

## Chitooligosaccharides의 항균성

박 헌 국  
동남보건대학 식품영양과

### Antimicrobial Activity of Chitooligosaccharides

Heon-Kuk Park

Dept. of Food and Nutrition, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea

#### Abstract

Chitooligosaccharides were prepared by enzymatic hydrolyzing of crab shell chitosan. Low Molecular Weight chitooligosaccharides(LMW-chitooligosaccharides), 64.3% of which was composed of trimer, tetramer, and pentamer, was obtained by hydrolyzing chitosan with the chitosanase originated *Bacillus pumilus* BN-262. High Molecular Weight chitooligosaccharides(HMW-chitooligosaccharides), 49.3% of which was composed of chitooligosaccharides over heptamer, was obtained by hydrolyzing chitosan with the cellulase originated *Trichoderma viride*. Antimicrobial activity and colony forming inhibitory activity of chitooligosaccharides were tested. MIC of LMW-chitooligosaccharides against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* was 1.5%, 1.5%, above 2.0%, 1.5%, 1.5%, below 0.5%, 2.0%, 1.5%, above 2.0%, 1.0%, 1.5% and 1.0% respectively. MIC of HMW-chitooligosaccharides against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* was 1.0%, 1.0%, above 2.0%, 1.0%, 1.0%, below 0.25%, 1.0%, 1.0%, 2.0%, 1.0%, 1.0% and 0.5% respectively. Colony forming inhibitory activity of LMW-chitooligosaccharides against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* was 94.10%, 30.45%, 99.99%, 61.70%, 40.80%, 89.51%, 98.35%, 58.19%, 89.62%, 98.29%, 98.61% and 76.37% respectively. Colony forming inhibitory activity of HMW-chitooligosaccharides against *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* was 65.90%, 68.26%, 99.97%, 73.03%, 33.89%, 100%, 98.87%, 100%, 79.51%, 82.80%, 90.03% and 97.62% respectively.

Key words : chitooligosaccharides, antimicrobial activity, colony forming inhibitory activity.

#### 서 론

현대를 살아가는 모든 사람들은 아무런 질병 없이 건강하게 오래 살기를 원한다. 그러나 우리가 살고 있

† Corresponding author : Heon-Kuk Park

는 시대는 과학의 발달과 고도의 경제성장으로 인하여 편의주의적인 산업사회를 형성함으로써 이의 부산물로 환경오염, 기계문명의 분업화, 자동화, 교통수단의 발달로 인한 운동부족으로 건강과 체력의 저하를 가져오게 되었다. 특히 건강한 생활을 유지하기 위해서는 균형 잡힌 식생활을 영위하는 것이 중요하지만 외식 기회의 증가와 가공식품의 이용량이 매년 증가하면서 균형 잡힌 식생활을 영위하지 못하고 있다<sup>1)</sup>. 외식은 한정된 메뉴 이외에는 선택할 수 없기 때문에 영양의 불균형을 초래하기 쉽고 가공식품은 가공 단계에서 주요 성분이 파괴되기 쉽다. 더욱이 산업화가 신속히 진행되면서 여성의 취업률이 늘어나게 됨으로써 시간과 노력이 필요한 요리가 식탁에서 사라지고 간편하게 조리할 수 있는 요리가 주로 식탁에 오르게 되어 영양의 불균형이 날로 심화되고 있다. 또한 산업화의 진행이 빨랐던 우리나라의 경우 노인 인구는 매우 빠르게 증가하여 이미 고령화사회에 진입하였다. 그러나 이에 대한 국가의 대응이 늦어져 커다란 사회 문제로 대두되고 있다. 이렇게 균형 잡히지 않은 식생활과 노령인구의 증가로 인하여 암, 심장병, 뇌졸중 등을 비롯한 성인병과 노인성 치매 등이 증가하게 되었으며, 성인병과 노인성 질환의 증가는 의료비와 사회복지비를 증가시켜 국민의 부담을 증가시키고 있다. 성인병은 발생하면 의학적인 방법으로 치료하기가 어렵기 때문에 식생활 개선을 통한 예방이 가장 효과적인 것으로 알려져 있다. 따라서 기능성 식품은 질병을 예방함으로써 국민건강증진에 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다<sup>2)</sup>.

현재 많은 종류의 기능성 식품이 제조되어 판매되고 있으며, 그 중에서도 chitosan과 chitooligosaccharides는 기능성이 높은 천연의 식품소재로서 관심이 집중되고 있다.

Chitosan은 polycation의 성질을 가지고 있어서 현재 응집제로서 각종 공업 분야에 널리 이용되고 있으며 최근에는 그 외에도 다양한 생리적 기능성을 가지고 있다는 사실이 밝혀지면서 의료, 생화학, 화장품, 식품, 화학 공업 및 농업용 등 다양한 분야에 응용 가능한 신소재로서 기대가 높아지고 있다<sup>3~10)</sup>. 그러나, chitosan은 생리적 기능은 우수하지만 물에 용해되지 않고 점도가 높으며 짠맛이 나기 때문에 식품을 비롯한 기타 응용분야에의 이용이 제한되고 있다. 따라서 많은 연구자들은 이와 같은 물리적인 장애를 개선함으로써 chitosan 자체가 갖는 우수한 생리적 기능을 이용할 뿐만 아니라 항종양성을 비롯한 새로운 생리적 기능을 갖는 chitosan 유도체의 개발을 시도하고

있다.

Chitosan 유도체 중에서도 chitooligosaccharides는 chitosan의 가수분해로 얻어지는 저분자 화합물이므로 물에 잘 용해되며 점도가 낮고 용액이 단맛을 낼 뿐만 아니라 chitosan이 갖지 않는 새로운 생리적 기능성을 갖는 것으로 알려지면서 관심이 집중되기 시작하였다<sup>11~16)</sup>. 이에 따라서 chitooligosaccharides를 생산하는 것과 관련된 연구는 많이 진행되어 왔으나<sup>17~24)</sup> chitooligosaccharides가 갖는 생리적 기능성에 관한 연구와 chitooligosaccharides의 이용에 관한 연구는 아직도 극히 미미한 실정이다.

본 연구에서는 chitosan을 효소적 분해법으로 분해하여 저분자량 chitooligosaccharides와 고분자량 chitooligosaccharides를 제조하였고 그 항균성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. Chitooligosaccharides의 제조

0.8% lactic acid 수용액에 chitosan이 5%가 되도록 첨가하여 완전히 녹이고 포화  $\text{NaHCO}_3$  수용액을 가하여 pH를 5.5가 되도록 조절하였다. 제조된 chitosan 용액에 *Bacillus pumilus* BN-262 유래의 chitosanase를 반응액 ml당 0.05unit<sup>25)</sup>씩 가하고 45°C에서 3시간동안 반응시켰다. 분해된 용액은 중화하여 불용성 물질을 제거하고 ultrafiltration한 다음 분무건조 하여 저분자량 chitooligosaccharides(LMW-chitooligosaccharides)를 제조하였다.

Chitosan 90g에 1 l의 증류수를 가하여 30분간 방치함으로써 팽윤시키고 0.1N lactic acid 1 l를 소량씩 첨가하면서 완전히 녹였다. 5시간 경과 후 0.425M  $\text{NaHCO}_3$ 를 가하여 pH를 5.6으로 맞추었다. pH를 조절된 용액은 하룻밤 방치하고 50°C 항온수조로 옮겨 용액의 온도가 50°C에 도달한 다음 *Trichoderma viride* 유래의 cellulase를 가하였다. 이를 6시간 동안 처리하여 반응시키고 가열함으로써 효소를 불활성화 시킨 다음 NaOH 수용액으로 pH가 7.0이 되도록 중화하고 침전물을 원심분리하여 제거하였다. 얻어진 가수분해물은 냉동건조하여 고분자량 chitooligosaccharides(HMW-chitooligosaccharides)를 제조하였다.

### 2. Chitooligosaccharides의 조성 분석

Chitooligosaccharides 50mg에 용매(acetonitrile : 250mM  $\text{H}_3\text{PO}_4 = 4 : 6$ ) 3ml를 가하여 녹이고 실온에서 하룻밤 방치한 후, 원심분리하고 membrane filter

로 여과하여 불용성 성분을 제거한 용액을 제조하였으며 이를 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. Chitooligosaccharides의 HPLC 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

3. Chitooligosaccharides의 항균성

0.5, 1.0, 1.5, 2.0%의 LMW-chitooligosaccharides 또는 0.25, 0.5, 1.0, 2.0%의 HMW-chitooligosaccharides를 첨가한 Tryptic soy agar 배지에 plate당 30~300개의 집락이 생성되도록 적당 배수로 희석한 각종 세균들과 병원성 효모로 알려져 있는 *Candida albicans*를 도말평판법(spread plate method)으로 접종하고 37°C에서 배양하였다. *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*은 12시간만에 *Candida albicans*, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*는 24시간만에 집락의 생성 여부를 관찰함으로써 MIC(minimum inhibitory concentration, 최소저해농도)를 조사하였다.

4. Chitooligosaccharides의 콜로니 형성 저해 활성

2% chitooligosaccharides 용액 0.5ml에 균배양액 0.5ml을 가하여 37°C에서 1시간 동안 처리한 후 tryptic soy agar 배지에 도말하여 37°C 항온기에서 12시간~48시간 동안 배양하여 형성된 콜로니의 수를 측정하고, chitooligosaccharides를 처리하기 전의 콜로니수와 비교함으로써 콜로니 형성 저해 활성을 조사하였다.

결과 및 고찰

1. Chitooligosaccharides의 조성

LMW-chitooligosaccharides의 중합도별 함량은 Fig. 1과 같았다. 즉, dimer, trimer, tetramer, pen-

Table 1. Conditions for HPLC analysis of chitooligosaccharides

Column	TSK-Gel Amide-80, 4.6×250mm (TOSOH Co., Japan)
Mobile phase	Acetonitrile : 250mM H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> = 4 : 6
Flow rate	0.6ml/min
Injection volume	15 μl
Detector	RI detector

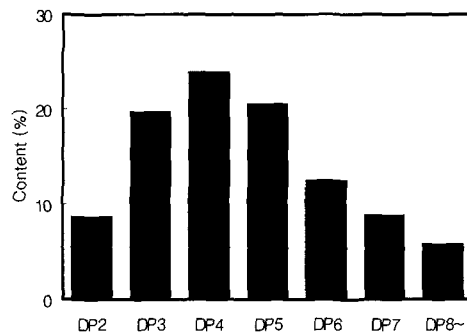


Fig. 1. Composition of LMW-chitooligosaccharides. DP2, dimer; DP3, trimer; DP4, tetramer; DP5, pentamer; DP6, hexamer; DP7, heptamer; DP8~, above octamer; DP, Degree of polymerization.

tamer, hexamer, heptamer, octamer 이상이 각각 8.69, 19.66, 23.98, 20.65, 12.46, 8.77, 5.80%로 중합도 3~5인 올리고당이 전체 올리고당 중 64.3%에 달하는 비교적 분자량이 작은 화합물로 구성된 chitooligosaccharides의 혼합물이었다.

HMW-chitooligosaccharides의 중합도별 함량은 Fig. 2와 같았다. 즉, dimer, trimer, tetramer, pentamer, hexamer, heptamer, octamer 이상이 각각 14.24, 13.55, 6.59, 7.27, 9.04, 16.39, 32.93%로 중합도 7 이상인 것이 전체 올리고당 중 49.3%에 달하는 비교적 분자량이 큰 화합물로 구성된 chitooligosaccharides의 혼합물이었다.

2. Chitooligosaccharides의 항균성

세균 및 효모에 대한 chitooligosaccharides의 항균

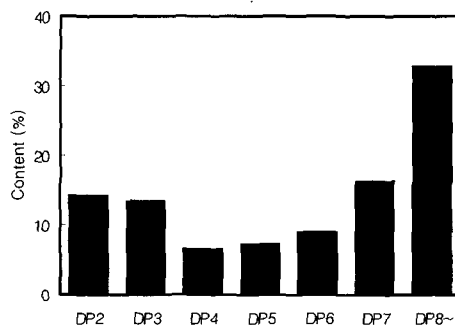


Fig. 2. Composition of HMW-chitooligosaccharides. DP2, dimer; DP3, trimer; DP4, tetramer; DP5, pentamer; DP6, hexamer; DP7, heptamer; DP8~, above octamer; DP, Degree of polymerization.

성을 측정된 결과는 Table 2와 같았다. 즉, LMW-chitooligosaccharides의 *Bacillus cereus*에 대한 MIC는 1.5%, *Bacillus subtilis*에 대한 MIC는 1.5%, *Candida albicans*에 대한 MIC는 2.0% 이상, *Escherichia coli*에 대한 MIC는 1.5%, *Escherichia coli* O157:H7에 대한 MIC는 1.5%, *Lactobacillus plantarum*에 대한 MIC는 0.5% 이하, *Listeria monocytogenes*에 대한 MIC는 2.0%, *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 MIC는 1.5%, *Salmonella enteritidis*에 대한 MIC는 2.0% 이상, *Salmonella typhimurium*에 대한 MIC는 1.0%, *Staphylococcus aureus*에 대한 MIC는 1.5%, *Streptococcus mutans*에 대한 MIC는 1.0%였다. 한편, HMW-chitooligosaccharides의 *Bacillus cereus*에 대한 MIC는 1.0%, *Bacillus subtilis*에 대한 MIC는 1.0%, *Candida albicans*에 대한 MIC는 2.0% 이상, *Escherichia coli*에 대한 MIC는 1.0%, *Escherichia coli* O157:H7에 대한 MIC는 1.0%, *Lactobacillus plantarum*에 대한 MIC는 0.25% 이하, *Listeria monocytogenes*에 대한 MIC는 1.0%, *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 MIC는 1.0%, *Salmonella enteritidis*에 대한 MIC는 2.0%, *Salmonella typhimurium*에 대한 MIC는 1.0%, *Staphylococcus aureus*에 대한 MIC는 1.0%, *Streptococcus mutans*에 대한 MIC는 0.5%였다.

이상에서와 같이 chitooligosaccharides가 나타내는 항균성은 균종에 따라서 다소의 차이를 보였으나

MIC가 LMW-chitooligosaccharides의 경우 대부분 1.5%, HMW-chitooligosaccharides의 경우 대부분 1.0%로 극히 미약한 항균활성을 나타내었다. 그 중에서도 분자량이 큰 HMW-chitooligosaccharides가 분자량이 작은 LMW-chitooligosaccharides에 비하여 항균성이 다소 높았는데 이는 chitosan 및 그 경도 가수분해물의 세균에 대한 MIC가 0.1% 이하이지만 가수분해가 진행될수록 항균능이 저하한다고 하는 Uchida 등<sup>11)</sup>의 보고와 잘 일치하는 결과였다.

### 3. Chitooligosaccharides의 콜로니 형성 저해 활성

Chitooligosaccharides는 항균성을 나타낼 뿐만 아니라 콜로니 형성 저해 활성을 나타내었다.

Chitooligosaccharides의 콜로니 형성 저해 활성을 측정된 결과는 Table 3과 같았다. 즉, LMW-chitooligosaccharides는 *Bacillus cereus*에 대해서는 94.10%의 저해 활성을, *Bacillus subtilis*에 대해서는 30.45%의 저해 활성을, *Candida albicans*에 대해서는 99.99%의 저해 활성을, *Escherichia coli*에 대해서는 61.70%의 저해 활성을, *Escherichia coli* O157:H7에 대해서는 40.80%의 저해 활성을, *Lactobacillus plantarum*에 대해서는 89.51%의 저해 활성을, *Listeria monocytogenes*에 대해서는 98.35%의 저해 활성을, *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서는 58.19%의 저해 활성을, *Salmonella enteritidis*에 대해서는 89.62%의 저해 활

**Table 2. Minimum inhibitory concentration of chitooligosaccharides**

Strains	Minimum inhibitory concentration (%)	
	LMW-Chitooligosaccharides	HMW-Chitooligosaccharides
<i>Bacillus cereus</i>	1.5	1.0
<i>Bacillus subtilis</i>	1.5	1.0
<i>Candida albicans</i>	above 2.0	above 2.0
<i>E. coli</i>	1.5	1.0
<i>E. coli</i> O157:H7	1.5	1.0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	below 0.5	below 0.25
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.0	1.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.5	1.0
<i>Salmonella enteritidis</i>	above 2.0	2.0
<i>Salmonella typhimurium</i>	1.0	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.5	1.0
<i>Streptococcus mutans</i>	1.0	0.5

**Table 3. Colony forming inhibitory activity of chitooligosaccharides**

Strains	Colony forming inhibitory activity (%)	
	LMW-Chitooligosaccharides	HMW-Chitooligosaccharides
<i>Bacillus cereus</i>	94.10	65.90
<i>Bacillus subtilis</i>	30.45	68.26
<i>Candida albicans</i>	99.99	99.97
<i>E. coli</i>	61.70	73.03
<i>E. coli</i> O157:H7	40.80	33.89
<i>Lactobacillus plantarum</i>	89.51	100.00
<i>Listeria monocytogenes</i>	98.35	98.87
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58.19	100.00
<i>Salmonella enteritidis</i>	89.62	79.51
<i>Salmonella typhimurium</i>	98.29	82.80
<i>Staphylococcus aureus</i>	98.61	90.03
<i>Streptococcus mutans</i>	76.37	97.62

성을, *Salmonella typhimurium*에 대해서는 98.29%의 저해 활성을, *Staphylococcus aureus*에 대해서는 98.61%의 저해 활성을, *Streptococcus mutans*에 대해서는 76.37%의 저해 활성을 나타내었다. 한편 HMW-chitooligosaccharides는 *Bacillus cereus*에 대해서는 65.90%의 저해 활성을, *Bacillus subtilis*에 대해서는 68.26%의 저해 활성을, *Candida albicans*에 대해서는 99.97%의 저해 활성을, *Escherichia coli*에 대해서는 73.03%의 저해 활성을, *Escherichia coli* O157:H7에 대해서는 33.89%의 저해 활성을, *Lactobacillus plantarum*에 대해서는 100%의 저해 활성을, *Listeria monocytogenes*에 대해서는 98.87%의 저해 활성을, *Pseudomonas aeruginosa*에 대해서는 100%의 저해 활성을, *Salmonella enteritidis*에 대해서는 79.51%의 저해 활성을, *Salmonella typhimurium*에 대해서는 82.80%의 저해 활성을, *Staphylococcus aureus*에 대해서는 90.03%의 저해 활성을, *Streptococcus mutans*에 대해서는 97.62%의 저해 활성을 나타내었다.

Chitooligosaccharides의 콜로니 형성 저해 활성은 균종에 따라서 커다란 차이를 나타내었다. 이는 chitooligosaccharides가 나타내는 곰팡이에 대한 독성은 곰팡이 세포의 투과성을 높이기 때문이라는 Young 등<sup>26)</sup>의 실험결과로 미루어 볼 때 세균의 경우도 각각의 세균마다 세포벽의 조성이 다르기 때문에 이들 세균 세포의 투과성에 미치는 영향이 다르며 콜로니 형성 억제 활성의 차이가 생기는 것이라고 추정되나 이에 대한 보다 자세한 연구가 더 이루어져야 할 것으로 판단된다.

## 요 약

Chitosan을 *Bacillus pumilus* BN-262 유래의 chitosanase로 처리하여 trimer, tetramer, pentamer가 전체 올리고당 중 64.3%에 달하는 비교적 저분자의 chitooligosaccharides로 구성된 LMW-chitooligosaccharides를 얻었으며, chitosan을 *Trichoderma viride* 유래의 cellulase로 처리하여 중합도 7 이상의 것이 전체 올리고당 중 49.3%에 달하는 상대적으로 분자량이 큰 chitooligosaccharides로 구성된 HMW-chitooligosaccharides를 얻었다. 제조된 chitooligosaccharides의 항균성과 콜로니 형성 저해 활성을 측정하였다. LMW-chitooligosaccharides의 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*

*enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*에 대한 MIC(최소저해농도)는 각각 1.5%, 1.5%, above 2.0%, 1.5%, 1.5%, below 0.5%, 2.0%, 1.5%, above 2.0%, 1.0%, 1.5%, 1.0%였으며, HMW-chitooligosaccharides의 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*에 대한 MIC는 각각 1.0%, 1.0%, 2.0% 이상, 1.0%, 1.0%, 0.25% 이하, 1.0%, 1.0%, 2.0%, 1.0%, 1.0%, 0.5%였다. LMW-chitooligosaccharides의 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*에 대한 콜로니 형성 저해 활성은 각각 94.10%, 30.45%, 99.99%, 61.70%, 40.80%, 89.51%, 98.35%, 58.19%, 89.62%, 98.29%, 98.61%, 76.37%였으며, HMW-chitooligosaccharides의 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*에 대한 콜로니 형성 저해 활성은 각각 65.90%, 68.26%, 99.97%, 73.03%, 33.89%, 100%, 98.87%, 100%, 79.51%, 82.80%, 90.03%, 97.62%였다.

## 감사의 글

이 논문은 2000년도 동남보건대학의 학술연구비 지원에 의해서 수행된 결과로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. 송병춘, 맹원재 : 현대인의 식생활과 건강. 건국대학교 출판부, 서울, p. 67~82 (1996).
2. 박현서, 이영순, 구성자, 한명주, 조여원 : 식생활과 건강. 효일문화사, 서울, p. 239~253 (1997).
3. Maezaki, Y., Tsuji, K., Nakagawa, Y., Kawai, Y., Akimoto, M., Tsugita, T., Takekawa, W., Terada, A., Hara, T. and Mitsuoka, T. : Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Biosci. Biotech. Biochem.*

- 57(9), 1439~1444 (1993).
4. 田口智子, 加藤秀夫, 奥田拓道, 多嘉良稔 : 日本農藝化學會誌 67(大會講演 要旨集), p.315 (1993).
  5. 内田泰 : キチン・キトサンの抗菌性, フードケミカル, 1988-2, 22~29 (1988).
  6. 内田泰 : キチン・キトサンおよび関連化合物の抗菌性とその応用, 化學工業, 1991-10, 37~43 (1991).
  7. 福井春雄, 藤原公, 村岡高志, 次田隆志 : キチン・キトサンによる作物の生長促進効果 第1報 生長促進とその作用性, 日作四國支紀, 26, 1~8 (1989).
  8. 福井春雄, 正田敏幸, 藤原公, 村岡高志, 次田隆志 : キチン・キトサンによる作物の生長促進効果 第2報 各種作物への栽培適用性, 日作四國支紀, 26, 9~16 (1989).
  9. Suzuki, S., Okawa, Y., Okura, Y., Hashimoto, K. and Suzuki, M. : in Chitin and Chitosan Proceedings of the Second International Conference on Chitin/Chitosan, ed. by Hirano, S. and Tokura, S. The Japanese Society of Chitin and Chitosan, Tottori Univ., Tottori, p.210 (1982).
  10. 石倉俊治 : キチンとキトサン, 月刊フードケミカル, 1993-6, 62~64 (1993).
  11. Uchida, Y., Izumi, M. and Ohtakara, A. : Preparation of chitosan oligomers with purified chitosanase and its application, *Annual Review of Japanese Society for Chitin and Chitosan*, pp. 93~102 (1988).
  12. 戸倉清一 : キチン,キトサンの生理活性について, 別冊フードケミカル-I, 食品化學新聞社, pp. 5~11 (1987).
  13. 戸倉清一 : キチンおよびキトサンの免疫賦活性, 月刊フードケミカル, 1995-2, 19~24 (1995).
  14. Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T. and Suzuki, S. : Growth-Inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose against Meth-A solid tumor, *Chem. Pharm. Bull.*, 36(2), 784~790 (1988).
  15. Hadwiger, L. A., Fristensky, B. and Riggleman, R. C. : *In Chitin, chitosan and related enzymes*, Academic Press, Orlando, p.291 (1984).
  16. 欠吹念 : 最後のバイオマスキチンキトサン, 枝報堂出版, p.1 (1988).
  17. Horowitz, S. T., Roreman, S. and Blumenthal, H. J. : The preparation of glucosamine oligosaccharide - I. Separation, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 5046~5049 (1957).
  18. Izumi, M. and Ohtakara, A. : Preparation of D-glucosamine oligosaccharides by the enzymatic hydrolysis of chitosan, *Agri. Biol. Chem.*, 51(4), 1189~1191 (1987).
  19. Aiba, S. : Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially N-acetylated chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.*, 14, 225~228 (1992).
  20. Muraki, E., Yaku, F. and Kojima, H. : Preparation and crystallization of D-glucosamine oligosaccharides with dp. 6~8, *Carbohydrate Research.*, 239, 227~237 (1993).
  21. 坂井和男 : キチン・キトサンオリゴ糖の開発と現状, 別冊フードケミカル-I, 食品化學新聞社, pp.106~111 (1987).
  22. 坂井和男, 南條文雄, 碓氷泰市 : キチン・キトサンオリゴ糖の生産と利用, *澱粉科學*, 37(2), 79~86 (1990).
  23. 김순영 : *Aspergillus fumigatus* KH-94로부터 분리한 Chitosanase의 특성과 된장중 Chitooligosaccharide의 면역분석법 개발, 서울대학교 박사학위논문 (1997).
  24. 홍상필, 김동수 : *Trichoderma viride* 및 *Trichoderma reesei* 유래 Cellulase의 키토산 분해 특성, *한국식품과학회지*, 30(2), 245~252 (1998).
  25. 전유진, 김세권 : 키토산 올리고당의 효율적 생산을 위한 고정화효소의 이용, *한국키틴키토산연구회지*, 3(2), 165~175 (1998).
  26. Young, D. H., K•hle, H. and Kauss, H. : Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris* cells, *Plant Physiol.* 70 : 1449~1454 (1982).

---

(2001년 11월 15일 접수)