

GABA 고함유 기능성 생강 생산

오석흥* · 최원규**

(*우석대학교 생명공학과 · **우석대학교 대학원 생명공학과)

Production of Ginger Roots Having a High Concentration of GABA

Oh, Suk-Heung* · Choi, Won-Gyu**

*Dept. of Biotechnology and

**Dept. of Life Sci. and Technology, Graduate School, Woosuk Univ.

적 요

생강재배에 있어 키토산 유기농업의 효과를 알아보기 위한 시도의 일환으로 생강 중의 GABA (γ -aminobutyric acid) 함량에 미치는 키토산의 처리 효과를 조사하였다. 종강침종 단계에서 키토산처리구에는 3% 키토산액을 200배 희석하여 5시간 처리한 후 자연건조후 파종하였고 무처리구는 통상적인 방법에 따라 전처리 없이 파종하였다. 본 발에 파종후 대조구에는 물을, 실험구에는 3% 키토산 500배 희석액을 15일 간격으로 수확시까지 엮면시비 하였다. 키토산 처리에 의한 종강의 발아율은 평균 98%를 보여 무처리구의 평균 85%에 비하여 높았다. 또한 키토산 처리구가 물처리구에 비해 증수율은 높고 병으로 인한 고사율은 현저히 줄여주는 것으로 조사되었다. 키토산처리는 본발 토양의 물리화학적 특성을 크게 변화시키지 않았으며, 물처리구에 비하여 GABA 함량을 유의적으로 증가시키는 것으로 조사되었다. 이들 결과들로 부터 키토산의 시비는 생강의 생산량을 높일뿐 아니라 GABA의 함량을 증진 시키므로써 생강 및 생강 제품의 기능성을 높일 수 있음을 제안할 수 있다.

I. 서 론

생강은 인도와 말레이시아 등 열대아시아 지역이 원산지로서 추정되며 생강과에 속하는 다년생 초본 식물의 근경으로서 특유의 매운맛과 향기를 지니고 있어 향신료로서의 역할을 한다(김명환, 1998). 또한 생강은 강력한 항산화 및 항균효과를 가지며 gingerol과 shogaol 등이 항산화 효과를 나타내는 주 성분으로 보고되어 있다(백은숙, 유상규, 1993; 최홍식 등, 1998; 서화중, 1999). 우리나라의 연간 생강 생산량은 약 4만 8천 톤으로 충남 서산지역과 전북 완주지역에서 총 생산량의 95.6%를 차지하고 있다(Chung et

al., 1996). 최근 중국 농산물의 급격한 반입과 함께 생강도 예외는 아니어서 국내의 생강 재배 농가들은 거의 농사의 의욕을 잃고 있는게 사실이다. 이와같이 중국산이 대량으로 유입되고 국내 생산량도 큰폭으로 상승하고 있는 상황에서 경쟁력을 기르기 위해서는 우수한 생강원료 생산 및 그 원료를 이용한 신 제품개발을 통해 차별화하는 전략을 구사해 나아가야 할 것이다.

키틴은 새우, 게 등의 갑각류 및 연체류의 껍질 등에 함유되어 있는 고분자 물질이며 지구상 생물자원 중에서 섬유소 다음으로 가장 많이 생산되고 있다(Jeon et al., 1996; Kim, 1997). 키틴은 N-acetyl- β -D-glucosamine 잔기가 $\beta(1\rightarrow4)$ 결합한 분자량 100만 이

상의 다당류이며, 키틴의 아미노기에 결합한 아세틸기가 떨어져 생성된 화합물을 키토산이라 한다(Kim, 1997). 키토산은 인체에 무해할 뿐만 아니라 약산으로 쉽게 용해되며 피막을 형성할 수 있는 생분해성 천연고분자 물질이다(Lee et al., 1996; Sanford and Hutchings, 1987). 최근들어 키토산의 여러 가지 생리학적 기능이 알려지면서 식품소재, 화장품과 의료소재 등의 원료로 이용되고 있으며, 다른 분야에서도 실용화를 위한 연구개발이 급속히 이루어지고 있다(Jeon et al., 1996; Lee et al., 1996; Lee, 1995; Lee and Cho, 1998; Yoo et al., 1998).

고등식물은 키틴과 키토산을 함유하고 있지 않으나 chitinase와 chitosanase와 같은 분해효소를 가지고 있으며, 키토산은 식물세포에서 chitinase의 생성 유도 작용, phytoalexin의 축적, 그리고 proteinase inhibitor의 합성 등과 같은 방어기작을 촉진시키는 것으로 알려져 있어(Lee et al., 1996; Roby et al., 1987; Hirano et al., 1990), 키토산을 사용할 경우 식물체의 자기보호 기능 향상과 식물세포의 활성화를 통하여 생장을 촉진하는 효과가 크다고 할 수 있다.

혈압강하 등의 생리활성 기능이 있는 것으로 알려진 GABA는 식물이 환경적인 스트레스를 받게 되면 그 생성이 급격하게 증진되는 것으로 알려지면서(Bown and Shelp, 1997; Chen et al., 1994) 혐기적 스트레스 및 수분 스트레스 등을 통하여 GABA가 많이 함유된 기능성 식물식품을 생산하려는 시도가 행하여졌다(Nakagawa and Onoto, 1996; Yun et al., 1998). 또한 식물체내 증진된 GABA는 해충의 접근을 어느 정도 막을 수 있는 것으로 제안되고 있어(Ramputh and Bown, 1996) 키토산을 식물에 처리했을 경우 나타나는 자기보호기능 향상 효과와 GABA의 함량 변화와의 관련성을 예견할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 상기와 같은 키토산의 기능 및 효과를 토대로 키토산처리가 생강의 생산량 및 품질을 인위적으로 높일 수 있다고 생각하여 키토산을 생강재배에 적용하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 기구

GABA 분석에 사용한 GABA 표준물질은 Sigma제(USA)를 사용하였고, UV/Vis spectrophotometer는 Shimadzu(Japan)제를, amino acid analyzer는 Waters(USA)제를, atomic absorption spectrophotometer는 Varian(Australia)제를 이용하였다. 키토산액은 계껍질로부터 얻은 키틴으로 조제한 탈아세틸화도 90% 이상인 평균 분자량 10만의 키토산 1%와 평균 분자량 1만의 키토산 2%를 5% 젖산에 녹인액을(주)한국키토산에서 구입하여 사용하였다. 그 외 시약은 특급제품을 사용하였으며, microcentrifuge 등은 Vision(Korea)제를 사용하였다.

2. 키토산의 처리

생강은 대조구와 실험구로 나누어 대조구에는 물을, 실험구에는 키토산액을 처리하였다. 종자침종을 위해서는 3% 키토산액을 물로 200배 희석하여 사용하였고 파종후 엽면시비를 위해서는 500배 희석액을 사용하였다. 종자처리에는 200배 희석액에 5시간 침종 후 꺼내어 자연상태로 물기가 건조된 후 파종하였다. 본발에 파종한 후에 대조구에는 물을, 실험구에는 키토산액(500배 희석액)을 15일 간격으로 엽면시비하였다. 농약은 관례에 따라 각 구간 동일하게 처리하였다.

3. 생강의 생육상태 조사

키토산 처리에 의한 종강의 발아율은 총 발아 주수를 침종한 종강 총수로 나누어 계산하였다. 생육상태는 지상부의 생장에 미치는 키토산 처리효과와 수확후 평당 수확량을 측정해 산출하였다. 내병성은 생장과정 중 병충해에 의해 고사하는 구근이 얼마나 있는지를 조사하여 판정하였다.

4. GABA 및 유리아미노산 분석

키토산처리로 인한 생강 중의 GABA의 함량과 아미노산 함량 변화를 측정하기 위해 액체질소로 마쇄된 시료 파우더에 메탄올:클로로포름:물(12:5:3)의

혼합액을 가하여 섞어 주었다. GABA와 유리아미노산을 포함하는 수용액 층은 원심분리(12,000 x g, 15 min, 4°C)를 통하여 얻었다. 침전물에 클로로포름:물(3:5)의 혼합액을 가하여 남아있을지도 모르는 GABA와 아미노산을 2차 추출하였고, 1, 2차 원심분리로부터 얻은 상등액을 합하여 냉동건조하였다. 이어 소량의 물로 용해한 후 0.45 µm PVDF 필터(Millipore)로 여과하여 아미노산자동분석기(AccQ·Tag Amino Acid Analysis System, Waters)로 분석을 실시하였고, 표준 GABA(Sigma)와 표준아미노산(Pierce)의 분석결과와 비교하여 함량을 산출하였다.

5. 토양분석

토양분석을 위해 생강 수확이 끝난 후에 키토산 처리구와 무처리구에서 토양을 채취하였으며, 채취된 시료의 pH는 시료:증류수의 비율 1:5로 하여 pH meter로 측정하였고, 전기 비전도도(EC), 유기물, 유효인산, 치환성 양이온은 농촌진흥청 토양화학 분석법(1998)에 준하여 분석하였다.

III. 결과

1. 종강의 발아율

3% 키토산 200배 희석액에 5시간 동안 종강을 침종한 후 건져내어 바람에 건조하고 파종하였다. 파종 후 키토산 처리구에는 3% 키토산 원액을 500배 희석하여 2주마다 평당 0.5 l 씩을 시비하였다. 키토산 처리에 의한 종강의 발아율을 총 발아 주수를 심은 생강 총수로 나누어 계산한 결과 무처리구가 평균 85%의 발아율을 보인 반면 키토산 처리구는 평균 98%의 발아율을 보였다(표 1).

표 1. 키토산처리구와 무처리구 간의 종강 발아율 비교

구 분	한줄당 심은 갯수	발아주수	발아율(%)
무처리구	280	238	85
키토산 처리구	280	274	98

2. 내병성

내병성은 생장과정 중 병충해에 의해 고사하는 구근이 얼마나 있는지를 조사하여 판정하였으며, 키토산 처리구가 5.0%, 무처리구가 13.9%의 평균 고사율을 보여(표 2) 키토산 처리가 생강의 병에 대한 저항성을 증진시키는 것으로 판단된다. 또한 생강 지상부의 생장을 관찰한 결과 무처리구에 비하여 키토산 처리구가 균일하고 건실한 성장을 보였다.

표 2. 키토산처리구와 무처리구 간의 종강 고사율 비교

구 분	한줄당 심은 갯수	총해로 죽은 생강 갯수	총해비율 (%)
무처리구	280	39	13.9
키토산 처리구	280	14	5.0

3. 주당 평균중량, 수확량, 증수율

수확시에 생강 주당 평균 무게를 측정해본 결과 대조구가 315g 이었고 키토산 처리구가 345g 이었다. 발아주수 차이와 총해로 죽은 생강 주수 차이로 인한 줄당 평균 수확량 차이는 대조구가 62.69kg, 키토산구가 89.70kg 이었다. 이는 대조구의 100% 기준 약 143%에 상당하는 것으로 키토산처리에 의해 증수효과가 있는 것으로 나타났다(표 3).

표 3. 키토산처리구와 무처리구 간의 수확량, 증수율 비교

구 분	주당 평균 중량(g)	한줄당 수확량(kg)	증수율(%)
무처리구	315	62.69	100
키토산 처리구	345	89.70	143

4. 생강 중의 GABA 및 아미노산 함량

수확한 생강뿌리 중의 GABA 및 유리아미노산 함량을 조사해본 결과는 표 4와 같다. 키토산 처리구는 무처리구에 비하여 GABA, Ala, Ser, His 등의 함량이 특히 높은 것으로 나타났으며 Total 함량도 무처리구에 비하여 높았다.

5. 토양의 이화학적 특성

본밭 토양의 물리화학적 특성을 조사한 결과는 표 5와 같다. 표 5에서 보는 바와 같이 키토산처리에 의한 특이적인 토양 특성 변화는 관찰되지 않았다.

표 4. 키토산처리구와 무처리구 간의 GABA 및 아미노산 함량비교

아미노산	무처리구 (nmole/g F.W.)	키토산 처리구 (nmole/g F.W.)
Asp	57.4	71.9
Ser	178.4	254.8
Glu	195.4	239.7
Gly	81.2	82.7
His	183.8	301.4
Arg	68.8	76.5
The	71.6	58.6
Ala	214.0	399.2
GABA	40.5	75.3
Pro	43.4	36.3
Tyr	32.7	31.4
Val	76.6	60.5
Met	21.2	22.1
Lys	34.2	25.6
Ile	69.7	59.8
Leu	46.9	37.4
Phe	45.5	40.8
Total	1,461.3	1,874.0

표 5. 키토산처리구와 무처리구 간의 토양 물리화학적 특성 비교¹⁾

Group	pH (1:5)	EC ²⁾ (dS/m)	OM (%)	P ₂ O ₅ (ppm)	K (g/kg)	Ca (g/kg)	Mg (g/kg)
None	5.3	0.4	3.0	884	2.16	3.7	1.0
Chitosan	5.4	0.5	2.3	902	1.75	3.3	0.8
Optimum range	6.0~ 6.5	below 2.5	2.0~ 3.0	300~ 500	0.50~ 0.70	5.0~ 6.0	1.5~ 2.0

¹⁾ Soil samples were collected after the cultivation of ginger from main fields.

²⁾ EC, electrical conductivity; OM, organic matter; P₂O₅, available P₂O₅; None, non treated.

IV. 고찰

키토산, 키토산을 식물세포조직과 접촉시키는 것 만으로 chitinase의 생성이 촉진되고, phytoalexin과 같은 식물의 자기방어기구가 발동됨이 밝혀진 바 있다. 예를들면, Hirano 등(1990)은 상추 종자를 키토산 및 그의 유도체 용액으로 코팅하여 발아했을 때 종자의 chitinase 활성을 높게 유도하여 종자 발아과정에서 어린 잎을 식물병원균의 감염으로부터 방어한다고 보고한 바 있으며, 키토산 유도체를 벼 캘러스에 처리했을 때 chitinase의 함량이 역시 높아졌음을 보고하였다(Inui et al., 1991). 최근 본 연구진에 의해서 현미 발아시, 배추 재배시 키토산을 처리하면 식물체내 GABA 함량이 유의적으로 증진됨이 밝혀진 바 있다(오석홍 등, 2000; 오석홍, 최원규, 2000). 따라서, 본 연구에서 발견한 키토산 처리에 의한 생강 뿌리 중의 GABA 함량 증진결과는 키토산이 식물체내 GABA 생성 체계에 관여할 수 있음을 제안한 본 연구진의 모델을 뒷받침 하는 것으로 가능성이 보장된 식품을 생산하는데 활용될 수 있을 것이라 판단된다.

지금까지 제안된 식물체내 GABA의 역할은 pH 조절을 위한 대사기구의 한 부분, glutamate에서 succinate에 이르는 GABA-shunt를 통해 TCA 회로에서 산화를 위한 탄소골격의 제공, 질소저장 화합물 및 아미노산 대사산물, 해충의 공격중에 있을 때 합성되어 내충성을 보이게 하는 것 등이 있다(Bown and Shelp, 1997; Ramputh and Bown, 1996). 따라서 식물의 성장과 발달을 위해서 GABA가 중요한 역할을 할 수 있음을 알 수 있다. 실질적으로 종자의 발아시 GABA의 함량이 급격히 증진되는 현상(Chen et al., 1994; Vandewalle and Olsson, 1983; 오석홍, 최원규, 2000)은 이와같은 견해를 뒷받침 해주고 있다. 또한 식물에서 GABA의 합성은 여러 외부 환경적 요인(예, 기계적인 자극, 온도, 빛, 산소)에 의해 영향을 받는 것으로 보고되고 있어(Chen et al., 1994; Bown and Shelp, 1997; Ramputh and Bown, 1996) 식물체가 해충의 공격을 포함한 여러 환경적 스트레스에 대항하기 위한 수단인 하나로 GABA 생성체계를 가동시키고 있다고 생각된다. 이러한 관점에서 볼 때

키토산 처리가 하나의 환경적인 요인(예, elicitor)으로 작용해서 생강, 배추 및 현미 중의 GABA 함량을 증진시켰을 것으로 예견할 수 있다. 실제로 다른 연구 보고에 의하면 식물조직이나 세포에 키토산이나 키틴을 처리하면 이들이 elicitor로 작용하여 lignification 반응(Pearce and Ride, 1982; Notsu et al., 1994), chitinase 및 phenylalanine ammonia-lyase 활성 유도작용(Inui et al. 1991; Notsu et al., 1994) 등을 보이는 것으로 조사된 바 있다. 또한 키토산은 식물세포에서 phytoalexin의 축적 그리고 proteinase inhibitor의 합성 등과 같은 방어기작도 촉진시키는 것으로 알려져 있어(Lee et al., 1996; Roby et al., 1987; Hirano et al., 1990) 키토산을 사용할 경우 식물체의 자기보호기능 향상과 식물세포의 활성화를 통하여 생장을 촉진하는 효과도 예견할 수 있다. 따라서 본 연구에서의 생강의 GABA 함량 증진, 종강의 발아율 증진, 생강의 고사율 감소, 수확량 증진 등이 키토산의 elicitor 작용으로 인해 전반적인 건전한 생육이 이루어진 결과라 여겨지지만 앞으로 이들 메카니즘에 대한 좀더 체계적인 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

키토산 처리에 의해 토양의 물리화학적 특성 변화가 뚜렷이 나타나지 않은 것은 본 연구에서와 같은 키토산 희석액의 염면 시비가 토양특성 변화에는 영향을 줄 정도가 아니었음을 알 수 있었다. 다만 생강밭의 토양 산성도, 유효인산, 칼륨, 칼슘 등의 농도를 적정수준으로 유지할 수 있도록 보완해 준다면 키토산 처리구나 무처리구 모두 좀더 양호한 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

생강은 특유의 매운맛과 향기를 지니고 있어 김치를 비롯한 각종 음식의 향신료로, 차의 재료로 널리 쓰인다(김명환, 1998). 또한 강력한 항산화 및 항균효과를 가지며 gingerol과 shogaol 등이 항산화 효과를 나타내는 주 성분으로 보고되어 있다(백은숙, 유상규, 1993; 최홍식 등, 1998). 생강이 함유하고 있는 각종 유용성분들의 종류 및 함량이 계속 밝혀질 것으로 예상되는 가운데 키토산 처리에 의하여 생강 중의 GABA 생성이 증진되었다는 것은 의미있는 발견이라고 사료되며, 또 다른 환경적인 인자의 처리, GABA 생성 유전자의 도입 등 GABA의 생성을 극

대화 할 수 있는 방안을 다각적으로 모색해보는 것이 앞으로 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

키토산 유기농업을 통하여 생강의 생산량 및 품질을 개선시키기 위한 시도의 일환으로 생강의 생육 및 GABA 함량에 미치는 키토산처리 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 150ppm 키토산용액에 종강을 5시간 처리하면 무처리구의 85% 발아율에 비하여 98%의 발아율을 보여 우수하였다.
2. 60ppm 키토산 용액을 2주간격으로 수확시까지 엽면시비 해준 결과 총해로 인한 고사율이 현저히 줄어들고 전반적인 생육이 촉진되었다.
3. 수확한 생강의 주당 무게 및 전체적인 수확량은 키토산구가 무처리구에 비하여 유의적으로 높게 나타났다.
4. 키토산 처리에 의한 토양 물리화학적 변화는 뚜렷이 나타나지 않았다.
5. 생강 중의 GABA, Ala, Ser, His 함량이 뚜렷이 증진된 것으로 조사되었고, 전체적인 아미노산 함량도 증가된 것으로 나타났다.

참고 문헌

1. 김명환(1998), 생강 삼투압 건조시 물질이동 특성과 품질에 미치는 효과, *한국농화학회지* 41(5): 372-376.
2. 백은숙, 유상규(1993), Crude gingerol의 항산화 효과 1. 생강 gingerol의 열안정성 및 대두유에 대한 농도에 따른 항산화 효과, *한국조리과학회지* 9(1): 33-36.

3. 서화중(1999), 마늘, 양파, 생강, 고추즙의 항균작용, *한국식품영양과학회지* 28(1): 94-99.
4. 오석홍, 서경원, 최동성, 한광수, 최원규(2000), 배추의 생장 및 배추 중의 γ -aminobutyric acid 함량에 미치는 키토산비료의 시비효과, *한국농화학회지* 43(1): 34-38.
5. 오석홍, 최원규(2000), 키토산처리에 의한 γ -aminobutyric acid 고함유 우량 발아현미 생산, *한국생물공학회지* 15(6): 615-620.
6. 최홍식, 이영옥, 최영숙(1998), 김치 및 김치 재료의 항산화성, *식품산업과 영양* 3(2): 47-54.
7. Bown A.W. and Shelp, B.J.(1997), The metabolism and function of γ -aminobutyric acid, *Plant Physiol.* 115: 1-5.
8. Chen, Y., Baum, G. and Fromm, H.(1994), The 58-kilodalton calmodulin-binding glutamate decarboxylase is a ubiquitous protein in petunia organs and its expression is developmentally regulated, *Plant Physiol.* 106: 1381-1387.
9. Chung, T.Y., Jeong, M.C., Lee, S.E., Kim, D.C. and Kim, O.W.(1996), Morphological characteristics of ginger depending on habitat, *Kor. J. Food Sci. Technol.* 28: 834-840.
10. Hirano, S., Yamamoto, T., Hayashi, M., Nishida, T. and Inui, H.(1990), Chitinase activity in seeds coated with chitosan derivatives, *Agri. Biol. Chem.* 54: 2719-2720.
11. Inui, H., Kosaki, H., Uno, Y., Tabata, K., Hirano, S.(1991), Induction of chitinases in rice callus treated with chitin derivatives, *Agric. Biol. Chem.* 55: 3107-3109.
12. Jeon, Y.-J., Lee, E.-H. and Kim, S.-K.(1996), Bioactivities of chitin · chitosan(I) - antimicrobial function, hypertension control function and cholesterol control function, *Kor. J. Chitin Chitosan* 1: 4-13.
13. Kim, S.-K.(1997), What is chitin · chitosan ? In 'Chitin · Chitosan - Basic and Pharmacology', Ihwa Culture Publishing Co.
14. Lee, J. S.(1995), Broadcasting effect of chitosan solution on dry matter production in Ladino clover(*Trifolium repens*), *Kor. J. Organic Agriculture* 4: 79-85.
15. Lee, S.-H. and Cho, O.-K.(1998), The mixed effect of *Lithospermum erythrorhizon*, *Glycyrrhiza uralensis* extracts and chitosan on shelf-life of Kimchi, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27(5): 864-868.
16. Lee, S.-J., Uhm, J.-Y. and Lee, Y.-H.(1996), Effect of chitosan on the growth of *Botryosphaeria dothidea*, the casual fungus of apple white rot, *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.* 24: 261-267.
17. Nakagawa, K. and Onoto, A.(1996), Accumulation of γ -aminobutyric acid(GABA) in the rice germ, *Food Processing* 31(9): 43-46.
18. Notsu, S., Saito, N., Kosaki, H., Inui, H. and Hirano, S.(1994), Stimulation of phenylalanine ammonia-lyase activity and lignification in rice callus treated with chitin, chitosan, and their derivatives, *Biosci. Biotech. Biochem.* 58(3): 552-553.
19. Pearce, R.B. and Ride, J.P.(1982), Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves, *Physiol. Plant Pathol.* 20: 119-123.
20. Ramputh, A.L. and Bown, A.W.(1996), Rapid gamma-aminobutyric acid synthesis and the inhibition of the growth and development of oblique-banded leaf-roller larvae, *Plant Physiol.* 111: 1349-1352.
21. Rural Development Administration(1988), *Methods of Soil Chemical Analysis: Soil, Plant and Soil Microorganisms*, Suwon, Korea.
22. Roby, D., Gabelle, A., and Toppan, A.(1987), Chitin oligosaccharides as elicitors of chitinase activity in melon plants, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 143: 885-892.

23. Sanford, P.A. and Hutchings, G.P.(1987), Chitosan - a natural, cationic biopolymer: commercial applications, In 'Industrial polysaccharides: Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications, Progress in Biotechnology' (Yalpani, M. ed.), Vol. 3, pp. 363-376, Elsevier Science Publishers.
24. Vandewalle, I. and Olsson, R.(1983), The γ -aminobutyric acid shunt in germinating *Sinapis alba* seeds, *Plant Sci. Lett.* 31: 269-273.
25. Yoo, E.-J., Lim, H.-S., Kim, J.-M., Song, S.-H. and Choi, M.-R.(1998), The investigation of chitosan oligosaccharide for prolongating fermentation period of *Kimchi*, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27(5): 869-874.
26. Yun, S.J., Choi, K.G. and Kim, J.K.(1998), Effect of anaerobic treatment on carbohydrate-hydrolytic enzyme activities and free amino acid contents in barley malt, *Korean J. Crop Sci.* 43(1): 19-22.