

유청 막걸리 식초 제조용 *Acetobacter pomorum* IWV-03 아세트산세균 분리 및 식초의 품질특성

박준기[†] · 허창기[†] · 김도우 · 김유진 · 김수환¹ · 권윤경¹ · 배 달² · 김용두*
순천대학교 식품공학과, ¹(재)임실치즈앤식품연구소, ²관성탁주합동주조장

Quality characteristics of whey *makgeolli* vinegar produced using *Acetobacter pomorum* IWV-03

Jun-Ki Park[†], Chang-Ki Huh[†], Do-Woo Gim, Yu-Jin Kim, Su-Hwan Kim¹,
Yoon-Kyung Kwon¹, Dal Bae², and Yong-Doo Kim*

Department of Food Science and Technology, Suncheon National University
¹Imsil Cheese & Food Research Institute
²Gwanseong Takju consolidation brewery

Abstract The aim of this study was to develop various types of vinegar using whey. Amongst various acetic acid-producing strains, *Acetobacter pomorum* IWV-03 strain was selected as an excellent strain for the production of whey *makgeolli* vinegar. The acidity of this vinegar was found to be 5.6%. The total organic acid content and the free amino acid content of the whey *makgeolli* vinegar were 5.5 and 5.9 mg%, respectively, which was higher than that of the control *makgeolli* vinegar (5.0 and 4.5 mg%, respectively). In addition, DPPH and ABTS radical scavenging activity of whey *makgeolli* vinegar were 49.85 and 63.46%, respectively, which were again higher than that of control *makgeolli* vinegar (27.20 and 19.22%, respectively).

Keywords: whey, whey *makgeolli*, vinegar, *Acetobacter pomorum* IWV-03, quality characteristics

서 론

최근 치즈 수요가 증가함에 따라 유청(whey)의 생산 역시 증가하는 추세이고 과거에는 폐기되었던 물질이었으나 식품첨가물, 새로운 식품재료로서의 이용가치가 높아지고 있다. 유청이란 치즈 제조 과정에서 카제인을 제외한 나머지 우유의 액체성분을 말하며 다양한 영양성분들을 함유하고 있다(1). BC 5,000년부터 치즈가 제조되기 시작함으로써 생산 및 사용된 유청은 치즈 1kg를 제조할 시 치즈 생산량의 10배인 10kg이 생산된다고 보고되어 있다(1,2). 유청 성분 중 6-7% 정도의 유효성분을 함유하는데 이러한 유효성분으로는 젖당, 단백질, 지방, 회분, 및 젖산 등이 있으며 무기질 성분으로 칼슘, 포타슘, 인, 나트륨 등이 포함되어 있다고 보고되어 있고(3), 유화성, 기포성, 젤화성, 용해성, 향미성 등의 생리학적 특성을 가진다(4). 유청의 효능으로는 간 보호, 위와 통풍의 치료, 콜레스테롤을 낮추는 등 다양한 임상효과를

가진다고 한다(5). 또한 유청에 대한 인식이 높아짐에 따라 유청을 이용한 많은 연구와 다양한 제품들이 소개되어지는데 제빵, 음료 및 육가공품 개발(6), 빙과류 개발(7), 제과류, 과자류의 이용(8) 등 식품 첨가물로써 이용가치가 높게 평가 되고 있다. 하지만 국내의 치즈 제조업체의 경우 소규모 목장형 유가공업으로 운영되고 있어 유청을 2차 가공할 수 있는 기반 시설이 미비하여 폐수 처리하는 실정이다. 현재 국내에서의 유청 가공기술을 보면 대부분 유청 분말을 이용한 유형이 대부분이다. 유청 분말은 2차 가공 공정이 진행되어야 하며 현재의 유청 분말(원료형태)의 가격선이 낮게 형성되어 있어 2차 가공에 대한 생산비 대비 사업성이 없어 대부분이 저렴한 수입된 분말을 사용 중에 있다. 따라서 유청을 분말화 하지 않고 액상 형태의 유청을 대량으로 처리할 수 있는 가공 소재화 기술과 신제품 개발을 통해 유청의 활용 범위를 확대시킬 필요가 있다.

식초는 산미료로서 식품의 맛을 돋워주며 발효과정에서 생성된 독특한 향과 신맛을 가지는 대표적인 발효식품으로 술과 함께 인류의 식생활에서 가장 오랜 역사를 갖는 발효식품 중 하나이다(9). 식초는 초산발효를 통해 생성되는 초산을 주성분으로 소량의 휘발성 또는 비휘발성의 유기산, 아미노산, 당류 및 ester 등을 함유하여 독특한 향미와 신맛을 가지며 발효를 통한 양조식초와 빙초산의 희석 및 조미에 의한 합성식초로 분류된다(10). 식초의 효능으로는 항종양 효과, 동맥경화증, 혈전증 등의 질병을 예방해주며 체내 지방의 감소, 부산피질 호르몬 분비로 인한 소화촉진, 식욕촉진 및 피로회복 효과, 면역력의 향상 등 다양한 생리활성이 보고되어 있다(11-12). 국내의 식초 용도별 생산비율은

[†]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: Yong-Doo Kim, Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea
Tel: +82-61-750-3256
Fax: +82-61-750-3208
E-mail: kyd4218@sunchon.ac.kr
Received September 30, 2017; revised November 3, 2017; accepted November 7, 2017

조미용 식초가 60%, 음료용 식초가 40%를 차지하고 있고 종류별 생산비율은 사과식초가 39%, 현미식초가 14%, 기타 양조식초가 6%로 형성되어 있다(13). 막걸리 식초는 막걸리의 주 성분인 녹말과 당류를 원료로 하여 알코올발효와 초산발효를 순차적으로 거쳐 제조된다(14). 막걸리는 단백질, 비타민 등의 다양한 영양성분을 함유하고 있으며 막걸리 농축물을 간암세포, 피부암세포, 유방암세포 등에 처리하여 암세포 성장 저지를 일으키는 물질도 존재하는 것으로 보고되어 진다(15). 또한 초산균은 당과 알코올을 초산으로 산화시킬 수 있는 초산생성 세균 집단(16)으로 전통발효주의 하나인 막걸리에 이용하여 막걸리의 미생물, vitamin B, 아미노산, 유기산 등의 기능적인 특성을 기대할 수 있으며 전통적인 기능성 발효식초로써의 관심이 집중 될 수 있다고 사료된다.

따라서 폐기되는 유청의 새로운 처리와 소득원 창출 및 다양한 유형의 발효 식초 적성 연구를 통한 고품질 식초 생산 필요성이 부각 되는 시점에서, 임실군에서 확보하고 있는 유청 막걸리를 활용한 식초 개발 연구를 통해 식초의 다양화 및 고급화에 기여하고자, 유청 막걸리를 이용하여 초산 생성능이 우수한 초산균주를 분리 및 동정하고, 유청 막걸리 발효 식초 제조 및 품질 특성을 확인하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 유청 막걸리는 전라북도 임실군에 위치한 관성탁주합동주조장에서 제조한 유청 막걸리를 제공 받아 사용하였고, 일반 막걸리는 순천주조공사에서 생산한 나누우리 막걸리를 구입하여 사용하였다. 식초 제조에 사용된 양조 용수는 순천대학교 생명산업과학대학에 설치된 정수기((주)웅진코웨이, CHP-8800, Hwasun, Jeonnam, Korea)의 정수를 100°C로 가열한 후 23-25°C 냉각하여 사용하였다.

사용 균주 및 배지

실험에 이용된 균주로 초산균은 순천대학교 식품공학과 식품미생물학실험실에서 보관중인 종초를 수집하여 수집된 식초로부터 분리한 균주를 사용하였다. 초산균 분리와 초산생성이 우수한 균주를 선정하기 위한 배지는 Difco (Sparks, MD, USA)사 제품을 사용하였으며 평판배지(yeast extract 1%, glucose 5%, CaCO₃ 3%, agar 2.0%, pH 7.0)와 액체배지(yeast extract 1%, glucose 5%, acetic acid 2%, pH 3.0)는 고압살균기(autoclave)에서 121°C, 15분간 살균하여 45°C로 냉각한 다음 에탄올을 평판배지에는 4%, 액체배지에는 7%로 각각 첨가하여 사용하였다.

초산생성 균주의 분리, 동정 및 우수 균주 선정

초산생성 균주는 순천대학교 식품미생물학 실험실에서 보관 중인 종초를 30°C에서 24시간 동안 배양하여 활성화시킨 후, 생리 식염수로 적절하게 희석하여 0.2 mL를 분리용 평판배지에 도말 배양하였다. 30°C에서 3-4일 동안 배양하여 colony 주위에 투명한 환(還)을 형성하는 균주가 에탄올을 이용하여 초산을 생성할 수 있는 균주로 판정하고 보존용 배지에 이식하여 보관하면서 초산 생성 우수균주 대상으로 사용하였다.

액체 배양된 균주를 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 Wan 등(17)의 방법에 따라 785F 및 907R 프라이머(primer)로 forward (5') 방향과 reverse (3') 방향을 확인하기 위해 (주)마크로젠(Macrogen Inc., Seoul, Korea)에 16S rRNA의 염기서열 분석을 의뢰하였으며, 분석된 DNA 염기서열의 일치하는 부분을 NCBI (National

Center for Biotechnology Information) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program에 입력하여 염기서열이 동일한 종을 확인하였다. PCR 분석 조건은 초기변성(initial denaturation) 95°C 5분, 그리고 95°C에서 60초 denaturation, 55°C에서 60초간 annealing, 72°C에서 60초간 extension cycle을 35회 수행하였다.

초산생성능이 우수한 균주를 선정하기 위해 액체배지를 제조하여 분리용 평판배지에서 초산 생성 균주로 판정된 균주들을 접종하고 진탕배양기(shaking incubator) (Kiya Seisakusho Co., Ltd, Kawagoe, Saitama, Japan)를 사용하여 30°C에서 8일간 150 rpm으로 진탕배양한 후 초산생성량을 측정하여 초산 생성능이 가장 우수한 균주를 선발하였다.

식초제조

최종 선발된 초산 균주 *Acetobacter pomorum* IWV-03 1종을 121°C에서 15분간 멸균시킨 액체배지 100 mL에 접종하고 shaking incubator (Kiya Seisakusho Co.)를 이용하여 24시간 동안 진탕배양 시킨 후 배양액을 300 mL로 증대하여 30°C에서 3일간 150 rpm으로 진탕 배양하였다. 종초는 관성탁주합동주조장에서 제공 받은 유청 막걸리를 여과하여 알코올 함량을 6%로 제정한 후 배양된 초산균주 250 mL와 같은 양을 혼합하여 30°C에서 진탕배양 하였다. 식초는 일반 막걸리와 유청 막걸리에 제조한 종초를 첨가하여 초기산도를 2.5%로 조절한 후 30°C에서 21일 동안 초산 발효를 실시하여 식초를 제조하였다. 유청 발효 식초의 제조과정은 Fig. 1과 같다.

식초의 발효 특성 확인

유청 막걸리 식초의 초산 발효 기간 중 총산 함량은 시료를 원심분리하여 상층액 2 mL를 취해 0.1% 페놀프탈레인(phenolphthalein)을 지시약으로 하여 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정하고 acetic acid 환산 계수로 계산하여 산도(%)를 나타내었다. pH 측정은 시료 20 mL를 취해 pH meter (ATI ORION 940, Boston, MA, USA)를 사용하여 측정하였다. Ethanol 분석은 시료를 원심분리한 후 여과하여 여액 1 µL를 Gas chromatography (GC, Agilent 6890N, Hewlett Packard Co., Palo Alto, CA, USA)에 주입하였으며 외부 표준법으로 계산하였다. Column은 Carboxen B/PEG 20M 5% (ID 3 mL×4 mm, Hewlett Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며 initial temp. 60°C, final temp. 150°C, program rate 5°C/min, 그리고 carrier gas는 N₂를 사용하였다.

식초의 품질 특성 확인

색도 측정은 시료를 원심분리한 후, 상등액을 여과하여 여과한 여액을 일정량 취해 색도계(super color sp-80, Denshoku, Tokyo, Japan)를 이용해 X=80.84, Y=82.22, Z=92.98인 표준 백색판(standard white plate)으로 보정하여 사용하였다. Hunter값 L, a 및 b 값을 측정하였다.

무기성분은 습식분해법(18)에 의하여 분석하였다. 즉 시료 0.5 mL에 진한 질산 10 mL를 가하여 낮은 온도에서 고온으로 가열시켜 백색 투명한 액이 되면 냉각시키고 증류수를 가하여 100 mL로 정용한 다음 여액을 분석용 시료로 하였다. 각 무기성분의 정량은 진동흡수분광광도계(Atomic Absorption Spectrophotometer) (Analyst 300, Perkin Elmer Co., Norwalk, CT, USA)로 각 원소 (K; 766.5 nm, Mg; 285.2 nm, Na; 589.0 nm, Ca; 422.7 nm, Fe; 248.3 nm, Zn; 214.9 nm)의 표준 용액 농도를 1, 3 및 5 ppm으로 조제하여 표준 검량 곡선을 작성하여 분석하였으며 외부표준법으로 계산하였다.

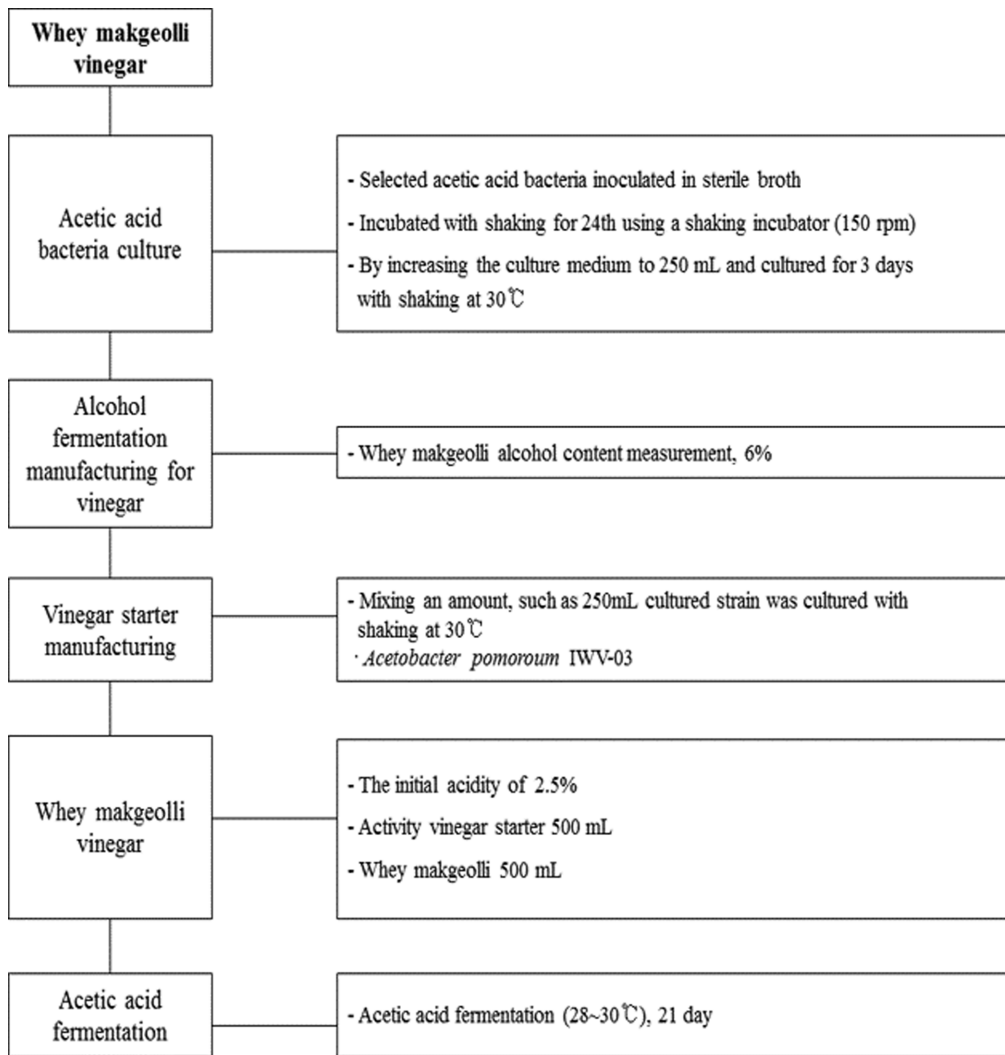


Fig. 1. Schematic diagram for the preparation of whey makgeolli vinegar.

유기산은 Gancedo와 Luh(19)의 방법에 따라 시료를 전처리하여 HPLC (Waters M510, Waters Co., Milford, MA, USA)로 분석하였고, 컬럼(column)은 organic acid column (ID 4.6×250 mm, Grace Co., Deerfield, IL, USA)를 사용하였으며, mobile phase는 0.2 mM potassium dihydrogen phosphate buffer KH₂PO₄, flow rate는 1.0 mL/min, detector는 다이오드배열검출기(diode array detector) (1100 Series, Agilent Co.)를 사용하여 함량은 외부표준법으로 나타내었다.

유청 식초의 아미노산 분석은 Ohara와 Ariyosh(20)의 방법으로 분석하였다. 즉 시료 50 mL를 원심분리하여 상정액 10 mL를 취해 sulfosalicylic acid 25 mg을 가하고 4°C에서 4시간 동안 방치 후 원심분리 하였다. 그 상정액을 0.45 µm membrane filter (Millipore Co., Billerica, MA, USA)로 여과한 여액을 아미노산 자동분석기(Biochrom 30+, Pharmacia Biotech Ltd, Milton Road, Cambridge, UK)를 이용하여 분석하였다.

식초의 산화방지 활성 측정

전자공여능 측정은 Abe 등(21), Yamachuchie 등(22) 및 Blois (23)의 방법에 따라 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 즉, 일정 농도의 시료 100 µL에

2×10⁻⁴ M DPPH용액(dissolved in 99% methanol)을 150 µL 가하고, vortex mixing하여 MKX 마이크로플레이트판독기(mickoplate Reader) (DYNEX, Santa Rosa, CA, USA)로 530 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 전자공여능(electron donating ability, EDA (%))으로 측정하였으며, 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균과 표준편차로 나타내었다.

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS^{•+} cation decolorization assay 방법(24)에 의하여 측정하였다. 7 mM 2,2-azino-bis (3-ethyl-benthiazoline-6-sulfonic acid)와 2.4 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온에서 24시간 동안 방치하여 ABTS^{•+}를 형성시킨 후 에탄올로 희석하여 ABTS^{•+} 100 µL에 시료 100 µL를 가하여 1분 동안 방치한 후 Cibra S22 (Biochrom, Cambridge, England)로 720 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

초산생성 균주의 분리, 동정 및 우수 균주 선정

초산생성 우수 균주를 분리하여 선정하기 위해 순천대학교 식품공학과 미생물학실험실에서 보관 중인 식초를 종균 배양하여 초산균 분리용 평판배지에 도말 접종하여 30°C에서 배양하면서

Table 1. Identification of 10 kinds of isolated acetic acid bacteria

| Strains No. | Species | Name |
|-------------|---------------------------------|--------|
| Aceto_1 | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-1 |
| Aceto_2 | <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-01 |
| Aceto_3 | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-2 |
| Aceto_4 | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-3 |
| Aceto_5 | <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-02 |
| Aceto_6 | <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-03 |
| Aceto_7 | <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-04 |
| Aceto_8 | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-4 |
| Aceto_9 | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-5 |
| Aceto_10 | <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-6 |

집락(colony)의 형태적인 특징과 투명한 등을 관찰한 결과 투명 환을 형성하는 10종의 집락이 순수 분리 되었다. 집락은 그람음 성이었고, 형태는 간균이었으며, 색깔은 흰색을 띄고, 불투명한 특징이었다.

분리 균주의 동정을 위해 정확히 일치하는 염기서열을 BLAST 한 결과 *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter pomorum* 등과 같은 초산균의 16S rRNA와 일치하는 것으로 나타났다. 즉, 분리균 주 모두 *Acetobacter* 속으로 동정되었으나 정확한 species는 확인하기 어려움이 있어 *Acetobacter pasteurianus* 균주를 각각 *Acetobacter pasteurianus* IWV-1,2,3,4,5 및 6으로 명명하였고, *Acetobacter pomorum* 균주를 각각 *Acetobacter pomorum* IWV-01, 02, 03 및 04로 명명하였다(Table 1). 분리균주 10종의 염기서열은 모두 다른 것으로 확인이 되었으나 초산 생성 우수 균주로 확정된 *Acetobacter pomorum* IWV-03 균주의 염기서열만 Table 2에 나타 냈었다.

분리 동정된 10종 초산균을 유청 막걸리가 첨가된 배지에 다 시 접종하여 30°C에서 3일간 진탕배양한 후 초산 생성능을 비교 한 결과는 Table 3과 같다. 즉 10개 균주의 초산 생성능을 상대 적 활성도 %로 나타내었으며, 이 중 90% 이상의 높은 생성능이 있는 균주는 *Acetobacter pomorum* IWV-03, *Acetobacter pasteurianus* IWV-4, *Acetobacter pasteurianus* IWV-1 균주가 100, 92.35, 93.20%로 나타났다. 따라서 다른 균주에 비해 초산 생성

Table 2. 16S rRNA partial sequencing of *Acetobacter pomorum* IWV-03

| Sample | Primer | Nucleotide sequence |
|--------|--------|---|
| | 785F | GCAAGGGTCGATGTGTGCTAGATGTTGGGTGACTTAGTCATTAGTCGTCGAGTTAACGCGTTAAGCACACCG CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGTGGAGCATG TGGTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGGGCTTGAATGTAGAGGCTGCAAGCAGAGATGTTT TTTCCCGCAAGGGACCTCTAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGTCTGTCGTCGAGATGTTGGGTTAA GTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTTTAGTTGCCATCAGGTTGGGCTGGGCACTTAGAGAGACTGCCG GTGACAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCTCATGGCCCTTATGTCCTGGGCTACACACGTGC TACAATGGCGGTGACAGTGGGAAGCTAGGTGGTGACACCATGCTGATCTCTAAAAGCCGTCAGTTCGGAT TGCACCTGCAACTCGAGTGCATGAAGGTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATAC GTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTGACCTTAAAGCCGGTGAGCGAACC GCAAGGACGCGAGCCGACCGTCCGGTCCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGTTAAC- CGTAAAGTGGGTAGATTTGAAATTTGTTTCGTTTT |
| IWV-03 | 907R | CCAAGTCGGGACTCCAGGCGGTGTGCTTAAACGCGTTAACTGCGACACTGAATGACTAAGTCACCCAACATC TAGCACACATCGTTACAGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAG CGTCAGTAATGAGCCAGGTTGCCGCTTCGCCACCGGTGTTCTTCCCAATATCTACGAATTCACCTCTACAC TGGGAATTCACAACCCTCTCTCACTCTAGTCTGCACGTATCAAATGCAGTCCCAGGTTAAGCCCCGGG ATTCACATCTGACTGTACAAACCGCTACACGCCCTTACGCCAGTCATTCCGAGCAACGCTAGCCCCCT TCGTATTACCGCGGTGCTGGCACGAAGTTAGCCGGGGCTTCTTCTACGGGTACCGTCATCATCGTCCCCGTC GAAAGTGCTTTACAATCCGAAGACCTTCTTACACACCGCGGCATTGCTGGATCAGGTTGCCCCATTGTCC AATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGCCGTGTCAGTCCCAGTGTGGTGCATCCTCTCA AACCAGTATTGATCATCGCCTTGGTAGGCCTTACCCCACTAGCTAATCAAACGCAGGCTCCTCCAC AGGCGACTTGCGCCTTTGACCCTCAGGTGTCATGCGGTATTAGCACCAGTTTCCAGTGTATCCCCACCC ATGGATAGATACCTACGCGTACTACCCGTCGCCACTAAGCCGAAACCTTCGTGCGACTTGCATGTGTTA AGCATGCCGCCAGCGTTCGCTCTGAGCCAGATCCAAACTCTAACGGGGAGAGGGTAACGAGGTTGGCGGGA |

Table 3. Acetic acid production and relative activities of isolated 10 strains

| Acetobacter species | | Acidity (%) | Relative activity (%) |
|---------------------------------|--------|-------------------------|-----------------------|
| <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-1 | 4.35±0.02 ¹⁾ | 92.35 |
| <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-01 | 3.08±0.03 | 65.39 |
| <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-2 | 3.31±0.01 | 70.27 |
| <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-3 | 3.21±0.02 | 68.15 |
| <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-02 | 3.21±0.02 | 68.15 |
| <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-03 | 4.71±0.01 | 100.00 |
| <i>Acetobacter pomorum</i> | IWV-04 | 3.23±0.01 | 68.57 |
| <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-4 | 4.39±0.01 | 93.20 |
| <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-5 | 3.15±0.03 | 66.87 |
| <i>Acetobacter pasteurianus</i> | IWV-6 | 3.28±0.03 | 69.63 |

¹⁾All values are mean±SD.

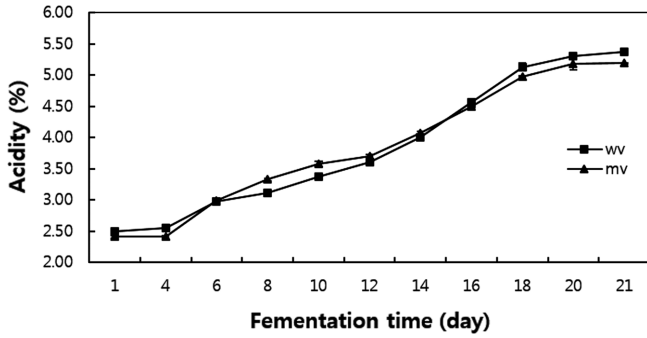


Fig. 2. Changes in acidity of vinegars during fermentation at 30°C. WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

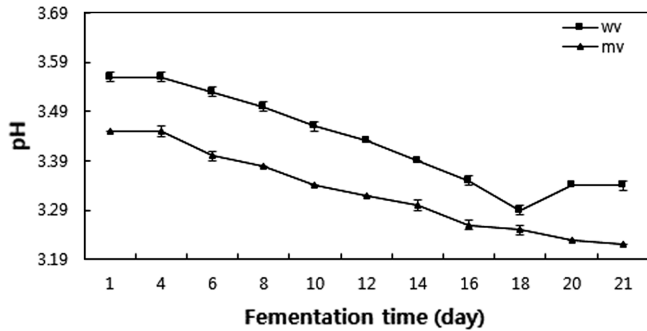


Fig. 3. Changes in pH of vinegars during fermentation at 30°C. WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

능이 가장 우수한 *Acetobacter pomorum* IWV-03 균주를 유청 발효식초 제조용 우수 균주로 최종 선정하였다.

식초의 발효 특성

유청 막걸리 식초의 발효기간에 따른 산도변화는 Fig. 3과 같다. 각 시료의 초기 산도를 2.5% 정도로 조정해 식초를 담금 하였고, 정치 배양 하면서 초산 발효를 하였다. 발효 기간에 따른 산도의 변화는 발효 4일째부터 증가하였고 발효 21일까지 초산 함량이 증가하였다. 시료구별 산도는 대조구로 사용한 일반 막걸리로 제조한 식초가 발효 6일째부터 발효 14일째 까지 높은 함량을 보였으나, 14일째 이후부터는 유청 막걸리로 제조한 식초가 높은 함량을 보였으며 발효 종료 지점인 21일째의 산도는 유청 막걸리 식초 5.6%, 막걸리 식초 5.1%의 초산 함량이 나타났다. 이러한 결과는 유청을 첨가한 막걸리의 초산 발효가 정상적으로 진행 되었다 것을 보여주는 결과로서 식초 제조에 적합한 소재로 확인 되었다. 초산의 경우 총산 함량을 좌우하는 품질관정의 지표가 되며(25) 본 연구의 식초에 대한 초산 함량은 식품공전(26)에서 고시한 초산 함량 규격 4.0-20.0 w/v에 적합하였다.

유청 막걸리 식초의 발효기간에 따른 pH 변화는 Fig. 4와 같다. 식초 제조 직후 pH는 유청 막걸리로 제조한 식초가 3.56, 일반 막걸리로 제조한 식초의 pH는 3.45로 유청 막걸리로 제조한 식초의 시료구의 pH가 더 높았다. 발효 10일경에는 두 시료구의 pH는 완만히 감소하여 유청 막걸리로 제조한 식초의 pH 3.46, 일반 막걸리로 제조한 식초의 pH 3.34로 나타났으며, 발효 21일까지도 지속적으로 감소하는 경향을 보였다. Lee 등(27)은 초산생성이 증가됨에 따라 pH는 감소한다고 보고하여 본 연구의 pH의 감소의 경향과 일치하였으며, Yoon(28)은 발효가 진행됨에 따라 ethanol이 ester 등과 같은 향미성분을 형성하여 pH가 약간 증가할 수 있다

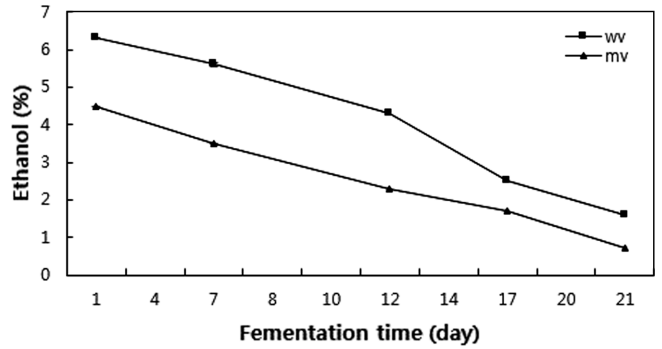


Fig. 4. Changes in ethanol content of vinegars during fermentation at 30°C. WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

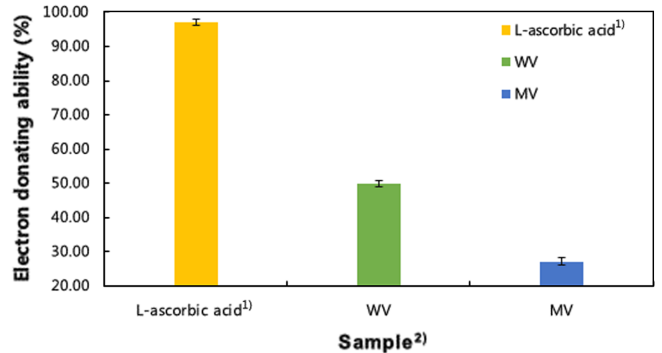


Fig. 5. Electron donating ability in vinegar using prepared using whey makgeolli and commercial makgeolli. ¹⁾L-ascorbic acid 0.5 mg/mL, ²⁾WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

고 보고하여 유청 막걸리로 제조한 식초의 pH가 발효 후기에 약간 증가 후 다시 감소하는 것으로 본 연구와 일치하였다.

유청 막걸리 식초의 발효 기간에 따른 에탄올(ethanol) 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 발효가 시작된 후 1일째 에탄올 함량은 유청 막걸리로 제조한 식초가 일반 막걸리로 제조한 식초의 알코올 함량에 비해 높게 나타났다. 또한 21일 간의 발효 기간 동안 일반 막걸리로 제조한 식초에 비해 유청 막걸리로 제조한 식초의 에탄올 함량이 지속적으로 높게 나타났다. 발효가 완료된 지점인 발효 21일째의 에탄올 함량은 유청 막걸리로 제조한 식초가 1.6%, 일반 막걸리로 제조한 식초 0.7%의 함량을 보였다. 일반적으로 에탄올의 함량 4-8%에서 초산 발효가 진행되는데 Hong 등(29)은 복분자 식초의 초기 에탄올 함량을 4, 6, 8%로 설정 하였을 때 6%의 초기 에탄올 함량에서 높은 산도를 나타내었다고 보고하였으며, Ko 등(30)의 보고에서도 초기 에탄올의 함량이 6%일 때 가장 높은 수율을 얻었다고 보고하였다. 에탄올 성분은 발효를 통해 초산으로 전환되는 물질이다. 하지만 에탄올 함량이 높다고 해서 항상 초산 생성량이 높은 것은 아니다. 이러한 이유는 발효 환경 및 발효 조건에 따라 발효 정도가 다르기 때문이다. 따라서 일반 막걸리로 제조한 식초의 에탄올 함량이 유청 막걸리로 제조한 식초의 에탄올 함량 보다 낮았으나 초산 함량은 높지않은 것은 이러한 이유로 인해 나타난 결과로 판단된다.

색도

유청 막걸리 식초의 색도 측정 결과는 Table 4와 같다. 명도를 나타내는 L값은 유청 막걸리로 제조한 식초 77.35로 일반 막걸

Table 4. The Hunter's color value of vinegar prepared using whey makgeolli and commercial makgeolli

| Sample | Hunter's color value | | |
|------------------|--------------------------|-----------|------------|
| | L | a | b |
| WV ¹⁾ | 77.35±0.30 ²⁾ | 1.58±0.06 | 24.34±0.00 |
| MV | 70.80±0.01 | 2.31±0.03 | 22.44±0.01 |

¹⁾WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

²⁾All values are mean±SD.

Table 5. The content of minerals in vinegars prepared using whey makgeolli and commercial makgeolli

| Mineral element (mg%) | WV ¹⁾ | MV |
|-----------------------|---------------------------|-------------|
| Calcium | 205.75±2.35 ²⁾ | 173.08±1.38 |
| Potassium | 9.69±0.47 | 7.70±0.46 |
| Sodium | 5.17±0.24 | 2.82±0.25 |
| Magnesium | 0.84±0.02 | 0.55±0.01 |
| Iron | 0.02±0.00 | 0.02±0.00 |
| Zinc | 0.02±0.00 | 0.02±0.01 |

¹⁾WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

²⁾All values are mean±SD.

리로 제조한 식초 70.80보다 높게 나타났고, 적색도를 나타내는 a값은 일반 막걸리로 제조한 식초가 2.31로 유청 막걸리로 제조한 식초 1.58보다 높았다. 황색도를 나타내는 b값은 유청 막걸리로 제조한 식초가 24.34로 일반 막걸리로 제조한 식초 22.44보다 더 높아 전체적으로 비교했을 때 두 시료구간의 L, a, b값은 약간의 차이가 있는 것으로 나타났다. Woo 등(31)은 현미 막걸리의 색도를 측정할 결과 부원료인 누룩의 종류에 따라 색도가 차이가 난다고 보고하였고, Baek 등(32)은 현미 식초 제조 관련 연구에서 식초의 색도 차이가 누룩 제조시 접종한 사상균에 의한 차이가 아니고, 사용된 원료에 따라 차이가 발생한다고 보고하였다. 본 연구에서는 유청이 첨가된 막걸리 식초와 일반 막걸리로 제조한 식초의 색도 차이로써 Baek 등(32)이 보고한 원료의 차이에 의한 색도 차이로 판단된다.

무기성분 함량

유청 막걸리 식초의 무기성분 함량은 Table 5와 같다. 식초의 무기성분은 유청 막걸리와 일반 막걸리의 첨가에 따라 차이가 있었는데 calcium의 경우 유청 막걸리 식초가 205.75 mg%, 일반 막걸리 식초가 173.08 mg%로 유청 막걸리로 제조한 식초의 함량이 더 높았으며 potassium의 경우 유청 막걸리 식초 9.69 mg%, 일반 막걸리 식초 7.70 mg%로 유청 막걸리로 제조한 식초가 더 높은 함량을 나타내었다. Sodium과 magnesium 또한 유청 막걸리 식초 5.17, 0.84 mg%, 일반 막걸리 식초 2.82, 0.55 mg%로 유청 막걸리로 제조한 식초가 더 높은 함량을 나타내었다. 그 외 iron과 zinc는 각각 0.02 mg%로 미량 검출되었다. Johansen 등(33)은 유청의 무기성분 중 potassium의 함량이 calcium의 함량보다 높은 함량을 나타낸다고 보고하였으나 본 연구에서는 calcium이 다른 무기성분보다 더 높은 함량을 나타내었다. 이는 유청 막걸리와 일반 막걸리로 식초를 제조할 시 막걸리에 함유된 쌀, 누룩, 밀 등의 첨가물에 의한 차이로 사료된다.

유기산 함량

유청 막걸리 식초의 유기산 분석 결과는 Table 6과 같다. 유기

Table 6. The contents of organic acids in vinegar prepared using whey makgeolli and commercial makgeolli

| Organic acids (mg%) | WV ¹⁾ | MV |
|---------------------|--------------------------|----------------|
| Oxalic acid | 42.13±0.97 ²⁾ | 48.66±1.06 |
| Tartaric acid | 20.44±0.41 | 19.71±1.01 |
| Malic acid | 40.29±0.09 | 41.67±0.14 |
| Acetic acid | 5,125.91±6.74 | 4,687.03±10.85 |
| Lactic acid | 136.70±0.42 | 108.35±0.84 |
| Citric acid | 88.52±0.66 | 69.28±0.32 |
| Total organic acids | 5,453.99 | 4,974.70 |

¹⁾WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

²⁾All values are mean±SD.

Table 7. The content of free amino acids in vinegars prepared using whey makgeolli and commercial makgeolli

| Components (mg%) | WV ¹⁾ | MV |
|-------------------|-------------------------|--------------|
| Aspartic acid | 6.96±0.06 ²⁾ | 17.60±1.55 |
| Serine | 350.82±14.90 | 244.50±17.40 |
| Glutamic acid | 573.36±7.31 | 452.90±49.41 |
| Glycine | 318.34±13.03 | 255.96±32.78 |
| Histidine | 145.72±6.60 | 101.59±3.77 |
| Arginine | 510.38±20.84 | 363.09±24.46 |
| Threonine | 209.10±6.03 | 164.68±22.35 |
| Alanine | 1,051.79±109.68 | 944.95±85.84 |
| Proline | 505.66±28.46 | 451.35±44.07 |
| Tyrosine | 251.38±41.73 | 173.82±12.41 |
| Cystine | 21.05±0.84 | 11.55±0.67 |
| Valine | 424.24±25.02 | 306.24±28.95 |
| Methionine | 144.32±24.81 | 98.46±19.67 |
| Lysine | 330.93±30.63 | 239.79±9.96 |
| Isoleucine | 280.27±30.15 | 204.66±27.01 |
| Leucine | 561.04±70.95 | 391.33±60.62 |
| Tryptophane | 7.19±0.28 | 4.54±0.16 |
| Phenylalanine | 104.25±14.04 | 75.04±3.49 |
| TAA ³⁾ | 5,796.80 | 4,502.05 |
| EAA ⁴⁾ | 2,061.34 | 1,484.74 |

¹⁾WV: whey makgeolli vinegar, MV: makgeolli vinegar.

²⁾All values are mean±SD.

³⁾Total free amino acid.

⁴⁾Essential amino acid (Thr+Val+Met+Ile+Leu+Phe+Lys+Typ).

산은 총 6종으로 옥살산(oxalic acid), 타타르산(tartaric acid), 말산(malic acid), 아세트산(acetic acid), 젖산(lactic acid), 시트르산(citric acid)이 검출되었다. 총 유기산 함량은 유청 막걸리 식초 5,453.99 mg%로 일반 막걸리 식초 4,974.70 mg%에 비해 높은 함량을 나타내었다. 유청 막걸리 식초와 일반 막걸리 식초의 acetic acid 함량은 5,125.91 mg%와 4,687.03 mg%로 주요 유기산임을 확인하였다. Kim 등(34)은 유청의 주요 유기산은 citric acid로 lactic acid보다 더 높은 함량이 나타났다고 보고하였다. 하지만 유청 막걸리 식초의 lactic acid와 citric acid 함량은 136.70 mg%와 88.52 mg%, 일반 막걸리 식초의 lactic acid 108.35 mg%, citric acid 69.28 mg%로 본 연구에서는 lactic acid의 함량이 citric acid의 함량 보다 더 높게 나타났다. Lee(35)의 보고에 따르면 막걸리 제조 시 미생물의 발효를 통해 lactic acid는 증가하고 citric acid는 감소한다고 보고하였다. 본 연구에서 또한 유청을 첨가해 발효시

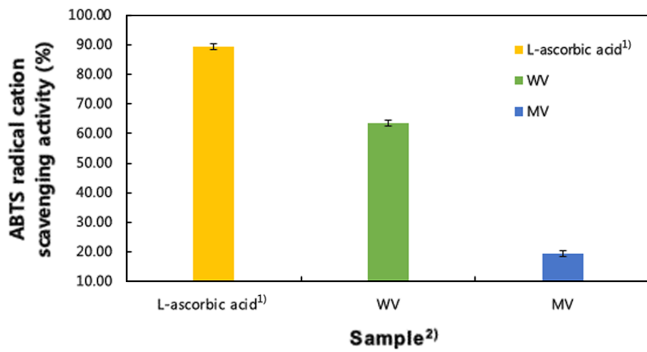


Fig. 6. The ABTS radical cation scavenging in vinegar using prepared using whey *makgeolli* and commercial *makgeolli*. ¹⁾L-ascorbic acid 0.5 mg/mL, ²⁾WV: whey *makgeolli* vinegar, MV: *makgeolli* vinegar.

킨 막걸리를 활용한 식초로써 유기산의 조성이 바뀌어 나타난 결과로 판단된다.

유리아미노산 함량

유청 막걸리 식초의 유리아미노산 함량을 분석한 결과는 Table 7와 같다. 총 아미노산 함량은 유청 막걸리로 제조한 식초 5,905.19 mg%, 일반 막걸리로 제조한 식초 4,529.71 mg%로 유청 막걸리로 제조한 식초에서 높은 함량을 보였다. 또한 필수아미노산 6종이 검출되었으며 6종의 함량은 유청 막걸리로 제조한 식초 2,061.34 mg%, 일반 막걸리로 제조한 식초 1,484.20 mg%로 각각 총 유리아미노산 함량의 38.1%, 32.7%를 차지하는 것으로 유청 막걸로 제조한 식초에서 더 높은 함량을 보였다. 유청 막걸리로 제조한 식초의 아미노산 종류에 따른 함량을 비교해 보면 alanine이 1,051.79 mg%로 가장 높았으며 glutamic acid가 573.36 mg%로 다음으로 높았다. 그 외 필수아미노산 6종에서 leucine 561.04 mg%, valine 424.24 mg%, lysine 330.93 mg%, isoleucine 280.27 mg%, threonine 209.10 mg% 및 phenylalanine 104.25 mg% 순으로 높은 함량을 나타내었다. Kim 등(34)은 유청과 유청 막걸리의 주요 아미노산은 glutamic acid가 가장 많은 함량을 차지한다고 보고하였으나 Yulkimichi 등(36)은 식초의 초산발효가 진행됨에 따라 초산균에 의해 아미노산이 자화하여 glutamic acid, asparic acid의 감소가 크다고 보고되어 본 연구와 일치하는 경향이 나타났다.

DPPH free radical 소거활성

유청 막걸리 식초와 일반 막걸리 식초의 항산화 활성을 알아보기 위하여 DPPH free radical 소거능을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. DPPH free radical 소거능의 경우 유청 막걸리 식초가 49.85%의 전자공여능을 나타내었으며 일반 막걸리 식초의 경우 27.20%로 유청 막걸리로 제조한 식초가 2배 정도 높은 전자공여능을 나타내었다. Anne(37)은 우유에서 유래된 단백질 조성이 친수성 아미노산, proline, histidine, tyrosine 및 tryptophan을 포함하는 5-11개의 아미노산으로 구성 될 시 높은 항산화 활성을 가진다고 보고하여 본 연구의 유청 막걸리로 제조한 식초의 유리 아미노산 조성고 일치하는 경향을 보였으며 그에 따른 결과로 사료된다.

ABTS radical 환원력

유청 막걸리 식초와 일반 막걸리 식초의 ABTS radical 환원력

을 측정된 결과는 Fig. 7과 같다. 유청 막걸리 식초의 ABTS radical 환원력은 63.46%로 나타났으며 일반 막걸리 식초의 ABTS radical 환원력은 19.22%로 유청 막걸리로 제조한 식초가 일반 막걸리로 제조한 식초에 비해 3배 정도 높은 ABTS radical 환원력을 보였다. Awika 등(38)의 보고에 따르면 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 환원력은 매우 유사한 경향이 나타난다 하였다. 본 연구에서의 유청 막걸리로 제조한 식초의 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 환원력을 측정된 결과 또한 Awika 등(38)이 보고한 내용과 비슷한 결과를 보였다.

요 약

본 연구는 폐기 되는 유청의 새로운 처리와 소득원 창출 및 다양한 유형의 발효 식초를 개발하고자 유청 막걸리를 이용하여 초산 생성능이 우수한 초산 균주를 분리 및 동정 하고, 유청 막걸리 발효 식초 제조 및 품질특성을 확인하였다. 그 결과 초산생성 균주는 10개 균주가 선별 되었다. 균주의 동정 결과 *Acetobacter pasteurianus* 균주가 6종, *Acetobacter pomorum* 균주가 4종으로 확인 되었다. *Acetobacter pomorum* IWV-03 균주가 유청 발효식초 제조용 우수 균주로 최종 선정하였다. 유청 막걸리 식초의 산도는 유청 막걸리 식초 5.6%, 막걸리 식초 5.1%의 함량이 었다. 유청 막걸리 식초의 발효 기간에 따른 에탄올 함량은 발효 21일째의 유청 막걸리로 제조한 식초가 1.6%, 일반 막걸리로 제조한 식초 0.7%의 함량을 보였다. 유청 막걸리 식초의 색도를 전체적으로 비교했을 때 두 시료구간의 L, a, b값은 약간의 차이가 있는 것으로 나타났다. 식초의 무기성분은 유청 막걸리와 일반 막걸리의 첨가에 따라 차이가 있었는데 calcium의 경우 유청 막걸리 식초가 205.75 mg%, 일반 막걸리 식초가 173.08 mg%로 유청 막걸리로 제조한 식초의 함량이 더 높았다. 유청 막걸리 식초의 총 유기산 함량은 유청 막걸리 식초 5,453.99 mg%, 일반 막걸리 식초 4,974.70 mg%로 유청 막걸리로 제조한 식초의 함량이 더 높았으며 acetic acid가 주요 유기산임을 확인하였다. 유청 막걸리 식초의 유리아미노산 함량은 유청 막걸리로 제조한 식초가 5,905.19 mg%, 일반 막걸리로 제조한 식초 4,529.71 mg%로 유청 막걸리가 첨가된 시료구에서 높은 함량을 보였다. 또한 필수아미노산 함량도 유청 막걸리로 제조한 식초 2,061.34 mg%, 일반 막걸리로 제조한 식초 1,484.20 mg%로 각각 총 유리아미노산의 함량의 38.1, 32.7%를 차지하였다. DPPH radical 소거 활성은 유청 막걸리 식초 49.85%, 일반 막걸리 식초 27.20%로 유청 막걸리로 제조한 식초에서 높은 활성을 보였으며 ABTS radical 환원력은 DPPH radical 소거 활성 측정 결과와 마찬가지로 유청 막걸리 식초 63.46%, 일반 막걸리 식초 19.22%로 유청 막걸리로 제조한 식초가 일반 막걸리로 제조한 식초에 비해 환원력이 더 높게 나타났다. 이를 토대로 유청 막걸리를 이용하여 식초를 제조할 경우 유청의 새로운 처리와 식초 개발 연구를 통한 식초의 다양화 및 고급화 기여에 적합할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 전라북도 고부가가치식품 가공기술개발지원 사업(고부가17-12)으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Kim HU. Milk processing technology: Based process · manufac-

- ture of milk product. 3rd edition. Sun Jin Publishing Co., Seoul, Korea. p. 517 (1999)
2. Ronsivalli LJ, Vieira ER. Elementary food science. 3rd edition. Van Nostrand Reinhold Co., New York, NY, USA. p. 226 (1990)
 3. Visser S. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins. A review. *Neth. Milk Dairy J.* 35: 65 (1981)
 4. Kosikowski FV. Whey utilization and whey products. *J. Dairy Sci.* 62: 1149-1155 (1979)
 5. Abubakar A, Saito T, Kitazawa H, Kawai Y, Itoh T. Structural analysis of new antihypertensive peptides derived from cheese whey protein by proteinase K digestion. *J. Dairy Sci.* 81: 3131-3138 (1998)
 6. Evans M, Gordon JF. Whey proteins applied protein chemistry. Applied Science publishers LTD, London, UK. pp. 31-67 (1980)
 7. Mathur B.N, Shahani K.M. Use of total whey constituents for human food. *J Dairy Sci.* 62: 99-105 (1979)
 8. Ernest JM. Whey utilization in foods. *Int Dairy J.* 47: 22-23 (1982)
 9. Woo SM, Jo YJ, Lee SW, Kwon JH, Yeo SH, Jeong YJ. Quality comparison of static-culture and commercial brown rice vinegar. *Korean J. Food Preserv.* 19: 301-307 (2012)
 10. Jo JS. The types and characteristics of vinegar. *Korean J. Food Sci. Technol.* 17: 38-60 (1984)
 11. Yoon HN. Simultaneous gas chromatographic analysis of ethanol and acetic acid in vinegar. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1247-1251 (1998)
 12. Casale M, Saiz Abajo MJ, Gonzalez Saiz JM, Pizarro C, Forina M. Study of the aging and oxidation processes of vinegar samples from different origins during storage by near-infrared spectroscopy. *Anal. Chim. Acta.* 557: 360-366 (2006)
 13. Joo KH, Cho MH, Park KJ, Jeong SW. Effects of fermentation method and brown rice content on quality characteristics of brown rice vinegar. *Korean J. Food Preserv.* 16: 33-39 (2009)
 14. Kim MY, Min SG. Effect of inoculation level of starter culture (*Acetobacter aceti*) and acetic acid addition on fermentation of makgeolli vinegar. MS Thesis. Konkuk University, Seoul, Korea. (2011)
 15. Shin JA, Oh NS. Optimization of fermentation process for acetic acid production. *Food Engineer. Prog.* 14: 217-221 (2010)
 16. Cha YJ, Park KJ, Kim DK, Chun HS, Lee BK, Kim KH, Lee SY and Kim SJ. Isolation and characterization of cellulose producing *Acetobacter xylinum* K1 strain. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22: 571-576 (1994)
 17. Wan M, Rosenberg JN, Faruq J, Betenbaugh MJ, Xia J. An improved colony PCR procedure for genetic screening of *Chlorella* and related microalgae. *Biotechnol Lett.* 33: 1615-1619 (2011)
 18. Woo SJ, Ryoo SS. Preparation methods for atomic absorption spectrometry of food samples. *Korean J. Food Sci. Technol.* 15: 225-230 (1983)
 19. Gancedo MC, Luh BS. HPLC analysis of organic acids and sugar in tomato juice. *J. Food Sci.* 51: 571-580 (1986)
 20. Ohara I, Ariyoshi S. Comparison of protein precipitants for the determination of free amino acid in plasma. *Agric. Biol Chem.* pp. 1473-1478 (1979)
 21. Abe N, Nemoto A, Tsuchiya Y, Hojo H, Hirota A. Study of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging mechanism for a 2-pyrone compound. *Biosci. Biotech. Biochem.* 64: 306-333 (2000)
 22. Yamachuchi T, Takamura H, Matobe T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotech. Biochem.* 62: 1201-1204 (1998)
 23. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a table green radical. *Nature* 26: 1199-1744 (1958)
 24. Roberta R, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radic. biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
 25. Yeo SH, Jeong YJ, Kwon JH. Quality comparison of commercial cider vinegars by their acidity levels. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 699-703 (2012)
 26. KEDA. Korea food standard code. Korea Food and Drug Administration. Cheongwon, Korea. pp 5-21-1 (2012)
 27. Lee SW, Kwon JH, Yoon SR, Woo SM, Jang SY, Yeo SH, Choi JH, Jeong YJ. Quality characteristics of brown rice vinegar by different yeasts and fermentation condition. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1366-1372 (2010)
 28. Yoon JR. Quality characteristics of vinegar added with sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaf extract and berry juice by different fermentation methods. PhD Thesis. Myongji University, Seoul, Korea (2014)
 29. Hong SM, Kang MJ, Lee JH, Jeong JH, Kwon SH, Seo KI. Production of vinegar using *Rubus coreanus* and its antioxidant activities. *Korean J. Food Preserv.* 19: 594-603 (2012)
 30. Ko EJ, Hur SS, Choi YH. The establishment of optimum cultural conditions for manufacturing garlic vinegar. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 102-110 (1998)
 31. Woo SM, Shin JS, Seong JH, Yeo SH, Choi JH, Kim TY, Jeong YJ. Quality characteristics of brown rice makgeolli by different nuruks. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 301-307 (2010)
 32. Baek CH, Choi JH, Choi HS, Jeong ST, Kim JH, Jeong YJ, Yeo SH. Quality characteristics of brown rice makgeolli produced under differing conditions. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 41: 168-175 (2013)
 33. Johansen AG, Vegarud GE, Skeie S. Seasonal and regional variation in the composition of whey from norwegian cheddar-type and dutch-type cheeses. *Int Dairy J.* 12: 621-629 (2002)
 34. Kim SH, Huh CK, Kim SM, Cho IK, Kim YD. Quality characteristics of whey makgeolli by *Kluyveromyces marxianus*. MS Thesis. Suncheon University, Suncheon, Jeonnam, Korea. (2015)
 35. Lee HS. Quality characteristics of Takju prepared by cooked and uncooked rice. MS Thesis. Chungju National University, Chungju, Chungbuk, Korea (2009)
 36. Yulkimichi K, Yasuhiro U, Fujihara Y. The general composition inorganic cations free amino acids and organic acid of special vinegars. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 34: 592-598 (1987)
 37. Anne Pihlanto. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy J.* 16: 1306-1314 (2006)
 38. Awika JM, Rooney LW, Wu X, Prior RL, Cisneros-Zevallos L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (Sorghum bicolor) and sorghum products. *J. Agr. Food Chem.* 51: 6657-6662 (2003)