

## Bacillus coagulans CE-74가 생산하는 Biopolymer의 물성

이선호·손규목\*·최 청†

영남대학교 식품가공학과

\*창원전문대학 식품과학계열

### Rheological Properties of Biopolymer Produced by *Bacillus coagulans* CE-74

Seon-Ho Lee, Gyu-Mok Son\* and Cheong Choi†

Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

\*Division of Food Science, Changwon Junior College, Changwon 641-771, Korea

#### Abstract

A highly viscous biopolymer from *Bacillus coagulans* CE-74 was purified and its rheological properties were studied. The rheological properties of biopolymers produced by *Bacillus coagulans* CE-74 were studied at the temperature ranges with 20~80°C, at the concentration of 0.5~4.0%, at the pH ranges from 3 to 11 and at the shear rate of 7.34~73.38 sec<sup>-1</sup>. The apparent viscosity of biopolymer was decreased with increasing shear rate, and thereby biopolymer showed pseudoplastic characteristics. Biopolymer solution showed a characteristic of non-Newtonian fluid properties. At the concentration of 1%, the consistency index and the flow behavior index were shown at 2.64 poise · sec<sup>n</sup> and 0.8571, respectively. All dispersions were pseudoplastic fluids described accurately by Herschel-Bulkley model. The change of the biopolymer viscosity on pH showed the highest value at the pH 7.0 and it showed lower at acidic condition than at alkaline condition comparatively.

**Key words:** biopolymer, *Bacillus coagulans*, rheology

#### 서 론

새로운 고분자 기술의 발달과 더불어 현대에 들어서 공업적으로 합성된 수많은 고분자 물질들이 생산되고 있다. 이들 합성 고분자는 동식물이나 해조류 등 자연계로부터 추출한 고분자와 함께 많이 사용되고 있다. 최근에는 이들 고분자 물질들을 대체하기 위한 방법으로 미생물 유래의 biopolymer에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 미생물은 다양한 biopolymer를 생산한다고 알려져 있으며, 이들 미생물이 생산한 biopolymer는 이미 알려진 고분자 물질과는 다르게 생산조건에 따라 구성성분, 결합순서, 분자량, 결합양식, 결합위치 및 결합지가 다른 다양한 형태로 존재한다. 또한 그에 따라 독특한 물성과 생리활성을 나타낼 수 있으므로 각종 산업의 신소재로서 이용 가능성이 크며, 미생물을 이용한 발효법에 의해 대량 생산할 수 있는 장점을 가지고 있어 점차적으로 이용가치가 커질 것으로 예상된다.

미생물이 생산하는 biopolymer들은 xanthan gum(1), dextran(2), pullulan(3-6), levan(7), gellan gum(8,9),

poly-β-hydroxybutyrate(PHB)(10,11) 및 polyglutamic acid(PGA)(12-29) 등이 활발히 개발 연구되어지고 있다. 이들 biopolymer들은 그 종류와 이용도가 다양하고 공간적, 환경적 제한을 받지 않으며 유전자 조작 등을 이용한 수율 증가와 더불어 독특한 기능을 갖는 새로운 biopolymer의 개발과 응용이 가능하다. 그리고 독특한 물성적 성질이 있음을 이용하여 식품공업뿐만 아니라 화학공업에서 물성개량제, 유화제, 안정제, 응고제, 피막형성제, 보습제 및 저 칼로리 음식의 성분으로 사용하거나 액체의 점성을 증가시켜 식품의 질감과 감각적 특성을 부여하는 등 다양한 용도로 이용되고 있다.

본 연구에서는 *Bacillus coagulans* CE-74가 생산하는 biopolymer의 물성학적 특성을 검토함으로써 산업적 이용을 하기 위한 기초자료를 마련하고자 하였다.

#### 재료 및 방법

##### 균주 및 배양

Biopolymer를 생산하는 균주를 분리하기 위하여 대구

† To whom all correspondence should be addressed

및 경북지방에서 토양, 산, 하천, 퇴비 및 메주 등을 균원시료로 채취하여 점질물을 생산하는 균주를 분리하였으며, 그 중 점질물 생성능이 우수한 균들을 2차 선별하였다. 2차 선별된 균주 중 배양시 점도 및 biopolymer 생산성이 가장 높았던 *Bacillus coagulans* CE-74(12)를 실험에 사용하였다. Nutrient broth에서 예비 배양한 후 증자한 대두에 1%되게 접종하여 72시간 배양하였다.

Biopolymer의 분리

배양물에 증류수를 가하여 진탕 추출하고 9,000×g로 원심분리하여 균체 및 불용성물질을 제거하였다. 상정액에 동량부피의 ethanol을 첨가하여 교반봉으로 교반하는 조작을 수회 반복하여 고점성의 biopolymer를 얻었다. 이후 DEAE-cellulose를 이용하여 분획한 결과 NaCl로 용출시킨 분획(12)이 점성이 우수했으며 Sephadex G-100, Sepharose CL-2B를 통과시킨 후 증류수로 투석하여 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

유동학적 특성의 해석

Brookfield viscometer(model: LVDVI, USA)를 사용하여 biopolymer의 농도, 온도, pH의 변화에 따른 점도를 측정하였다. 유동학적인 특성의 해석을 위하여 Herschel-Bulkley model식(1)의 방정식을 이용하여 점도도 지수(K, consistency index, Pa·s<sup>n</sup>)와 유동거동지수(n, flow behavior index)를 구하였으며 이때 rheology 특성 값인 항복응력(C, yield stress, Pa)은 Casson model식(2)을 이용하여 구하였다.

$$\tau = C + K \gamma^n \dots\dots\dots (1)$$

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{C} + K\sqrt{\gamma} \dots\dots\dots (2)$$

- τ : Shear stress, Pa
- C : Yield stress, Pa
- γ : Shear rate, 1/s
- K : Consistency index, Pa·s<sup>n</sup>
- n : Flow behavior index

유동활성화 에너지

시료의 유동특성에 대한 온도의 영향을 보기 위해 온도의 변화에 따른 겔보기 점도를 측정하여 유동활성화 에너지(activation energy; Ea)를 구하였다. 즉, 일정 전단 속도에서 1/T(°K<sup>-1</sup>)과 ln(η<sub>app</sub>)를 도식하여 구한 회귀직선으로부터 기울기와 절편을 구해 Arrhenius식으로부터 유동활성화 에너지를 계산하였다. 겔보기 점도와 유동활성화 에너지 사이의 상관식인 Arrhenius식은 다음과 같다.

$$\eta_{app} = A \exp(Ea/RT) \dots\dots\dots (3)$$

- η<sub>app</sub> : apparent viscosity, Pa·s

- A : Infinite apparent viscosity, Pa·s
- Ea : activation energy, J/kg·mol
- R : gas constant, J/kg·mol·K
- T : absolute temperature, K

결과 및 고찰

전단속도에 따른 겔보기 점도의 변화

3%, 4%의 biopolymer 용액에 대하여 전단속도를 변화시키면서 25°C에서 겔보기 점도를 측정된 결과는 Fig. 1에서와 같다. 4%농도가 3%농도보다 각 전단속도에서 겔보기 점도가 높았으며, 전단속도의 증가에 따라 겔보기 점도는 감소하였다. 이와 같은 현상은 의가소성을 갖는 비뉴턴 유체일 때 전형적으로 나타나는 특성으로 다당의 경우는 대부분 비뉴턴 유체 특성을 나타낸다. 전단 속도가 증가됨에 따라 겔보기 점도가 감소하는 점으로 미루어 biopolymer-용액도 의가소성 유체의 흐름 특성을 나타낼 수 있다. 전단속도에 따른 겔보기 점도는 전단속도가 낮을 때 급격히 감소하였다. 그러나 전단속도가 증가할수록 그 감소 폭이 낮아져서 일정한 값에 가까워졌으며, 본 biopolymer 용액은 전단속도가 높아져서 극한 전단속도가 되면 전단속도에 영향을 받지 않고 일정한 값의 극한점도에 이를 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 Yang(7), Ahn과 Chung(30) Son 등(31)의 결과에서의 점도의 변화와 잘 일치하였다.

유동특성의 해석

시료의 구체적인 유동 특성을 연구하기 위하여 전단속도를 변화 시키며 전단 응력을 측정하고 Herschel-Bulkley model식과 Casson 상태 방정식에 적용하였다. 의가소성 유체를 포함한 대부분의 비뉴턴 유체의 흐름 거

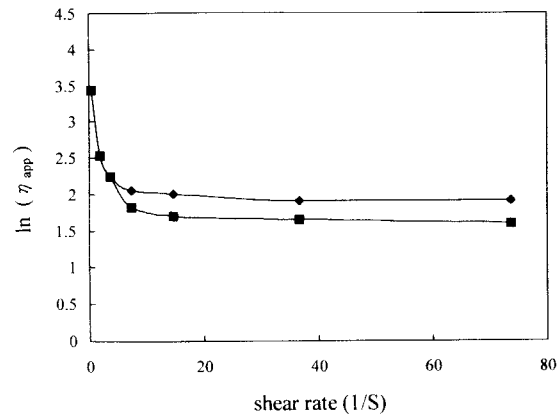


Fig. 1. Relationship between shear rate and apparent viscosity according to 3% and 4% concentration of biopolymer. ◆: 4% of biopolymer, ■: 3% of biopolymer.

동은 항복응력을 적용한 리올로지 상태 방정식인 Herschel-Bulkley 상태 방정식으로 잘 설명할 수 있다. 이 상태 방정식을 적용하기 위해서 먼저 항복응력을 구하여야 하는데 Casson 상태 방정식을 이용하여  $\sqrt{\tau}$  와  $\sqrt{\gamma}$  를 도식하고 (Fig. 2) 항복응력을 구하여 Table 1에 나타내었다. 시료의 농도에 관계없이 모두 직선관계를 보여 Casson 모델에 잘 적용되었다. 전단응력에서 항복응력을 뺀 값( $\tau - C$ )에 대한 전단속도  $\gamma$ 의 관계를 양대수 그래프로 도식화하여 회귀직선을 얻을 수 있게 되면 의가스성 유체의 흐름을 보인다. 따라서  $\ln(\gamma)$ 의 변화에 따른  $\ln(\tau - C)$ 값을 회귀분석하여 대수 회귀직선을 구하고(Fig. 3) biopolymer의 유동특성을 해석하였다. Biopolymer 용액은 0.5~4%농도 범위에서 전단응력( $\tau$ )에서 항복응력(C)를 빼 값과 전단속도( $\gamma$ )의 양대수 값이 모두 직선관계를 보여 의가스성 유체의 흐름을 나타내었다. 따라서 biopolymer의 흐름 거동은 Herschel-Bulkley 상태 방정식에 잘 적용되었다. 선형 최소사승법에 따라 직선의 기울기 및 절편값으로부터 각각 유동지수(n값)와 점조도 지수(K값)를 구하였으며 그 결과를 Casson식으로부터 구한 항복응력(C)과 함께 Table 1에 나타내었다. 본 biopolymer용액은 유동지수 n값이 1보다 작고 항복응력은 0보다 커서 항복응력을 갖는 의가스성 유체로 거동하였다. Casson식으로부터 구한 항복응력값은 biopolymer 농도 0.5, 1, 2, 3, 4%에서 각각 0.4843, 0.8568, 1.1289, 1.9939 및 2.8357로 시료농도의 증가에 따라 항복응력값이 증가하였다. 일반적으로

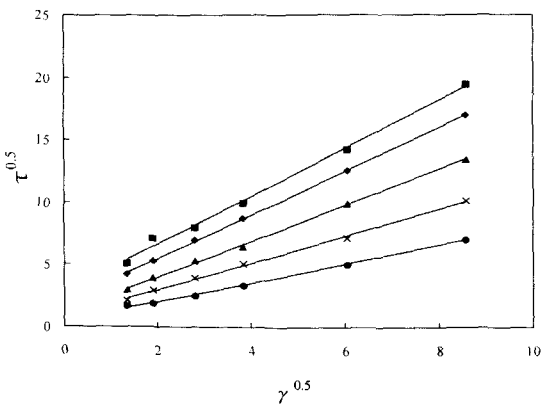


Fig. 2. Relation between  $\gamma^{0.5}$  and  $\tau^{0.5}$  according to different concentration of biopolymer.

Table 1. Rheological parameters of the biopolymer solutions from Herschel-Bulkley equation

Concentration (%)	n	K	C	r <sup>2</sup>
0.5	0.8581	1.14	0.4843	0.9941
1.0	0.8571	2.64	0.8568	0.9979
2.0	0.8381	4.76	1.1289	0.9978
3.0	0.7736	9.86	1.9939	0.9989
4.0	0.6918	17.47	2.8357	0.9861

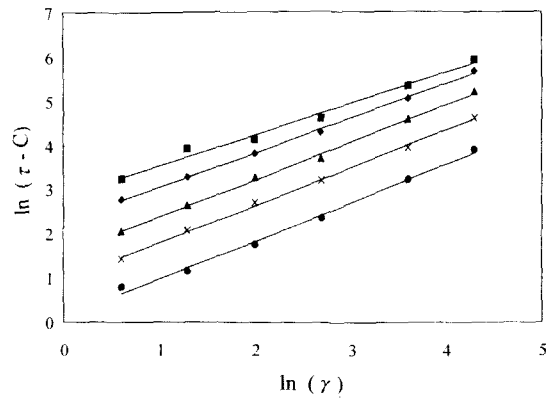


Fig. 3. Concentration dependency of biopolymer solution from Herschel-Bulkley equation.

■: 4%, ◆: 3%, ▲: 2%, ×: 1%, ●: 0.5%

로 항복응력값은 입자간 2차 결합력 등 구조 형성 능력과 밀접한 관련을 갖는 값으로 알려져 있다(32). 일반적으로 고분자 용액의 경우 농도가 증가할수록 분자간의 엉킴 밀도가 증가하고, 이러한 엉킴의 정도에 따라 외부에서 가해지는 힘에 대한 반응이 다르게 나타나게 된다. 따라서 농도증가에 따라 항복응력이 증가하는 것은 농도 증가에 따라 입자간 결합력과 구조 형성의 정도가 커지고 분자간의 엉킴밀도가 커짐에 따라 항복응력값도 증가하는 것으로 설명할 수 있다. 유동지수 n값 역시 농도의존성을 보여서 농도가 높아질수록 0.85~0.69로 점차 감소하여서 농도가 높을수록 의가스성이 강해지는 경향을 보였다. 이러한 현상은 biopolymer 분자 사슬의 엉킴 정도에 의한 것으로 농도가 증가함에 따라 분자간의 엉킴밀도가 증가하기 때문에 각 사슬의 운동성이 방해받고 분자운동이 제한되며, 외부에서 가해진 변형에 의해 흐트러진 엉킴을 복원하는데 더 많은 시간이 필요하게 된다(33). 따라서 biopolymer농도의 증가로 분자운동의 제한을 받아 유동지수 n값이 감소하는 것으로 생각된다. 점조도 지수 K값은 점도와 상응하는 값으로 시료의 농도가 증가함에 따라 증가하였다. 이는 biopolymer 농도가 증가함에 따라 분자간의 엉킴 정도가 커지고 이에 따라 분자운동이 제한되며, 결과적으로 점도가 커져 K값이 증가하는 것으로 사료된다.

pH의 영향

pH 변화가 biopolymer용액의 점도에 미치는 영향을 조사하기 위해 pH 3에서 11까지의 완충용액에 biopolymer를 용해시켜 하룻밤 방치시킨 후 겔보기 점도를 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 점도의 pH 안정성은 pH 7에서 가장 안정하였다. 본 biopolymer 용액은 알칼리 쪽에서는 비교적 pH에 안정한 경향을 보였으며 산성범위에서는 급격하게 점도가 낮아졌다. Lee와 Lee(34)는 중성 pH 부근에서 겔보기 점도가 가장 높고 산성에서 낮은 현상은 용액의

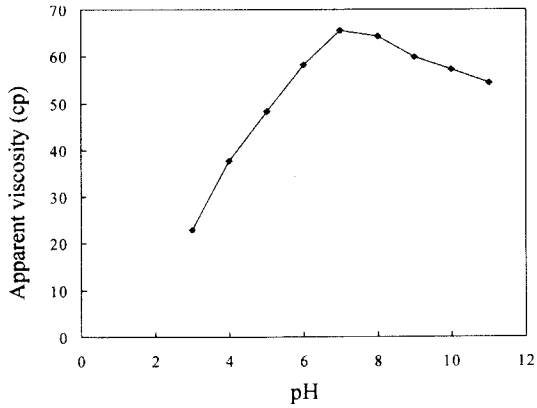


Fig. 4. pH dependency of biopolymer solutions.

pH가 polymer 분자중 음전하 group의 pKa값보다 낮을 때 이온화가 억제되어 분자간 상호작용이 감소하기 때문에 나타나며, 산성부근에서의 급격한 점도의 저하 현상은 이온화 억제로 분자간의 상호 작용이 감소하기 때문인 것으로 설명한 바 있다. 그러나 그 이상의 pH에서는 고분자의 하전그룹들이 이온화되어 서로 정전기적 반발이 일어나서 다소 사슬의 신장을 일으키기 때문에 고유점도가 커지게 된다.

본 실험에 사용한 시료는 전보(12)에서의 biopolymer 구성성분 분석결과 polyglutamate였는데, 산성 수용액에서 낮은 점도를 보인 시료 용액은 pH가 증가됨에 따라 carboxylic acid(pKa=2.27)의 이온화가 진행되어 carboxylic acid 분자 사이의 정전기 발생으로 분자가 펼쳐져서 용액 점도가 상승한다. 이러한 분자의 신장은 carboxylic acid 분자의 수소 결합이 절단될 때까지 진행되며 수소결합 절단 후에는 이온화된 polymer가 점유하는 체적이 급격하게 확장된다(28). 그러므로 본 시료의 점도 변화는 pH에 따른 수용액 중의 polymer의 형태 변화에 원인이 있으며 특히 산성 영역에서는 가장 낮은 값을 보여 산성 용액에서는 random구조를 가질 것으로 추정된다.

온도의 영향

시료 biopolymer 용액의 온도 의존성을 살펴보기 위하여 온도변화에 따른 biopolymer 용액의 점도를 측정하였으며 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. Biopolymer 용액은 온도가 상승됨에 따라 점도가 계속 낮아지는 경향을 보였으며 온도를 다시 저하시켰을 경우에는 점도가 서서히 증가하였다. 일반적으로 biopolymer는 온도가 증가함에 따라 분자간의 활발한 운동이 일어남으로써 흐름에 대한 저항성이 약해진다(32). 이러한 물성으로 볼 때 biopolymer 용액은 가역용액으로 식품산업중 젤리가공 분야 등에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

온도의 영향을 살펴보기 위하여 온도를 변화시키면서 73.38 s<sup>-1</sup>의 전단속도로 유지하고 시료의 농도를 1~4%

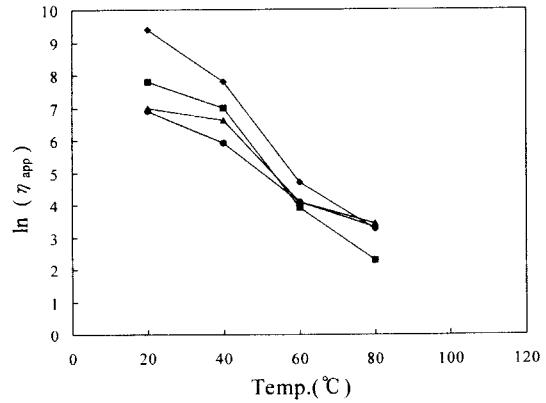


Fig. 5. Effect of temperature on the viscosity of biopolymer solutions.

◆: 6 rpm, ■: 12 rpm, ▲: 30 rpm, ●: 60 rpm

로 하여 겔보기 점도를 측정하였다. 온도를 증가시킬수록 겔보기 점도는 감소하였다. Arrhenius식에 의해 유동활성화 에너지를 구하기 위해 각 전단속도별로 ln(η<sub>app</sub>)와 1/T을 도식한 결과는 Fig. 6과 같다. 그림에서 보는 바와 같이 겔보기 점도와 온도의 역수와의 관계가 직선관계가 성립되어 Arrhenius식이 온도 의존성을 나타내는 예측 모델로 적합한 것으로 판단되었다. Fig. 6의 값을 기초로 하여 Arrhenius식에 따라 frequency factor(A값)와 유동활성화 에너지(activation energy; Ea)를 구한 결과는 Table 2과 같다. 유동활성화 에너지는 내부 결합력과 같

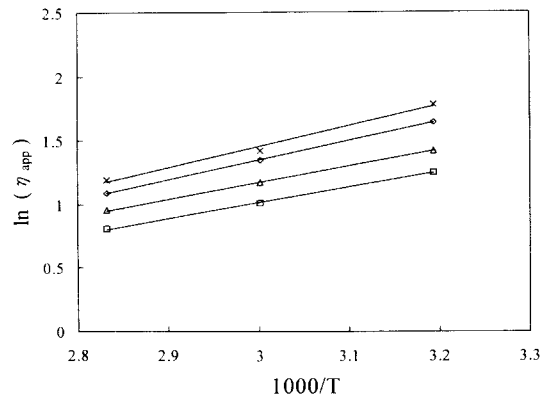


Fig. 6. Arrhenius plot of viscosity of biopolymer solutions of various shear rate.

□: 1%, △: 2%, ○: 3%, ×: 4%

Table 2. Apparent viscosity as a function of temperature for biopolymer solution

Concentration (%)	Ea	A (× 10 pa·s)	r <sup>2</sup>
1	1.2179	0.7086	0.9979
2	1.2732	0.7031	1.0000
3	1.5153	0.4057	0.9989
4	1.6125	0.3365	0.9989

은 유동에 따른 저항력과 관계있는 값으로 시료의 첨가량이 1, 2, 3, 4%로 늘어남에 따라 활성화 에너지는 1.2179, 1.2732, 1.5153, 1.6125 J/kg·mol로 증가하였다. 이는 시료 용액의 농도가 높아짐에 따라 점도가 증대하고 유동에 따른 저항력이 커지기 때문으로 사료된다. Biopolymer-용액의 유동활성화 에너지는 1.2179~1.6125 J/kg·mol로 비교적 적었다. 이와 같은 낮은 유동활성화 에너지는 내부 결합력, 즉 유동에 따른 저항력이 적은 것을 의미하며 따라서 유동에 대한 온도 의존성이 크지 않음을 나타내고 가온처리를 하여도 점도 감소는 크지 않음을 의미하므로 (35) 실제 가공시 식품산업에 적용하기가 용이하리라 판단된다.

## 요 약

미생물이 생산하는 biopolymer의 기능성 탐색 및 용도 개발을 위하여 *Bacillus coagulans* CE-74에 의해 생합성된 고점성의 biopolymer의 물성학적 특성을 조사하였다. 생산된 biopolymer의 유동 특성을 온도 20~80°C, 농도 0.5~4%, pH 3~11에 대하여 전단속도 7.34~73.38 sec<sup>-1</sup>의 범위에서 연구하였다. Biopolymer 용액은 전단속도의 증가에 따라 겔보기 점도가 감소하였으며, Herschel-Bulkley을 따르는 비뉴우톤체의 의가소성의 유동 특성을 나타내었다. 1% 농도에서 점조도지수(consistency index)와 유동지수(flow behavior index)는 각각 2.64poise 1·sec<sup>n</sup>와 0.8571였다. pH에 따른 점도 변화는 pH 7.0에서 최고를 보였으며, 알칼리 조건일 때에 비해 산성 조건에서 상대적으로 낮은 값의 점성을 보였다.

## 문 헌

- Kim, J.H., Yoo, Y.J., Lee, K.Y. and Yun, J.S. : A study on the production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **5**, 25-36 (1990)
- Yoon, M.H. and Koo, Y.M. : Mechanism of dextran synthesis by dextranucrase. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **9**, 1-7 (1994)
- Jeong, Y.I., Kim, D.W., Kim, J.H., Park, D.H. and Lee, K.Y. : A study on the pullulan production using whey. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **9**, 91-97 (1994)
- Shin, Y.C. and Byun, S.M. : Effects of pH on the elaboration of pullulan and the morphology of *Aureobasidium pullulans*. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **19**, 193-199 (1991)
- Yim, M.H., Son, H.S., Chung, N.H. and Yang, H.C. : Studies on the production of pullulan by *Aureobasidium pullulans*. *Korean J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **12**, 219-224 (1984)
- Na, Kun., Lee, K.Y. and Park, D.H. : Effects of pH and nitrogen sources on the pullulan production by *Aureobasidium pullulans*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **11**, 497-503 (1996)
- Yang, J.Y. : Production and characterization of levan by *Bacillus polymyxa* D1. *Ph.D. Thesis*, Seoul National Univ., Korea (1991)
- Chung, B.W., Park, S.H. and Dewey Ryu, D.Y. : Production of gellan gum by *Pseudomonas elodea*(I)- Estimation of metabolic parameters and rheological properties of culture broth. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **5**, 235-240 (1990)
- Chung, B.W., Lee, E.M., Chang, K.Y. and Kim, C.Y. : Gellan-type microbial polysaccharide production in continuous fermentation. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **9**, 85-90 (1994)
- Kim, J.Y., Kim, S.W., Oh, D.K., Lim, H.S. and Kim, J.H. : Optimal production of poly-β-hydroxybutyrate and polysaccharide methylan by *Methylobacterium organophilum* from methanol. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **10**, 176-182 (1995)
- Na, J.W., Kim, C.K. and Kim, S.I. : Control of drug release by poly β-hydroxybutyric acid. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 79-83 (1991)
- Lee, S.H., Seung, T.S., Choi, C. : Purification and characterization of biopolymer *Bacillus coagulans* CE-74. *Agric. Chem. Biotechnol.*, **42**, In press (2000)
- Goto, A. and Kunioka, M. : Biosynthesis and hydrolysis of poly (γ-glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IFO 3335. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1031-1035 (1992)
- Mclean, R.J.C., Beauchemin, D., Clapham, L. and Beveridge, T.J. : Metal-binding characteristics of the gamma-glutamyl capsular polymer of *Bacillus licheniformis* ATCC 9945. *App. Environ. Microbiol.*, **56**, 3671-3677 (1990)
- Hara, T., Shiraishi, A., Fujii, H. and Ueda, S. : Specific host range of *Bacillus subtilis* (natto) phages associated with polyglutamate production. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2373-2374 (1984)
- Fujii, H. : On the formation of mucilage by *Bacillus natto*. Part I. Factors affecting the formation of mucilage. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **36**, 1000-1004 (1962)
- Hara, T. and Ueda, S. : Regulation of polyglutamate production in *Bacillus subtilis* (natto): Transformation of high PGA productivity. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 2275-2281 (1982)
- Chung, W.S. and Ko, Y.H. : Transformation and mutation of *Bacillus licheniformis* 9945a producing γ-poly (glutamic acid). *Agric. Chem. Biotechnol.*, **40**, 173-177 (1997)
- Ito, Y., Tanaka, T., Ohmachi, T. and Asada, Y. : Glutamic acid independent production of poly (γ-glutamic acid) by *Bacillus subtilis* TAM-4. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1239-1242 (1996)
- Cheng, C., Asada, Y. and Aida, T. : Production of γ-polyglutamic acid by *Bacillus licheniformis* A35 under denitrifying conditions. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2369-2375 (1989)
- Thorne, C.B., Gomez, C.G., Noyes, H.E. and Housewright, R.D. : Production of glutamyl polypeptide by *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **68**, 307-315 (1954)
- Troy, F.A. : Chemistry and biosynthesis of the poly (γ-D-glutamyl) capsule *Bacillus licheniformis*. *J. Biological Chem.*, **248**, 305-315 (1973)
- Kubota, H., Matsunobu, T., Uotani, K., Takebe, H., Satoh, A., Tanaka, T. and Taniguchi, M. : Production of poly (γ-glutamic acid) by *Bacillus subtilis* F-2-01. *Biosci.*

- Biotech. Biochem.*, **57**, 1212-1213 (1993)
24. Yokoi, H., Natsuda, O., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y. : Characteristics of a biopolymer flocculant produced by *Bacillus* sp. PY-90. *J. Ferment. Bioeng.*, **79**, 378-380 (1995)
  25. Park, M.O. : Characterization of the strain *Bacillus subtilis* BS 62 isolated from chungkookjang and its extracellular  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase. *M.S. Thesis*, Chungnam National Univ., Korea (1991)
  26. Troy, F.A. : Chemistry and biosynthesis of the poly ( $\gamma$ -D-glutamyl) capsule in *Bacillus licheniformis*(II). Characterization and structural properties of the enzymatically synthesized polymer. *J. Biological Chem.*, **248**, 316-324 (1973)
  27. Yokoi, H., Arima, T., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y. : Flocculation properties of poly ( $\gamma$ -glutamic acid) produced by *Bacillus subtilis*. *J. Ferment. Bioeng.*, **82**, 84-87 (1996)
  28. Kim, K.S. : Studies on the biodegradable peptide-polymer produced by alkaliphilic *Alcaligenes* sp. *Ph.D. Thesis*, Kangweon National Univ., Korea (1992)
  29. Choung, N.H. : Studies on the production, rheological and functional properties of biopolymer produced by *Bacillus subtilis* K-1 and mutant. *Ph.D. Thesis*, Taegu Univ., Korea (1997)
  30. Ahn, D.H. and Chung, Y.C. : Biopolymer production of *Zoogloea ramigera* in batch, fed-batch and continuous culture processes. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 196-202 (1992)
  31. Son, B.S., Park, S.K., Kang, S.K., Lee, S.W. and Sung, N.K. : Rheological properties of exopolysaccharide produced by *Xanthomonas* sp. EPS-1. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 269-274 (1995)
  32. Lee, S.Y., Kim, J.Y. and Shin, C.S. : Rheological properties of biopolymer produced by alkali-tolerant *Bacillus* sp. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 538-544 (1996)
  33. Graessley, W.W. : The entanglement concept in polymer rheology. *Adv. Polym. Sci.*, **16**, 1-174 (1974)
  34. Lee, S.Y. and Lee, J.H. : Changes in rheological properties of culture broth during the biopolymer production by *Bacillus* sp. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **11**, 340-346 (1996)
  35. Pyun, Y.R., Lee, S.Y., Lee, S.K., Yu, J.H. and Kwon, Y.J. : Studies on characteristics of red pepper pastes. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **12**, 18-23 (1980)

(1999년 12월 18일 접수)