

염기성 pH에서의 고점도 커들란에 의한 콘크리트의 재료분리 억제 효과 증진

† 이영·김선원·이중현·김미경·¹조인성·박영훈

생명공학연구소 생물공정연구부, ¹진웅화학 주식회사

(접수 : 1998. 12. 3., 계재승인 : 1999. 2. 25.)

A High Viscosity of Curdlan at Alkaline pH Increases Segregational Resistance of Concrete

In Young Lee†, Seon Won Kim, Jung Heon Lee, Mi Kyoung Kim, In Sung Cho¹, and Young Hoon Park
Bioprocess Technology Research Division, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

P.O. Box 115, Yusong, Taejon 305-600, Korea

¹Jin-Woong Chemical Co., Ltd 101-3 Bangchuk-ri, Sari-myun, Goesan-kun, Chungbuk, Korea

(Received : 1998. 12. 3., Accepted : 1999. 2. 25.)

In order to use a polysaccharide, curdlan, as a concrete admixture, we first developed a pilot-scale fermentation process for the mass production of curdlan. We also examined the rheological properties of curdlan, and tested how well the curdlan obtained in this work increased the segregational resistance of the cement slurry. Fermentation was performed in a 300-liter fermenter equipped with 3 disk-turbine impellers. Since curdlan production is stimulated under nitrogen-limiting conditions, the culture pH was shifted from the optimal pH for cell growth (pH 7.0) to the optimal pH for curdlan production (pH 5.5) at the onset of ammonium exhaustion. We obtained a curdlan production of 65 g/L in 120 hr batch cultivation of *Agrobacterium* species. The insoluble curdlan at the final stage of fermentation was readily harvested by centrifugation together with the cells. The freeze-dried sample contained 78% (w/w) of curdlan. The solubility and viscosity of the curdlan increased with the increase of the solution pH, which enhances the viscosity of concrete since the pH of concrete is extremely high (pH 13.0). Test results of the curdlan as a concrete admixture with cement slurry demonstrated that it prohibits the leakage of water. In conclusion, this work certifies and enlarges curdlan's industrial potential as a concrete admixture.

Key Words : curdlan production; viscosity; segregational resistance

서 론

미생물이 생산하는 다당(polysaccharide)은 생산 균주와 배양 방법 등에 따라 분자량, 구성당의 종류, 결합순서, 결합양식, 결합위치 및 가지(branch) 유무 등이 다른 광범위한 다당이 생성되고, 이들은 gel 형성능, 유화안정성, 표면장력 조절능, 물 흡수능, 점착능, 윤활능 및 필름 형성능 이 각기 다른 특성을 갖는다. 다당이 생성된다(1, 2) 이로 인해 미생물이 생산하는 다당은 식품, 화장품, 석유산업 및 제지산업 등 각종 산업의 중요한 소재로 사용되어 왔으며, 최근에는 선박의 난류억제(drag reduction) 및 고부가가치 생물 소재 의약품으로도 응용되고 있

을 뿐만 아니라 콘크리트 구조강화용 혼화제로서의 새로운 용도가 개발되었다(3-5).

콘크리트 주재료는 얼마전까지는 시멘트, 물, 잔골재, 굵은 골재로 인식되어 왔으나, 콘크리트의 고강도화, 고내구성화, 시공의 힘러화에 대한 중요성이 부각됨에 따라 다양한 기능을 갖는 혼화제의 개발에 박차를 가하게 되었다 그 중 대표적인 것으로는, AE제 (air entrainment agent), 감수제, AE 감수제 등의 화학 혼화제를 들 수 있는데, 이들의 주 기능은 콘크리트 작업성의 개선, 동결융해에 대한 저항성 부여, 감수효과에 의한 시멘트 양의 저감, 강도 증진에 있으며, 콘크리트의 다섯번째 주성분으로서 인식되게 되었다(6). 한편, 감수제를 사용하면 10~30% 정도의 감수효과를 거둘 수 있으나, 이와 동시에 감수제의 사용 양이 많으면 공기량이 증가하거나 재료가 분리되는 등 콘크리트 물성에 나쁜 영향을 끼친다. 이러한 부작용을 억제하기 위하여 오래전부터 다당 (polysaccharide)을 콘크리트 혼화제로서 사용해 왔는 테, 리그닌 계열과 셀룰로오스 유도체 등이 대표적인 예로서 현재 hydroxypropylmethylcellulose는 국내에서만도 연간 1700톤 이상이 사용되고 있다. 이러한 다당의 기능은 콘크리

† Corresponding Author ; Bioprocess Technology Research Division, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology P.O. Box 115, Yusong, Taejon 305-600, Korea

Phone : 82-42-860-4489, Fax : 82-42-860-4594

e-mail : leely@krbb4680.krbb.re.kr

트의 점도를 강화하는 것으로 궁극적으로는 재료분리를 억제하고 유동성을 증가시키는 것이다. 최근 외국에서는 이러한 용도로 미생물이 생산하는 다당을 이용하고 있는 데, welan과 커들란(curdalin)이 대표적인 것이다(7, 8).

커들란은 *Alcaligenes* 또는 *Agrobacterium* 속 균주가 생산하는 포도당이 베타-1,3 결합을 한 분자가 없는 다당으로 1966년 일본의 Harada 그룹에 의해 처음 발견되었다(9, 10). 일본에서는 대성건설과 함께 약품공업이 공동으로 이러한 커들란을 콘크리트 혼화제로 사용하려는 노력을 경주해 왔으며, 1990년에 효고엔의 다가사고 공장에 년간 50-100톤 규모의 생산공장을 설립하였으며, 최근들어 고층 건물이나 교각, 그리고 고강도를 요하는 구조물의 견립에 사용하는 것으로 알려졌다(11). 한편, 커들란의 생산에 대한 연구는 캐나다의 Lawford 그룹에 의해서 많이 보고되었는데(12-14), 이들은 포도당을 탄소원으로 사용하여 최대 46 g/L의 수율로 커들란을 생산할 수 있었고 이 때 커들란의 생산성은 0.2 g/L·h 이었다(14). 본 연구자들도 *Agrobacterium* 속 균주를 생산균주로 사용하여 커들란 생산에 미치는 여러 가지 인자에 대하여 최적화 연구를 수행하여 왔다. 저렴한 탄소원으로 설탕을 사용하여 유가식 배양에서 조업한 결과 120시간 배양 시 60 g/L의 고 생산성을 달성할 수 있었다(15). 또한, 공정의 간편화를 위하여 회분식 조업에서의 최적화 연구를 수행하였고, 산소전달에 대한 영향 그리고 최적 pH profile에 대한 연구를 수행하여 유가식에서와 마찬가지로 고농도로 커들란을 생산할 수 있었다(16, 17). 본 연구의 목적은 커들란을 콘크리트 혼화제로 사용하기 위한 노력의 일환으로 시험공장 수준에서의 커들란 대량생산 공정을 확립하는 데 있다. 또한, 생산한 다당의 물성과 특성을 조사하고 콘크리트와의 혼합에 의한 콘크리트 재료분리 억제제로서의 새로운 용도를 평가하는 데 있다.

재료 및 방법

균주 및 배양조건

본 연구에 사용된 균주는 *Agrobacterium* sp. ATCC 31750으로서 종전에는 *Alcaligenes faecalis* subsp. *myxogenes*로 분류되었었다. 종배양 배지는 20 g/L sucrose, 5 g/L yeast extract, 그리고 5 g/L peptone, pH 7.0으로 이루어졌다. 발효 배양액은 리터 당 다음 조성을 포함한다: 140 g sucrose, 3.0 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 10 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 ml의 미량 원소 용액 (5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1 g ZnCl_2 , 1 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ per liter of 0.1 N HCl). 발효는 직경이 53.5 cm, 높이가 145.6 cm인 300 리터 발효조 (한국발효기, 인천)을 이용하여 수행하였다. 발효기는 총 3 개의 6 blade disk-turbine impellers를 장착하고 있으며 (두개의 18 cm impeller와 한 개의 23 cm bottom impeller), 용존산소 측정기 그리고 pH 조절기를 장착하고 있다. 300 리터 발효조에서의 조업은 다음과 같이 수행되었다. 종배양 배지(1600 ml)에 균주를 접종하여 30°C에서 17 시간 동안 전탕배양기에서 배양한 뒤, 그 배양액을 14.4 리터의 발효배지를 함유한 30 리터 발효조에 옮겼다. 30리터 발효조에서 배양액의 pH 7.0으로 조절하여 하루 동안 세포를 배양한 후, 발효액 144 리터를 포함한 주 발효조로 발효액 전부를 전가한다. 300리터 발효조에서 발효하는 동안 세

포 성장 단계에서는 배양액의 pH를 8N NaOH를 사용하여 pH를 7.0으로 조절하였고, 질소원이 고갈되는 시점에서 배양액의 pH를 3 N HCl을 사용하여 pH 5.5로 떨어뜨렸다. 통기량은 전발효과정을 통하여 0.5 vvm으로 유지하였다.

분석방법

균체와 커들란의 농도는 전조증량을 측정함으로써 결정하였다. 배양액 시료를 적절히 회석하여 4°C에서 30분 동안 6000 rpm으로 원심분리하였다. 균체와 커들란으로 이루어진 침전물을 0.01 N HCl로 세척하고 재차 원심분리하여 수확하였다. 커들란이 중성에서는 물에 불용이고 알칼리용액에서 녹는 점을 이용하여, 0.5 N NaOH를 참가하여 한시간 동안 커들란을 선택적으로 용해하였고, 균체는 6000 rpm에서 30분 동안 원심분리함으로써 분리하였다. 상등액에 존재하는 커들란은 2.0 N의 HCl을 적당한 양을 참가하여 시료의 pH를 산성으로 떨어뜨려 침전시켰다. 균체와 커들란 모두 종류수를 사용하여 세척하였으며, 무게가 변하지 않을 때까지 건조시켜 전조증량을 측정하였다. 탄소원으로 사용한 설탕(sucrose)의 농도는 dinitrosalicylic acid 방법(18)으로 측정하였다. 시료에 2N HCl을 참가하여 100°C에서 15분간 가열하여 당을 가수분해하고, 발생한 환원당을 dinitrosalicylic acid 용액을 참가하여 반응 시킨 후 흡광분석기를 사용하여 설탕의 농도를 정량하였다. 암모니아의 농도는 indophenol 방법(19)을 따랐다.

커들란 시료제조

발효배양액의 최종 pH 5.5에 녹지 않는 커들란과 균체를 원심분리하여 동시에 수확하였다. 균체와 커들란 혼합물을 동결건조기를 사용하여 말리고, 이를 크기가 250 μm 인 sieve가 장착된 분체기를 사용하여 고른 분체로 만들었다. 이렇게하여 만든 시료의 커들란 함량은 78% 이었고, 이 시료를 가지고 콘크리트 혼화제로서의 물성을 조사하였다.

용해도 및 점도분석

커들란 시료의 pH에 따른 용해도와 점도를 측정하기 위해서, 아세트신나트륨과 인산나트륨 완충용액을 최종 pH가 9-14 범위로 적정한 용액을 사용하였다. 커들란을 포함한 시료의 농도가 1% (w/v)되도록 용액에 혼탁하여 3 시간 동안 삼온에서 잘 교반하였다. 혼탁한 용액을 5000 rpm에서 30분 동안 원심분리하여, 그 상등액 중에 녹아 있는 커들란의 양을 가지고 용해도를 구하였고 점도를 측정하였다. 점도측정을 위하여 Brookfield Digital 점도계 (model DV-III, Brookfield Engineering lab., USA)를 사용하였으며 이때 사용한 방추(spindle)는 SC4-18형이었다.

결 과

300 리터 대형 발효조에서의 커들란 생산

다당 생산을 위해 발효 공정을 최적화 하는 데는 많은 변수를 고려해야 한다. 온도, pH, 영양원 공급, 교반속도, 그리고 통기량은 대표적인 변수이다. 이중에서 산소전달 속도에 직접적으로 영향을 미치는 교반속도와 통기량은 대량생산을 위한 scale-up 연구에서 반드시 고려해야 할 중요한 변수이다. 또한, 산소전달

속도는 커들란 규모로 대량 생산 시 종종 제한요인이 되므로 대량생산을 위해서 최적 교반속도 및 통기량을 찾는 것은 매우 중요하다 특히, 미생물 다당의 생산 시, 발효액의 점도가 크게 상승하기 때문에 이러한 문제는 더욱 심각해진다. 5 리터 발효조에서 최적 조건을 구한 후 그 결과를 300 리터 발효조에 적용하였다. 선행된 연구 결과로부터 5 리터 발효조에서 최대 커들란 생성이 달성되었던 교반속도 600 rpm에서의 산소전달 상수 값이 147.8 h^{-1} 이었는데, 동일한 값이 300 리터 발효조에서는 교반속도를 200 rpm 그리고 발효조 내압을 0.2 bar로 하였을 때 얻어졌다(16). 산소전달이 동일할 수 있도록 300 리터 발효조에서 교반속도를 200 rpm, 분압을 0.2 bar로 하고 기타 발효조건은 5 리터 발효 배양과 동일한 조건에서 조업하였다. 배양시간이 20시간 지난 후 배양액 내 암모니움은 고갈되었고, 이때 세포농도는 9.8 g/L 에 달하였다. 커들란은 암모니움이 고갈된 시점부터 생산되기 시작하여 120시간 배양 후 최대 65 g/L 의 커들란을 생산할 수 있었다 (Figure 1). 용존산소는 세포가 성장하면서 급격히 떨어졌고, 암모니움이 고갈되면서 세포성장을 경지하고 용존산소양은 급격히 증가하였다. 커들란 생산량이 25 g/L 에 이를 때까지는 용존산소양이 포화상태의 10%를 유지하였는데, 커들란 생산량이 증가하면서 배양액의 점도가 증가하고 이로 인하여 용존산소가 다시 떨어지는 것을 알 수 있었다. 이러한 300 리터 발효조에서 얻은 결과는 5 리터 발효조에서 얻은 결과와 매우 유사한 것으로 커들란의 발효생산은 용존산소에 의하여 크게 영향을 받음을 알 수 있었다.

커들란의 용해도와 점도

커들란을 콘크리트 재료분리를 억제할 수 있는 증점제로서의 효과를 관찰하기 위하여 커들란의 용해도와 점도를 조사하였다. Figure 2에 pH에 따른 용해도와 점도를 도시하였다. 커들란의 용해도는 pH 11.0 이하에서는 거의 불용임을 알 수 있었으며, pH가 증가함에 따라 점차로 증가하여 pH 13에서는 거의 다 녹았다. 커들란의 점도는 방추(spindle) SC4-18을 사용하여 측정하였는데 pH 11.0 이하에서는 전단속도 200 s^{-1} 에서도 거의 물과 같은 점도 ($1.5\text{--}1.6 \text{ cP}$)를 보였으나 커들란이 용해되는 pH 12.0에서는 점도가 크게 증가하여 전단속도 100 s^{-1} 에서 39.8 cP 에 달했다. 용액의 pH가 더욱 증가함에 따라 점도는 감소하였으나 낮은 pH에 비하여는 상대적으로 점도가 높았다. 커들란의 점도가 커들란의 용해도와 밀접한 상관관계를 갖고 있음을 알 수 있었는데, 시멘트 혼탁액의 pH가 약 13 정도로 강한 알칼리임을 생각할 때 커들란을 혼화세로 콘크리트에 첨가할 경우 잘 용해되고 또한 콘크리트의 점도를 증진시킬 수 있을 것으로 판단된다. 커들란 농도에 대한 점도변화를 Figure 3에 나타내었다. 각기 다른 양의 커들란을 pH 13인 용액에 녹여 점도를 관찰하였는데, 농도가 증가하면서 점도가 급격히 올라갔다.

재료분리 및 slump

커들란을 증점제로서의 역할을 신속하고 정확하게 판별하기 위하여 시멘트 slurry를 제조하여 물성을 평가하였다. 시멘트 slurry 배합비 조성은 시멘트 90g, 물 30g, 감수제 2.0 ml, 그리고 0~0.5g의 커들란 시료로 이루어졌다. 시멘트와 커들란을 잘 섞은 후, 물과 감수제를 첨가하여 1분간 고르게 잘 섞어준다. 내경 3.0 cm, 높이 50 cm인 stainless steel 원통을 유리판 위

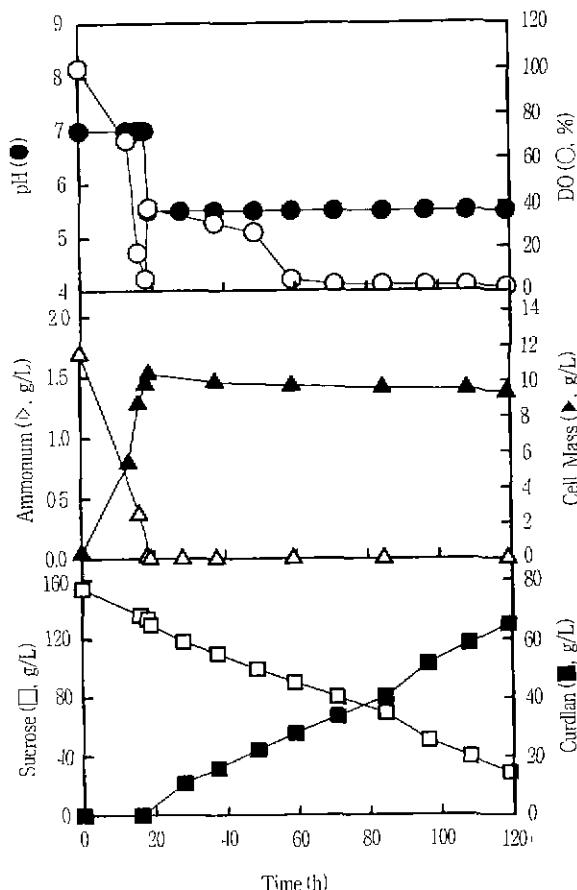


Figure 1. Production of curdlan by batch fermentation with *Agrobacterium* species in a 300-l jar fermenter

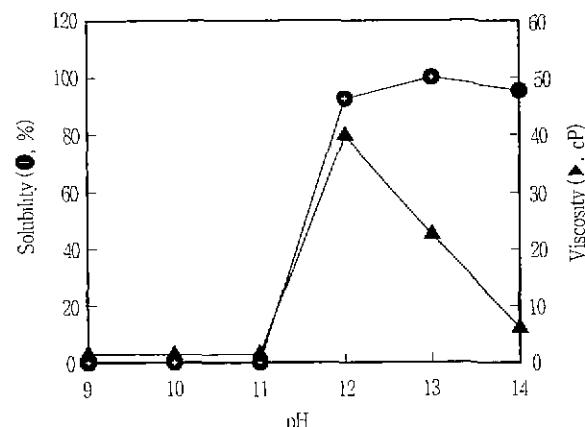


Figure 2. Solubility and viscosity of curdlan at various pHs
The samples used in this study contain 78% curdlan.

에 옮려놓고 그 안에 시멘트 slurry를 채우고 가만히 원통을 둘어 slurry가 흐르도록 한다. 재료분리는 시멘트 slurry로부터 물이 분리되는 정도로 판별하였고, 유동성은 slump flow로 측정하였다. Figure 4는 커들란을 시멘트 slurry에 첨가했을 때와 하지 않았을 때와의 flow 경향을 단적으로 보여준다. 커들란을 첨가하지 않았을 때는 물이 slurry로부터 분리되었으나 커들란을 slurry 120g 당 0.5g의 소량을 첨가하였을 때에도 시멘트

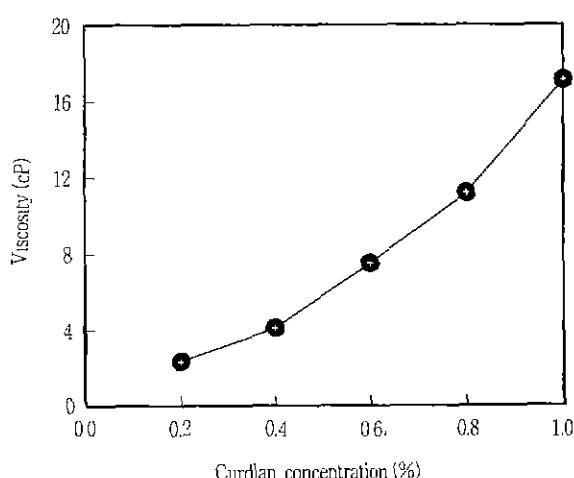


Figure 3. Effect of the sample concentration on viscosity of curdalan. The samples used in this study contain 78% curdalan.

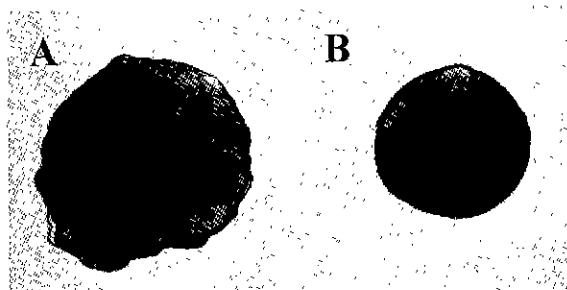


Figure 4 Comparison of cement slurry for segregational resistance. (a) no curdalan and (b) 0.5 g of the sample containing 78% curdalan. Cement slurry consists of 30 g water, 90 g cement, and 2.0 ml plasticizer

Table 1. Effect of curdalan concentration on segregational resistance and slump of cement flow.

sample amount ^a (g)	segregational resistance ^b	slump ^c (cm)
none	++	15.0 X 15.5
0.2	+	14.5 X 14.6
0.3	-	13.0 X 13.2
0.4	--	12.7 X 12.7
0.5	--	12.1 X 12.2
0.6	--	11.8 X 12.0

Cement slurry consists of 30 g water, 90 g cement, 2.0 ml plasticizer, and the predetermined amount of the sample

^a The sample contained 78% (w/w) curdalan.

^b "+" and "-" designates the degree of segregation of the material.

^c Slump means the flow distance of the cement slurry.

slurry로부터 물이 분리되지 않고 균일한 유통성을 보였다. Table 1에 커들란 첨가량에 따른 재료분리 여부와 유통성을 나타내었다. 커들란 첨가량이 0.3 g 이상일 때 재료분리는 헌저히

감소하였으며, 유동성을 나타내는 slump 값(퍼진 정도를 직경을 채서 나타냄)은 첨가량이 증가하면서 감소하였다. 현장에서 pilot-scale의 물성 조사를 하였는데, 콘크리트 1 m³ 당 0.33 kg의 커들란을 첨가하였을 때 재료분리는 헌저히 감소하였으며, 압축강도도 증가하였다.

토 론

본 연구를 통하여 시험공장 수준인 300 리터 발효조에서 커들란을 고농도로 생산할 수 있었으며, 생산된 커들란이 알칼리 영역에서 고점도를 나타냄으로써 콘크리트 혼화제로서 재료분리를 억제하는 데 중요한 역할을 하고 있음을 잘 보여주고 있다. 선행된 연구로부터 충분한 산소의 공급은 세포 성장에 유리할 뿐만 아니라 커들란 생산에도 매우 중요함을 알 수 있었고, 낮은 pH에서 커들란 생성은 저해되지 않는 반면 용해도가 떨어짐을 알 수 있었다. 이러한 결과를 토대로 커들란을 고농도로 대량 생산하기 위하여 300 리터 발효조에서 교반속도를 비교적 높게 (200 rpm) 유지하고, 커들란 생산 단계에서 발효액의 pH를 5.5로 전이하여 최종 950 kg의 커들란을 생산할 수 있었다. 커들란의 회수 방법은 매우 간단한 테, pH 5.5에서 불용성인 점을 이용하여 원심분리에 의하여 균체와 함께 수확할 수 있다. 커들란을 건조 시킨 후 분체로 제조하는 과정에서 약 85%의 수율로 커들란을 확보할 수 있었다. 최종 분체 내의 커들란 함유량은 78%이었으며 나머지는 균체와 재성분으로 이루어짐을 알 수 있었다. 이렇게 생산한 커들란을 포함한 분체를 초유동성 콘크리트 제조 시 0.1% (w/v)만 첨가하더라도 콘크리트의 재료분리를 헌저히 억제할 수 있음을 알 수 있었다. 결론적으로, 본 연구자들은 조업이 간편한 화분식발효를 통하여 고농도로 커들란을 대량생산할 수 있었으며, 효율적이고 저렴한 분리공정을 개발하였다. 이렇게 제조한 커들란을 소량 콘크리트에 첨가하여 재료분리 억제 효과가 우수하였는 바, 커들란의 산업적 생산에 커다란 가능성을 부여한다.

한편, 커들란은 산성과 중성에서 물에 녹지 않고, 열을 가하면 젤이 형성되는 특이한 성질이 있어, 국수, 두부, 힘버거 젤 등의 식품첨가물로 그 수요가 급증하고 있다(20). 또한, 커들란은 생체 내에서 소화효소에 의하여 잘 분해되지 않기 때문에 식이 섬유로서 응용이 가능하다. 더욱이 커들란은 베타-1,3 글루can으로 항암활성 및 anti viral activity가 다른 다당에 비하여 탁월하다고 보고되어(21) 고순도 경제공정이 개발되면 앞으로 의약품 소재로서의 사용도 기대된다.

요 약

본 연구에서는 미생물 다당의 일종인 커들란을 콘크리트 혼화제로 사용하기 위하여 시험공장 수준에서의 커들란 대량생산 공정을 확립하고, 생산한 다당의 물성과 특성을 조사하고 콘크리트와의 혼합에 의한 콘크리트 재료분리 억제제로서의 새로운 용도를 평가하였다.

커들란을 300 리터 발효조에서 고농도로 대량 생산하기 위하여, 커다란 규모로 대량 생산 시 종종 재한요인이 되는 산소 전달속도를 높게 유지할 수 있는 최적 교반속도와 세포성장 단계와 커들란 생산 단계에서의 배양액 pH를 전이하는 방법을 적용

하였다. 교반속도를 200 rpm으로 유지하여 pH를 7.0으로 조절하여 20 시간 배양 후, 배양액 내 암모니움은 고갈되었고, 이때 세포농도는 9.8 g/L에 달하였다. 질소원이 고갈되고 커들란이 생산되는 단계에서 발효액의 pH를 5.5로 전이하여 최종 65 g/L의 커들란을 120 시간 안에 생산할 수 있었다. 커들란의 용해도는 pH 11.0 이하에서는 거의 불용임을 알 수 있었으며, pH가 증가함에 따라 점차로 증가하여 pH 13에서는 거의 다 녹았다. 커들란의 점도는 pH 12에서 가장 높았고 pH 13에서도 높은 점도를 나타내었다. 시멘트 혼탁액의 pH가 약 13 정도임을 생각할 때 커들란을 혼화제로 콘크리트에 첨가할 경우 잘 용해되고 또한 콘크리트의 점도를 증진시킬 수 있을 것으로 판단된다. 커들란을 증점제로서의 역할을 신속하고 정확하게 판별하기 위하여 시멘트 slurry를 제조하여 물성을 평가하였다. 커들란을 침가하지 않았을 때는 물이 slurry로부터 분리되었으나 커들란을 소량 침가하였을 때에도 시멘트 slurry로부터 물이 분리되지 않고 균일한 흐름 경향을 보았다. 결론적으로, 본 연구자들은 조업이 간편한 회분식 발효를 통하여 고농도로 커들란을 대량생산할 수 있었으며, 효율적이고 저렴한 분리공정을 개발하였다. 이렇게 재조한 커들란을 소량 콘크리트에 첨가하여 재료분리 억제 효과가 우수하였는 바, 커들란의 산입적 생산에 커다란 가능성을 부여한다.

감 사

본 연구는 선도기술 개발사업 중 “신기능 생물소재 기술개발” 과제의 하나로 과학기술부의 지원으로 수행되었습니다. 공동연구를 수행하는 바 아낌없는 협조를 해주신 진웅화학 연구팀 여러분께도 감사드립니다.

참 고 문 현

- 1 Crescenzi, V. (1995). Microbial Polysaccharides of Applied Interest: Ongoing Research Activities in Europe, *Biotechnol. Prog.*, **11**, 251-259.
- 2 Rosenberg, E. (1993). Microbial Diversity as a Source of Useful Biopolymers, *J. Ind. Microbiol.*, **11**, 131-137.
- 3 Yalpani, M. and P. A. Sandford (1987). Commercial Polysaccharides: Recent Trends and Developments. In M. Yalpani (ed.), Industrial Polysaccharides, Progress in Biotechnology, Vol. 3, pp 311-335, Elsevier, Amsterdam.
- 4 Linton, J. D., S. G. Ash, L. Huybrechts (1991). Microbial Polysaccharides. In Byrom, D. (ed.), Biomaterials, pp 215-261, Macmillan Publishers Ltd. and ICI Biological Products Business, UK.
- 5 Paul, F., A. Morin, and P. Monsan (1986). Microbial Polysaccharides with Actual Potential Industrial Applications. *Biotechnol. Adv.*, **4**, 245-259.
- 6 정재동 (1998). 콘크리트용 회학혼화제: 최근의 기술동향. *콘크리트학회지*, **10**(1), 65-72.
- 7 United States Patent 4,963,668 (1990). Welan Gum in Cement Compositions.
- 8 United States Patent 5,573,589 (1996). Cement Compositions Containing a Sulfated Polysaccharide and Method.
- 9 Harada, T., K. Fujimori, S. Hirose, and M. Masada (1966). Growth and β -Glucan 10C3 K Production by a Mutant of *Alcaligenes faecalis* var *myxogenes* in Defined Medium, *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 764-769.
- 10 Phillip, K. R and H. G. Lawford (1983). Curdlan: Its Properties and Production in Batch and Continuous Fermentations. *Prog. Ind. Microbiol.*, **18**, 201-229.
- 11 Anonymous (1996). Bioproducts: Bio-concrete, *Bio Industry* (Japan), **13**, 56-57.
- 12 Lawford, H. G. and J. D. Rousseau (1989). Effect of Oxygen on the Rate of β -1,3-Glucan Microbial Exopolysaccharide Production, *Biotechnol. Lett.*, **11**, 125-130.
- 13 Lawford, H. G. and J. D. Rousseau (1991). Bioreactor Design Considerations in the Production of High-quality Microbial Exopolysaccharide, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **28/29**, 667-684.
- 14 Lawford, H. G. and J. D. Rousseau (1992). Production of β -1,3-Glucan Exopolysaccharide in Low Shear Systems, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **34/35**, 587-612.
- 15 Lee, I. Y., W. T. Seo, G. J. Kim, M. K. Kim, C. S. Park, and Y. H. Park (1997). Production of Curdlan Using Sucrose or Sugar Cane Molasses by Two-step Fed-batch Cultivation of *Agrobacterium* Species, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **18**, 255-259.
- 16 Lee, I. Y., M. K. Kim, J. H. Lee, W. T. Seo, J. K. Jung, H. W. Lee, and Y. H. Park (1998). Influence of Agitation Speed on Production of Curdlan by *Agrobacterium* Species, *Bioprocess Eng.*, in press.
- 17 Lee, J. H., I. Y. Lee, M. K. Kim, and Y. H. Park (1998). Optimal pH Control of Batch Process for Production of Curdlan by *Agrobacterium* Species, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, submitted.
- 18 Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar, *Anal. Chem.*, **31**, 426-428.
- 19 Srienc, F., B. Arnold, and J. E. Bailey (1984). Characterization of Intracellular Accumulation of Poly- β -hydroxybutyrate (PHB) in Individual Cells of *Alcaligenes eutrophus* H16 by Flow Cytometry, *Biotechnol. Bioeng.*, **26**, 982-987.
- 20 Takeda technical report. (1997). Pureglucan: Basic Properties and Food Applications. Takeda Chemical Industries, Ltd. Japan.
- 21 Takeda-Hirokawa, N., L. P. Neoh, H. Akimoto, H. Kaneko, T. Hishikawa, I. Sekigawa, H. Hashimoto, S. Hirose, T. Murakami, and N. Yamamoto (1997). Role of Curdlan Sulfate in the Binding of HIV-1 gp120 to CD4 Molecules and the Production of gp120-mediated TNF-alpha, *Microbiol. Immunol.*, **41**, 741-745.