

Bacillus coagulans CE-74가 생산하는 Biopolymer의 분리 및 정제

이선호 · 성태수¹ · 최 청*

영남대학교 식품가공학과, ¹창원전문대 식품과학계열

초 록 : 미생물로부터 고분자 물질을 생산하여 기능성 식품보조제로 사용하기 위한 일환으로 고점성의 biopolymer를 생산하는 균주를 분리하고 이 분리균에 대한 분류학적 성질 및 생성 biopolymer의 이화학적 성질을 조사하였다. 분리 균주는 *Bacillus coagulans*로 동정되었으며 *Bacillus coagulans* CE-74라 명명하였다. Acetone과 ethanol 처리를 하여 crude biopolymer를 얻었으며, crude biopolymer를 DEAE-cellulose ion exchange chromatography, Sephadex G-100 및 Sepharose CL-2B를 사용하여 fraction I과 fraction II 두 분획을 분리 정제하였다. 분리된 분획의 구성 성분을 분석한 결과 당 성분은 검출되지 않았고, 아미노산 분석을 실시한 결과 fraction I은 lysine만으로 구성되어 있었으며, fraction II는 glutamic acid만이 검출되었다. 분자량은 fraction I은 약 42 kD, fraction II는 약 1.6×10^3 kD로 추정되었다. (1999년 12월 21일 접수, 2000년 2월 2일 수리)

서 론

미생물이 생산하는 biopolymer는 생산조건에 따라 그 구성 성분뿐만 아니라 분자량 및 구성성분간의 결합의 방법까지 다른 다양한 종류가 존재할 수 있다. 또한 그에 따라 독특한 물성과 생리활성을 나타낼 수 있으므로 각종 산업의 신소재로서 이용 가능성이 크며, 미생물을 이용한 발효법에 의해 대량 생산할 수 있으므로 장래가 유망한 산업이다. 이렇게 생산된 biopolymer는 식품공업뿐만 아니라 화학공업에서 물성개량제, 유화제, 안정제, 응고제, 피막형성제, 보습제 및 저 칼로리 음식의 성분으로 사용하거나 식품의 질감과 감각적 특성을 부여하기 위해 액체의 점성을 증가시키는 등 다양한 용도로 이용되고 있다.¹⁻¹¹⁾

현재 많이 사용되고 있는 합성의 고분자는 효소 분해가 어렵고, 천연 고분자는 생분해는 쉽지만 품질이 균일 하지 않으며, 자원의 제한성을 가지므로 미생물이 생산하는 biopolymer 들인 xanthan gum,¹²⁾ dextran,¹³⁾ pullulan,¹⁴⁻¹⁷⁾ levan,¹⁸⁾ gellan gum,^{19,20)} poly- β -hydroxybutyrate(PHB)^{21,22)} 및 polyglutamic acid(PGA)¹²⁻²⁹⁾ polylysine(PL)³⁰⁻³³⁾ 등이 주목을 받고 있다. 그 중 PGA와 PL은 아미노산으로 구성된 polyamino acid인데 PL은 *Streptomyces*에 의해 생산된다고 보고된 바 있다.³⁰⁻³³⁾ 한편 지금까지 알려진 PGA 생산균주는 대부분 *Bacillus* 속 균주이며, 주로 *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. anthracis*에 의한 것으로 보고 되고 있다. PGA와 PL은 생분해성을 가지며 인체에 대한 독성이 낮고, 비교적廉 가격으로 생산할 수 있으며 독특한 물성을 갖는 등 우수한 성질을 가지고 있다. 그러나 이들의 성질은 아직도 완전히 밝혀지지 않은 점이 많으며 그 생산균으로 보고된 것도 다양하지 않은 실정이다. 따라서 지금까지 알려진

PGA 및 PL생산균 이외의 생산균주를 탐색하고 이들의 다양한 특성과 기능성 소재로서의 가능성을 밝히는 등의 이용에 대한 연구가 필요한 실정이다.

이에 본 연구에서는 polyamino acid를 생산하는 균주를 분리하고 동정하였으며 이에 의해 생산된 biopolymer의 구성 성분 및 이화학적 성질을 검토하였다.

재료 및 방법

균 분리 및 동정

우수한 생리활성을 가진 biopolymer를 생산하는 균주를 분리하기 위하여 대구 및 경북지방에서 토양, 산, 하천, 퇴비 및 배수를 균원 시료로 채취하여 점질물을 생성하는 균주를 분리하였으며, 그 중 점질물 생성능이 우수한 균들을 2차 선별하였다. 2차 선별된 균주 중 배양시 점도 및 biopolymer 생산성이 가장 우수한 균을 선별하였다. 선별된 균주는 *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*³⁴⁾ 방법에 준하여 동정하였으며, 그 결과는 미국 Analytical Services, Inc.에 의뢰하여 확인하였다.

분리 및 정제

동정된 균을 Nutrient broth에서 예비 배양하여 증자한 대두에 1%되게 접종하여 72시간 배양하였다. 여기에 증류수를 가하고 진탕 추출한 배양물을 9,000×g로 원심분리하여 균체 및 불용성 물질을 제거하였다. 상정액에 동량부피의 ethanol을 첨가하여 교반용으로 교반하는 조작을 수회 반복하여 고점성의 crude biopolymer를 얻었다. 그리고 DEAE-cellulose를 충전한 column을 pH 7.3 Tris-HCl buffer로 용출하였으며 0~1N NaCl로 gradient를 실시하여 분획하였다. 그 후 Sephadex G-100을 column에 충전하고 시료를 0.7 M NaCl용액에 녹인 후 원심분리하여 불순물을 제거한 후 칼럼에 loading하였다. Sephadex G-100 column을 통과시킨 후의 분획은 Sepharose CL-2B를 사용하여 gel 여과를 실시하였으며 이때 분획물은 증

찾는말 : biopolymer, polyglutamic acid, polylysine, *Bacillus coagulans*

*연락처 : Tel : 82-53-810-2952; Fax : 82-53-815-1851
E-mail : cchoi@ynucc.yeungnam.ac.kr

류수로 투석하여 동결 건조하였다.

이화학적 특성

Biopolymer 분획 및 이들의 가수분해물의 정색반응은 Anthrone, Molish, Fehling, Iodine, Ninhydrin 반응을 상법에 따라 실시하였다. 총당 정량은 phenol-sulfuric acid 법으로 정량하였다. 분자량 측정을 위해 증류수로 충분히 용출시킨 Sepharose CL-2B column(2 cm×99 cm)을 이용하여 gel permeation chromatography를 하였다. 표준물질로서는 분자량 2000, 510, 70, 40, 10 kD인 dextran(Sigama CO., U.S.A)을 각각 0.3%용액 5.0 ml를 loading한 뒤 시간당 20.0 ml의 유속으로 tube당 3.0 ml씩 분취하였다. 이때 void volume(v_0)은 blue dextran(MW; 2,000kD)을 이용하여 결정하였으며 biopolymer의 분자량은 v_0 에 대한 표준물질의 elution volume(v_e)의 비율(v_0/v_e)과 log scale의 분자량과의 관계를 표준곡선으로 나타내어 분자량을 결정하였다. 분획한 biopolymer의 아미노산 분석을 위하여 6N HCl을 첨가하고 질소로 치환한 후, 밀봉하여 120°C에서 18시간 가수분해하였다. 가수분해가 끝난 시료에 증류수를 가하여 감압건조하는 조작을 반복하여 염산을 완전히 제거하여 아미노산 자동 분석기를 이용하여 아미노산 분석을 실시하였다. 구성당 분석을 위해 2N H₂SO₄로 90°C에서 3시간 가수분해하여 GC(HP 5890 series II, U.S.A)를 이용하여 당 분석을 실시하였다. 분획된 biopolymer 분말과 KBr을 20%(w/w)정도로 섞어 막자사발에서 마쇄하여 KBr pellet으로 만든 다음, IR spectrophotometer(FTIR, FTS-20/80, Biorad, Digilab, Division, U.S.A)를 사용하여 적외선 흡수 spectrum을 조사하였다.

결과 및 고찰

균 분리 및 동정

미생물로부터 새로운 고기능성을 갖는 biopolymer를 생산하기 위한 목적으로 대구 및 경북지방에서 토양, 산, 하천, 퇴비 및 배수를 균원 시료로 채취하여 점질물을 생성하는 균주를 분리하였으며, 그 중 점질물 생성능이 우수한 균들을 2차 선별하였다. 2차 선별된 균주 중 배양시의 점도와 구성 성분을 조사하여 신규성일 가능성이 높고 점질물 생성력이 가장 우수한 CE-74균주를 최종 선별하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology³⁴의 방법에 준하여 동정한 결과는 Table 1과 같다. CE-74균주는 아포를 형성하는 Gram 양성, 간균으로 운동성이 있었으며 catalase생성능이 양성이었다. 또한 glucose로부터 산을 생성하는 등 *Bacillus sp.* 특유의 특성을 나타내어 *Bacillus sp.*으로 추정하였으며, 이 균주를 Analytical Services, Inc.(USA)에 의뢰하여 확인한 결과 *Bacillus coagulans*로 동정되어 *Bacillus coagulans* CE-74로 명명하였다.

분리 및 정제

대두배양물에 10배의 증류수를 첨가하여 저온실에서 12시간 진탕하여 biopolymer를 추출하였으며 추출액을 9,000×g로 원심 분리한 후 균체 및 잔사를 제거하였다. 상정액에 동량 부피

Table 1. Microbiological properties of the isolated strain CE-74

Characteristics	CE-74
Shape	Rod
Size	0.8 μm×2.5 μm
Motility	+
Spore	+
Spore shape	E
Spore position	C
Gram staining	+
Nitrate reduced to nitrite	d
Voges-Proskauer test	+
Formation of Indole	-
Anaerobic growth	+
Catalase test	+
Degradation of tyrosine	-
Hydrolysis of	
Casein	+
Starch	+
Gelatin	+
Acid from D-glucose	+
Growth at pH	
6.8, nutrient broth	+
5.7	+
Temperature for growth	40°C

Symbols: -, 90% or more of strains are negative; +, 90% or more of strains are positive; d, 11~89% of strains are positive; E, ellipsoidal; C, central.

의 ethanol을 첨가하여 교반봉으로 서서히 교반하면서 고점성의 crude biopolymer를 얻었다.

DEAE-cellulose

Crude biopolymer는 DEAE-cellulose로 충전된 column에 load하여 pH 7.3 Tris-HCl buffer로 60 ml/hr의 속도로 용출하였다. Buffer로 용출되지 않은 것은 0~1 M NaCl로 이온강도를 점차적으로 높여가며 용출시켰으며, 각 분획은 210 nm에서 흡광도를 측정하고 당 함량은 phenol sulfuric acid 법을 이용하여 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였으나 각 분획은 거의 당 성분이 함유되어 있지 않았다. 분획 결과 Fig. 1과 같이 buffer로 용출된 중성 분획에서 fraction I을 얻었으며 NaCl로

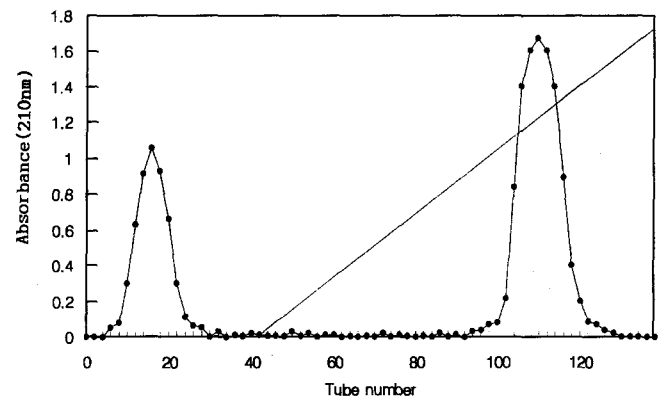


Fig. 1. DEAE-cellulose column chromatography of crude biopolymer. (Column size: 2.6×50 cm, Flow rate: 60 ml/hr, Fraction volume: 5 ml/tube).

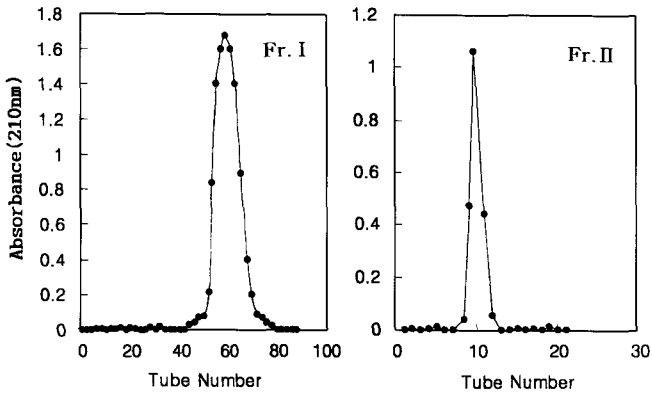


Fig. 2. Sephadex G-100 column chromatography of fraction I and fraction II (Column size: 2.5×45 cm, Flow rate: 40 ml/hr, Fraction volume: 3 ml/tube).

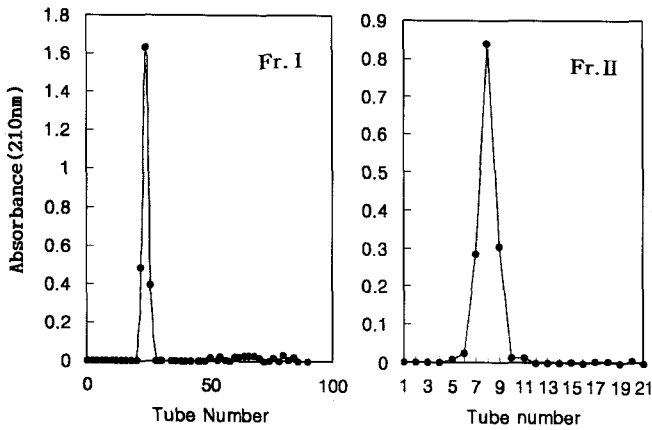


Fig. 3. Sephadex G-100 column chromatography of fraction I and fraction II (Column size: 2.5×99 cm, Flow rate: 20 ml/hr, Fraction volume: 3 ml/tube).

용출된 산성 분획에서 fraction II를 얻었다. 각 분획은 3일 동안 투석을 한 다음 동결건조하였다.

Sephadex G-100

DEAE-cellulose column chromatography에 의해 분획된 fraction I과 fraction II를 0.7 M NaCl 용액에 녹인 후 원심분리하고 불순물을 제거한 후 Sephadex G-100으로 충전된 칼럼에 loading하였다 0.7 M NaCl 용액으로 40 ml/hr의 속도로 용출하여 3 ml씩 분획한 결과 fraction I(Fig. 2)과 fraction II(Fig. 3) 두 분획 모두 Sephadex G-100 용출조건에서 단일의 peak를 얻을 수 있었으며, 분획된 각 fraction은 투석 후 동결 건조하였다.

Sephadex CL-2B

Sephadex G-100 column을 통과시키고 투석하여 동결건조된 분획은 Sephadex CL-2B를 사용하여 gel 여과를 실시한 결과 fraction I(Fig. 4)과 fraction II(Fig. 5) 두 분획 모두 단일의 peak를 보였으며 이때 분획물은 증류수로 투석하고 동결 건조한 후 분석에 사용하였다. Gel chromatography를 이용하여 분자량을 측정된 결과 fraction I은 약 42 kD, fraction II는 약 1.6×10³ kD로 추정되었다.

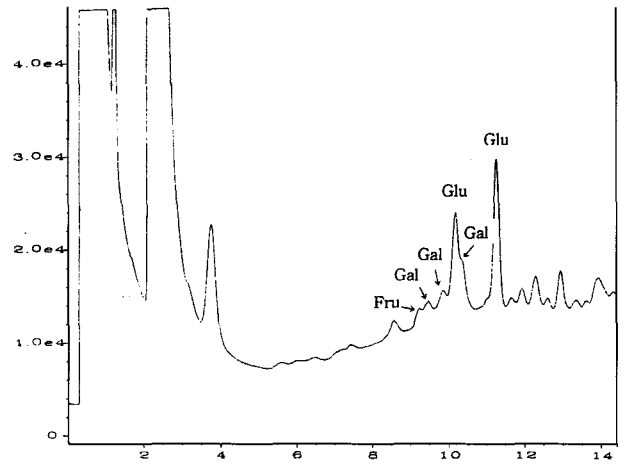


Fig. 4. Gas chromatogram of sugars in crude biopolymer hydrolysate.

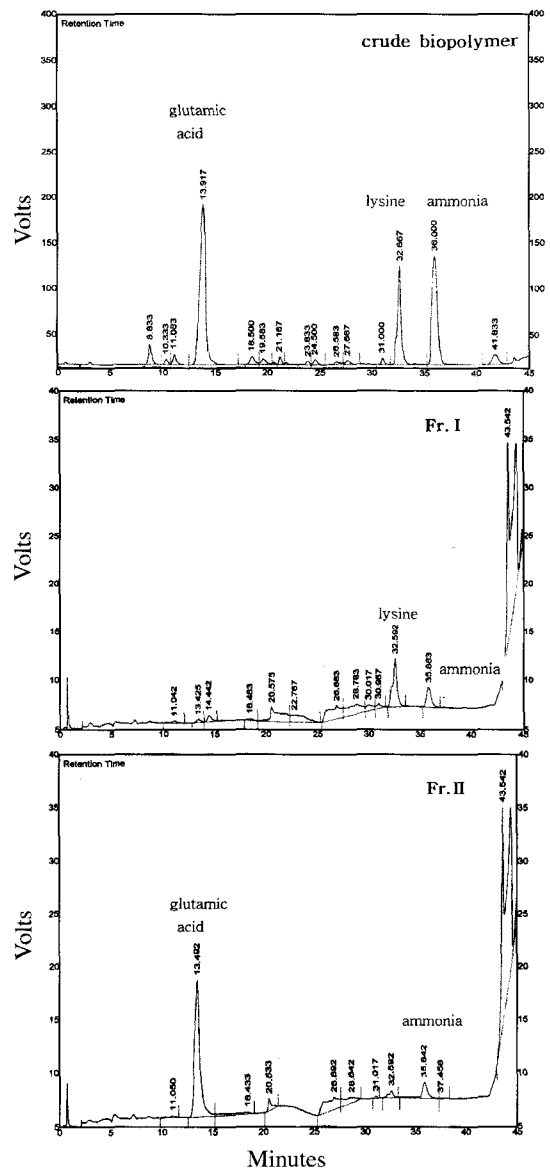


Fig. 5. Chromatogram of amino acids in the acid hydrolysate of the crude biopolymer, fraction I and fraction II.

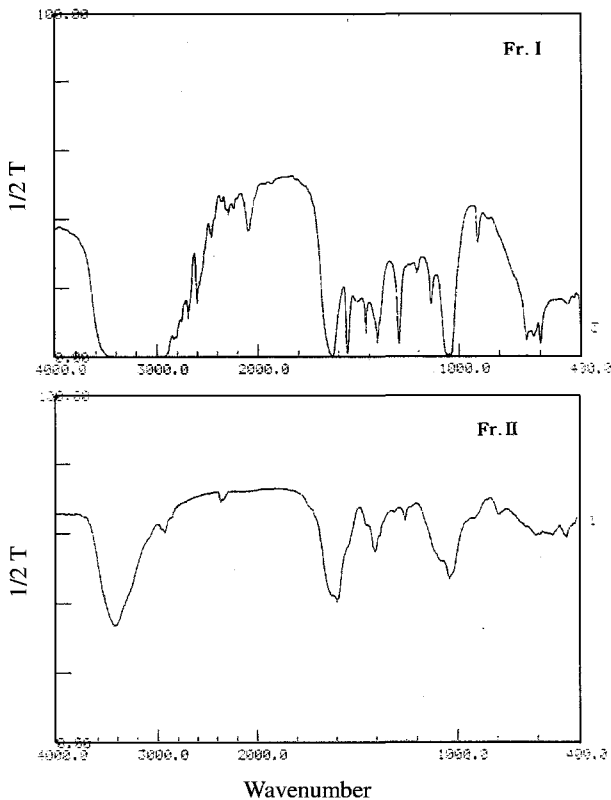


Fig. 6. Infra-Red spectrum of fraction I and fraction II.

이화학적 특성

회수 정제된 fraction들은 무미, 무취였으며, 용매에 대한 용해성을 조사한 결과 두 분획 모두 물에는 비교적 잘 용해되었으며, 특히 fraction II의 경우는 물에 용해되어 점조성을 나타내어 crude biopolymer 점성의 주요 원인 성분으로 사료되었다. 유기용매에 대한 용해성을 조사한 결과 acetone, methanol, ethanol 등의 용매에 의해 침전되었다. Column chromatography를 통해 분획된 fraction I, II 및 가수분해물에 대한 정색 반응 결과 당의 일반 정색 반응인 Anthrone, Molish반응에서 crude biopolymer에서는 양성을 나타내었으나 정제 분획된 fraction I, II는 모두 반응을 보이지 않았고, iodine 반응에서도 음성을 나타내어 분리된 polymer에는 당이 존재하지 않으리라 추정되었다. 이를 확인하기 위해 crude biopolymer를 GC를 이용하여 구성당을 분석한 결과 galactose 1.6848 mg/g, glucose 0.3370 mg/g 및 fructose 0.0369 mg/g로 당류가 소량 검출되었다(Fig. 6). 그러나 DEAE-cellulose column chromatography, Sephadex G-100 및 Sepharose CL-2B column chromatography를 통하여 정제된 fraction I과 II에 대한 구성당을 GC 분석한 결과 당류는 검출되지 않았다. 이로써 분리된 분획에는 당이 존재하지 않음을 확인하였다. 이는 crude 상태에서는 유리상태 또는 결합상태 등으로 당 성분들이 존재하였으나, 정제 과정에서 제거 또는 소실되었거나 분리 후 분획에는 당이 결합되어 있지 않거나 존재하더라도 극소량인 것으로 판단된다. 그러므로 본 biopolymer는 다당류는 아닌 것으로 판명되었다.

α -아미노산에 매우 예민하게 반응하며, 아미노산의 정량에도 쓰이는 Ninhydrin 반응에서 두 분획 모두 가수분해 후에는 양

성으로 나타나 구성물질 중 아미노산이 존재함을 확인하였다. 정제된 biopolymer를 가수분해하여 아미노산 분석기로 아미노산 분석한 결과 crude biopolymer는 Fig. 7에서와 같이 glutamic acid와 lysine 두 종류의 아미노산이 주 구성성분이었다. 이를 분리한 fraction I은 Fig. 8에서와 같이 lysine만으로 구성되어 있었으며, fraction II(Fig. 9)는 glutamic acid만이 검출되어 glutamic acid로 구성된 homopolymer로 추정되었다. Fraction II의 물에 대한 강한 용해성은 γ -PGA의 carboxyl 기에 기인하는 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 fraction I 및 II는 당을 함유하지 않고 각각 아미노산인 lysine과 glutamic acid로 구성된 물질인 것으로 추정하였다.

Biopolymer의 구성성분을 추정하기 위한 다른 방법으로는 정제된 biopolymer를 적외선 spectrum을 통해 분석한 결과로 Fig. 10, 11에 나타내었다. OH 혹은 NH의 특이적인 3,400 cm-에서의 강한 흡수, carboxyl기 유래의 1,725 cm-부근에서의 흡수를 보였으며, 1582 cm-과 1420 cm-에서의 흡수로 carboxylate anion의 존재가 관찰되었다. 2928 cm-과 2850 cm-에서의 흡수는 전형적인 aliphatic carboxylic acid의 스펙트럼에서 관찰되는 C-H bending, 주요 흡수 peak는 PGA의 IR spectrum에서 관찰되는 많은 carboxylic side group과 peptide bond이었다.

참고문헌

- Kim, J. H., Yoo, Y. J., Lee, K. Y. and Yun, J. S. (1990) A study on the production of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **5**(1), 25-36.
- Yoon, M. H. and Koo, Y. M. (1994) Mechanism of dextran synthesis by dextransucrase. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **9**(1), 1-7.
- Jeong, Y. I., Kim, D. W., Kim, J. H., Park, D. H. and Lee, K. Y. (1994) A study on the pullulan production using whey. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **9**(2), 91-97.
- Shin, Y. C. and Byun, S. M. (1991) Effects of pH on the Elaboration of Pullulan and the Morphology of *Aureobasidium pullulans*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**(2), 193-199.
- Yim, M. H., Son, H. S., Chung, N. H. and Yang, H. C. (1984) Studies on the production of pullulan by *Aureobasidium pullulans*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **12**(3), 219-224.
- Na, Kun., Lee, K. Y. and Park, D. H. (1996) Effects of pH and nitrogen sources on the pullulan production by *Aureobasidium pullulans*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **11**(4), 497-503.
- Yang, J. Y. (1991) Production and Characterization of Levan by *Bacillus polymyxa* D1., M.D. Thesis, Seoul Nat'l Univ., Korea.
- Chung, B. W., Park, S. H. and Ryu, D. Y. (1990) Production of gellan gum by *Pseudomonas elodea*(I)-Estimation of metabolic parameters and rheological properties of culture broth. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **5**(3), 235-240.
- Chung, B. W., Lee, E. M., Chang, K. Y. and Ki, C. Y. (1994) Gellan-type microbial polysaccharide production in continuous fermentation. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **9**(1), 85-90.
- Kim, J. Y., Kim, S. W., Oh, D. K., Lim, H. S. and Kim, J. H. (1995) Optimal production of poly- β -hydroxybutylate and polysaccharide methylan by *Methylobacterium organophilum*

- from methanol. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **10**(2), 176-182.
11. Na, J. W., Kim, C. K. and Kim, S. I. (1991) Control of drug release by poly β -hydroxybutyric acid. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **6**(1), 79-83.
 12. Lee, Y. L., Kim, S. H., Chung, N. H. and Yim, M. H. (1992) A study on the production of viscous substance during the Chungkookjang fermentation. *J. Kor. Agric. Chem. Soc.* **35**(3), 202-209.
 13. Goto, A. and Kunioka, M. (1992) Biosynthesis and hydrolysis of poly(γ -glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IFO3335. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**(7), 1031-1035.
 14. Mclean, R. J. C., Beauchemin, D., Clapham, L. and Beveridge, T. J. (1990) Metal-binding characteristics of the gamma-glutamyl capsular polymer of *Bacillus licheniformis* ATCC 9945. *App. Environ. Microbiol.* **56**(12), 3671-3677.
 15. Hara, T., Shiraishi, A., Fujii, H. and Ueda, S. (1984) Specific host range of *Bacillus subtilis*(natto) phages associated with polyglutamate production. *Agric. Biol. Chem.* **48**(9), 2373-2374.
 16. Fujii, H. (1962) On the formation of mucilage by *Bacillus natto*. Part I. Factors affecting the formation of mucilage. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **36**(12), 1000-1004.
 17. Hara, T. and Ueda, S. (1982) Regulation of polyglutamate production in *Bacillus subtilis*(natto): Transformation of high PGA productivity. *Agric. Biol. Chem.* **46**(9), 2275-2281.
 18. Chung, W. S. and Ko, Y. H. (1997) Transformation and mutation of *Bacillus licheniformis* 9945a producing γ -poly(glutamic acid). *Agric. Chem. Biotechnol.* **40**(3), 173-177.
 19. Ito, Y., Ko, T., Ohmachi, T. and Asada, Y. (1996) Glutamic acid independent production of poly(γ -glutamic acid) by *Bacillus subtilis* TAM-4. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**(8), 1239-1242.
 20. Cheng, C., Asada, Y. and Aida, T. (1989) Production of γ -polyglutamic acid by *Bacillus licheniformis* A35 under denitrifying conditions. *Agric. Biol. Chem.* **53**(9), 2369-2375.
 21. Thorne, C. B., Gomez, C. G., Noyes, H. E. and Housewright, R. D. (1954) Production of glutamyl polypeptide by *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **68**, 307-315.
 22. Troy, F. A. (1973) Biochemistry and biosynthesis of the poly(γ -D-glutamyl) capsule *Bacillus licheniformis*. *J. Biological Chem.* 305-315.
 23. Kubota, H., Matsunobu, T., Uotani, K., Takebe, H., Satoh, A., Tanaka, T. and Taniguchi, M. (1993) Production of poly(γ -glutamic acid) by *Bacillus subtilis* F-2-01. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**(7), 1212-1213.
 24. Yokoi, H., Natsuda, O., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y. (1995) Characteristics of a biopolymer flocculant produced by *Bacillus* sp. PY-90. *J. Ferment. Bioeng.* **79**(4), 378-380.
 25. Park, M. O. (1991) Characterization of the Strain *Bacillus subtilis* BS 62 Isolated from Chungkookjang and its Extracellular γ -Glutamyltrans-peptidase. M. S. Thesis, Chungnam Nat'l Univ., Korea.
 26. Troy, F. A. (1973) Chemistry and biosynthesis of the poly(γ -D-glutamyl) capsule in *Bacillus licheniformis*(II). Characterization and structural properties of the enzymatically synthesized polymer. *J. Biological Chem.* **248**(1), 316-324.
 27. Yokoi, H., Arima, T., Hirose, J., Hayashi, S. and Takasaki, Y. (1996) Flocculation properties of poly(γ -glutamic acid) produced by *Bacillus subtilis*. *J. Ferment. Bioeng.* **82**(1), 84-87.
 28. Kim, K. S. (1992) Studies on the Biodegradable Peptide-polymer Produced by Alkalophilic *Alcaligenes* sp. M. D. Thesis., Kangweon Nat'l Univ., Korea.
 29. Choung, N. H. (1997) Studies on the Production, Rheological and Functional Properties of Biopolymer Produced by *Bacillus subtilis* K-1 and Mutant. M. D. Thesis., Taegu Univ. Korea.
 30. Kunioka, M. and Choi, H. J. (1995) Properties of biodegradable hydrogels prepared by γ irradiation of microbial poly(ϵ -lysine) aqueous solutions. *J. Applied Polymer Sci.* **58**, 801-806.
 31. Shoji, S., Shoichi, O. and Heiichi, S. (1983) Biosynthesis of ϵ -poly-L-lysine by washed mycelium of *Streptomyces albulus* No-346. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **57**(3), 221-226.
 32. Shoji, S. and Heiichi, S. (1981) Poly-L-lysine produced by *Streptomyces*. Part II. Taxonomy and fermentation studies. *Agric. Biol. Chem.* **45**(11), 2497-2502.
 33. Shoji, S., Yoko, F. and Heiichi, S. (1982) Inactivation of bacteriophages by ϵ -Poly-L-lysine Produced by *Streptomyces*. *Agric. Biol. Chem.* **46**(7), 1917-1919.
 34. Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. Z. and Holf, J. G. (1986) In 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. II.' Williams & Wilkins Co., Baltimore, USA.

Purification and Characterization of Biopolymer by *Bacillus coagulans* CE-74

Seon-ho Lee, Tae-Su Seung¹ and Cheong Choi*(Department of Food Science & Technology, Yeungnam University; ¹Division of Food Science, Changwon Junior College)

Abstract: Screening was performed to isolate biopolymer-producing microorganisms from natural sources. The bacteriological characteristics of this strain and physicochemical properties of the biopolymer produced were investigated. The bacterial strain was identified as a *Bacillus coagulans*. Crude biopolymer treated with ethanol and acetone was purified to fraction I and II by ion exchange chromatography and gel chromatography (Sephadex G-100 and Sepharose CL-2B). Analysis of chemical composition and various color reaction revealed that the polymer is composed of amino acids. It was confirmed that fraction II is a homopolymer of glutamic acid and fraction I is a homopolymer of lysine by analysis data of amino acid analyzer, GC and IR.

Key words: biopolymer, polyglutamic acid, polylysine, *Bacillus coagulans*

*Corresponding author