

Leuconostoc mesenteroides Sikhae의 Crude Dextransucrase 반응시간에 따른 Dextran 생성액의 유변성

박춘상 · 이철호*
고려대학교 식품공학과

Effect of Reaction Time on the Rheological Properties of Dextran Formed Solution Produced by Crude Dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* Sikhae

Park, Choon-Sang and Cheri-Ho Lee*

Department of Food Technology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract— Studies on the changes in rheological properties, molecular weight distribution and dextran yield after being reacted in 10%(w/w) sucrose concentration were performed with crude dextransucrase produced from *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Sikhae. The reaction rate of dextran formation was monitored by sugar analysis with HPLC and by the changes in apparent viscosity. According to the periodate oxidation test, the dextran produced in this experiment was estimated to have 89% α -(1→6) main linkages and 11% α -(1→3) side linkages. The rheological properties of the dextran solution formed changed with reaction time, and it was related to the changes in molecular weight distribution of dextran as determined by GPC analysis. As the reaction proceeded, the rheological behavior changed from Newtonian to non-Newtonian, showing Bingham-pseudoplastic and thixotropic flow behavior. The apparent viscosity of dextran formed solution increased with increasing reaction time, reached a maximum value of 2680 cP ($\dot{\gamma}=33.75 \text{ s}^{-1}$, 25°C) by enzyme reaction for 8 hours, and then decreased. The temperature dependency of dextran formed solutions was well expressed by the Arrhenius equation and the activation energy reached a maximum value of 1.69 kcal/mole by enzyme reaction for 8 hours.

최근 미생물을 이용한 유용물질의 생산에 많은 관심이 기울어지면서 생물고분자, 특히 미생물다당 및 이의 유도체에 대한 관심이 매우 높아져가고 있다. 상업화된 biopolymer의 종류도 다양해져 해초(海草)에서 생산되는 agar, algin, carageenan, 동물에서 생산되는 heparan sulfate, chitin, 미생물에서 생산되는 dextran, cellulose, xanthan, hyaluronic acid, PHB (polyhydroxybutyrate), gellan 등이 대표적인 예이다. 이들 미생물 다당류 중 dextran, xanthan, gellan은 미국 FDA(United States Food and Drug Administration)로부터 식품첨가물로 사용이 허가된 바 있다

(1). Dextran은 석유회수 증진제, 유화제, 접착제, 물성조절제, 혈장증량제 등에 오래 전부터 사용되어 왔으며(2), 시럽과 캔디의 보습성 증진 및 설탕결정 방지, 껌과 젤리의 젤화, 아이스크림의 빙결(氷結)방지, 유체식품의 물성조절 등 식품공업에서도 활발히 이용되고 있다(3).

정제된 dextran의 수용액은 무색, 무미, 무취의 투명한 액체로서 낮은 농도에서도 높은 점도를 나타낸다. Dextran은 혈장증량제로서 혈액의 흐름에 직접 영향을 주며, 유체식품의 물성조절에 사용되는 등 유동학적 특성이 많이 응용되기 때문에 정제된 dextran 수용액의 유동학적 특성이 연구된 바 있다. 김 등(2)은 정제된 dextran 용액의 고유점도, 층밀립 속도의존성 등을 조사한 바 있으며, Sabatie 등(4,5)은 dextran 생성온도에 따른 유동학적 특성의 변화와

Key words: Dextran formed solution, rheological properties, molecular weight distribution, dextran yield, *Leuconostoc mesenteroides* Sikhae

*Corresponding author

온도, 용매, 층밀림속도에 의한 dextran 구조변화를 조사하였고, Tecante 등(6)은 dextran 생성온도, 기질농도, acceptor(maltose) 농도, 효소의 정제도에 따른 dextran 용액의 유동학적 특성을 비교하였으며, Carrasco 등(7)은 낮은 층밀림속도에서 dextran 농도, 온도, 분자량과 dextran 용액의 점도와의 관계를 수식으로 나타냈다. 또 Wales 등(8)은 dextran 용액의 고유점도와 분자량과의 관계를 조사한 바 있다. 그러나 이들 연구는 정제된 효소용액내에서 dextran을 생성시켰거나 정제한 dextran 수용액에 대한 연구로서 균체를 제거한 배양액을 사용하는 dextran의 산업적 대량생산체계에는 그 적용성이 떨어진다고 할 수 있다. 또한 식품의 물성 개선 등과 같이 높은 정제도를 요구하지 않는 경우에는 균체만을 제거한 반응체계의 이용이 보다 경제적인 것임으로 이에 대한 연구가 필요하다고 생각된다. 따라서 본 연구에서는 균체를 제거한 배양액으로부터 dextran 생성과정 중의 유동학적 특성, dextran 수율, 고유점도 등과 생성된 dextran의 구조에 대한 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양

본 실험에서는 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F와 고려대학교 식품공학과에서 전통 수산 발효 식품인 가자미 식해로부터 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* (Sikhae)를 사용하였으며 Jeanes 등(9)의 방법으로 이들을 배양하였다. 한편, 후자는 전자와 그 생리적 특성이 유사하나 arabinose를 발효시킨다는 점과 6.5% 식염농도의 배양액에서 성장이 가능한 점이 상이한 것으로 보고된 바 있다(10).

Dextranase activity 측정

Tsuchiya 등(11)의 방법과 HPLC 분석을 병용하여 dextranase와 기질인 sucrose의 반응 중에 부산물로 생성되는 fructose 양으로 효소활성을 측정하였다. 이때 enzyme unit으로는 dextranase unit (DSU)를 사용하였으며, 1 DSU는 pH 5.0, 30°C, 10% (w/v) sucrose 농도에서 1시간 반응시킬 때 sucrose 1 mg을 dextran으로 전환시키는 효소의 양으로써 반응 중에 생성되는 fructose 0.52 mg에 해당된다.

Dextranase 조효소액의 생산 및 부분정제

5 l jar fermenter 내에서 pH를 6.7로 유지시키면서

8시간 배양시킨 후 5000×g에서 20분간 원심분리하여 균체를 제거하였다. 이때 상등액의 pH는 6.7로써 dextranase가 불안정한 상태이므로(12) 8.9 M H₂SO₄로 pH를 5.0으로 조절한 후 동결건조하여 -20 보관하였다. 동결건조한 조효소액은 20 mM sodium acetate(pH 5.0) buffer로 적당히 희석한 후 동일 buffer 2 l에 담그어 4°C에서 24시간 dialysis하였다. dialysis한 조효소액은 Bio-Gel A-5(m)으로 부분정제하였다(13).

Dextran 생성 및 crude dextran의 수율계산

Dextranase 조효소액에 10%(w/w) sucrose를 첨가하여 반응시키고 끓는 물에 10분간 처리하여 효소를 불활성화시킨 후 점도를 측정하였으며, 이 반응액에 동량의 증류수를 가한 후 ethanol 농도를 50% (v/v)가 되도록 조정하고 4°C에서 24시간 방치한 후 1000×g에서 원심분리하여 고점도의 침전물을 취했다. 이 침전물을 증류수에 용해하고 다시 ethanol에 침전시키는 과정을 3회 반복하여 dextran을 얻었으며 이를 동결건조하여 첨가한 sucrose 양에 대한 dextran의 수율을 계산하였다.

Dextran 생성액 중의 당분석

Dextran 생성액을 증류수로 10배 희석하고 동량의 ethanol을 가하여 4°C에 24시간 방치 후 1000×g에서 원심분리하여 상등액을 취했다. 이 상등액을 Sep-Pak (C18) cartridge로 처리하여 HPLC 분석을 하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

Dextran의 정제

Bio-Gel A-5(m)으로 부분 정제한 dextranase 용액에 기질인 sucrose(10%, w/w)를 가하여 Jeanes 등(14)의 방법에 따라 dextran을 정제하였다. 정제한

Table 1. Operating conditions of HPLC analysis for dextranase activity measurement

| | |
|-------------------------|--------------------------------------|
| Column | Carbohydrate analysis column(Waters) |
| Eluent | Acetonitrile(75%, v/v) |
| Flow rate | 2 ml/min |
| Detector | RI detector(Waters 410) |
| Column temperature | 35°C |
| RI detector temperature | 35°C |
| Injection volume | 20 µl |

dextran은 동결건조하여 -20°C 에 보관하였다.

Dextran의 periodate oxidation

정제된 Dextran의 periodate oxidation은 Rankin 등(15)의 방법을 사용하였다.

Dextran의 IR spectrum 분석

Perkin-Elmer 735B spectrometer를 사용하여 *Leuconostoc mesenteroides*(Sikhae)가 생성한 dextran의 IR spectrum을 분석하였다.

Dextran 생성액의 gel permeation chromatography

동결건조시킨 dextran 생성액에 증류수를 가하여 고형분 함량이 1%(w/w)가 되도록 하였다. 이 용액을 Sepharose CL-2B로 분석하였다.

Dextran 생성액의 점도측정

Haake viscometer(VT 181)에 cone-and-plate(cone angle : 1°)를 부착하여 dextran 생성액의 점도를 측정하였다.

레올로지 특성의 해석

Dextran 생성액의 레올로지 특성의 해석을 위해 Herschel-Bulkley 유동방정식(eq'n 1)을 이용하였다.

$$\tau = \tau_y + K \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

τ : shear stress(mPa)

τ_y : yield stress(mPa)

K : consistency index(mPa·sⁿ)

$\dot{\gamma}$: shear rate(s⁻¹)

n : flow behavior index

이때 레올로지 특성값인 τ_y 는 Casson식으로 구하였다. 시간의존특성은 시간간격을 일정하게 하며 총밀림속도를 33.75 s^{-1} 에서 1080 s^{-1} 까지 연속적으로 증가시켰다가 다시 감소시키면서 대응하는 총밀림변형력을 측정하여 나타내었다.

Dextran 생성액의 고유점도 측정

정제된 dextran에 증류수를 가하여 농도가 0.1~0.5%(w/v)이 되도록 하였다. Ubbelohde type capillary viscometer를 사용하였으며, Huggins식(eq'n 2)에 적용하여 고유점도를 구하였다. 이때 측정온도는 $25 \pm$

0.01°C 로 유지하였다.

$$\eta_{sp}/C = [\eta] + K'[\eta]^2 \cdot C \quad (2)$$

η_{sp} : specific viscosity

C : concentration(g/dl)

$[\eta]$: intrinsic viscosity(dl/g)

K' : constant

결과 및 고찰

Leuconostoc mesenteroides(Sikhae)의 생육곡선

5l jar fermenter 내에서 *Leuconostoc mesenteroides*(Sikhae)의 배양시간에 따른 균체량, 환원당량, dextransucrase activity의 변화는 Fig.1과 같다. 이는 pH를 6.7 ± 0.1 로 유지하면서 회분배양한 경우이며 최고 효소활성은 140 DSU/ml 로서 pH조절 없이 배양한 경우 보다 1.5배 높은 dextransucrase 활성을 얻을 수 있었다. 배양개시 8시간 후에 dextransucrase의 활성이 가장 높았으며 이후 활성이 감소하기 시작했는데 이는 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F를 이용한 Koepsell 등(16)의 결과와 일치하는 것으로, pH 6.7 ± 0.1 이 dextransucrase의 생산에는 최적 pH이나 효소가 불안정한 pH이므로(17) 배양시간이 경과함에 따라 dextransucrase의 활성이 떨어지기 때문인 것으로 생각된다.

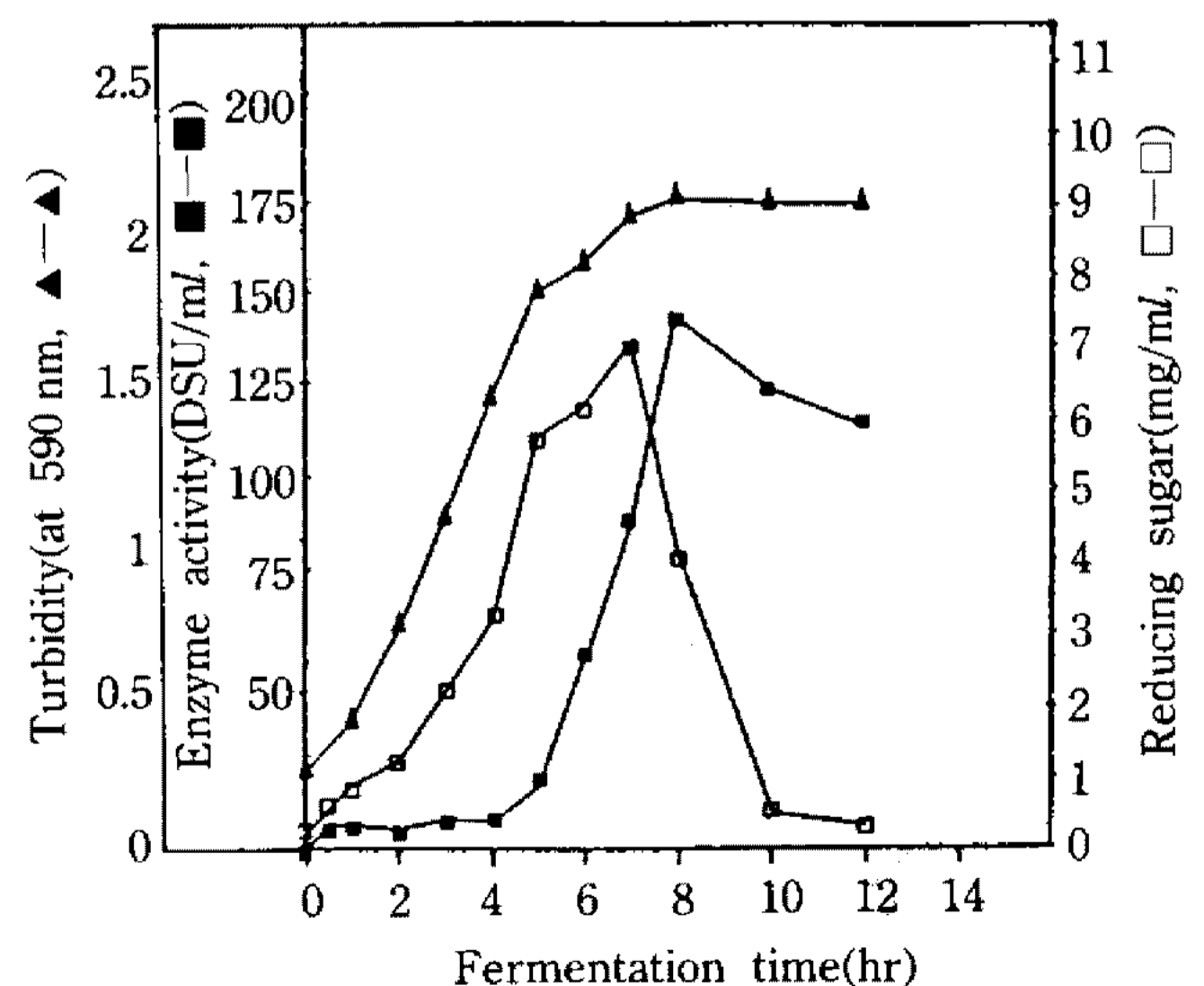


Fig. 1. Fermentation profile of *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Sikhae.

(Starting medium volume: 2000 ml, pH: 6.7 ± 0.1 , temperature: 23°C , sucrose concentration: 2%(w/w))

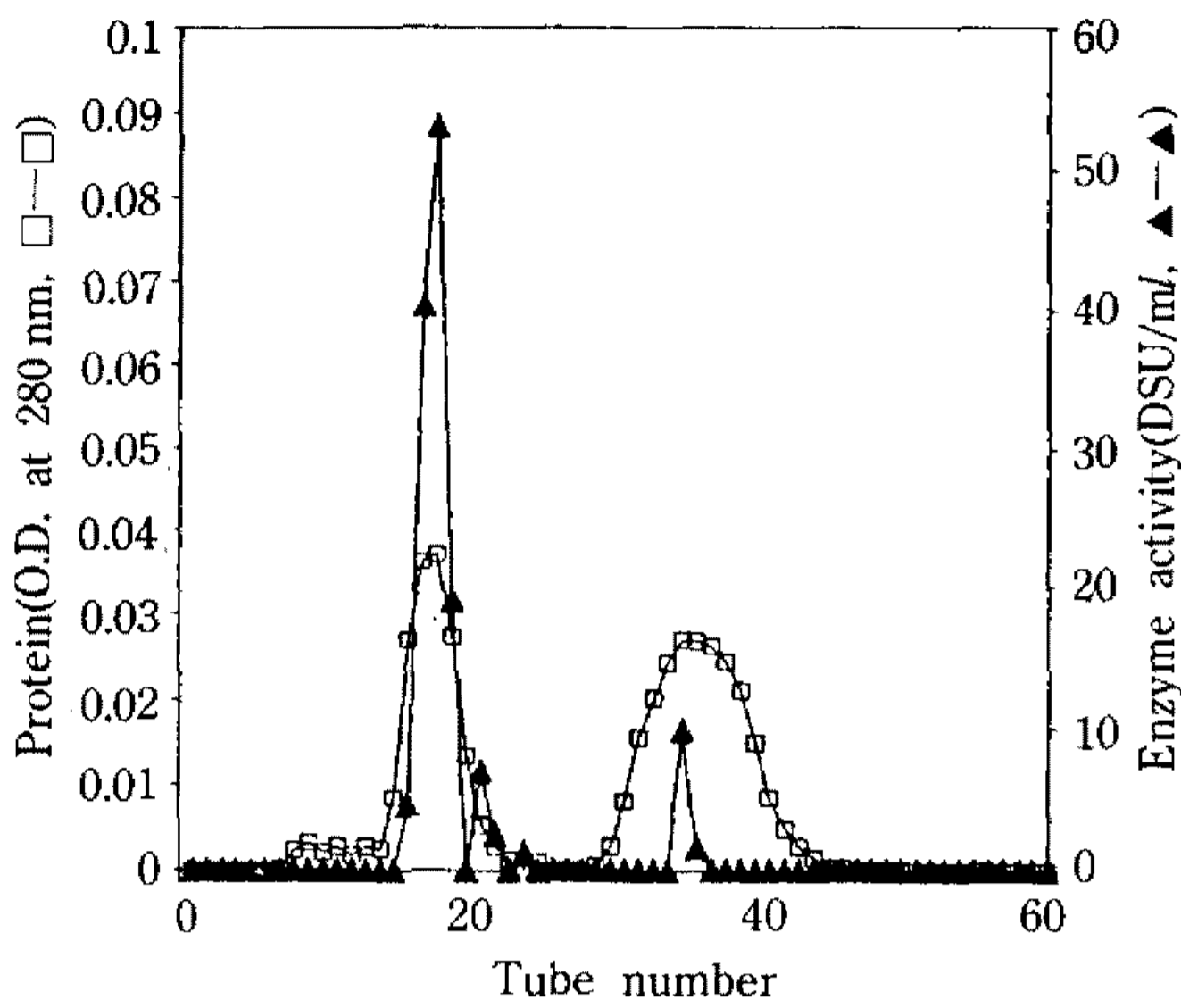


Fig. 2. Elution profiles of crude dextransucrase by Bio-Gel A-5(m) (at pH 5.0, 4°C).

Table 2. Structure analysis of NRRL B-512(F) and Sikhae dextrans by periodate oxidation

| Linkage type | NRRL B-512(F) dextran | Sikhae dextran |
|---------------------|-----------------------|----------------|
| α -1,6 | 96% | 89% |
| α -1,2 like* | 0% | 0% |
| α -1,3 | 4% | 11% |

* α -1,2 like: α -1,2 or α -1,4 linkage

Dextransucrase 조효소액의 생산 및 부분정제

조효소액의 Bio-Gel A-5(m)에서의 elution profile은 Fig. 2와 같다. Kobayashi 등(18)에 의하면 dextransucrase의 분자량은 대략 48,000이나 본 실험에서는 void volume인 17~19 tube에서 dextransucrase 활성이 높게 나타났다. 이는 *Leuconostoc mesenteroides*(Sikhae) 배양 중에 생성된 dextran이 dextransucrase와 결합하고 있기 때문인 것으로 생각된다(13).

Periodate oxidation에 의한 dextran의 구조

Table 2는 periodate oxidation에 의한 dextran의 구조를 추정한 것으로 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512(F)가 생산한 dextran의 경우 α -(1→6) 결합이 96%, α -(1→3) 결합이 4%였으며, 가자미 식해에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides*(Sikhae)가 생산한 dextran은 α -(1→6) 결합이 89%, α -(1→3) 결합이 11%였다. Dextran은 생산 균주마다 고유의 결합비를 갖고 있으며, 상업적인 dextran 생산균주인 *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512(F)가 생산하는 dextran의 경우 α -(1→6) 결합이 95%, α -(1→3) 결합이 5%인 것으로 알려져 있다(19).

Leuconostoc mesenteroides(Sikhae)가 생성한 dextran의 IR spectrum

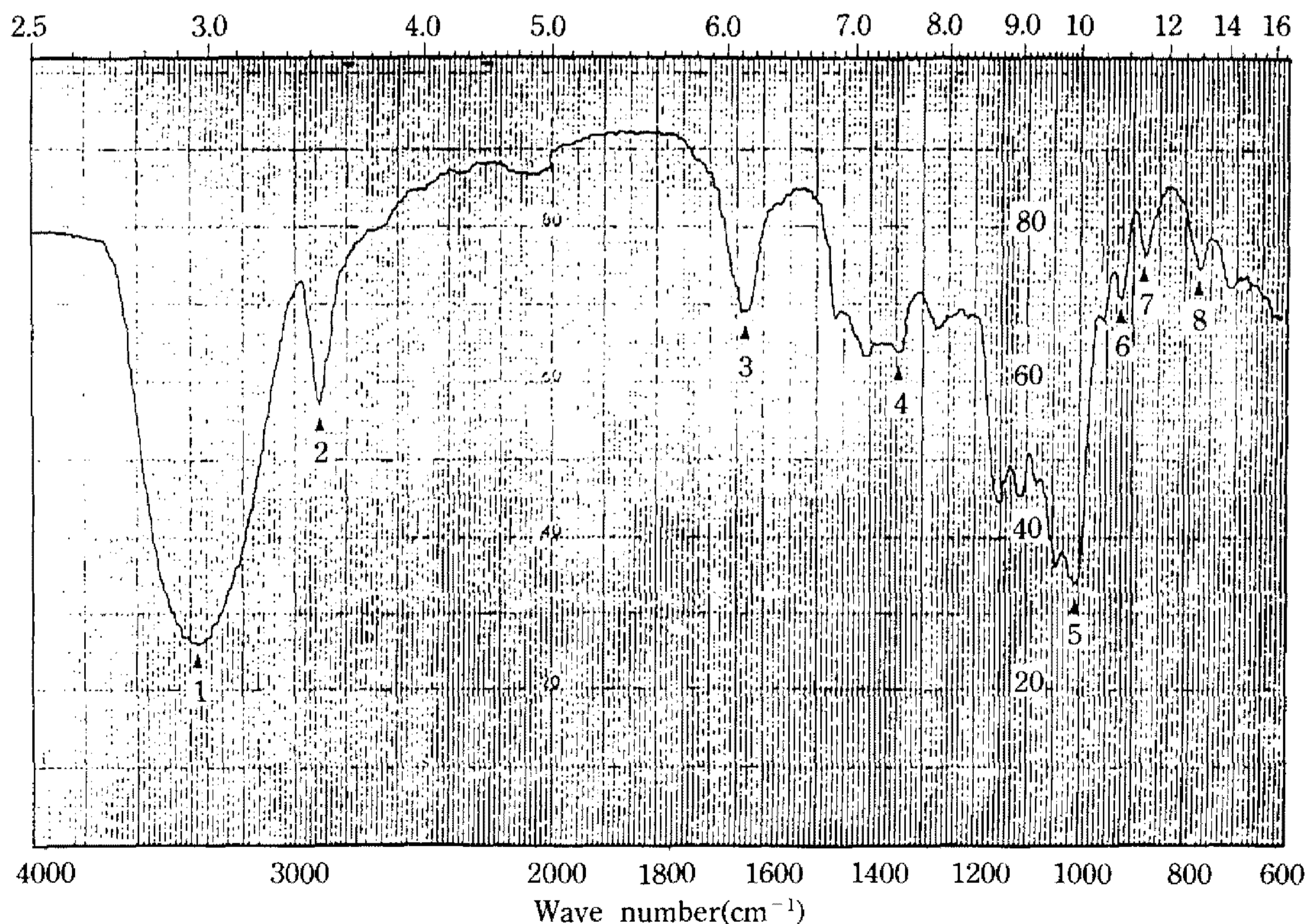


Fig. 3. IR spectrum of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* isolated from Sikhae.

Table 3. IR spectrum data of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides*(Sikhae)

| Peak number | Wave number (cm ⁻¹) | Specification | Reference |
|-------------|---------------------------------|---|-----------|
| 1 | 3380 | -OH (hydrogen bonded) | 20 |
| 2 | 2900 | -CH stretching | 20 |
| 3 | 1635 | liquid water | 20 |
| 4 | 1350 | -CH ₂ (specific for glucan) | 21 |
| 5 | 1015 | -CO (polysaccharide ring) | 21 |
| 6 | 919 | α-D-(1→6) linkages (specific for dextran) | 20 |
| 7 | 875 | C-O-C (glucose ring) | 20 |
| 8 | 769 | α-D-(1→6) linkages (specific for dextran) | 20 |

Leuconostoc mesenteroides(Sikhae)가 생성한 dextran의 IR spectrum은 Fig. 3과 같다. Spectrum에 나타난 각 peak의 해석은 Table 3과 같으며 peak No. 6 및 8이 dextran의 특징적인 α-D-(1→6) 결합을 나타내는 것이다(20). 그러나 α-D-(1→3) 결합을 나타내는 peak는 확인할 수 없었다.

반응시간에 따른 dextran 생성액의 점도, 고유점도 및 dextran 수율의 변화

Dextranase 조효소액에 기질인 sucrose를 10% (w/w) 첨가하여 30°C, pH 5.0에서 반응시키며 매시간 시료를 취하여 점도, 고유점도, dextran의 수율을 비교한 결과는 Fig. 4와 같다. 또한 기질인 sucrose와 반응부산물인 fructose의 농도변화를 HPLC로 분석하여 Table 4에 나타내었다. 반응 후 7시간까지 급격한 점도 증가가 있었으며, 고유점도와 dextran 수율 역시 크게 증가하였고 기질인 sucrose의 농도는 급격히 감소하였다. 용액내 분자의 hydrodynamic volume을 나타내는 고유점도의 증가로부터 반응 초기보다 dextran 생성액내 분자들의 평균분자량이 크게 증가하였음을 알 수 있으며 이는 생성된 dextran 양의 증가와 함께 dextran 생성액의 점도증가가 주원인으로 작용한다고 생각된다. 그러나 반응 8시간 이후부터는 점도, 고유점도 및 dextran 수율이 다소 감소했다. 이는 미생물다당 생성반응 중 관찰될 수 있는 현상으로 *Porodisculus pendulus*(22) 배양액에서 pendulan 생성 말기에 endo-β-1,3-glucanase에 의한 pendulan의 분해와 같이 그 원인이 알려져 있는 경우와 *Rhinochadiella mansonii* NRRL Y-6272(23)의

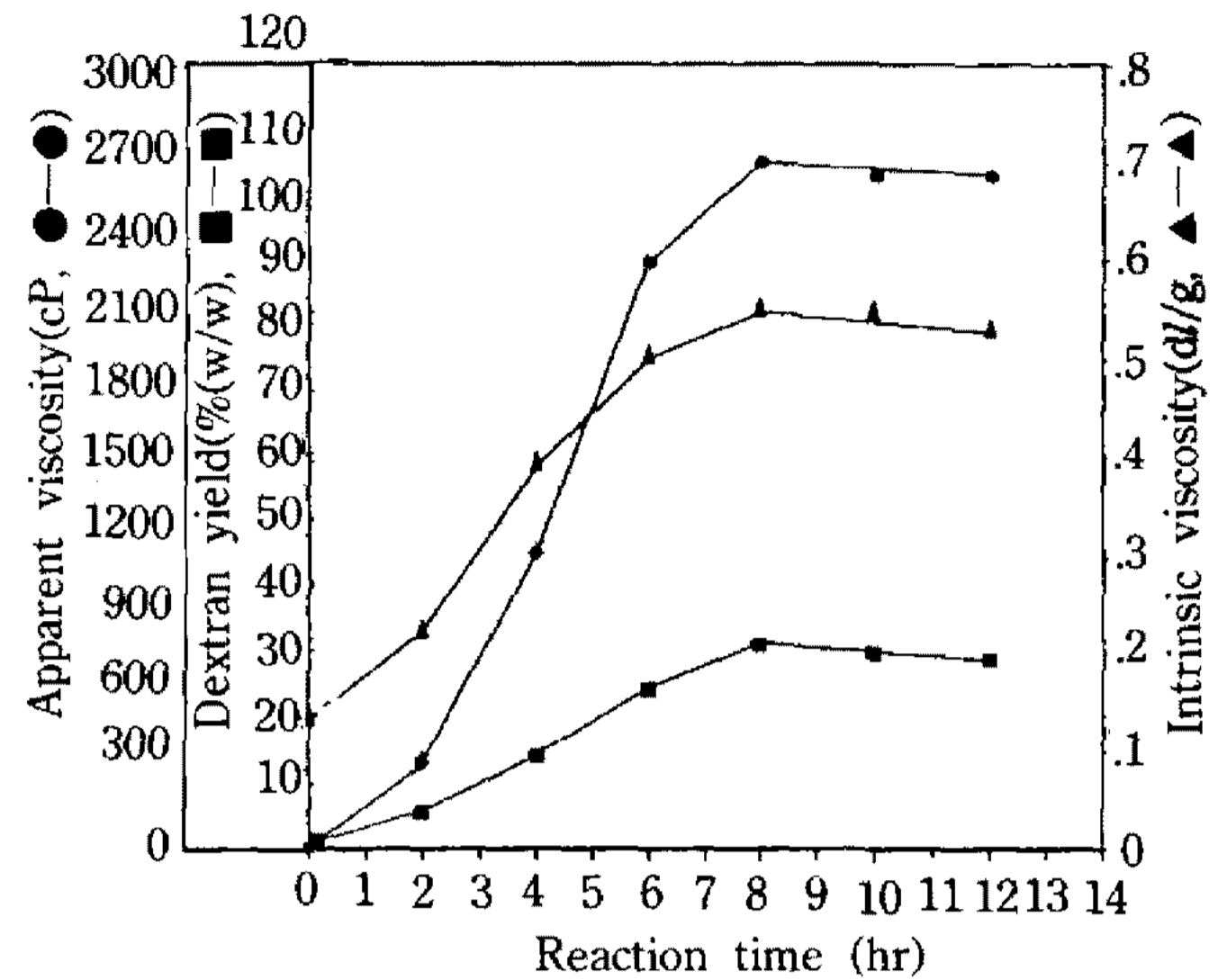


Fig. 4. Changes in apparent viscosity ($\dot{\gamma}=33 \text{ s}^{-1}$, 25°C), intrinsic viscosity and dextran yield with various reaction times.

Sucrose conc.: 10%, reaction temperature: 27°C, enzyme activity: 140 DSU/ml, pH 5.0

Table 4. Changes in contents of sucrose and fructose in the dextran solutions formed at different reaction times

| Reaction time(hr) | Sucrose(mg/ml) | Fructose(mg/ml) |
|-------------------|----------------|-----------------|
| 2 | 65.2 | 15.0 |
| 4 | 38.9 | 28.0 |
| 6 | 9.3 | 36.7 |
| 8 | 6.7 | 42.1 |

30°C, sucrose conc. 10%(w/w), 140 DSU/ml, pH 5.0

다당류 생성반응과 같이 아직까지 그 원인이 규명되어 있지 않은 경우가 있으며 후자의 경우 단순히 균체 배양액내 'depolymerization effect에 의한 다당류분해'로 설명하고 있다. Dextran 생성반응 역시 후자의 경우로 알려져 있다(24).

반응시간에 따른 dextran 생성액의 분자량 분포의 변화

Fig. 5는 반응시간별 dextran 생성액의 분자량 분포의 변화를 나타낸 것이다. 2시간 반응시킨 dextran 생성액의 elution profile에서는 분자량 수만 정도의 dextran peak은 확인되지 않고 고분자 dextran의 peak만이 확인되었다. 반응시간이 경과함에 따라 고분자쪽 dextran peak의 크기는 증가하였고 55번 tube 전후의 저분자 dextran의 peak는 점차 감소하였으며, 15~50번 tube까지 전반적으로 peak의 크기가 증가

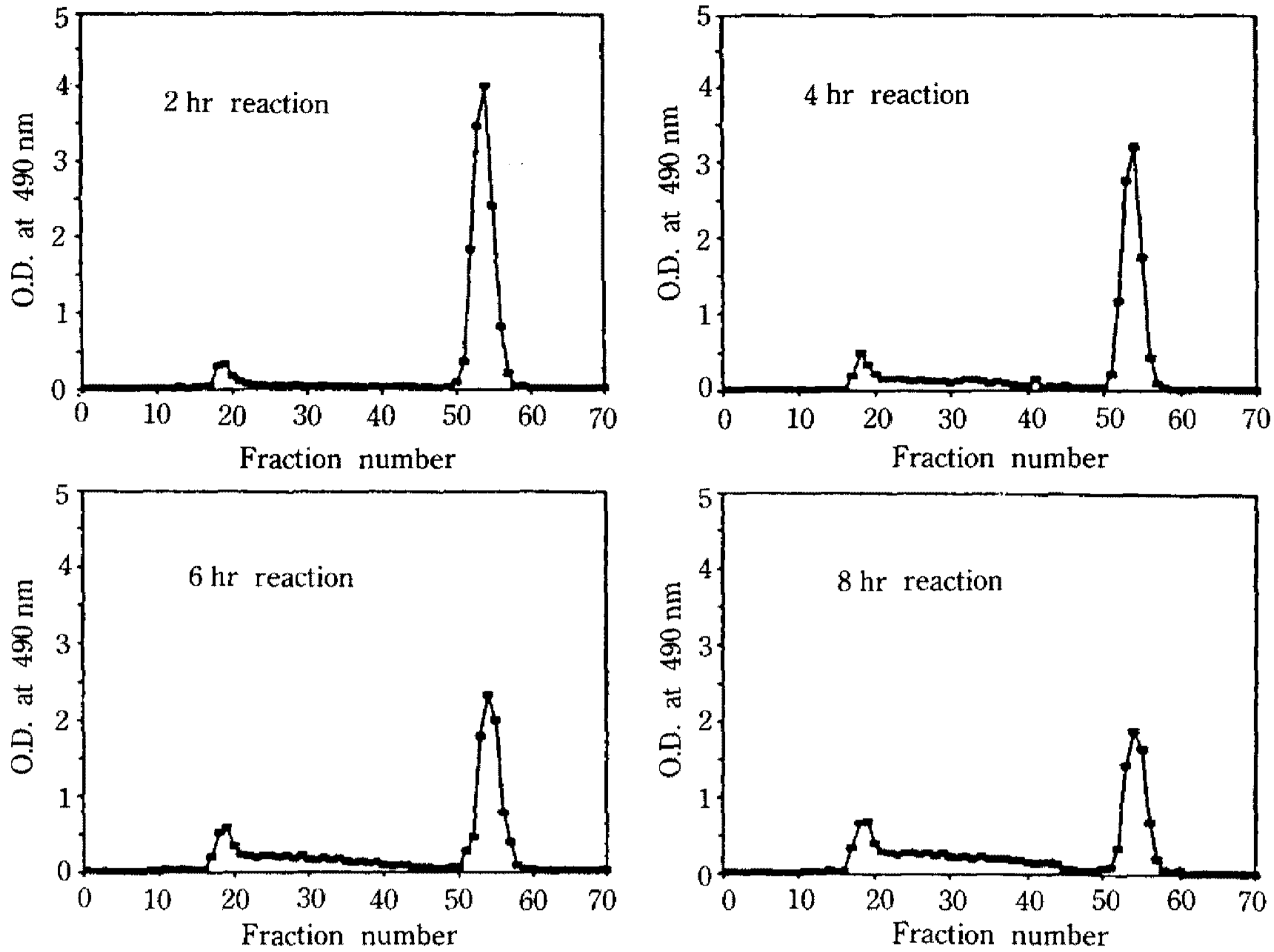


Fig. 5. Changes of elution patterns of dextran solutions formed with different enzyme activity by Sepharose CL-2B.

Reaction temp.: 30°C, sucrose conc.: 10%(w/w), reaction time: 8 hrs, pH 5.0

Table 5. Rheological parameters of dextran formed solutions reacted for different times at 30°C

| Reaction time (hr) | Flow behavior index(-) | Consistency index (mPa·s ⁿ) | Yield stress(mPa) | Thixotropicity (Pa/s) |
|--------------------|------------------------|---|-------------------|-----------------------|
| 0 | 1.1497 | 0.0080 | 0 | 0 |
| 2 | 0.6356 | 442.69 | 6995 | 0 |
| 4 | 0.5447 | 1833.87 | 26896 | 3288.6 |
| 6 | 0.5372 | 2548.00 | 60880 | 8920.8 |
| 8 | 0.5242 | 3405.64 | 69785 | 11377.8 |

Sucrose conc. 10%(w/w), 140 DSU/ml, pH 5.0

함을 알 수 있다.

반응시간에 따른 dextran 생성액의 충밀립속도 의존성

Table 5는 최고점도를 나타낸 반응 8시간 까지 반응시간에 따른 dextran 생성액의 충밀립속도 의존성의 변화를 나타낸 것이다. 반응 0시간에는 항복력이 나타나지 않고 유동지수가 1.1497로 뉴턴성 유체에 가까운 유동특성을 나타냈으나 반응이 진행됨에 따라서 pseudoplastic 특성이 증가하였으며 항복력도

크게 증가하였다. 일반적으로 용액내 고분자 물질의 농도와 평균 분자량의 증가는 용액의 pseudoplastic 특성을 증가시키게 되며(25, 26), 본 실험의 반응시간 경과에 따른 pseudoplastic 특성 증가 역시 dextran의 생성량 증가와 함께 dextran의 평균분자량 증가가 주원인인 것으로 생각된다. 항복력의 증가 역시 dextran 생성량 증가에 따른 용액내 분자간 결합력의 증가에 의한 것으로 생각된다.

반응시간에 따른 dextran 생성액의 시간의존 특성

33.75 s⁻¹~1080 s⁻¹까지의 층밀립 속도에서 dextran 생성액의 반응시간별 hysteresis curve상에서 up-curve와 down-curve 사이의 면적으로 thixotropy 특성을 비교하였다(Table 5). 2시간 반응시킨 경우에는 시간의존특성이 나타나지 않았으나 반응이 진행됨에 따라 thixotropy 특성이 점차 증가하였으며 이는 dextran 생성량과 dextran 생성액의 평균분자량 증가와 일치하는 경향을 나타내고 있다.

반응시간에 따른 dextran 생성액 점도의 온도의존성

반응시간별 dextran 생성액은 온도(15~65°C)가 증가함에 따라 지수함수적으로 겔보기점도가 감소하였다. 용액의 점도가 온도증가에 따라 감소하는 것은 용액의 열팽창에 의해 용액내 분자간의 거리가 멀어지고 이로인해 분자간 결합력이 약화되기 때문이며, dextran 생성액의 온도의존성은 다음의 Arrhenius의 일반식으로 표시할 수 있다(eq'n 3).

$$\eta_{app} = K \cdot e^{-E_a/RT} \quad (3)$$

여기서 E_a 는 유동활성화 에너지, R은 기체상수(1.9872 cal/gmole·K), K는 상수를 나타낸다. 이로부터 계산된 8시간 반응시킨 dextran 생성액의 유동활성화 에너지는 1.69 kcal/gmole로 이는 비슷한 점도를 나타내는 0.05%(w/w) xanthan gum 용액의 1.87 kcal/gmol(26)과 비슷한 수치이며, 고휘분 50%(w/w) 토마토케첩의 7.65 kcal/gmole(27)보다는 작은 값으로써 dextran 생성액의 점도는 온도변화에 의해 크게 변화하지 않음을 알 수 있다. Eyring 등(28)은 유동활성화에너지의 증가는 용액내 분자간의 내부결합력, 즉 흐름에 대한 저항성의 증가에 의한 것이라고 하였다. 반응시간 경과에 따른 dextran 생성액의 유동활성화 에너지의 증가 역시 dextran 생성량의 증가에 따른 분자간 내부 결합력의 증가 때문으로 생각된다.

요 약

가자미 식해에서 분리한 *Leuconostoc mesenteroides* (Sikhae)로부터 생산한 dextransucrase 조효소액에 10% sucrose를 반응시켜 얻은 dextran 생성액의 유변성과 생성된 dextran의 분자량 분포 및 수율을 반응시간별로 조사하였다. Dextran 생성속도는 반응액의 HPLC를 이용한 당분석과 점도측정으로 추정이 가능하였다. Periodate oxidation 시험결과 정제된

dextran은 89%의 α -(1→6) 결합외에 11%의 α -(1→3) 부결합이 존재하는 것으로 판단되며, 반응시간이 경과함에 따라 dextran 생성액은 높은 항복력을 갖는 Bingham-pseudoplastic 유체특성을 나타내었다. 반응시간이 경과함에 따라 시간의존 특성(thixotropicity)이 증가하였는데 이러한 현상은 GPC 분석을 통하여 dextran 생성액내 고분자 dextran의 비율증가에 의한 것임을 알 수 있었다. Dextran 생성액은 반응 8시간 후에 최고점도(2680 cP, $\dot{\gamma}=33.75 \text{ s}^{-1}$, 25°C)를 나타내었으며, 그 이후부터 점도는 다시 감소하였다. 또한 dextran 생성액은 온도가 증가함에 따라 점도가 감소하였으며, 이는 Arrhenius의 일반식으로 표시할 수 있었다. Arrhenius 식으로 구한 dextran 생성액의 유동 활성화에너지는 반응시간이 경과함에 따라 증가하였으며, 8시간 반응시킨 dextran 생성액의 경우 1.69 kcal/gmole 정도로써 온도증가에 의한 점도변화가 비교적 적음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Dziezak, J.D. 1990. Gellan gum receives FDA approval. *J. Food. Tech.* **25**: 88-90.
2. 김남희, 이향애. 1980. Dextran 용액의 유동특성. *약학회지* **32**: 86-94.
3. Murphy, P.T. and R.L. Whistler. 1973. Dextran, pp.513-542. In R.L. Whistl(ed.), *Industrial Gums*, Academic Press, New York.
4. Sabatie, J. and L. Choplin. 1986. The effect of synthesis temperature on the rheological properties of native dextran. *Biotechnol. Lett.* **8**: 425-450.
5. Sabatie, J., L. Choplin, F. Peal and P. Monsan. 1986. Shear induced structure in enzymatically synthesized dextran solution. *Rheol. Acta.* **25**: 287-295.
6. Tecante, A. and A. Lopez. 1986. Rheological characterization of dextran-enzymatic synthesis media. *J. Appl. Polym. Sci.* **31**: 2337-2350.
7. Neely, W.B. 1959. Studies on the enzyme dextransucrase. II. The role of raffinose as an acceptor. *Arch. Biochem. Biophys.* **79**: 154-161.
8. Wales, M., P.A. Marshall and S.G. Weissberg. 1952. Intrinsic viscosity-molecular weight relationships for dextran. *J. Polym. Sci.* **10**: 229-295.
9. Souane, M. 1990. Development of cereal lactic acid fermentation process for the production of high protein content beverages. 고려대학교 박사 학위 논문, 14.
10. Jeanes, A. 1966. Dextran, pp.805-824 In H.F.

- Mark(ed.) *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, Vol.4, Interscience, New York.
11. Tsuchiya, H.M., H.J. Koepsell and J. Corman. 1952. The effect of certain cultural factors on production of dextransucrase by *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bacteriol.* **64**: 521-526.
 12. Neely, W.B. 1958. Studies on the enzyme dextransucrase. I. Effect of pH on enzyme activity. *J. Am. Chem. Soc.* **80**: 2010-2013.
 13. Robyt, J.E. and T.F. Walseth. 1979. Production, purification and properties of dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F. *Carb. Res.* **68**: 95-111.
 14. Jeanes, A. 1965. Dextran, pp.118-132 In R.L. Whistler(ed.), *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol.5, Academic Press, New York.
 15. Rankin, J.C. and A. Jeanes. 1954. Evaluation of the periodate oxidation method for structural analysis of dextrans. *J. Am. Chem. Soc.* **76**: 4435-4441.
 16. Koepsell, H.J. and H.M. Tsuchiya. 1952. Enzymatic synthesis of dextran. *J. Bacteriol.* **63**: 293-295.
 17. Kobayashi, M. and K. Matsuda. 1976. Purification and properties of the extracellular dextransucrase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1299. *J. Biochem.* **79**: 1301-1308.
 18. Hossein, K. and J.R. Peter. 1980. Immobilization and properties of *Leuconostoc mesenteroides* dextransucrase. *Biotech Bioeng.* **22**: 1055-1069.
 19. Jeanes, A. and C.A. Wilham. 1950. Periodate oxidation of dextran, *J. Am. Chem. Soc.* **72**: 2655-2657.
 20. Neely, W.B. 1957. Infrared spectra of carbohydrates. *Adv. Carb. Chem.* **12**: 13-33.
 21. Yoo, J.Y. and D.H. Chung. 1989. A yellow pigmented soil bacterium producing a polysaccharide of high viscosity. *Kor. J. Food. Sci. Tech.* **21**: 453-459.
 22. Iwamuro, Y., M. Aoki, Y. Mikami and Y. Obi. 1982. Change in molecular weight of pendulan from *Porodisculus pendulans*. *J. Ferm. Tech.* **60**: 405-409.
 23. Burton, K.A., M.C. Cadmus, A.A. Lagoda, P.A. Sandford and P.R. Watson. 1976. A unique biopolymer from *Rhinochadiella mansanii* NRRL Y-6272. *Biotech. Bioeng.* **18**: 1669-1677.
 24. Veljkovic, V.B. and M.L. Lazic. 1988. Studies on dextran fermentation broth rheology. *Enzym. Microb. Technol.* **10**: 686-688.
 25. Iwamuro, Y., M. Aoki and K. Mashiko. 1983. Molecular weight-viscosity relationships of pendulan from *Porodisculus pendulus*. *J. Ferm. Tech.* **61**: 505-510.
 26. Speers, R.A. and M.A. Tung. 1986. Concentration and temperature dependency of flow behavior of xanthan gum dispersion. *J. Food. Sci.* **51**: 96-103.
 27. Kim, J.B., Y.S. Kim and S.Y. Lee. 1984. Thixotropic properties of gelatinized rice starch solutions. *Kor. J. Food. Sci.* **16**: 451-456.
 28. Eyring, H.J. 1936. Viscosity, plasticity and diffusion as examples of absolute reaction rates. *J. Chem. Phys.* **4**: 283-294.

(Received March 7, 1992)