

## 전통누룩으로부터 막걸리용 효모의 선별 및 최적 배양조건

강향린 · 이애란 · 권영희 · 김재호 · 김혜련 · 안병학\*

한국식품연구원 우리술연구센터

### Optimization of Culture Conditions for the Yeast and Analysis of Qualities of *Makgeolli* Brewed with the Yeast Isolated from Korean Traditional Nuruk

Hyang-Rin Kang, Ae-Ran Lee, Young-Hee Kwon, Jae-Ho Kim, Hye-Ryun Kim and Byung-Hak Ahn\*

Korean Alcoholic Beverage Research Center, Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

(Received 16, November 2012., Revised 29, November 2012., Accepted 30, November 2012)

**ABSTRACT:** In this study, a novel yeast, Y111-5 for *Makgeolli* manufacture was selected from *Nuruk* yeasts, and its optimal culture condition were investigated. The Y111-5 strain was identified as *Saccharomyces cerevisiae* by phylogenetic analysis of 18S RNA sequence. The maximal growth was obtained when the yeast was cultivated at 30°C for 15 h in the medium containing sucrose 9% and yeast extract 5%.

**KEYWORDS :** Carbon source, Dry yeast, *Makgeolli*, Nitrogen source, *Nuruk*, Optimization of cultivation

## 서 론

막걸리는 오랜 기간 우리의 삶과 함께 하였으며 1960년대 전체 주류의 70% 이상의 점유율을 갖고 있던 막걸리 시장이 맥주, 와인 등의 서양 주류 등의 수입으로 1990년대 들어 10% 이하의 부진한 점유율을 유지하다가 지난 2009년에 7.82%, 2011년 상반기에는 12%로 점차 증가하는 추세를 보이고 있다. 이러한 증가추세를 보이던 막걸리 시장은 2012년 9월 수출액이 전년 동기 대비 28%감소하였다. 수출 감소의 이유로는 일본에 진출한 일부 막걸리 제조업체들이 저가 수입쌀을 사용해 한국 막걸리에 대한 가치까지 하락시키고 제조과정에서 알코올 수득률 향상을 통한 원가절감에만 관심이 있다.

외국산 주류와 경쟁력이 있는 우리 술을 개발하기 위해서는 주류제조에 있어 원천 자원인 우수 발효미생물의 탐색, 확보 및 개량 등의 중점에 관한 연구가 필수적이다. 2009년 막걸리시장의 활성화에 부흥해 막걸리의 유리당, 아미노산, 유기산 등의 맛 성분에 관한 보고(Lee *et al.*, 1987; Hong *et al.*, 1970), 부원료 첨가에 의한 막걸리의 품질증진 효과에 대한 연구(Kim *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2011), 막걸리의 항암효과에 대한 연구(Shin *et al.*, 2008), 그 외에도 휘발성 향기성분(Lee *et al.*, 2000), 개량누룩의 사용에 의한 막걸리의 품질개선(Lee *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2010)등 다양한 연구가 보고되고 있으나 원료, 발

효제(입국, 누룩, 조효소제), 효모 등이 고려된 막걸리산업 발전을 위한 기반연구는 미흡한 실정이다. 현재 국내 막걸리 시장은 각 기업 내에서 자체 보유 효모를 사용하고, 대부분은 효모생산 업체에서 생산하는 동일한 양조효모를 사용함으로써 막걸리의 특성이 유사하게 되고 있다(Kim and Ahn, 2012).

본 연구에서는 막걸리의 품질을 안정화하고 고급화하기 위한 방법으로 막걸리 담금 시 첨가되는 발효제로 입국, 누룩, 조효소제 중 입국에 따른 적합한 효모 탐색과 효모의 대량 생산을 위해 최적 배양조건을 확립하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용된 입국(koji)은 (주)서울장수에서 구입하여 사용하였고, 효모는 한국식품연구원 우리술 연구센터에서 누룩으로부터 분리하여 보존하고 있는 균주 중 알코올 발효성이 우수한 균주 10종(Y30-4, Y64-5, Y111-5, Y113-5, Y113-7, Y113-9, Y140-5, Y192-4, H3-7, H4-3)을 선발하여 사용하였고, 쌀은 철원 오대쌀을 사용하였다.

### 균주 동정

균주의 동정에는 미생물 동정에 주로 사용되고 있는 18s RNA sequencing 방법을 이용하여 실시하였다. 동정은 sequencing 전문 기관인 '마크로젠'에 의뢰하여 진행하였다.

\*Corresponding author <E-mail : bhahn@kfri.re.kr>

### 배양방법 및 최적 배양조건

중균배지는 2.0%(w/v) glucose, 1.0%(w/v) yeast extract, 2.0%(w/v) Bacto-peptone을 사용하여 30°C, 120 rpm으로 24시간 동안 진탕 배양하였다. 본 배양배지는 3.0%(w/v) glucose, 1.0%(w/v) yeast extract, 2.0% Bacto-peptone, 0.1%(w/v) MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O와 0.5%(w/v) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 6.0) 사용하였다. 본 배양은 중균 배양액을 2.0%로 접종하여 shaking incubator에서 30°C, 120 rpm으로 배양하였다. 최적 배양조건에 사용된 시약은 glucose, fructose, sucrose, high fructose syrup (DAESANG, Korea), molasses (EVER MIRACLE, Korea) 등의 탄소원 시약을 3,6,9%로 설정하였고 yeast extract(Difco, USA), Bacto-peptone(Difco, USA), urea, casein, tryptone (Difco, USA), ammonium nitrate, ammonium sulfate등의 질소원 시약을 1,3,5%로 설정하였고, 별도의 표기가 되어 있지 않은 시약은 Sigma-ALDRICH, 시약을 사용하였다 (Kim *et al.*, 2006; Song and Kim, 2002).

선별된 최적 배지와 본 배양배지를 진탕배양하며 3시간 간격으로 흡광도를 통한 생육정도 및 건조 균체량을 측정하였다.

### 건조균체량의 측정

본 배양배지에 배양한 분리 균주를 shaking incubator에서 30°C, 120 rpm으로 24시간 동안 배양 후 배양액을 3,000 × g에서 10분간 원심분리 하였다. 분리된 균체를 증류수로 1회 세척하고 80°C에서 24시간동안 항량이 될 때까지 건조시킨 후 각각 균체의 무게를 달리하여 취하고 증류수에 현탁 시킨 후 UV/VIS spectrophotometer (Diod-Array) HP 8453(Hewlett Packard, Palo-alto, USA)를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정한 표준곡선으로부터 배양액의 건조 균체량을 측정하였다(Park and Ok, 2003).

### 막걸리 담금

건조생산 된 효모와 입국을 사용하여 막걸리를 제조하였으며, 입국의 첨가비율은 30 sp/g이었다. 급수량은 200%이고 효모는 쌀 양의 0.5%를 1단에 첨가하였으며 발효는 25°C에서 이루어졌다. 발효가 끝난 원주는 120 mesh의 체를 사용하여 제정하였다.

### 일반 성분 분석

알코올 함량은 DB-ALC2 column(30 m × 0.53 mm I.D. × 2 μm film thickness: J & W Scientific, Folsom, CA, USA) 이 장착된 GC(6890N, Hewlett Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 oven 70°C, injector 200°C 그리고 detector 250°C에서 정량 분석하였다. pH와 고형분 함량은 각각 pH meter(HORIBA D-51, HORIBA Ltd., Kyoto, Japan)와 당도계(ATAGO Pocket PAL-1, ATAGO Co., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다. 총산은 시료 10 mL에 phenolphthalein 지시약 2-3 방울을 가하여 표준 후탈산수소칼륨으로 표정한 0.1 N NaOH 용액으로 담녹색을 나타낼 때까지의 적정 mL수를 acetic acid로 나타내었다(Liquor manufacture textbook, 2010). 환원당은 Dinitrosalicylic acid(DNS) Method에 따라 UV/VIS spectrophotometer (Diod-Array) HP 8453(Hewlett Packard, Palo-alto, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하고 표준물질 glucose(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 농도별로 제조하여 표준곡선과 비교하여 정량하였다 (Miller, 1959; JSBA, 1993).

## 결과 및 고찰

### 효모선발

막걸리 제조 시 입국과 함께 사용할 균주를 선별하기 위해 본 연구원내의 알코올 발효능력이 뛰어난 10균주를

**Table 1.** Chemical contents of *Makgeolli* brewed with various yeast strains isolated from traditional *Nuruk*

Yeast	Alcohol (%)	pH	Total acidity (%) <sup>1)</sup>	°Bx	Reducing sugar <sup>2)</sup>	Sensory properties
control	11.8	3.57	0.46	9.0	8.1	weak flavor, bitter
30-4	12.9	3.55	0.52	9.1	9.1	alcohol, sour, bitter
64-5	14.8	3.62	0.41	9.6	7.2	savory, sweet, sour, bitter
89-2-3	11.4	3.53	0.59	8.9	9.7	ferment, sour, bitter
107-1	12.8	3.50	0.58	13.8	37.3	sweet flavor, Astringent, weak taste
111-5	12.7	3.52	0.57	13.7	34.9	Astringent, sour, bitter
113-9	14.7	3.57	0.50	9.3	9.2	sweet, sour, weak taste
140-5	13.8	3.40	0.62	9.6	8.0	sour, bitter, weak flavor
193-5	11.1	3.43	0.65	13.7	33.7	sweet, alcohol, sour, bitter
291-10	11.8	3.43	0.68	10.7	21.6	alcohol, sour, bitter, Astringent
H3-7	12.4	3.50	0.62	9.0	10.2	ferment, fruit taste, sour, sweet
H4-3	12.2	3.51	0.59	8.9	8.6	medicine flavor, sour, sweet

<sup>1)</sup>%, Total acid contents described as acetic acid.

<sup>2)</sup>mg/mL.

**Table 2.** Organic acid contents of *Makgeolli* brewed with various yeast strains isolated from traditional *Nuruk*

Yeast	Oxalic	Malic	Lactic	Acetic	Citric	Succinic
control	0.00 <sup>1)</sup>	0.18	0.42	1.07	2.30	0.06
30-4	0.00	0.31	1.13	0.92	2.47	0.10
64-5	0.00	0.02	0.75	0.09	3.10	0.16
89-2-3	0.00	0.09	0.13	0.02	4.01	0.16
107-1	0.08	0.02	0.78	0.20	3.21	0.13
111-5	0.04	0.02	0.62	0.23	3.29	0.12
113-9	0.00	0.20	0.24	0.23	2.41	0.16
140-5	0.00	0.07	0.65	0.48	3.48	0.17
193-5	0.00	0.04	0.18	0.21	3.30	0.08
291-10	0.01	0.02	0.32	0.36	4.50	0.10
H3-7	0.00	0.16	0.71	0.34	3.99	0.20
H4-3	0.03	0.13	0.31	0.02	3.53	0.19

<sup>1)</sup>mg/mL.

대상으로 1.5 L용량의 막걸리를 제조하여 25°C에서 5일간 발효 시킨 후 알코올과 유기산 함량, 맛과 향의 관능특성을 중심으로 평가하였다(Table 1). 알코올 함량 11.1~14.8%를 나타내었고 Y64-5를 사용한 막걸리가 14.8%로 가장 높게 나타났다. 각각의 막걸리 pH는 발효진행 상황과 알코올 생성정도를 짐작할 수 있는 중요한 지표가 되는데(Song *et al.*, 1997) 본 실험의 pH는 3.40~3.62 수준으로 나타났다. 당도는 8.9~13.8의 수준을 보였고 대부분이 완전 발효가 일어나지 않아 당분이 높게 나타나고 알코올 발효가 더디게 일어났음을 확인하였다. 알코올 발효의 기질로 이용되고 감미도에 영향을 주는 중요한 성분이며(Park and Lee, 2002) 산미, 감칠맛 등과 조화되어 막걸리의 독특한 맛에 기여하는(Lee and Lee, 2000) 환원당 함량은 7.2~37.3 mg/mL로 일반막걸리에 비해 낮은 값을 나타냈다. 총 6종의 분석한 유기산 함량은 Table 2에 나타내었다. 상큼한 신맛을 내는 citric acid 함량이 2.41~4.50 mg/mL으로 전체적으로 높게 나타났다. So 등(1999)은 입국제조 시 *Aspergillus kawachii*에 의해 구연산이 생산된다고 보고한 바 있어 입국 사용 유·무 및 사용량에 따른 차이로 생각된다. 그 중에서도 Y291-10 사용 막걸리가 4.50 mg/mL로 가장 높은 함량을 보였다. Lactic acid는 Y30-4 사용 막걸리가 1.13 mg/mL로 높게 나타났고 나머지 막걸리에서는 1.00 mg/mL 미만의 수준을 보였다. 유기산들은 막걸리에서 미량 존재할 경우 막걸리의 맛과 향을 높이는 역할을 한다. Succinic acid는 전체적으로 0.08~0.20 mg/mL 함량으로 나타났고 malic acid는 0.02~0.31 mg/mL 함량을 보였다.

탄산미가 조화를 이뤄 기호도가 제일 높은 막걸리를 생산한 Y111-5균주를 최종 우수 효모로 선발 하였다. 한편 Y111-5 효모의 18S RNA 염기서열 분석을 통한 분자생물학적 동정 결과 *Saccharomyces cerevisiae*이었다.

## 균 생육 최적 조건

### 탄소원

선정균주의 생육에 미치는 탄소원의 영향을 검토한 결과는 Table 3과 같다. glucose와 high fructose syrup의 경우 첨가량이 3,6,9%로 증가함에 따라 건조 균체량 또한 2~3 g/L씩 증가하는 경향을 보였으며, fructose와 sucrose는 첨가량이 6%에서 9%로 증가하여도 건조 균체량은 2 g/L 미만으로 증가하는 것으로 나타났다. Molasses의 경

**Table 3.** Effect of carbon sources on cell mass production

Medium	Growth	Dry cell	Ratio(%)
Blank	0.251 <sup>1)</sup>	1.86 <sup>2)</sup>	-
Control	1.174	6.33	-
Glucose	3 <sup>3)</sup> 1.174	6.33	100 <sup>3)</sup>
	6 1.824	9.48	150
	9 2.371	12.13	192
	3 1.538	8.09	128
Fructose	6 2.139	11.00	174
	9 2.48	12.65	200
	3 1.579	8.29	131
Sucrose	6 2.213	11.36	179
	9 2.517	12.83	203
	3 1.317	7.02	111
H.F.S <sup>4)</sup>	6 1.887	9.78	155
	9 2.152	11.06	175
	3 1.071	5.83	92
Molasses	6 1.419	7.52	119
	9 1.765	9.19	145

<sup>1)</sup>Absorbance at 660 nm.<sup>2)</sup>g/L.<sup>3)</sup>%.<sup>4)</sup>High Fructose Syrup.

우 균체량의 증가 경향은 glucose와 high fructose syrup 과 유사한 경향을 보였으나 생육도 및 건조 균체량이 다른 탄소원을 첨가한 배지에 비하여 가장 적게 나타났다. Y111-5균주의 생육에 적합한 탄소원은 sucrose, fructose, glucose, high fructose syrup, molasses 순으로 나타났다.

**질소원의 선정**

선정균주의 생육에 미치는 탄소원의 영향을 검토한 결과는 Table 4와 같다. Y111-5는 yeast extract 와 tryptone 의 첨가량과 건조 균체량은 비례하는 것으로 나타나 5% 첨가 시 각각 13.82, 12.54 g/L을 보였으나, Bacto-peptone 의 경우 3%에서 건조 균체량이 11.50 g/L로 최대치를 나타내어 그 이상의 첨가는 균체의 생육에 저해가 되는 것을 알 수 있었다. Urea를 1% 첨가한 경우 건조 균체량은 11.85 g/L를 나타내었으나 1%를 초과하는 3.5%를 첨가한 경우엔 급격히 감소하여 생육에 도움이 되지 못하는 것을

**Table 4.** Effect of nitrogen sources on cell mass production

Medium	Growth	Dry cell	Ratio(%)
Blank	0.319 <sup>1)</sup>	2.19 <sup>2)</sup>	-
Control	2.591	13.19	-
1 <sup>3)</sup>	2.190	11.25	85 <sup>3)</sup>
Y.E. <sup>4)</sup>	3	2.685	13.65
5	2.721	13.82	105
1	1.862	9.66	73
B.P <sup>5)</sup>	3	2.242	11.50
5	2.043	10.54	80
1	2.315	11.85	90
Urea	3	0.021	0.74
5	0.035	0.81	6
1	2.485	12.68	96
Casein	3	2.345	12.00
5	2.432	12.42	94
1	2.125	10.93	83
Tryptone	3	2.362	12.08
5	2.456	12.54	95
0.1	0.533	3.23	24
A.N. <sup>6)</sup>	0.3	0.592	3.51
0.5	0.464	2.89	22
0.1	0.607	3.58	27
A.S. <sup>7)</sup>	0.3	0.646	3.77
0.5	0.766	4.35	33

<sup>1)</sup> Absorbance at 660 nm.

<sup>2)</sup> g/L.

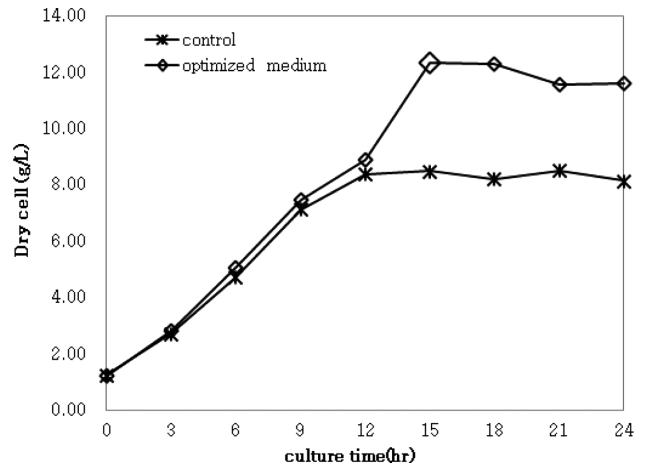
<sup>3)</sup> %.

<sup>4)</sup> Yeast Extract.

<sup>5)</sup> Bacto-peptone.

<sup>6)</sup> Ammonium nitrate ((NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>).

<sup>7)</sup> Ammonium sulfate ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).



**Fig. 1.** Comparison of Growth rate of Y111-5 grown in control medium(◇) and optimized medium(\*), respectively.

알 수 있었으며 casein의 첨가는 12.00~12.68 g/L 수준의 건조 균체량을 보였으나 control 배지에서의 양보다 적은 것으로 나타났다. 무기질소원의 경우 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>가 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>에 비하여 생육에 도움이 되는 것을 알 수 있었으며 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>는 첨가량이 0.3%가 초과되는 경우 생육이 저해 되는 것으로 나타났다.

**배양시간의 선정**

Y111-5균주의 배양 시간에 따른 건조 균체량은 배양 3시간 이후부터 최적배지에서 배양한 균이 control에서 배양한 균에 비하여 그 양이 많아지기 시작하여 배양 15시간에 12.34 g/L로 최대치를 나타내었다. control 배지에서 배양한 균은 배양 12시간 이후부터 24시까지 8.14~8.52 g/L를 나타낸 반면 최적배지에서 배양한 균은 배양 12시간에 15시간 사이에 생육이 급격히 증가하였으며 그 후 조금씩 감소하기는 하였으나 24시간까지 건조 균체량은 11.55~12.34 g/L을 나타내었다. 이상의 결과 111-5 균주의 최적 배지에서의 배양시간은 15시간이 가장 적합한 것으로 나타났다(Fig. 1).

이상의 결과 *S. cerevisiae* Y111-5의 생육최적 배양조건으로 배지조성은 sucrose 9%, yeast extract 5%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5%와 배양시간은 15시간이었다.

**막걸리의 제조 및 양조 적성 비교**

선정된 최적배지에서 배양된 효모는 Fig. 2와 같고, 이를 이용한 막걸리의 특성은 Table 5에 나타내었다. 발효 최종 알코올 함량은 15.2%로 control에 비하여 높았으며 환원당은 13.18 mg/mL로 낮아 발효가 활발하게 일어났음을 알 수 있었다. 총산은 Y111-5 사용 막걸리가 control 사용 막걸리보다 0.86%로 약 2배 많은 값을 나타냈다. 유기산 함량의 경우 총 6종의 유기산을 분석하였고 그 결과 lactic acid와 succinic acid가 control에 비해 Y111-5 사용

**Table 5.** Chemical contents of *Makgeolli* brewed with control yeast and Y111-5

Yeast	Alcohol (%)	pH	Total acidity (%) <sup>1)</sup>	°Bx	Reducing sugar <sup>2)</sup>
control	11.8	3.57	0.46	9.0	8.1
111-5	15.2	3.63	0.86	9.6	13.2

<sup>1)</sup>%, Total acid contents described as acetic acid.

<sup>2)</sup>mg/mL.

**Table 6.** Organic acid contents of *Makgeolli* brewed with control yeast and Y111-5

Yeast	oxalic	malic	Lactic	acetic	citric	Succinic
control	0.00 <sup>1)</sup>	0.18	0.42	1.07	2.30	0.06
111-5	0.19	0.30	1.48	0.94	1.56	2.14

<sup>1)</sup>mg/mL.

**Fig. 2.** Dry yeast manufactured by Spray Dryer(Y111-5).

막걸리가 월등히 높게 나타났다. 담금 후 젖산균의 발효 작용으로 젖산 함량이 증가되는 것으로 추측되며 모든 막걸리에서 lactic acid와 succinic acid는 유기산 중 가장 많은 함량을 차지하여 막걸리의 주 유기산으로 나타났다 (Lee and Lee, 2000; Song, 1998)는 보고와 대체로 일치하였다 (Table 6). 본 실험을 토대로 추후 발효제 중 막걸리 제조에 사용되는 누룩 및 조효소제와의 사용이 적합한 효모선발에 관한 연구를 진행하고자 한다.

## 적 요

전통누룩으로부터 분리한 효모 중 입국을 발효제로 사용하여 담금 막걸리의 양조적성을 확인하였다. 그 첫 단계로 본 연구원에서 보유하고 있는 알코올 발효 효모로 입국과 막걸리를 담금 결과 관능 및 이화학 분석에서 Y111-5 균주가 선별 되었다. 선별된 균주의 최적 배양 조

건으로 기본 YPD배지 중 탄소원으로 sucrose 9%와 질소원으로 yeast extract 5%대체하여 사용 시, 기본 YPD배지에서 6.33 g/L로 생산되었던 균체가 최적배지에서 13.82 g/L로 증가한 것을 확인하였다. 최적배지 선정에 이어 최적배양 시간 탐색을 위해 control배지와 최적배지를 함께 배양하여 생육곡선을 확인한 결과 최대 균체생산량은 15시간임을 확인하였다.

## 참고문헌

- Hong, S. W., Hah, Y. C. and Min, K. H. 1970. The biochemical constituents and their changes during the fermentation of *Takju* mashes and *Takju*. *Korean J. Microbiol.* 8:107-115.
- JSBA. 1993. A Book with Notes National Tax Service Method of Analysis, 4th ed., Japan Sake Brewers Association, Tokyo, Japan. pp.27-30
- Kim, A. R., Lee, S. Y., Kim, K. B., Song, E. J., Kim, J. H., Kim, M. J. and Ahn, D. H., 2008. Effect of Glycyrrhiza uralensis on shelf-life and quality of *Takju*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40:194-200
- Kim, H. R. and Ahn, B. H. 2012. Screening and selection of yeasts for *Makgeolli*. *Korean J. Food Sci. Industry.* 44:12-17.
- Kim, Y. H., Kang, S. W. and Lee, J. H. 2006. Optimization of medium components for cell mass production of *Saccharomyces cerevisiae* JUL3 using response surface methodology. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 21:479-483
- Lee, H. S., Park, C. S. and Choi, J. Y. 2010. Quality characteristics of the mashes of *Takju* prepared using different yeasts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42:56-62.
- Lee, J. S., Lee, T. S., Park, S. O. and Noh, B. S. 1996. Flavor components in mash of *Takju* prepared by using different raw materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28:316-323.
- Lee, S. M. and Lee, T. S. 2000. Effect of roasted rice and defatted soybean on the quality characteristics of *Takju* during fermentation. *J. Nat. Sci.* 12:71-79.
- Lee, T. S. and Han, E. H. 2000. Volatile flavor components in mash of *Takju* by using *Rhizopus japonicus* Nuruks. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32:691-698.
- Lee, W. K., Kim, J. R. and Lee, M. W. 1987. Studies of the changes in the free amino acids and organic acids of *Takju*

- prepared with different *Koji* strains. *J. Korean Agric. Chem.* 30:323-327.
- Liquor manufacture textbook. 2010. NTS technology research center. NTS technology research center, Seoul, Korea. pp.89
- Miller, G. L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428
- Park, C. S. and Lee, T. S. 2002. Quality characteristic of *Takju* prepared by wheat flour *Nuruk*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34:296-302.
- Park, J. C. and Ok, M. 2003. Isolation and identification of the high-glutathione producing *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 from Korean traditional rice wine and optimal producing condition *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 46:348-352.
- Park, S. S., Kim, J. J., Yoon, J. A., Lee, J. H., Jung, B. O. and Chung, S. J. 2011. Preparation and quality characteristics of *Takju* with *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* and chito-oligosaccharide. *J. Chitin Chitosan.* 16:164-169.
- Shin, M. O., Kang, D. Y., Kim, M. H. and Bae, S. J. 2008. Effect of growth inhibition and quinone reductase activity stimulation of *Makgeoly* fractions in various cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37:288-293.
- So, M. H., Lee, Y. S. and Noh, W. S. 1999. Changes in microorganisms and main components during *Takju* brewing by a modified *Nuruk*. *Korean J. Food Nutr.* 12:226-232.
- Song, J. C., Park, H. J. and Shin, W. C. 1997. Change of *Takju* qualities by addition of cyclodextrin during the brewing and aging. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29:895-900.
- Song, J. Y. 1998. Quality characteristics of *Takju* made of glutinous rice or barley. MS thesis, Seoul Women's University, Seoul.
- Song, S. H. and Kim, T. B. 2002. High density cell culture of *Bifidobacterium* by optimization of medium composition and culture conditions. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 30:63-67.