

*Rahnella aquatilis*를 이용한 Lactan gum 생산에서 탄수화물 대사

나 건 · 이성호 · 이기영*
전남대학교 생물화학공학과

Carbohydrate Metabolism in Lactan Gum Producing *Rahnella aquatilis*. Kun Na, Seong-Ho Lee and Ki-Young Lee*. Department of Biochemical Engineering, Chonnam National University, Kwang ju 500-757, Korea - Lactan gum produced by *Rahnella aquatilis* is a high viscous, anionic polysaccharide and has shear thinning behaviour. Lactan gum yield and concentration was greater on disaccharides such as lactose and sucrose than on monosaccharides such as glucose and galactose. When initial carbon source concentration was 45 g/l of sucrose or lactose, the microorganisms produced 28 g/l and 27 g/l of lactan, respectively with a yield more than 60%. β -Galactosidase, hydrolyzing lactose into galactose and glucose, was induced by lactose or galactose. When initial carbon source was 45 g/l of mixed carbon I (glucose:galactose=1:1), lactan gum concentration was higher than that from 45 g/l of monosaccharide (glucose or galactose) but was similar to the result from 45 g/l of lactose. Therefore, lactose hydrolysis reaction by β -galactosidase does not seem to be a rate determining step in lactan gum biosynthesis. When initial carbon source was 45 g/l of mixed carbon II (glucose:fructose=1:1), total carbon source consumption rate was slower than that from sucrose, but glucose consumption rate was faster than that from fructose.

*Rahnella aquatilis*는 그람 음성의 통성 혐기성 박테리아로 주로 신선한 물에 존재하며 36°C에서는 운동성이 없지만 25°C에서 자랄 때는 운동성이 크다(1). 세포크기는 0.5-0.7×1.5-2.5 μm 이고 작은 막대형 모양을 갖고 *Enterobacteriaceae*과에 속하며, 이 미생물 DNA의 G+C는 51~56%(Tm)이다. 대부분의 균주는 methyl red에 양성반응을 보이고 lactose, maltose, rhamnose, raffinose를 포함한 여러 탄수화물을 탄소원으로 이용한다(1).

*Rahnella aquatilis*가 세포막으로 분비하는 lactan gum은 mannose, galactose, galacturonic acid의 몰비가 약 5:3:2이고 유기산을 포함하지 않는 음이온성 다당이다(2). 이 다당의 중량 평균분자량은 약 700만 정도이다. pH 5~11에 있는 1%(w/w) gum 수용액은 안정성이 높아 121°C로 15분간 가열하였을 때 원래 점도의 80% 이상을 유지하였다(3). 이들 유동성질은 식품산업에서 농후제 혹은 안정제로 사용될 수 있으며 요업, 세제에 대한 coating제, 그리고 건축물 사이의 결합제로도 사용될 수 있는 등 여러 분야에서 이용 잠재력을 가지고 있다(3).

1978년 Stauffer와 Leeder(4)는 여러 미생물을 대상으로 유당에서 다당을 합성하는 능력을 시험하였는데 대부분의 미생물은 유당에서 다당을 거의 합성하지 못하였고 *Zoogloea ramigera*만이 높은 수율로 다당(zooglan)을 합성하였다고 보고 하였다. 본 실험에 사용된 균주인 *Rahnella aquatilis*도 유당으로부터 높은 수율로

세포외 다당인 lactan gum을 생산할 수 있는 균주이다. 이것으로 *Rahnella aquatilis*의 유당분해효소의 활성이 높음을 짐작할 수 있다.

Flatt 등(3)은 플라스크배양을 통하여 lactose 같은 2당이 glucose 같은 단당에 비해 lactan 생산에 유리함을 밝히고 그 이유는 uptake system의 차이 때문이라고 추측했다. 그러나 lactose가 permease 계를 통해 흡수된다는 것은 증명하였지만(3) glucose와 galactose가 PTS(phosphotransferase)계로 흡수된다는 증거도 불충분하고 permease계가 PTS계보다 다당생합성에 더 유리하다는 것도 증명되지 않았다. 그러므로 다당생산에 주로 사용되는 2당과 단당들의 다당생산 효율성에 대한 검토가 필요하다.

본 연구에서는 *R. aquatilis*를 이용한 각 탄소원에서의 발효특성을 조사하여 lactan gum 최적생산조건을 탐색하고 생합성 대사경로에 대한 정보의 습득을 목표로 하였다.

재료 및 방법

미생물

본 실험에 사용된 균주는 lactan gum을 고수율로 생산하는 *Rahnella aquatilis*으로서 미국 Wisconsin 대학 Cameron 교수에게서 제공받았다.

배지 및 균주보관

*Rahnella aquatilis*는 활성을 계속 유지시키기 위하여 Flatt 등(5)이 만들고 김 등(6)이 사용한 lactose semi-defined medium(LSM)에 1.8%의 agar를 첨가한 고체

*Corresponding author.

Key words: Lactan gum, *Rahnella aquatilis*, lactose, sucrose, β -galactosidase

배지에 도말하여 4°C의 냉장고에 보관하였으며 일주일 간격으로 계대배양시켜 실험에 사용하였다.

탄소원으로는 lactose, glucose, galactose, sucrose, fructose의 단일 탄소원과 glucose와 galactose를 같은 비율로 혼합한 혼합탄소원 I과 glucose와 fructose를 같은 비율로 혼합한 혼합탄소원 II를 사용하였다.

배양실험

LSM 한천배지상의 균주 한 백금을 LSM 액체배지 5 ml가 담긴 cap tube에 접종하여 28°C, 175 rpm의 진탕배양기에서 12시간 배양한 종배양액을 100 ml의 LSM 배지가 담긴 500 ml 삼각플라스크에 접종하여 28°C, 175 rpm의 조건에서 전배양하였다. 발효조 실험은 2.5L 발효조(NBS, Bioflow II)를 사용하였고 조업용량은 2L로 하였다. 공기는 1 vvm으로 공급하였고, 교반속도는 990 rpm, 온도는 28°C로 유지시켰으며, pH는 1M-HCl과 4M-NaOH를 연동펌프(peristaltic pump)로 자동주입하여 7.0으로 유지시켰다. 그리고 각 탄소원 실험에서는 전 배양 단계부터 해당 탄소원을 이용하여 적응배양시킨 후 사용하였다.

균체량의 측정

세포농도는 분광광도계(Milton-Roy, Spectronic 20D)에서 660 nm의 흡광도를 측정하고 검량선에 의하여 환산하였다.

생산물의 농도측정

발효배양액을 15,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 세포를 침강시키고 상청액을 취한 후 상청액 20 ml에 2배의 ethanol을 첨가한 다음 4°C의 냉장고에 24시간 방치하였다. 그후 생성된 침전물을 미리 무게를 측정해 둔 알루미늄호일 cup에 모아서 60°C의 진공오븐에서 향량이 될 때까지 건조시켜 무게를 측정하였다.

생산물의 확인과 탄소원, 유기산 농도 측정

생산물이 mannose, galactose, galacturonic acid로 이루어진 다당(lactan gum)임을 확인하기 위해 IR, NMR, HPLC를 사용하였다. IR분석은 정제된 세포의 다당의 pellet를 IR분광광도계(Polaris/ICON)로 실행하였고, NMR분석은 구성단당을 알아보기 위해 가수분해시킨 세포의 다당을 D₂O로 용해시켜 분석하였다. HPLC분석의 경우는 정제된 세포의 다당을 TFAA(trifluoro acetic acid)로 가수분해시킨 후 organic acid column을 이용하여 galacturonic acid를 확인하였고, carbohydrate column을 이용하여 galactose와 mannose의 존재를 확인하였다. 또, 발효액중 탄소원분석을 위해서는 sugar pak column과 LC등급의 증류수를 용리액으로 사용하였고, 용리액의 온도는 90°C였으며 유량은 0.5 ml/min이고 굴절률 검출기를 사용하였다. 유기산 분석

을 위해서는 HPX-87H column과 pH 2의 H₂SO₄ 수용액을 용리액으로 사용하였으며 유량은 0.5 ml/min이고 굴절률 검출기를 사용하였다.

발효액의 점도 측정

발효배양중 채취한 발효액의 점도는 점도계(Brookfield RVT DV II)를 항온조와 연결하여 온도를 25°C로 일정하게 유지하여 측정하였다. 전단속도(sec⁻¹)를 0.5에서 100까지 변화시켜 가면서 배양액의 겔보기 점도를 측정하였으며, spindle No. 21과 29를 사용하였다.

유당가수분해효소(β -galactosidase)의 활성측정

유당가수분해효소의 활성을 Lederberg의 방법(7)에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

Lactan gum의 확인

Fig. 1은 lactose를 탄소원으로 사용했을 때 발효 생산된 lactan gum을 한외 여과와 동결건조한 후 FT-IR로 분석한 결과이다. 각 peak에 관한 기능 group은 다음과 같다. OH, 2.93 μ m(wave number 3414 cm⁻¹): C-H, 3.41 μ m(wave number 2933 cm⁻¹): 이온화된 carboxy중의 C=O, 6.14 및 7.10 μ m(wavenumber 1629, 1410 cm⁻¹): 3차 CH rock, 7.96 μ m(wavenumber 1257 cm⁻¹): 다당고리, 9.5 μ m(wavenumber 1066 cm⁻¹). NMR과 HPLC분석에서는 구성 단당을 확인 하였는데 Flatt 등(2, 5)의 결과와 유사한 chromatogram을 얻을 수 있었다(Fig. 2, 3).

Lactan gum의 유변학적 특성

Lactan gum의 유변학적 특성 연구는 물리적 특성을

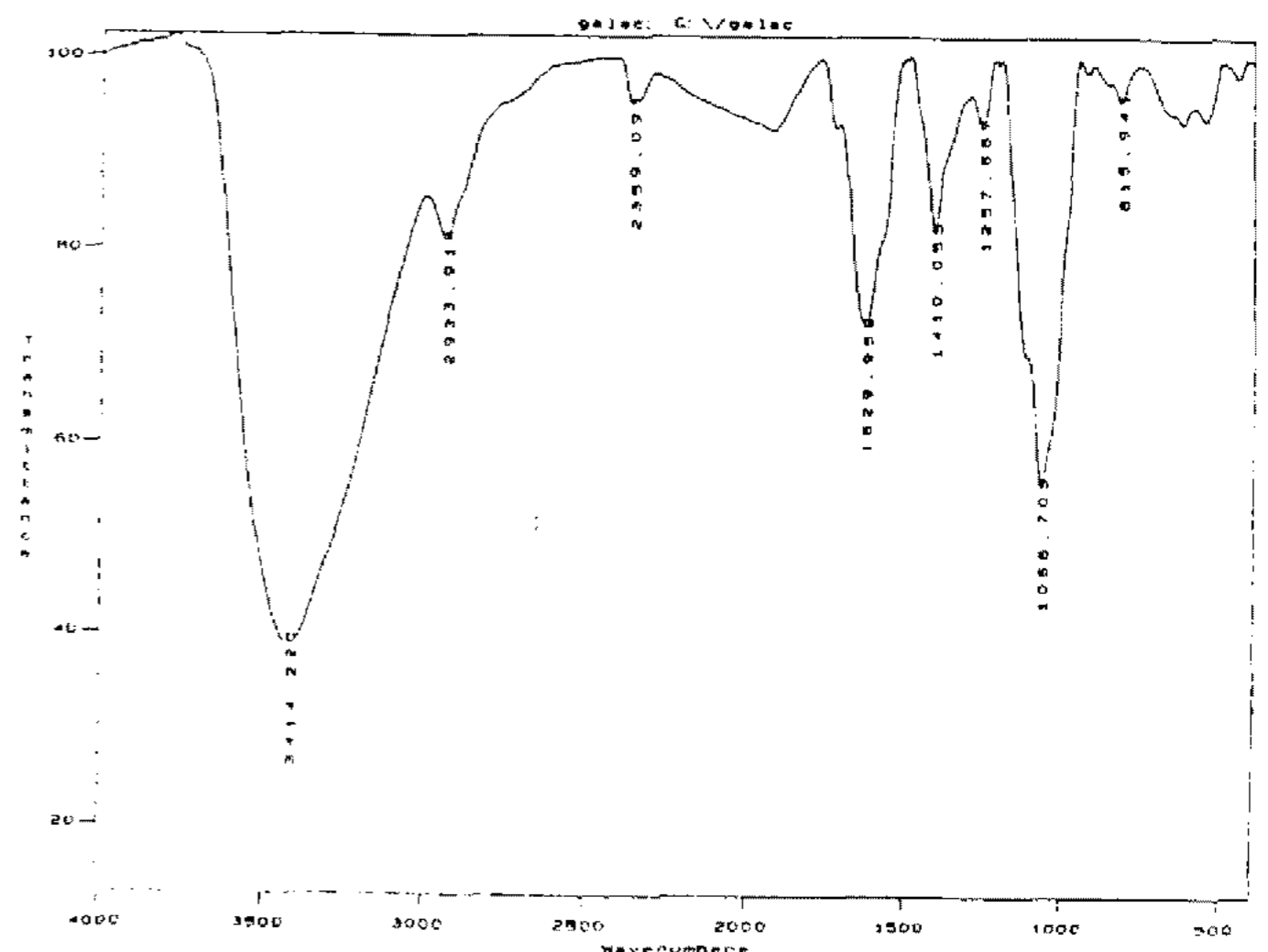


Fig. 1. FT-IR spectra of lactan gum by *Rahnella aquatilis* (Polaris instruments).

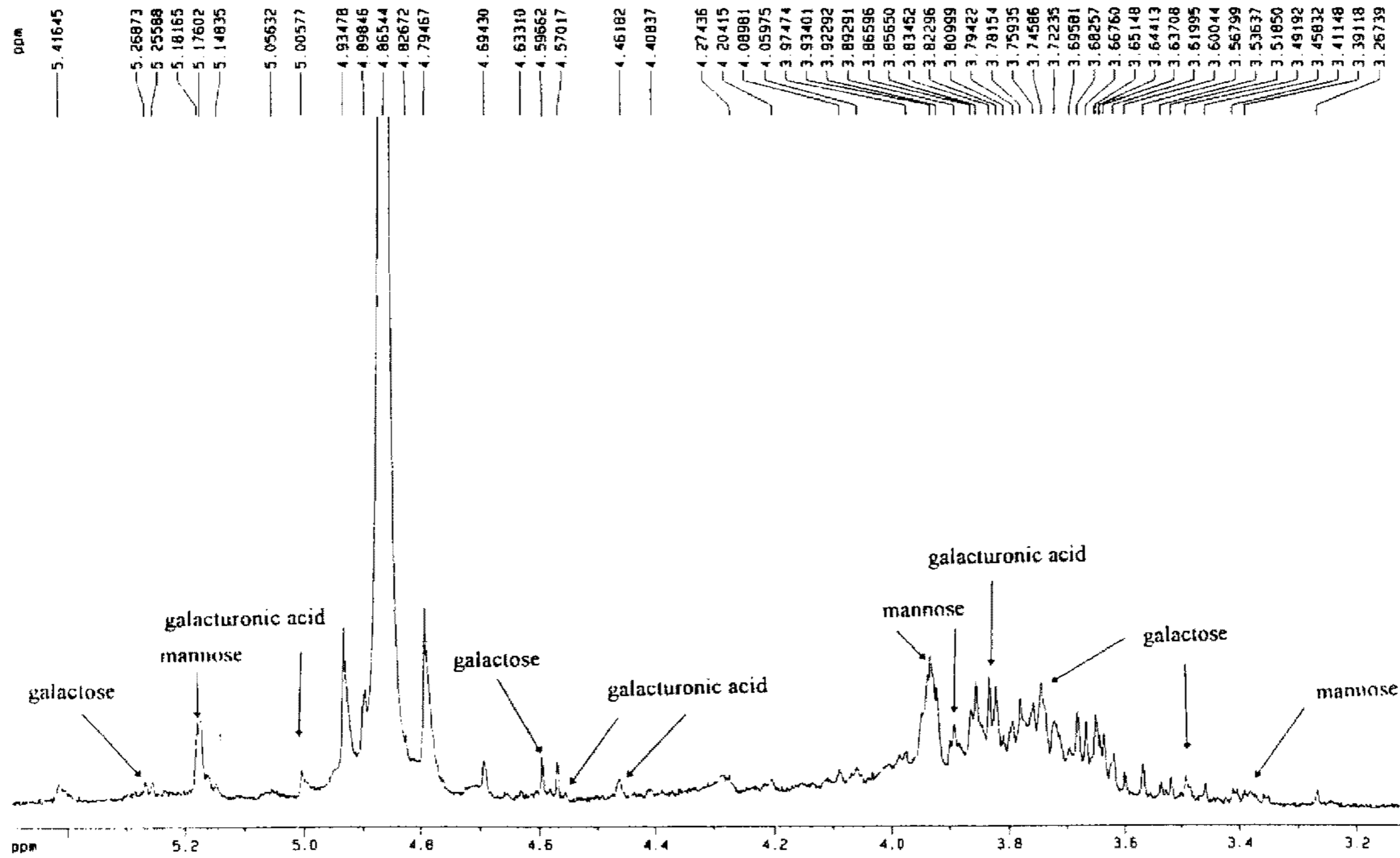


Fig. 2. 300 MHz proton NMR spectra of the TFA acid hydrolysis products of the lactan gum (Bruker Instruments HDO reference at 4.86 ppm).

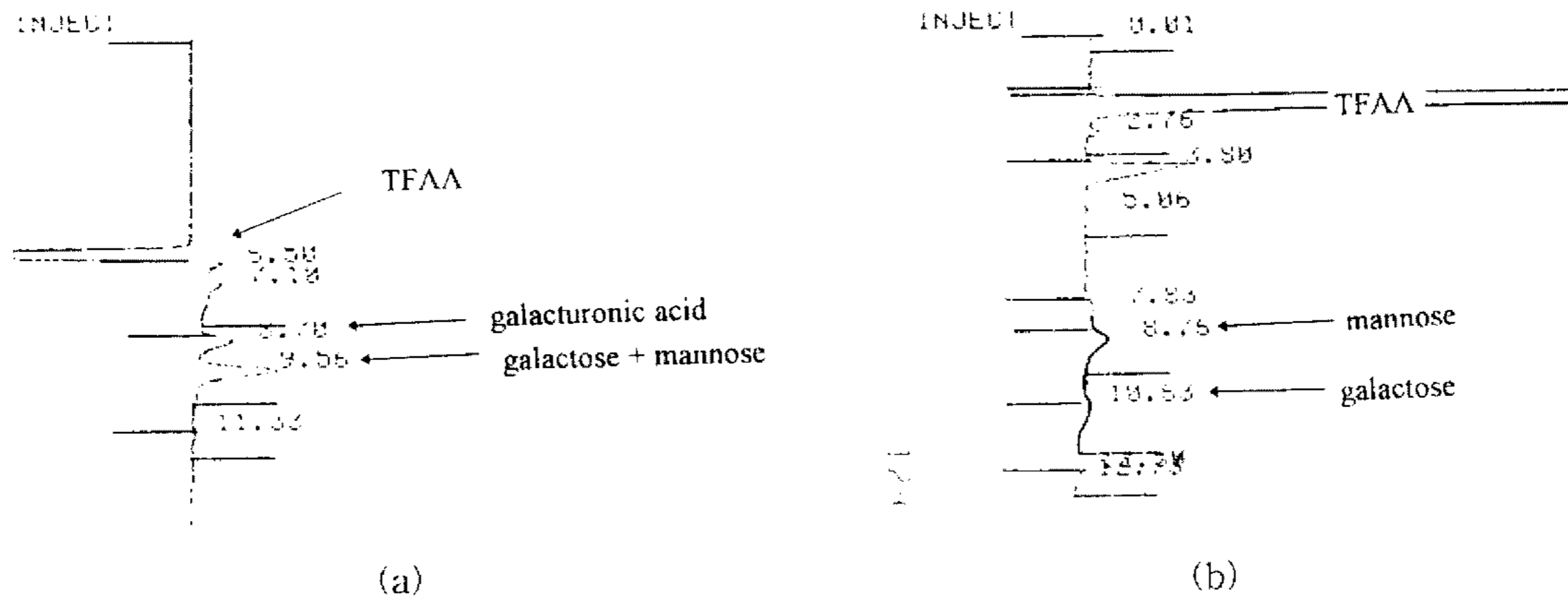


Fig. 3. HPLC Chromatogram obtained from the Elution of TFA acid Hydrolysis Products of lactan gum on (a) an Organic acid Column and (b) Carbohydrate Column.

조사하여 상업적인 적용범위를 넓히는데 그 목적이 있다. Fig. 4는 여러 종류의 다당분말을 1%(w/v)의 농도로 조정하고 25°C, pH 7에서의 겔보기 점도를 측정된 결과인데, lactose에서 얻은 lactan gum이 다른 다당들과 같이 의가소성 흐름 거동을 보임을 알 수 있고, xanthan gum에 비해 전단 속도가 10(1/sec) 이하에서는 점도가 낮게 나타나지만 그 이상의 전단 속도에서는 더 큰 값을 보여주었다.

단일탄소원에 의한 lactan gum의 생합성 실험

탄소원에 따라 달라지는 lactan gum 생산성을 알아보기 위해 다양한 탄소원을 사용하여 실험을 행하였다. Lactose를 기질로 발효 실험을 실시한 결과, 세포 농

도는 12시간에 1.0 g/l에 이르렀고, 이 값은 발효가 끝난 60시간까지 유지되었다(Fig. 5). Lactose는 신속히 소비되어 36시간에 거의 고갈되었고, 세포외로 배출된 당의 양은 2 g/l 이하였다. Rahnella aquatilis와 유사하게 lactose를 잘 소화시키는 Zoogloea ramigera를 이용하여 실험한 Kim 등의 보고(6)에 의하면 Zoogloea ramigera는 lactose 배지에서 발효될 때 세포내에서 분해된 glucose와 galactose를 각각 최고 14 및 11 g/l를 분비하였는데, 이는 Rahnella aquatilis에 비해 상당히 큰 값이라고 생각된다. 따라서 Rahnella aquatilis는 흡수된 당의 다음 반응이 신속히 진행된다고 생각된다. Lactose 45 g/l에서의 lactan gum 생산량은 약 27 g/l로 생산 수율이 60%에 이르렀다(Fig. 5).

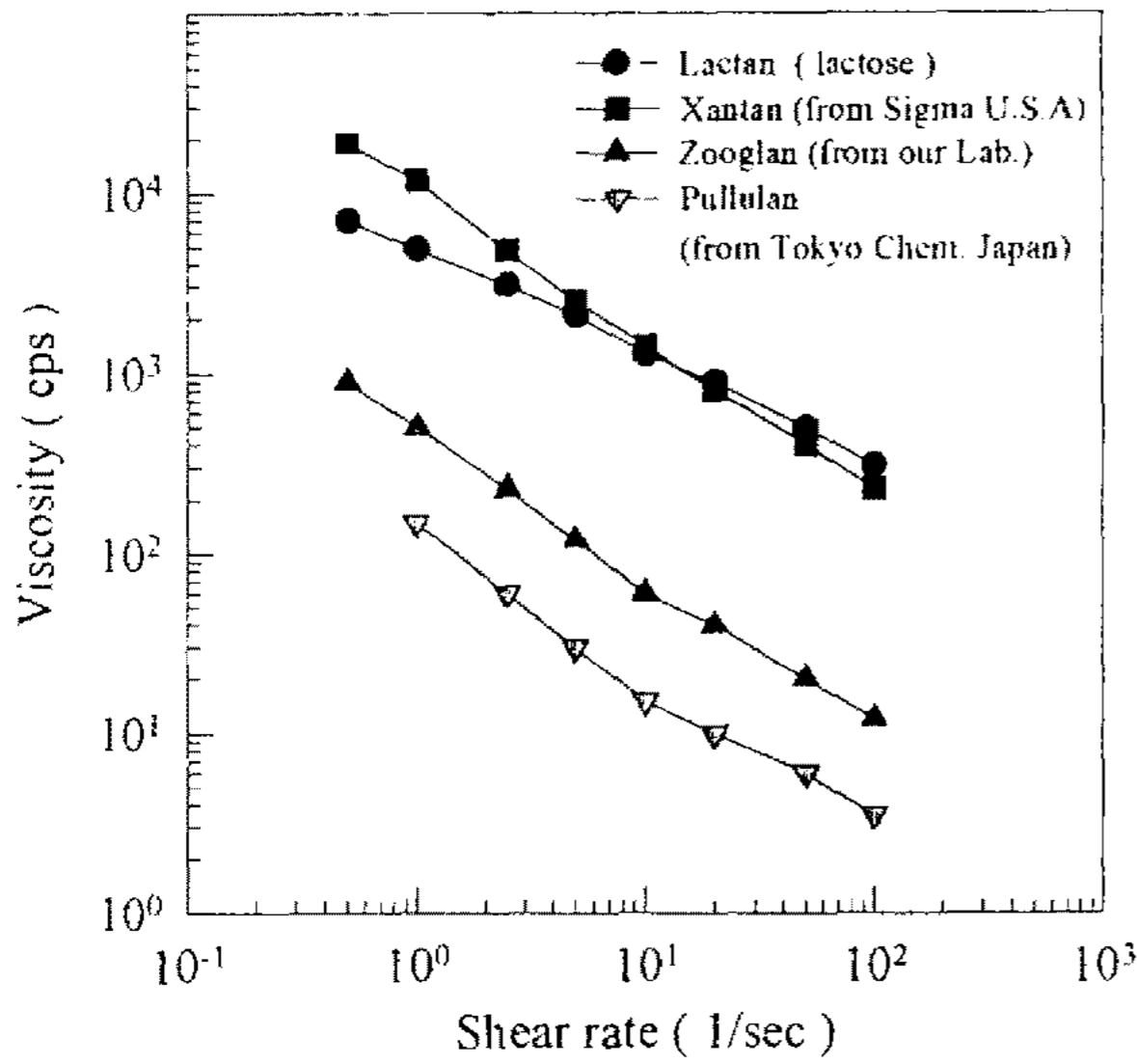


Fig. 4. Viscosity vs. shear rate data for 1% (w/v) solutions of lactan and other polysaccharides.

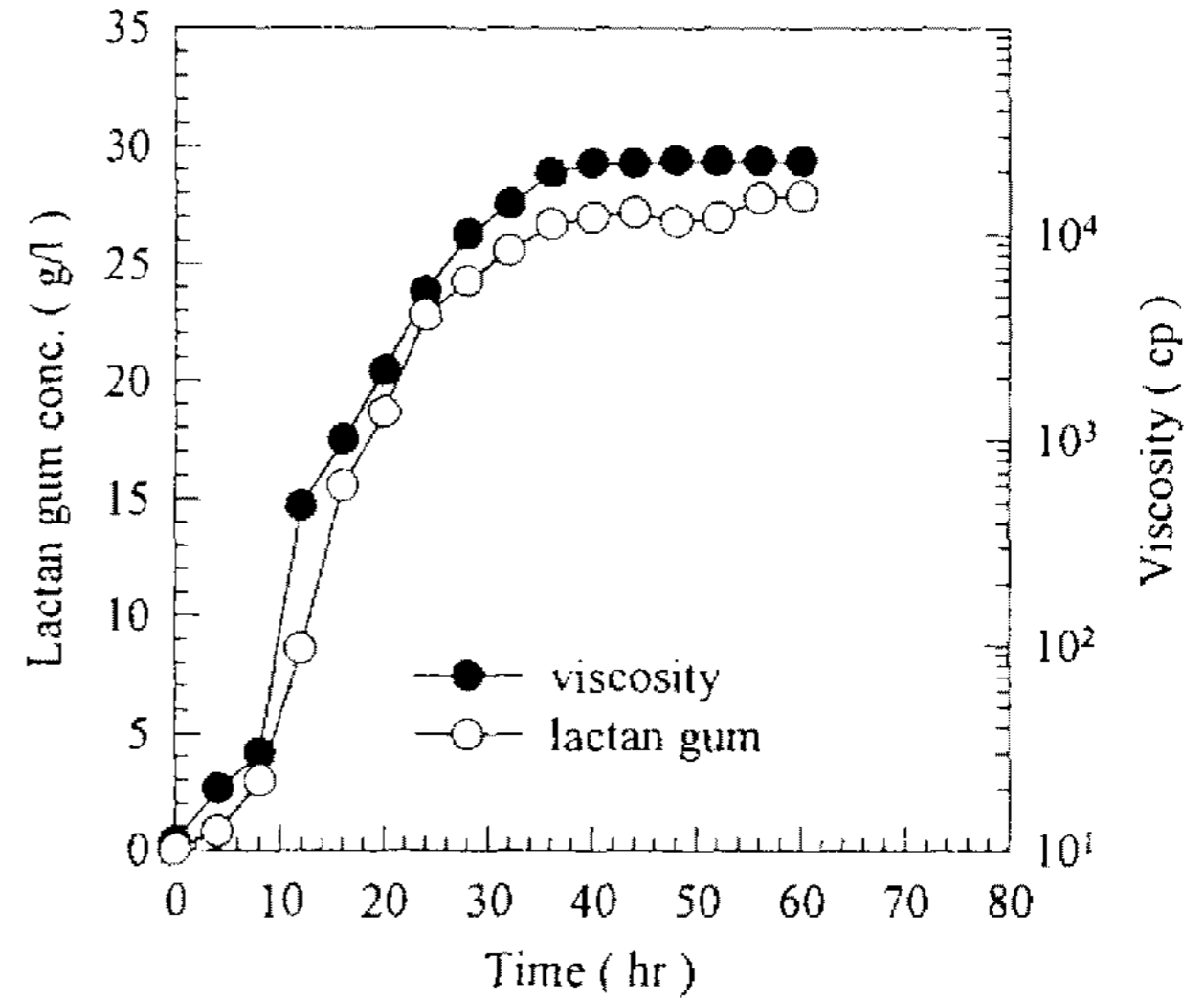


Fig. 6. Relationship between broth viscosity (shear rate = 10 sec⁻¹) and lactan gum concentration during the fermentation of lactose.

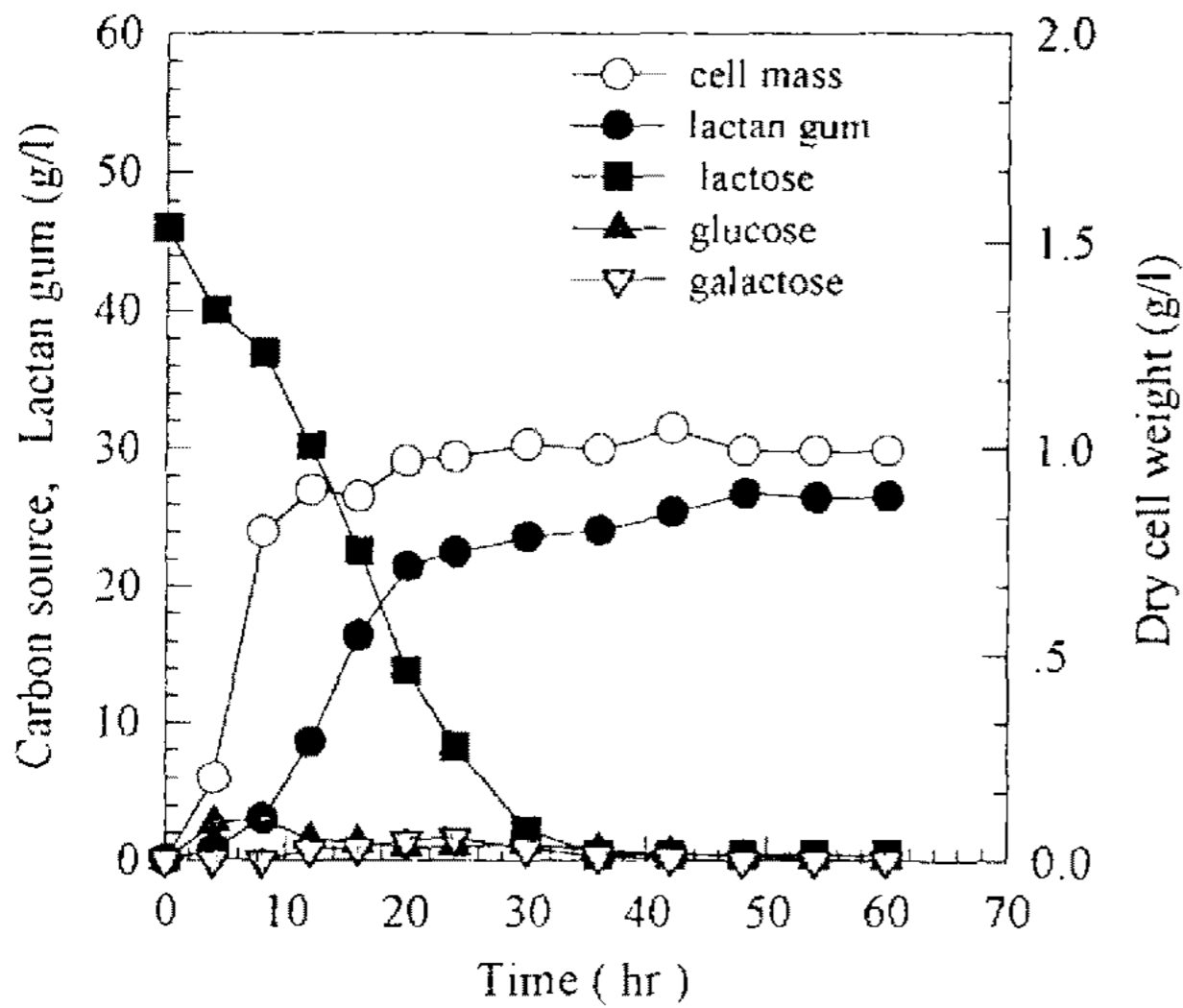


Fig. 5. Time courses of fermentation of lactan gum on lactose.

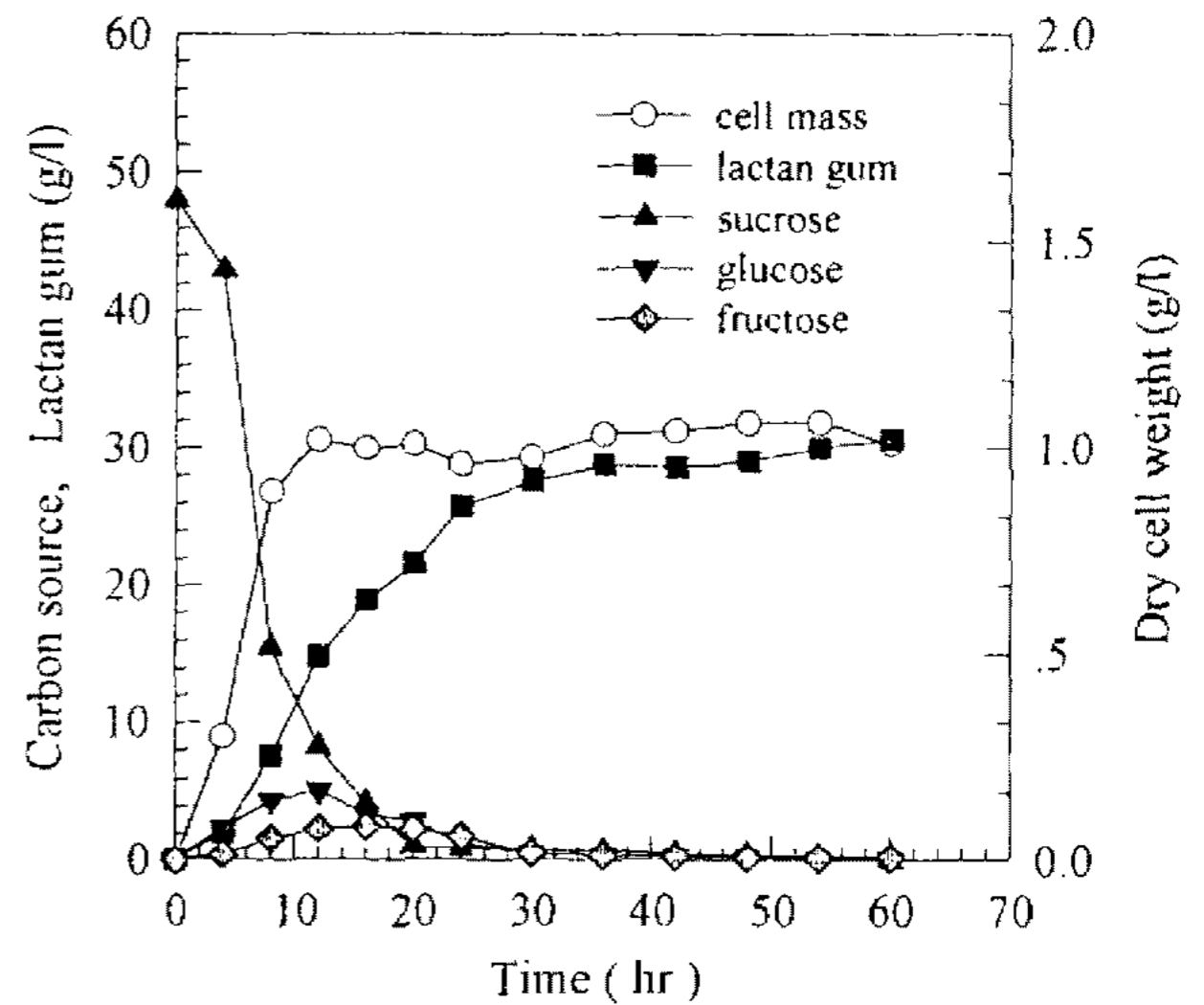


Fig. 7. Time courses of fermentation of lactan gum on sucrose.

본 실험에서 생성된 세포의 다당인 lactan gum 농도를 겔보기 점도값과 비교해 보면 생성물의 농도와 점도의 대수값이 같은 경향을 보임을 알 수 있다(Fig. 6). Lactan gum과 겔보기 점도는 30시간 이후 최대값에 도달하였고, 발효 말기의 점도는 20,000 cp였다.

Fig. 7은 sucrose 45 g/l를 탄소원으로 사용하여 발효 실험을 실시했을 때 발효 시간에 따른 발효액내의 구성당의 농도, 균체량, 생성물의 농도로서, 세포 농도는 10시간에 최고값을 보였고 sucrose는 신속히 분해되어 20시간에는 거의 고갈되었으며, 세포내에서 분해되어 나온 glucose와 fructose도 발효초기에는 어느 일정값을 보였지만 28시간 이후 거의 모두 소비되었다. 이때의 생산량은 29 g/l으로 60% 이상의 높은 수율을 보였다.

Fig. 8은 glucose, galactose와 같은 단당 45 g/l를 단일 탄소원으로 삼은 발효액에서의 lactan 생산량을 2당에

서의 경우와 비교한 것이다. glucose를 탄소원으로 사용한 경우의 발효에서는 다당 생산량이 lactose나 sucrose의 경우보다 훨씬 적은 13 g/l 정도였고 galactose로 발효를 한 경우에도 glucose와 마찬가지로 10 g/l 정도의 적은 다당 생산량을 보였다.

Fig. 9는 lactan gum 발효중의 β -galactosidase 활성을 나타낸 것으로 lactose의 경우 발효 8시간만에 4000 U/ml로 최고값을 보였고 점차 감소하여 발효말기에는 2800 U/ml로 되었다. 이 값은 lactose를 효율적으로 이용하는 다당생산균주인 *Z. ramigera*의 경우(300 U/ml)보다 훨씬 큰 값으로 *R. aquatilis*가 lactose를 잘 이용할 수 있음을 보여주고 있으며, galactose로의 발효중에서도 β -galactosidase 활성은 280 U/ml를 보였다. 그러나 glucose나 sucrose의 경우에는 활성이 거의 나타나지 않았다.

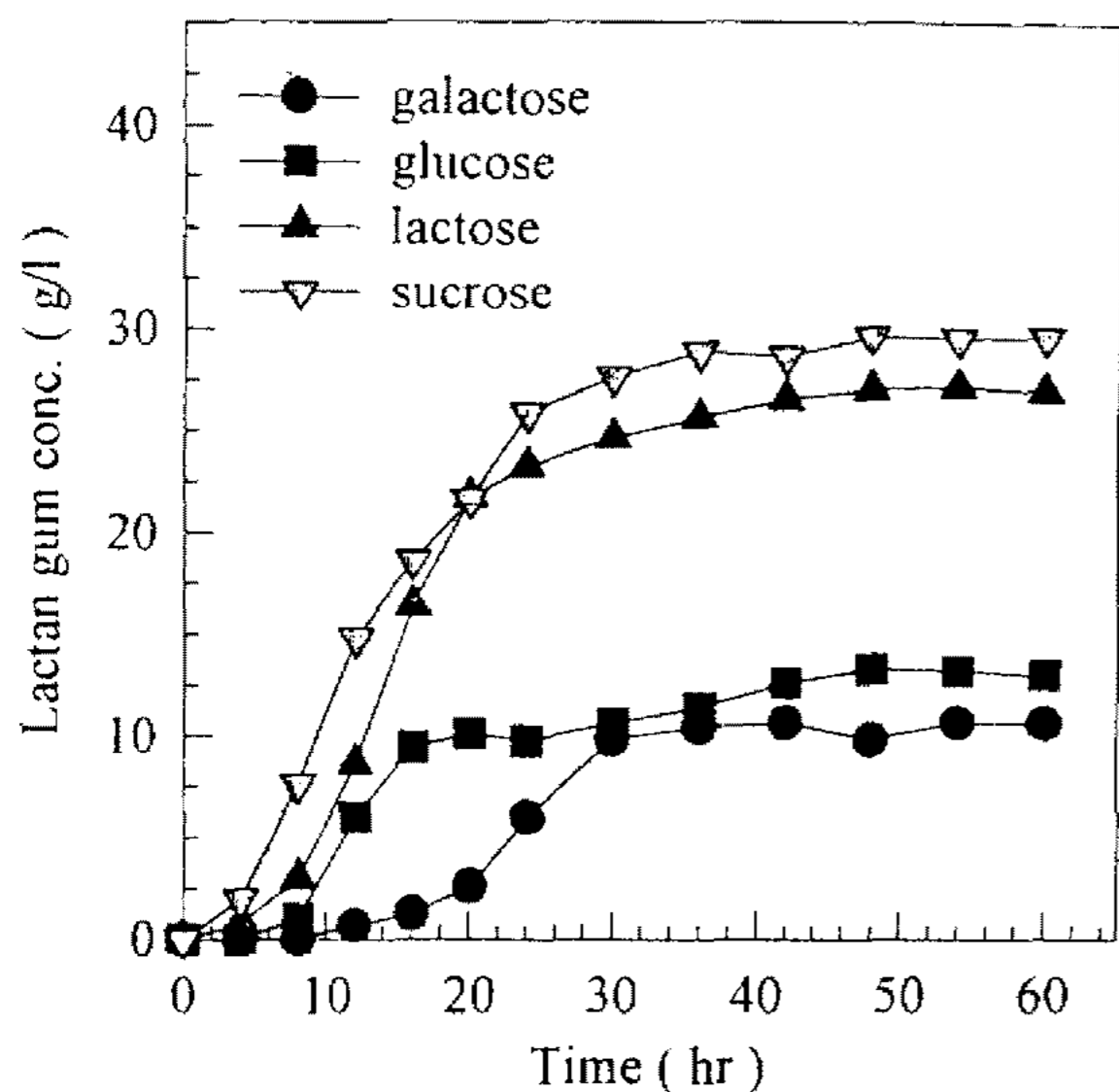


Fig. 8. Time courses of fermentation of lactan gum on various carbon sources.

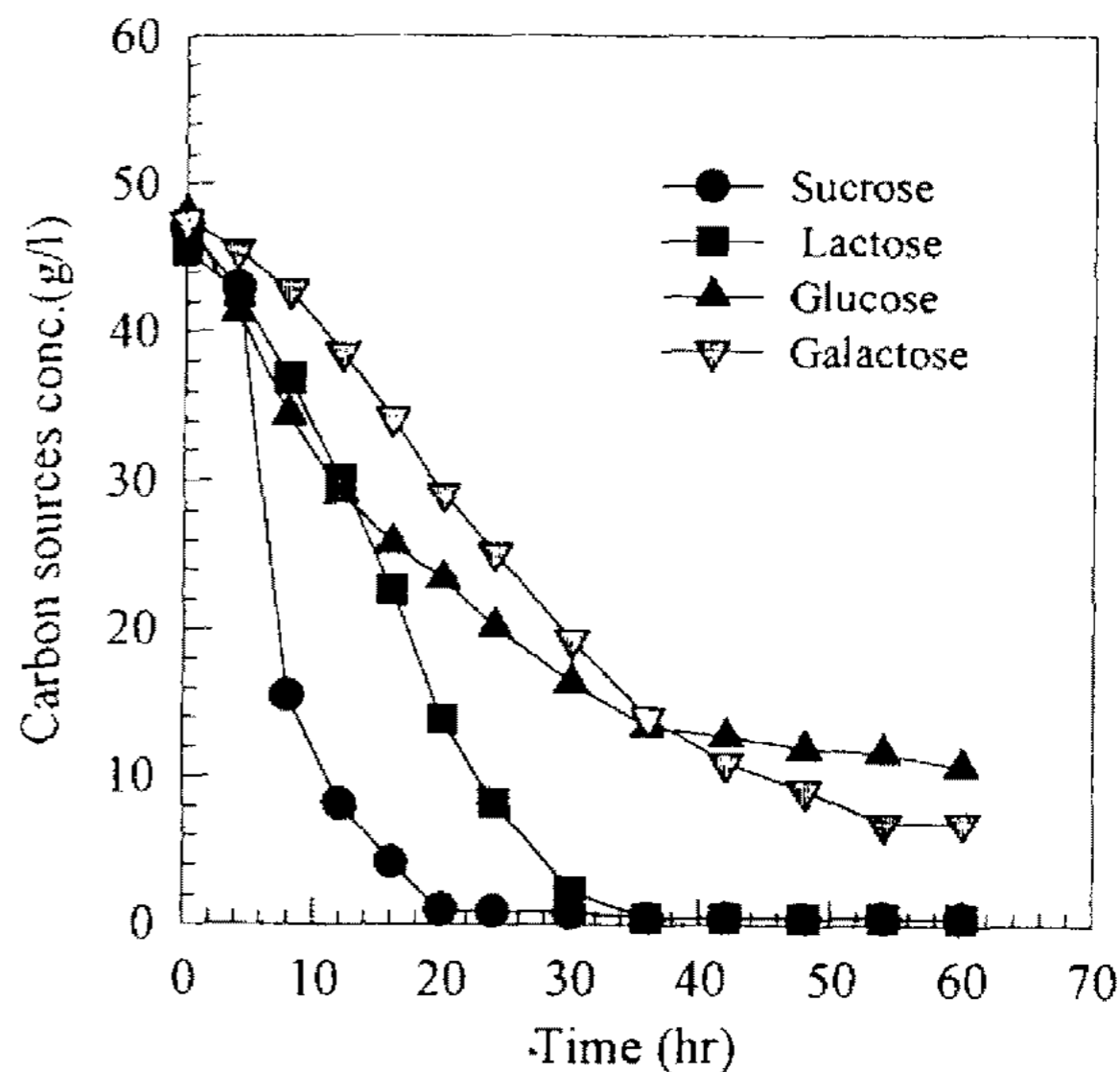


Fig. 10. Time courses of residual carbon sources in culture medium.

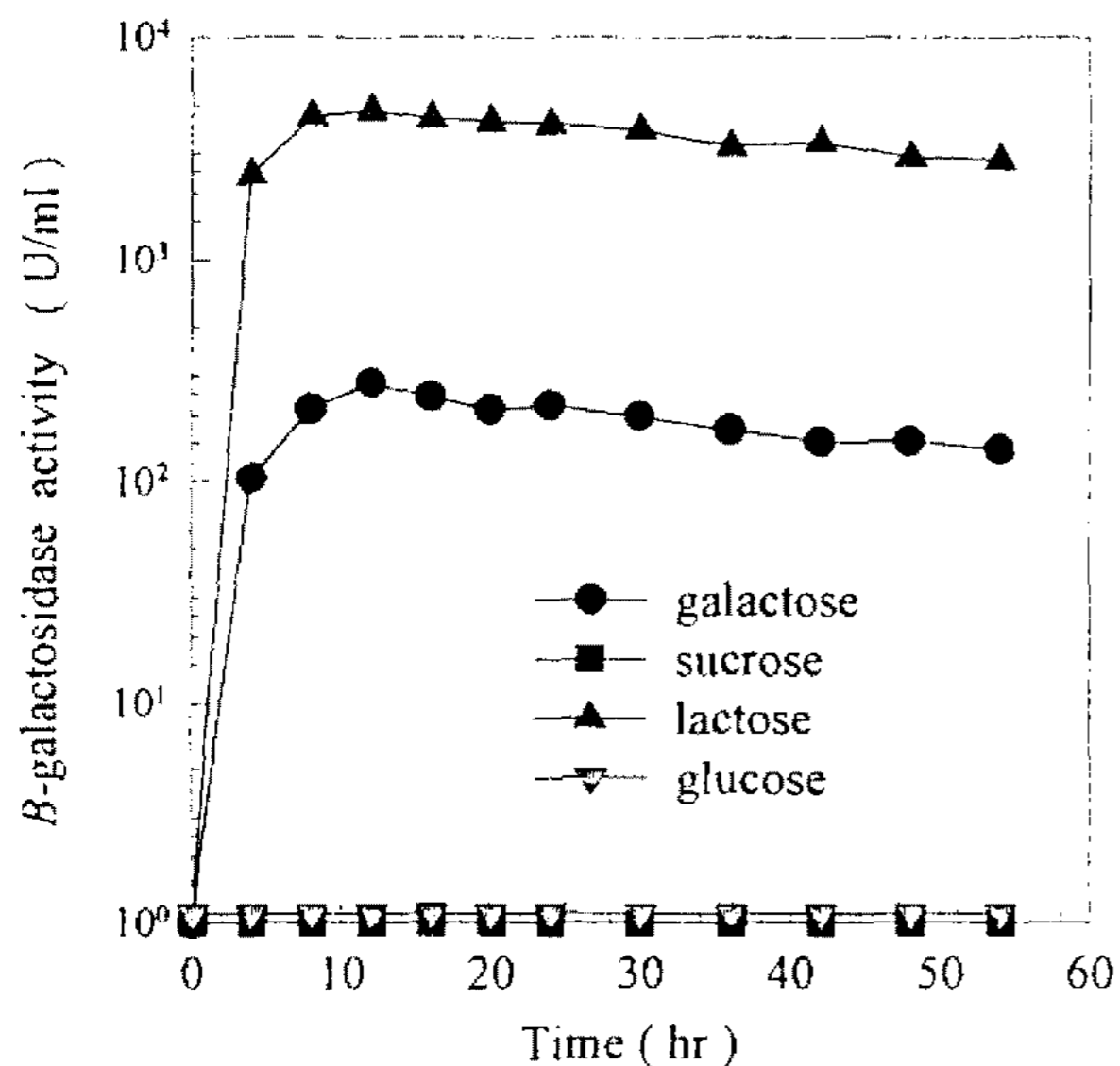


Fig. 9. Time courses of β -galactosidase activity on various carbon sources.

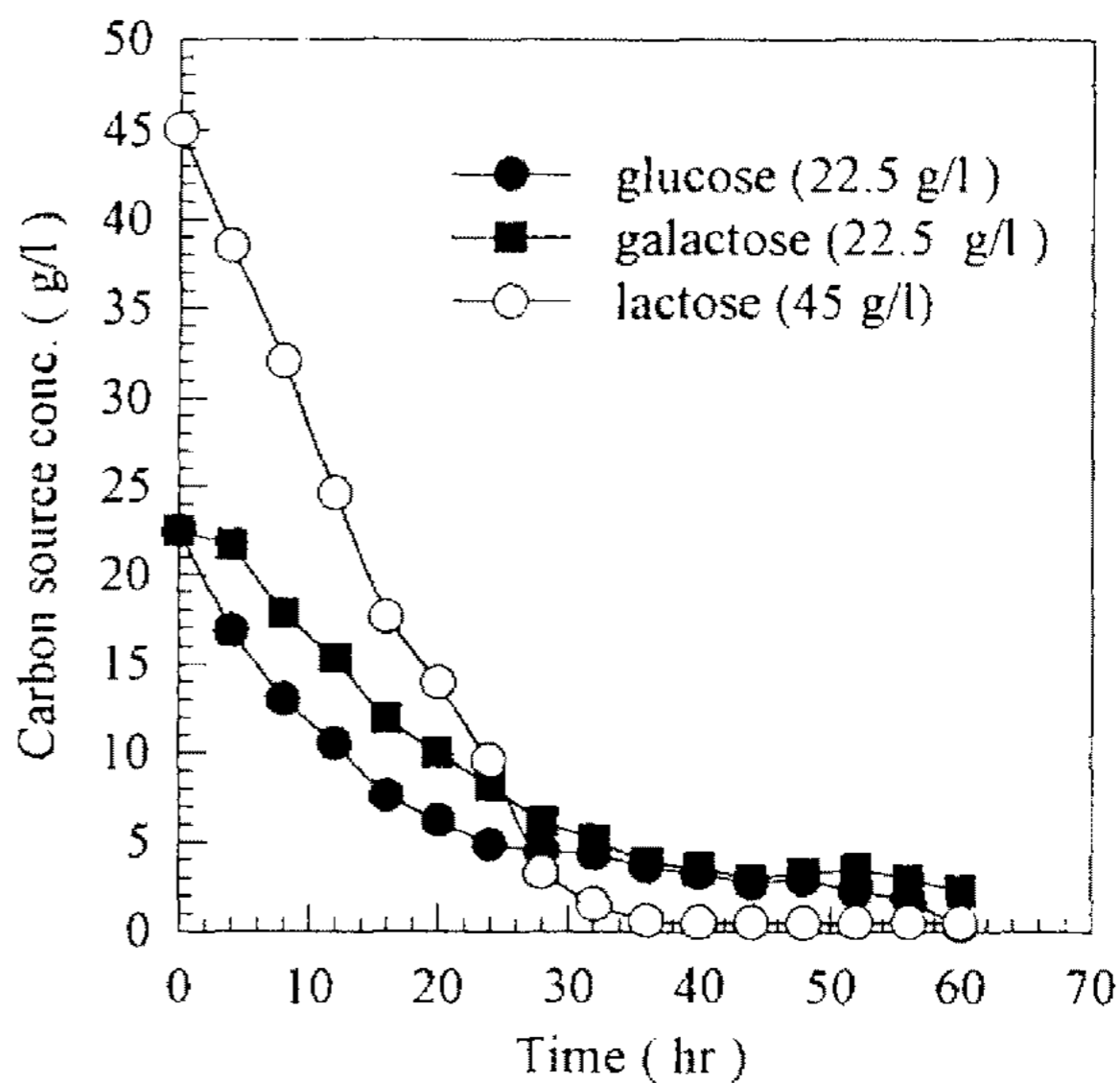


Fig. 11. Time courses of sugar utilization on lactose and mixed carbon source I (glucose:galactose=1:1) mediums.

Fig. 10은 각 탄소원을 이용한 lactan gum 생산에서 탄소원의 소비경향을 보여 주고 있는데 sucrose의 경우 24시간만에 완전 소비되었고(분비된 당당도 28시간만에 완전 소비됨) lactose의 경우는 발효 36시간만에 완전 소비되었다. 그러나, glucose나 galactose의 경우 당 소비가 2당에 비해 현저하게 늦었으며 발효가 끝날 때까지 완전히 소비되지 않았다. 이와 같이 2당의 소비가 빠른 결과에 대해 3가지의 가능성을 유추할 수 있는데, 탄소원이 들어가는 전달체인 phosphotransferase system과 permease system의 차이(5)와 2당의 유리에너지가 기질흡수계나 기질소비계에 사용될 수 있다는 점(8) 그리고 다른 하나는 균주자체가 당당을 다음 반응물로 전환시키는 galactokinase, hexokinase, epimerase, transferase, dehydrogenase 등의 효소활성이 탄소원 기

질의 종류에 따라 다르다는 점이다.

혼합 탄소원에 의한 lactan gum의 생합성 실험

2당이 단당보다 소비성이 좋은 이유를 알아 보기 위하여 혼합탄소원 45 g/l(혼합 탄소원 I; glucose : galactose=1 : 1, 혼합 탄소원 II; glucose : fructose=1 : 1)를 이용한 실험을 행하였다. Fig. 11은 혼합 탄소원 I으로 발효하였을 때와 lactose로 발효하였을 때의 당 소비 경향을 비교하여 보여 주고 있는데, glucose가 galactose에 비해 약간 빨리 소비됨을 알 수 있었으며 혼합 탄소원 I의 총당농도는 lactose에 비해 늦게 감소함을 알 수 있었다. 다당생산량은 발효초기에는 lactose의 경우에 비해 떨어졌지만 발효 50시간 이후에는 26.8 g/l를 보였다(Fig. 12). β -Galactosidase의 반응이 필요치

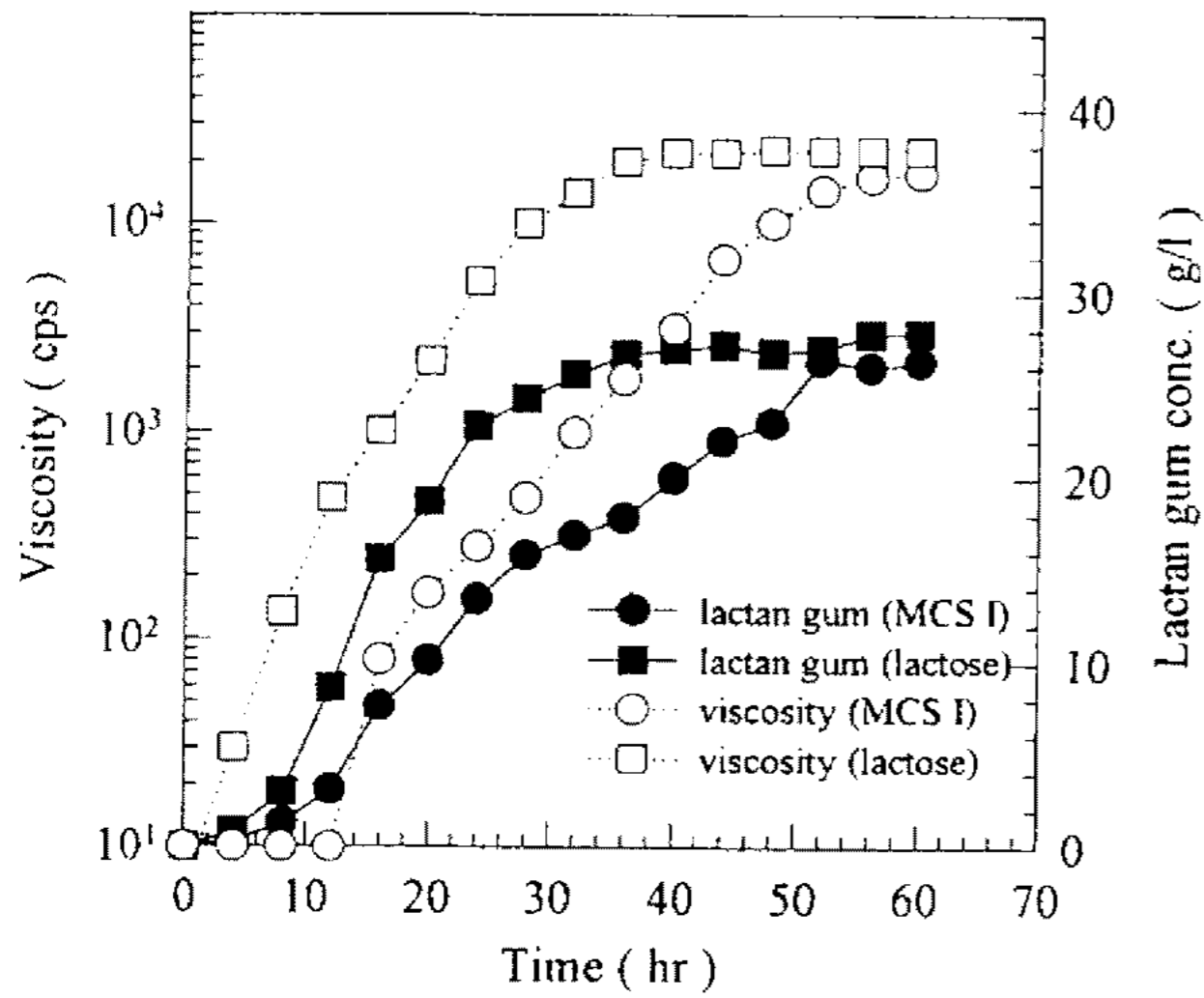


Fig. 12. Relationship of broth viscosity and lactan gum concentration during the fermentation of lactose and MCS (mixed carbon source) I.

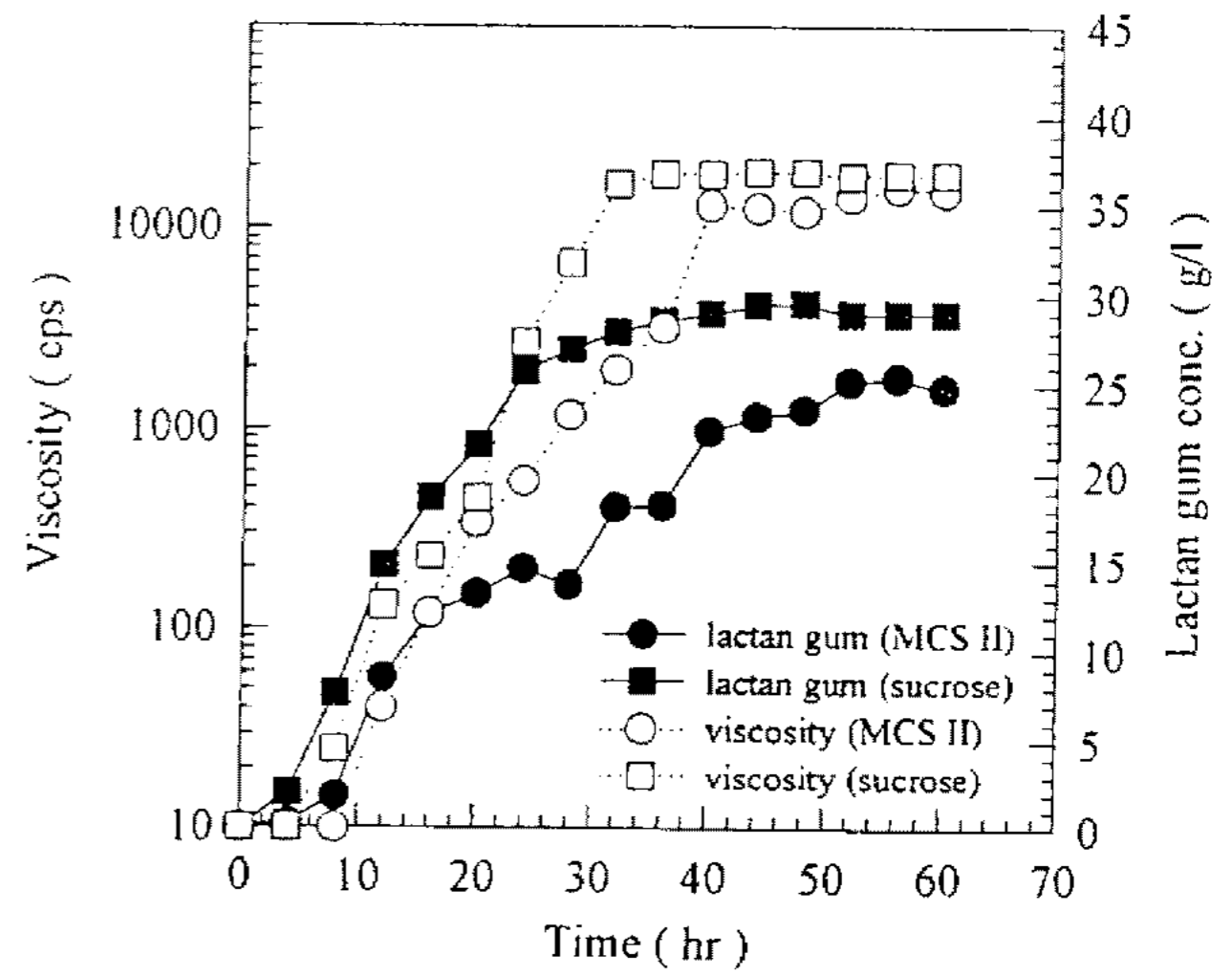


Fig. 14. Relationship of broth viscosity and lactan gum concentration during the fermentation of lactose and MCS (mixed carbon source) II.

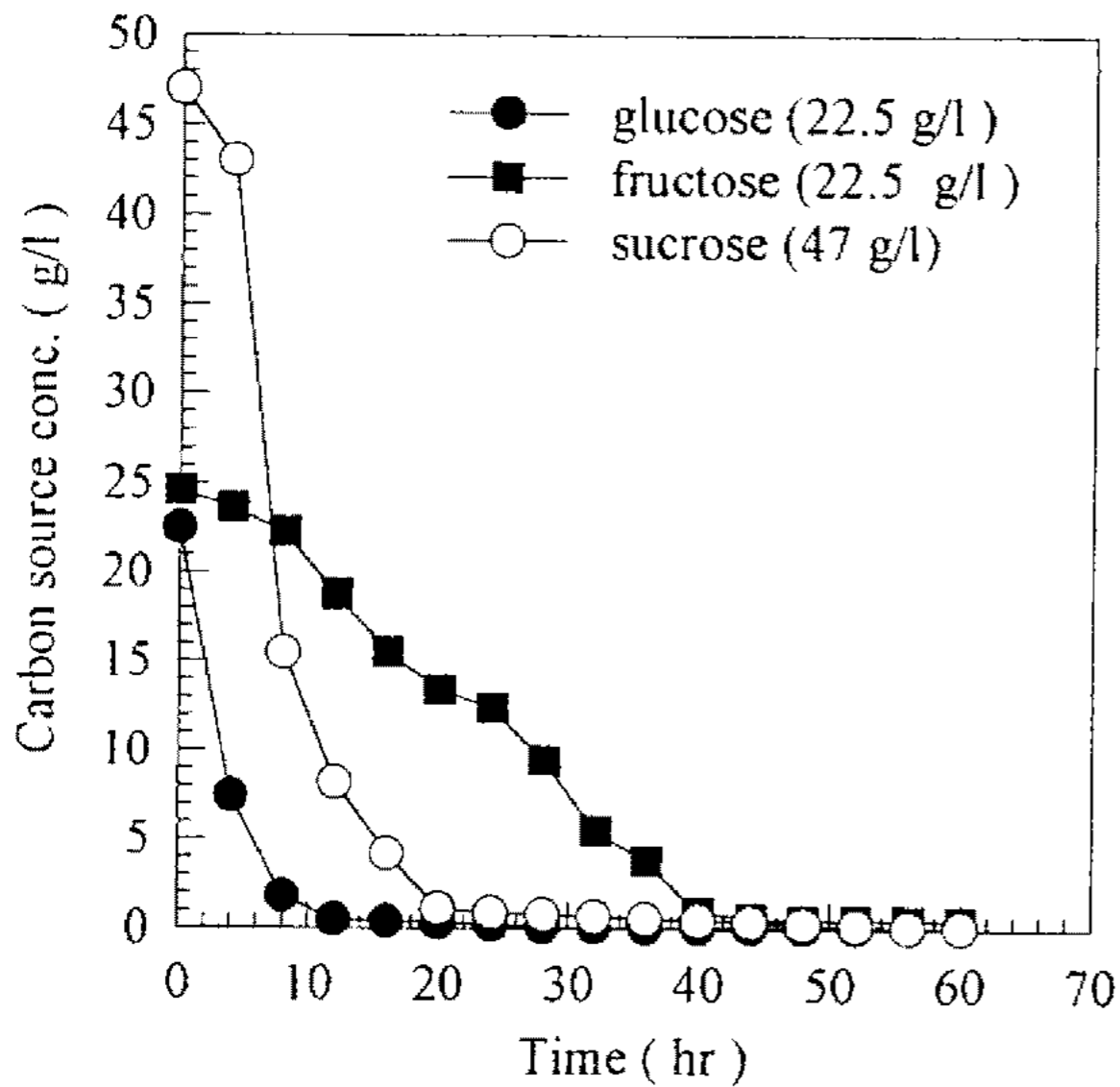


Fig. 13. Time courses of sugar utilization on sucrose and mixed carbon source II (glucose:fructose 1:1) mediums.

많은 혼합탄소원 I의 경우 lactan 생산량이 lactose에서의 lactan 생산량과 비슷한 것으로 보아 lactose 분해반응은 lactan 생합성 반응에서 율속반응이 아님을 의미한다. Fig. 13은 glucose와 fructose를 혼합한 혼합탄소원 II로 발효를 행하였을 경우인데, 총당의 소비는 혼합탄소원 I의 경우와 마찬가지로 sucrose에 비해 늦었지만 glucose의 소비는 fructose에 비해 월등히 빨랐다. 이것은 전형적인 glucose 효과라고 판단된다. 그러나 이때도 lactan gum 생산량은 26 g/l로 sucrose에서의 경우보다는 낮았지만 glucose 단독인 경우보다는 높았다(Fig. 14). 이로 미루어 보아 기질의 소비와 lactan gum 생산은 lactan gum의 구성단당을 만드는 용이성과 관련된 것으로 생각된다.

2당이 단당보다 lactan gum의 생산성이 높은 이유에 대한 고찰

Hutkins 등(9)은 lactose와 sucrose 같은 이당을 잘 소화시키는 *Streptococcus thermophilus*의 경우 lactose에서 배양했을 때 epimerase의 활성이 glucose나 galactose에서 배양했을 때의 100배 이상이 되었고, 기질소비와 다당 생산도 2당의 경우가 단당의 경우보다 컸다고 보고했는데, lactose를 소화시킬 수 있고 2당에서의 다당 생산성이 단당에서의 다당 생산성보다 높은 공통점을 갖는 본 미생물에 같은 논리를 적용하고 lactan gum의 구성성분이 mannose, galactose, galacturonic acid임을 고려하면 lactose로의 lactan gum 발효생산에서 Sutherland 등(10)이 다당 발효에서 중요한 역할을 한다고 제의한 효소인 UDP glucose 4-epimerase(UDP-glucose와 UDP-galactose를 상호가역적으로 변환시키는 효소)가 glucose나 galactose에서의 발효생산에는 Hutkins 등(9)의 경우와 비슷하게 sucrose나 lactose보다 상대적으로 적게 유도되지 않았나 생각된다. 즉 단당의 경우는 epimerase의 활성이 낮기 때문에 다당합성은 낮게 된다(9). 예를 들어 glucose의 경우 UDP-glucose는 잘 만들지만 UDP-galactose는 잘 만들지 않는다. 반면 galactose의 경우 UDP-galactose는 잘 만들지만 UDP-mannose는 쉽게 만들지 못한다. 그러나 glucose와 galactose의 혼합배양 I에서는 UDP-galactose와 UDP-galacturonic acid 및 UDP-mannose가 쉽게 만들어진다. 그리고 lactose의 경우는 β -galactosidase의 활성이 아주 높아 유당분해 과정이 아주 신속하게 이루어지므로 UDP-galactose 등의 구성당 핵산이 쉽게 만들어질 뿐만 아니라 UDP-glucose \leftrightarrow UDP-galactose 등의 epimerization 반응이 촉진되어 lactan gum의 기본단위를 구성하는 단당들의 비율을 쉽게 충족시킬 수 있어 lactan

gum 생산에서는 최고 수율과 최대 생산성이 기대된다.

*Leuconostoc mesenteroides*에 의해 만들어지는 dextran이 구성 단당 성분인 glucose에서는 거의 합성되지 않고 sucrose에 의해서만 만들어지는 이유가 sucrose의 glucose와 fructose 부분이 연결되는 acetal-ketal 결합의 비교적 높은 에너지(16.7~20.9 kJ/mol)가 glucose의 부가 반응에 이용되었기 때문이라는 점⁸⁾을 고려하면 sucrose에서의 lactan gum 생산수율이 아주 높은 것은 해리에너지가 lactan 중합에 이용된 것으로 해석할 수 있다.

앞으로 이 가설을 뒷받침해 줄 효소활성측정에 대한 연구가 요청된다.

요 약

*Rahnella aquatilis*에 의해 생산되는 lactan gum은 고점성 물질로 의가소성 유동거동을 보인다. pH가 7.0으로 제어된 발효조 배양에서 lactose나 sucrose같은 2당을 기질로 삼았을 때의 lactan 생산량은 glucose나 galactose같은 단당의 경우보다 2배 이상의 큰 값을 보였다. 초기탄소원 농도가 45 g/l인 lactose와 sucrose의 lactan gum 생산량은 27, 28 g/l로 60% 이상의 수율을 보였다. Lactose를 glucose와 galactose로 가수분해시키는 β -galactosidase의 활성은 lactose와 galactose를 기질로 사용하였을 때 유도되었고 lactose를 기질로 사용한 경우 최고 4000 U/ml까지의 큰 값을 보였다. 그러나 초기 탄소원이 혼합 탄소원 I(glucose + galactose)인 경우 단당(glucose, galactose)의 경우에 비해 lactan gum 수율이 높았고 45 g/l의 lactose와 비슷하였다. β -galactosidase의 반응이 필요하지 않은 혼합탄소원 I의 경우에서 lactose로의 lactan gum 생산능과 비슷한 값을 보인 것으로 보아 β -galactosidase에 의한 lactose 분해반응은 율속 단계가 아닌 것으로 판단된다. 초기 탄소원을 혼합 탄소원 II(glucose + fructose)로 하였을 때 총 탄소원의 소비속도는 sucrose보다 늦었으며 glucose의 소비가 fructose의 소비보다 빨랐다.

감사의 말

이 논문은 1995년도 교육부 학술연구조성비(생물화

학공학)에 의하여 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kreig, N.R. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. Pp. 513. Vol 1. William and Wilkins Baltimore, MD USA.
2. Flatt, J.H., R.S. Hardin, J.M. Gonzalez, D.E. Dogger, E.N. Lightfoot, and D.C. Cameron. 1992. An anionic galactomannan polysaccharide gum from a newly isolated lactose-utilizing bacterium. I. strain description and gum characterization. *Biotechnology Progress* **8**: 327-334.
3. Flatt, J.H., T.A.Cooper, J.M. Gonzalez, D.E. Dogger, E.N. Lightfoot, and D.C. Cameron. 1992. An anionic galactomannan polysaccharide gum from a newly isolated lactose-utilizing bacterium. II. fermentation kinetics and lactose transport. *Biotechnology Progress* **8**: 335-339.
4. Stauffer, K.R. and J.G. Leeder. 1978. Extracellular microbial polysaccharide production by fermentation on whey or hydrolyzed whey. *J. of Food Sci.* **43**: 756-758.
5. Flatt, J.H. 1990. Microbial production of novel polysaccharides from lactose in whey or in whey permeate. Ph.D. Dissertation, University of Wisconsin, Madison, WI.
6. Kim, D.W., J.C. Lee, K.Y. Lee, H.W. Ryu, and J.H. Kim. 1995. A useful material production from whey: effect of carbon sources on zooglan production by *Zoogloea ramigera*. *Kor. J. of Biotechnol. Bioeng.* **10**(2): 221-229.
7. Lederberg, J. 1950. The β -D-galactosidase of *E. coli* strain K-12. *J. Bacteriol.* **60**: 381.
8. Robyt, J.F. and T.F. Walseth. 1979. Production, purification and properties of dextransucrase from *L. mesenteroides* NRRL 512-F. *Carbohydrate Research* **68**: 95-111.
9. Hutkins, W.R. and H.A. Morris. 1987. Carbohydrate metabolism by *Sreptococcus thermophilus*. *J. of Food Protection.* **50**: 876-884.
10. Sutherland, I.W. 1990. Biotechnology of microbial exopolysaccharides. Cambridge univ. press New York

(Received 29 April 1996)