

안동소주 발효액으로부터 분리한 젖산 세균의 동정 및 발효 특성

배경화^{1,3} · 신기선² · 류희영³ · 권정숙³ · 손호용^{3*}

¹민속주 안동소주, ²한국생명공학연구원, ³안동대학교 식품영양학과

Identification and Fermentation Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Fermentation Broth of Korean Traditional Liquor, Andong-Soju. Bae, Kyung-Hwa¹, Kee Sun Shin², Hee-Young Ryu³, Chong-Suk Kwon³, and Ho-Yong Sohn^{3*}. ¹Minsokju, Andong-Soju, Andong 760-749, Korea, ²Biological Resource Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-600, Korea, ³Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea – To investigate the effect of lactic acid bacteria in Andong-Soju fermentation and traditional nuruk maturation, several lactic acid bacteria were isolated from the Andong-Soju fermentation broth and traditionally matured nuruks using *Lactobacilli* MRS agar containing bromocresol purple. Among the isolated bacteria, ADS-L1 showed the highest lactic acid production and was dominant species in fermentation broth. Based on physiological characteristics and 16S rDNA sequencing results, the ADS-L1 was identified as *Pediococcus acidilactici*. The ADS-L1 grew well at 50°C, and under the acidic conditions at pH 4, whereas the ADS-L1 failed to grow by treatments of 12% (w/v) ethanol or 0.01N HCl. Considering the high temperature of nuruk above 50°C during nuruk maturation and the high ethanol concentration of broth above 12% at the end-stage of Andong-Soju fermentation, these results suggested that the ADS-L1 is popular in matured nuruks and plays role in the early-stage of fermentation. Analysis of pH, brix, reducing sugar content, lactic acid production, and cell growth during the cultivation of ADS-L1 further suggested that the ADS-L1 may contribute the prevention of contamination by rapid and steady acidification of broth, and do not cause problems by rapid death at the end-stage of fermentation.

Key words: Andong-Soju, lactic acid bacteria, traditional liquors

서 론

한국의 소주는, 원나라 문물이 들어온 고려 충렬왕 시기에 도입되었으며, 고려의 수도인 개성 및 몽골의 병참기지였던 경북 안동과 제주지역을 중심으로 발달되어 왔다. 고려시대에는 몽골 문화의 영향권 아래, 일부의 사회 상류층에 한정되어 소주가 음용되어 왔으며, 특히 안동지역에서 제조된 소주의 경우에는 100% 쌀로 빚은 30~60%의 높은 알코올 도수의 순곡주로서 그 명성을 떨쳤으며, 조선시대 후기까지 꾸준히 생산되어 왔다[3]. 이후, 1915년 경북 안동시에 “안동주조회사”가 설립되어 알코올 도수 45도의 소주가 본격적으로 판매되면서, “안동소주”의 명칭을 부여받게 되었다. 그러나 1965년 양곡관리법에 따라 곡물로부터 주류제조를 금지하게 되어 안동소주 제조 또한 중단되었으며, 1987년 조옥화씨의 안동소주 양조법이 경북 무형문화재 제 12호로 지정되면서 다시 명맥을 유지하게 되었다[3]. 오늘날 안

동소주는 맷살로 지은 고두밥과 통밀로 만든 누룩을 섞고 물을 부어 발효시킨 후, 솥에 넣고 불을 때면서 소주고리를 얹어 내려 받아 제조하며, 그 특유한 맛, 향 및 산미로 인해 국제적 명성을 확보하고 있다.

한편, 젖산균은 치즈, 요쿠르트 등의 유제품[6] 및 김치[1, 8], 젓갈[14] 등의 전통 발효식품의 주요 발효균으로, 정장기능, 콜레스테롤 강하작용 및 면역능 강화 작용 등 다양한 긍정적 효과를 나타내는 유용세균으로 알려져 있다. 젖산균은 국내의 누룩에서도 보고된 바 있으며[10, 18], 누룩의 젖산균은 알코올 발효의 초기과정에서 발효액의 pH를 빠르게 낮추어 잡균의 오염을 막는 긍정적인 역할과 함께 다양한 유기산을 생성하여 발효주의 풍미에도 영향을 주는 것으로 보고되어 있다[18]. 그러나 전분질의 알코올 발효 중, 젖산균은 효모의 성장과 알코올 발효를 저해하여 발효효율을 떨어뜨리며, 지나친 산 생성으로 산패를 유발하는 경우가 있어, 양조시에는 젖산균의 효율적 제거가 필요하다고 알려져 있다[2, 11, 12, 18]. 현재 국내 누룩에서 보고된 젖산균들은 *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus acidilactici*, *P. damnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *Lactococcus lactis* 및 *Enterococcus faecium* 등이 있으며

*Corresponding author

Tel: 82-54-820-5491, Fax: 82-54-820-5491

E-mail: hysohn@andong.ac.kr

[16], 전통주의 경우 누룩마다 고유한 미생물 성상이 나타나는 것으로 보고되어 있다[13, 17, 24]. 이처럼 젖산균은 양조 과정 중 발효조절 및 오염방지, 산패유발 등의 긍정적, 부정적 영향을 미치는 주요세균이지만, 현재까지 한국의 무형문화재로 지정된 안동소주의 경우, 누룩 숙성 및 알코올 발효 과정 중의 젖산균의 분리, 동정 및 발효학적 특성에 대해서는 전혀 알려져 있지 않은 상태이다.

따라서 본 연구에서는 민속주 안동소주 발효에 있어서, 젖산균의 영향 분석과 효율적 제어를 위해, 먼저 안동소주 자가 제조 누룩 및 알코올 발효액으로부터 젖산균을 분리, 동정하고, 이들의 생리학적 특성 및 발효학적 특성을 검토하여 안동소주 발효에 있어 젖산균의 역할에 대해 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 누룩 및 발효액

실험에 사용한 시료는 안동소주 생산 공장에서 자가 제조한 누룩 및 이를 이용한 안동소주 발효액으로, 민속주 안동소주로부터 제공받아 균주 분리에 사용하였다. 안동소주 누룩은 안동소주 기술전수자가 직접 제조한 누룩으로, 통밀을 분쇄한 후, 물을 가하여 섞은 후 이를 23 cm의 원형틀에 넣어 발로 밟아 성형하였으며, 두께는 약 3.0 cm, 무게는 약 2.2 kg, 수분함량은 약 30~33%이었다. 성형 후에는 30°C의 국실에서 3주간 자연 발효시켜 제조하였고, 발효시 일주일 이내에 최고 50°C까지 누룩온도가 상승한 후, 이후 30°C를 유지하였다. 제조된 누룩은 건조 후 분쇄하여 멧쌀로 조제된 고두밥과 누룩의 비율이 5:1(w/w)이 되도록 섞어 알코올 발효에 사용하였다. 알코올 발효는 50리터 발효조에서 3주간 실시하였으며, 1주 간격으로 발효액을 500 ml씩 회수하여 젖산균 분리 및 분석에 사용하였다.

젖산균의 분리

안동소주 발효에 영향을 미치는 젖산균을 분리하기 위해 발효액을 희석하여 젖산균 분리배지에 도말하여 30°C에서 3일간 배양하였다. 또한 안동소주에서 자가 제조한 누룩 5 g을 무균백(Model 400, Closure Bags 6041, England)에 넣고, 멸균수 50 ml를 가한 후 분쇄기(Stomacher 400, Seward Limited, England)로 5분간 분쇄하여 균일화 한 후, 상등액을 젖산균 분리배지에 도말하여 30°C에서 3일간 배양하였다. 젖산균 분리배지로는 bromocresol purple 0.02%를 함유한 *Lactobacilli* MRS agar (Difco Co., USA)를 사용하였으며, 젖산 생성으로 인한 황색 콜로니를 선별하였다. 1차 선별된 젖산균들을 대상으로 다시 동일배지에 계대한 후 24시간 이내에 황색 콜로니로 변하는 젖산 생산능이 우수한 균주를 최종 선별하였다.

분리 젖산균의 동정

분리균주의 동정은 BBL Crystal Identification kit(Becton, Dickinson and Co., USA)을 이용하여 생리적 특성을 검토하였으며[9], 16S rDNA 염기서열을 분석하여 결정하였다. 단일 콜로니로부터 이미 보고된 방법으로 DNA를 분리하고[15], 16S rDNA를 PCR 증폭하였으며[19], ABI TaqDye-Deoxy Terminator Cycle Sequencing Kit과 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer(Applied Biosystems)를 이용하여 염기서열을 결정하였다. 얻어진 염기서열 결과는 CLUSTAL X, PHYLIP 3.57c, 및 NEIGHBOR program[4, 5, 20]을 사용하여 phylogenetic tree를 완성하였다. 이때 외부그룹 공시균주로는 *Escherichia coli* MPEC Y-69 (AB045731)를 이용하였으며, 다른 염기서열은 GenBank database (National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)로부터 내려받아 사용하였다. 분리된 균주의 현미경 검경은, 광학현미경(Olympus CH2, Japan)과 Microscopy Immersion oil(Merck Co.)을 사용하였다.

분리 젖산균의 생육 특성

분리균의 생육 특성 조사를 위해, MRS 액체배지를 이용하여 20~50°C의 다양한 온도에서의 생육도와, pH 3~10에서의 다양한 초기 pH에서의 생육도를 검토하였다. 액체배지의 pH 조절은 1N HCl 또는 1N NaOH를 이용하였다. 또한 알코올 발효 중의 분리 젖산균의 생육 정도를 검토하기 위해 초기 에탄올 농도 0~12%(w/v)의 다양한 알코올 농도에서의 생육도와, 0.1N HCl 및 0.01 N HCl 상태에서의 생존율을 평가하였다. 내산성 평가의 경우에는 MRS 배지에서 전 배양하여 원심 집균한 분리젖산균을 멸균수로 2회 수세하고 10⁸ CFU/ml의 농도로 조정 한 후, 0.1 N 및 0.01N HCl 용액에 각각 30분, 1시간, 2시간 및 5시간 처리한 후 MRS agar 배지에 도말하여 37°C에서 2일 배양 후 생존율을 평가하였다.

분리 젖산균의 발효 특성

MRS 액체 배지에 분리 젖산균을 접종한 후 96시간 동안 배양하면서, 24시간 간격으로 발효액을 회수하고, 배양액을 10분간 원심분리(4000 rpm, HA-1000-3, Hanil Science, Korea)하여 배양 상등액을 회수하였으며, 이를 이용하여 pH, brix, 배양액의 환원당 및 산도를 측정하였다. pH는 pH meter (Mettler Toledo, InLab 413, England)를, Brix 측정에는 refractometer (Atago N-1E, Japan)을 이용하였고, 환원당은 DNS 법[22, 23]으로 측정하였다. 젖산균의 산 생성능은 산도를 측정하여 평가하였으며, 배양 상등액 5 ml에 멸균수 20 ml와 0.1% phenolphthalein 용액 0.1 ml를 가하고, 0.1N NaOH 용액으로 적정한 후 그 적정량에 젖산계수를 곱하여 젖산 함량(% w/v)으로 나타내었다[18]. 균체 생육은 MRS 고체배지에 도말하여 생균수를 측정하였으며, MRS broth를 이용하여 최확수법으로 확인하였다.

결과 및 고찰

안동소주 발효액으로부터 젖산균의 분리 및 동정

안동소주 발효액을 bromocresol purple-*Lactobacilli* MRS agar에 도말하여 3일간 배양한 결과, 서로 다른 황색 균체 집락의 3종의 젖산균(ADS-L1, ADS-L2 및 ADS-L3)을 분리하였으며, 이들을 다시 동일 배지에 계대한 후 24시간 이내에 황색으로 변하는, 젖산 생성이 강력한 균주 ADS-L1을 최종적으로 선별하였다. 일반적으로 안동소주 발효시 1주 발효액에서는 10⁶⁻⁷ CFU/ml의 젖산균이, 2주 발효액에서는 10⁴⁻⁵ CFU/ml, 그리고 3주 발효액에서는 10³⁻⁴ CFU/ml의 젖산균이 검출되어 1주 발효 이후에는 발효가 진행되면서 전반적으로 감소되는 경향을 나타내었으며, 이는 기존의 보고된 탁주에서의 10⁸ CFU/ml[17, 21]보다 매우 낮은 수치로서, 안동소주의 장시간 발효와 고농도의 에탄올 생성에 따라 발효 후기에는 젖산균의 사멸이 나타남을 알 수 있었다. 균체 집락의 특성으로 볼 때 안동소주 발효액의 젖산균은 ADS-L1이 가장 우점종인 것으로 추측되었으며, ADS-L1 균주는 안동소주 누룩의 10³⁻⁴ CFU/g-누룩의 젖산균 중에서도 우점종으로 추측되었다. 따라서 안동소주 발효액내의 ADS-L1균주는 안동소주 누룩으로부터 기인함을 추측할 수 있으며, 이 균주는 안동소주 누룩 제조 및 발효 조건하에서 적응, 선택된 젖산균으로 판단된다. ADS-L1 균주는 그람 양성균의 구균으로 그 크기는 0.5~1.3 μm이며, single cell로 존재하며, pH 4의 산성조건 및 혐기적 조건에서도 잘 생육하였다. 또한 Trehalose, arabinose, fructose를 소화할 수 있으며, urea, esculin을 분해하지는 못하는 반면 arginine을 분해하였다. 또한 valine, phenylalanine, tryptophan, arginine의 7-amino-4-methyl coumarin(AMC) 유도체를 절단하여 형광을 나타내었다(Table 1). 한편 16S rDNA 염기서열을 이

용하여 동정한 결과, ADS-L1 균주는 *Pediococcus*속 세균들과 91.6~99.7%의 유사성을 나타내었으며, 그중에서도 *Pediococcus acidilactici* DSM 20284^T와 가장 높은 염기서열 유사성을 나타내어, *Pediococcus acidilactici* ADS-L1으로 동정, 명명하였다(Fig. 1).

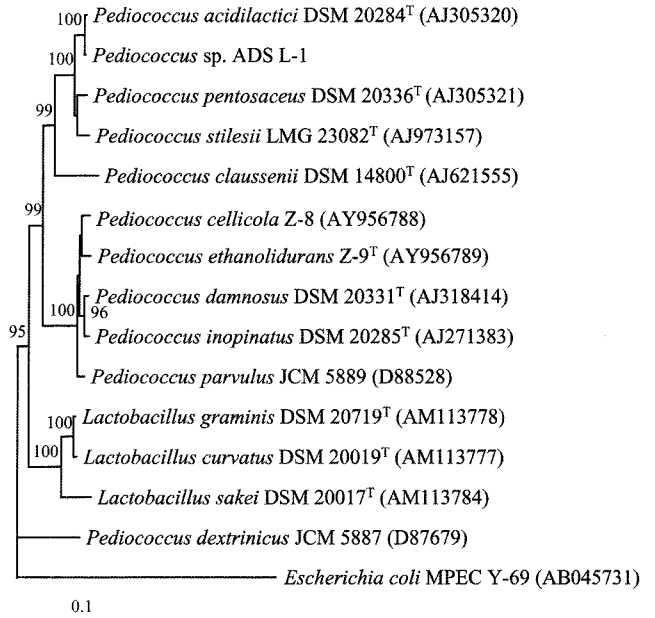


Fig. 1. Phylogenetic relationships of ADS L-1 and related lactic acid bacterial species based on 16S rDNA gene sequences similarity. The tree was constructed by the neighbour-joining method, and approximately 1484 nucleotide were used for comparison. *Escherichia coli* MPEC Y-69 was used as the outgroup. Bootstrap values greater than 1000 are given at the nodes; only values above 50% are given. Bar, 0.1 substitutions per nucleotide position.

Table 1. Physiological and biochemical characteristics of ADS-L1 isolated from Andong-Soju nuruk.

Substrate	Reaction	Substrate	Reaction
Fluorescent negative control	1-	Mannitol	-
4MU*-β-D-glucoside	-	Sucrose	-
L-valine-AMC**	2+	Maltotriose	-
L-phenylalanine-AMC	+	Arabinose	+
4MU-a-D-glucoside	-	Glycerol	-
L-pyroglutamic acid-AMC	-	Fructose	+
L-tryptophan-AMC	+	p-n-p-β-D-glucoside	-
L-arginine-AMC	+	p-n-p-β-D-cellobioside	-
4MU-N-acetyl-β-D-glucosaminide	-	Proline & Leucine-p-nitroanilide	+
4MU-phosphate	-	p-n-p-β-phosphate	+
4MU-β-D-glucuronide	-	p-n-p-a-D-maltoside	-
L-isoleucine-AMC	+	ONPG & p-n-p-a-D-galactoside	-
Trehalose	+	Urea	-
Lactose	-	Esculin	-
Methyl-a & β-glucoside	-	Arginine	+

*4MU: 4-methylumbelliferone, **AMC: 7-amino-4-methylcoumarin, 1-: negative reaction, 2-: positive reaction

분리 젖산균 ADS-L1의 생육온도 및 생육 pH

분리균주의 최적 생육온도를 확인하기 위해 다양한 온도에서의 균체 생육도를 측정하였다. ADS-L1은 40°C에서 최적 생육온도를 나타내었으며, 50°C에서도 최고 생육의 90% 이상의 생육을 보여 우수한 내열성을 보였다(Fig. 2a). 25°C 및 30°C 배양의 경우 초기 생육이 3시간 정도 지연되었으나, 정상적으로 생육이 나타났으며, 20°C 배양의 경우에는 12시간 배양시까지 매우 낮은 생육도를 나타내었으나, 24시간 배양 후에는 30~45°C 배양의 경우와 유사한 생육을 나타내었다. 이러한 결과는, 실제 안동소주 누룩 띄움 동안 통상 누룩의 최고온도가 45~50°C까지 상승함을 고려할 때, ADS-L1 및 바실러스균과 같은 포자형성 내열성균이 누룩의 우점 세균으로 존재할 것으로 추측되며, 알코올 발효를 위한 누룩 첨가시 젖산균의 빠른 균체 성장으로 인해 잡균 오염 효과가 기대된다. 한편 최적 생육 pH를 검토한 결과(Fig. 2b), 초기 pH가 5~7 범위에서 최적 생육을 보였으며, pH 4의 경우 pH 6의 최고 생육의 75% 생육도를 나타내었다. pH 3의

경우에는 생육이 전혀 나타나지 않은 반면, pH 8 및 9의 경우에는 3시간 정도의 생육지연이 나타난 다음 정상적인 성장을 보였다. 따라서 ADS-L1의 경우, 초기 알코올 발효가 진행되면서 발효액이 산성화 되는 경우 pH 4까지는 심각한 생육저해가 나타나지 않을 것으로 판단되며, 발효 후기 pH가 3.2 정도까지 산성화되는 경우, 부분적인 생육저해가 나타날 것으로 판단된다.

분리 젖산균 ADS-L1의 내산성 및 내알코올성

알코올 발효시 젖산균의 생육은 발효진행에 따른 pH 감소와 생산된 에탄올에 의해 저해될 것이므로, ADS-L1의 내산성 및 내알코올성을 평가하였다. 먼저 내산성의 경우, 0.1N HCl 처리시 30분 이내에 생존율은 0%로 나타났으며, 0.01N HCl 처리시에는 30분 처리시 생존율의 변화가 미미하였으나, 1시간 처리시 90%가 사멸되었으며, 5시간 처리에 의해 생존율은 0.01% 이하로 감소하였다(Fig. 3a). 이는 분변 및 발효식품에서 분리된 내산성 젖산균들이 pH 2에서 6시간 생

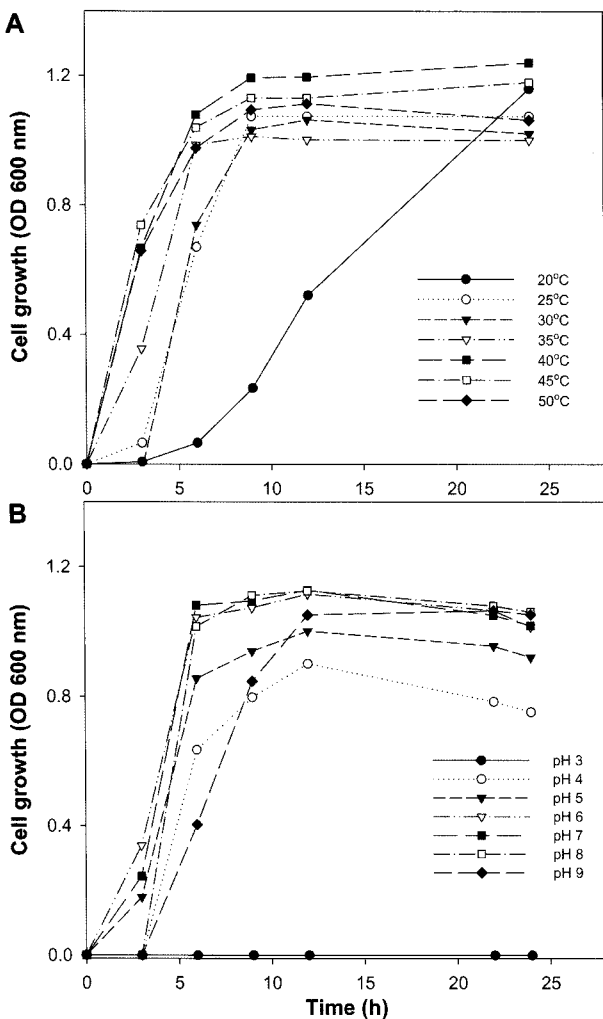


Fig. 2. Effect of (A) temperatures and (B) initial pHs on the growth of ADS-L1 in MRS broth.

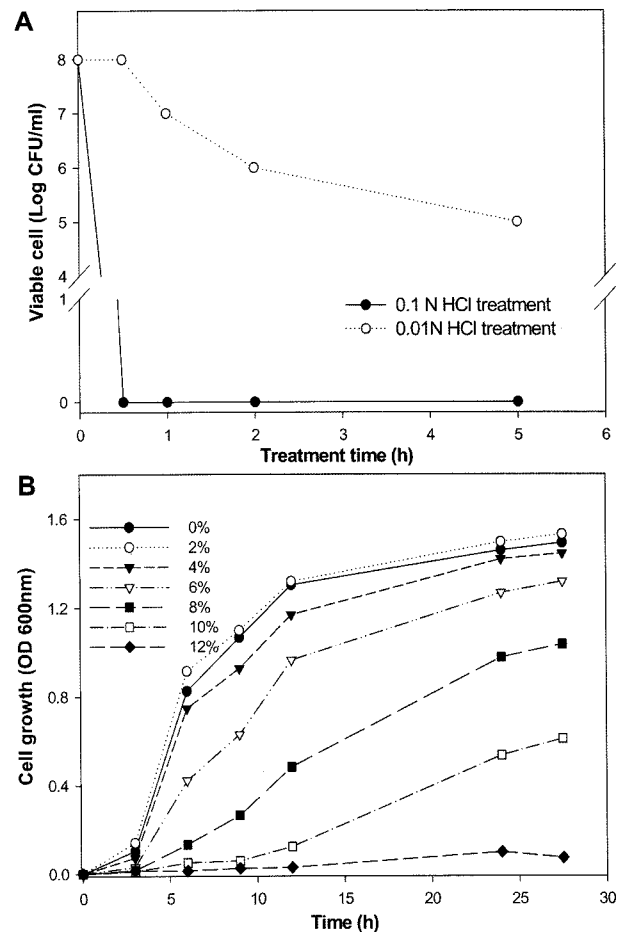


Fig. 3. The acid-tolerance, and ethanol-tolerance of ADS-L1. (A) The cell viability of ADS-L1 after treatment of 0.1N or 0.01N HCl, and (B) the growth inhibitions by treatment of different concentrations of ethanol were determined using MRS medium.

존율이 34~68%를 나타냄을 고려할 때 [7, 14], 안동소주 분리 젖산균 ADS-L1의 내산성이 우수하다고 할 수 없다. 이러한 약한 내산성이 민속주 안동소주의 후기 발효 진행시, 젖산균의 사멸에 영향을 미칠 것으로 추측된다. 한편 내알코올성 평가 결과, 알코올 농도 2%까지는 생육저해가 거의 나타나지 않았으나, 4% 농도 이후부터는 농도 의존적으로 생육저해가 확인되었다(Fig. 3b). 특히 안동소주 발효후기의 알코올 농도에 해당하는, 12% 이상의 알코올 농도에서는 전혀 생육이 나타나지 않았으며, 8% 및 10% 알코올 농도에서는 무침가구에 비해, 각각 70% 및 40%의 생육도를 나타내어, 이 등 [16]이 보고한 시판 누룩으로부터 분리된 *Pediococcus pentosaceus* NR T-1, *Lactococcus lactis* NR C-1, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* NR K-3과 유사한 내 알코올성을 나타내었다. 그러나 최근 박 등 [18]이 하향주 누룩으로부터 분리, 보고한 *Lactobacillus plantarum* L-3, *L. curvatus* L-8, *L. sakei* L-10 보다는 강한 알코올 내성을 나타내었다. 이러한 결과는, 안동소주 발효후기에 젖산균의 급격한 감소가, 생성된 알코올 및 발효액의 낮은 pH에 기인하리라 추측되며, ADS-L1 젖산균은 주로 알코올 발효 초기에 오염균 억제 및 산미 증대에 관여하리라 판단된다.

분리 젖산균 ADS-L1의 발효 특성

분리 젖산균 ADS-L1의 MRS 액체 배지상의 발효 특성을 검토하였다. Fig. 4에 나타낸 바와 같이, 균체의 생육은 초기 10^4 CFU/ml에서 24시간 경과시 10^9 CFU/ml, 48시간 경과시 10^{11} CFU/ml로 급격하게 증대되었으며, 이후 급격하게 사멸되어 96시간 경과시 10^5 CFU/ml까지 감소하였다. 배양액의 pH는 초기 6에서 24시간 발효시 pH 4까지 감소하여 이후 유지되었으며, brix 역시 초기 6.0에서 서서히 감소하였다. 환원당의 경우에는 초기 2.34%에서 24시간 발효시 0.015%까지 감소하여 이후 검출되지 않았으며, 젖산의

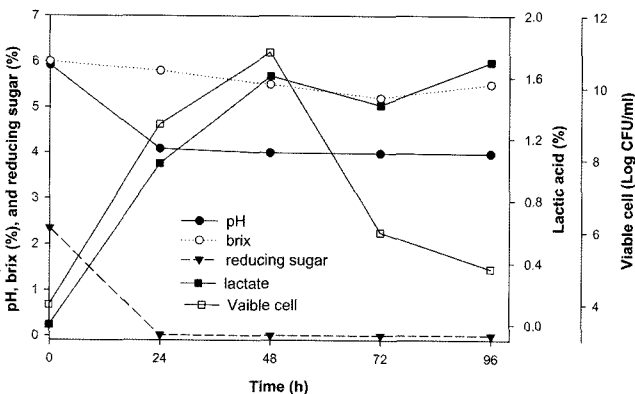


Fig. 4. Changes of pH, brix, reducing sugar content, lactic acid production, and cell growth during the cultivation of ADS-L1 in MRS broth.

경우에는 48시간 발효시 1.61%를 나타낸 후, 1.42%로 감소하였다가 다시 96시간 발효시 1.7%를 나타내었다. 따라서 48시간 발효 이후의 균체의 급격한 생육 감소현상은 젖산 생성 및 배지 산성화에 의한 생육감소보다는 배지내 탄소원 고갈에 따른 생육 저해로 판단되며, 균체의 사멸에 따라, 다시 젖산 발효가 이루어진 것으로 추측된다. 따라서 안동소주 발효시 누룩 곰팡이에 의해 고두밥의 전분이 충분한 양의 포도당으로 공급되는 조건에서는, ADS-L1 균주에 의해 빠르게 발효액의 pH가 산성화 되고, 지속적으로 낮은 pH를 유지하면서 초기 잡균의 오염을 막는 효과가 있을 것으로 판단되며, ADS-L1 균주는 안동소주의 맛과 향에도 기여하리라 추측된다. 현재 전래되는 안동소주 제조법의 보다 자세한 이해를 위해, ADS-L1 생육에 따른 안동소주 관능성의 변화, 항균효과에 의한 오염방지 및 안동소주 자가 제조 누룩 및 발효액 내에서의 젖산균의 역할에 대한 연구가 진행되고 있다.

요 약

민속주 안동소주 발효에 있어서, 젖산균의 영향 분석과 효율적 제어를 위해, 안동소주 자가 제조 누룩 및 알코올 발효액으로부터 젖산균을 분리하였다. 분리된 젖산균들 중 ADS-L1 균주가 가장 젖산 생성이 우수하였으며, 균체 집락의 특성으로 안동소주 자가제조 누룩 및 안동소주 발효액에서 우점종으로 판단되었으며, 생리, 생화학적 특성과 16S rDNA 염기배열 분석결과 *Pediococcus acidilactici*로 동정되었다. ADS-L1 균주는 40~50°C의 온도와 pH 5~7의 범위에서 우수한 생육을 보여, 최고온도가 50°C까지 상승하는 누룩 띄움 과정 및 pH 6의 안동소주 발효 초기의 주요 젖산균으로 판단되었다. 한편 12%(w/v)의 알코올 농도 및 0.01N HCl 처리시 낮은 생존율을 나타내어 안동소주 발효 진행에 따라 발효 후기에는 급격한 생육저해가 나타날 것으로 판단되었다. MRS 배지에서의 발효 특성 실험 결과, ADS-L1 균주는 충분한 탄소원이 존재시 24시간 이내에 발효액의 pH를 산성화하며, 지속적인 젖산 생성을 통해 발효액의 잡균오염 방지 등의 긍정적 효과를 나타내며, 발효 후기 10^5 CFU/ml 이하로 감소되어 안동소주 발효동안 별도의 문제를 유발하지 않을 것으로 판단되었다.

REFERENCES

- Ahn, D. K., T. W. Han, H. Y. Shin, I. N. Jin, and S. Y. Ghim. 2003. Diversity and antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 191-196.
- Bae, S. G. H. Fleet, and G. M. Heard. 2006. Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards. *J. Appl. Microbiol.* **100**: 712-727.

3. Bae, Y. D. 2006. The history and meaning of the production and consumption of Andong Soju. *Local History and Culture* **9**: 375-413.
4. Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.
5. Felsenstein, J. 1995. phylip (phylogenetic inference package) version 3.57c. Department of Genetics, University of Washington, Seattle, WA, USA.
6. Gao, L., H. Yang, X. Wang, Z. Huang, M. Ishii, Y. Igarahi, and Z. Cui. 2007. Rice straw fermentation using lactic acid bacteria. *Biores. Technol.* DOI: 10.1016/j.biortech.2007.07.001.(In press)
7. Ha, C. G., J. K. Cho, Y. G. Chai, and K. C. Heo. 2004. Isolation and identification of lactic acid bacteria containing superior activity of the bile salts deconjugation. *Kor. J. Food Sci. Ani. Resour.* **24**: 164-170.
8. Ha, M. Y., S. Y. Chung, and S. J. Kim. 2002. Isolation and characteristics of a homofermentative lactic acid bacterium. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **17**: 333-338.
9. Jackson C, R., P. J. Fedorka-Cray, and J. B. Barrett. 2004. Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 3558-3565.
10. Jo, K. Y., and D. M. Ha. 1995. Isolation and identification of the lactic acid bacteria from nuruk. *Agric. Chem. Biotechnol.* **38**: 95-99.
11. Jung, H. K., C. D. Park, H. H. Park, G. D. Lee, I. S. Lee, and J. H. Hong. 2006. Manufacturing and characteristics of korean traditional liquor, hahyangju prepared by *Saccharomyces cerevisiae* HA3 isolated from traditional nuruk. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **38**: 659-667.
12. Kim, I. H. and W. S. Park. 1996. Comparison of fermentation characteristics of korean traditional alcoholic beverage with different input step and treatment of rice and nuruk korean-style bran koji. *Kor. J. Dietary Culture.* **11**: 339-348.
13. Kim J. Y. and J. S. Koh. 2004. Screening of brewing yeasts and saccharifying molds for foxtail millet-wine making. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**: 78-84.
14. Kim, S. J., S. J. Ma, and H. L. Kim. 2005. Probiotic properties of lactic acid bacteria and yeasts isolated from korean traditional food, Jeot-gal. *Kor. J. Food Preserv.* **12**: 184-189.
15. Lane, D. J. 1991. 16S-23S rRNA sequencing. In *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, pp.125-175. Edited by E. Stackebrandt & M. Goodfellow. Chichester, Wiley.
16. Lee, J. H. and T. S. Yu. 2000. Identification and characteristics of lactic acid bacteria isolated from nuruk. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **15**: 359-365.
17. Lim, S., M. K. Jwa, C. Mok, Y. S. Park., and G. J. Woo. 2004. Changes in microbial counts, enzyme activity and quality of foxtail millet takju treated with high hydrostatic pressure during storage. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **36**: 233-238.
18. Park, C. D., H. K. Jung, H. H. Park, and H. H. Hong. 2007. Identification and fermentational characteristics of lactic acid bacteria isolated from hahyanju nuruk. *Kor. J. Food Preserv.* **14**: 188-193.
19. Pukall, R., E. Brambilla, and E. Stackebrandt. 1998. Automated fragment length analysis of fluorescently-labeled 16S rDNA after digestion with 4-base cutting restriction enzymes. *J. Microbiol. Methods* **32**: 55-64.
20. Saito, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406-425.
21. So, M. H., Y. S. Lee, and W. S. Noh. 1999. Changes in microorganism and main components during takju brewing by a modified nuruk. *Kor. J. Food Nutr.* **12**: 226-232.
22. Sohn, H.-Y., C.-S. Kwon, K.-H. Son, G.-S. Kwon, Y.-S. Kwon, H.-Y. Ryu, and E.-J. Kum. 2005. Antithrombosis and antioxidant activity of methanol extract from different brands of rice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 593-598.
23. Thomas, M. W., and K. M. Bhat. 1988. Methods for measuring cellulase activities. *Methods Enzymol.* **160**: 87-112.
24. Yu, C. H., S. Y. Hong, and J. S. Koh. 2002. Zymological properties of foxtail millet wine making by isolated strains from nuruk. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **45**: 138-144.

(Received Sep. 30, 2007/Accepted Nov. 2, 2007)