

微生物 Tannase를 이용한 도토리酒의 実驗的 製造

蔡洙圭 · 劉太鍾 *

서울保健専門大学 食品加工科, *高麗大学校 食品工学科

(1983년 4월 7일 수리)

Experimental Manufacture of Acorn Wine by Fungal Tannase

Soo Kyu Chae and Tai Jong Yu *

Department of Food Technology, Seoul College of Health, Seoul 100

*Department of Food Technology, Korea University, Seoul 132

(Received April 7, 1983)

Abstract

Acorn wine was manufactured experimentally with koji inoculated the strain producing acorn tannin hydrolyzing enzyme in order to apply fungal tannase to food processing. Starch value of several Korean acorns was found to be 72.84 and the acorns were worthy of use as a carbohydrate food. Mixed koji was prepared by combination of rice and acorn powder at a ratio of 50to 50 and inoculation of *Aspergillus oryzae* producing amylase and *Aspergillus sp.* AN-11 producing tannase into the mixture in order to hydrolyze efficiently acorn tannin inhibiting alcohol fermentation in the medium, and then the mixed koji was used as a suitable koji to manufacture acorn wine. Acorn wine brewed with medium of the acorn powder treated with water and cooked and the mixed koji prepared was superior about two times to that brewed with medium of untreated acorn powder and general koji with respect to the rate of alcohol production and sugar fermentation during the 1st and 2nd brewing.

序論

우리나라 山地에 널리 분포되어 있는 도토리는 약 70%이상의 炭水化物을 함유하고 있어 殼粉質食品으로서 그의 가치가 인정되고 있으나 별로 食品資源으로서 활용되고 있지 않는 것은 다량 함유되어 있는 tannin 성분에 그 원인이 있다.^[1-2] 식품가공에 있어서 tannin 성분은 짙은 맛을 주고 polyphenol oxidase의 基質이 되어 褐變現象을 일으키며 酶의 알코올 발효를 저해하기도 한다. 또한 tannin은 酶素蛋白質과 복합체를 형성하여 酶素의 活性을 저해하고 混濁을 일으키기도 하며 亞味의 변화나 Vitamin C의 손실을 가져오기도 하고 일부금속과도 쉽게 결합하여 有色 침전물을 형성

하는 등 식품의 품질을 저하시키는 주요 원인 물질이다.^[3-13]

도토리에 관한 연구로서는 Baumgras,^[14] Goodrum^[15] 및 Ofcarcik과 Burns^[16]의 도토리의 영양시험 및 물리화학적 성질 등의 보고와 Kurashawa,^[17] 정과 쇠,^[18] 꽈과한,^[19] Lee와 Ham^[20]의 도토리 전분제조에 관한 실험과 Kim,^[20] Chung^[21]등의 amylase 처리에 의한 알코올 발효 시험 및 기타 유기용매에 의한 tannin 추출 제거에 관한 연구가 있을 뿐이며, 우리나라에서는 아직도 도토리는 재래적 방법에 의한 도토리묵 제조에만 이용되고 있는 실정이다.

본 연구자들은 前報^[22-23]에서 미생물 tannase를 이용하여 韓國產 도토리 중의 tannin을 분해하기 위해 강력한 tannin 분해 효소 생산 균주를 부패된 도토리로

부터 분리하였고 그의 효소 생산을 위한 최적 배양 조건을 검토하였으며 또한 이 균주 즉 *Aspergillus sp.* AN-11이 분비하는 tannase의 정체를 실시하여 물리화학적 성질을 규명한 바 있다. 본 실험에서는 미생물 tannase를 식품가공에 이용하기 위한 목적으로, 酵母의 알코올 발효를 저해하는 것으로 알려진 tannin 성분을 분해하여 발효를 촉진시키고자 tannase를 강력히 분비하는 균주인 *Aspergillus sp.* AN-11을 접종한 곡자를 제조하여 tannin을 다량 함유한 濃粉質原料인 도토리에 사용하여 소위 도토리酒의 실험적 제조를 시도하여 몇 가지 결과를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

実驗材料

본 실험에 사용한 도토리는 清平 근교에서 채취한 것으로 서울 京東市場에서 구입하여 剥皮한 후 風乾시켜 분쇄하여 시료로 사용하였으며, 白米는 1981년 產九分搗精 아끼바레로 서울 불광동 소재 미곡상에서 구입한 것을 사용하였다.

成分 分析

시료 중의 一般成分의 함량 및 濃粉値는 常法에 준하여 각각 측정하였다.

도토리酒의 実驗的 製造

가. 供試 苗株

본 실험의 곡자 제조에 사용된 균주는 서울保健専門大學 食品加工科 研究室 보존 균주인 *Aspergillus oryzae* 와 본 연구를 위하여 도토리 부패물로부터 순수분리하여 보존 중인 *Aspergillus sp.* AN-11로서 *Aspergillus oryzae*는 糖度 9°의 맥아배지에, *Aspergillus sp.* AN-11은 acorn powder extract 배지에 각각 접종시켜 30°C에서 72시간 배양한 후 사용하였다. 한편 알코올 발효용 酵母 균주는 *Saccharomyces formosensis*로서 맥아배지에 접종하여 30°C에

서 72시간 靜置培養하여 실온에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리한 후, 살균 0.9% 식염수로 3회 이상 세척하여全量을 균체수 $20 \times 10^6/ml$ 가 되도록 회석하여 사용하였다.

나. 種麹 및 本製麹

쌀 Koji 와 도토리 Koji는 일반적인 방법에 준하여 제조하였고 도토리 酒用 本製麹은 amylase와 tannase 생성력이 강한 Koji를 제조하기 위하여 일차 시험적으로 Table 1과 같이 원료를 배합한 후 분쇄기로 일정하게 분쇄하여 각 試驗区에 해당하는 種麹을 약 1%정도 접종시킨 다음에 곡자 성형상자에 5cm 정도의 높이로 넣고 29~30°C의 항온실에서 9일동안 숙성시켰다.

이와같이 試驗 製造한 곡자에 대하여 糖化力 및 도토리 tannin分解力を 측정 비교하여 가장 우수한 곡자를 선정하여 試驗 酿造用 곡자로 사용하였다.

다. 곡자의 糖化力 측정⁽²⁴⁾

1) 酵素液의 調製

곡자 10g에 0.2% NaCl용액 100ml을 가해서 Waring blender로 분쇄한 다음 0.5ml의 toluene을 가하여 실온에서 때때로 진탕하면서 10시간 정도 효소를 추출하여 여과한 여액을 5~10배 회석하여 효소액으로 하였다.

2) 基質溶液의 調製

2% 가용성 전분액을 조제하여 糖化力 측정용 기질용액으로 사용하였다.

3) 糖化力의 측정과 표시

기질용액 20ml, pH 4.8의 acetate buffer용액 2ml 및 종류수 2ml를 100ml의 삼각 flask에 넣어 toluene 0.5ml를 첨가하고 미리 30°C의 Water bath에 10~20분간 유지한 후 효소액 2ml를 속히 注加하여 잘 혼합하고 즉시 혼합액 2ml를 채취하여 Somogyi 시약 A액에 투입하여 효소작용을 중지시켜 그 환원력을 측정하여 이것을 glucose의 mg으로 산출하였다. 이 값을 Go로 한다. 다음 반응 30분 후에 다시 2ml를 채

Table 1. The various combination of raw material and inoculated strain for the preparation of koji.

No. of sample koji	Rice	Acorn	Inoculated strain
1	100	0	<i>Aspergillus oryzae</i>
2	0	100	<i>Aspergillus sp.</i> AN-11
3	0	100	<i>Aspergillus oryzae</i>
4	0	100	<i>Aspergillus sp.</i> AN-11 & <i>Aspergillus oryzae</i>
5	50	50	<i>Aspergillus sp.</i> AN-11 & <i>Aspergillus oryzae</i>

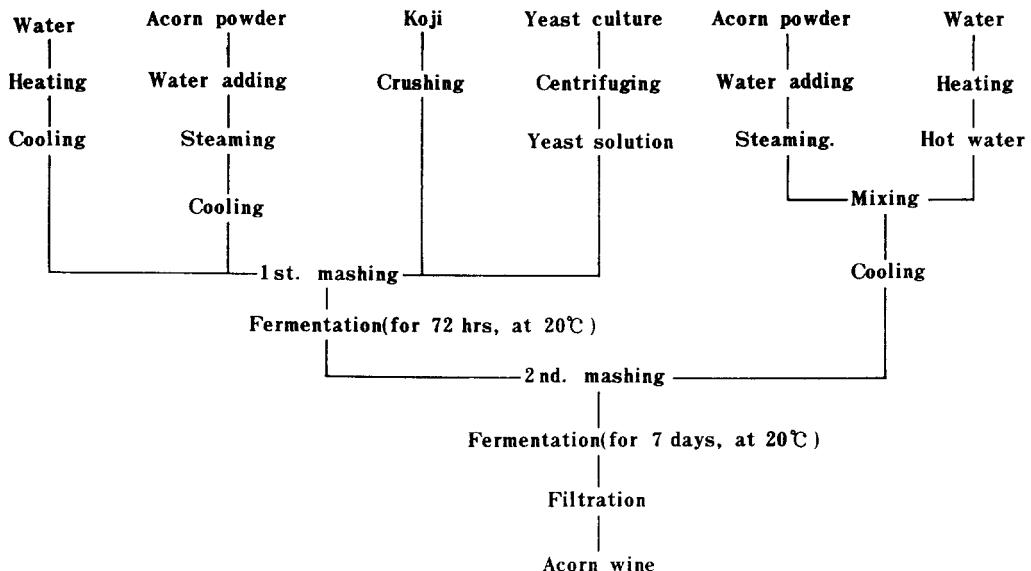


Fig. 1. Experimental brewing process of acorn wine

취하여 그 환원력을 같은 방법으로 측정하여 glucose의 mg으로 산출하였다. 이 값을 G_{30} 으로 한다. 이때 糖化率을 다음식에 의해 계산하였다.

$$\text{糖化率} (\%) = G_{30} - G_0 / 34.2 \times 100$$

단 34.2는 작용 혼합액 2ml 중에 최초에 존재하는 가용성 전분의 glucose량(mg)이다.

라. 곡자의 tannase活性法 측정

곡자로부터 酶素液은 전술한 糖化力 측정시와 같은 방법으로 조제하였으며, 酶素活性度는 정제된 도토리 tannin을 基質로 하여 前報⁽²²⁾와 같은 방법으로 측정하였다. 酶素单位는 35°C에서 효소액 1ml가 1分間に 1 μg 의 acorn tannin 当量을 가수분해하는 酶素活性을 1单位(unit)로 정하였다.

마. 試驗釀造

도토리酒의 実驗的 製造를 위한 양조시험으로서 담금방법은 2단 담금 방법을 채택하였다. 담금용 시료로는 원료 도토리粉에 적당량의 물을 가해 증기솥에서 常圧으로 20분간 찐것과 도토리粉을 하룻밤 침수시켜 전처리한 후 여분의 물을 제거하여 증기솥에서 常圧으로 20분간 찐것을 각각 사용하였다. 도토리酒의 실험적 제조 공정은 Fig. 1과 같다.⁽²⁶⁻²⁸⁾

1) 1차 담금

도토리粉 0.9kg, 곡자 0.1kg 및 물 1.5l을 4l 들이 용기에 넣어 증기로 가열한 후 20°C로 식혀서 酵母液 10ml을 첨가하였다. 온도를 20°C로 조절한 후 발효 마개를 이용하여 입구를 밀폐한 후 20°C의 발효실에서 3일간 발효시켜 밀술을 제조하였다.

2) 2차 담금

1차 담금 3일 후에 도토리粉 0.9kg을 증자하여 여기에 뜨거운 물 1.5l을 가하여 도토리粉 덩어리에 고루 흡수되도록 하고, 충분히 식은 후에 이것을 앞에서 제조한 밀술에 가하여 잘 혼합시켰다. 온도를 20°C로 조절한 후 발효 마개를 이용하여 입구를 밀폐한 후 담금을 끝냈다. 이것을 20°C의 발효실에서 7일간 발효시켜 술덧을 숙성시켰으며 경시적으로 발효 상태를 조사하였다.

바. 酸酵狀態 調査

比重은 pycnometer로 측정하였고, pH는 pH meter (Corning-Eel Model 5)로 측정하였다. Ethanol은 시료 100ml에 증류수 50ml를 가하고 증류하여 증류액 100ml를 받아서 hydrometer로 20°C에서 측정하였다. 糖分은 清酒의 분석방법에 준해서 측정하였다. 즉, 술덧 여과액에 진한 염산 0.1%를 가한 후 熱湯中에서 30분간 유지하여 少糖類를 분해시킨 후 Bertrand법⁽²⁹⁾으로 환원당을 측정하여 glucose의 량으로 나타내었다. 還元糖도 Bertrand법⁽²⁹⁾으로 정량하였으며, 糖 酶活性率은 시료액 중의 ethanol 함량 및 초기 담금액의 당분 함량을 측정하여 다음식으로 당 발효율을 계산하였다.⁽³⁰⁻³²⁾

$$\text{糖酸酵率} (\%) = \frac{\text{시료액 중의 ethanol 함량}}{\text{초기 담금액의 당 함량} \times 0.5114} \times 100$$

단, 0.5114는 단위 glucose량에 대한 ethanol 생성량의 비율이다. 그리고 酸度는 여액 10ml를 중화시키는데 소요되는 0.1N-NaOH의 ml 수로 나타내었다.

結果 및 考察

도토리 및 쌀의 一般成分組成

본 실험에 원료로 사용된 도토리와 쌀의 일반성분을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와같이 도토리는 粗灰分이 2.53%, 粗脂肪이 2.25%, 粗纖維가 2.93%로 쌀에 비하여 함량이 오히려 높았으며, 粗蛋白質과 可溶性無氮素物은 각각 6.29%와 73.50%로 쌀의 6.50%와 77.96%에 비하여 약간 적으나 淀粉值가 72.84로서 다른 일반種實食品에 비하여 炭水化物成分에 있어서 높은 함량을 나타내고 있다. 따라서 炭水化物 食品으로서 활용면을 개발한다면 도토리는 우수한 食品資源으로서 가치가 있다고 생각된다.

Table 2. Proximate composition of Korean acorn and rice used

Composition	Acorn	Rice
Moisture	12.50 (%)	14.05 (%)
Crude ash	2.53	0.52
Crude fat	2.25	0.57
Crude protein	6.29	6.50
Crude fiber	2.93	0.40
N-free extract	73.50	77.96
Starch value	72.84	77.45

곡자의 糖化力 및 tannase活性度

도토리酒釀用으로 적합한 곡자를 선정하기 위하여 Table 1과 같은 원료 배합으로 제조한 5개의 시험곡자에 대한 각각의 糖化力 및 tannase 활성도를 측정한 결과는 Table 3과 같다.

Table 3의 결과에서 보는 바와같이 쌀과 도토리를 50:50으로 혼합하여 제조한 No. 5의 시험곡자가 다른 시험곡자에 비하여 당화력이나 tannase 활성이 모두 우수하였다. 따라서 알코올 발효에 저해 작용을 나타내는 tannin성분을 가수분해하고 동시에 당화력도

우수한 No. 5의 곡자를 시험 양조용 곡자로 선정하였다.

醸酵過程 중의 成分變化

釀造試驗은 도토리 중의 tannin성분이 발효에 미치는 영향과 또한 선정된 곡자의 효과 등을 비교 조사하기 위하여 조건을 달리하는 4개의 試驗(X)에 대하여 각각 발효과정 중에 성분 변화를 비교 검토하였다.

즉 담금 원료는 도토리粉을 하룻밤 물에 침지시켜 전처리하여 可溶性分을 일차로 제거한 것과 처리하지 않은 것을 사용하였고 곡자는 도토리酒釀用으로 선정한 No. 5의 곡자와 비교 시험용 보통곡자 No. 1을 사용하였다. 그 이외의 발효 조건은 동일하게 하였다.

도토리酒의 발효과정 중에 일어나는 比重, ethanol 함량, 糖 함량, 酸度 및 pH 등의 변화를 측정하여 발효상태를 조사한 결과는 Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 Table 4와 같다.

즉, 1~1 담금에서 하룻밤 침수시켜 전처리한 도토리粉에 No. 5의 곡자를 사용하여 발효시킨 試驗(X)가

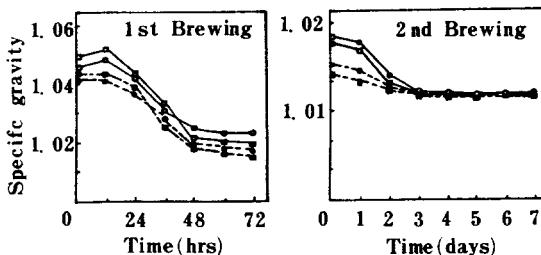


Fig. 2. Changes of specific gravity during the 1st brewing and the 2nd brewing

- : Brewed with medium - untreated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium - treated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium - untreated acorn, koji No. 5.
- : Brewed with medium - treated acorn, koji No. 5.

Table 3. Amylase and tannase activity of various koji prepared

No. of sample koji	Amylase activity (%)	Tannase activity (units)
		—
1	8.2	—
2	2.1	138.2
3	3.5	57.6
4	3.9	131.7
5	8.3	129.4

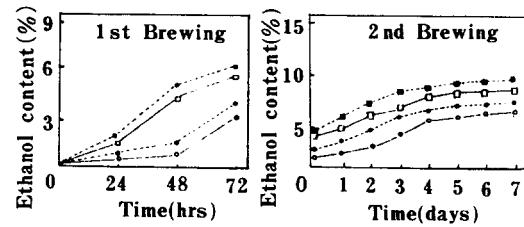


Fig. 3. Changes of ethanol content during the 1st brewing and 2nd brewing.

- : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 5.
- : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 5.

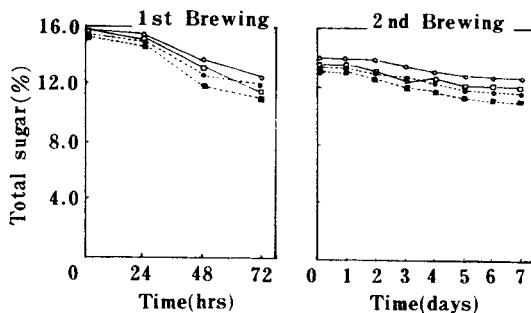


Fig. 4. Changes of total sugar during the 1st brewing and 2nd brewing.

- : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 5.
- : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 5.

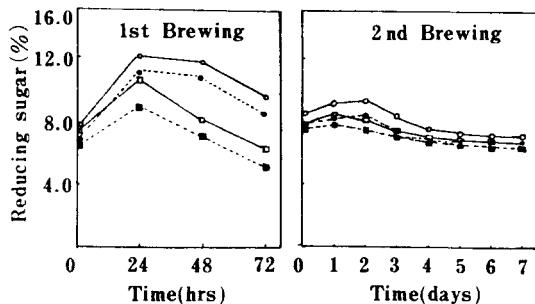


Fig. 5. Changes of reducing during the 1st brewing and 2nd brewing

- : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 1.
- : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 5.
- : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 5.

전체 발효과정을 통하여 비중, 알코올 생성 속도 및 당의 발효율이 무처리한 도토리粉에 No. 1의 곡자를 사용한 것 또는 그 이외 조건의 시험구보다 약 2배 정도로 우세한 경향을 나타내고 있다. 이는 도토리 중의 tannin 등 polyphenol 성분이 酶素蛋白質과 복합체를 형성하여 酶活性化 되었거나, 酶母의 生育를 억제하여 초기 발효에 장해를 가져왔다고 볼 수 있으며, 따라서 도토리粉의 전처리 과정에서 일부의 tannin 성분이 추출되어 제거되고, No. 5의 곡자의 tannase에 의하여 여분의 tannin 성분이 가수분해됨으로써 발효가 보다 촉진된 것으로 추측할 수 있다.^[33]

한편 酸度 및 pH에 있어서는 모든 시험구가 발효 24시간 경과 후에 산도는 크게 증가하고 pH는 저하되

Table 4. The rate of sugar fermentation during the 1st brewing and 2nd brewing

Medium treatment	1st Brewing (hrs)				2nd Brewing (days)							(%)
	24	48	72	1	2	3	4	5	6	7		
Untreated acorn, koji No. 1.	2.88	6.64	31.95	3.07	7.96	20.53	37.99	42.48	43.30	44.29		
Treated acorn, koji No. 1.	7.72	15.44	42.47	8.62	22.99	39.22	44.54	49.13	51.72	52.38		
Untreated acorn, koji No. 5.	15.04	43.23	58.27	15.56	32.15	41.48	54.37	57.30	58.27	58.78		
Treated acorn, koji No. 5.	19.31	52.12	66.67	28.81	47.66	58.97	64.71	69.48	70.29	70.65		

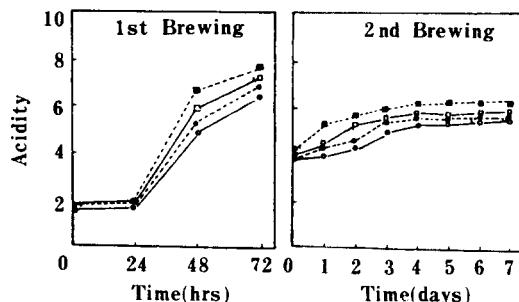


Fig. 6. Changes of acidity during the 1st brewing and 2nd brewing.

- - ○ : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 1.
- - ● : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 1.
- - □ : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 5.
- - ■ : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 5.

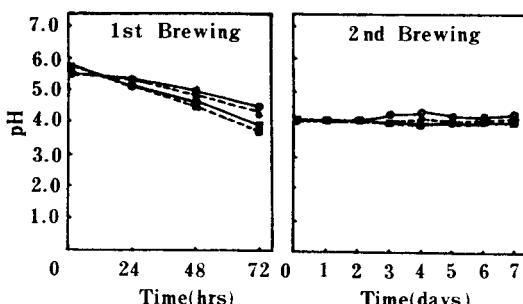


Fig. 7. Changes of pH during the 1st brewing and the 2nd brewing.

- - ○ : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 1.
- - ● : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 1.
- - □ : Brewed with medium-untreated acorn, koji No. 5.
- - ■ : Brewed with medium-treated acorn, koji No. 5.

었다. 이것은 담금 초기에 첨가한 곡자 중에 이미 존재하는 젖산균의 생육때문인 것으로 생각된다.

2 차 담금의 경우에도 1 차 담금때와 마찬가지로 비중, 알코올 생성 속도 및 당의 발효율이 전처리한 도토리粉에 No.5 의 곡자를 사용하여 발효시킨 시험구가 그 이외 조건의 시험구에 비하여 담금 초기에는 다소 빠른 경향을 나타내었다.

그러나 기일이 경과함에 따라 모든 시험구가 완만하게

증가하고 있음을 볼 수 있다. 이러한 현상은 담금 원료인 도토리 중의 tannin 등 polyphenol 성분이 초기 발효에 있어서 저해 작용을 미치고 있으며, 1 차 담금 기간 중에 어느정도 효모의 증식이 이루어져 발효가 완만하게 진행되는 것으로 생각된다.

한편 酸度나 pH는 전 발효과정을 통해 큰 변화가 없었으며 특히 pH의 경우에는 4.0 정도로 안정된 상태를 유지하였다. 발효기간 중에 pH의 급격한 저하가 없었다는 것은 담금 초기부터 발효마개를 사용하여 완전 밀폐 발효를 행하였기 때문에 술덩이 혐기상태로 유지되어 젖산균의 생육은 어느정도 이루어졌으나 초기 산균은 전혀 생육하지 않은 것으로 생각할 수 있다.

그러나 전반적으로 검토하여 볼때 쌀을 원료로 한 전통적인 약주 제조의 경우 보다 뒤떨어지고 있음을 알 수 있다.⁽³⁴⁻³⁶⁾

그렇지만 미생물 tannase를 응용하는 하나의 방법으로 발효에 저해 작용을 나타내는 도토리 중의 tannin 성분을 분해할 목적으로 소위 혼합 절충곡자를 사용하여 실험적으로 도토리酒를 제조하여 알코올 생성에 있어서 보통곡자를 사용하였을 경우에 비하여 약 2 배 정도의 효과를 거둘 수 있었음은 도토리酒를一般化하기 위한 좋은 자료가 될수 있을 것으로 생각된다. 앞으로 원료 도토리의 전처리 문제, 酵酶條件 그리고 색깔 등 嗜好品質面의 개선에 대한 보다 많은 연구가 요망된다.

要 約

미생물 tannase를 식품가공에 응용하기 위한 하나의 연구로 도토리 tannin 분해력이 강한 *Aspergillus sp.* AN-11 균주를 접종하여 만든 곡자를 이용하여 도토리酒의 실험적 제조를 시도하였다.

도토리의 淀粉價는 72.84로서 炭水化物 食品으로서 開發 利用 가치가 있었다.

도토리 酒釀造으로 적합한 곡자로서 발효에 저해 작용을 나타내는 tannin 성분을 효과적으로 분해하기 위하여 쌀과 도토리를 50:50으로 혼합하고 여기에 糖化力이 강한 *Aspergillus oryzae* 균주와 tannase活性度가 우수한 *Aspergillus sp.* AN-11 균주를 접종하여 제조한 혼합 절충곡자를 선정하여 사용하였다.

도토리粉을 전처리로서 하룻밤 침수시켜 여분의 물을 제거한 후 증자한 것을 담금 시료로 하여 선정된 혼합 절충곡자를 사용하여 발효시킨 試驗區가 전체 발효과정을 통하여 알코올 생성 속도 및 당의 발효율이 무처리한 도토리粉에 보통 곡자를 사용한 시험구에 비하여 약 2 배정도 우세한 경향을 나타내었다.

References

1. Ham, S. S. and Lee, S. Y. : *Ann. Bull. Kangwon Univ. (Korea)*, 8, 81(1974)
2. Lee, S. Y. and Ham, S. S. : *Ann. Bull. Kangwon Univ. (Korea)*, 8, 75(1974)
3. Hagerman, A. E. and Butler, L. G. : *J. Agric. Food Chem.*, 26, 809(1978)
4. Gustavson, K. H. : *J. Polymer Sci.*, 12, 317 (1954)
5. Goldstein, J. L. and Swain, T. : *Phytochem.*, 4, 85(1965)
6. Nakabayashi, T. : *J. Food Sci. Technol. (Japan)*, 15, 73(1968) ,
7. Nakabayashi, T. : *J. Food Sci. Technol. (Japan)*, 15, 116(1968)
8. Nakabayashi, T. : *J. Food Sci. Technol. (Japan)*, 15, 199(1968)
9. Nakabayashi, T. : *J. Food Sci. Technol. (Japan)*, 15, 502(1968)
10. Nakabayashi, T. : *J. Food Sci. Technol. (Japan)*, 18, 33(1971)
11. Bate-Smith, E. C. : *Adv. Food Res.* 5, 262 (1954)
12. Joslyn, M. A. and Goldstein, J. L. : *Adv. Food Res.*, 13, 179(1964)
13. Nakagawa, M. : *J. Food sci. Technol. (Japan)*, 19(11), 531(1972)
14. Baumgras, P. : *J. Wildlife Management*, 8, 296(1944)
15. Goodrum, P. D. : *Southeastern Assn., Game and Fish Commissioners, 13th Annual Conference Washington, D. C. P.*, (1959)
16. Ofcarchik, R. P. and Burns, E. E. : *J. Food sci.*, 36, 576(1971)
17. Kurasawa, H., Igau, I., Hayakawa, T. and Oguri, H. : *J. Agric. Chem. Soc. (Japan)*, 33, 225(1959)
18. 정사길, 최상두 : 특허공보 236 호(1971)
19. 곽판주, 한대성 : 강원대학 식량자원 연구소 논문집, 2, 17(1975)
20. Kim, S. S. : Thesis for the Degree of Master, Graduate School, Choongang Univ. (Korea)(1981)
21. Chung, D. H., Yu, T. J. and Choi, B. K. : *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 18, 102(1975)
22. Chae, S. K. and Yu, T. J. : *Korean J. Food Sci. Technol.* 5, 258(1973)
23. Chae, S. K., Yu, T. J. and Kim, B. M. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 15(1983)
24. Depart. of Agric. Chem., Tokyo Univ. : *Experiment in Agricultural Chemistry*, Asakura Syoteng Pub. Co. Ltd. Tokyo. Vol. 1, 279(1970)
25. Iibuchi, S., Minoda, Y. and Yamada, K. : *Agr. Biol. Chem. (Japan)*, 31, 513(1967)
26. So, M. H. : Thesis for the Degree of Master, Graduate School, Korea Univ. (Korea) (1979)
27. Chang, K. J. : Thesis for the Degree of Master, Graduate School, Korea Univ. (Korea) (1980)
28. 鄭東孝 : 酶酵와 微生物工學, 先進文化社, p. 228 (1976)
29. 小原哲二郎, 鈴木隆雄, 岩尾裕之 : “食品分析ハンドブック”, 建帛社, p. 212(1977)
30. Bruner, R. L. : *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Acad. Press. N. Y. p. 67(1964)
31. Joo, H. K. and Lee, K. C. : *Korean J. Ginseng Sci.*, 3 (2), 95(1979)
32. Chung, N. P. : *Yonsei Nonchong*, 13, 119(1976)
33. Watson, T. G. : *J. Appl. Bacteriol.*, 38, 133 (1975)
34. 李春寧, 張智鉉 : 國稅廳技術研究所報, 2, 77(1968)
35. 劉太鍾 : 韓國의 銘酒, 株式會社 中央日報, p. 43 (1978)
36. 張智鉉 : 韓國酒精工業, 7, 31(1977)