나는 현상에 대해서는 앞으로의 연구가 요망된다.

점질물 함량은 5.24~5.65% 범주로 키토산의 첨가량에 따른 영향은 보이지 않았다. 점질물의 주성분은 γ -polyglutamate로 *Bacillus*속 미생물에 의하여 생성되는 대사산물이며(34), 동결에 의한 세포의 보호 및 골다공증 예방, 쓴맛의 제거 등의 기능성을 지닌 biopolymer(1,35,36)로 알려져 있다.

Glucosamine 함량은 키토산의 첨가량이 증가함에 따라 높았으며, 키토산 0.5 및 1% 첨가 청국장이 무첨가에 비하여 각각 4.8배와 9.5배 높았다. Glucosamine은 연골의 구성성분인 glycosaminoglycan의 전구물질로 골관절염에 효과가 있으며(37), 곰팡이, 세균 등이 생성하는 chitosanase를 이용하여 키토산으로부터 만들어진다(38). Chitosanase를 분비하는 *Bacillus*속 미생물로는 *B. subtilis*(39), *B. ehimensis*(40) 등이 알려져 있으며, 키토산을 첨가한 청국장에서 glucosa-

mine 함량이 높은 현상은 첨가한 키토산이 균주로 사용한 *B. licheniformis*의 작용에 의한 것으로 사료된다.

일반성분 함량

키토산 분말을 0, 0.5 및 1%되게 첨가하여 발효시킨 청국장의 일반성분 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 수분 함량은 59.42~60.82%, 단백질함량은 12.63~13.55%, 탄수화물은 16.45~18.56%, 회분은 0.61~0.72% 범위로 키토산 첨가량에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았으나 지질함량은 키토산을 0.5 및 1%를 첨가한 청국장이 무첨가 청국장에 비하여 각각 26% 및 63%가 높았다.

키토산은 단백질, 지질 등과 강한 결합력을 지니며(41, 42), 키토산-단백 결합체의 경우는 키토산 첨가 청국장에서 총 유리아미노산 함량이 높은 현상(Table 3)을 고려할 때 발효에 의한 분해가 용이하나 키토산-지질 결합체는 효소적 난분해물(19)로 키토산이 항비만 효과를 나타낸다는 결과와 관련이 있는 것으로 생각된다.

유리아미노산 함량

키토산을 0, 0.5 및 1%되게 첨가한 청국장의 유리아미노산 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 청국장의 총 유리아미노산 함량은 키토산의 첨가량이 증가할수록 높았다. 청국장의 주요 유리아미노산으로는 glutamic acid, leucine 및 phenylalanine으로 이 3종 아미노산들의 함량은 전체 유리아미노산 함량의 47~49%를 차지하였다.

Table 2. Chemical composition of chungkukjang fermented with different concentrations of chitosan powder

Measurement	Concentration of chitosan (%)		
	0	0.5	1
Moisture	60.82±1.74 ¹⁾²⁾	60.21±1.39 ^a	59.42±1.68 ^a
Protein	13.38±0.70 ^a	13.55±0.57 ^a	12.63±0.66 ^a
Lipid	6.63±0.58 ^c	8.35±0.82 ^b	10.78±0.92 ^a
Carbohydrate	18.56±1.55 ^a	17.25±1.42 ^a	16.45±1.68 ^a
Ash	0.61±0.08 ^a	0.64±0.06 ^a	0.72±0.10 ^a

¹⁾Values are means±SD of triplicate determinations.

²⁾Means with different superscripts within a row indicate significant differences at p<0.05.

Table 3. Free amino acid content of chungkukjang fermented with different concentrations of chitosan powder (mg%, wet basis)

Amino acid	Concentration of chitosan (%)		
	0	0.5	1
Alanine	264.93 ¹⁾	270.80	363.52
β-Alanine	16.36	14.99	19.68
Arginine	22.88	34.53	36.83
Aspartic acid	70.67	64.88	78.98
Glutamic acid	706.96	805.45	906.42
Glycine	146.47	138.63	169.04
Histidine	208.68	199.16	225.98
Isoleucine	372.26	364.47	449.93
Leucine	809.12	799.64	953.88
Lysine	182.03	186.03	234.39
Methionine	212.85	208.96	236.10
Phenylalanine	822.58	845.30	960.48
Proline	207.86	137.23	169.36
Serine	35.63	31.24	26.86
Threonine	78.92	83.54	108.36
Tyrosine	245.72	267.30	270.11
Valine	562.94	556.94	668.75
Total AA	4,966.86	5,009.09	5,878.67

¹⁾Values are mean of duplicate determinations.

청국장 유리아미노산의 조성과 함량은 발효기간이나 균주에 따라서 상이하나 *B. licheniformis*로 발효시킨 청국장(29)에는 glutamic acid, aspartic acid, phenylalanine 등의 함량이 높은 반면 *B. subtilis*로 발효시킨 청국장(43)에는 glutamic acid, leucine, isoleucine, alanine이, *B. subtilis* DC-2로 발효시킨 청국장(44)에는 leucine, phenylalanine, lysine, tyrosine 등의 함량이 높다는 보고가 있다. 그러나 키토산이 청국장의 유리아미노산 함량에 미치는 영향에 대한 연구는 전무하여 고찰이 어려우나 키토산의 분해물인 glucosamine 함량이 증가하는 현상과 Park과 Kim(45)이 키토산용액에 침지한 콩으로 콩나물을 재배하였을 때 무처리에 비하여 키토산을 처리한 콩나물에서 총 유리아미노산의 함량이 높았다는 등의 결과들을 고려할 때 첨가하는 키토산의 농도가 1%정도까지는 아미노산의 생성에 관여하는 protease 등의 효소작용이 오히려 촉진되는 것으로 추정된다.

Table 4. Fatty acid composition and content of chungkukjang fermented with different concentrations of chitosan powder (mg/g, dry weight basis)

Fatty acid	Concentration of chitosan (%)		
	0	0.5	1
Palmitic acid	53.63 ¹⁾	62.00	69.43
Stearic acid	25.85	24.17	26.79
Oleic acid	6.88	7.91	7.45
Linoleic acid	88.98	92.67	96.27
Linolenic acid	21.13	36.02	37.99
Total	197.89	224.22	239.43

¹⁾Values are mean of duplicate determinations.

Table 5. Sensory quality of chungkukjang fermented with different concentrations of chitosan powder

Attribute	Concentration of chitosan (%)		
	0	0.5	1
Bitter taste	4.10±0.61 ¹⁾²⁾	3.53±0.06 ^a	2.90±0.70 ^a
Savory taste	2.80±0.57 ^a	2.57±0.90 ^a	3.07±0.69 ^a
Chungkukjang odor	4.53±1.76 ^a	4.56±0.53 ^a	4.07±0.51 ^a
Overall acceptability	5.50±0.95 ^b	6.77±0.68 ^{ab}	7.47±0.95 ^a

¹⁾Values are means±SD of 25 panels.

²⁾Means with different superscripts within a row indicate significant differences at p<0.05.

지방산조성과 함량

키토산을 0, 0.5 및 1% 첨가한 청국장의 지방산조성을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 지방산의 총량은 197.89~239.43 mg/g범위로 키토산의 첨가량이 증가할수록 증가하는 경향이었다. 포화지방산으로 palmitic acid는 53.63~69.43 mg/g, stearic acid는 24.17~26.79 mg/g범위였으며, 불포화지방산으로 oleic acid는 6.88~7.91 mg/g, linoleic acid는 88.98~96.27 mg/g, linolenic acid는 21.13~37.99 mg/g범위로 다같이 키토산을 첨가한 청국장에서 높은 경향을 나타내었다.

청국장의 지방산조성과 함량은 원료 콩의 품종, 증자 및 발효조건에 따라 상당한 차이를 보이는 것으로 알려져 있다(2). 일반적으로 linoleic acid와 oleic acid 함량이 높고, stearic acid 함량이 낮은 것으로 알려져 있으나(46) 본 실험의 결과와는 다소 상이하였다. 키토산을 첨가한 청국장에서 지질함량과 지방산함량이 높은 현상은 앞서서도 언급한 바와 같이 키토산-지질 복합체는 효소적 난분해물(19)로 미생물의 영양급원으로 이용되지 못한 때문으로 사료되며 동시에 키토산의 항산화활성(47)에 의하여 지질의 산화가 적게 일어나는 것과도 관련이 있는 것으로 생각된다.

관능검사

키토산을 농도별로 첨가하여 발효시킨 청국장의 관능검사를 행한 결과(Table 5), 키토산을 첨가한 청국장에서는 유의차는 없으나 무첨가에 비하여 쓴맛의 강도가 낮고 구수한 맛은 높으며, 청국장 냄새는 감소하는 경향을 보였으며, 종합적 기호도는 1%첨가 청국장에서 유의적으로 높았다. 일반적으로 나타나는 청국장의 쓴맛은 발효에 의하여 생성된 아미노산인 leucine에 의하나(43), 이 쓴맛의 정도는 함께 생성되는 구수한 맛을 띠는 glutamic acid와 aspartic acid, 단맛을 띠는 alanine, glycine 및 lysine의 함량에 따라 달라진다(2). 또 청국장에서 생성되는 점질물은 쓴맛을 감소시키는 작용(35)이 있어 점질물의 함량과도 밀접한 관련이 있다. 또, 청국장의 불쾌취는 발효 중에 생성된 alkylpyrazine류, sulfide화합물 및 암모니아와 같은 물질들에 의하여 나타나며(35), 발효시간과 사용균주에 따라서 큰 차이를 나타내는 것으로 알려져 있다(30).

요 약

*Bacillus licheniformis*를 이용한 청국장 제조 시 키토산 첨가(0, 0.5 및 1%)가 청국장의 품질 특성에 미치는 영향을 조사하였다. 청국장 발효는 40°C에서 48시간 발효시켰다. 그 결과 pH는 모든 실험구에서 8.04~8.17범위로 유의성이 없었으나 총균수는 키토산 1% 첨가 청국장에서 유의적으로 낮았다. 키토산의 첨가량에 따라 L*값 및 b*값은 감소하였으나 a*값은 증가하는 경향을 보였다. 점질물 함량은 유의차가 없었으나 glucosamine, 지질, 총 유리아미노산 및 지방산 함량은 키토산 첨가량에 따라 증가하였다. 관능검사 결과 유의성은 없으나 키토산을 첨가함으로써 청국장의 쓴맛과 냄새를 감소하고 구수한 맛을 증가시켜 종합적 기호도를 향상시키는 효과가 있었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 대구가톨릭대학교 해양바이오산업연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문 헌

- Ko HS, Cho DH, Hwang SY, Kim YM. 1999. The effect of quality improvement by chungkukjang's processing methods. *Korean J Food Nutr* 12: 1-6.
- Kim JS, Yoo SM, Choe JS, Park HJ, Hong SP, Chang CM. 1998. Physicochemical properties of traditional chungkukjang produced in different regions. *Agric Chem Biotechnol* 41: 377-383.
- Yoo JY. 1997. Present status of industries and research activities of Korean fermented soybean products. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 23: 13-30.
- Wyvrratt MJ, Patchett AA. 1985. Recent developments in the design of an angiotensin converting enzyme inhibitors. *Medicinal Res Rev* 5: 483-489.
- Tiisala S, Majuri ML, Carpen O, Renkonen R. 1994. Genistein enhances the ICAM-1 and its counter-receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 203: 443-446.
- Iwai K, Nakaya N, Kawasaki Y, Matsue H. 2002. Anti-oxidative functions of natto, a kind of fermented soybeans: Effect on LDL oxidation and lipid metabolism in cholesterol fed rats. *Agric Food Chem* 50: 3597-3601.
- Yoo CK, Seo WS, Lee CS, Kang SM. 1998. Purification and characterization of fibrinolytic enzyme excreted by *Bacillus subtilis* K-54 isolated from chungkukjang. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 26: 507-514.
- Hosoi T. 1996. Recent progress in treatment of osteoporosis. *Nippon Romen Igakkai Zasshi* 33: 240-244.
- Lee KH, Lee HJ, Chung MK. 1971. Studies on chungkukjang (Part I). *J Korean Agric Chem Soc* 14: 191-200.
- Hwang SH, Chung HS, Kim SD, Youn KS. 2004. Effect of *Glycyrrhiza uralensis* extract addition on the quality of chungkukjang. *J East Asian Soc Dietary Life* 14: 571-575.
- In JP, Lee SK, Ahn BK, Chung IM, Jang CH. 2002. Flavor improvement of chungkukjang by addition of yucca (*Yucca chidigera*) extract. *Korean J Food Sci Technol* 34: 57-64.
- Lee MY. 2005. Quality and functional characteristics of chungkukjang fermented by *Bacillus* sp. isolated from commercial products. *MS Thesis*. Catholic University of Daegu. p 1-62.
- Knorr D. 1984. Use of chitinous polymers in food—A challenge for food research and development. *Food Technol* 38: 85-97.
- Yun YS, Kim KS, Lee YN. 1999. Antimicrobial and anti-fungal effect of chitosan. *J Chitin Chitosan* 4: 8-14.
- Jeon YJ, Kim SK. 2001. Effect of antimicrobial activity by chitosan oligosaccharides N-conjugated with asparagine. *J Microbiol Biotechnol* 11: 281-286.
- Muzzarelli RAA. 1977. *Chitin*. Pergamon Press, Oxford. p 5-9.
- Hirano S, Kondo Y, Fujii K. 1985. Preparation of acetylated derivatives of modified chito-oligosaccharides by the depolymerization of partially N-acetylated chitosan with nitrous acid. *Carbohydr Res* 163: 338-341.
- Kim CH, Jung BO, Choi KS, Kim JJ. 1996. Synthesis of water soluble chitosan derivatives with quaternary ammonium salt and their flocculating behavior. *J Korean Ind Eng Chem* 7: 118-128.
- Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Kobayashi E. 1994. Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion. *Biotechnol Biochem* 58: 1617-1620.
- Tsujikawa T, Kanauchi O, Andoh A, Saotome T, Sasaki M, Fujivama Y, Bamba T. 2003. Supplement of chitosan and ascorbic acid mixture for Crohn's disease. A pilot study. *Nutrition* 19: 137-139.
- Zoldners J, Kiseleva T, Kaiminsh I. 2005. Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solutions. *Carbohydr Polym* 60: 215-218.
- Kim YS, Jung HJ, Park YS, Yu TS. 2003. Characteristics of flavor and functionality of *Bacillus subtilis* K-20 chungkukjang. *Korean J Food Sci Technol* 35: 475-478.
- Choi UK, Ji WD, Chung YG. 1998. Characteristics of chungkukjang produced by *Bacillus subtilis* DC-2. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 846-851.
- Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, Shoemaker CF, Smith DM, Sporns P. 2003. *Handbook of Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc Hoboken New Jersey, USA. p 656-657.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington, DC, USA. p 788.
- Seo SS, Kim MH, No HK, Kim SD. 2002. Cooking characteristics of coated rice with water homogenate of citrus fruits peel. *J East Asian Soc Dietary Life* 12: 318-325.
- Choi UK, Kwon OJ, Son DH, Cha WS, Cho YJ, Lee SI, Yang Sh, Chung YG. 2001. Changes in quality attributes of sigumjang with fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 33: 107-112.
- Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. 1987. *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. p 39-112.
- Seok YR, Kim YH, Kim S, Woo HS, Kim TW, Lee SH, Choi C. 1994. Change of protein and amino acid composition during chungkukjang fermentation using *Bacillus licheniformis* CN-115. *Agric Chem Biotechnol* 37: 65-71.
- Youn KC, Kim DH, Kim JO, Park BJ, Yook HS, Cho JM, Byun MW. 2002. Quality characteristics of the *Chungkiikjang* fermented by the mixed culture of *Bacillus natto* and *B. licheniformis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 204-210.

31. Kim KJ, Ryu MK, Kim SS. 1982. Chungkookjang koji fermentation with rice straw. *Korean J Food Sci Technol* 14: 301-308.
32. Son DH, Kwon OJ, Ji WD, Choi UK, Kwon OJ, Lee EJ, Cho YJ, Cha WS, Chung YG. 2000. The quality changes of chungkookjang prepared by *Bacillus* sp. CS-17 during fermentation time. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43: 1-6.
33. Youn SK, Park SM, Ahn DH. 2000. Studies on the improvement of storage property in meat sausage using chitosan-II different of storage property by molecular weight of chitosan. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 849-853.
34. Kameda Y, Ouhira S, Mastsui K, Kanatomo S. 1974. Antitumor activity of *Bacillus natto*. V. Isolation and characterization of surfactin in the culture medium of *Bacillus natto* KMD 2311. *Chem Pharm Bull* 22: 938-944.
35. Park C, Choi JC, Choi YH, Nakamura H, Shimonouchi K, Horiuchi T, Misono H, Sewaki T, Soda K, Ashiuchi M, Sung MH. 2005. Synthesis of super-high-molecular-weight poly- γ -glutamic acid by *Bacillus subtilis* subsp. chungkookjang. *J Mol Catalysis B* 35: 128-133.
36. Lee YL, Kim SH, Choung NH, Yim MH. 1992. A study on the production of viscous substance during the chungkookjang fermentation. *J Korean Agric Chem Soc* 35: 202-209.
37. Jeong CS, Hyun JE, Kang MH, Sim JS, Son MJ, Jung SH, Kim JH, Lee KS, Kim YS. 2003. Anti-arthritis effect of a new diet-supplement containing red ginseng extract and glucosamine complex. *Kor J Pharmacogn* 34: 327-334.
38. Somashekar S, Joseph R. 1996. Chitosanase-properties and applications: a review. *Bioresource Technol* 55: 35-45.
39. Chiang CL, Chan CT, Sung HY. 2003. Purification and properties of chitosanase from a mutant of *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Enzyme and Microbial Technol* 32: 260-267.
40. Akiyama K, Fujita T, Kuroshima KI, Sakane T, Yokota AM, Takata R. 1999. Purification and gene cloning of a chitosanase from *Bacillus ehimensis* EAG1. *J Biosci Bioeng* 87: 383-385.
41. No HK, Beik KY, Kim SJ. 2002. Effect of chitosan-soybean curd on serum metabolism in rats fed high-fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 1078-1083.
42. Park JR, Moon IS, Choi SH, Shon MY. 1999. Effect of dietary lobster shirimp chitosan on lipid metabolism in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 477-483.
43. Suh JS, Lee SK, Ryu MK. 1983. Effect of *Bacillus* strains on the Chungkookjang processing II. Changes of the components and enzyme activities during the storage of chungkookjang. *Kor J Food Sci Technol* 14: 309-314.
44. Choi UK, Son DH, Ji WD, Im MH, Choi JD, Chung YG. 1998. Changes of taste components and palatability during chungkookjang fermentation by *Bacillus subtilis* DC-2. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 840-845.
45. Park IK, Kim SD. 2003. Sugar and free amino acid content of chitosan-treated soybean sprouts. *J Chitin Chitosan* 8: 105-110.
46. Yoo SM, Chang CM. 1999. Study on the processing adaptability of soybean cultivars for Korean traditional chungkookjang preparation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 91-98.
47. Lee YK, Kim MJ, Lee SB, Kim SD. 2005. Quality characteristics of kippel cookie prepared with chitosan-chungkookjang. *J East Asian Soc Dietary Life* 15: 437-443.

(2006년 1월 12일 접수; 2006년 3월 28일 채택)