

# 젓갈에서 분리된 효모를 이용한 아로니아의 탄닌 성분 저감화 효과에 관한 연구

신호주<sup>1,3</sup> · 변옥희<sup>1</sup> · 김유진<sup>1</sup> · 방보연<sup>1</sup> · 박정민<sup>1</sup> · 정용섭<sup>3</sup> · 배동훈<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>한국미생물보존센터, <sup>2</sup>단국대학교 식품공학과, <sup>3</sup>전북대학교 식품공학과

## Study of Tannin Reducing Effect of Aronia by Yeast Isolated from Jeotgal

Hyo-Ju Shin<sup>1,3</sup>, Ock-Hee Byun<sup>1</sup>, Yu-Jin Kim<sup>1</sup>, Bo-Yeon Bang<sup>1</sup>, Jung Min Park<sup>1</sup>, Yong-Seob Jeong<sup>3</sup> and Dong-Hoon Bai<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Korean Culture Center of Microorganisms, Seoul 03641, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Dankook University, Cheonan 31116, Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

**ABSTRACT :** Aronia (Black chokeberry, *Aronia melanocarpa*) belonging to the Rosaceae family, is native to eastern North America. Aronia contain high levels of flavonoids, mostly anthocyanins and proanthocyanidins, which are known as condensed tannins. The dominant proanthocyanidins in aronia are (-)-epicatechin and (+)-catechin. The concentration of proanthocyanidins in aronia is higher than in other berries, however due to the astringent taste it is not desirable for consumption. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the effect of aronia on the reduction in tannins by yeast isolated from regional Jeotgal. We isolated strains of yeast with high  $\beta$ -glucosidase activity from Jeotgal, with the MTY2 strains exhibiting a reduction in final tannin concentration according to thin layer chromatography (TLC) analysis. MTY2 was confirmed as *Kazachstania servazzii* using an 18S rDNA sequence and named as *K. servazzii* MTY2. *K. servazzii* MTY2 showed most significant growth when *K. servazzii* MTY2 was cultured in a solution of 10% (w/v) glucose, 3% (w/v) tryptone and 0.1% (w/v) sodium chloride. According to the high performance liquid chromatography (HPLC) analysis, the (+) - catechin peak is present, but (-) - epicatechin peak was reduced at culture condition added with 10% glucose in medium.

**KEYWORDS :** *Aronia melanocarpa*, Black chokeberry, Optimal culture conditions, Proanthocyanidins, Tannins

### 서론

아로니아는 장미과에 속하는 베리류로 북미의 동부 아메리카 지역에서 자생한다[1, 2]. 학명에 따라 *Aronia melan-*

*ocarpa*, *A. arbutifolia*로 구분할 수 있고 더 나아가 *A. prunifolia*로 나뉘어진다[3, 4].

아로니아의 주요 성분은 anthocyanins, proanthocyanins 그리고 chlorogenic acid와 neochlorogenic acid를 포함하는 flavonols인 페놀 화합물로 구성되며 다양한 생리적 기능을 가지고 있다[5]. 아로니아의 페놀 화합물 중에 대부분은 anthocyanin과 proanthocyanidin이며 anthocyanin은 4가지 cyanidin 배당체로 이루어져 있고, proanthocyanidin은 축합된 탄닌으로 알려져 있다[6].

탄닌은 여러 유익한 건강 효과를 내며, 탄닌 중 특히 proanthocyanidins의 섭취는 암과 심장혈관계 질병 같은 만성병을 예방한다는 많은 역학 자료가 있다[7, 8]. 그럼에도 불구하고 다량의 탄닌 섭취는 단백질과 결합하는 능력이 강하여 단백질의 소화를 억제하고 효소 활성을 억제시킬 수 있다[9-11]. 또한, 과실의 떫은맛에도 관여한다.

아로니아는 기타 베리류와 비교하여 폴리페놀 및 안토

Kor. J. Mycol. 2015 December, 43(4): 247-252  
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2015.43.4.247>  
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249  
 © The Korean Society of Mycology

\*Corresponding author

E-mail: baidh@dankook.ac.kr

Received November 27, 2015

Revised December 10, 2015

Accepted December 14, 2015

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

시아닌 함량이 빌베리보다 약 5배, 크랜베리보다 10여 배 이상이다[12]. 이는 폴리페놀의 한 종류인 탄닌이 다량 함유된 아로니아의 떫은맛을 설명해준다. 이에 의해, 아로니아의 유용한 생리적 기능에도 불구하고 생과로의 섭취는 선호되지 않는 실정이다[13, 14].

현재까지 탄닌 성분이 미생물의 생육에 미치는 영향에 대해서는 연구된 바 있지만[15], 미생물에 의한 탄닌 성분의 감소에 대한 연구 자료가 부족한 실정이다. 뿐만 아니라, 아로니아의 탄닌 성분 감소에 대해서는 현재 연구된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 젓갈에서 분리한 효모를 이용하여 아로니아의 탄닌 성분을 감소시킬 수 있는 가능성을 확인하였고, 이를 통해 탄닌 특유의 떫은맛을 감소시킨 아로니아를 식용 혹은 식품의 2차 가공물의 재료로 용이하게 이용할 수 있을 것으로 생각한다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

본 실험의 시료로 사용한 아로니아는 여주 아로니아 농원에서 구입(2013년산 바이킹 품종)하였으며, 아로니아 추출물은 100 g의 아로니아에 100 mL 멸균 증류수를 넣어 blender로 마쇄한 후, filter paper로 여과하여 사용하였다. 균주 분리에 사용한 yeast malt (YM) broth는 Difco (Detroit, MI, USA)에서 구입하였다. 균주의 1차 선별을 위해 사용한 esculin과 ferric ammonium citrate는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 2차 선별을 위해 사용한 thin layer chromatography (TLC) plate는 Merck (Readington Township, NJ, USA)에서 구입한 silica gel 60 F254 plate를 사용하였다. High performance liquid chromatography (HPLC)는 영린기기(Seoul, Korea)의 ACME 9000을 사용하였고, chloroform, methanol, acetonitrile은 Mallinckrodt Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였으며, 탄닌류의 표준물질인 (+)-catechin과 (-)-epicatechin은 Sigma-Aldrich에서 구입하였다.

#### 균주의 분리

탄닌 성분의 저감화 효능이 좋은 균주 선별을 위해 다양한 지역에서 젓갈을 수집하였다. 명란젓과 명태식해, 청어알젓, 오징어젓, 아가미젓, 갈치속젓, 명게젓, 새우젓, 가자미식해, 도루묵식해, 멸치젓, 밴댕이젓, 자리돔젓에서 효모를 분리하였으며, 균주 분리를 위해 시료를 희석하여 YM agar 평판배지에 도달한 후, 30°C에서 72시간 배양하였다. 평판배지에 배양된 효모의 single colony를 순수 분리하여 탄닌 성분의 저감화 효능을 확인하는데 사용하였다.

#### Esculin agar 분석

균주의 1차 선별을 위해 esculin agar법을 응용하여 β-glucosidase 활성을 가지는 효모를 선별하였다[16]. 단순 단당류에서 유래된 배당체인 esculin을 함유한 배지에서 후보 균주를 배양하며, esculin을 glucose와 esculetin으로 분해하여 ferric ion과의 결합을 통해 black zone을 나타내는 균주를 선별하였다. 이를 통해 배당체의 분해능을 확인할 수 있으며, 배당체의 일종인 탄닌 성분의 분해를 위한 후보 균주를 선별하였다. Esculin 함유 배지는 YM agar에 0.1% esculin과 0.05% ferric ammonium citrate를 첨가하여 제조하였고, 순수 분리된 균주를 접종하여 black zone을 형성하는 균주를 우선적으로 선별하였다.

#### TLC 분석

균주의 2차 선별을 위해 1차 선별된 효모를 대상으로 TLC 분석을 시행하였으며, Amarowicz 등[17]의 방법을 참고하였다. TLC에서 확인된 band 변화 경향을 분석하여 탄닌 성분의 저감화 효율이 우수한 균주를 최종 선정하였다. TLC 분석을 위해 아로니아 추출물을 첨가(5%, w/v)한 YM broth에 선별된 효모 배양액을 3% 접종(v/v)하고 30°C에서 135 rpm으로 3일간 배양시켰다. 배양이 완료된 후 배양액의 상등액을 동일한 양의 수포화-n-butanol로 추출하였다. 추출액은 진공농축기를 사용하여 농축시킨 후 methanol에 녹여 TLC plate에 점적하였다. 전개용매는 CHCl<sub>3</sub>:

**Table 1.** Effect of nutrient sources added with 5% aronia extracts on the cell growth of *Kazachstania servazzii* MTY2

Carbon sources	Cell growth (A <sub>660</sub> )	Nitrogen sources	Cell growth (A <sub>660</sub> )	Inorganic salt sources	Cell growth (A <sub>660</sub> )
Lactose	0.36	Malt extract	0.34	Manganese sulfate	0.02
Galactose	0.35	Tryptone	0.43	Sodium chloride	0.41
Starch	0.33	Polypeptone	0.39	Calcium chloride	0.02
Glucose	0.39	Peptone	0.41	Dipotassium phosphate	0.38
Maltose	0.37	Yeast extract	0.36	Potassium chloride	0.36
Mannitol	0.39	Soytone	0.41		
Fructose	0.38	Casitone	0.43		
Raffinose	0.34				
Sucrose	0.33				

MeOH (80:20, v/v)용매를 사용하였고, 발색시약은 anisaldehyde-sulphuric acid reagent를 사용하여 TLC plate에 분무하고 5분간 가열 건조하여 spot을 확인하였다. TLC분석을 통해 균주에 의한 탄닌 성분의 저감화가 확인된 효모를 최종 선정하였다.

#### 최종 선정 균주의 동정

최종 선정된 균주는 18S ribosomal DNA sequence 분석을 통해 동정하였다. Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, San Luis Obispo, CA, USA)를 사용하여 효모의 염색체 DNA를 분리하였고, polymerase chain reaction (PCR)을 사용하여 분리된 염색체 DNA의 18S rRNA 유전자를 증폭하였다. Primer는 NS1 (5'-GTAGTCATATGCT TGTCTC-3')과 NS8 (5'-TCCGCAGGTTCCACC TACGGA- 3')를 사용하였다. 증폭된 PCR 산물은 Wizard SV Gel and PCR clean-up system (Promega)을 이용하여 정제하였고, 정제한 PCR 산물은 ABI PRISM 3700 DNA analyzer로 염기서열을 확인하였다. 확인된 염기서열은 NCBI의 BLASTN과 Clustal X, Mega6를 이용하여 균주들 간의 정보를 비교 분석한 후, 최종 선별된 균주를 동정하였다.

#### 최종 선정 균주의 배양시간에 따른 생장곡선 확인

최종 선정 효모의 표준 생장 특성을 확인하기 위하여 YM broth에 효모 배양액을 3% (v/v) 접종하고 30°C에서 135 rpm으로 배양한 후, 3시간 간격으로 배양액을 취하여 균체 생육 및 pH를 측정하였다. 균체 생육은 배양액을 50 배 희석하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 최종 선정 균주의 최적 생장조건 확인

최종 선정된 균주의 최적배지조건을 확인하기 위하여 영양성분에 따른 최적 발효조건을 확인하였다. 탄소원에 따른 균체 생육 및 탄닌 성분의 저감화를 확인하기 위하여 탄소원을 제거한 후, 5% 아로니아 추출물(v/v)이 첨가된 YM broth에 다양한 탄소원(1%, w/v)을 첨가하였다. 선별한 효모 배양액을 3% (v/v) 접종하여 30°C에서 135 rpm으로 48시간 배양한 후 균체 생육을 확인하였으며, 가장 우수한 생장률을 보이는 탄소원을 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0% (w/v) 농도로 첨가하여 동일조건에서 배양한 후 균체 생육을 측정하였다. 그 중 가장 높은 생장률을 보이는 반응물을 최종 선정하였다. 질소원에 따른 균체 생육 및 탄닌 성분의 저감화를 확인하기 위하여 선택된 탄소원 조건에서 가장 우수한 생장률을 보이는 질소원을 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0% (w/v) 농도의 조건에서, 무기염류는 가장 우수한 생장률을 보이는 성분을 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 % (w/v) 농도의 조건에서 가장 높은 생장률을 보이는 반응물 조건을 확인하였다. 또한, 가장 우수한 균체 생육을 나타내는 영양성분의 조건으로 배양된 반응물은 탄닌 저감을 확인하기 위한 HPLC 분석 시료로 사용하였다.

#### HPLC 분석

선정 효모의 탄닌 성분의 저감화 효능을 정성정량적인 방법으로 분석하기 위하여 HPLC 분석을 시행하였다. HPLC 분석을 위해 아로니아 추출물을 첨가(5%, w/v)한 YM broth에 선별된 효모 배양액을 3% 접종(v/v)하고 30°C에서 135 rpm으로 3일간 배양하여 검출되는 탄닌 성분을 아로니아 추출물과 비교 분석하였다. 또한 탄닌 성분의 저감화 효율이 높은 최적 발효조건을 확인하기 위하여 탄소원과 질소원, 무기염류가 최적 조건으로 첨가된 배지에서 배양된 균주의 반응물을 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석을 위한 방법으로 시료 10 µL를 column (Eclipse Plus C18, 4.6 × 250 mm, ID 5 µm)에 주입하여 SP930D detector를 이용하여 물질을 검출하였으며, 이 때 이동상 조건으로 acetonitrile (ACN)과 0.1% acetic acid 함유물을 1.0 mL/min의 유속으로 이동시켜 초기 10% ACN에서 12분에 15% ACN, 25분에 30% ACN 기울기 용매 조건으로 용출시켜 분석하였다. 분석온도와 column oven 온도는 35°C, 검출과장은 UV 280 nm에서 측정하였다. (+)-catechin과 (-)-epicatechin은 methanol에 녹여 HPLC 표준물질로 사용하였다.

## 결과 및 고찰

#### 균주 분리 및 선별

젓갈에서 효모를 분리한 결과 명란젓에서 20균주, 명태식해에서 11균주가 분리되었으며 나머지 젓갈에서는 효모가 분리되지 않았다. 분리된 효모 중 30주가 0.1% (w/v) esculin 함유 YM agar 평판배지에서 black zone을 나타내며 β-glucosidase 활성을 보였다(Fig. 1, Table 2). 이와 같은 원리를 이용하여 홍삼에 함유된 배당체인 진세노사이드 생물전환 확인 논문에서도 esculin agar에서 black zone이 가장 넓은 범위로 나타난 균주를 진세노사이드 생물전환 후보 균주로 선발하였다[18]. 아로니아의 탄닌 성분 저감화를 나타내는 균주를 3차 선정하기 위하여 아로니아 추출액을 첨가한 YM broth에 각각의 균주를 배양하여 TLC로 확인한 결과, 가장 큰 변화를 보인 MTY2를 탄닌 성분의 저감화 효

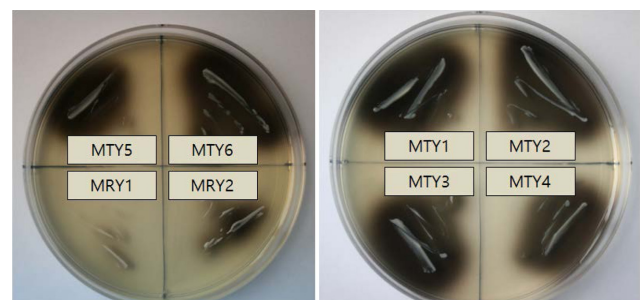
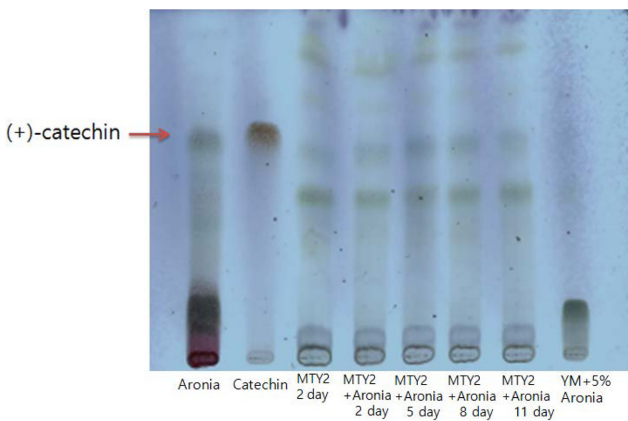


Fig. 1. Inoculated strain in esculin-yeast malt-agar to screening yeast having β-glucosidase activity.

**Table 2.** The diameters of black zones formed by selected strains that showed  $\beta$ -glucosidase activity

Strain	Diameter of black zone (mm)
MRY1	-
MRY2	7
MTY1	15
MTY2	15
MTY3	14
MTY4	13
MTY5	14
MTY6	15

-, not detected.



**Fig. 2.** Thin layer chromatography analysis of the tannins reduction by MTY2 strain. YM, yeast malt.

능을 분석하기 위한 최종 균주로 선정하였다. 최종 균주로 선정된 MTY2는 TLC 분석을 통해 배양기간에 따른 탄닌 성분의 저감화 효과를 확인하였다(Fig. 2).

**최종 선정 균주의 동정**

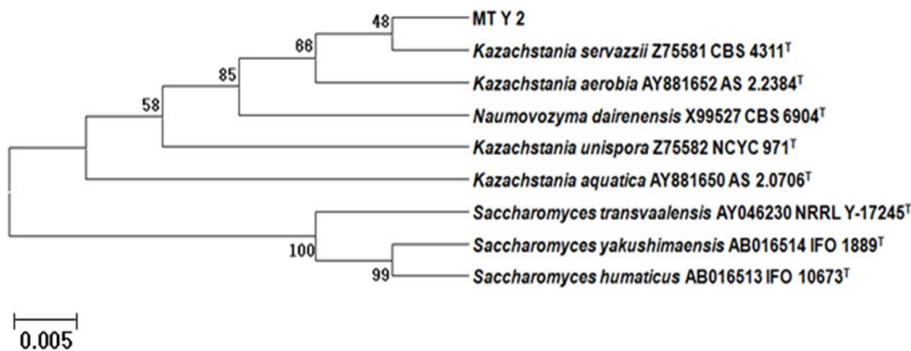
최종 균주로 선정된 MTY2의 18S rDNA 유전자 염기서열 분석결과는 Fig. 3에 나타내었다. 분석된 염기서열을 NCBI에서 BLASTN 프로그램을 이용하여 GenBank의 18S rDNA sequence와 비교한 결과, *Kazachstania*속과 가장 높은 상동성을 나타내었다. 각 *Kazachstania* 유전자에 속하는 종들과 염기서열의 상동성을 비교한 결과, *Kazachstania servazzii*와 99% 상동성을 나타내어 본 선정균주를 최종적으로 *K. servazzii* MTY2라 명명하였다.

**최종 선정 균주의 배양시간에 따른 생장곡선 확인**

선정 효모의 배양 시간에 의한 변화를 확인하기 위하여 일정한 간격으로 균체 생육과 pH를 측정하여 나타내었다(Fig. 4). 배양 3시간 이후부터 균체 생육이 급격히 증가하여 9시간에 최대 증식을 나타내며, 다른 효모보다 빠른 생육을 보였다. 또한, *K. servazzii* MTY2 생장곡선에 따른 pH 변화로는 균체가 증식됨에 따라 저하되었는데 pH가 6에서 5로 감소함을 볼 수 있으며 정지기에는 pH 5로 유지되며, 다른 효모와 유사한 특징을 나타내었다[19].

**최종 선정 균주의 최적 생장조건 확인**

최종 선정된 효모의 균체 생육 및 탄닌 성분 저감화를 위한 최적배지조건을 결정하기 위하여 영양성분의 종류 및 농도에 의한 균체 생육과 탄닌 성분 저감화를 조사하였다. 탄소원의 종류를 달리하여 균체 생육을 측정하고, 균체 생육은 glucose, mannitol, fructose, maltose 순서로 우수했으며, 유기태 질소원과 무기태 질소원을 첨가하여 조사한 결과, 균체 생육은 casitone, tryptone, soytone, peptone 순서로 우수함을 알 수 있었다. 균체 생육이 동일하게 확인된 tryptone과 casitone 중 경제적인 부분에서 유리한 tryptone을 최종 질소원으로 확정하였다. 무기염류의 종류를 달리하여 균체 생육을 측정하고, manganese sulfate와 potassium chloride 첨가 시 생육이 거의 이뤄지지 않았으며, sodium chloride, dipotassium phosphate, potassium chlo-



**Fig. 3.** Phylogenetic tree of strain MTY2 based on 18S rDNA sequences. The phylogenetic tree was indicated using neighbor-joining analysis. The bootstrap values that tested with 1,000 replications are indicated as the number in each branch. The number of 0.05 showed the scale bar represents 0.05 nucleotide substitutions per site.

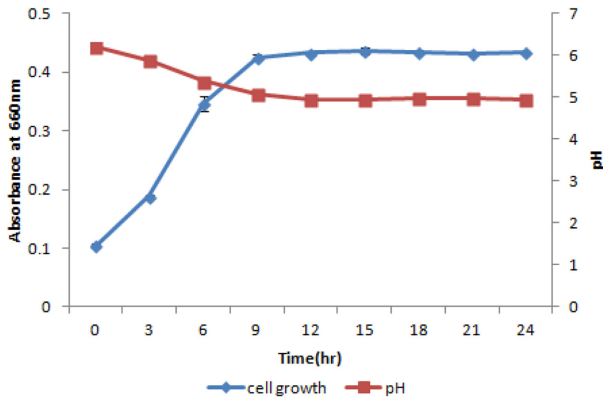


Fig. 4. Growth curve and pH value of *Kazachstania servazzii* MTY2 cultured in yeast malt media.

ride 순으로 우수한 생육을 보였다(Table 1). 가장 우수한 생육을 보인 영양성분을 최종 선정하여 각 성분의 농도에 의한 균체 생육을 확인하였다. 탄소원의 경우 glucose의 농도별로 균체 생육을 조사하였고, 10% (w/v) 농도일 때 0.41의 흡광도를 보이며 0.39의 값을 나타내는 다른 실험군과 비교하여 상대적으로 우수한 생육을 보였다. 질소원의 경우 tryptone이 3% (w/v)일 때 0.41의 흡광도를 보이며 가장 우수한 균체 생육을 보였다. 무기염류의 경우 sodium chloride의 농도가 0.1% (w/v)일 때 0.43의 흡광도를 보이며 가장 높은 균체 생육을 보였다(데이터 미제시). 이는 기존 분석된 효모 중 2.5% galactose와 1.0% soytone에서 최적 발효조건을 나타낸 *Candida allociferrii*와 비교하여 큰 차이를 나타내었다[19].

**HPLC 분석**

탄닌 성분의 HPLC 표준 peak를 확인하기 위하여 (+)-catechin, (-)-epicatechin 표준물질을 HPLC 분석한 결과, (+)-catechin은 10분에서 (-)-epicatechin은 16분에서 나타났다. 아로니아 추출물에서 확인된 여러 개의 peak 중 (+)-catechin peak가 확인된 10분에는 뚜렷한 peak가 확인되지 않고 8~10분까지 지속적인 peak가 확인됨으로써 (+)-catechin의 peak가 여러 혼합 물질에 겹쳐서 확인되었다. 또한, (-)-epicatechin peak가 나타난 16분에는 peak가 명확하게 확인되었다. 영양성분이 최적 조건으로 함유된 배지에서 배양된 균주의 반응물을 HPLC로 분석한 결과, glucose 10% (w/v) 농도로 배양된 반응물의 경우 전반적으로 농도가 감소함을 볼 수 있었으며, 16분에 나타나는 (-)-epicatechin의 농도가 현저하게 감소됨이 확인되었다(Fig. 5). 따라서 *K. servazzii* MTY2 균주가 위 조건에서 탄닌 성분을 저감화하는 것으로 판단되었다. Tryptone 3% (w/v) 농도로 배양된 반응물의 경우 탄소원과 마찬가지로 질소원에서도 10분에 (+)-catechin peak가 확인되었지만, (-)-epicatechin peak는 작은 면적으로 검출되었다. 마지막으로 sodium

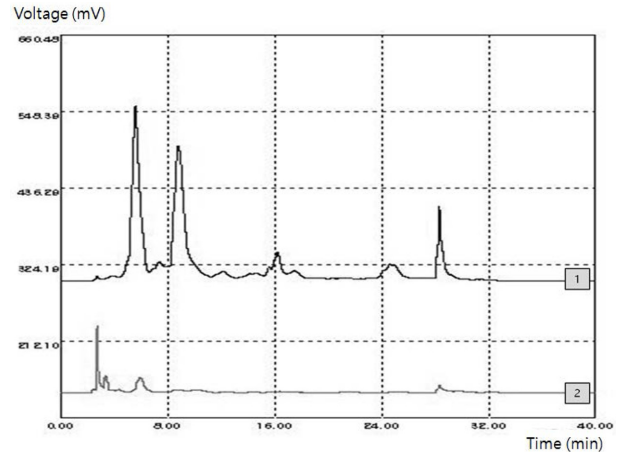


Fig. 5. High performance liquid chromatography analysis of aronia extract and a sample fermented from *Kazachstania servazzii* MTY2. 1, Aronia extract; 2, Tannins reduction by *K. servazzii* MTY2 according to 10% glucose concentrates add 5% aronia extracts.

chloride 0.1% (w/v) 농도로 배양된 반응물의 경우 10분에 (+)-catechin peak가 존재하였으며, tryptone과 마찬가지로 16분에 (-)-epicatechin peak가 작은 면적으로 확인되었다.

**적 요**

젓갈에서 분리한 효모를 이용하여 아로니아의 탄닌 성분 저감화에 대해 조사하였다. TLC 실험을 통하여 최종 선별된 MTY2 균주는 18S rDNA sequence에 의해 *Kazachstania servazzii*으로 동정되어 *K. servazzii* MTY2로 명명하였다. *K. servazzii* MTY2의 생육은 배양 3시간 이후부터 급격하게 증가하였으며, 9시간에 최대 증식을 나타내었다. 또한, 균체가 증식됨에 따라 pH는 6에서 5까지 감소하였다. 5% 아로니아 추출물을 첨가했을 때 *K. servazzii* MTY2의 최적 발효조건을 실험한 결과, 탄소원 경우 glucose 10% (w/v) 첨가 시 균체의 생육이 가장 높았으며, 10% (w/v) glucose 고정으로 질소원 실험 결과 3% (w/v) tryptone 첨가 시 균체 생육이 높았다. 마지막으로 glucose 10% (w/v)와 tryptone 3% (w/v)를 고정으로 하고 무기염류 실험 결과 sodium chloride 0.1% (w/v)를 첨가했을 때 가장 높은 균체 생육을 보였다. 또한 탄소원, 질소원, 무기염류 각각의 균체 생장이 가장 잘된 배양액을 수포화-n-butanol로 추출, 농축하여 HPLC 분석을 한 결과 (+)-catechin peak는 모든 조건에서 꾸준히 존재하였지만, (-)-epicatechin peak는 glucose 10% (w/v) 첨가의 조건으로 배양할 시 검출되지 않았다. 따라서, *K. servazzii* MTY2을 glucose 10% (w/v) 첨가의 조건으로 아로니아와 함께 발효시킬 경우, 탄닌 성분의 저감화가 가능할 것으로 판단하였다. 따라서 탄닌 성분의 저감화를 통해 특유의 떫은맛을 감소시킨 아로니아를 식용 후

은 식품의 2차 가공물의 재료로 용이하게 이용할 수 있을 것으로 생각한다.

## Acknowledgements

This research was supported by High Value-added Food Technology Development Program, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (314073-03), and the Ministry of Trade, Industry & Energy (MOTIE), Korea Institute for Advancement of Technology (KIAT) and Establishment of Infrastructure for industrialization of Korean Useful Microbes (R0004073).

## REFERENCES

1. Jeppsson N. The effects of fertilizer rate on vegetative growth, yield and fruit quality, with special respect to pigments, in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) cv. 'Viking'. *Sci Hort* (Amsterdam) 2000;83:127-37.
2. Jeppsson N. Genetic variation and fruit quality in sea buckthorn and black chokeberry [dissertation]. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences; 1999.
3. Hardin JW. The enigmatic chokeberries (*Aronia*, Rosaceae). *Bull Torrey Bot Club* 1973;100:178-84.
4. Kokotkiewicz A, Jaremicz Z, Luczkiewicz M. *Aronia* plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *J Med Food* 2010;13:255-69.
5. Oszmianski J, Wojdylo A. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 2005;221: 809-13.
6. Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *J Food Compos Anal* 2005;18:61-8.
7. Lila MA. From beans to berries and beyond: teamwork between plant chemicals for protection of optimal human health. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1114:372-80.
8. Santos-Buelga C, Scalbert A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J Sci Food Agric* 2000;80:1094-117.
9. Evans WC. Trease and Evans' pharmacognosy. 13th ed. London: Bailliere Tindall; 1989.
10. Bate-Smith EC, Swain T. Flavonoid compounds. In: Florkin M, Mason HS, editors. *Comparative biochemistry*. New York: Academic Press; 1962. p. 705-809.
11. Haslam E. *Plant polyphenols: vegetable tannins revisited*. Cambridge: Cambridge University Press; 1989.
12. Oszmianski J, Kucharska A. Tannins aronia. *Scientific Papers of the Agricultural University of Wroclaw. Food Technol* 1995; 8:55-65.
13. Gu L, Kelm MA, Hammerstone JF, Beecher G, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Prior RL. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J Nutr* 2004;134:613-7.
14. Skupien K, Oszmianski J. The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. *Agric Food Sci* 2007;16:46-55.
15. Seo JH, Jeong YJ, Shin SR, Kim KS. Effects of tannins from astringent persimmons in alcohol fermentation for persimmon vinegars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2000;29:407-11.
16. Atlas RM, Parks LC. *Handbook of microbiological media*. Boca Raton: CRC Press; 1993.
17. Amarowicz R, Kozłowska H, Shimoyamada M, Okubo K. Chromatographic analysis of rapeseed glucoside fractions. *Pol J Food Nutr Sci* 1992;1:89-93.
18. Lee S, Lee YH, Park JM, Bai DH, Jang JK, Park YS. Bioconversion of ginsenosides from red ginseng extract using *Candida allociferrii* JNO301 isolated from Meju. *Mycobiology* 2014;42:368-75.
19. Lee YH. Bioconversion of ginsenosides by *Candida allociferrii* JNO301 isolated from Meju [dissertation]. Seongnam: Kyungwon University; 2011.