

무기 게르마늄 GeO_2 의 첨가가 액체 배양 중 인삼 부정근의 생장과 게르마늄 및 사포닌 함량에 미치는 영향

장은정 · 오훈일[#]

세종대학교 식품공학과

(2005년 8월 5일 접수, 2005년 9월 9일 수리)

Effects of Addition of Inorganic Germanium, GeO_2 on the Growth, Germanium and Saponin Contents of Ginseng Adventitious Root in Submerged Culture

Eun Jung Chang and Hoon Il Oh[#]

Dept. of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul 143-747, Korea

(Received August 5, 2005; Accepted September 9, 2005)

Abstract : This study was carried out to determine the optimal submerged culture conditions for production of ginseng root containing germanium using plant tissue culture technology. The ginseng(*Panax ginseng* C.A. Meyer) root induced by plant growth regulators of 0.5 mg/L BAP and 3.0 mg/L NAA was cultured on SH medium and the effects of various GeO_2 concentrations, addition time of GeO_2 and pH of medium were investigated on fresh weight, saponin production and germanium accumulation in ginseng root. Optimal GeO_2 concentrations for fresh weight, saponin and germanium content were 10, 0 and 110ppm, respectively. When GeO_2 was added after 2 weeks cultivation of ginseng root, germanium content was higher than that of adding GeO_2 at the initial cultivation time, but saponin content and fresh weight were lower. pH 5.5 was found to be the most favorable condition for the growth of ginseng root and germanium accumulation, but saponin production was best at pH 6.0.

Key words : Germanium, ginseng, adventitious root, saponin

서 론

고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 오갈피나무과(Araliaceae)에 속하는 다년생 초본으로 간기능 보호작용, 항당뇨기능, 혈압조절, 항암효과 및 면역기능 강화 등 다양한 약리효과를 갖고 있어 예로부터 한약재로 널리 이용되어 왔으며, 최근에는 차, 음료, 캡슐 등 다양한 형태의 가공식품 원료로도 이용되고 있다¹⁾.

게르마늄(Ge)은 주기율표에서 IV_A 에 속하는 32번째 원소로, 초기 전자산업에서는 반도체로서 중요하게 쓰였다²⁾. 1930년 프랑스와 스페인 국경지방인 Lourdes의 샘물이 여러 가지 질병치료에 큰 효과가 있다는 보고서가 발표된 이후 계속된 샘

물의 성분 분석결과, 게르마늄 함량이 매우 높다는 사실이 알려지면서 그 의학적 효능이 알려졌다³⁾. Sanai 등⁴⁾은 유기 Ge는 안전하지만 무기 Ge는 신장 및 간장의 기능 장애를 일으킨다고 보고하였고, 그 후 독성이 강하고 많은 부작용이 보고된 바 있는 무기 Ge보다는 체내에 잔류하지 않고 약리작용을 나타내는 유기 Ge에 대한 연구가 활발히 진행되었다.

지금까지 알려진 생체내에서 유기 Ge의 역할은 세포내 산소공급증진⁵⁾, 혈액의 정화⁶⁾, 체내중금속의 체외배출 촉진⁷⁾, NK세포와 macrophage의 활성화 및 인터페론 분비 유도⁸⁾, 세포독성 T-lymphocyte의 생산 조절⁹⁾ 등이다. 최근에는 유기 Ge를 암, 간염, 류마치스 관절염, 피부질환, 노화 등과 같은 난치성 성인병 치료에 이용하려는 연구가 계속되고 있다.

인삼, 영지, 명일엽과 같은 약용식물(藥用植物)이 인체에 유용한 성분을 가지고 있기 때문에 이에 대한 유용물질을 증가시키려는 노력과 함께 유용 물질의 생산과 합성을 위해 최근

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-3408-3229; (팩스) 02-3408-3319
(E-mail) ohhi@sejong.ac.kr

식물조직배양에 의한 기내(器內)에서의 연구가 활발히 전개되고 있다. 따라서 다양한 약리효과를 가지는 유기 Ge를 생산하기 위해 그 동안 식물체를 조직배양하거나, 미생물을 이용하여 단시간내에 대량으로 유기 Ge를 생산하려는 노력을 해왔다³⁾.

식물조직배양에 의한 Ge생산에 관한 연구로는 이 등¹⁰⁾이 마늘의 켈러스 형성 및 기관 분화에 미치는 무기 Ge의 효과에 대하여 조사하였고, 이 등¹¹⁾은 명일엽과 일당귀의 조직배양시 무기 Ge의 첨가가 켈러스 증식에 미치는 영향을 조사하였다. GeO₂를 처리하여 벼와 현미의 재배시 Ge에 의한 생육 저해 정도가 밝혀진 바^{12,13)} 있으며, 효모에서도 GeO₂ 처리에 따른 영향을 조사^{3,14,15)}한 바 있다. 또한, 이 등¹⁶⁾이 고려인삼의 조직배양시 켈러스 유도에 미치는 Ge의 효과에 대하여 연구한 바 있지만, 켈러스가 아닌 인삼 부정근에 대한 Ge의 영향을 연구한 예는 없는 실정이다.

따라서, 본 연구는 무기 Ge인 GeO₂의 처리농도와 처리시기 및 배지의 pH가 인삼 부정근의 생육과 Ge 및 사포닌 함량에 미치는 영향을 조사함으로써 Ge를 함유한 인삼 부정근의 최적배양조건을 선정하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

켈러스의 유도

한국인삼연구소연구원(현 KT&G 중앙연구원) 수원경작시험장에서 분양받은 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 씨앗을 개갑하여 70% (v/v) ethanol로 20초, 4% NaOCl용액(v/v)으로 15분간 살균한 후, 켈러스를 유도하기 위해 메스로 씨앗에 작은 상처를 낸 다음, BAP(6-Benzylaminopurine) 0.5 mg/L와 NAA(1-Naphtalene acetic acid) 3.0 mg/L를 첨가한 Murashige-Skoog(MS) 고체배지에서 배양하였다. 배양온도는 25°C로 유지하였으며 빛이 없는 암조건에서 배양하였다.

부정근(Adventitious root)의 유도 및 배양

MS배지에서 유도된 켈러스로부터 root를 얻기 위해 BAP 0.5 mg/L와 NAA 3.0 mg/L를 첨가한 Schenk-Hilderbrandt (SH) 고체배지에 켈러스를 옮겨 25°C 암조건에서 배양하였다. 이 조건에서 3개월간 배양한 후 유도된 root를 동일한 조성의 SH 액체배지에 옮겨 25°C, 암조건에서 60 rpm으로 4주간 진탕배양한 후 다음의 실험에 사용하였다.

게르마늄 함유 인삼 root 생산을 위한 배양최적조건

(1) GeO₂ 농도 및 배양기간의 영향

GeO₂의 농도와 배양기간이 인삼 root의 성장과 Ge 및 사

포닌 함량에 미치는 영향을 알아보기 위해 0.5 mg/L의 BAP와 3.0 mg/L의 NAA를 첨가한 SH배지에 0, 5, 10, 50, 100 ppm씩 GeO₂를 처리한 후 root를 접종하고 25°C, 암조건에서 60 rpm으로 진탕배양하면서 2주 간격으로 생장을 및 Ge 함량을 8주까지 측정하였고, 8주 배양 후 사포닌 함량과 ginsenoside의 pattern을 측정하였다.

(2) GeO₂ 첨가시기에 따른 영향

인삼 root를 접종하고 2주간 25°C, 암조건, 60 rpm에서 진탕배양한 후, 배양 2주째에 GeO₂를 농도별(0, 5, 10, 50, 100 pm)로 첨가한 다음, 8주까지 배양하여 초기에 GeO₂를 첨가한 경우와 비교하였다.

(3) 배지의 초기 pH 영향

GeO₂ 50 ppm이 첨가된 배지의 초기 pH를 4.5~6.5까지 0.5 간격으로 조절하고 6주간 배양하여 생장을, Ge 함량 및 사포닌 함량을 측정하였다.

(4) 생장을 및 사포닌 함량 측정

인삼 root의 생장은 무게를 측정하여 생체중량으로 나타내었고 사포닌 함량은 김과 이¹⁷⁾의 방법에 따라 시료 1g을 80% methanol로 3회 추출하고 여과, 농축 후 ethyl ether를 가해 지질 등을 제거한 다음, 수포화 n-butanol로 4회 추출한 뒤 n-butanol 층을 모아 감압농축시켜 vanillin-H₂SO₄ 비색법¹⁸⁾으로 정량하였다.

(5) 진세노사이드(ginsenoside) 분석

인삼 root의 n-butanol 분획을 메탄올 1 ml에 녹여 오 등¹⁹⁾의 방법에 따라 HPLC로 ginsenoside를 분석하였다(Table 1).

Table 1. Instrument and working conditions for ginsenoside analysis by high performance liquid chromatography

Instrument : Waters Associates HPLC			
Column : μ -Bondapak C ₁₈ , 3.9 mm×300 mm			
Detector : Waters 486 absorbance detector (203 nm)			
Solvent : Solvent A : Acetonitrile Solvent B : H ₂ O			
Gradient table : Waters 600 gradient controller			
Time	Flow	%A	%B
Initial	1.5	10	90
30	2.0	30	70
50	2.0	30	70
51	2.0	10	90
60	1.5	10	90

Injection volumn : 20 μ l

Table 2. Instrument and working conditions for germanium analysis by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

Instrument parameters :	
ICP/Perkin Elmer Optima 3300XL	
plasma power	1300W
plasma gas	15 min ⁻¹
nebulizing gas	0.8 min ⁻¹
auxillary gas	0.5 min ⁻¹
read delay	20 sec
spectrum rate	0.1
spectrum range	0.5 nm
replicate	3
viewing height	10 mm
Elemental parameters :	
Ge wavelength	209.426 nm

(6) 게르마늄 분석

배양한 인삼 root를 수거하여 50% EDTA로 수세하고 3차 증류수로 다시 3회 수세한 후, 70°C에서 열풍 건조시켜 분쇄하고 40 mesh의 체를 통과시켜 시료로 사용하였다. 시료의 전처리에는 Abbasi의 방법²⁰⁾을 변형하여 시료 0.1 g에 0.5 ml의 conc. H₂SO₄를 첨가하고 70°C에서 5분간 가열한 후, HNO₃ 0.5 ml를 첨가하여 100°C에서 15분간 분해시켰다. 분해가 완료되면 H₂O₂ 0.2 ml를 첨가하고 10 ml로 정용한 후, ICP로 Table 2와 같은 조건하에서 Ge를 측정하였다.

결과 및 고찰

GeO₂ 농도 및 배양기간의 영향

인삼씨앗에서 유도된 root를 GeO₂를 처리한 배지에 접종하여 배양한 후 2주 간격으로 수거하여 인삼의 성장율을 조사한 결과는 Fig. 1와 같다. 전체적으로 S자 형태의 성장곡선이 나타났으며 6주 이후부터는 성장율이 둔화되는 것을 관찰할 수 있었다. GeO₂의 농도가 10 ppm일 때 성장율이 가장 좋았고, GeO₂ 100 ppm일 때는 GeO₂ 무처리구에 비해 현저히 낮은 성장율을 보였다. 따라서, 인삼 root의 생육에 가장 적합한 GeO₂ 농도는 10 ppm이며 그 이상이 될 경우에는 성장을 저해하는 것을 알 수 있었다. 이는 이 등¹⁶⁾이 인삼캘러스에 GeO₂ 처리시 10 ppm이상부터 캘러스 형성 저해 및 캘러스의 갈변현상이 나타났다는 보고와 일치한다. 또한 이 등¹²⁾은 명일엽과 일당귀의 조직배양시 무기 Ge의 농도가 5 ppm일 때까지는 캘러스의 형성이 좋았으나, 그 이상의 농도에서는 저해를 받았다고 보고하였다. 또한 박²¹⁾은 강활의 캘러스 유도시 GeO₂농도 2.5 ppm에서 캘러스 형성이 가장 좋았다고 하였으며 권 등¹³⁾은 현미의 조직배양시 GeO₂의 농도가 높을수록 캘러스의 증식율이 감소되고 색깔 또한 milk white에서

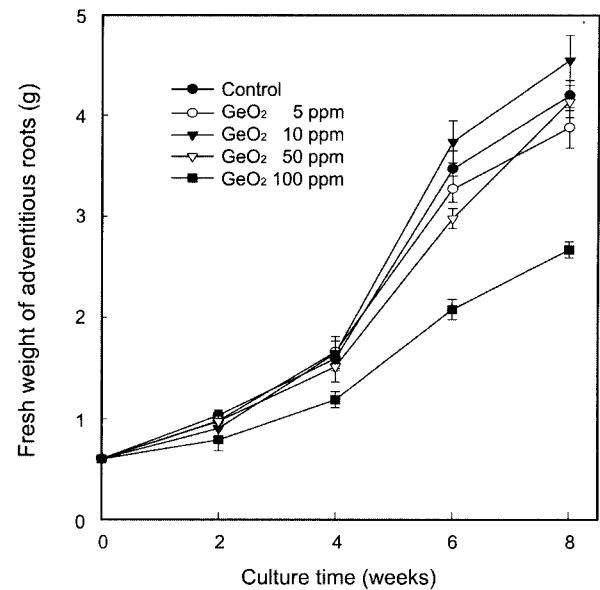


Fig. 1. Effects of various concentrations of GeO₂ on the growth of ginseng root (Addition time of GeO₂ is 0 week). Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

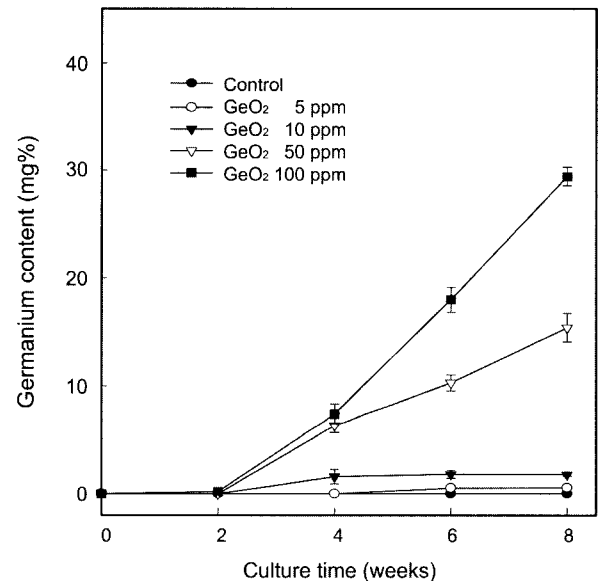


Fig. 2. Effects of various concentrations of GeO₂ and culture time on the germanium content (Addition time of GeO₂ is 0 week). Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

pale brown, brown으로 변했다고 보고하였다. 이 등¹¹⁾ 역시 마늘에서 캘러스의 유도과 증식 또는 기관 분화 등이 GeO₂ 5 ppm까지는 무처리와 동일하게 양호하였으나, 10 ppm부터 저해되었다가 50 ppm부터 불량했다고 보고하였다.

GeO₂처리농도 및 배양기간에 따른 인삼 root의 Ge함량 변

Table 3. Contents of ginsenosides in roots of *Panax ginseng* liquid culture as affected by various concentrations of GeO₂

GeO ₂ conc.	Contents of ginsenosides (% on dry basis)							
	Rb ₁	Rb ₂	Rc	Rd	Re	Rf	Rg ₁	Total
Control	0.053	0.043	0.044	0.089	0.079	0.076	0.095	0.479
5 ppm	0.049	0.011	0.056	0.068	0.161	0.061	0.061	0.467
10 ppm	0.051	0.102	0.067	0.070	0.159	0.051	0.058	0.558
50 ppm	0.020	0.059	0.033	0.073	0.116	0.047	0.075	0.423
100 ppm	0.051	0.004	0.001	0.047	0.093	0.087	0.036	0.419

회를 살펴보면(Fig. 2) GeO₂ 무처리구에서는 Ge가 검출되지 않았고 GeO₂의 농도가 증가할수록 인삼 root내의 Ge함량은 증가하였다. 배양기간에 있어서는 처음 2주까지는 GeO₂ 100 ppm 처리구에서만 0.195±0.127 mg%의 Ge가 검출되었고 나머지 처리구에서는 Ge가 전혀 검출되지 않았다. 그리고 4주째부터 Ge가 검출되기 시작하여 GeO₂ 5 ppm 및 10 ppm 처리구는 4주 이후부터 Ge 함량에 변화가 거의 없는 반면, 50 ppm과 100 ppm 처리구는 배양기간이 증가함에 따라 계속적으로 Ge의 흡수율이 증가하였다. 가장 Ge가 많이 흡수된 경우는 GeO₂ 100 ppm, 8주간 배양한 처리구로써 그 함량은 29.4±0.866 mg%이다. 이는 이 등¹⁶⁾이 고려인삼 셀러스에 GeO₂ 50 ppm을 처리하여 AAS(Atomic absorption spectrophotometer)로 Ge를 정량하였을 때 892.2 ppm의 Ge가 흡수되었다는 결과와는 차이가 있으나, 인삼의 형태와 배양기간 및 분석방법이 다르기 때문으로 사료된다. 이 등¹⁶⁾은 4주간격으로 4회 계대배양을 한 후에 Ge함량을 측정하였고

본 실험에서는 8주까지 배양하였다. 또한 분석방법에 있어서 AAS보다 ICP의 검출한계가 더 높고 전극을 사용하지 않으므로 아크나 스파크 또는 직류 플라즈마를 이용하는 AAS에 비해 오염문제와 화학적 간섭효과가 적어 더욱 정확한 Ge의 측정이 가능하므로 이러한 분석방법상의 차이도 Ge함량에 영향을 주는 것으로 생각된다. 이 등¹²⁾은 명일엽의 경우 GeO₂ 10 ppm까지는 급격히 Ge의 흡수가 증가하나 그 이상에서는 증가가 완만하다고 하였고, 인삼¹⁶⁾에서는 100 ppm까지 완만하게 Ge를 흡수하는 경향이 있다하였는데 이는 본연구와 유사한 결과이다.

배지에 GeO₂를 첨가할 경우 인삼 root의 사포닌 형성에 미치는 영향을 알아보기 위해 GeO₂를 농도별로 처리한 후 사포닌 함량을 측정하였다(Fig. 3). 사포닌 함량은 GeO₂ 무처리구가 가장 높았고, GeO₂의 농도가 증가할수록 감소하였다.

배양한 인삼 root의 진세노사이드 패턴을 HPLC로 분석한

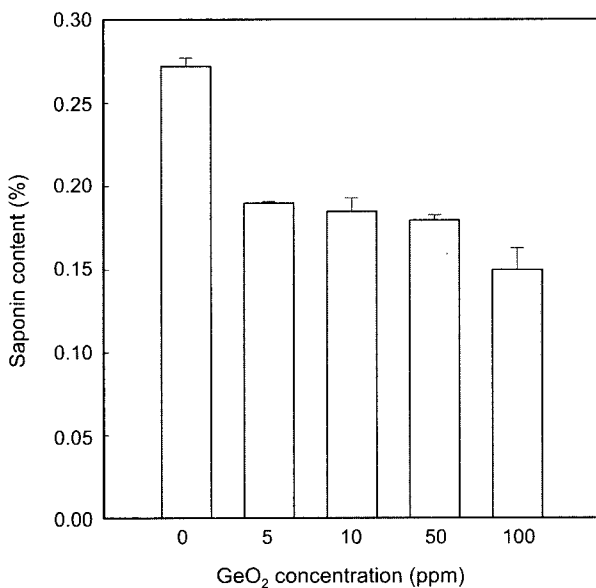


Fig. 3. Effects of various GeO₂ concentrations on saponin accumulation (Addition time of GeO₂ is 0 week). Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

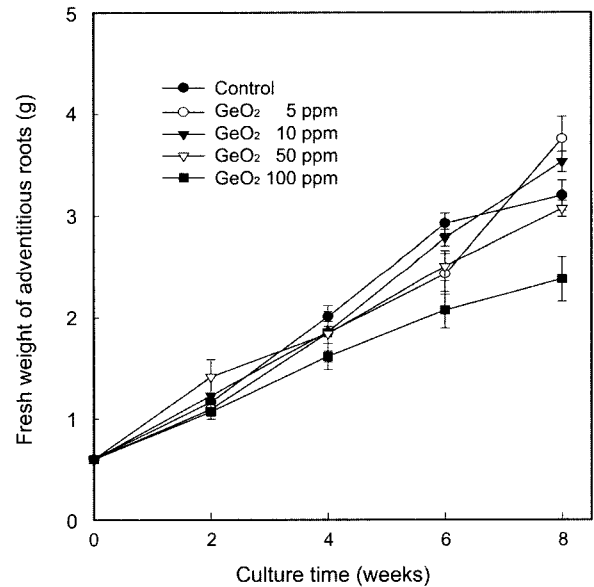


Fig. 4. Effects of various concentrations of GeO₂ on the growth of ginseng root (Addition time of GeO₂ is at 2 weeks of culture). Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

결과는 Table 3과 같다. GeO₂의 농도에 따라 진세노사이드의 함량과 패턴에서 다소 차이가 있었다. GeO₂ 10 ppm 처리구에서 배양한 root의 경우 7종의 진세노사이드의 총합량이 0.558%로 가장 높게 나타났고 GeO₂ 100 ppm 처리구에서 0.419%로 가장 낮은 함량을 나타내었으며, Rc와 Re는 GeO₂가 첨가되지 않은 대조구에 비해 GeO₂ 농도 10 ppm까지는 그 함량이 증가하다가 그 이후에는 감소하였다.

GeO₂의 첨가 시기에 따른 영향

상기 실험은 GeO₂를 배지제조시에 첨가하여 인삼 root를 접종함으로써 인삼 root가 접종된 그 순간부터 Ge가 첨가된 환경에서 성장하게 하였다. 이 경우 새로운 환경에 적응하는 과정을 겪게 되므로 어느 정도 새로운 환경에 적응을 하고 서서히 성장이 왕성해지는 대수기인 2주째에 GeO₂를 첨가하는 경우와 Ge 흡수 및 생장에 있어서 차이를 보일 수 있으리라 사료된다. 따라서 GeO₂의 첨가시기를 배양초기(0주)와 배양 후 2주로 나누어 실험하였으며 그 결과는 Fig. 4, 5과 같다. 성장율은 Fig. 4에 나타난 바와 같이, 4주까지의 성장은 인삼 root 배양 2주째에 GeO₂를 첨가한 실험구가 배양초기에 첨가한 실험구보다 성장율이 다소 높다가, 4주 이후부터는 GeO₂를 배양초기에 첨가한 경우의 성장율이 훨씬 높았다. 이는 인삼 root 배양 2주째 GeO₂를 첨가한 경우 뒤늦게 적응하는 기간을 가지기 때문인 것으로 사료된다. Ge 함량에 있어서 배양초기에 GeO₂를 첨가한 경우와 동일하게 2주째 첨가한 경우에도 GeO₂의 농도가 증가할수록 인삼 root내의 Ge함량이 증가하였고, 초기에 GeO₂를 첨가한 처리구의 경우에는 100 ppm에서 2주째부터 Ge가 검출되었고 4주째부터 모든 처리구에서 Ge가 검출되었다. 반면 인삼 root를 배양한 후 2주에 GeO₂를 첨가한 경우는 4주째부터 모든 처리구에서 Ge가 검출되었으며, 100 ppm을 제외한 나머지 처리구는 배양초기에 GeO₂를 첨가한 것에 비해 Ge함량이 낮은 반면 100 ppm 처리구는 배양초기에 첨가한 경우보다 그 함량이 약 2배(0주째 GeO₂ 100 ppm 첨가구/2주째 GeO₂ 100 ppm 첨가구=7.45 mg%/14.4 mg%)정도 높았다(Fig. 5). 이는 어느정도 환경에 적응하고 대수기에 접어드는 시기에 GeO₂를 첨가하였기 때문인 것으로 생각된다. 인삼 root 배양 4주 이후부터는 배양 2주째 Ge 첨가구가 배양초기 첨가구에 비해 Ge 함량이 월등히 높아졌다. 인삼 root 배양 2주째에 GeO₂ 100 ppm을 첨가하여 8주 배양시 38.6±1.99 mg%의 Ge가 인삼 root내에 축적되었다. 반면 saponin의 함량은 GeO₂의 농도가 증가할수록 감소하였다(Fig. 6).

배지의 초기 pH의 영향

배지의 pH가 GeO₂ 처리시 인삼 root의 성장율과 Ge 흡

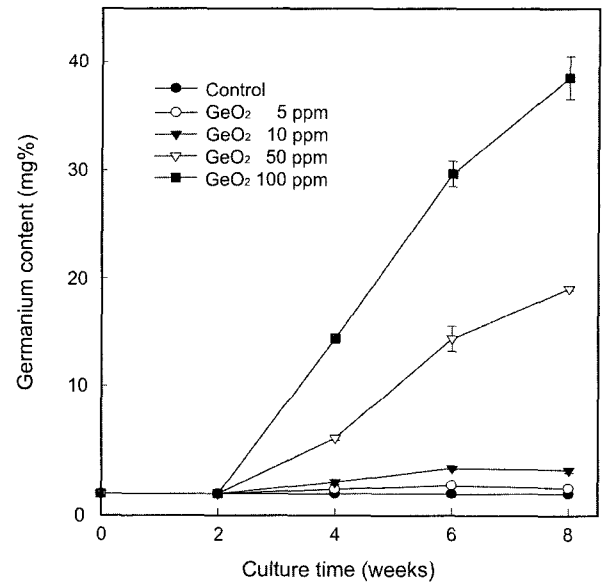


Fig. 5. Effects of various concentrations of GeO₂ and culture time on the germanium content (Addition time of GeO₂ is at 2 weeks of culture). Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

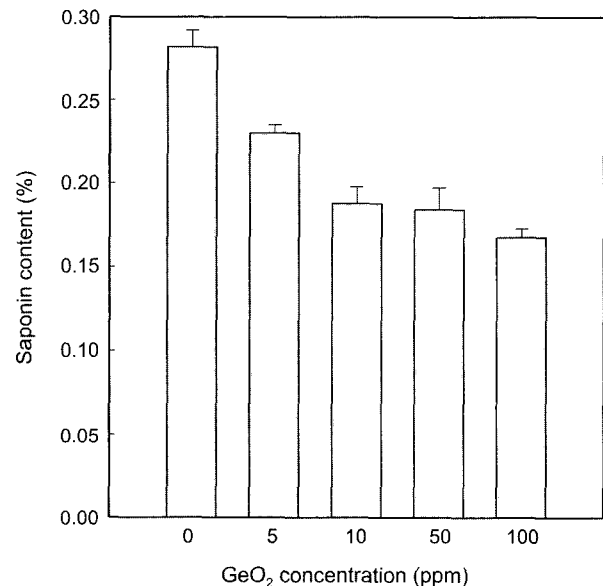


Fig. 6. Effects of various GeO₂ concentrations on saponin accumulation (Addition time of GeO₂ is at 2 weeks of culture). Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

수 및 saponin 함량에 미치는 영향을 알아보기 위해 GeO₂를 배지 제조시에 50 ppm 첨가하고 pH를 달리하여 6주간 배양하였다. 그 결과(Fig. 7) 인삼 root의 성장율은 pH가 증가함에 따라 증가하여 pH 5.5에서 3.63 g으로 최대값을 나타내었고, pH 6 이상의 미산성 pH에서는 성장율이 감소하였다. Ge

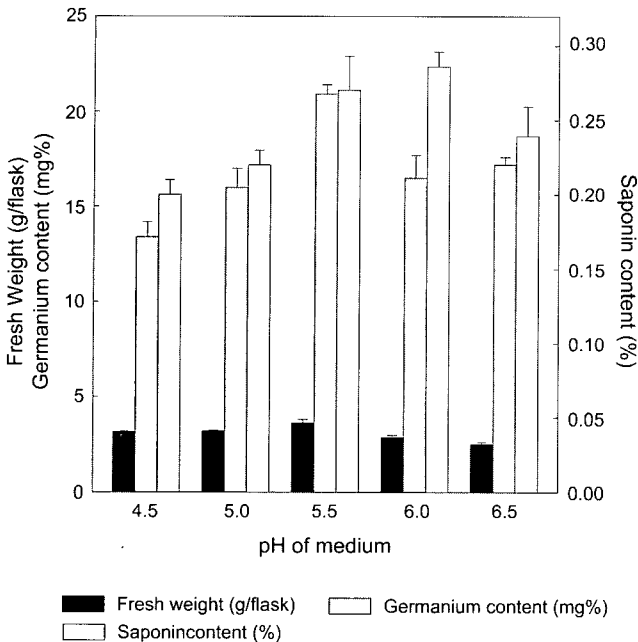


Fig. 7. Effects of various pH of medium on germanium and saponin contents accumulation with the addition of 50ppm GeO_2 . Vertical bars indicate SD. Experiments were carried out in triplicate.

함량은 생장율과 동일하게 pH 5.5인 경우 20.37 mg%로 가장 높았으며, 산성인 pH 4.5보다는 중성에 가까운 pH 6.0 이상에서 배양한 인삼 root의 Ge함량이 더 높았다. 이는 이등¹⁶⁾이 고려인삼의 기내배양시 캘러스의 생장은 pH 5.7 > pH 5.4 > pH 6.0이라는 결과와 유사하며 명일엽과 일당귀의 Ge 함량 증대를 위해 GeO_2 를 처리하여 기내배양한 경우 pH 6.0보다 pH 5.7에서 캘러스의 형성이 양호하였다는 보고¹²⁾와도 유사하였다. 그러나 권 등¹³⁾이 pH 4.5~6.5 범위에서 현미캘러스의 Ge흡수도를 조사한 결과, pH 4.5인 산성에서 Ge의 흡수가 월등히 좋았다고 한 보고와 박²¹⁾이 강활을 가지고 조사한 경우 산성인 pH 4에서 가장 Ge의 흡수가 좋았다는 결과와는 차이가 있다. 이는 식물의 종류 및 형태(캘러스나 root)가 다르고 사용배지 역시 서로 다르므로 Ge가 배지 내에서 식물체로 흡수되기까지 배지 성분과의 작용이 다르기 때문이라 생각된다.

사포닌 함량은 pH 6.0에서 0.279%로 가장 높았으나 pH 5.5와 큰 차이가 없었다(Fig. 11). 따라서 생장율과 Ge함량 및 사포닌 함량을 모두 고려해 볼 때, Ge를 함유한 인삼 root의 생산을 위한 배지의 적정 pH는 5.5라고 할 수 있다.

요 약

식물조직배양기술을 이용하여 Ge를 함유한 인삼 root를 생

산하고자, 0.5 mg/L BAP와 3.0 mg/L NAA 조합의 식물생장 조절물질로 유도된 인삼 root를 이용하여 배양을 위한 최적 GeO_2 농도, GeO_2 첨가시기 및 배지의 pH를 조사하였다.

인삼 root의 생장에 가장 좋은 GeO_2 농도는 10 ppm, GeO_2 첨가시기는 배양 초기(0주), pH는 5.5였고, 인삼 root내 Ge의 함량이 가장 높았을 때의 GeO_2 농도는 100 ppm이었다. GeO_2 를 첨가하여 배양한 기간이 길수록 Ge 함량이 증가하였으나 6주 이후부터 생장율이 둔화되어 GeO_2 100 ppm에서는 생장율이 아주 낮아 대조구의 1/2 정도였다. 배양 초기에 GeO_2 를 첨가하여 8주간 배양한 인삼 root의 Ge 함량이 29.4mg%인데 반해, 배양 2주째에 GeO_2 를 첨가한 인삼 root의 경우는 Ge 함량이 38.6mg%이므로, 배양 후 2주 후에 GeO_2 를 첨가하는 것이 인삼 root의 Ge 흡수에 더욱 효과적이었다. Ge 흡수가 가장 잘 이루어지는 최적 pH는 5.5였으며 사포닌 함량은 GeO_2 의 첨가농도가 증가할수록 감소하였다.

감사의 말씀

본 연구는 2001년도 한국인삼공사출연 고려인삼학회 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Jung, N. P. and Jin, S. H. : Studies on physiological and biochemical effects of Korean ginseng. *Korean J. Ginseng Sci.* **20**, 431-471 (1996).
2. Namkoong, S. B. : In vitro culture and increment of germanium content in the genus *Agelica L.* Ph.D. thesis, Univ. of Wonkwang, Chonbuk (1995).
3. Song, W. J., Lee S. C. and Oh, T. K. : Preparation of organic germanium by yeast cell. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 87-90 (1995).
4. Sanai, T., Oochi, N., Okuda, S., Osato, S., Kiyama, S., Komota, T., Onoyama, K., and Fujishima, M. : Subacute nephrotoxicity of germanium dioxide in the experimental animal. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **103**, 345-353 (1990).
5. Levine, S. A. and Kidd, P. M. : Oxygen-nutrition for super health. *J. Orthomol. Medicine.* **1**, 145-150 (1986).
6. Sandra, G. : Therapeutic effects of organic germanium. *Med. Hypotheses.* **26**, 207-215 (1988).
7. Asai, K. : Miracle cure, organic germanium. 1st ed. Japan Publications Inc., Tokyo (1980).
8. Aso, H., Suzuki, F., Yamaguchi, T. and Hayashi, Y. : Induction of interferon and activation of NK cells and macrophages in mice by oral administration of Ge-132, an organic germanium compound. *Micobiol. Immunol.* **29**, 65-74 (1985).

9. Kobayashi, H., Aso, H., Ishida, N. and Suzuki, F.: Preventive effect of a synthetic immunomodulator, 2-carboxyethylgermanium sesquioxide, on the generation of suppressor macrophages in mice immunized with allogenic lymphocytes. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **14**, 841-846 (1992).
10. Lee, M. S. and Choi, Y. H.: Effect of inorganic germanium(GeO₂) in callus growth and organ differentiation of *Allium sativum* L. J. College of Agriculture, Univ. of Wonkwang **13**, 21-31 (1990).
11. Lee, M. S., Kim, S. H., Baek, S. H. and Namkoong, S. B.: Basic studies for increment of germanium contents in *Angelica keiskei* KOIDZ. and *A. acutiloba* KITAGAWA. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **3**, 45-49 (1995).
12. Tensho, K. and Yeh, K. L.: Tracer study on preferential uptake of germanium by rice plant. *Soil Sci. Plant Nutr.* **18**, 173-179 (1972).
13. Kwon, T. O., Namkoong, S. B. and Park, B. W.: Effect of germanium treatment in culture medium on germanium adsorption by callus induced from brown rice. *Korean J. Crop Sci.* **41**, 729-735 (1996).
14. Vandyke, M. I., Lee, H. and Travors, J. T.: Germanium toxicity in selected bacterial and yeast strains. *J. Ind. Microbiol.* **4**, 299-305 (1989).
15. Wei, X. S.: Effect of yeast on bioenrichment of germanium. *Food Sci.* **149**, 49-54 (1992).
16. Lee, M. S., Lee, J. H., Kwon, T. O. and Namkoong, S. B.: Increment of germanium contents in *Angelica keiskei* Koidz. and *Panax Ginseng* G.A. Meyer by in vitro propagation. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **3**, 251-258 (1995).
17. Kim, Y. S. and Lee, H. J.: Determination of total saponin in ginseng jellies and candies. *Korean J. Food Sci. Technol.* **10**, 356-360 (1978).
18. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute: Methods in Ginseng Components Analysis. Daejeon, Korea p. 59-61 (1991).
19. Oh, H. I., Kwon, S. M. and Shin, T. S.: Changes in chemical and sensory characteristics of Dongchimi juice during fermentation with the addition of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J. Ginseng Sci.* **20**, 307-317 (1996)
20. Abbasi, S. A.: Atomic adsorption spectrometric and spectrophotometric trace analysis of germanium in environmental samples with N-p-bromophenyl-2-furylacrylhydroxamic acid and phenylfluorone. *J. Environ. Anal. Chem.* **33**, 149-160 (1987).
21. Park, B. W.: Effects of GeO₂ and citric acid on germanium content of callus and plant in *Angelica koreana* MAX. Master thesis, Univ. of Wonkwang, Chonbuk (1995).