

## 세포배양에 의한 더덕 정유의 생산

신승원 · 최은정  
덕성여자대학교 약학대학

### Production of Essential Oils by Cell Culture of *Codonopsis lanceolata*

Seung-Won Shin and Eun Jung Choi  
College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

**Abstract**—The essential oils from the roots of *Codonopsis lanceolata* and the cultivated callus were analysed and compared by gaschromatography-mass spectrometry. In the experimental study of cell culture, it appeared that 2,4-dichlorophenoxy acetic acid in the culture medium induced higher production of essential oils in the callus than indole acetic acid. The growth of callus was inhibited by illumination of the light. The production of essential oil in cultured cells was increased by the addition of biosynthetic precursors. The essential oils from the roots of *Codonopsis lanceolata* and the cultured callus showed different compositions. Tetradecanoic acid, 1,1,-dimethoxyl 4-methoxy phenol, 9,12-octadecanoic acid and hexadecanoic acid were identified as main components of the cultured callus oil.

**Keywords**—*Codonopsis lanceolata* · Campanulaceae · cell culture · essential oil · GC-MS

더덕(*Codonopsis lanceolata* Trautv.)은 초롱꽃과에 속하는 다년생 덩굴성식물이며, 근경을 건조한 것을 약용 또는 식용으로 하고 있으며, 한방에서는 사삼(沙蔘)의 대용으로 거담약으로 주로 사용하고, 그의 강장, 해독, 최유, 배농 및 소종등에 사용된다.<sup>1)</sup>

더덕의 약효성분으로는 triterpene, steroid, flavonoid 등이 주로 연구되었으나, 더덕의 특유한 향기를 나타내는 정유성분도 국산 천연향료자원개발의 측면에서는 중요성이 크며 아직까지는 확인된 바 없으나 약효와의 연관성도 배제할 수 없다. 더덕 정유의 조성에 대하여는 정 등<sup>2)</sup>의 연구를 비롯하여 김<sup>3)</sup> 및 박<sup>4)</sup> 등에 의해 50종 이상의 성분이 확인되었고, 그의 Ueyama 등<sup>5)</sup> 및 Qui 등<sup>6)</sup>도 더덕정유의 특유성분에 대해 보고한 바 있다.

본 논문에서는 더덕의 종자를 받아서켜서 얻은 어린 식물체로 부터 callus를 유도하여 계대배양한 후, 식물생장조절제, 광선, 정유 생합성전구체의 첨가 및 온도 등의 배양조건이 callus의 생장과 정유함량에 미치는 영향을 조사하였고, 배양한 callus에서 생성된 정유의 조성을 더덕 모식물의 지상부 및 지하부 위의 정유와 GC 및 GC-MS의 방법으로 비교 분석하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

### 실험방법

정유의 추출 및 분석 - 경기도 장현에서 소득 작목 시범 재배중인 더덕의 지상부와 경동시장에서 구입한 경기도산 더덕의 지하부를 마쇄한 후, 정유 추출장치를 이용하여 4시간 동안 수증기 증

류하여 pentane층에서 정유를 얻었다. Callus는 시험관에서 꺼내어 생산중량을 측정한 후, 같은 방법으로 수증기 증류하였다.

정유성분의 분석은 Gaschromatography-Mass spectrometry(GC-MS)의 방법으로, 더덕 모식물의 지상부, 지하부 및 배양한 callus를 추출하여 얻은 정유를 Hewlett-Packard 5890II GC, Hewlett-Packard 5988 MS를 사용하여 분석하였다(column: HP-FFAP 25 m x 0,33  $\mu$ m x 0,2 mm, source temp.: 200°C, carrier gas: He 0.5 ml/min).

**Callus 배양** - Modified Murashige and Skoog medium(MS 배지<sup>7,8)</sup>)에 malt extract (0.3%), 생장 조정제 및 정유 생합성 전구체를 첨가하였다. Callus유도의 재료로는 더덕의 종자를 받아서 얻은 어린잎을 자른 후, clean bench내에서 sodium hypochlorite(유효 염소량 0.5%)액에 담그어 수초동안 멸균한 후, 멸균 증류수로 4-5회 세척하여 사용하였다. 위의 재료를 배지에 이식하여 25°C에서 4-6주간 callus를 유도시키고, 세차례 계대배양하여 얻은 callus mass를 실험 재료로 하였다.

**배양조건** - MS 배지에 2,4-dichlorophenoxy acetic acid(2,4-D) 2 ppm, kinetin 1 ppm 및 5 ppm, indole acetic acid(IAA) 2 ppm과 kinetin 1 ppm 및 5 ppm을 각각 첨가하고 25  $\pm$  1°C, 암소에서 배양하여, callus의 성장속도와 정유함량을 비교하였고, 2,4-D 2 ppm, kinetin 1 ppm 및 5 ppm을 첨가하여 25  $\pm$  1°C, 암소에서 배양한 callus의 성장속도를, 광선(800 lux) 조사상태에서 배양한 callus와 비교하였다.

정유 생합성 전구체의 첨가에 의한 영향은 MS 배지에서 배양한 callus를 대조군으로 하고, MS 배지에 40 mg/l의  $\alpha$ -ketoglutaric acid, leucine 및 mevalonic acid를 각각 첨가하여 만든 3종의 배지에서 25°C, 암소에서 배양하여 비교 분석하였다.

### 실험결과 및 고찰

배양조건이 callus 성장 및 정유 생성에 미치는 영향- IAA가 첨가된 배지의 callus가

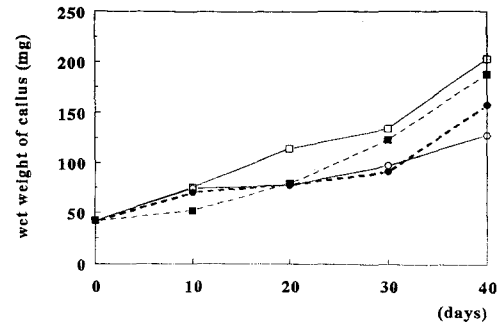


Fig. 1. Growth curves of callus cultured on the media containing various combinations of plant growth hormones.(-○-: 2 ppm 2,4-D, and 1 ppm kinetin, -●-: 2 ppm 2,4-D, and 5 ppm kinetin, -■-: 2 ppm IAA and 1 ppm kinetin, -□-: 2 ppm IAA and 5 ppm kinetin)

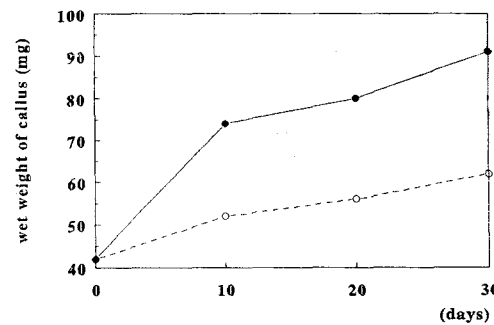


Fig. 2. The Effects of light on growth of callus cultured on the medium containing 2 ppm 2,4-D and 5 ppm kinetin. (-●-: callus cultured in the dark, -○-: under illumination of light)

2,4-D가 첨가된 배지의 callus보다 훨씬 빠른 성장속도를 보였으며, 특히 30일 이후에 성장속도가 급격히 증가하였다(Fig. 1). 한편, 정유 함량에 있어서는 2,4-D가 첨가된 배지에서의 callus의 정유가  $1.85 \times 10^{-2}\%$ 로 IAA 첨가 결과에 비하여 정유함량이 약 3배 높은 것으로 나타났다.

광선조사 상태에서 배양한 callus가, 암소에서 배양한 경우보다 성장속도가 전반적으로 느린 경향을 나타내었고, 2,4-D (2 ppm)과 kinetin (5 ppm)을 첨가한 배지에서 암소에서 30일간 배양

**Table I.** The effects of temperature on production of essential oils.

Culturing temperature (°C)	essential oil(%)			
	10	20	30	40 days
22	0.53	0.52	1.06	1.08
25	0.78	0.66	0.38	0.14
28	0.40	0.63	1.80	0.07

**Table II.** The effects of biosynthetic precursors on production of essential oils in callus.

Precursor	essential oil(%)		
	20	30	40 days
control	0.56	0.73	0.14
$\alpha$ -ketoglutaric acid	0.25	1.08	1.11
Leucine	0.09	0.38	0.14
mevalonic acid (lactone)	0.08	0.51	0.04

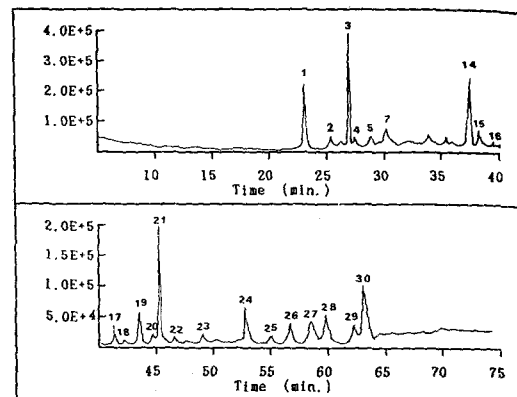
한 callus의 중량은 형광조사상태에서 배양한 것에 비해 2배 이상의 성장율을 나타냈다. (Fig. 2)

한편, callus의 성장속도는 배양온도에 따라서 현저한 차이를 나타내었는데, 25°C에서의 성장속도가 22°C, 28°C에 비해 현저히 빠른 것으로 나타났다. 정유의 생성은 30일까지는 증가하였으나 40일에서는 급격히 감소하였다. 가장 높은 생성율을 보인 조건은 28°C, 30일이었으며, 정유함량은 1.80%이었다(Table I).

$\alpha$ -Ketoglutaric acid를 첨가한 경우를 제외하고는 전반적으로 30일에서 가장 높은 정유 생성율을 보였고, 이후에는 급격히 감소하였다.

$\alpha$ -Ketoglutaric acid를 첨가하였을 때는 30일 이후에 정유 생성율이 현저히 증가하였으며, 40일에서의 정유함량은 1.11%로 가장 높았다(Table II).

정유의 조성 - 더덕의 지하부와 지상부에서 추출하여 얻은 정유의 GC와 2,4-D 2 ppm과 kinetin 0.2 ppm이 함유된 배지에서 배양한 callus 정유의 GC를 비교해 본 결과, 모식물의 지상부나 지하부의 정유와는 다른 GC pattern을 나타내어, callus에 생성된 정유의 대부분 조성이 모식물의 정유와 다르다는 것을 알 수 있었다. 또한, GC의 낮은 온도조건의 영역에서

**Fig. 3.** TIC of essential oil from the callus of *Codonopsis lanceolata* analysed by GC-MS(column:HP-FFAP 25 m x 0.33  $\mu$ m x 0.2 mm, source temperature:200°C, carrier gas: He 0.5 ml/min).

peak가 거의 없고 대부분의 peak가 200°C 이상에서 관찰되는 것으로 미루어 보아, 비점이 낮은 화합물의 생합성이 callus에서는 낮았다는 것을 알 수 있었다.

정유분획을 GC-MS로 분석한 결과, 더덕 모식물 지하부의 정유에서는 cyclohexanol, 2-ethyl-3-methyl-1-butene, 1-hexanol, 4-hexen-1-ol, 2-hexen-1-ol, cis-3-methyl-1,3,5-hexatriene,  $\alpha$ -bisabolene, hexadecane,  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -copaene, chamigrene,  $\alpha$ -farnesene, squalene, tetradecanoic acid, hexadecanoic acid 및 octadecadienoic acid 등의 성분이 확인되었다.

한편, callus의 정유분획에서는 tetradecanoic acid, 1,1-dimethylethyl-4-methoxyphenol, 9,12-octadecanoic acid 및 hexadecanoic acid 등이 확인되었고, peak 1( $m/z$  91,145,189,205)은 phenol계 화합물로, 16( $m/z$  76, 149, 161, 278)과 28( $m/z$  71, 149, 167, 279)은 phthalide계로, 21( $m/z$  73, 129, 185, 256)과 26( $m/z$  73, 129, 241, 284)은 lipid계 화합물로 각각 추정되었다(Fig. 3).

## 결론

더덕의 어린잎으로부터 callus를 유도하여, 배

양조건이 callus의 성장 및 정유 생성율과 정유 조성에 미치는 영향을 비교 실험한 결과는 다음과 같다.

1. Callus의 성장속도는 IAA를 첨가한 경우가 2,4-D를 첨가한 경우보다 더 높았고, 또한 25°C에서의 성장속도가 22°C나 28°C에서 보다 높게 나타났다.

2. 정유 생성율은 2,4-D를 첨가한 경우가 IAA를 첨가한 경우보다 더 높았고, 정유 생합성 전구체를 첨가한 경우는 전반적으로 30일에서 높은 생성율을 보였고 이후에는 급격히 감소하였으나,  $\alpha$ -ketoglutaric acid의 첨가한 배지에서 40일 배양한 것은 control의 약 8배의 정유를 생산하였다.

3. 배양한 callus의 정유는 더덕의 지상부 및 지하부의 정유와 다른 조성을 나타내었으며, callus의 정유에서는 hexadecanoic acid를 비롯하여 tetradecanoic acid, 1,1-dimethylethyl-4-methoxy phenol 및 9,12-octa-decanoic acid 등이 확인되었다.

〈1995년 5월 22일 접수〉

### 참고문헌

1. 이창복: 한국식물도감, 향문사, 서울, p. 724 (1980).
2. Chung, B.S. and Na, D.S.: Studies on the terpenoid component of the roots of *Codonopsis lanceolata* Bent. et Hook, *Kor. J. Pharmacog.* 8, 49 (1977).
3. 김재정: 더덕의 향기 성분에 관한 연구, 연세대학교 대학원 pp. 37-43 (1977).
4. Park, J.Y., Kim, Y.H. and Kim, K.S.: Volatile flavor components of *Codonopsis lanceolata* Traut. (Benth. et Hook.), *J. Korean Agric Chem Soc*, 32, 338 (1989).
5. Ueyama, Y. and Furukawa, K.: Volatile components of shajin, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* 61, 1577 (1987)
6. Qui, M., Ding, J. and Nie, R.: The volatile chemical components with unpleasant odor from *Codonopsis* sp., *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 9, 71 (1987).
7. Pollard, J.W.: *Plant Cell and Tissue Culture*, Humana Press, pp. 57-63 (1990).
8. Gamborg, O.L. and Wetter, L.R.: *Plant Tissue Culture Methods*, National Research Council of Canada, p. 6 (1975).

1. 이창복: 한국식물도감, 향문사, 서울, p. 724