

Research Note

한국전통 누룩에서 분리한 *Wickerhamomyces anomalus* SC-1의 양조특성

최진훈 · 김계원¹ · 이희윤² · 박천석² · 심재용*

국립한경대학교 식품생물공학과 및 글로벌 K푸드 연구센터,
¹국립한경대학교 양조연구센터, ²경희대학교 식품생명공학과

Brewing Characteristics of *Wickerhamomyces anomalus* SC-1 Isolated from Korean Traditional Nuruk

Jin Hoon Choi, Gye Won Kim¹, Hee Yoon Lee², Cheon Seok Park², and Jae-Yong Shim*

Department of Food & Biotechnology and Global K-Food Research Center, Hankyong National University,

¹Brewing Research Center, Hankyong National University

²Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University

Abstract

The brewing and sensory properties of Korean traditional alcohol beverage are greatly influenced by yeast acting as alcohol fermentation microorganism. Therefore, this study investigated the brewing characteristics of *Wickerhamomyces anomalus* SC-1, non-*Saccharomyces cerevisiae* isolated from Korean traditional Nuruk. *Ipguk* and Nuruk were used for fermentation agents. Alcohol content was not significantly different between SC-1 and *S. cerevisiae* widely used in the market. Fermentable sugars were consumed more rapidly in the case of *W. anomalus* SC-1 than *S. cerevisiae*. Acidity in *Ipguk* treatment was higher than that of Nuruk throughout the fermentation period regardless of types of yeast. Citric acid was major organic acid in *Suldut* treated with *Ipguk*, whereas, lactic acid was major in *Suldut* treated with Nuruk in both yeasts. These results suggest that *W. anomalus* SC-1 showed the possibility for the use of new wild yeast strain as a candidate in simultaneous two-step fermentation for brewing Korean traditional alcohol beverage.

Key words: *Wickerhamomyces anomalus*, brewing characteristics, simultaneous two-step fermentation, *suldut*

서 론

우리나라 전통주류의 제조는 병행발효 방식의 양조 방법이 적용되는데 원료로는 곡물과 누룩이 주로 사용된다. 전통누룩의 제조는 무증자 또는 증자 곡물을 분쇄한 다음 자연환경에 분포하는 곰팡이, 효모, 세균 등 다양한 미생물들이 관여하여 이루어지는 것이 일반적이다. 곰팡이의 생육에 따라 생성되는 α -amylase, β -amylase, glucoamylase 등과 같은 당화 효소에 의한 전분의 당화와 효모의 알코올 발효로 인한 병행발효 방식으로 알코올이 생성되는 것으로 알려져 있다(So, 1995).

병행발효 술덧 양조 시 효모 사용에 관한 연구는 효모

의 종류를 달리한 탁주 술덧의 휘발성 향기 성분(Lee et al., 2007), 누룩에서 분리한 효모를 이용한 찹쌀 발효주의 이화학적 특성 및 휘발성 향기 성분(Kim et al., 2009), 효모 종류를 달리한 탁주 술덧의 품질특성(Lee et al., 2010) 등 많은 연구가 있지만 주로 *Saccharomyces cerevisiae*를 사용한 연구가 대부분이며, *S. cerevisiae* 외에 전통누룩에서 분리한 효모에 대한 연구로는 충청남도 공주 지역에서 수집한 누룩에서 분리한 *Pichia anomala* Y197-13에 대한 병행발효 연구 결과가 보고되어 있을 뿐이다(Kim et al., 2012). *P. anomala*는 현재 *Wickerhamomyces anomalus*로 속명이 변경되었고(Kurtzman, 2011) European Safety Authority (EFSA)에 의하여 안전성(Qualified Presumption of Safety, QPS)이 인정되어 있는 것으로 알려져 있다(Sundh & Melin, 2011). 다양한 소스로부터 분리해낸 *W. anomalus*의 양조특성에 대한 연구로는 감 등의 과실류에서 분리한 *W. anomalus*의 감과 사과를 기질로 사용한 발효 시 알코올 생성능과 휘발성 ester 화합물 등에 대한 연구(Kim et al., 2019), 중국 백주 양조 시 사용되는 전통 발효 starter인 *Daqu*로부터 분리한 *W. anomalus*와 *S. cerevisiae*의 혼합사

*Corresponding author: Jae-Yong Shim, Department of Food & Biotechnology and Global K-Food Research Center, Hankyong National University, 327 Jungang-ro, Anseong-si, Gyeonggi-do, 17579, Republic of Korea

Tel: +82-31-670-5158; Fax: +82-31-670-5159

E-mail: jyshim@hknu.ac.kr

Received August 13, 2019; revised August 20, 2019; accepted August 20, 2019

용 양조 시 중국 백주의 품질에 큰 영향을 끼치는 ethyl acetate 함량 증가 및 조절에 대한 연구(Fan et al., 2019), 포도 또는 와인에서 분리된 *W. anomalus*가 와인 양조 시 유해 미생물의 생육 억제 활성, protease와 glucosidase 등의 효소와 acetate ester 류의 생성 및 *S. cerevisiae*와의 혼합 발효에 대한 연구(Padilla et al., 2018) 및 *W. anomalus*가 생산하는 glycanase와 glycosidase 등의 효소 가수분해 산물의 와인 품질 개선(Schwentke et al., 2014) 등에 대한 연구 등이 있고, 그 외 과실류 등의 수확 후 변패를 초래하는 미생물에 대한 억제 활성 및 품질 조절 등에 대한 연구결과가 알려져 있으나 (Platania et al., 2012; Parafati et al., 2015; Grzegorzczak et al., 2017; Contarino et al., 2019) 전통주 발효와 관련한 연구는 보고된 바가 없다. 현재 유통되고 있는 전통주 대부분은 당화제로 입국과 개량 누룩을 사용하고, 산업용 *S. cerevisiae*를 알코올 발효에 적용하는 병행발효 방식의 획일화된 양조방법으로 제조되고 있는 상황이므로 중국의 백주와 와인에서와 같이 알코올 발효에 적용 가능한 새로운 야생효모를 찾아 주질 다양성 확보 및 이를 통한 차별화된 전통주 제조 가능한 근거를 마련하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 대한민국 강원도 삼척 지역에서 수집한 누룩에서 새로운 야생효모를 분리·동정하고 이 효모를 사용하여 병행발효 술덧의 양조를 실시하여 발효 생성물 profile 및 유기산 조성 분석을 통한 알코올 발효 특성을 조사하여 전통주 제조를 위한 적합성을 확인하고자 하였으며, 이를 통해 새로운 관능품질의 전통주 제조가 가능할 것으로 생각된다.

재료 및 방법

균주 분리

수집된 전통 누룩(Samcheok, Korea)을 분쇄한 다음 10 g을 0.1% peptone (Difco) 90 mL에 현탁한 후 단계적으로 10^{-2} - 10^{-7} 배 희석하고 희석한 현탁액 100 μ L씩을 분리용 potato dextrose agar (PDA, Difco, Detroit, MI, USA) 평판배지에 도말하여 25°C에서 2일 배양한 다음 단일 균 집락을 PDA 평판 배지를 사용하여 25°C에서 2일, 2회 계대 배양하여 분리하였다.

균주 동정

분리된 균주를 10 mL의 potato dextrose broth (PDB, Difco) 배지에서 2일간 배양한 뒤 filter paper (No. 1, Whatman, Kent, UK)를 통과시켜 균 배양체를 분리하였다. 분리된 균 배양체는 액체 질소를 첨가하여 막자사발을 사용하여 분쇄하였다. 분쇄액 200 μ L에 lysis buffer (200 mM Tris-HCl pH 8.5, 25 mM EDTA 및 0.5% SDS) 500 μ L와 500 μ L의 phenol/chloroform/isoamyl alcohol (25:24:1)

을 첨가하여 13,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액 600 μ L에 3 M의 sodium acetate 60 μ L와 isopropyl alcohol 360 μ L를 첨가하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 뒤 침전된 DNA는 500 μ L의 70% ethanol을 첨가해 세척한 뒤 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 상층액을 제거하고 50°C에서 15분 방치하여 잔존하는 ethanol을 제거하였다. 이후 30 μ L의 TE-RNase (100 mM Tris-HCl pH 8.0, 10 mM EDTA, 20 μ L RNase, Qiagen, Hilden, Germany)를 첨가한 뒤, 37°C에서 15분 이상 반응시켜 RNA를 제거하여 genomic DNA를 분리한 다음 ITS1-5.8S rRNA-ITS4 영역을 universal primer인 ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')과 ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 이용해 증폭 후 증폭 산물에 대하여 0.8% agarose gel을 사용하여 전기영동을 실시하여 정제하고, Macrogen Co. (Seoul, Korea)에 sequencing을 의뢰하였다. 분석된 염기서열에 대하여 Basic Local Alignment Search Tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)을 이용하여 동정하였다

병행발효 술덧 담금 및 발효

술덧 담금에 사용한 백미는 흐르는 물에 5번 세미 후 상온에서 약 2시간 정도 물에 침지하고, 30분 동안 물을 뺀 다음 2시간 증미 후 상온에서 냉각시켜 사용하였다. 전분 당화용 발효제로는 시판 입국(Ipguk, Joeun cereal, Hwaseong, Korea)과 개량누룩(Bio-Nuruk, Korea Hyosowon, Hwaseong, Korea)을 사용하였고, 알코올 발효제로는 누룩에서 분리한 *W. anomalus* SC-1 배양액과 시판 *S. cerevisiae* (La parisienne, S.I Lesaffre, Paris, France)를 사용하여 담금을 실시하였다. 술덧에 사용된 재료의 함량 조건은 다음의 Table 1과 Table 2에 나타내었다. *W. anomalus* SC-1 배양액은 PDA 평판 배지에 배양한 *W. anomalus* SC-1 집락을 모아 YM 배지 300 mL에 접종 후 교반기(Shaking Incubator, HanBaek Scientific Co., Korea)를 사용하여 30°C에서 48시간동안 140 rpm의 속도로 교반 배양하여 준비하였다. 입국을 사용한 담금은 25°C에서 48시간 동안 주모 발효 후 1단 담금을 실시하였고, 1단 담금 후 25°C에서 24시간 동안 발효 후 2단 담금을 실시한 다음 25°C로 품온을 유지하면서 발효를 실시하였으며, 개량누룩을 사용한 담금은 주모 담금 없이 1단 담금을 실시하고 25°C에서 24시간 동안 발효 후 2단 담금을 실시한 다음 25°C로 품온을 유지하면서 발효를 실시하였다.

발효 생성물 분석

병행발효 술덧의 알코올 함량은 주류분석규정(NTS, 2010)에 따라 측정하였다. 술덧을 원심분리하여 얻은 여과액 100 mL를 메스실린더에 채운 다음 500 mL 삼각플라스틱에 옮기고 30 mL 증류수로 메스실린더에 남은 여과액을

Table 1. Materials of simultaneous two-step fermentation mash using *W. anomalus* SC-1 and *S. cerevisiae* (La parisienne) with Ipguk

	<i>W. anomalus</i> SC-1			<i>S. cerevisiae</i> (La parisienne)		
	Seed Mashing	1 st Mashing	2 nd Mashing	Seed Mashing	1 st Mashing	2 nd Mashing
Ipguk (kg)	0.525	0.83	-	0.525	0.83	-
Rice (kg)	-	0.83	3.5	-	0.83	3.5
SC-1 Culture broth (mL)	300	-	-	-	-	-
Yeast powder (g)	-	-	-	2.5	-	-
Water (L)	0.288	2.49	5.25	0.588	2.49	5.25

Table 2. Materials of simultaneous two-step fermentation mash using *W. anomalus* SC-1 and *S. cerevisiae* (La parisienne) with Bio-Nuruk

	<i>W. anomalus</i> SC-1		<i>S. cerevisiae</i> (La parisienne)	
	1 st Mashing	2 nd Mashing	1 st Mashing	2 nd Mashing
Rice (kg)	2.0	4.0	2.0	4.0
Bio-Nuruk (g)	33.4	66.8	33.4	66.8
SC-1 Culture broth (mL)	600	-	-	-
Yeast powder (g)	-	-	10.0	-
Water (L)	2.4	6	3	6

1회 씻은 후 그 액을 여과액이 들어있는 500 mL 삼각플라스크에 추가로 더 넣어주었다. 그 후 플라스크를 알코올 증류기에 연결시키고 증류액이 냉각되어 나오는 관에 메스 실린더를 연결하여 증류액 80 mL를 받은 다음 100 mL가 될 때까지 증류수로 채운 다음 증류된 용액을 density meter (DMA 35, Anton Paar, Austria)를 사용하여 알코올 함량을 측정하였다. 환원당은 dinitrosalicylic acid (DNS)법 (Chae *et al.*, 2008)을 이용하여 측정하였다. 병행발효술덧을 여과하여 1 mL를 취한 후 DNS 용액을 3 mL를 첨가하고 100°C에 10-15분간 반응 시킨 다음 증류수 21 mL를 첨가하여 섞어준 후 분광광도계(Genesys 10-S, Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, USA)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고 포도당을 표준당으로 하여 환원당을 계산하였다. 적정 산도는 국제청 주류분석규정 (NTS, 2010)에 따라 여과된 시료를 정확히 10 mL을 채취하여 100 mL 삼각플라스크에 넣은 후 혼합지시약(B.T.B & N.R) 2-3 방울 떨어뜨린 다음 0.1 N 수산화나트륨 용액으로 중화 적정하며 시료의 pH가 6.85-7.0가 될 때까지 적정하면서 0.1 N 수산화나트륨 용액의 소비 mL 수치를 측정하여 산도로 하였다.

유기산 분석

Lee *et al.* (2014)의 연구결과를 참조한 post-column 방법을 적용하여 HPLC 분석을 실시하였다. 술덧 시료는 0.45 µm membrane filter를 사용하여 여과한 후 SHODEX RSpak KC-811 (8.0 mm ID×300 mm) column을 2개 연결

하여 사용하였으며 oven의 온도는 63°C, flow rate는 0.8 mL/min이었으며, 이동상은 3 mM perchloric acid이었고, injection volume은 10 µL이었다. 분리된 유기산은 reaction coil에서 0.2 mM BTB, 15 mM Na₂HPO₄, 2 mM NaOH를 사용하여 발색시켰으며, 이때 온도는 25°C, 발색용액의 flow rate는 1.0 mL/min로 하였고, 440 nm에서의 흡광도를 측정하여 검출하였다.

결과 및 고찰

균주의 분리 및 동정

수집한 전통누룩에서 얻은 현탁액을 배지에 도달한 결과 매끈한 표면의 흰색의 효모 콜로니를 관측하였고 이를 2회 계대배양하여 순수 분리되었음을 고체 배지와 현미경을 이용하여 확인하였다. 이들 균주들의 양조적성을 확인하고 그중 가장 적합한 균주를 SC-1으로 명명하였다. 이후 SC-1균주로부터 DNA를 추출하여 ITS1-5.8S rRNA-ITS4 영역을 PCR 한 결과 600 bp 가량의 예상된 DNA 단편을 획득하였으며 sequencing된 해당서열을 BLAST 프로그램(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)을 이용하여 비교·분석한 결과 NCBI에 등재된 *W. anomalus* ATCC 8168 서열과 100% 일치함을 확인하였다. 그리고 NCBI에 등재된 다른 *W. anomalus*, *S. cerevisiae*, *Candida tropicalis* 서열과 SC-1 서열을 MEGA7 프로그램(<http://www.megasoftware.net/>)을 이용해 neighbor-joining 계통수를 작성하여 비교한 결과(Fig. 1) SC-1은 다수 *W. anomalus*의 rRNA 서열과 100% 일치하였으나 *S. cerevisiae*와는 상이하였으므로 분리된 SC-1 효모는 *W. anomalus*인 것으로 동정하였다.

병행발효 술덧 중 알코올 함량

분리·동정한 *W. anomalus* SC-1과 시판 *S. cerevisiae* (La parisienne)를 각각 접종하고 발효제로 입국과 개량누룩을 사용하여 최종 발효 후 술덧의 화학적 특성 차이는 Table 3에 나타내었다. 본 실험에서 분리동정한 *W. anomalus* SC-1을 접종한 술덧의 최종 알코올 함량은 발효제로 입국과 개량누룩을 사용한 경우 각각 17.8%와 18.9%로 나타났다. 이와 같은 수치는 시판 *S. cerevisiae*를 접종하고 발

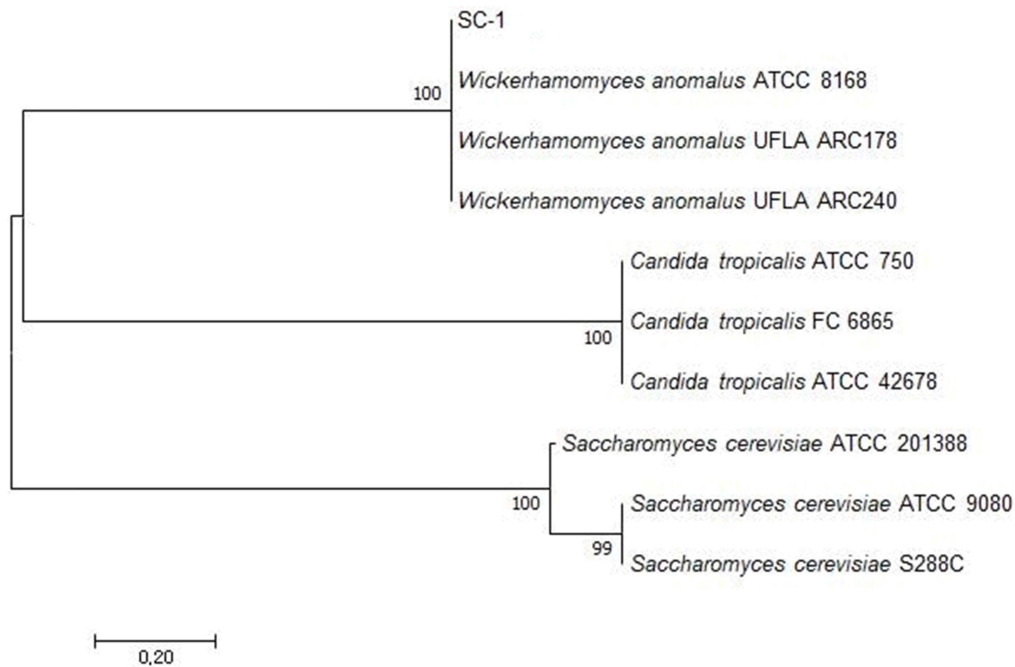


Fig. 1. Results of BLAST searching of the 5.8S rRNA region sequence of isolated yeast strain from Korean traditional *Nuruk*.

Table 3. Chemical characteristics of simultaneous two-step fermentation mash using *W. anomalous* SC-1 and *S. cerevisiae* and *S. cerevisiae* (*La parisienne*) with *Ipguk* and *Bio-Nuruk*

Yeast	FA ^{a)}	Ethyl alcohol (% v/v)	Acidity (mL)	Reducing sugar (mg/mL)	Organic acids (µg/mL)				
					Citric acid	Malic acid	Succinic acid	Lactic acid	Acetic acid
<i>W. anomalous</i> SC-1	<i>Ipguk</i>	17.8±0.2	5.2±0.1	1.3±0.1	2,174.6±60.3	157.5±7.8	1,361.2±80.2	646.8±31.7	150.6±16.1
	<i>Bio-Nuruk</i>	18.9±0.1	3.3±0.1	1.3±0.1	369.9±16.1	126.4±14.7	1,323.9±40.3	2,176.3±59.2	127.9±18.4
<i>S. cerevisiae</i> (<i>La parisienne</i>)	<i>Ipguk</i>	15.1±0.2	4.5±0.1	27.5±0.1	2,415.7±40.5	396.9±10.0	704.7±25.9	606.0±44.4	79.2±14.9
	<i>Bio-Nuruk</i>	17.6±0.2	3.6±0.0	16.5±0.3	466.2±3.1	411.7±13.1	1,113.2±20.4	1,447.3±46.9	311.0±28.1

^{a)} FA : fermentation agent

효제로 각각 입국과 개량누룩을 사용한 최종알코올 함량인 15.1%와 17.6%에 비해 높은 함량을 보였다. 따라서 전통누룩에서 분리동정한 *W. anomalous* SC-1은 기존의 시판 효모와 비교하여도 높은 알코올 발효능을 가지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 전통누룩만을 사용하는 전통적인 주류 담금에서 *S. cerevisiae* 외에 다른 종의 효모도 알코올 발효에 관여함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 발효제로 입국, 전통누룩, 개량누룩을 사용하고, 동일한 누룩에서 분리한 *S. cerevisiae*와 *P. anomala*를 접종하여 병행발효를 수행하여 *P. anomala*의 알코올 발효능에 대한 선행연구 (Kim et al., 2012) 에서도 확인된 바 있다.

환원당 함량은 *W. anomalous* SC-1를 사용하고 발효제로 입국과 개량누룩을 사용한 경우 모두 1.3 mg/mL을 나타내었고 시판 *S. cerevisiae*를 사용하고 발효제로 입국과 개량누룩을 사용한 경우 각각 27.5 mg/mL와 16.5 mg/mL를 나타내어 발효제의 종류에 상관없이 *W. anomalous* SC-1가 시판 *S. cerevisiae*에 비해 환원당의 소비가 많은 것으로 확

인되며 이는 *W. anomalous* SC-1에서 높은 알코올 함량을 보이는 결과와 일치하였다.

유기산 조성 and 산도

발효 종료 후 병행발효 술덧의 산도는 발효제로 입국을 사용하고 *W. anomalous* SC-1와 시판 *S. cerevisiae*를 접종한 경우 각각 5.2 mL와 4.5 mL로 나타났으며, 발효제로 개량누룩을 사용하고 *W. anomalous* SC-1와 시판 *S. cerevisiae*를 접종한 경우 3.3 mL와 3.6 mL로 나타났다(Table 3). 사용 효모에 상관없이 발효제로 입국을 사용한 실험군에서 산도가 높은 결과를 나타냈는데 이와 같은 결과는 산을 고함량 함유하고 있는 입국을 담금 원료로 사용한 결과에 기인하는 것으로 추정된다(Kim et al., 2016). 발효제로 입국을 사용한 병행발효 술덧의 경우, *W. anomalous* SC-1를 접종한 술덧 중 유기산 함량은 citric acid 2174.6 µg/mL, succinic acid 1361.2 µg/mL, lactic acid 646.8 µg/mL, malic acid 157.5 µg/mL, acetic acid 150.6 µg/mL의 순으로 나타

났고, 시판 *S. cerevisiae*를 접종한 술덧 중 유기산 함량은 citric acid 2415.7 µg/mL, succinic acid 704.7 µg/mL, lactic acid 606.0 µg/mL, malic acid 396.9 µg/mL, acetic acid 79.2 µg/mL의 순으로 나타났다. 두 가지 효모 모두 생성된 유기산 중 citric acid의 함량이 가장 높았고 생성된 각각의 유기산 함량은 다소 차이가 있었으나 함량순서는 동일한 결과를 나타내었다. 발효제로 개량누룩을 사용한 병행발효 술덧의 경우, *W. anomalus* SC-1를 접종한 술덧 중 유기산 함량은 lactic acid 2176.3 µg/mL, succinic acid 1323.9 µg/mL, citric acid 369.9 µg/mL, acetic acid 127.9 µg/mL, malic acid 126.4 µg/mL의 순서로 나타났고, 시판 *S. cerevisiae*를 접종한 술덧 중 유기산 함량은 lactic acid 1447.3 µg/mL, succinic acid 1113.2 µg/mL, citric acid 466.2 µg/mL, malic acid 411.7 µg/mL, acetic acid 311.0 µg/mL의 순으로 나타났다. 이 경우 입국사용 술덧과는 달리 두 가지 효모 사용에 의해 생성된 유기산 중 lactic acid의 함량이 가장 높았으며 유기산 별 함량순서는 효모에 의한 차이가 없이 동일한 것으로 확인되었다. 따라서 생성된 유기산의 종류와 함량은 사용된 효모의 차이보다는 발효제의 종류에 주로 의존하며 입국을 사용한 경우 citric acid, 개량누룩을 사용한 경우 lactic acid가 가장 많이 생성됨을 알 수 있었고 이와 같은 발효제별 유기산 조성의 차이는 기존의 연구 결과(So et al., 1999; Kim et al., 2012)에서도 확인된 바 있다.

요 약

본 연구에서는 산업 현장에서 병행발효 술덧 양조에 사용되는 입국과 개량누룩을 전분 당화용 발효제로 사용하고, 대한민국 강원도 삼척 지역에서 수집한 누룩에서 분리·동정한 *W. anomalus* SC-1을 사용하여 양조를 실시한 결과, 산업용 알코올 발효 효모 *S. cerevisiae* 대비 동등한 알코올 생성능을 보였고 유기산은 두 효모 모두 입국을 사용한 경우 citric acid, 개량누룩을 사용한 경우 lactic acid가 가장 많이 생성되었다. *W. anomalus*를 적용한 와인 및 중국 백주 제조를 위한 술덧의 품질 개선을 위한 다양한 연구 결과가 보고되고 있으므로 우리나라 고유의 전통주류 양조 기전의 규명과 주질 다양성 확보 및 이를 통한 차별화된 품질의 전통주 제조를 위하여 전통누룩 중 주요 알코올 발효 미생물로 분리되는 *S. cerevisiae*와 야생효모의 알코올 발효 특성과 *S. cerevisiae*와의 상호작용에 대한 심화 연구의 필요성에 대한 단서를 제공할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 국립환경대학교 연구역량 장학생 지원사업과

환경부 국립생물자원관 (NIBR No. 201629202)의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Chae SK, Gang GS, Rue ID, Ma SJ, Bang GY, Oh MH, Oh SH. 2008. Standard food analysis. Ji-Gu Publishing Co. Paju, Gyeonggi-do, Korea, pp. 403-404.
- Contarino R, Brighina S, Fallico B, Cirvilleri G, Parafati L, Restuccia C. 2019. Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. Food Microbiol. 82: 70-74.
- Fan G, Teng C, Xu D, Fu Z, Minhazul Karim AHM, Wu Q, Liu P, Yang R, Li X. 2019. Enhanced production of ethyl acetate using co-culture of *Wickerhamomyces anomalus* and *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biosci. Bioeng. In Press, Corrected Proof, Available online 7 June.
- Grzegorzczak M, Zarowska B, Restuccia C, Cirvilleri G. 2017. Postharvest biocontrol ability of killer yeasts against *Monilinia fructigena* and *Monilinia fructicola* on stone fruit. Food Microbiol. 61: 93-101.
- Kim BS, Kim GW, Shim JY. 2016. A Comparative study of the assay methods used to quantify fermentable sugar in *Makgeolli Sul-dut*. Korean J. Food Sci. Technol. 48: 48-53.
- Kim DH, Lee SB, Jeon JY, Park HD. 2019. Development of air-blast dried non-Saccharomyces yeast starter for improving quality of Korean persimmon wine and apple cider. Int. J. Food Microbiol. 290: 193-204.
- Kim HR, Kim JH, Bai DH, Ahn BH. 2012. Feasibility of brewing *Makgeolli* using *Pichia anomala* Y197-13, a non-saccharomyces *cerevisiae*. J. Microbiol. Biotechnol. 22: 1749-1757.
- Kim HR, Kwon YH, JO SJ, Kim JH, Ahn BH. 2009. Characterization and volatile flavor components in glutinous rice wines prepared with different yeasts of *Nuruks*. Korean J. Food Sci. Technol. 41: 296-301.
- Kurtzman CP. 2011. Phylogeny of the ascomycetous yeasts and the renaming of *Pichia anomala* to *Wickerhamomyces anomalus*. Antonie van Leeuwenhoek. 99: 13-23.
- Lee HS, Lee TS, Noh BS. 2007. Volatile flavor components in the mashes of *Takju* prepared using different yeasts. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 593-599.
- Lee HS, Park CS, Choi JY. 2010. Quality characteristics of the mashes of *Takju* prepared using different yeasts. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 56-62.
- Lee JH, Kim GW, Shim JY. 2014. Characteristics of *Makgeolli Sul-dut* by pre-treatment of rice and koji. Food Eng. Prog. 18: 50-59.
- NTS. 2010. Alcohol analysis regulation. Technical Service Institute of National Tax Service. National Tax Service. Korea.
- Padilla B, Gil JV, Manzanares P. 2018. Challenges of the non-conventional yeast *Wickerhamomyces anomalus* in Winemaking. Fermentation. 4: 68-81.
- Parafati L, Vitale A, Restuccia C, Cirvilleri G. 2015. Biocontrol ability and action mechanism of food-isolated yeast strains against *Botrytis cinera* causing post-harvest bunch rot of table grape. Food Microbiol. 47: 85-92.
- Platania C, Restuccia C, Mucilli S, Cirvilleri G. 2012. Efficacy of killer yeasts in the biological control of *Penicillium digitatum*

- on tarocco orange fruits (*Citrus sinensis*). Food Microbiol. 30: 219-225.
- Schwentke J, Sabel A, Petri A, König H, Claus H. 2014. The yeast *Wickerhamomyces anomolus* AS1 secretes a multifunctional exo-beta-1,3-glucanase with implications for winemaking. Yeast. 31: 349-359.
- So MH, Lee YS, Noh WS. 1999. Improvement in the quality of *Takju* by a modified *Nuruk*. Korean J. Food Nutr. 12: 427-432.
- So MH. 1995. Aptitudes for *Takju* brewing of wheat flour-*Nuruks* made with different mold species. Korean J. Food Nutr. 8: 6-12.
- Sundh I, Melin P. 2011. Safety and regulation of yeasts used for biocontrol or biopreservation in the food or feed chain. Antonie van Leeuwenhoek. 99: 113-119.