

생물반응기내의 공기주입량 및 Sparger 형태가 인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer) 부정근의 생장과 Ginsenoside 함량에 미치는 영향

김윤수², 한은주¹, 신차균², 백기엽^{1*}

¹충북대학교 첨단원예기술개발연구센터, ²중앙대학교 인삼산업연구센터

Effects of Aeration Rate and Sparger Type on Growth and Ginsenoside Accumulation in Bioreactor Cultures of Ginseng Adventitious Root (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

Yun-Soo Kim², Eun-Joo Hahn¹, Cha-Gyun Shin², Kee-Yoeup Paek^{1*}

¹Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

²Korea Ginseng Institute, Chung-Ang University, Ansong 456-756, Korea

ABSTRACT The two different ways to supply air inside the bioreactor were examined in the adventitious root cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer. First, the aeration rate varied at 0.05, 0.1, 0.2 and 0.3 vvm, respectively which were supplied during the whole culture period. Second, the amount of air supply was increased from 0.05 to 0.3 vvm at 10-day intervals in proportion to the root growth. Both the root growth and the ginsenoside accumulation were maximized to 175.8 g dry wt. of root growth and 4.3 mg/g dry wt. of ginsenoside accumulation when the aeration rate was increased gradually. The effect of the sparger pore size (15, 30 and 60 μm) in the bioreactor was also investigated, which suggested the greatest root growth (175.9 g dry wt.) in the 15 μm -sized sparger and the highest ginsenoside content (4.3 mg/g dry wt.) in the 60 μm size. Finally, the diameter of a sparger (15 μm -sized) varied at 1.5, 3.0, 5.0 and 8.0 cm, respectively. The highest root growth (191.9 g dry wt.) and the ginsenoside content (4.9 mg/g dry wt.) were obtained in the sparger diameter of 8.0 cm.

Key words: Bulb type bubble bioreactor, ginseng adventitious roots, kLa, sparger, vvm

서 론

인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 한국, 중국, 일본을 포함한 동아시아의 대표적인 약용식물로 수 천년동안 강장제로 사용되어 왔으며, 현대의학에서는 항당뇨, 항산화, 항암 등 다양한 면역기능 증강작용에 대한 효과가 보고되고 있다 (Keum et al. 2000; Shibata 2001; Rotshteyn and Zito 2004). 이와 같은 약리작용에도 불구하고, 근래에 인

삼산업은 장기간의 재배기간, 노동력 감소, 연작장애, 잔류 농약 등의 문제로 인하여 재배 및 수출에 많은 어려움을 경험하고 있다. 따라서 최근 10년간 이러한 문제점을 해결하기 위하여 인삼의 세포 (Liu and Zhong 1998; Akalezi et al. 1999), 모상근 (Ko et al. 1995; Yang et al. 1998) 및 부정근 (Kevers et al. 1999; Kim et al. 2003) 배양에 대한 연구가 국내외 여러 연구자에 의하여 꾸준히 진행되었다.

이 가운데 인삼의 부정근 배양기술은 세포배양과 모상근 배양에 비하여 유전적 안전성과 높은 생산성을 가지고 있을 뿐만 아니라 재배인삼에서 가장 문제시되고 있는 잔류

*Corresponding author Tel 043-261-3227 Fax 043-266-3245

E-mail: paekky@chungbuk.ac.kr

농약에 대한 문제점도 해결할 수 있는 기술로 인정받고 있다. 또한, 국내의 몇몇 연구진들은 인삼 부정근 배양을 통하여 인삼의 대표적 약리성분으로 알려진 ginsenoside를 산업적으로 대량생산하고자 다양한 생물반응기를 설계, 제작하여 ginsenoside를 성공적으로 생산한 결과를 보고하였다 (Choi et al. 2000; Yu et al. 2000). 이러한 결과를 바탕으로 500 L와 1,000 L의 대형 생물반응기를 제작하였고, 제작된 생물반응기를 이용하여 성공적으로 인삼 부정근을 시험생산 한 바 있다 (Hahn et al. 2003). 현재 이들은 약 15~20 kL 규모의 생물반응기를 제작하여 생산형 공장을 운영하고 있으며 인삼 부정근을 이용한 다양한 상품개발에 노력을 하고 있다.

이와 같이 인삼 부정근 배양을 위한 생물반응기의 규모 확대 (scale-up)는 다양한 배양환경의 조절에 의하여 이루어질 수 있었다. 그 대표적인 배양환경은 최적의 배지선정, 배양온도, 생물반응기 형태, 공기조절 등이 있다 (Yu 2000; Kim 2002). 본 연구진은 이미 다양한 학술지를 통하여 적절한 배지선정, 배양온도 및 생물반응기 형태 결정 등에 대하여 보고한 바 있다 (Yu et al. 2000; Hahn et al. 2003; Kim et al. 2004). 하지만, 생물반응기의 규모 확대에 따른 반응기내의 적절한 공기주입량이나 공기 주입형태를 결정할 수 있는 sparger의 선정에 대한 연구내용은 아직 보고된 사실이 없다. 이러한 적절한 공기주입량과 알맞은 sparger의 선정은 모든 호기성 배양계에서 세포가 액체의 배지를 경유하여 기체인 산소를 이용하는데 가장 중요한 부분이라 할 수 있다 (Pan et al. 2000). 따라서 본 연구에서는 인삼 부정근을 대량생산할 목적으로 생물반응기를 제작할 때, 반드시 고려되어야 할 사항인 공기주입량과 sparger 형태 (다공 [pore] 및 직경 크기)가 기체-액체간 물질전달 계수

(kLa)에 미치는 영향을 조사하였으며, 그 kLa의 변화에 따라 인삼 부정근의 생장과 ginsenoside 함량의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료

인삼 부정근은 2,4-D 1.0 mg/L, kinetin 0.1 mg/L, sucrose 3% (w/v), gelrite 0.2% (w/v)가 첨가된 MS배지 (Murashige and Skoog 1962)에 접종하여 22±1℃ 암조건에서 캘러스를 유도하고, 유도된 캘러스를 NAA 2.0 mg/L, sucrose 3% (w/v), gelrite 0.2% (w/v)가 포함된 MS배지 (NH₄NO₃ 제거)에 접종하여 동일한 배양조건에서 4주간 배양하여 유도, 증식하였다 (Kim 2002). 상기한 방법에 의하여 유도된 75 g (생체중)의 부정근은 증식배지 15 L가 포함된 20 L 생물반응기에서 30일간 배양하여 본 실험의 재료로 이용하였다.

생물반응기 제작 및 배양

생물반응기 형태는 Kim 등 (2004)이 제작한 20 L의 bulb type bubble bioreactor를 사용하였으며 (Figure. 1), 공기주입량이 인삼 부정근의 생장과 ginsenoside 함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여 공기주입량은 무급유식 공기압축기 (oilless air compressor; AC-L5PA1SL, Kyungwon, Korea)에 의해 생성된 압축공기 (compressed air)를 이용하여 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 그리고 0.05~0.3 vvm (air volume/culture medium volume/min)으로 조정하였다. 여기서, 0.05~0.3 vvm은 초기 배양시 0.05 vvm으로 시작하여 10일 간격으로 0.1, 0.2, 0.3 vvm으로 점차 증가시킨 처리구를 말한다. 정확한 공기주입량과 평균된 공기 주입은 공기 흐름 조절장치 (air flow meter; RMA-13-SSV, Dywer, USA)와 0.2 μm의 membrane filter (Midisart 2000, 17805G, Sartorius, Germany)에 의하여 이루어졌다. 또한 생물반응기의 하부에 부착되어 있는 sparger (Figure 1g)의 직경과 다공크기 (pore size)를 각각 1.5, 3.0, 5.0, 8.0 cm와 15, 30, 60 μm으로 조절하여 서로 다른 공기분사 형태가 부정근의 생장과 ginsenoside 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 모든 생물반응기 배양은 NH₄NO₃을 제거한 MS 기본배지에 NAA 2 mg/L 와 sucrose 5% (w/v)를 포함한 배지를 15 L씩 첨가하여 이루어졌으며 22±1℃ 암조건에서 40일간 실시하였다. 각 생물반응기 당 신선 부정근 75 g (건물중 7 g)를 접종하였으며, 통계분석은 각 처리구 반복 없이 3차례 연속 배양한 결과를 가지고 이루어졌다.

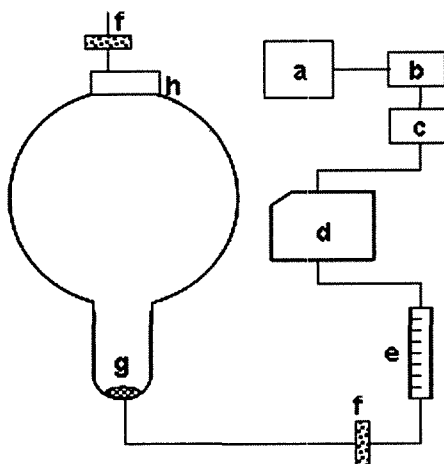


Figure 1. Configuration of a 20 L bulb type bubble bioreactor system used for culture of ginseng adventitious roots. (a) air compressor, (b) air cooler, (c) air dryer, (d) air reservoir, (e) air flow meter, (f) 0.2 μm membrane filter for air inlet and air ventilation, (g) glass sparger, and (h) silicon stopper.

동역학적 방법에 의한 초기 kLa 측정

초기 kLa는 질소가스에 의해 탈산소화하는 동역학적 방법 (Taguchi and Humphrey 1966)에 의하여 결정하였으며, 부정근이 접종되지 않은 배지상태에서 초기 kLa은 측정되었다. 어느 한 시점에서 배지 내 질소를 분사하여 탈산소화시켜 용존산소를 최소화 시킨 후, 공기를 일정한 유속으로 배지 내에 재공급하여 용존산소의 농도를 증가시켰다. 초기 kLa값은 용존산소가 재공급되어 나타나는 C의 증가량 (C*-C)이 시간의 함수로 분석되었다 (Equation 1).

$$dC/dt = kLa(C^*-C) \quad (1)$$

여기서 C = 용존산소의 농도 (mol O₂/L),
 C* = 포화시 용존산소의 농도 (mol O₂/L),
 kLa = 초기 기체-액체간 물질전달 계수 (h⁻¹)

측정 시 필요한 용존산소의 농도는 dissolved oxygen (DO) sensor (O₂ sensor 12/320 T-type, Mettler Toledo, Switzerland)와 O₂ transmitter 4050 (Mettler Toledo, Switzerland)에 의하여 측정되었다.

Ginsenoside의 추출 및 분석

건조시킨 분말시료 1.0 g을 취하여 80℃ 온수욕조에서 80% 메탄올 50 mL로 2회 추출하여 여과, 농축 후 에틸 에테르 (ethyl ether)로 재추출하여 탈지시킨 다음, 수포화 n-부탄올로 3회 추출하여 n-부탄올층만을 모두 합하여 증류수로 1회 세척한 후 수층을 버리고 n-부탄올층만을 감압 농축시켰다. 완전히 농축되어 건조된 분말을 HPLC용 메탄올 5 ml에 녹여 0.45 μm millipore syringe filter (Gelman, USA)로 여과한 후 HPLC (Waters 2690 separation module, USA)로 분석하였다 (William et al. 1996). Ginsenoside 정량은 photodiode array (Water 966, USA) 검출기로 수행하였으며, column은 Alltech Platinum C18 column (1.5 μm, 33×7 mm), 용매는 acetonitrile과 물을 이용하여 처음 10분은 75:25로 후반부 15분은 63:37의 구배로 조절하였고, flow rate는 1.0 ml/min로 하여 분석하였다. 총 ginsenoside 함량은 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1 (Karl Roth, Germany)의 표준품에 의하여 검량선을 작성하고, 환산하여 얻어진 각각의 ginsenoside를 합하여 나타내었다.

결과 및 고찰

일반적으로 생물반응기 배양에서 초기 kLa의 값은 반응기의 형태, 세포의 밀도, 배지의 점도 및 공기주입량에 의하여 다르게 나타난다. 이 중에서 공기주입량과 주입형태는

초기 kLa값에 가장 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Tanaka et al. 1983; Ryu et al. 1994; Pan et al. 2000; Kim et al. 2004). 본 연구에서는 다양한 공기주입량과 공기주입에 있어 가장 중요한 역할을 담당하고 있는 sparger의 형태에 따른 생물반응기내의 기체-액체간 물질전달계수 (kLa)를 측정하고, 그 초기 kLa값의 변화에 따른 인삼 부정근의 성장 및 ginsenoside의 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 우선 공기주입량에 따른 생물반응기내 초기 kLa값과 인삼 부정근의 성장 그리고 ginsenoside의 함량변화를 측정하였다. Figure. 2A에서 보는 바와 같이, 공기주입량의 증가에 따라 생물반응기내의 초기 kLa값은 점차 증가하는 경

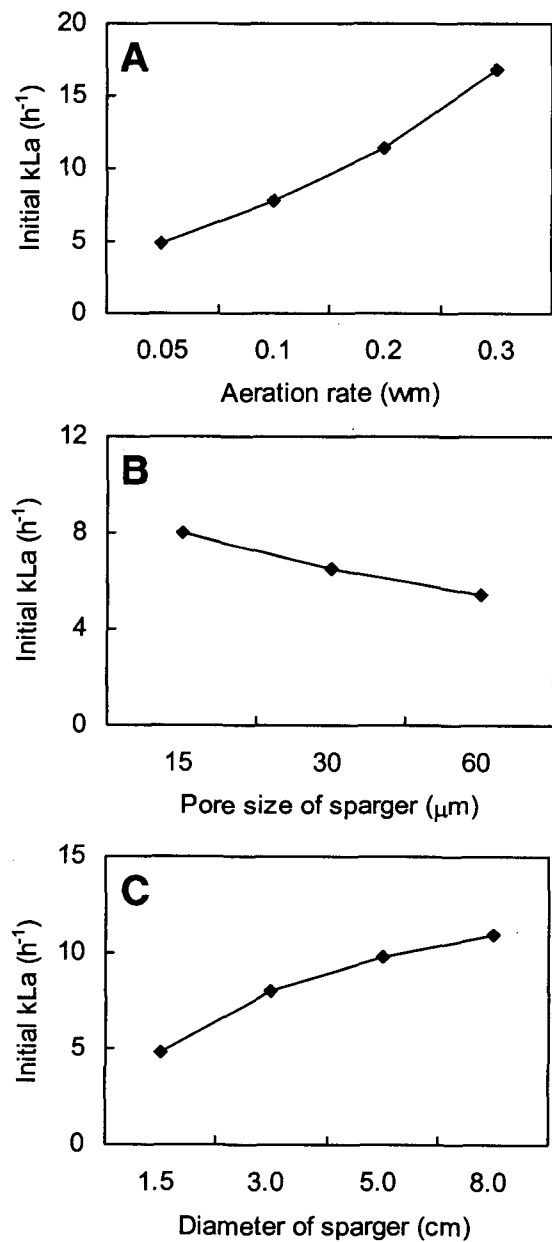


Figure 2. Comparison of initial kLa in different aeration rate (A) and various pore size (B) and diameter (C) of sparger in bulb type bubble bioreactors.

향을 보였으며, 본 실험에서 최고 많은 공기주입량인 0.3 vvm에서 초기 kLa값은 16.8 h⁻¹로 최소 주입량 0.05 vvm (4.9 h⁻¹)에 비하여 약 3.5배 이상 증가한 것으로 나타났다. 이때, 모든 처리구에서 sparger의 직경과 다공크기는 각각 3.0 cm와 30 μm로 조정하였다.

이러한 공기주입량이 다른 각각의 생물반응기에서 인삼 부정근을 40일간 배양한 뒤 부정근의 성장과 ginsenoside의 함량을 측정된 결과는 Table 1에 나타내었다. 공기주입량의 증가는 kLa값을 증가시키고 동시에 인삼 부정근의 성장을 증가시키는 것으로 나타났다. 하지만 0.2 vvm 이상의 공기주입량에서 부정근 성장 (0.2 vvm에서 163.1 g dry wt와 0.3 vvm에서 151.6 g dry wt)은 0.1 vvm에서의 성장 (173.6 g dry wt)보다 감소한 것으로 나타났다. 이는 아마도 0.2 vvm이상의 공기주입량은 인삼 부정근에 과도한 전단력 (shear stress)을 공급하여 성장을 억제한 것으로 보이며 (Zhong et al. 1993), 이러한 전단력은 부정근의 정단부 (root tip meristem)에 과도한 스트레스를 가함으로써 성장점부분의 발달을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Hitaka et al. 2000). 그러나 총 ginsenoside의 함량은 부정근의 성장과는 다르게 공기주입량이 증가할수록 조금씩 증가하고 있는 것을 확인하였다. 이러한 결과 역시 생물반응기내 공기주입량의 증가가 인삼 부정근에 스트레스로 작용하여 이차 대사산물인 ginsenoside의 함량을 증가시킨 것으로 생각된다 (Zhong et al. 1993; Bourgaud et al. 2001). 지금까지의 결과들은 배양 초기부터 말기까지 공기주입량을 일정하게 조절했을 경우의 성장과 함량을 나타내었으나, 마지막 처리에서는 공기주입량을 부정근의 생장이 증가함에 따라 공기주입량을 10일 간격으로 0.05~0.3 vvm까지 점차 증가한 결과를 보여준다. 이 처리에서의 부정근의 성장과 총 ginsenoside 함량은 다른 처리에 비하여 각각 최고의 수준 (175.8 g dry wt와 4.3 mg/g dry wt)을 나타내었으며 ginsenoside의 생산성 역시 1.2 mg/L/d로 가장 우수하게 나타났다. 이러한 결과는 초기의 최소 공기주입량이 부정근의 생

장점에 스트레스를 감소시킴으로써 성장을 증가시킨 것으로 생각되며, 배양의 후반부에 증가된 0.3 vvm의 많은 공기주입량은 이미 정체기에 들어간 부정근의 성장에 커다란 영향을 주지 않은 것으로 생각된다. 반면에 배양 후반부의 일시적인 공기주입량의 증가는 ginsenoside의 생산성을 증가시킨 것으로 나타났다. 이상의 결과를 통하여 인삼 부정근 배양에서 가장 이상적인 공기주입방법은 배양초기에 적은 수준 (0.05 vvm)의 공기주입에 의해 부정근의 정단부에 전단력을 감소시킴으로써 성장을 증가시키고, 배양말기에 일시적으로 많은 수준 (0.3 vvm)의 공기주입을 통하여 인삼 부정근내의 ginsenoside의 생산성을 최대로 증가시키는 것이라 생각된다. 앞선 실험에서 공기주입량에 의한 초기 kLa값의 변화가 인삼 부정근의 성장 및 ginsenoside 함량에 영향을 준다는 결과를 얻었다 (Table 1). 다음에 기술된 실험에서는 공기주입량을 앞의 실험에서 결정된 공기주입 방법 (0.05~0.3 vvm으로 증가시키는 방법)을 이용한 상태에서 sparger의 다공 (pore)과 직경 (diameter) 크기를 다양하게 제작한 생물반응기내 kLa값의 변화가 인삼 부정근의 성장과 ginsenoside 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 첫째, sparger의 다공 크기를 15, 30, 60 μm로 제작한 각각의 생물반응기에서 초기 kLa값의 변화에 따른 인삼 부정근의 성장과 ginsenoside 함량을 측정된 결과는 Figure 2B와 Table 2에 각각 나타냈다. 이때, sparger의 직경은 3.0 cm로 조정하였다. 다공 크기가 15에서 60 μm로 증가하면서 생물반응기내의 kLa값은 8.0 h⁻¹에서 5.4 h⁻¹로 점차 감소하는 경향을 나타냈으며 (Figure 2B), 부정근의 성장 역시 생물반응기내의 kLa의 감소와 함께 175.9 g에서 171.9 g dry wt로 약 2% 감소되었다 (Table 2). 이러한 다공 크기 처리는 인삼 부정근 성장에 있어서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 반면에 다공크기가 최대인 60 μm sparger가 부착된 생물반응기에서 부정근의 총 ginsenoside 함량은 4.9 mg/g dry wt로 15 μm sparger가 부착된 생물반응기에서의 총 ginsenoside 함량 3.9 mg/g dry wt에 비하여 1.3배 증가한 것을 볼 수

Table 1. The growth and the ginsenoside productivity of ginseng adventitious roots by aeration rate in bulb type bubble bioreactors after 40 days of culture

Aeration rate (vvm ²)	Growth of adventitious roots			Total ginsenosides (mg/g dry wt)	Ginsenoside productivity ^x (mg/L/d)
	Inoculated (g dry wt)	Harvested (g dry wt)	Growth rate (fold)		
0.05	7.0	149.1±8.2	21.3	3.7±0.1	0.9
0.1	7.0	173.6±7.5	24.8	3.9±0.1	1.1
0.2	7.0	163.1±9.8	23.3	3.7±0.2	1.0
0.3	7.0	151.6±8.4	21.7	4.1±0.2	1.0
0.05/0.1/0.2/0.3 ^y	7.0	175.8±8.3	25.1	4.3±0.1	1.2

^z vvm: volume of gas per volume of aerated liquid (min⁻¹) per minute, ^yAeration rate increased to 10 day intervals from 0.05 to 0.3 vvm, ^xGinsenoside productivity (mg/L per day)=total ginsenoside content (mg/g dry wt)×dry weight of harvested roots (g dry wt) per volume of culture medium (L) per culture day (d). The values are expressed as means of three replicates with standard deviations.

있다. 따라서 최대 ginsenoside 생산성 (1.4 mg/L/d) 또한 총 ginsenoside 함량이 최대인 60 μ m sparger를 가진 생물반응기에서 수확된 부정근으로부터 얻을 수 있었다. 이러한 결과는 60 μ m sparger를 통하여 공기를 주입하여 생성된 공기방울이 다공 크기가 상대적으로 가장 작은 15 μ m sparger를 통한 공기방울에 비하여 크기 때문인 것으로 생각된다. 일반적으로 생물반응기내에서 발생된 커다란 공기방울은 세포배양에서 세포들에 직접적으로 스트레스를 야기시키는 것으로 알려져 있고, 이러한 스트레스는 세포들의 성장을 억제하는 반면에 경우에 따라서 이차대사산물을 증가시키는 경우도 있다 (Zhong et al. 1993). Sparger의 형태에 대한 두 번째 실험으로 sparger의 직경을 1.5, 3.0, 5.0 그리고 8.0 cm로 제작하여 초기 kLa값을 측정한 결과 (Figure. 2C), sparger의 직경이 커질수록 kLa값이 증가하는 것을 볼 수 있었으며, sparger의 직경이 8.0 cm 인 생물반응기에서 kLa값은 10.9 h⁻¹로 가장 높게 나타났다. 이때, 모든 처리구에서 공기주입량은 0.05~0.3 vvm을 이용하였고, sparger의 다공 크기는 15 μ m로 조정하였다. 부정근의 성장과 총 ginsenoside 함량 역시 8.0 cm sparger를 가진 생물반응기에서 191.9 g dry wt와 4.9 mg/g dry wt로 각각 가장 높게 조사되었으며, 이러한 결과는 앞선 공기주입량과 sparger 다공 크기 실험에서 얻어진 결과보다도 가장 양호한 성장과 ginsenoside 함량을 나타낸 결과이다 (Table 3). Ginsenoside 생산성에서도 1.6 mg/L/d로 다른 모든 처리구보다 높게 나타났다.

이상의 모든 결과를 통하여, 생물반응기를 이용하여 대규모 배양을 할 경우 공기주입량과 sparger를 통한 다양한 공기주입 형태가 반응기내 kLa값을 변화시키며, 변화된 kLa값에 의해 인삼 부정근의 성장과 총 ginsenoside의 함량에 영향을 줄 수 있다는 사실을 알 수 있었다. 반응기내 kLa값의 증가는 대부분의 경우 성장을 증가시키는 것으로 나타났다, 총 ginsenoside 함량은 kLa값과는 상관없이 공기주입 형태에 따른 스트레스 조건에 따라 증가되거나 감소되는 것으로 나타났다. 최종적으로 우리는 이상의 결과에 의해 결정된 조건을 생물반응기 배양에 적용함으로써 단위 면적과 시간 당 ginsenoside 총 생산성을 증가시킬 수 있었다.

적 요

생물반응기 배양을 통하여 인삼 부정근을 대량생산하고자 할 때, 가장 이상적인 공기주입량의 조절은 배양초기부터 말기까지 각각의 농도 (0.05, 0.1, 0.2, 0.3 vvm)를 가지고 동일하게 주입하는 방법보다는 인삼 부정근의 생장이 증가함에 따라 공기주입량을 약 10일 간격을 두고 0.05~0.3 vvm으로 서서히 증가시키는 것이 인삼 부정근의 성장 (175.8 g dry wt)과 총 ginsenoside 함량 (4.3 mg/g dry wt)을 최대로 증가시켰다. 또한 생물반응기내 sparger의 다공 크기를 15, 30, 60 μ m으로 각각 제작하여 배양하였을 경우, 인삼 부정근의 생장은 15 μ m sparger (175.9 g dry wt)에서

Table 2. The growth and the ginsenoside productivity of ginseng adventitious roots by pore size of sparger in bulb type bubble bioreactors after 40 days of culture

Pore size of sparger (μ m)	Growth of adventitious roots			Total ginsenosides (mg/g dry wt)	Ginsenoside productivity ^z (mg/L/d)
	Inoculated (g dry wt)	Harvested (g dry wt)	Growth rate (fold)		
15	7.0	175.9±5.6	25.1	3.9±0.3	1.1
30	7.0	175.1±4.5	25.0	4.5±0.2	1.3
60	7.0	171.9±4.7	24.6	4.9±0.2	1.4

^z Ginsenoside productivity (mg/L per day)=total ginsenoside content (mg/g dry wt)×dry weight of harvested roots (g dry wt) per volume of culture medium (L) per culture day (d). The values are expressed as means of three replicates with standard deviations.

Table 3. The growth and the ginsenoside productivity of ginseng adventitious roots by diameter of sparger in bulb type bubble bioreactors after 40 days of culture

Diameter of sparger (cm)	Growth of adventitious roots			Total ginsenosides (mg/g dry wt)	Ginsenoside productivity ^z (mg/L/d)
	Inoculated (g dry wt)	Harvested (g dry wt)	Growth rate (fold)		
1.5	7.0	175.1±4.3	25.0	4.1±0.2	1.2
3.0	7.0	175.9±3.7	25.1	4.0±0.2	1.2
5.0	7.0	181.4±4.1	25.9	3.9±0.2	1.2
8.0	7.0	191.9±4.4	27.4	4.9±0.1	1.6

^z Ginsenoside productivity (mg/L per day)=total ginsenoside content (mg/g dry wt)×dry weight of harvested roots (g dry wt) per volume of culture medium (L) per culture day (d). The values are expressed as means of three replicates with standard deviations.

양호하였으나 총 ginsenoside 함량은 60 μm sparger (4.9 mg/g dry wt)에서 우수하게 나타났다. 마지막으로 sparger의 직경을 1.5, 3.0, 5.0, 8.0 cm로 각각 제작하여 배양하였을 때 (공기주입량은 0.05~0.3 vvm, sparger의 다공크기는 15 μm 로 채택), 8.0 cm sparger에서 인삼 부정근의 생장 (191.9 g dry wt)과 총 ginsenoside 함량 (4.9 mg/g dry wt)이 다른 처리구에 비하여 가장 우수하게 나타났다.

사사

본 연구는 바이오그린 21사업과 2004년도 학술진흥재단의 중점연구소 지원사업 (F00003)에 의하여 연구되었음.

인용문헌

- Akalezi CO, Liu S, Liu QS, Yu JT, Zhong JJ (1999) Combined effects of initial sucrose concentration and inoculum size on cell growth and ginseng saponin production by suspension cultures of *Panax ginseng*. *Process Biochem* 34: 639-642
- Bourgau F, Gravot A, Milesi S, Gontier E (2001) Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci* 161: 839-851
- Choi SM, Son SH, Yun SR, Kwon OW, Seon JH, Paek KY (2000) Pilot-scale culture of adventitious roots of ginseng in bioreactor system. *Plant Cell Tiss Org Cult* 62: 187-193
- Hahn EJ, Kim YS, Yu KW, Jeong CS, Paek KY (2003) Adventitious root cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer and ginsenoside production through large-scale bioreactor system. *J Plant Biotechnol* 5: 1-6
- Hitaka Y, Takahashi Y, Kino-oka M, Taya M, Tone S (2000) Culture of red beet hairy roots by considering variation in sensitivity of tip meristems to hydraulic stress. *Biochem Eng J* 6: 1-6
- Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ (2000) Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett* 150: 41-48
- Kim YS (2002) Production of ginsenosides through bioreactor culture of adventitious roots in ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). PhD thesis. Chungbuk National University, Cheongju.
- Kim YS, Hahn EJ, Paek KY (2004) Effects of various bioreactors on growth and ginsenoside accumulation in ginseng adventitious root cultures (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Kor J Plant Biotech* 31: 249-253
- Kim YS, Hahn EJ, Yeung EC, Paek KY (2003) Lateral root development and saponin accumulation as affected by IBA or NAA in adventitious root cultures of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 39: 245-249
- Kevers C, Jacques Ph, Thonart Ph, Gaspar Th (1999) In vitro cultures of *Panax ginseng* and *P. quinquefolium*. *Plant Growth Regul* 27: 173-178
- Ko SR, Choi KJ, Kim SC, Han KW (1995) Content and composition of saponin compounds of *Panax* species. *Kor J Ginseng Sci* 19: 254-259
- Liu S, Zhong JJ (1998) Phosphate effect on production of ginseng saponin and polysaccharide by cell suspension cultures of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*. *Process Biochem* 33: 69-74
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol* 15: 473-497
- Pan ZW, Wang HQ, Zhong JJ (2000) Scale-up study on suspension cultures of *Taxus chinensis* cells for production of taxane diterpene. *Enzyme Microb Tech* 27: 714-723
- Ryu HW, Chang YK, Kim SD (1994) Airlift bioreactors. *Kor J Biotechnol Bioeng* 9: 347-364
- Rotshteyn Y, Zito SW (2004) Application of modified in vitro screening procedure for identifying herbals possessing sulfonyleurea-like activity. *J Ethnopharmacol* 93: 337-344
- Shibata S (2001) Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. *J Kor Med Sci* 16: 28-37
- Taguchi H, Humphery AE (1966) Dynamic measurement of the volumetric oxygen transfer coefficient in fermentation systems. *J Ferm Technol* 44: 881-889
- Tanaka H, Nishijima F, Suwa M, Iwamoto T (1983) Rotating drum fermentor for plant cell suspension cultures. *Biotechnol Bioeng* 25: 2359-2370
- William A, John G, Hendel J (1996) Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of ginsenosides of *Panax quinquefolium*. *J Chromatogr* 775: 11-17
- Yang DC, Kim YH, Yang DC, Min BH, Shin SL, Choi KT (1998) Selection of active grow hairy root lines in ginseng. *Kor J Plant Tiss Cult* 25: 525-530
- Yu KW (2000) Production of the useful metabolites through bioreactor culture of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). PhD thesis, Chungbuk National University, Cheongju
- Yu KW, Hahn EJ, Paek KY (2000) Production of adventitious ginseng roots using bioreactors. *Kor J Plant Tiss Cult* 27: 309-315
- Zhong JJ, Yoshida M, Fujiyama K, Seki T, Yoshida T (1993) Enhancement of anthocyanin production by *Perilla frutescens* cells in a stirred bioreactor with internal light irradiation. *J Ferment Bioeng* 75: 299-303

(접수일자 2005년 2월 15일, 수리일자 2005년 3월 28일)