

생물반응기를 이용한 산삼세근 대량생산

손성호, 최기영, 윤승로, 이대숙¹, 박희주, 이윤희, 백기엽²

산림청 임업연구원 생물공학과, 환인제약 생물공학연구실¹, 충북대학교 첨단원예센터²

Tel. (0331) 290-1181, Fax (0331) 290-1194

Bubble type airlift bioreactors were developed for the production of useful secondary metabolites of Mountain ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). Rapid growing cell lines were selected by single cell coning method. Thereafter adventitious roots were induced from the cell lines. The models of bioreactors incorporated in this study included balloon type bubble bioreactor (BTBB) and drum type bubble bioreactor (DTBB). Total fresh weight of adventitious root at the time of harvest was approximately 90 to 150 times compared with that of inoculum. The optimum time for medium feeding was 10 to 12 days after inoculation as determined by monitoring both the level of sugars and salts. By developing culture methods, one ton of fresh weight seem to possibly obtained using 7 tons of DTBB.

서론

산삼은 전래되어오는 약효에 비해 자생하고 있는 수가 극히 적을 것으로 생각되는데 이는 산삼이 고가로 거래됨에 따라 발견되는 즉시 채취된다는 점과 체계적인 보호방안이 마련되지 않은 점에 일부 기인 한 것으로 생각된다. 그나마 산삼의 장기 휴면 특성에 의해 발견이 쉽지 않다는 점이 지금까지 산삼의 명맥을 유지하게 된 동기가 된 것으로 생각된다. 조직배양 기술을 이용하여 식물 세포 등을 산업적으로 생산한 연구가 일부 보고된 바 있으나¹⁾ 산삼의 세근(부정근) 대량배양에 관한 연구결과는 알려진 바가 없다. 특히 식물 세포 및 조직의 대량배양을 위한 생물반응기에 관한 연구가 최근 집중적으로 수행되고 있으나²⁾, 대체로 미생물 발효조를 이용하거나 발효조 일부를 변형하여 사용함으로써 최대 생산량을 얻지 못한 경우가 많다. 따라서 본 연구에서는 산삼의 세근 배양에 적합한 생물반응기의 설계에서 동작에 이르는 일련의 기술에 초점을 두었으며, 또한 산삼뿐 만 아니라 일반적인 식물의 세근 배양에 적합한 생물반응기를 개발하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 산삼은 강원도 양구에서 채취 된 것으로 산림청으로부터 분양 받았다. 시료는 액체비누로 깨끗이 씻어준 다음 70% 에탄올에 3분, 차아염소산 용액(2%)으로 다시 3분간 표면소독 후 멸균수로 5 차례 수세하여 사용하였다. 캘러스를 유도하기 위해 일반적으로 사용하는 MS 배지에 3%의 설탕이 함유된 고체배지를 사용하였으며, 시료는 형성층 부위를 포함한 약 2 cm³ 크기로 조제하여 접종하였다. 배양 8주 후 시료로부터 유도된 캘러스를 IBA

가 함유된 동일배지에 계대배양하였을 때 세균 유도가 가능 하였다. 세균 증식을 위해서 1L 용량의 삼각플라스크에 시료 생체량 0.5g을 접종하여 현탁배양 상태로 유지시켰다. 증식된 세균을 이용하여 최적 배양배지 상태를 조사하기 위해 일반적으로 사용되는 식물조직 배양배지 12종에 대한 세균 생장량을 조사하였으며, 이때 배지는 켈러스 유도에 사용한 MS배지와 동일한 방법으로 조제하였다. 배양은 fed batch 방식으로 실시하였으며, 초기 접종량은 배지 1L 당 생체중 1g을 기준으로 일정량 가감하여 그 효과를 조사하였다. 사용된 배양배지는 12 1°C에서 약 40분간 증기 멸균하였으며, 소독 후 배지의 pH가 5.8 이 되도록 조절하였다. 배양체는 암상태에서 26°C로 유지하였다. 소규모 생물반응기의 경우 배양기간을 4주, 대형 생물반응기는 배양기간을 8 주간 실시하였다.

결과 및 고찰

산삼 켈러스로부터 유도된 세균의 증식을 위해 사용된 식물 조직배양 배지 중 WPM 배지가 가장 효과적인 것으로 나타났다. BTBB³⁾를 사용하였을 경우 배양된 세균은 서로 엉키는 특성을 나타내었으며, 수확 시에는 칼로 절단하여야 할 정도로 단단히 결합되는 것을 관찰할 수 있었다. 이 경우 내부에 존재하는 산삼 세균은 necrosis가 일어나 갈색을 띄고 있었으며 고성능 액체크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 주요 인삼사포닌을 분석하였을 때 그 함량이 극히 줄어든다는 결과를 얻었다. 따라서 이러한 문제점을 극복하기 기초연구를 토대로 DTBB를 설계할 수 있었다. DTBB의 경우 하부에 위치한 sparger 부분을 크게 3 부분으로 나누고 각 부위별로 10개의 sparger를 설치한 후 배양말기에는 DTBB를 약 15도 정도의 경사를 준 후 배양함으로써 BTBB에서 나타난 세균의 엉킴을 방지 할 수 있었다. DTBB에 초기 접종량을 약 3 kg하였을 경우 수확 시 280 kg의 세균 생체 중을 얻을 수 있었으며, 초기 접종량을 높이고 2단 배양을 실시 할 경우 약 1톤 이상의 생체 중을 얻을 수 있다는 가능성을 보여 주었다.

참고문헌

1. Fujita, Y., Y. Hara, T., Ogino and C. Suga (1981) Production of shikonin derivatives by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. I. Effect of nitrogen sources on the production of shikonin derivatives. Plant Cell Rep. 50:148-151.
2. Smart, N. J. and M. W. Fowler (1984) An airlift column bioreactor suitable for large-scale cultivation of plant cell suspensions. J. Exp. Bot. 35:531-537.
3. Lee, Y. H. (1997) Design of bioreactor system for small- and pilot-scale cultivation of plant cells. MSc thesis, Chungbuk National University of Korea.