

연구노트

Change in the composition and enzyme activity of culturable lactic acid bacteria in *Nuruk* during fermentation at different temperatures

Kang Nam¹, Nam Keun Lee², Eun-Ji Yum¹, Yong-Sik Kim², Dae-Hyuk Kim³,
Soo-Hwan Yeo⁴, Yong-Seob Jeong^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

²Research Center for Industrial Development of Biofood Materials, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

³Department of Molecular Biology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

⁴Fermentation and Food Processing Division, Department of Agrofood Resources, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

온도를 달리한 누룩 발효 기간별 배양 유산균 변화 및 분리 유산균들의 효소 활성

남강¹ · 이남근² · 염은지¹ · 김용식² · 김대혁³ · 여수환⁴ · 정용섭^{1*}

¹전북대학교 식품공학과, ²바이오식품소재개발 및 산업화연구센터, ³전북대학교 분자생물학과, ⁴농촌진흥청

Abstract

The microbial composition in *Nuruk*, a Korean cereal fermentation starter, is a critical factor for the quality and organoleptic properties of traditional alcoholic beverages. This study was aimed at monitoring the compositional change and enzyme activity of culturable lactic acid bacteria (LAB) in two types of *Nuruk* fermented at different temperatures. All culturable LAB were isolated at various time points (0, 3, 6, 10, 20, and 30 days) and identified by 16S rRNA sequencing. In traditional *Nuruk* type A (TN-A), which was fermented at 36°C, the population of total culturable LAB during the fermentation period was between 10⁴ and 10⁵ log CFU/mL. On the other hand, the LAB population in traditional *Nuruk* type B (TN-B) fermented at 45°C (primary fermentation for 10 days) and 35°C (secondary fermentation for 20 days) was 10² log CFU/mL; however, these bacteria could not be detected after 6 days. Major LAB strains were identified in both *Nuruk* types: (1) from the MRS-culture of TN-A, *Pediococcus pentosaceus* at 3-30 days; (2) from MRS-culture of TN-B, *P. pentosaceus* at 3 days and *Enterococcus hirae* at 6 days. The protease activities of the dominant LAB isolated from the TN-A and TN-B cultures were within the ranges of 0.64-1.03 mg/mL and 0.74-0.81 mg/mL (tyrosine content), respectively, whereas the α-amylase activities were 0.75-0.98 mg/mL and 0.78-0.79 mg/mL (amylose content), respectively.

Key words : *Nuruk*, fermentation, lactic acid bacteria, enzyme activity, microbial succession

서 론

전통 누룩은 곱팡이, 효모, 세균류 등의 다양한 종류의

미생물이 서식하기 때문에 미생물들로부터 생성되는 각종 전분분해효소가 풍부하여 전통 양주에서 당화제와 알코올 발효제로 사용하고 있다 (1,2). 따라서 전통 누룩에 의해 생산되는 주류는 타 주류보다 오미, 향미, 청량미가 고루 조화를 이루고 있으며, 비타민 B군, 유기산과 필수 아미노산 등 영양가가 풍부하게 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(3-5).

일본 강점기 이후 전통주 제조는 *Aspergillus luchuensis* 이용한 일본식 입국이 널리 사용되고 있으나 인위적으로

*Corresponding author. E-mail : ysjjeong@jbnu.ac.kr
Phone : 82-63-270-2571, Fax : 82-63-270-2572
Received 8 October 2015; Revised 11 November 2015;
Accepted 11 November 2015.
Copyright © The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

제조한 입국으로 발효시킨 술의 경우에는 유기산의 신맛이 지나치게 강하여 누룩으로 제조했을 때와 같은 조화로운 향미가 없는 것으로 알려지고 있다(2,6). 이에 따라 술의 품질을 차별화하고자 일부 업체가 자가 생산 누룩과 공장생산 누룩을 혼용하고 있으나 누룩의 품질이 일정치 않아 곰팡이와 효모를 이용하여 제조된 개량누룩을 사용하고 있는 추세이다(3,7).

근래 전통누룩의 재현과 전통주 품질에 중요한 발효미생물들에 대한 연구가 전통누룩 및 술덧을 이용하여 일찍부터 시작되어 오고 있으며, 일부 미생물들은 전통주의 누룩개량용 균주로 선별되고 있다(3).

현재 까지 16S rRNA와 28S rRNA gene sequencing, DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 그리고 pyrosequencing 등을 통해 다양한 지역에서 생산된 전통누룩으로부터 분리 및 분석된 균주는 세균으로 *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycoplana*, *Erwinia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Weissella*, *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Kocuria*, *Clostridium* 그리고 비배양균 *Cyanobacteria* 속이며, 진균류로는 *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Penicillium*, *Actinomucor*, *Monniella*, *Cephalosporium*, *Geotrichum*, *Curvularia*, *Botryotrichum*, *Monascus*, *Anyolmyces*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Endomyces*, *Pichia*, *Hansenulas*, *Torulopsis*, *Candida*, *Torulaspora*, *Wickerhamomyces*, *Saccharomycopsis*, *Trichosporon*, *Torula*, *Mycoderma*, *Willia*, *Monilia*, *Sachsia*, *Endomyces*, *Oidium*, *Rhodotorula*, *Endomycopsis*, *Talaromyces*, *Paecilomyces*, *Lichtheimia* 속이 보고 되었다(3,5,7-11).

누룩의 유산균은 전통주 즉 막걸리 제조에서 알코올 발효 이후 젖산발효를 진행하여 막걸리의 산미를 부여하기 때문에 막걸리의 맛을 결정하는 중요한 요소 중의 하나로 알려져 있다. 이에 최근 막걸리 품질을 향상시키기 위한 연구로써 곰팡이와 효모뿐만 아니라 막걸리에서 생육하는 유산균을 조사하고 이를 스타터로 이용한 연구가 보고되었다(12).

대부분의 누룩관련 미생물 연구들은 제조가 완료된 전통누룩 또는 전통주를 이용한 것으로 전통누룩의 품질 개선 및 표준화에 관련된 제조 기술, 특히 누룩 제조 조건에 따른 미생물 변화를 분석하고 이를 활용한 누룩의 제조 기술의 과학화에 대한 연구들은 매우 미흡한 실정이다.

이에 본 연구에서는 온도를 달리한 누룩 제조 과정 동안 발효에 관여하는 누룩 미생물들 중 유산균들의 변화 및 분리된 유산균들의 효소 활성을 분석하여 전통누룩의 품질 개선 및 표준화 제조 기술 연구에 기초자료로 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

본 연구에서 사용한 누룩은 전통방식으로 제조된 누룩으로 농촌진흥청 발효식품과로부터 제공 받아 사용하였다. 누룩의 원료인 밀은 전남 광주지역에서 채배된(2010년) 우리 밀(금강밀)을 구입하였다. 우리 밀을 롤러 밀로 분쇄한 후, 7 mesh(2.8 mm, 3번 내림) 체로 내려서, 가수량 26%(온도 40°C)로 살수 혼합하여 1시간 동안 실온에서 침윤시키고 혼합한 다음, 340 g씩 무게를 달고 누룩 성형 틀에 넣어 성형한 후 발효 온도를 달리하여 두 가지 타입(전통누룩 A와 B)의 누룩을 제조하였다. 전통누룩 A(TN-A)의 발효 조건은 36°C에서 2일 간격으로 뒤집기를 하면서 30일 동안 발효하였으며, 전통누룩 B(TN-B)의 발효 조건은 초기 10일 동안은 45°C에서 주발효를 하고 이후 20일 동안은 35°C에서 후발효를 하였다. 발효과정 중의 누룩을 각 샘플링(0, 3, 6, 10, 20, 30일) 하여 누룩 발효과정 중에 생성된 유산균들을 분석하였다.

제조 누룩의 유산균 총균수 측정 및 분리

제공받은 누룩으로부터 유산균 총균수와 균주를 분리하기 위해서 누룩 5 g을 생리식염수 45 mL에 첨가하여 균질화 후 균질액을 다시 생리식염수를 이용하여 희석액을 만들어 MRS(Difco Lactobacilli MRS agar, Becton Dickinson Co., Sparks, MD, USA) 고체배지에 도말하고 37°C에서 48 hr 동안 혐기 배양하였다.

제조 누룩으로부터 분리된 균주들의 동정

누룩으로부터 분리된 균주들의 동정은 발효기간별 형태학적으로 그룹 지어진 콜로니들을 선별하여 16s rRNA 염기서열을 분석하였으며, 분석은 (주)솔젠트(Daejeon, Korea)에 의뢰하였다. 염기서열 분석을 통하여 얻은 각 균주의 염기서열은 Blast Network Service를 이용하여 NCBI GenBank database의 염기서열과 비교함으로써 계통분류학적 유사도를 분석하였다. 추가적으로 50 CH kit(Biomérieux, France)을 이용한 생화학적 분석을 실시하였다. 분석된 data는 API 웹사이트(<http://apiweb.biomerieux.com>) 프로그램을 이용하여 동정 한 후 결과들을 16s rRNA 염기서열 동정 결과와 비교하여 최종 동정결과를 얻었다.

효소활성 측정

제조 누룩으로부터 분리된 유산균들의 단백질분해 효소 활성과 당화 효소 활성 측정은 식품공전(13)에 따라 분석하였다. 단백질분해 효소 활성은 0.6% 카제인 용액 1 mL에 균 배양액 1 mL를 혼합하여 37°C에서 10 min간 반응시킨 후 0.4 M TCA 2 mL를 넣고 37°C에서 25 min간 방치한 다음 얻어진 여과액 1 mL에 0.4 M 탄산나트륨용액 5 mL과

Folin시액 1 mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 발색 반응 후 흡광도 660 nm에서 티로신 생성량을 분석하였다. 당화효소 활성은 1% 가용성전분 용액 5 mL, McIlvaine 완충액 (pH 7.0) 13 mL과 0.1% 염화칼슘용액 1 mL이 혼합된 용액을 37°C로 가온하고 균 배양액 1 mL를 첨가한 후 37°C에서 30 min간 반응시킨 반응액 0.2 mL에 요오드시액 10 mL를 첨가하여 혼합한 후 흡광도 660 nm에서 아밀로스 분해량을 분석하였다.

결과 및 고찰

제조 누룩의 발효 기간별 유산균 변화

전통방식으로 제조된 누룩들로부터 배양된 유산균 총균수 변화에 있어서 36°C에서 발효된 TN-A는 발효 10일까지 꾸준히 증가하다가(10^5 log CFU/mL) 이후에는 감소하는 경향이 보였으나, Yu 등(9)이 보고한 시판 누룩 내의 유산균 수(10^4 log CFU/g)와 비슷한 수준으로 존재함을 확인 할 수 있었고, 45°C에서 발효된 B type 누룩은 발효 6일까지만 유산균이 검출 (10^2 log CFU/mL) 되었다(Fig. 1).

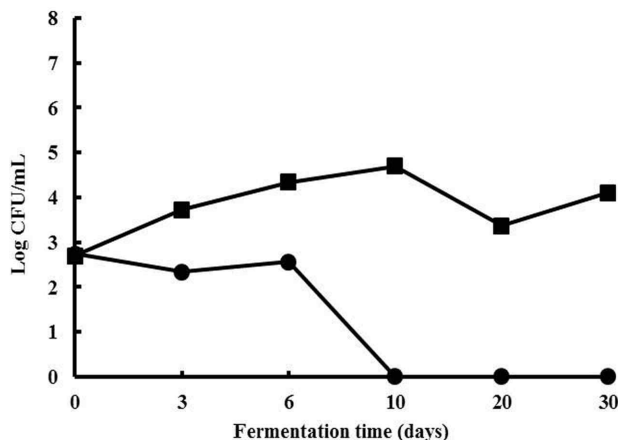


Fig. 1. The total number of culturable lactic acid bacteria in *Nuruk* during fermentation.

■-, *Nuruk* type A (TN-A) fermented at 36°C for 30 days; ●-, *Nuruk* type B (TN-B) fermented at 45°C (primary fermentation for 10 days) and 35°C (secondary fermentation for 20 days).

제조 누룩의 발효기간별 유산균 종들의 변화에 있어서, 발효 전 누룩 내에 *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. sakei*, *Leu. citreum*, *Pediococcus acidilactici*와 *Enterococcus avium* 종이 분포되어 있었으며(Fig. 2와 Table 1), TN-A는 발효가 시작되면서 발효 전에는 검출되지 않았던 *P. pentosaceus* 유산균 종이 증가하여 발효 6일차 이후에 *P. pentosaceus*종으로 완전히 천이됨을 확인할 수 있었다(Fig. 2A). TN-B의 유산균 종들의 변화는 발효 3일차에 *P. pentosaceus* 종으로, 발효 6일차에는 *Enterococcus hirae* 종으로 천이가 일어남을 확인할

수 있었고, 발효 6일차 이후부터는 유산균이 검출되지 않았다(Fig. 2B). 이는 유산균 생육에 적당하지 않은 높은 온도에서 누룩을 발효시킨 점과 높은 온도에서 생육이 좋은 *Bacillus* 속의 우점으로 인해(data not shown) 유산균 생존에 영향을 준 것으로 판단된다. 본 연구에서 발효 온도를 달리 하여 전통방식으로 제조된 누룩들의 발효 시간별 유산균 속들의 변화를 분석한 결과, 기존 전통 누룩들로부터 분리되는 주요 배양 유산균들인 *Leuconostoc* 속, *Lactobacillus* 속 그리고 *Pediococcus* 속 등(9-11)의 범위에 포함되어 있어 유산균 속들에서는 큰 차이는 없었다. 그러나 누룩의 발효 온도는 발효기간 동안 누룩 내의 유산균들의 다양성, 천이 및 우점종에 중요한 역할을 하고 있음을 확인할 수 있었다.

전통적으로 누룩은 국내 전통주인 막걸리 제조에 대표적인 스타터로 누룩에 따라 막걸리의 품질이 결정되며 이는 누룩 내에 분포해 있는 미생물들이 주요 원인이다. 국내에서 유통 중인 막걸리의 유산균은 *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus brevis*와 같은 종들이 대부분의 막걸리에서 검출되고 있으며, 이 외에도 *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*와 *Pediococcus pentosaceus* 등이 분석되고 있다(12). 막걸리에서 검출되는

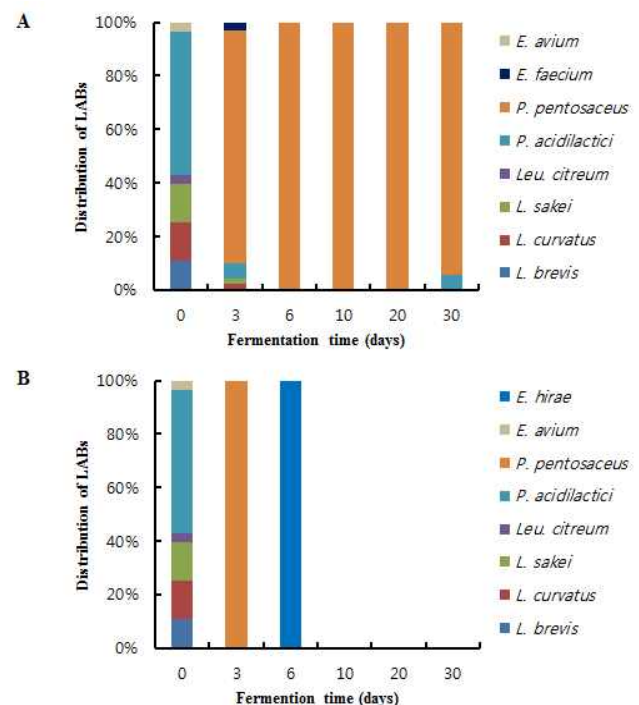
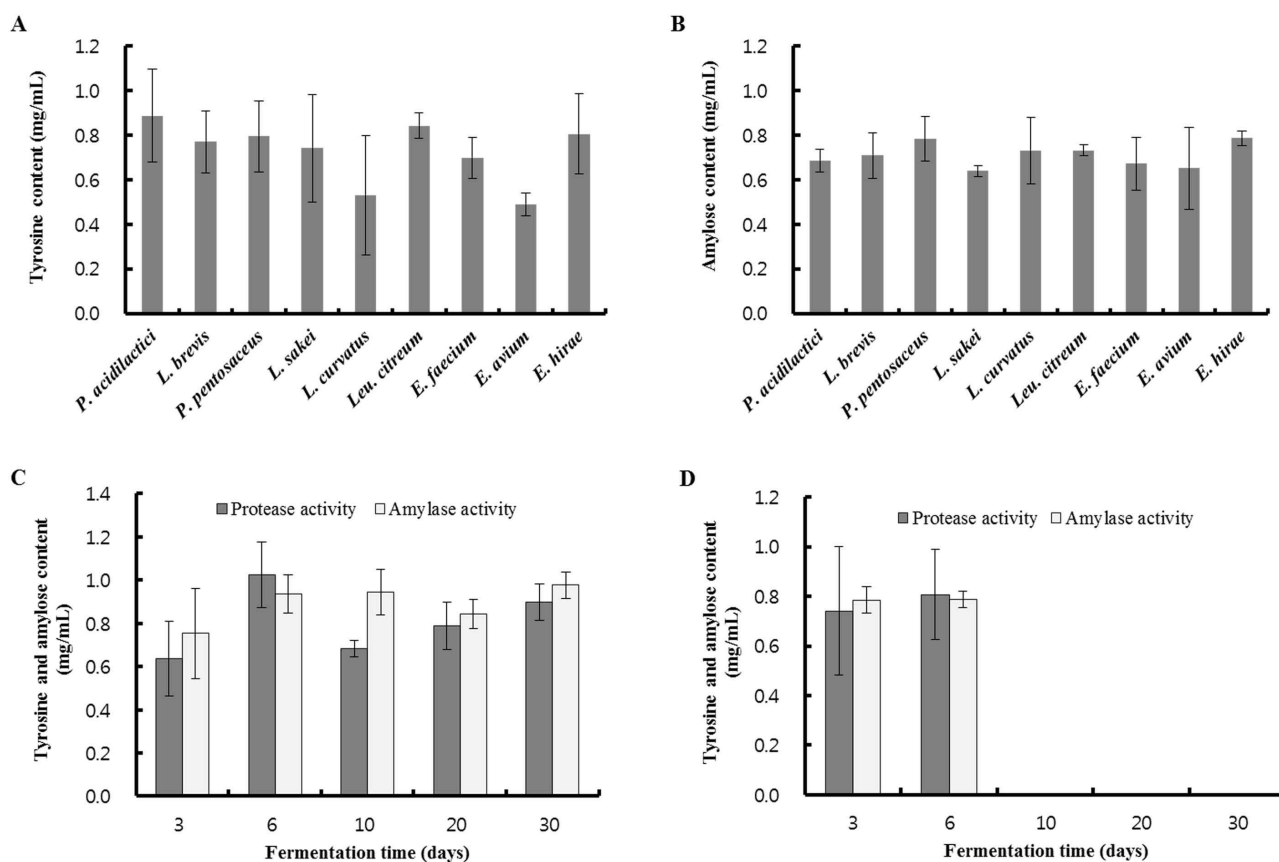


Fig. 2. Change in the composition of culturable lactic acid bacteria in *Nuruk* during fermentation period.

A, *Nuruk* type A (TN-A) fermented at 36°C for 30 days; B, *Nuruk* type B (TN-B) fermented at 45°C (primary fermentation for 10 days) and 35°C (secondary fermentation for 20 days).

Table 1. Identification of the isolated lactic acid bacteria from *Nuruk* based on the 16S rRNA sequence

Types	Days	Species	Identities (%)	Sequence length (bp)	Sequence ID
Unfermentation <i>Nuruk</i>	0	<i>Lactobacillus brevis</i>	100	1419	gb KF057958.1
		<i>Lactobacillus curvatus</i>	100	1435	dbj AB494734.1
		<i>Lactobacillus sakei</i>	100	1435	gb KC416998.1
		<i>Leuconostoc citreum</i>	99	1416	dbj AB681815.1
		<i>Pediococcus acidilactici</i>	99	1449	gb GQ421474.1
		<i>Enterococcus avium</i>	99	1415	dbj AB932523.1
Fermentation <i>Nuruk</i>	A	<i>Pediococcus acidilactici</i>	100	1443	gb GQ421474.1
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	1449	gb KF245565.1
		<i>Enterococcus faecium</i>	100	1428	gb JQ067694.1
		<i>Lactobacillus sakei</i>	100	1436	gb KC416998.1
		<i>Lactobacillus curvatus</i>	100	1438	dbj AB494734.1
	6	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	1442	gb JX477168.1
	10	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	1445	gb JX477168.1
	20	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	1448	gb JX477168.1
	30	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99	1443	dbj AB680261.1
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	1443	gb JX232607.1
B	3	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	1446	gb JX477168.1
	6	<i>Enterococcus hirae</i>	99	1429	gb KF183510.1

**Fig. 3. Enzyme activities of lactic acid bacteria isolated from *Nuruk***

A, protease activity of LAB isolated from *Nuruk* type A (TN-A) fermented at 36°C for 30 days and *Nuruk* type B (TN-B) fermented at 45°C (primary fermentation for 10 days) and 35°C (secondary fermentation for 20 days); B, α-amylase activity of LAB isolated from TN-A and TN-B; C, protease and α-amylase activities of LAB isolated at fermentation time points from TN-A; D, protease and α-amylase activities of LAB isolated at fermentation time points from TN-B.

유산균은 누룩으로부터 기인되고 있는 것을 알 수 있으나, 본 연구에서와 같이 누룩 제조법에 따라 누룩 내 발생한 우점화된 유산균 종이 막걸리 제조에 관여하는 유산균으로써의 역할을 하는지는 향후 연구를 통해서 증명할 필요성이 있다.

제조 누룩으로부터 분리된 유산균들의 효소 활성

전통방식으로 제조된 누룩들로부터 분리된 각 유산균들의 단백질분해효소와 당화효소 활성은 발효기간별로 분리된 균주 각 1종씩을 무작위적으로 선정하여 측정하였으며, 발효기간에 관계없이 동일종들을 그룹지어 분리된 각 유산균(9종)들의 효소활성을 분석하였다(Fig. 3A와 B). 단백질분해 활성에 있어서, 분리된 유산균들은 10 min 동안 0.6% 카제인 기질로부터 0.49~0.89 mg/mL의 티로신을 생성시킬 수 있는 활성 범위를 보였다(Fig. 3A). 분리된 유산균들 중 가장 높은 티로신 생성능을 보인 유산균은 *P. acidilactici* 균주였으며, *L. curvatus*와 *E. avium* 균주들은 상대적으로 낮은 티로신 생성능을 보였다. 1% 가용성전분을 기질로한 당화효소 활성 범위는 0.64~0.79 mg/mL(아밀로스 함량) 이었고, 가장 높은 당화효소 활성을 보인 유산균은 *L. sakei* 이었다 (0.64±0.03 mg/mL)(Fig. 3B).

발효기간별 TN-A와 TN-B의 우점종 유산균들의 단백질분해효소와 당화효소 활성을 분석한 결과(Fig. 3C와 D), TN-A의 우점종 유산균인 *P. pentosaceus*는 발효기간 동안 0.64~1.03 mg/mL의 티로신 생성 범위를 갖는 단백질분해효소 활성을 보였고, 아밀로스 함량 측정에 따른 당화효소 활성은 0.75~0.98 mg/mL의 범위 내에서 측정되었다(Fig. 3C). 발효기간별 분리된 *P. pentosaceus*의 단백질분해효소 활성능에 대한 경향을 보면, 발효 6일차에서 분리된 *P. pentosaceus*의 효소 활성이 가장 높았으며 (1.03±0.15 mg/mL), 6일차 이후 감소되었던 효소 활성이 다시 점차적으로 증가되고 있는 특징을 보였다. 당화효소 활성의 경우, 발효 3일차에서 분리된 *P. pentosaceus*가 가장 높은 활성을 보였으며, 발효 6일차부터는 발효 3일차에서 나타난 당화효소 활성 보다는 낮은 활성으로 큰 변화 없이 유지되었다.

누룩발효초기(3~6일차)에만 유산균들이 검출된 TN-B로부터 발효 3일차에 우점종으로 분리된 유산균 *P. pentosaceus*들의 단백질분해효소와 당화효소 활성은 각각 0.74±0.26 mg/mL(티로신 생성량)과 0.78±0.05 mg/mL(아밀로스 함량)이었고, 발효 6일차에 분리된 *E. hira*들은 각각 0.81±0.18 mg/mL(티로신 생성량)과 0.79±0.03 mg/mL(아밀로스 함량)의 효소 활성 값을 보였다(Fig. 3D). 이와 같은 결과들은 비록 보고(14,15)된 누룩 주요 미생물인 곰팡이 균주들의 효소 활성 보다는 낮지만 누룩에 존재하는 유산균으로써 곰팡이 균주들과 함께 누룩발효에 관여하고 있는 점으로 볼 때, 향후 전통 누룩의 품질 개선 및 표준화를 위한 제조 기술 연구에 기초자료로 활용될 수 있다고 판단

된다.

요 약

발효 온도를 달리한 전통방식으로 제조된 두 가지 형태(TN-A와 TN-B)의 누룩들로부터 발효 기간별 배양된 유산균 총균수, 유산균 종들의 변화 및 분리된 유산균들의 효소 활성을 비교하였다. TN-A의 유산균 총균수는 $10^4 \sim 10^5$ log CFU/mL로 발효 3일차부터 발효 기간에 관계없이 유지되었고, TN-B에서는 발효 6일차까지 10^2 log CFU/mL로 유지되다가 6일차 이후 유산균이 검출되지 않는 특징을 보였다. 유산균 종들의 변화에 있어서, TN-A는 발효 3일차에 우점종 유산균으로 나타난 *P. pentosaceus* 종이 발효 종료 시점이 30일차 까지 우점하고 있음을 확인할 수 있었고, TN-B는 발효 3일차와 6일차에 각각 *P. pentosaceus*와 *E. hira*로 나타나 유산균이 검출된 발효 기간까지 TN-A 보다는 많은 변화를 보였다. TN-A와 TN-B으로부터 분리된 유산균들의 효소 활성은 단백질분해효소와 당화효소 활성을 분석하였다. 단백질분해효소평가는 티로신 생성량으로, 당화효소 활성은 아밀로스 분해에 따른 아밀로스 잔여 함량으로 평가한 결과, 분리된 유산균(9종)들은 0.49~0.89 mg/mL의 티로신 생성 범위의 단백질분해 활성과 0.64~0.79 mg/mL의 아밀로스 분해 활성 범위를 보였고, 유산균들 중 가장 높은 단백질분해효소와 당화효소 활성을 보이는 균주는 각각 *P. acidilactici*와 *L. sakei*로 확인되었다. 이상의 결과들은 온도를 달리하여 전통적인 방법으로 누룩을 제조하였을 시 누룩 내에 유산균들을 조절할 수 있음을 시사한다. 이를 토대로 향후 많은 연구들이 진행된다면, 누룩관련 제품에 유산균들에 의해 만들어지는 산미와 풍미를 향상시킬 수 있는 전통적인 누룩제조가 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ009998012015)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

1. Lee SS, Kim KS, Eom AH, Sung CK, Hong IP (2002) Production of Korean traditional rice-wines made from cultures of the single fungal isolates under laboratory conditions. Korean J Mycol, 30, 61-65
2. Lee SM, Han HY, Lee SJ (2014) Volatile compounds in Takju (rice wine) using different type of fermentation starters. Food Eng Prog, 18, 348-354

3. Kim HR, Ahn BH (2001) Research trend of Korean traditional alcoholic beverage. *Food Indus Nutr*, 6, 5-10
4. Park CS, Lee TS (2002) Quality characteristics of Takju prepared by wheat flour Nuruks. *Korean J Food Sci Technol*, 34, 296-302
5. Kim HR, Kim JH, Bai DH, Ahn BH (2011) Identification and characterization of useful fungi with α -amylase activity from the Korean traditional Nuruk. *Mycobiol*, 39, 278-282
6. So MH, Lee YS, Noh WS (1999) Improvement in the quality of Takju by a modified Nuruk. *Korean J Food Nutr*, 12, 427-432
7. Chun HK (2004) Trends in traditional food research. *Korean J Community Living Sci*, 15, 179-191
8. Kim HS, Hyun JS, Kim J, Ha HP, Yu TS (1997) Characteristics of useful fungi isolated from traditional Korean Nuruk. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 26, 767-774
9. Yu TS, Kim J, Kim HS, Hyun JS, Ha HP, Park MG (1998) Bibliographical study on microorganisms of traditional Korean Nuruk (since 1945). *J Korean Soc Food Sic Nutr*, 27, 789-799
10. Kwon SJ, Sohn JH (2012) Analysis of microbial diversity in Nuruk using PCR-DGGE. *J Life Sci*, 22, 110-116
11. Park JH (2013) Analysis of microbial communities in traditional Nuruk and fermentation characteristics of Takju prepared with the Nuruk. MS Thesis. Sejong University, Korea
12. Yoo KS (2013) Lactic acid bacterial diversity in Makgeolli and its effects on fermentation process and quality. Ph D Thesis. Chungbuk National University, Korea
13. KFDA (2015) Food Code. The first volume, Online version, Seoul, Korea, p 218-219
14. Kim HS, Hyun JS, Kim J, Ha HP, Yu TS (1998) Enzymological characteristics and identification of useful fungi isolated from traditional Korean Nuruk. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol*, 26, 456-464
15. Huh CK, Kim SM, Kim YD (2014) Comparison for enzymic activity of Nuruk and quality properties of Yakju by different fungi. *Korean J Food Preserv*, 21, 573-580