

건지황 추출물을 이용한 알콜 발효 수율 증진

안상욱*·김민희*·정우택*·황백**·성낙술***·이현용*

Enhancement of Alcohol Fermentation Yield by Adding the Extract of Dried *Rehmannia glutinosa* Liboschitz

Sang Wook Ahn*, Min Hoe Kim*, Woo Taek Chung*, Baek Hwang**,
Nak Sul Seong*** and Hyeon Yong Lee*

ABSTRACT : The juice extract of *Rehmannia glutinosa* Liboschitz was used to improve the productivity of ethanol in alcohol fermentation process using a 5 L fermentor under batch and fed-batch cultivations. For batch cultivation, both cell density and ethanol production were increased as the extract of *R. glutinosa* was increased, showing 11.8 (g/L) of maximum cell density and 0.092 (%/hr) of maximum alcohol productivity in adding 30% (v/v) of the extract. However, in adding more than 40% of the extract both cell growth and ethanol production were dropped. The cell growth was severely inhibited in 50% addition. It was found that fed-batch cultivation in adding 30% of the extract of *R. glutinosa* was an effective process than batch cultivation, yielding up to 30% cell growth and ethanol production. This ethanol productivity was also 30-40% higher than that obtained from a conventional alcohol fermentation. It can tell that dried *R. glutinosa* Liboschitz is to be used for both enhancing the yield of alcohol fermentation and utilizing biologically active substances possibly transported from *R. glutinosa* Liboschitz into fermented broth.

Key words : *Rehmannia glutinosa* Liboschitz, alcohol fermentation, batch or fed-batch cultivation.

* 강원대학교, 식품생명공학부 (Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea)

** 전남대학교, 생물학과 (Department of Biology, Chonnam University, Kwangju 500-201, Korea)

*** 작물시험장, 특용작물과 (National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea) < 2000. 10. 14 접수 >

서 언

한방에서 보약으로 알려지고 있는 지황 (*Rehmannia glutinosa* Liboschitz)은 현삼과 (Scrophulariaceae)에 속하는 다년생초로서 그 뿌리와 뿌리줄기를 약으로 쓴다.^{3,5)} 생지황은 해열 보약, 지혈약과 염증에 의해 열이 세게 오르고 갈증이 나는데, 지황을 양건한 건지황 (*Rehmannia Radix*)은 보약, 지혈약, 이뇨약, 토혈, 변비, 성욕항진, 당뇨병, 방광 및 요도의 염증성 질병 등에 쓰며 황주, 사인주 등으로 구증 구폭한 숙지황 (*Rehmannia Radix preparata*)은 보약, 빈혈, 위황병, 병후 및 산후 쇠약, 여러 가지 소모성 질병, 뇌빈혈, 자궁출혈 등에 쓰인다.^{1,3,9)} 이들 중 약재로는 숙지황이 가장 잘 알려져 있으며 효능도 높은 것으로 나타나고 있다.¹²⁾ 특히 지황 내 존재하는 중요 물질들인 iridoid 배당체들, 10 여종의 아미노산과 fructose, galactose 와 같은 단당류, 올리고당류 및 rehmannioside 등과 같은 다양한 다당류들의 구조와 기능이 밝혀져 이들을 이용한 가공 기술의 개발이 요구되는 상황이다.^{1,7,16,17,18)} 하지만 숙지황을 가공하는데는 많은 노력과 시간에 소요되어 국내 지황 생산 농가에서는 이들의 생산을 기피하는 추세이다. 따라서 본 논문은 국내산 지황의 새로운 수요 창출을 위해 지황 내 다량으로 존재하는 당 및 기타 유용 성분들의 이용을 위해 알콜 발효 시^{14,15)} 알콜 생산 수율 및 기능 증진을 위해 건지황의 활용 가능성에 대한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료의 조제 및 성분 분석

본 실험에 사용된 건지황은 98년 수원 작물 시험장에 재배한 지황 1 호를 작물시험장 특

용 작물과로부터 분양 받아 밀봉하여 서늘한 상온에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

건지황의 일반성분 분석은 AOAC법²⁾에 따라 수분은 105℃ 상압건조감량법으로, 회분은 500~600℃의 직접회화법, 조지방은 추출용매를 diethyl ether로 사용하여 soxhlet 추출법, 조단백질은 킬달법의 원리를 이용한 KJELTEC AUTO SAMPLER SYSTEM 1035 Analyzer (Foss Co.)를 사용하여 분석하였으며, 조섬유는 헨네베르크·스토오만 개량법의 원리를 이용한 FIBERTEC SYSTEM 1020 Extractor (Foss. Co.)를 사용하여 분석하였다.^{4,11)} 또한, 총 탄수화물의 함량은 일반성분을 100%로 보았을 때 위에서 분석된 성분들의 총합량(%)의 나머지로 계산하였다.^{2,4,11)}

또한 건지황 내 존재하는 단당류들의 조성은 분말 시료 2g에 온수 100ml를 가하고 CaCO₃를 넣어 pH를 6~7이 되도록 한 후 거품의 비등을 막기 위하여 1-Octanol 2~3방울을 넣고 수조에서 2시간 80℃로 환류 가열하였다. 냉각 후 여과지로 여과한 후 원심분리 (200,000rpm)로 10분간 침전시킨 후 상등액 50 μ l를 HPLC (Model 510, Waters, USA)에 주입해 분석했다.

HPLC 분석 조건은 Table 1과 같으며 당의

Table 1. Operation conditions for analyzing sugars in dried *R. glutinosa* Liboschitz by HPLC

Column	: Carbohydrate C ₁₈
Detector	: Shadex RI SE-11
Flow rate	: 2.0 ml/min.
Temperature	: 35℃
Mobile phase	: CH ₃ CN - H ₂ O : (75+25)
Chart speed	: 0.5 cm/min.
Attenuation	: $\times 4$
Sample size	: 50 μ l \times 8

표준품들의 retention time과 standard calibration method에 의해 비교 분석했다⁶⁾.

알콜 발효

실험에 사용된 효모로는 본 실험실에서 보관중인 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용하였다. 배양액에 첨가되는 지황 착즙액은 30mesh로 분쇄된 지황을 6 시간 동안 실온에서 수침 후 물기를 제거한 후 일반 착즙기를 사용해서 지황 즙 (juice extract) 을 얻었다. 이 착즙액을 발효 배양액에 10-50% (v/v) 의 비로 첨가해 발효 실험을 수행했다. 대조구 (control, 0%) 는 지황 착즙을 첨가하지 않고 순수 배양액만을 사용해 배양한 경우이다.

효모의 배양을 위해 1000ml 삼각flask에 설탕 10g, 아스파라진산 2.5 g, K₂HPO₄ 1g, MgSO₄ · 7H₂O 3g을 첨가한 기본 배지에 *S. cerevisiae* 무균적으로 접종하여 30℃에서 정지 발효시켜 종균액으로 사용했다. 알콜 발효의 회분 (batch) 및 유가식 (fed-batch) 배양을 위해서는 pH 6.9 와 30℃로 자동온도 조절이 가능한 5L (working volume) 크기의 배양조 (한국발효기, 인천)에서 교반없이 혐기 배양 실험을 수행했다. 회분 배양을 위해서는 control 은 순수 배지만을 그리고 지황 착즙액의 경우는 순수배지 전체 부피에 대한 비로 10-50% (v/v) 까지 첨가해 배양액으로 사용했다, 접종액은 전체 배지 부피의 5% 로 하여 배양을 시작했다. 유가식 배양은 초기 배양액을 500 ml로 하여 균체 양을 총 배지의 5% 로 접종 후 회분 배양을 시작해 10-15 시간 후 균체 농도가 일정 수준에 도달했을 때 신선한 배지를 배양조내로 유입 시켜 배양을 지속하며 균체의 성장에 따라 배지의 유입 양과 시기를 조절하여 최종 배양액이 5L가 될 때까지 증가시키는 간헐식 유가 배양 (pulse fed-batch cultivation) 을 실시했다.

알콜 발효 변수 측정

배양에 따른 균체 생육은 매일 10 시간 마다 10 mL 배양액을 무균적으로 채취해 0.45 μm 크기의 여과지에서 감압 여과 후 105℃ 건조기에서 6 시간건조 후 건조 균체 양을 측정했다. 배양에 따라 발생하는 이산화 탄소량은 배양조에 부착된 CO₂ analyzer (PAK 12P, Abiss Co., USA) 를 이용해 자동으로 측정 및 기록되었다. 또한 생성되는 ethanol 양은 식품공전의 권장 방법으로 배양액 10 ml를 취해 증류장치를 사용해서 증류액이 8 ml가 될 때까지 증류한 다음 증류수로 10 ml까지 채워 비중병을 사용하여 비중을 측정한 후에 windisch 씨 표에 의하여 알코올의 부피%를 구하여 측정하였다.

알코올 발효의 특성 분석을 위해 배양 공정 변수들인 최대 비 성장 속도 (maximum specific growth rate), μ_{max} (1/hr) 와 총 에탄올 생산성 (overall ethanol productivity), Q (%/hr) 는 다음 식에 의하여 계산하였다^{8,13)}.

$$\mu_{\max} = 1/X \cdot dX/dt \quad (1)$$

$$Q = P_{\max}/t \quad (2)$$

여기에서 X는 균체 농도 (g/l), t는 배양 시간 (hr), P_{max}는 최대 알콜 생산량 (% , v/v) 을 의미한다. 모든 실험은 3 회 이상 반복 실험을 수행해 평균치를 산출했으며 표현의 복잡성을 고려해 표준 편차를 나타내는 bar는 모든 그림에 표기하지 않았다.

결과 및 고찰

일반 분석 및 당 분석

건지황의 일반 성분 및 주요 당 조성을 분석한 결과가 도표 2 와 3 으로서 건지황의 78% 가 탄수화물이고 나머지는 극 소량이며 이들 미량 성분중 단백질이 조지방보다 많다는 특

Table 2. Chemical composition of dried *R. glutinosa* Liboschitz

	Moisture	Ash	Carbohydrate	Total Protein	Total lipid	Total dietary fiber
Dried <i>R. glutinosa</i>	7.3±0.12*	4.3±0.04	78.9±0.18	5.4±0.08	0.6±0.02	3.5±0.07

* Weight percentage (% , w/w).

Table 3. The result of analyzing major sugar concentrations in dried *R. glutinosa* Liboschitz

	Glucose	Fructose	Maltose	Sucrose	Galactose
Dried <i>R. glutinosa</i>	2.1±0.01*	2.4±0.02	1.5±0.02	5.7±0.04	2.3±0.03

* Weight percentage (% , w/w).

이한 사실이 확인되었다. 이로서 예견된 바와 같이 지황에는 다량의 당이 존재하고 있음을 알 수 있으므로 지황에 존재하는 알콜 발효에 사용 가능한 단당류들의 성분들을 분석한 결과가 도표 3이다. 다당류를 제외한 발효 가능한 단당류들의 양이 약 14% 가 존재하는 것으로 나타나 건지황이 알콜 발효 시 우수한 당원(糖原)으로 사용 가능함을 알 수 있다.

이는 Tomoda등¹⁷⁾이 보고한 총 당의 함량인 22% 보다는 적게 나타난 것 같이 보이나 Tomoda 분석에서는 분획물 중 tetrasaccharide인 stachyose 가 47% 이상 존재하는 것으로 계산되어 실제 건지황 무게 비로 환산할 경우 지황 1 호의 단당류 함량이 높은 것으로 나타났다.

이같이 건지황 내에 다량으로 존재하는 당을 이용하기 위해 발효 실험을 실시한 결과가 다음 그림들로서, 그림 1 은 지황을 첨가하지 않고 알콜 생산 최적 배지에서 효모 발효를 실시한 control 과 이 배지에 10-50% 까지 지황 착즙액을 첨가해 발효시키면서 균체의 생육과 효모 생육 시 주 생육 탄소원인 glucose 양을 측정 한 결과이다. 지황 착즙액이 증가할수

록 균체 생육 및 glucose 소비량이 증가했으나 30% 첨가 시는 균체 생육에 저해를 받았으며 50% 경우는 최대 균체 량이 8.03 (g/L) 로 control 의 최대 균체 양인 8.53 (g/L) 보다 월등히 낮아 심각한 생육 저해가 있음을 알 수 있다. 이는 지황 내 존재하는 당이나 기타 다른 물질의 농도가 높아 이들에 의한 생육 저해 현상으로 해석된다. 40% 이상 첨가 시 균체 생육의 감소와 함께 잔존 glucose 양의 감소도 현저히 나타나고 있다. 지황 첨가에 따라 초기 배지에 존재하는 총 당의 함량이 높아 배양 초기에는 균체 생육 속도만큼 당의 감소가 나타나지는 않으나 균체 생육이 대수기에 접어드는 시점에서 잔존 glucose 의 감소가 속도가 빨라져 균체 생육과 주 탄소원의 소비 속도는 상당히 밀접한 상관 관계가 있음을 알 수 있다. 특히 30% 첨가의 경우 배지 내 존재하는 glucose 양이 지속적으로 감소해 다른 경우보다 배양 기간의 연장이 가능할 것으로 평가되었다. 특히 일정농도 이하 (본 실험의 경우 30% 이하) 로 지황을 첨가한 경우는 균체 생육 속도의 증진보다는 잔존 당의 농도가 control 에 비해 소비 속도가 월등히 높은 것으

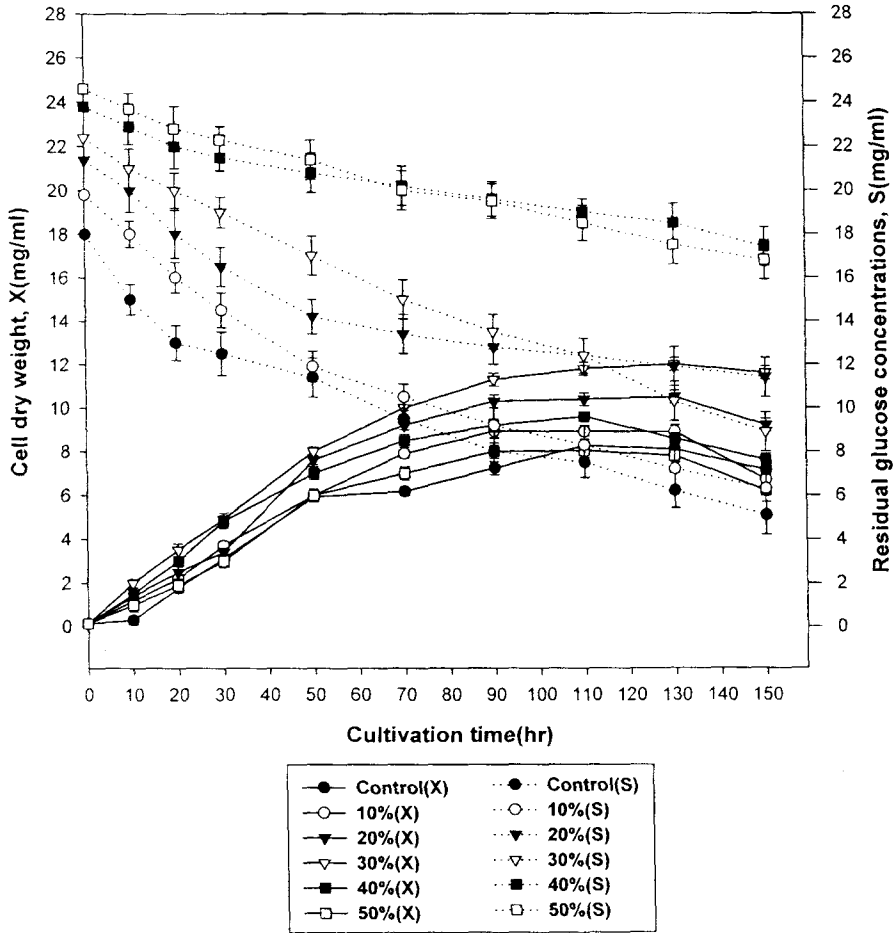


Fig. 1. The kinetics of growing *S. cerevisiae* and uptaking glucose in adding various concentrations of juice extracts of *R. glutinosa* for batch cultivation.

로 나타나 이는 지황 착즙액이 균체 생육에 명백히 좋은 영향을 주는 것으로 확인되었으며 이는 주로 지황 내 존재하는 당이 생육에 필요한 탄소원으로 작용하기 때문이 것으로 유추된다.

그림 2와 3은 그림 1의 회분 배양을 통해 생성되는 알콜의 양과 대사 과정 중 발생하는 이산화 탄소의 양을 측정 한 것이다. 아무 것도 첨가하지 않은 일반 알콜 발효 공정인 control의 경우 배양 후 120-130 시간 후에

11.5% (v/v)의 최대 알콜을 생산했으며 지황 착즙액이 증가할수록 생성되는 알콜의 양은 증가해 30% 첨가 시 최대 17.1%의 생산량을 나타내 control에 비해 48% 이상 생산성이 증가되는 것으로 나타났다. 이는 기존의 알콜 발효 공정에서 얻을 수 있는 일반 발효 수율인 10-13% 보다 월등히 높은 수치로서¹⁰⁾ 지황을 첨가하는 경우 알콜 수율 증진에 상당한 도움을 줄 수 있는 것으로 나타났다. 하지만 40% 이상 첨가 시 균체 생육이 감소됨에 따라 50%

의 경우 9.8%까지 생산량이 감소되는 것으로 확인되었다. 알콜 생성의 경우는 첨가량이 20% 까지는 생산성이 지속적으로 증가되기는 하지만 control 과 그리 큰 차이는 없었으나 30%의 경우 급속한 증가를 보이고 있으며 이는 균체 생육과는 달리 알콜 생산에 지황이 보다 더 큰 영향을 미칠 수 있다는 것을 암시하고 있다. 40% 이상의 경우도 고농도 지황 첨가가 균체 생육에 저해를 주는 정도보다 알콜 생산에 적게 영향을 주는 것으로 나타났다. 하지만 50%의 경우는 배양 말기에 알콜 생산이 급속도로 감소해 균체 감소에 따른 모든 활성 저하에 기인되었음을 알 수 있다. 또한 총

체적으로 모든 경우의 알콜 생산은 배양 중반 즉 생육 대수기 이후부터 생산성의 급속한 증가를 보여 그림 1의 균체 생육과 비교하면 명백히 partially growth-related 생산 공정임을 알 수 있다. 이와 함께 알콜 대사 과정 중 반드시 생성되는 대사물인 이산화 탄소의 생성 형태를 비교해도 그림 3의 경우와 유사한 pattern을 나타내고 있으며 30%의 경우 배양 말기에서도 지속적으로 이산화 탄소의 생성이 이루어지고있는 것으로 나타나 다른 경우와는 달리 배양 기간이 연장이 되고 있음을 다시 한번 확인했다.

상기 회분 배양 실험을 통해 30% (v/v) 지

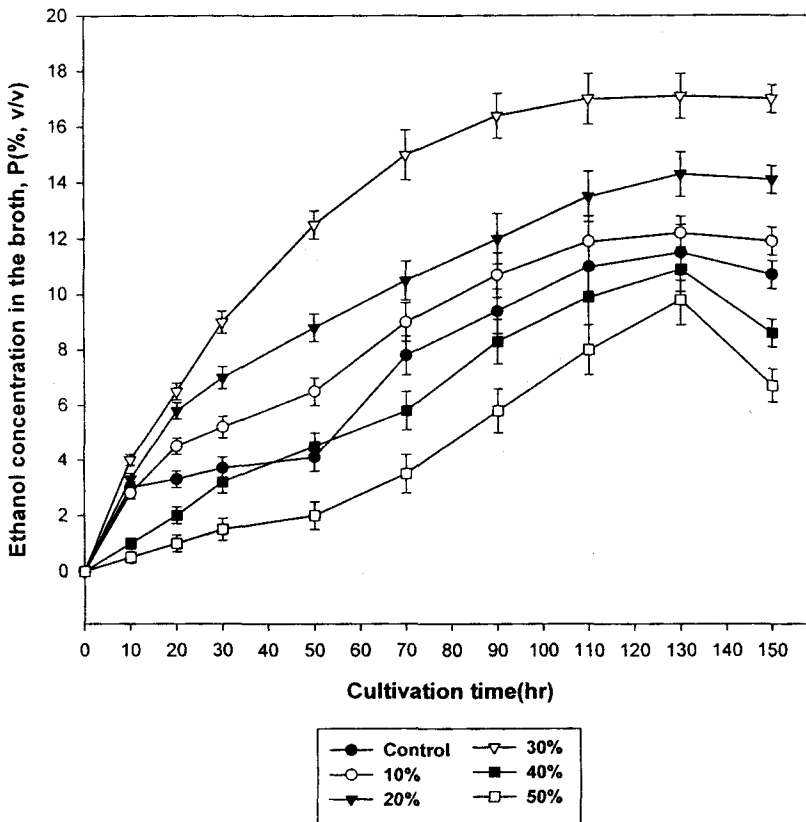


Fig. 2. The production of ethanol from batch cultivation of *S. cerevisiae* in adding various concentrations of juice extracts of *R. glutinosa*.

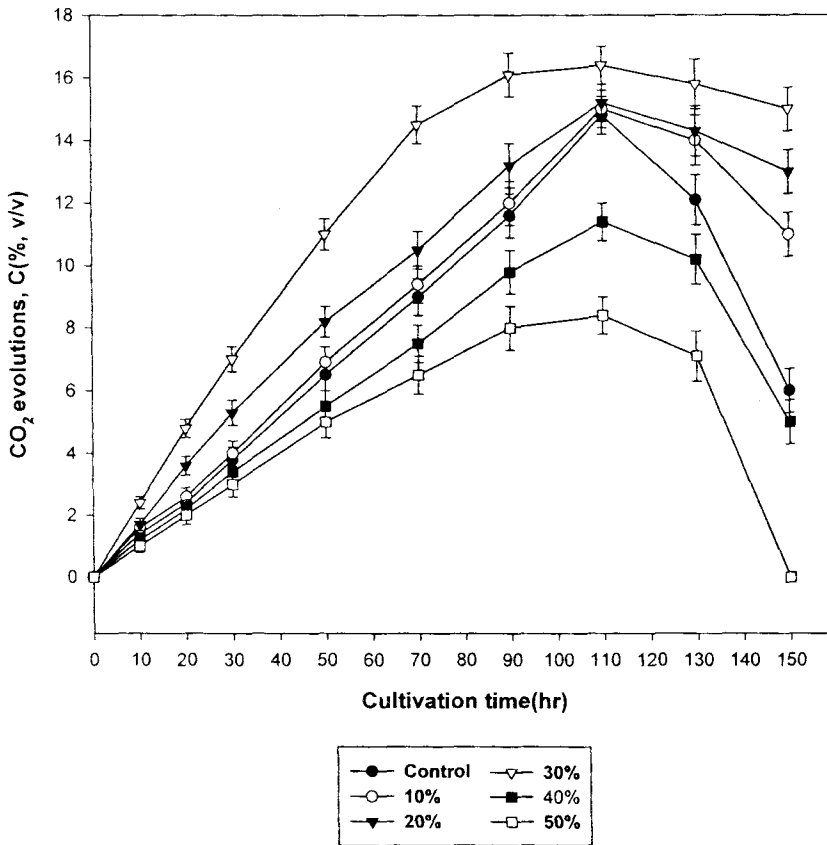


Fig. 3. The evolution of carbon dioxide for batch cultivation of *S. cerevisiae* in adding various concentrations of juice extracts of *R. glutinosa*.

황 착즙액 첨가 시 효모 균체 생육 증진 및 배양 기간 연장을 통해 알콜 생산성이 48% 이상 증가되는 것으로 확인되었으나 배양 후 약 60 시간 후부터는 잔존 glucose 양이 급격히 감소되어 생육에 영향을 주는 것으로 확인되었다. 따라서 이 같은 문제점을 해결하고 지황을 이용한 알콜 발효의 산업적 응용을 가능하기 위해서는 현재 총 배양 시간인 150 시간 보다 긴 장기간 배양이 필수적이다. 이 문제점들의 해결을 위해 회분 배양을 하면서 신선한 배지를 간헐적으로 첨가하는 유가식 배양 공법을 이용해 control 과 30% 지황을 첨가해 알콜 발효

실험을 실시한 결과가 그림 4와 5이다. 그림 4는 초기 500 mL 배지에서 배양을 시작하여 균체 증가에 따라 신선한 배지를 공급하여 5L 까지 배양하며 균체 증가와 glucose 소비 양을 측정 한 결과다. 화살표가 신선한 배지를 공급한 시점으로 이때 측정 한 균체 농도는 신선한 배지가 유입 때 전체 농도의 증가에 따른 희석에 의해 일시적으로 낮아졌으나 균체 생육이 왕성함에 따라 급속히 증가하는 현상을 보였으며 이런 일시적 변화 현상은 잔존 glucose 농도에서도 나타나고 있다. Control 이나 30% 지황을 첨가한 경우 공히 다 배양

기간이 2 배 이상 증가했으며 최대 균체양도 control 의 경우 8.53 (g/L)에서 9.4 (g/L)로 증가했으며, 30% 첨가의 경우 회분 배양시 11.8 (g/L) 의 최대 농도에서 유가식 배양시 15.8 (g/L)의 최대 농도로 증가했다. 특히 유가식 배양시 균체 농도 증가는 control 보다 30% 첨가한 경우가 더 큰 상승을 보여 지황을 첨가 후 유가식 배양이 균체 생육에 더 좋은 영향을 나타내는 것으로 나타났다. 이와 함께 잔존 glucose 양도 지속적인 배지의 유입을 통

해 일정 농도 이상을 유지하고 있어 회분 배양에서 야기되었던 대수기에서의 탄소원의 부족 현상은 일어나지 않은 것으로 확인되었다. 이 결과 회분 배양보다 2 배 이상 장기 배양이 가능했으며 균체 농도도 30-40% 이상 증가한 것으로 사료된다.

이 같은 균체 농도 증가가 목적하는 알콜 생성 수율 증가로 연계되는지를 확인한 결과가 그림 5 로 30% 첨가 시 최대 15.8 % 의 생산량을 나타냈으며 이는 회분 배양시 최대 생산

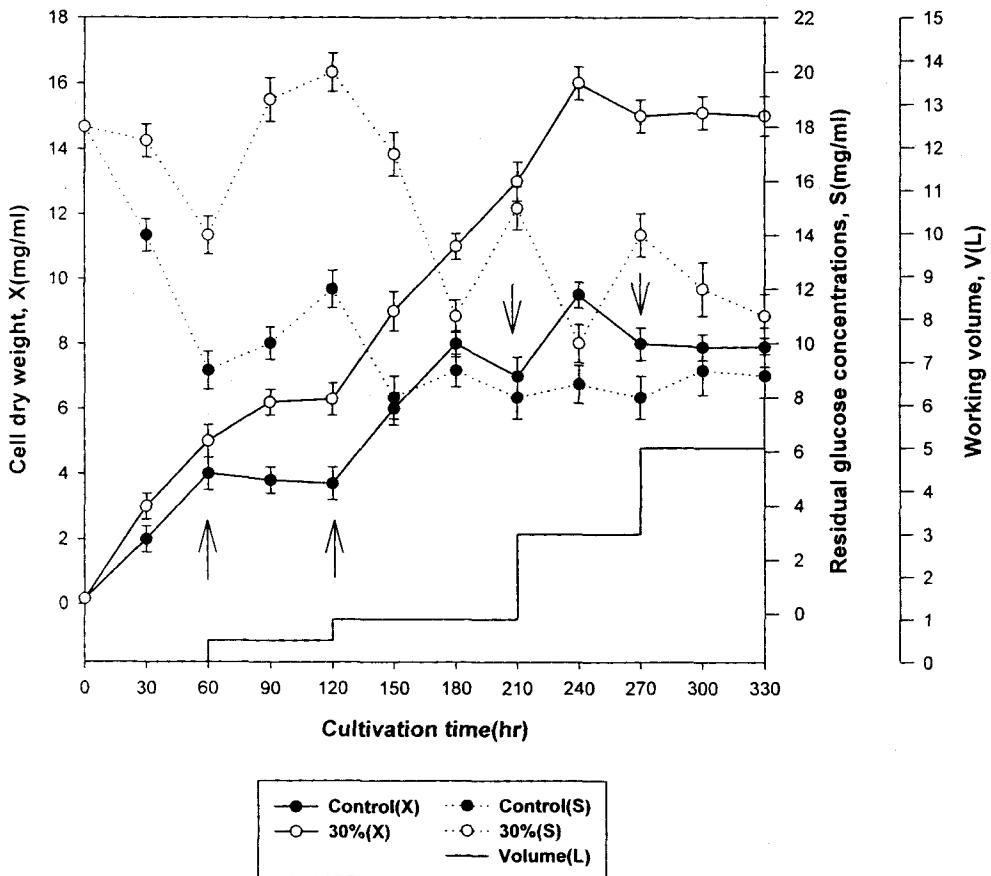


Fig. 4. Kinetics of cell growth and consuming glucose under fed-batch cultivation of *S. cerevisiae* in adding 30% juice extracts of *R. glutinosa* or no addition. Arrows are the points of feeding fresh medium.

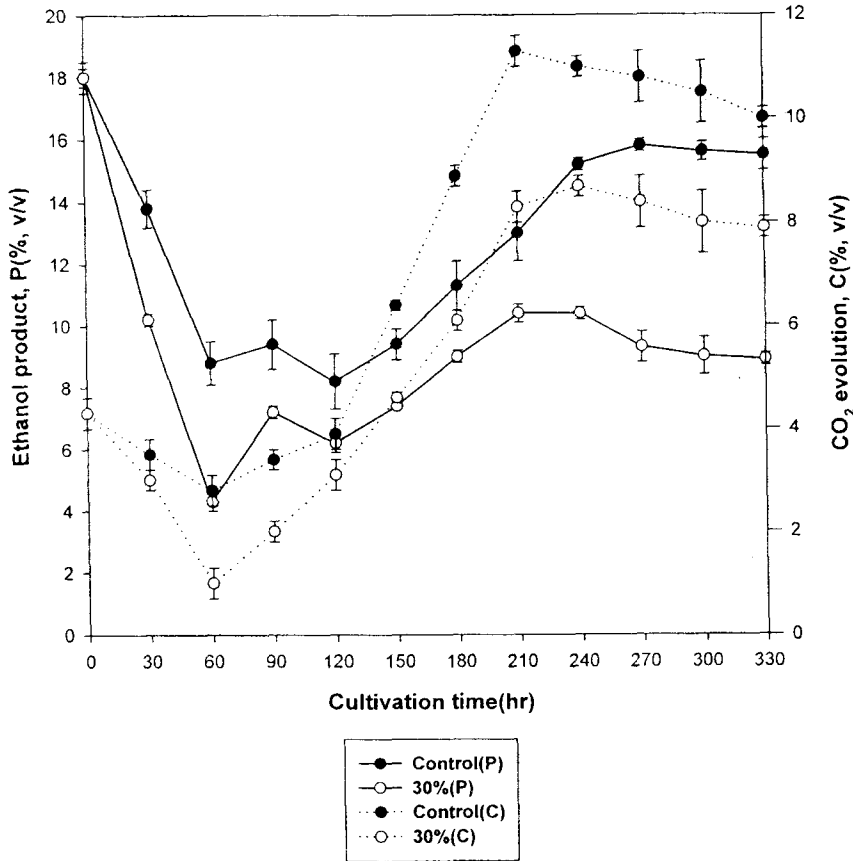


Fig. 5. Kinetics of producing ethanol and carbon dioxide under fed-batch cultivation of *S. cerevisiae* in adding 30% juice extracts of *R. glutinosa* or no addition.

량인 17.1% 보다는 낮으나 이는 유가식 배양 시 배지의 유입에 따른 희석 현상이며 희분 배양 경우 최대 생산량에 도달 후 곧 줄어드는 pattern 이었으나 유가식 배양의 경우는 최대 생산성을 100 시간이상 유지할 수 있어 실제 전체 알콜 생산량은 희분 배양보다 월등히 높은 것으로 평가되었다. Control 의 경우도 30% 와 유사한 경향을 보이고 있으나 총체적으로 희분 배양보다 높은 알콜 생산성을 유지할 수 있는 것으로 나타나 알콜 발효 시 유가식 배양이 우수한 것으로 입증되었다. 이 같은 결과는 발효 대사 산물인 이산화 탄소의 생

산에서도 동일하게 나타났으며 생성 형태가 희분 배양과는 달리 좀더 긴 생산 현상을 보이고 있다. 특히 이산화 탄소의 경우는 균체 생육이나 glucose 소비보다는 덜 탄력적으로 반응을 나타내고 있어 이는 glucose의 대사 과정의 time lap에 따른 것으로 추측된다. 이상과 같은 결과를 종합적으로 비교한 것이 도표 4로서 최적 지황 첨가 농도인 30% 와 control을 희분 및 유가식 배양 변수들을 비교한 것이다. 균체 생육 및 알콜 생성 등 모든 변수들에서 30% 첨가한 경우가 우수한 것으로 확인되었으며 특히 최대 균체의 경우는 유가식 배양

Table 4. Comparison of alcohol fermentation parameters in adding 30% juice extract of dried *R. glutinosa* Liboschitz or no adding for batch and fed-batch cultivations

	Cell density X (g/L)		Specific growth rate μ_{max} (1/day)		Overall ethanol productivity, Q (%/hr)	
	0% (control)	30%	0%	30%	0%	30%
Batch	8.26±0.02	11.8±0.03	0.14±0.05	0.19±0.06	0.078±0.006	0.092±0.007
Fed-batch	9.40±0.01	15.8±0.03	0.18±0.06	0.24±0.04	0.099±0.005	0.142±0.009

이 월등히 유리한 것으로 입증되었다. 이에 따른 균체 생육 속도도 최대 0.24 (1/hr) 매우 빠른 생육을 보이고 있다. 이 같은 빠른 생육에 비해 알콜 생산은 상대적으로 적은 증가 폭을 보이고 있으나 이는 알콜이 균체 생육 과정에 직접적으로 관여되는 것이 아니라 일정 농도로 성장 후 생성되는 대사 산물임을 다시 한번 확인해주는 결과로 유가식 배양이 명백히 높은 생산성을 유지할 수 있음을 알 수 있다.

특히 이 같은 알콜 생산 수율은 기존의 일반 알콜 발효 공정에서 얻을 수 있는 양인 10% 내외 보다 월등히 높은 수율로서 지황의 첨가가 알콜 발효의 수율 증진에 직접적으로 기여했음을 알 수 있다. 또한 발효 시 지황 내 유용 물질의 용출 및 발효에 의해 지황 첨가에 의한 알콜은 생리 활성 성분이 기존 일반 주류의 알콜보다 높을 것으로 유추되어 이 부분의 연구도 필요할 것으로 사료된다.

적 요

알콜 발효 증진을 위해 5L 배양조에서 혐기적으로 회분 배양 시 건지황 착즙액을 농도별로 첨가하며 알콜 발효 및 균체 생육을 측정한다. 결과 균체 생육 및 알콜 생산 수율 모두 착즙액 첨가량이 증가함에 따라 일반 발효에 비해 증가했으며, 30% (v/v) 첨가 시 11.8 (g/L)

의 최대 균체양, 0.092 (%/hr)의 최대 알콜 생산성과 같은 최대치를 나타냈다. 하지만 40% 이상 첨가 시는 균체 생육 및 알콜 생산 두 경우 다 감소하는 경향을 보였으며 50%에서는 심각한 생육 저해 현상이 나타났다. 또한 알콜 생산성 증진을 위해 30% 착즙액을 첨가해 유가식 배양을 실시한 결과 회분 배양보다 월등히 높은 균체 생육 및 알콜 생산성을 보였다. 이 같은 생산성은 일반 알콜 발효에서 얻을 수 있는 수율보다 약 30-40% 이상 높은 것으로 건지황 착즙액이 알콜 발효에 직접적인 영향을 주는 것이 입증되었다. 이는 알콜 발효 시 건지황의 유용 성분의 활용과 함께 알콜 생산 수율 증진에도 이용이 가능한 지황의 이중적 활용도가 있음을 입증한 것으로 평가된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 농업특정연구과제로 수행된 결과로 이에 심심한 사의를 표합니다.

LITERATURE CITED

- AOAC. 1984. Official methods of analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists.
Dunmire, D. L., S. Otto. 1979. HPLC

- Determination of Sugar in Various Food Products. J. Assoc. of Anal. Chem. 62 : 176-185.
- Erkki, P., L. Pekka. 1986. HPLC Separation and diode-array spectroscopy identification of DNP derivatives of Carbonyl Compound from Whisky. J. of Chronol. 353 : 163-168.
- Joo, H, K, Lee, J. K. 1988. The effect of *Ganoderma lucidum* Water Soluble Extract on Higher Alcohol Production of *Saccharomyces cerevisiae*. Korean J. Food Sci. Technol. 20 : 52-58.
- Oshio, H., H. Inouye. 1981. Iridoid Glycosides of *R. glutinosa*. Phytochem. 21 : 133-138.
- Tomoda, M., N. Tanaka, N. Kondo. 1971. Water-soluble constituents of *Rehmanniae Radix*. II. on the constituents of Roots of *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea*. Chem. Pharm. Bull. 19 : 2411-2413.
- Zhongyu, L., Z. Tongbao. 1984. Monosaccharide Content in raw and processed roots of *Rehmannia glutinosa*. J. Phytol. 9 : 17-22.
- 안상득. 1992. 한약학 II. 광명의학사.
- 최태섭. 1993. 한국의 보약. 도서출판 열린책들.
- 대한식품공업협회. 1987. 식품 공전.
- 동의학 자료실. 1993. 東藥法製, 여망출판사.
- 장호인, 김상순. 1990. 알콜 발효 기술 개발에 관한 연구. 동력자원부.
- 장준근. 1997. 산야초 동의보감. 아카데미출판사.
- 정동효, 장현기. 1982. 최신 식품분석법. 삼중당.
- 정한진. 1989. 가공에 의한 지황의 성분변화 및 효소활성에 관한 연구. 숙명여자대학교 약학과 석사학위 논문.
- 김상철. 1992. 전분의 직접 알콜 발효. 동력자원부 최종보고서.
- 이석진. 1992. 전분의 직접 알콜 발효. 동력자원부 에너지활용 최종보서.
- 이석진, 박순호. 1990. 알콜 발효 기술 개발에 관한 연구. 동력자원부에너지 활용 보고서.