

충청지역 누룩에서 양조용 우수 곰팡이의 탐색 및 특성

백성열¹ · 윤혜주¹ · 최혜선¹ · 홍승범² · 구본성³ · 여수환^{1*}

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부, ²농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부
³농촌진흥청 국립농업과학원 농업생명자원부

Screening and Characteristics of Useful Fungi for Brewing from Commercial *Nuruk* in Chungcheong Provinces. Baek, Seong Yeol¹, Hye Ju Yun¹, Hye Sun Choi¹, Seung-Beom Hong², Bon-Sung Koo³, and Soo-Hwan Yeo^{1*}. ¹Department of Agro-food Resource, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853, Korea, ²Department of Agricultural Biology, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853, Korea, ³Department of Agricultural Biotechnology, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-853, Korea – Studies on standardization and quality upgrade of *nuruk* which is a basic component in brewing are required to increase the quality level of Korean traditional rice wines and to develop the technology for practical use of it. It is important to isolate best strains, to improve the properties and effectively preserve them for brewing industry. In this study, 16 commercial *nuruk* samples were obtained from the commercial markets located in Chungcheong areas in Korea. 174 fungal strains were isolated from the samples on DG18 medium using a dilution plating method and then screened for enzyme activity and acid production. The active strains were identified based on the morphological characteristics and ITS sequence analysis. Out of 174 strains, 12 strains showed high amylase activity. Especially, *Rhizopus* sp. CN084, CN174, *Aspergillus* sp. CN161 and *Mycocladius* sp. CN042 showed high saccharogenic power and dextrinogenic enzyme activity on cooked wheat bran medium. On the other hand, *Aspergillus* sp. CN010, CN161, *Rhizopus* sp. CN105, CN168 and *Rhizomucor* sp. CN088 produced high acid production on the same medium. Our results showed that the active strains may be used as microbial sources for *nuruk* starter with good quality in brewing.

Key words: *Nuruk*, fungi, enzyme activity, preservation, ITS sequence, PCR

서 론

최근 막걸리의 국내 소비뿐만 아니라 해외 수출도 크게 늘어나고 있는 상황에서 우리술인 막걸리 제조 방법이 한국 적이지 않다는 지적이 제기되고 있다[3]. 오늘날, 약·탁주 제조에 사용하는 발효제는 우리 고유의 전통 누룩임에도 불구하고 일본에서 개발한 입국과 양조용 종균을 수입하여 우리술을 제조하고 있는 현실이다. 이 문제를 해결하기 위해, 정부에서는 우리술 산업 경쟁력 강화방안의 일환으로 전통 누룩에서 우수 양조미생물을 발굴·보존하여 우리술의 품질 고급화에 노력하고 있다[2].

전통누룩은 고온 다습한 여름철에 자연적으로 곡물(밀)에 생육하는 다양한 미생물군(곰팡이, 효모 및 유산균)을 이용하여 제조한 것으로, 주로 밀을 원료로 만들어지며 저온에서 장기간에 걸쳐 다양한 미생물군에 의해 발효되며, 지역에 따라 옥수수, 보리, 대두, 귀리, 조 및 백미 등의 잡곡류가 사용되기도 한다[12, 18]. 또한, 누룩곰팡이의 전분분해효

소 작용으로 당화 효소제로서의 역할뿐만 아니라 효모 증식으로 알코올을 생산하는 역할까지 수행하는 병행발효로 전통 발효주에 향과 맛을 낸다[13].

누룩 미생물 연구는 누룩에서 분리한 황곡균의 특성[17, 22], 누룩미생물의 문헌적 고찰[23, 24], 한국 전통누룩에서 분리한 유용 곰팡이의 특성[11], 한국 재래식 누룩 중의 곰팡이의 분리 및 동정[8], 소곡주 공장의 공기로부터 곰팡이의 분리 및 동정[19], 효모 연구는 누룩으로부터 분리한 야생형 효모의 청주제조 가능성에 관한 연구[10], 전통 누룩에서 분리된 *Saccharomyces cerevisiae* HA3을 이용한 하향주의 제조 및 특성[9] 등 여러 연구가 보고되고 있으나 분리 균주 보존관리가 미흡하고, 산업적 활용성이 낮은 상태이다.

농가에서 전통방식으로 제조한 누룩에서 곰팡이, 효모 및 유산균 등 다양한 균총의 존재로 생산된 누룩 또한 비위생적이고 역가가 낮은 제품들이 시중에 유통되고 있다. 이와 같은 문제점을 해결하기 위해, 전통 누룩 제조법의 현대화 및 품질 표준화에 대한 체계적인 연구가 절실히 요구되고 있다.

본 연구에서는 전통주의 품질향상을 위하여 충청지역 누룩에서 생육하는 우수 균주를 분리·선발하고, 이들 균주의

*Corresponding author

Tel: 82-31-299-0580, Fax: 82-31-299-0554

E-mail: yeobio@korea.kr

미생물학적 특성 등을 검토하였다.

재료 및 방법

전통누룩의 수집

충청권역인 아산시 외 7개 시·군의 재래시장에서 시판되는 누룩과 농가에서 직접 제조한 누룩 16점을 수집하였다 (Table 1).

우수 곰팡이 탐색 및 분리

충청권에서 수집한 전통누룩 16점을 분리원으로 사용하였으며, 균 분리는 직접분리와 희석평판분리 두 가지 방법을 사용하였다.

균 분리는 누룩 표면의 서로 다른 균을 needle로 Malt extract agar (MEA: Malt extract 3%, Mycological peptone 0.5%, Agar 1.5%)배지에 접종하여 25°C에서 5일 동안 배양하여 서로 다른 균사를 순수 분리하였다.

분쇄한 누룩 10 g을 0.1% peptone 90 mL에 현탁한 후, 단계적으로 10^{-2} ~ 10^{-7} 배로 희석하였다. 희석액 100 μ L를 분리용 평판배지에 도말하여 25°C에서 5일간 배양한 후, 나타난 곰팡이 colony를 순수 분리하였다. Dichloran-glycerol agar (DG18 : Peptone 0.5%, Glucose 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, Dichloran (0.2% in ethanol) 1.0 mL, Chloramphenicol 0.01%, Agar 1.5%)배지와 Dichloran rose bengal chloramphenicol agar (DRBC: Peptone 0.5%, Glucose 1%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, Dichloran (0.2% in ethanol) 1.0 mL, Rose bengal 0.0025%, Chloramphenicol 0.01%, Agar 1.5%)배지를 사용하였다.

Table 1. Collection of commercial *Nuruk* in Chungchoeng provinces.

Sample No.	Collected place	Form	Size (mm)	Weight (g)
1	Asan-si 1	Powder	-	112
2	Asan-si 2	Powder	-	130
3	Asan-si 3	Powder	-	1,104
4	Cheongju-si	Tube	-	782
5	Boeun-gun 1	Round	$\text{O}198 \times 35$	862
6	Boeun-gun 2	Round	$\text{O}186 \times 32$	764
7	Jincheon-gun 1	Powder	-	486
8	Jincheon-gun 2	Round	$\text{O}160 \times 55$	823
9	Boeun-gun 3	Powder	-	248
10	Chungju-si	Round	$\text{O}175 \times 53$	968
11	Seocheon-gun	Round	$\text{O}270 \times 34$	1,672
12	Gongju-si 1	Round	$\text{O}188 \times 39$	909
13	Gongju-si 2	Round	$\text{O}160 \times 55$	726
14	Gongju-si 3	Powder	-	93
15	Gongju-si 4	Powder	-	132
16	Dangjin-gun	Powder	-	891

분리균의 배양

분리한 곰팡이 균주는 MEA 사면배지에 보존하였으며, 배양은 멸균수 3.5 mL를 첨가한 호화 밀기울 10 g에 포자 현탁액 (1.0×10^9 spores/mL) 300 μ L를 각각 접종하여 25°C에서 5~7일 배양하였다.

분리균의 형태학적 특성

순수 분리된 균주는 MEA, PDA 또는 OA배지 등에 접종하여 25°C에서 10일간 배양한 후, 균총의 형태와 색상, 균사의 특징 등을 관찰하였고 미세구조는 광학현미경 (Karl Zeiss, Axioskop A2)을 사용하여 균사 및 포자의 형태 등을 관찰하였다. 분리균의 형태적 동정은 The Identification of Fungi (Dugan, 2006)[20], Identification of common *Aspergillus* species (Klich, 2002)[15], Introduction to Food-and Airborne Fungi Seventh Edition (Samson *et al.*, 2004)[7] 및 Atlas of Clinical Fungi (de Hoog *et al.*, 2000)[6] 등의 서적을 참조로 하였다.

계놈 DNA 분리

순수 분리된 균주들을 MEB 배지에 균을 접종한 후 25°C에서 5일간 진탕배양하여 균사체를 수확하였다. 1.5 mL microtube에 수확한 균사체를 넣고 동결 건조하여 마쇄한 뒤 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany; 69106)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다.

PCR 증폭과 ITS rDNA 염기서열 분석

Nuclear rDNA 상에 존재하는 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA의 PCR 증폭을 위해, universal primer pairs는 ITS1F-ITS4 primer[14]를 사용하였다. PCR 조건은 95°C에서 pre-denaturation 4분 후에 95°C에서 denaturation 1분, 58°C에서 annealing 1분, 72°C에서 extension 2분을 설정하여 35회 반복하고 최종 72°C에서 7분간 extension하여 약 530~640 bp의 밴드를 증폭시켰다. PCR 산물의 염기서열 분석은 Solutions for Generic Technologies (Solgent) Co. Ltd.에 의뢰하였다.

계통도 분석

해독한 염기서열은 Lasergene사의 DNASTAR pro software (SeqMan Pro v7.0)를 이용하여 NJ 방법 (MEGA v4.0)으로 ITS 영역의 계통수를 작성하였으며, 1,000회의 bootstrap 분석을 통해 신뢰도를 평가하였다[16]. 충청지역 누룩에서 분리한 균주의 분류적 위치를 검토하기 위해, NCBI GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)의 염기서열을 획득한 후, 분리균과의 similarity를 분석하였다.

조효소액 조제

액화력(Dextrinogenic activity units, DU)측정은 배양체 2 g을 40 mM Na acetate buffer (pH 5.0) 10 mL에 현탁하여 25°C에서 1시간 진탕시킨 후, 8,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상등액을 조효소액으로 사용하였다. 당화력(Saccharogenic power, SP) 측정은 배양체 1 g을 1% NaCl용액 20 mL에 현탁하여 30°C에서 3시간 추출한 상등액을 사용하였다.

효소활성 측정

액화력(DU)은 40°C에서 5분간 예열한 1% 가용성 전분용액(0.4 M Na acetate buffer, pH 5.0) 2 mL를 기질용액으로 희석 효소액 0.1 mL를 넣고 40°C에서 30분간 반응시킨 후, 효소 반응액 0.1 mL에 0.00025 N 요오드 용액(0.0025 N KI) 10 mL를 가하여 670 nm에서 투과도(T%)를 측정하여 Wohlgemuth value으로 산출하였다[21].

당화력은 2% 가용성 전분용액을 기질로 하여 국제청 주류 분석규정[22] 및 일본 국제청 주류 분석규정[1]에 따른 glucoamylase 활성을 측정하여 비교하였다. 당화력은 기질용액을 55°C에서 1시간 효소반응시킨 후, 생성된 환원당의 양을 Lane-Eynone법[5]으로 측정하여 기질의 당화율이 15%되는 범위에서 당화율에 희석배수를 곱하여 산출하였다.

액화력 및 당화력의 단위는 누룩 혹은 배양체 1 g의 활성으로 표시하였으며, 각 sample은 3회 측정된 평균값으로 표기하였다.

산 생성능 분석

배양체 1 g을 1% NaCl 20 mL에 현탁한 후, 그 상등액을 pH meter로 측정하였고, 총산의 측정은 현탁액 10 mL에 대해 0.1% phenolphthalein 용액 2~3방울을 떨어뜨려 0.1N NaOH로 선흘색이 될 때까지 적정하였다.

결과 및 고찰

수집누룩의 특성

본 실험에 사용한 누룩은 충청지역 7개 시군의 재래시장과 농가에서 직접 제조한 누룩 16점을 수집하여 사용하였다. 수집 누룩의 형태는 Table 1에서와 같이 대부분이 원형과 분쇄형으로 시판되고 있었으며, 원형 누룩은 지름이 160 mm에서 270 mm, 두께는 32 mm에서 55 mm로 지역에 따라 크기가 다양하였다. 특히, 누룩의 크기와 두께는 발효시 영향을 미치는데 지름이 짧거나 두께가 얇으면 수분이 빨리 발산되어 누룩곰팡이 및 효모 생육이 충분히 이루어지지 않아 좋은 누룩을 만들 수 없다. 제대로 발효가 안된 누룩으로 술을 빚었을 때 향미가 좋지 못하다. 또한 두께가 너무 두꺼우면 발효시 수분 발산이 원활하지 않아 품온 조절이 어려울 뿐만 아니라 제조된 누룩의 내부는 진한 갈색으로 썩게 되어 고품질의 좋은 누룩을 만들 수 없다[4].

수집 누룩의 일반성분 및 효소학적 특성을 Table 2에 나

Table 2. General characterization of commercial Nuruk in Chungchoeng provinces.

Sample No.	pH	Acidity (0.1 N NaOH mL/10 mL)	Amino acidity	SP (units/g)
1	6.6	0.5	2.5	138
2	6.7	0.4	2.5	293
3	6.8	0.4	3.5	73
4	6.0	1.8	2.5	1,160
5	6.4	0.4	0.4	320
6	6.7	0.3	1.9	155
7	6.1	0.7	2.8	198
8	4.8	2.8	2.8	93
9	6.5	0.4	0.7	148
10	6.2	0.3	0.7	348
11	6.2	0.4	0.6	120
12	6.5	0.2	0.5	340
13	6.3	0.5	2.8	328
14	6.9	0.6	2.3	240
15	7.0	0.4	2.3	113
16	6.7	0.9	3.5	230

Symbols : 1 Asan-si 1, 2 Asan-si 2, 3 Asan-si 3, 4 Cheongju-si, 5 Boeun-gun 1, 6 Boeun-gun 2, 7 Jincheon-gun 1, 8 Jincheon-gun 2, 9 Boeun-gun 3, 10 Chungju-si, 11 Seoecheon-gun, 12 Gongju-si 1, 13 Gongju-si 2, 14 Gongju-si 3, 15 Gongju-si 4, 16 Dangjin-gun
SP : Saccharogenic power by Lane-Eynone.

타내었다. 누룩 추출물 pH는 대체로 6~7로 누룩간의 차이는 없었으며, 산도는 대체로 0.2~0.9 정도이나, 청주와 진천군 2에서 수집한 누룩의 산도는 1.8과 2.8로 높았다. 당화력의 경우, 청주에서 수집한 누룩 이외는 대체로 효소활성이 낮았으나, 그중에 보은 1, 충주, 공주 1, 2 누룩의 당화력은 320에서 348로 높았다. 4번 청주누룩은 외형이 튜브 형태로 당화력이 높은 점으로 보아 개량누룩으로 판단되어 본 실험에서 제외하였으며, 그 외 누룩은 대부분 당화력이 낮아 제품의 품질 표준화가 요구된다.

분리곰팡이의 속(Genus) 동정

시판누룩에서 분리한 균주들을 PDA, MEA 및 OA배지 상에서 형태를 현미경으로 관찰한 결과, 일반적으로 공기 중에 높은 빈도로 존재하는 *Aspergillus*와 *Rhizopus* 속의 곰팡이가 대부분이었다. 이들 균주를 대상으로 분자생태학적 동정을 실시하였다. 분리균의 ITS(Internal Transcribed Spacer) 영역 염기서열을 분석하였다. 액화력이 우수한 균주(CN084, CN105, CN168 및 CN174)는 계통도에서 *Rhizopus* sp., CN088은 *Rhizomucor* sp., CN032와 CN042는 *Mycocladius* sp.에 위치하였고, CN010, CN041, CN098 및 CN161은 *Aspergillus* sp.으로 분류되었다(Fig. 1). 보다 정확한 동정을 위해, 항후 β -tubulin과 elongation 1- α 등 유전자 분석과 18S rDNA 및 23S rDNA 분석이 병행되어야 할 것이다.

분리균주의 효소학적 특성

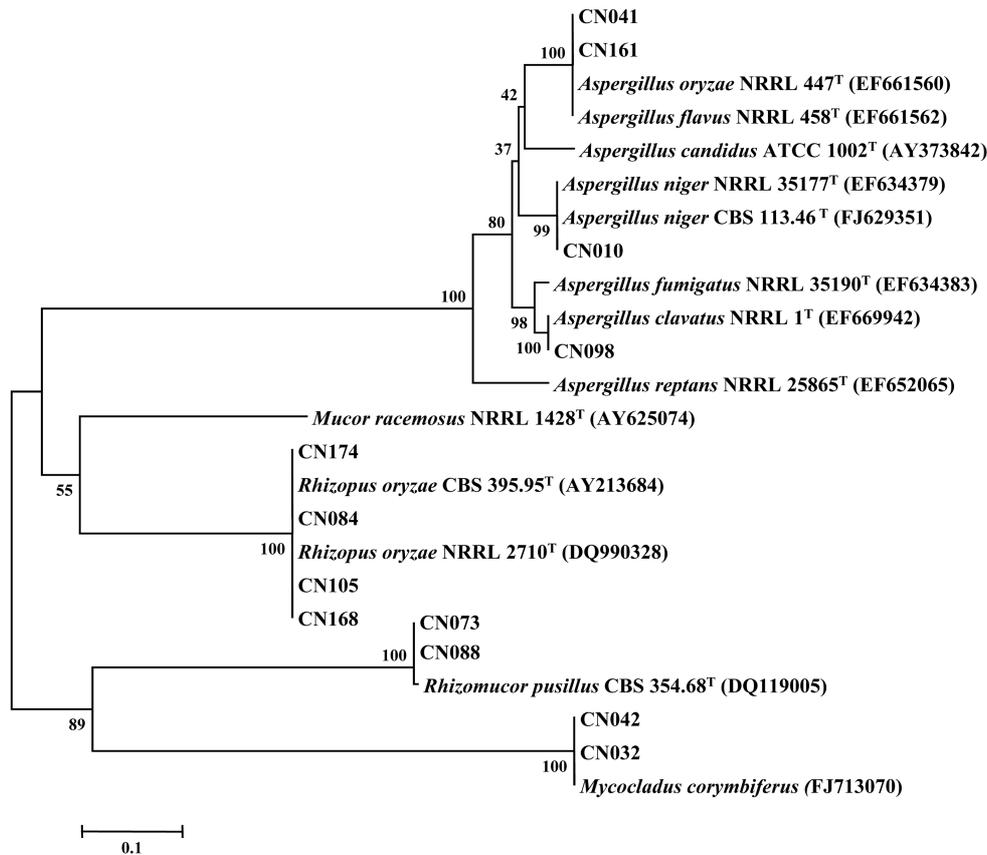


Fig 1. Phylogenetic tree of fungi isolated from commercial Nuruk. The tree was constructed from NJ analysis of ITS sequence. The numbers above the nodes represent bootstrap values (out of 1,000 bootstrap replication).

충청지역 시판 누룩에서 분리한 사상균을 대상으로 1차적으로 amylase 활성이 우수한 12 균주를 선발하였다(data not shown). 이들 균주의 액화력과 당화력 등의 효소활성을 Table 3에 나타내었다.

분리 균주의 액화력을 분석한 결과, *Rhizopus* sp. 3균주 (CN073, CN084, CN174), *Aspergillus* sp. 2균주(CN041, CN161)와 *Mycocladius* sp. 2균주(CN032, CN042)의 액화력이 양호하였으며, 당화력은 *Rhizopus* sp. 3균주(CN084, CN105, CN174)와 *Aspergillus* sp. 1균주(CN161), *Mycocladius* sp. 1균주(CN042)가 양호한 결과를 보였다(Table 3). 액화력과 당화력이 모두 우수한 균주로서는 *Rhizopus* sp.의 CN084, CN174, *Aspergillus* sp.의 CN161와 *Mycocladius* sp. CN042로 나타났다. *Rhizopus* sp. CN174는 호화밀기울 배지에서 액화력과 당화력이 382 units 및 2,028 units/g, *Aspergillus* sp. CN161은 414 units 및 1,400 units/g, *Mycocladius* sp. CN042는 397 units 및 1,480 units/g의 효소 활성도를 나타내었다.

Kim 등[11]의 연구에서 분리균의 단일배양에 따른 액화력 및 당화력에서 액화력은 100~735 units/g, 당화력은 342~2,610 units/g의 효소활성 보고와 본 연구결과와 유사하였다. 효소 활성능이 우수한 *Rhizopus* sp. CN084, CN174, *Asper-*

gillus sp. CN161와 *Mycocladius* sp. CN042 등 4균주는 Table 2의 당화력보다 우수한 것으로 보아 누룩제조용 곰팡이로 적합하다고 사료된다.

Table 3. Dextrinogenic and saccharogenic activity on single culture of selected high amylase producing fungi.

Isolated strains	DU (units/g)	SP (units/g)
CN010 <i>Aspergillus</i> sp.	358	760
CN032 <i>Mycocladius</i> sp.	445	1,160
CN041 <i>Aspergillus</i> sp.	421	1,120
CN042 <i>Mycocladius</i> sp.	397	1,480
CN073 <i>Rhizomucor</i> sp.	394	1,600
CN084 <i>Rhizopus</i> sp.	383	1,960
CN088 <i>Rhizomucor</i> sp.	344	880
CN098 <i>Aspergillus</i> sp.	361	880
CN105 <i>Rhizopus</i> sp.	373	1,680
CN161 <i>Aspergillus</i> sp.	414	1,400
CN168 <i>Rhizopus</i> sp.	414	1,320
CN174 <i>Rhizopus</i> sp.	382	2,028

Symbols : DU; Dextrinogenic activity by Wohlge-muth value, SP; Saccharogenic power by Lane-Eynone
Each strain was cultivated at 28°C for 7 days.

Table 4. Productivity of acid on single culture of selected high amylase producing fungi.

Isolated strains	pH	Acidity (0.1 N NaOH mL/10 mL)
CN010 <i>Aspergillus</i> sp.	3.93	4.71
CN032 <i>Mycocladus</i> sp.	5.82	2.09
CN041 <i>Aspergillus</i> sp.	5.68	2.01
CN042 <i>Mycocladus</i> sp.	6.05	1.71
CN073 <i>Rhizomucor</i> sp.	5.64	2.46
CN084 <i>Rhizopus</i> sp.	5.81	2.35
CN088 <i>Rhizomucor</i> sp.	5.20	2.77
CN098 <i>Aspergillus</i> sp.	5.64	1.83
CN105 <i>Rhizopus</i> sp.	5.50	1.57
CN161 <i>Aspergillus</i> sp.	5.31	2.90
CN168 <i>Rhizopus</i> sp.	5.53	2.50
CN174 <i>Rhizopus</i> sp.	5.64	2.49

분리균주의 산 생성능

일반적으로 누룩을 사용하는 발효과정에서 이상발효 및 잡균의 오염방지를 위해, 산 생성능이 높은 곰팡이가 필요하다. 충청지역에서 분리한 12균주의 산 생성능을 조사하였다. 시판누룩의 pH는 6.0~7.0 정도인 점을 고려할 때, Table 4에서와 같이 *Aspergillus* sp. CN010과 CN161 균주의 산도는 각각 4.71, 2.9이었으며, *Rhizopus* sp. CN105와 CN168 균주는 1.57, 2.5, *Rhizomucor* sp. CN088 균주는 2.77의 산도를 나타내었다.

Kim 등[11]의 연구에서 산 생성능이 우수한 *Aspergillus* sp.에서는 2.0에서 8.4사이, *Rhizopus* sp.에서는 5.0으로 보고되어 있어 몇몇 균주를 제외하고는 본 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

요 약

우리술의 주질개선 및 현장 실용화기술을 개발하기 위해 술 담금의 기본재료인 누룩의 규격화 및 품질향상 연구가 필요하다. 이와 같은 요구에 부응하기 위해, 누룩에 생육하는 우수 양조미생물의 분리·발굴, 균주개량 및 보존관리 등 우리 고유의 양조미생물 자원을 확보하고 활용함으로써 다양한 종류의 누룩 제조가 가능할 것으로 여겨진다. 따라서, 본 연구는 충청지역에서 시판되고 있는 누룩을 수집하여 희석 평판배양법으로 174개 균주를 분리하여 효소활성 검정을 통하여 효소 활성이 높은 균주를 다수 분리하였다. 분리된 곰팡이를 대상으로 액화력 및 당화력 등의 효소학적 특성을 조사하였고, 선별된 활성균주의 동정을 위해 genomic DNA상의 ITS(Internal Transcribed Spacer) 부위의 염기서열을 분석한 결과 *Aspergillus* sp.(4균주), *Rhizopus* sp.(4균주), *Rhizomucor* sp.(2균주), *Mycocladus* sp.(2균주)으로 동

정되었다. 밀기울을 사용한 고체배양에서 액화력, 당화력 및 산 생성능을 검토한 결과, *Rhizopus* sp. CN084, CN174, *Aspergillus* sp. CN161와 *Mycocladus* sp. CN042 균주가 효소활성이 높은 것으로 나타났으며 *Aspergillus* sp. CN010, CN161, *Rhizopus* sp. CN105, CN168 균주와 *Rhizomucor* sp. CN088 균주는 산 생성능이 우수한 것으로 나타났다. 따라서 이들 균주가 양조를 위한 누룩의 원료 균주로서 사용될 경우 단일 누룩제조가 가능할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국가연구개발사업(과제번호: PJ006764)의 지원에 의해 이루어진 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. 국제청기술연구소. 2008. 주류분석규정 (7차 개정), 서울, pp. 12-15.
2. 김종실. 2009. 우리술 산업 경쟁력 강화방안. 전통주 산업 진흥 및 명품화 전략을 위한 세미나. 한국전통주진흥협회. pp. 5-24.
3. 박록담. 2009. 만인의 술이야. 전통주 산업 진흥 및 명품화 전략을 위한 세미나. 한국전통주진흥협회. pp. 25-33.
4. 박록담, 전경례, 안계희, 심유미, 김소현, 김유미, 최원. 2005. 한국의 전통명주④ 버선발로 디딘 누룩. 코리아쇼케이스. pp. 26-28.
5. 주현규, 조광연, 박충균, 조규성, 채수규, 마상조. 1995. 식품분석법. pp. 290-293.
6. de Hoog, G., S. J. Guarro, J. Gene, and M. J. Figueras. 2000. Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmeltcultures, Utrecht, The Netherlands.
7. Dugan, F. M. 2006. The Identification of fungi; an illustrated introduction with keys, glossary and guide to literature. APS Press, St. Paul. Minnesota, U.S.A.
8. Jo, G. Y. and C. W. Lee. 1997. Isolation and identification of the fungi from Nuruk. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **26**: 759-766
9. 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. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**: 659-667
10. Kim, H. S., J. S. Hyun, J. Kim, H. P. Ha, and T. S. Yu. 1997. Characteristics of useful fungi isolated from traditional Korean Nuruk. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **26**: 767-774
11. 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. *Korean J. Dietary Culture.* **11**: 339-348
12. Kim, M. J. 2002. The study about traditional Nuruk. *Korean J. Food Sci Technol.* **9**: 324-329.

13. Kim, H. R., S. H. Baek, M. J. Seo, and B. H. Ahn. 2006. Feasibility of *Cheonghju* Brewing with Wild Type yeast strains from *Nuruks*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **34**: 244-249.
14. Kim, S. H., A. Uzunovic, and C. Breuil. 1999. Rapid detection of *Ophiostoma piceae* and *O. querqus* in stained wood by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**: 187-190.
15. Klich, M. A. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
16. Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief Bioinform.* **5**: 150-163.
17. Lee, S. S., D.H. Park, S. K. Seong, and J. Y. Yoo. 1997. Studies on the fungal isolates (*Aspergillus* species) inhabiting at the cereals in Korea. *Korean, J. Mycology.* **25**: 35-45.
18. Ministry of Science and Technology. 1998. Industrialization and quality improvement of traditional alcoholic beverages and *Nuruk* brewed. Reports of Ministry and Science and Technology, Korea, pp. 89-100.
19. Park, J. E., Y. J. Jeon, J. H. Kim, and S. H. Kim. 2008. Isolation and identification of filamentous fungi from indoor air of a Sogokju traditional rice wine factory. *Korean J. Mycology.* **36**: 1-8.
20. Samson, R. A., E. S. Hoekstra, and J. C. Frisvad. 2004. Introduction to Food-and Airborne Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
21. The Brewing Society of Japan 1993. The Annotation of the official method of analysis of the National Tax Administration Agency. 4th ed., Tokyo, pp. 218-226.
22. Yu, K. W., S. K. Seong, S. S. Lee, and J. Y. Yoo. 1996. Studies on the fungal isolates of mucorales collected from Korean home made Mejus and Nuluks. *Korean, J. Mycology.* **24**: 280-292.
23. Yu, T. S., H. S. Kim, J. Hong, H. P. Ha, T. Y. Kim, and I. H. Yoon. 1996. Bibliographical Study on Microorganisms of *Nuruk* (Until 1945). *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**: 170-179.
24. Yu, T. S., J. Kim, H. S. Kim, J. S. Hyun, H. P. Ha, and M. G. Park. 1998. Bibliographical Study on Microorganisms of traditional Korean *Nuruk* (Since 1945). *J. Korean Soc. Food Nutr.* **27**: 789-799.

(Received Sep. 20, 2010/Accepted Oct. 26, 2010)