

## *Xanthomonas* sp. EPS-10이 생산하는 다당류의 점도

손봉수 · 박석규\* · 이상원 · 성찬기\*\* · 서권일

경상대학교 식품공학과

\*순천대학교 식품영양학과

\*\*중앙대학교 화학과

### Viscosity of Exopolysaccharide from *Xanthomonas* sp. EPS-1

Bong-Soo Son, Seok-Kyu Park\*, Sang-Won Lee, Chan-Ki Sung\*\* and Kwon-Il Seo

Dept. of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chirju 660-701, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

\*\*Dept. of Chemistry, Chung-Ang University, Seoul 156-757, Korea

#### Abstract

At the 0.04%(w/v) exopolysaccharide EPS-1 produced from *Xanthomonas* sp. EPS-1, specific viscosity( $\eta_{sp}$ ), reduced viscosity( $\eta_{red}$ ), relative viscosity( $\eta_r$ ) and inherent viscosity( $\eta_{inh}$ ) were determined to be 0.137, 3.425, 1.137 and 3.209 respectively. Apparent viscosity( $\eta_{app}$ ) of exopolysaccharide EPS-1 was decreased by increasing temperature and gradually increased by decreasing temperature. After heat treatment of EPS-1 solution, rheological properties were not changed. EPS-1 solution was undesirable in flocculation, but its viscosity was increased to Cp 510 with addition of locust bean gum.

**Key words** : exopolysaccharide EPS-1, *Xanthomonas* sp. EPS-1, viscosity

#### 서론

생분해성 고분자는 주로 식물, 동물 및 미생물에 의하여 생합성되며, 미생물성 다당류나 그 유도체는 식물 및 해조류 유래의 천연다당류와 기타 합성고분자 물질과는 달리 독특한 물성과 생리활성을 나타낸다고 알려져 있다(1).

최근 미생물로부터 유용물질의 생산에 대한 관심이 높아짐에 따라 기존 합성고분자 제품을 미생물에 의해 생산되는 체외 분비성 다당류와 같은 생분해성 고분자 물질로 대체하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있으며 (2), 현재까지 개발되었거나 상품화되어 있는 주요한 것으로는 dextran, curdlan, pullulan, levan, alginate, xanthan gum 등이 대표적으로 알려져 있다(3-6).

이러한 미생물성 다당류는 세포내에서의 기능에 따라 균체내 다당류, 구조물 다당류 및 균체의 다당류로 구분되며, 구성당의 종류에 따라 동형 다당류와 이형

다당류로 나누며 전하의 종류에 의해서는 산성, 중성 혹은 염기성 다당류로 구분된다. 특히 이들 미생물성 다당류는 분자량, 구성당의 종류, 결합의 순서·양식·위치 및 분지결합 유무에 따라 다양한 기능성을 갖게 되므로, 물성이 다양하고 독특하여 각종 식품산업의 신소재로서 잠재력이 매우 크다고 볼 수 있다(7,8).

본 연구에서는 미생물이 생산하는 고분자 물질인 다당류를 개발하여 식품보조제로 사용하기 위한 기초적인 연구의 일환으로, 전보에서 보고(9,10)한 분리균 *Xanthomonas* sp. EPS-1가 생산하는 고점성의 다당류인 EPS-1의 온도, 열처리 및 기존의 다당류와 혼합에 따른 점도변화를 조사한 결과를 보고하고자 한다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

토양으로부터 분리·동정된 *Xanthomonas* EPS-1

\*To whom all correspondence should be addressed

으로부터 생산되는 다당류(이하 EPS-1이라 함)를 분리·정제하여 실험에 사용하였다.

**점도 측정**

다당류 EPS-1의 점도 측정은 Brookfield-synchloelectric viscometer(LVT, USA)를 사용하였으며, 필요에 따라 UL-adaptor를 부착하여 사용하였다. 그리고 극한점도 측정을 위해서는 Cannon Fenske capillary viscometer (Capillary size 75, Cannon Instrument)를 사용하였다.

**점도의 환산**

Canon Fenske capillary viscometer로서 용매 및 용액의 점성율을 측정하여 다당류 Einstein 상태방정식을 이용하여 상대점도(relative viscosity :  $\eta_r$ )를 계산하였다.

Einstein식은 식 ①과 같다.

$$\eta_r = \eta/\eta_0 = 1 + 2.5\phi \dots\dots\dots ①$$

이때 용매는 0.65M NaCl용액을 사용하였다. 식 ①을 변형하면 식 ②와 같고, 이 식으로부터 비점도(specific viscosity :  $\eta_{sp}$ )를 구하였다.

$$\eta/\eta_0 - 1 = 2.5\phi = \eta_{sp} \dots\dots\dots ②$$

$\eta_{sp}$ 값에 농도를 나누어 환원점도(reduced viscosity :  $\eta_{red}$ )를 계산하였으며  $\eta_{red}$ 값을 농도를 무한히 zero에 근접시켜 외삽법으로 극한점도(intrinsic viscosity :  $[\eta]$ )를 구하였다. 또한 Huggins 상태방정식에서  $\eta_r$ 의 자연로그 값에 농도를 나누어 고유점도(inherent viscosity :  $\eta_{inh}$ )를 계산하였다.

Huggins 상태방정식은 식 ③과 같다.

$$\frac{\eta_{sp}}{c} = [\eta] + k' [\eta]^2 c \quad (\eta_r < 2) \dots\dots\dots ③$$

그리고 희석한 다당류 용액의 점도와 농도 사이에서 식 ③은 자연대수값으로 환산하여 식 ④로 변환된다.

$$\eta_{inh} = \frac{\ln(\eta_r)}{C} = [\eta] + k''[\eta] \dots\dots\dots ④$$

$$k'' = k' - 0.5$$

**레올로지 특성의 해석**

Rheological properties는 Power-law equation(식 ⑤)과 Herschel-Bulkley 상태방정식(식 ⑥)을 이용하

여 해석하였다.

$$\text{즉, } \tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \dots\dots\dots ⑤$$

$$\tau = \tau_y + k \cdot \dot{\gamma}^n \dots\dots\dots ⑥$$

그리고 항복응력( $\tau_y$ )은 다음 Casson equation(식 ⑦)을 이용하여 구하였다.

$$\tau = \tau_y + k\tau \dots\dots\dots ⑦$$

**결과 및 고찰**

**수용액의 점도**

*Xanthomonas* sp. EPS-1균주가 생산한 다당류 EPS-1을 회수하여 동결건조한 시료를 증류수에 0.3%로 용해하여 동일 농도에서 xanthan gum, guar gum 및 locust bean gum의 겔보기 점도를 Brookfield viscometer(LVT)로 측정하여 비교해 본 결과, 동일 농도에서 전단속도 1.83sec<sup>-1</sup>일 때, 다당류 EPS-1을 비롯한 각 다당류의 겔보기 점도는 168, 390, 76, 92cp로 측정되어 다당류 EPS-1는 xanthan gum 보다는 겔보기 점도가 다소 낮으나 그의 다당류에 비해서는 상당히 높은 겔보기 점도를 나타내었다.

또, 전단속도가 높을수록 겔보기 점도는 낮아지는 경향을 보였다. 다당류 EPS-1용액은 농도 약 1% 정도에서 방치하면 걸쭉한 상태로 보이나 쉽게 쏟아지는 특성이 있으므로 현탁제, 안정제 및 증점제 등으로 이용이 가능할 것으로 추측된다. 그리고 Table 1과 같이 Cannon Fenske capillary viscometer를 이용하여 점성률을 측정하였다.

다당류 EPS-1용액과 용매(0.65M NaCl)의 점성률로부터 Einstein 상태방정식을 이용하여 상대점도(relative viscosity :  $\eta_r$ )와 비점도(specific viscosity :  $\eta_{sp}$ )

**Table 1. Viscosity of the exopolysaccharide EPS-1 solutions calculated by equations**

EPS-1 (g/dl)	$\eta$ (sec)	$\eta_{sp}$ (-)	$\eta_{red}$ (dl/g)	$\eta_r$ (-)	$\eta_{inh}$ (dl/g)
0.01	124	0.022	2.200	1.022	2.176
0.02	129	0.063	3.150	1.063	3.054
0.04	138	0.137	3.425	1.137	3.209
0.10	183	0.508	5.080		
0.15	249	1.052	7.013		
0.20	331	1.728	8.640		

$\eta$  : Coefficient of viscosity,  $\eta_{sp}$  : Specific viscosity  
 $\eta_{red}$  : Reduced viscosity,  $\eta_r$  : Relative viscosity  
 $\eta_{inh}$  : Inherent viscosity,  $\eta_0$  : Coefficient of viscosity (solvent : 121.3sec)

를 계산하고,  $\eta_{sp}$ 값에 농도를 나누어 환원점도(reduced viscosity :  $\eta_{red}$ )를 계산하였으며,  $\eta_{red}$ 값을 농도를 무한히 zero에 근접시켜 외삽법으로 극한점도(intrinsic viscosity :  $[\eta]$ )를 구하였다. 또한 Huggins 상태방정식을 이용하여 외삽법으로 극한점도를 계산한 결과, 다당류 EPS-1용액의 농도가 0.04(g/dl)일 때 비점도는 0.137, 환원점도는 3.425, 상대점도는 1.137, 고유점도는 3.209임을 알 수 있고, 이 값으로 구한 극한점도는 2.122dl/g( $r^2=0.9900$ )와 2.098dl/g( $r^2=0.7050$ )이었다.

온도 변화에 따른 겔보기 점도의 변화

온도 변화에 따른 0.3% 다당류 EPS-1용액의 점도 변화를 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 다당류 EPS-1은 온도가 상승됨에 따라 점도가 계속 낮아져 90°C에서는 물과 같이 점도가 없었으나 온도를 저하시켰을 때에는 점도가 서서히 증가하였다.

이러한 물성을 볼 때 다당류 EPS-1용액은 가역용액으로 식품산업 중 젤리의 가공에 대단히 유용하게 이용될 것으로 생각한다.

열처리에 따른 겔보기 점도의 변화

다당류 EPS-1용액을 25, 60, 80 및 100°C에서 30분간 열처리하여 실온으로 냉각한 후 처리 전 점도와 비교한 결과(Table 2), 60°C에서 30분간 열처리 한 시료의 점도가 처리 전 점도 보다 평균 7.2% 정도 높은 것은 열에 의해 해리되었다가 식으면서 열가역성 겔을 형성하기 때문으로 추측된다. 이런 결과는 Fig. 1에서 볼 수 있는 점도 복원성과도 일치하고 있으며 *Bacillus*

*polymyxa* 변이주가 생성한 다당류 용액의 경우, 60~80°C에서 30분 열처리하였을 때 처리 전 점도 보다 다소 높은 점도를 보인 것과 유사한 경향이였다(11).

또한 전단속도에 변화를 주어도 각 온도에서 점도는 크게 변화하지 않는 것으로 보아 응용면이 우수할 것으로 생각된다. 각 온도대에서 30분간 열처리한 후, 상온으로 냉각시켜 Brookfield-viscometer를 이용하여 겔보기 점도를 측정하여 전단속도에 따른 전단응력의 변화를 양대수그래프로 도식한 결과(Fig. 2), 각 온도에서 전단속도가 증가됨에 따라 전단응력이 증가되었으며, 열처리 온도가 60, 80 및 100°C로 상승되어도 다당류 EPS-1용액의 물성은 큰 변화를 보이지 않았다.

열처리 후의 다당류 EPS-1용액의 물성 특성을 Power-law와 Herschel-Bulkley 상태방정식에 의해 해석한 결과(Table 3, 4), Power-law 상태방정식의 경우 유동지수(flow behavior index ; non-Newtonian index ;

Table 2. Changes in viscosity of the exopolysaccharide EPS-1 solutions by heat treatment

Shear rate (sec)	Viscosity(cp)			
	25°C	60°C	80°C	100°C
0.37	390	440(113)	320(82)	310(79)
0.73	246	269(109)	180(73)	147(60)
1.83	146	156(107)	117(80)	96(66)
3.67	94	102(109)	81(86)	69(73)
7.34	63	66(105)	54(86)	46(73)
14.68	42	42(100)	36(86)	31(74)
Average(%)		(107.2)	(82.2)	(70.8)

( ) : Percentage to viscosity at 25°C

Time of thermal treatment : 30min

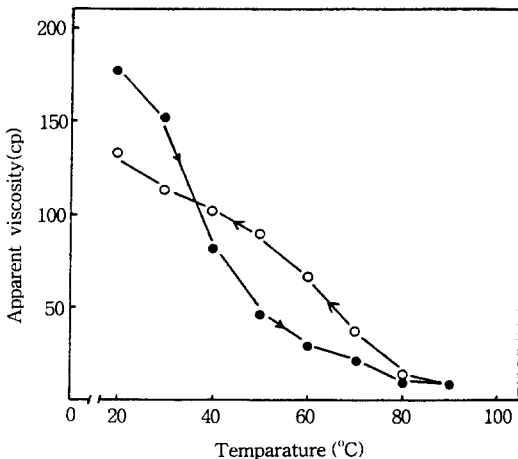


Fig. 1. Effect of temperature on the viscosity of exopolysaccharide EPS-1 solutions.

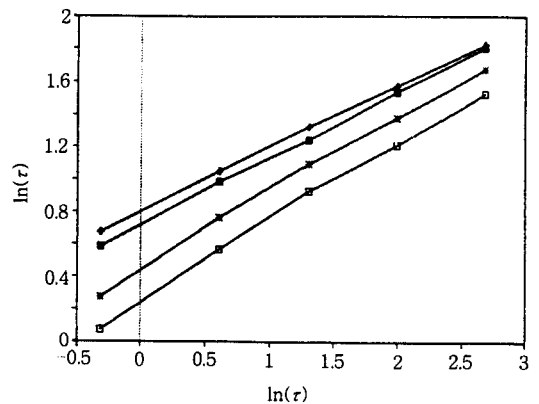


Fig. 2. Relationship between shear rate and shear stress of exopolysaccharide EPS-1 solution by heat treatment.

■: 25°C □: 60°C ▲: 80°C △: 100°C

n값)가 25°C에서 방치했을 때 0.3693, 60°C에서 30분간 열처리하였을 때 0.3715, 80°C에서 30분간 열처리하였을 때 0.4302, 100°C에서 30분간 열처리했을 때 0.4120으로 열처리 온도가 변화되어도 의가소성을 나타내고 있다. 점조도지수(consistency index ; k값) 역시 25°C에서 2.0924이고 100°C에서 1.4576이므로 locust bean gum과 같은 식물체 유래 다당류에 비해 큰 변화는 없었다. 그리고 Herschel-Bulkley 상태방정식으로 물성 특성을 해석하여도 n값은 0.6616~0.7084까지 크게 변화되지 않았다.

따라서 *Xanthomonas* sp. EPS-1균주가 생산한 다당류 EPS-1용액은 열처리 후에도 거의 변화하지 않고 고유의 물성을 유지하고 있으므로, 가공 측면에서 이 용성이 높을 것으로 기대된다.

특히, 60°C에서 30분간 열처리하였을 경우는 오히려 겔보기 점도가 7.2% 증가되었으며 Power-law와 Herschel-Bulkley 상태방정식에 의한 해석에서도 물성 특성이 변화되지 않아 가공할 때 60°C 전후에서 열처리(저온살균, 간헐살균)할 경우, 특성을 유지하면서도 살균효과를 얻을 수 있기 때문에 폭넓게 식품산업에 응용할 수 있을 것으로 생각된다.

다당류 EPS-1의 응집성

다당류 EPS-1의 응집 효과를 조사하기 위하여 2,000 ppm의 kaolin(hydrated aluminum silicate :  $H_2Al_2Si_2O_8 \cdot H_2O$ )용액에 입자의 응결현상을 촉진하는  $CaCl_2$ 를 0.02% 첨가하고 각종 다당류를 첨가하여 경시적으로 응집효과를 관찰한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5. Flocculation test of the exopolysaccharide EPS-1 and some other polysaccharide

Polysaccharide	Flocculation time(hrs)					
	1	12	24	48	72	96
EPS-1	-	-	-	-	+	++
Xanthan gum	-	-	-	-	+	++
Guar gum	+	-	++	++	++	++
Sodium alginate	-	++	++	++	++	++
Arabic gum	-	+	++	++	++	++
Locust bean gum	-	+	++	++	++	++

다당류 EPS-1과 xanthan gum를 제외한 나머지 다당류들은 약 12시간 뒤에 kaolin의 침전이 확인되었다. 그리고 농도 0.1%일 때 다당류 EPS-1과 xanthan gum은 약 72시간 경과 후 비로소 kaolin 입자가 부분적으로 침전되었고, 0.3% EPS-1용액의 경우는 약 144시간이 경과하여도 kaolin 입자가 침전이 되지 않았기 때문에 다당류 EPS-1의 응집성은 좋지 않았다. 그렇기 때문에 다당류 EPS-1의 응집제로서의 이용성 보다는 오히려 분산제로서의 응용성이 높을 것으로 추측된다.

다당류 EPS-1과 기존 다당류와의 혼합효과

Locust bean gum이나 guar gum과 같은 galactomannan은 xanthan gum과의 반응할 때 유용한 적합능을 보인다는 보고가 있다(11,12). Xanthan gum, guar gum, locust bean gum 그리고 다당류 EPS-1용액을 이용하여 이들 다당류의 혼합에 따른 점도의 변화를 조사한 결과(Table 6), 단일 용액에서는 xanthan gum 보다 상대적으로 298cp 정도 점도가 낮은 locust bean

Table 3. Rheological parameters of the exopolysaccharide EPS-1 solutions from Power-law equation

Thermal treatment (30min)	n (-)	k (poise, sec <sup>-n</sup> )	r <sup>2</sup>	Viscosity models
25°C	0.3963	2.0924	0.9989	$\tau_1 = 2.0924 \gamma_1^{0.3963}$
60°C	0.3715	2.3138	0.9983	$\tau_2 = 2.3138 \gamma_2^{0.3715}$
80°C	0.4302	1.6699	0.9898	$\tau_3 = 1.6699 \gamma_3^{0.4302}$
100°C	0.4102	1.4576	0.9618	$\tau_4 = 1.4576 \gamma_4^{0.4120}$

n: Flow behavior index, k: Consistency

Table 4. Rheological parameters of the exopolysaccharide EPS-1 solutions from Herschel-Bulkley equation

Thermal treatment (30min)	n (-)	k (poise, sec <sup>-n</sup> )	$\tau_y$ (poise)	r <sup>2</sup>	Viscosity models
25°C	0.7084	0.8648	1.0808	0.9814	$\tau_1=0.8648 \gamma_1^{0.7084} + 1.0808$
60°C	0.7051	0.8743	1.2573	0.9798	$\tau_2=0.8743 \gamma_2^{0.7051} + 1.2573$
80°C	0.6987	0.7795	0.7875	0.9845	$\tau_3=0.7795 \gamma_3^{0.6897} + 0.7875$
100°C	0.6616	0.6893	0.6926	0.9496	$\tau_4=0.6893 \gamma_4^{0.6616} + 0.6929$

n: Flow behavior index, k: Consistency,  $\tau_y$ : Yield stress

Table 6. Viscosity of polysaccharide solutions with various blending

(shear rate, 1.83sec<sup>-1</sup>)

Mixture	Viscosity(Cp)
EPS-1	168
Xanthan gum	390
Guar gum	76
Locust bean gum	92
EPS-1/Xanthan gum	179
EPS-1/Guar gum	94
EPS-1/Locust bean gum	510
EPS-1/Xanthan gum/Guar gum	120
EPS-1/Guar gum/Locust bean gum	128
EPS-1/Xanthan gum/Locust bean gum	410
EPS-1/Xanthan gum/Guar gum/Locust bean gum	350

gum과 다당류 EPS-1을 1:1 혼합했을 때 점도는 510cp로 다당류 EPS-1용액의 점도를 약 3배 정도, locust bean gum 용액의 점도를 약 5.5배 정도 높이는 현상을 보여 다당류 EPS-1과 xanthan gum을 혼합한 시료보다 혼합효과가 월등히 좋았다.

또한 각 다당류를 3종류씩 1:1:1로 혼합한 실험에서는 다당류 EPS-1/xanthan gum/locust bean gum의 혼합시료가 다른 시료에 비해 점도가 높게 나타났으며 다른 혼합시료들은 비슷한 경향을 보였다.

그리고 다당류 4종류를 1:1:1:1로 혼합하였을 경우는 다당류 EPS-1을 locust bean gum과 단독 혼합한 시료와 xanthan gum/locust bean gum과 혼합한 시료들 보다 점도가 높게 나타나지 않는 것으로 보아 여러 종류를 혼합하는 것은 바람직하지 않는 것으로 생각된다. 따라서 *Xanthomonas* sp. EPS-1균주가 생산한 다당류는 xanthan gum, guar gum 및 locust bean gum과의 혼합효과가 양호하였으며, 그 중 locust bean gum과의 혼합효과가 가장 우수하였다.

그러므로 실제 응용면에서는 다당류 EPS-1을 단독적으로 이용하는 것도 좋으나 locust bean gum과의 혼합 이용이 훨씬 효과적이라고 생각된다. 특히 locust bean gum은 점도가 낮으므로 본 다당류 EPS-1과 소량 혼합하여 이러한 단점을 보완할 수 있기 때문에 다당류 EPS-1은 locust bean gum의 증점제로서 이용 가능성이 높을 것으로 기대되고 있다.

## 요 약

*Xanthomonas* sp. EPS-1으로 부터 생산된 다당류 EPS-1용액의 농도가 0.04(g/dl)일 때, 비점도는 0.137, 환원점도는 3.425, 상대점도는 1.137, 고유점도는 3.209임을 알 수 있었다. 겔보기 점도는 온도상승에 따라 낮아졌으나 다시 온도를 증가하였을 때는 서서히 증가

하였다. 열처리 후에도 물성은 거의 변화지 않았으며, 응집성은 좋지 않았으나 locust bean gum과의 혼합효과는 우수하였다.

## 문 헌

- Sutherland, I. W. : Microbial exopolysaccharide. *Crit. Rev. Microbiol.*, **10**, 173(1983)
- Berkely, C. L., Kelly, D. P. and Seal, K. J. : Best in "Biotechnology". Blackwell Scientific Pub., Oxford, p.187(1985)
- Lawford, H., Keenan, J., Phillips, K. and Orts, W. : Influence of bioreactor design on the rate and amount of curdian-type exopolysaccharide production by *Alcaligenes faecalis*. *Biotechnol. Lett.*, **8**, 145(1986)
- Jarman, T. R. and Pace, G. W. : Production of xanthan having a low pyruvate content. Br. Pat. 2115854(1984)
- Dufresne, R., Thibault, J. and Lencki, R. : The effect of pressure on the growth of *Aureobasidium pullulans* and the synthesis of pullulan. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **32**, 526(1990)
- Michel, R., Seviour, J. and Pethica, L. M. : Exocellular polysaccharide production by isolates of *Epococcum purpurascens*. *Biotech. Letters*, **9**, 741(1987)
- 三殿昇求 : 微生物工學-基礎と應用. 産業圖書, 東京, p. 273(1983)
- Irene, B. M., Jansson, P. E. and Lindberg, B. : Structural studied of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 7A. *Carbohydrate Research*, **198**, 67(1990)
- 손봉수, 박석규, 강신권, 이상원, 성치남, 성낙계 : 다당류를 생산하는 미생물의 분리 및 배양특성. 산업미생물학회지, **23**, 263(1995)
- 손봉수, 박석규, 강신권, 이상원, 성낙계 : *Xanthomonas* sp. EPS-1이 생산하는 다당류의 리올로지 특성. 산업미생물학회지, **23**, 269(1995)
- 권기석 : *Bacillus polymyxa* 변이주가 생산하는 exopolysaccharide KS-1의 특성. 건국대 박사학위 논문(1992)
- Sutherland, I. W. : The properties and potential of microbial exopolysaccharide. *Chimicaoggi*, **8**, 9(1990)

(1995년 9월 29일 접수)