

明日葉과 日當歸의 Germanium 含量 增大를 위한 基礎研究

李萬相* · 金成朝* · 白承和* · 南宮承泊*

Basic Studies for Increment of Germanium Contents in *Angelica keiskei* KOIDZ., and *A. acutiloba* KITAGAWA

Man-Sang Lee*, Seong-Jo Kim*, Seung-Hwa Baek*
and Seung-Bak Namkoong*

ABSTRACT : This study was carried out to examine the germanium contents of *Angelica keiskei* Koidz. and *A. acutiloba* Kitagawa and to intend to increase its contents while those leaf explants were culturing on MS medium supplemented with organic and inorganic germanium.

Ge content of *Angelica keiskei* Koidz. was 2.1 times higher than that of *A. acutiloba* Kitagawa. Digestion was done quickly at high temperature, but Ge content was decreased.

Callus formation of *A. acutiloba* Kitagawa was better than that of *A. keiskei* Koidz. Callus formation of both plants was good in order of pH 5.7, pH 5.4, and pH 6.0. But shoots from callus were formed frequently in *A. keiskei* Koidz., especially at pH 5.7.

Callus formation of both plants was good up to 5 ppm of inorganic germanium(GeO₂), retarded at 10 ppm, and rarely formed at 100 ppm, but was good up to 10ppm of organic germanium retarded at 50 ppm and formed some-what even at 100 ppm.

Key words : *Angelica keiskei* Koidz., *A. acutiloba* Kitagawa, Germanium, Tissue culture.

明日葉(*Angelica keiskei* Koidz.)은 미나리과의 다년초로서 지상부와 지하부 모두를 이용하는데 게르마늄(Ge) 함량이 많은 것으로 알려져 있으며, 이의 효능은 암, 고혈압 및 혈액정화 등에 효과^{1,7)}가 우수하다고 하여 최근 건강식품으로 각광을 받고 있다. 明日葉과 동일 屬에 속하는 일당귀(*A. acutiloba* Kitagawa)는 말린 뿌리를 強壯, 진통, 부인병 등의 漢方藥으로서 가장 많이 쓰이는 중요한 생약재이다⁷⁾.

*Angelica*屬 식물들의 callus 유기, 배발생 및 식

물체 재분화에 관한 기내배양 연구로는 明日葉(신선초)^{2,10)}, 일당귀¹⁶⁾, 참당귀(*A. gigas* Nakai)⁴⁾, 중국당귀[*A. sinensis*(Oliv.) Diels]¹⁹⁾, 지리강활(*A. purpurafolia* Chung)³⁾ 등이 있다.

기내배양시 Gc를 처리 후 callus 유기 및 증식에 관한 연구는 고려인삼^{5,11)}과 마늘¹²⁾에서 시도한 바 있으나 *Angelica*屬 식물에서는 찾아볼 수 없다.

水野 等¹¹⁾은 유기 Ge 1,000ppm 수용액에 상수리 나무를 침지하고 가압 찌질하여 Ge을 흡수시킨 후

* 國光大學校 農科大學(Coll. of Agri., Wonkwang Univ., Iri 570-749, Korea) <95. 1. 11. 接受>

영지버섯 종균을 접종하여 재배한 것을 분석한 결과 비교구보다 Ge이 240배 흡수된다는 것을 밝힌 바 있으나 식물에서 기내배양을 통하여 함량증대를 위해 실험한 바는 없다.

본 연구는 明日葉과 일당귀의 부위별 Ge함량을 비교분석하고 그들의 함량증대를 도모하기 위해 기내배양을 실시 후 callus형성 정도를 조사하였던 바 그 결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 식물 부위별 Ge 함량 분석

시료의 채취 및 조제 : 전북 이리시 원광대학교 약초원에서 재배하고 있는 명일엽(*Angelica keiskei* Koidz.)과 일당귀(*A. acutiloba* Kitagawa)의 잎, 엽병 및 줄기를 94년 5월 중순 채취하여 70°C에서 열풍건조한 다음 분쇄하고 40mesh 체에 통과한 것을 시료로 하였다.

시료의 Ge 함량 분석 : 70°C에 보관한 시료 1g을 61% HNO₃(松野園製藥所)와 60%HClO₄(純正化學)를 2:1로 혼합한 산용액을 10ml 가하고 1일 방치한 다음 hot plate를 이용하여 가열 후 분해액이 미색 또는 투명해지면 분해가 종료된 것으로 판단하고 KOH의 최종농도가 0.05N이 되도록 KOH와 탈이온 증류수를 가하여 25ml로 정용하고 여과지(No. 5A)로 여과한 액을 원자흡광분광광도계(Model : Varian SpectrAA-30, Australia)의 graphite furnace 방법으로 Ge함량을 분석했다. 이때 사용한 표준용액은 GeO₂를 0.2N KOH에 녹여 있는 1,000ppm Ge(純正化學)인데 0.05N KOH 용액에 50, 100, 200, 400 ppb

로 희석하여 사용하였다. 원자흡광분광광도계의 분석조건은 Table 1과 같다.

Ge은 분해시 분해액의 염소기와 결합하면 비등점이 낮아(예, GeCl₄의 비등점 : 84.0°C¹³⁾) 휘발하기 때문에 분해온도 차이(80°C, 130°C)가 Ge 함량에 영향을 끼치는지를 동시에 조사했다.

2. Ge함량 증대를 위한 기내 배양

94년 4월 중순 明日葉과 일당귀의 잎이 전개되기 전 채취 후 75% EtOH에 10초간 침지한 다음 0.3% NaClO로 10분간 소독 후 滅菌水로 3회 세척하고 2, 3mm(가로, 세로)로 절단하여 배지에 치상한 후 그들의 callus형성 정도를 25±1°C, 암조건 하에서 2세대(8주) 후 조사했다. 배지는 MS 기본배지¹⁵⁾에 3% sucrose, 0.8% agar 및 1.0ppm 2,4-D를 첨가한 후 무기Ge(GeO₂)과 유기Ge(C.E.Ge.O.;일본 淺井 ゲルマニウム研究所 기증)의 농도(0, 1, 5, 10, 50, 100ppm)별, pH(5.4, 5.7, 6.0, agar 넣은 후)별 처리한 후 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

結果 및 考察

1. 식물 부위별 Ge함량 분석

Ge함량은 Table 2에서 보는 바와 같이 明日葉은 일당귀에 비하여 전체적으로 약 2.1배 높았고 부위별로는 明日葉에서 엽병, 줄기, 잎의 순으로 높았고 일당귀에서는 잎, 엽병, 줄기 순으로 많이 함유했다. 분해 온도를 높이면 분해를 단시간에 할 수 있으나 분석된 Ge함량은 잎과 엽병에서는 분해온도간에 유의성을 인정할 수 없었으나 줄기에서는 유의성(P < 0.05)을 인정할 수 있었는데 이는 줄기에 함유된 어떤 성분이 관여되어 Ge의 휘발을 촉진했을 것으로 사료된다.

明日葉의 Ge 함량은 Table 3에서와 같이 연구자들의 분석방법에 따라 현저하게 다른데 그러한 차이는 분해시 matrix, 온도 및 분석장비의 차이 등에서 올 수도 있으며 또한 재료채취 시의 실수에서 왔을 지도 모르겠다. 재료의 지상부 Ge함량에서는 본 실험의 결과(42.2~44.3 ppm, 130°C와 80°C의 평균치)는 SWASV 방법⁸⁾의 결과인 11.97~385.7ppm이나 ICP 방법^{9,18)}의 결과(1 ppm 미만) 및 분해방법을

Table 1. AAS* operating conditions and instrument parameters for Ge analysis

Instrument	Graphite Tube Atomizer-96
Temperature	2,600°C
Time	2sec.
Gas flow	3L/min.
Lamp current	5mA
Slit width	1.0nm
Wavelength	265.2nm
Argon input pressure	1.5Kgf/cm ²

* : Atomic Absorption Spectrophotometry

Table 2. Effect of temperature on germanium content of *Angelica keiskei* and *A. acutiloba*

Dig.temp (°C)	Dig.period (day)	<i>A. keiskei</i> Koidz.			<i>A. acutiloba</i> Kitagawa		
		leaf	petiole	stem	leaf	petiole	stem
80	7	33.62 ^a	50.82 ^a	48.48 ^a	23.99 ^a	20.87 ^a	18.12 ^a
130	2	32.66 ^a	50.27 ^a	43.81 ^b	23.39 ^a	20.73 ^a	9.95 ^b

Means with the same lettered superscript in a column are not significantly different above 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 3. Concentration of germanium in *Angeleca keiskei* by several researchers.

Analyst	Analytical method	Whole plant	Leaf	Petiole	Stem
Kim et al. ¹⁾	SWASV	11.97~385.7	-	-	-
Kim et al. ³⁾	ICP	0.3	1.2*	-	0.4*
Eom ¹⁵⁾	ICP	0.87	1.27	0.57	0.76
Hida ⁶⁾	-	165~1,250	-	-	-

SWASV : Square Wave Anodic Stripping Voltammetry, ICP : Inductively Coupled Plasma,

* : from juice

제시하지 않은 肥田의 보고⁶⁾에서의 165~1,250 ppm 과는 많은 차이를 보였다.

明日葉은 컴프리, 마늘, 부추 등과 같이 토양에 함유된 Ge을 유기 Ge 형태로 흡수하는 것으로 알려져 있는데¹⁾ 본 연구와 다른 연구자들의 결과에서 보듯이 식물체내 Ge함량의 상이한 차이는 재배지의 토양에 있는 Ge양에 따라서도 변이가 있을 가능성이 있으나 각 연구보고에서 보인 커다란 함량차이를 설명하기에는 너무나 폭이 크다고 하겠다. 따라서 시료를 채취한 토양의 Ge함량도 제시해야 함과 Ge의 토양함량 차이에 따른 식물체내 흡수축적량에 대한 검토가 있어야 할 것으로 사료된다.

2. Ge함량 증대를 위한 기내배양

Ge함량 증대를 위한 기초연구로 무기 Ge(GeO₂) 과 유기 Ge(C. E. Ge. O.)의 농도별(0, 1, 5, 10, 50, 100 ppm) 및 pH별(5.4, 5.7, 6.0)로 처리한 MS + 1.0 ppm 2,4-D배지에 잎을 치상하고 8주(2세대) 후에 callus형성률을 조사했다.

Callus형성은 Table 4에서와 같이 일당귀가 명일엽보다 Ge 처리시 좋았으며 두 식물 모두 무기 Ge의 농도는 5 ppm까지 대체로 좋았으나 10 ppm부터 저해되다가 100 ppm에서는 일당귀만 조금 형성되었다. 또한 두 식물 모두에서 유기 Ge처리시 50ppm부터 callus의 형성을 저해하지만 100ppm에서도 다소 형성되었다.

Callus 형성에 pH의 영향은 明日葉과 일당귀 모두

pH 5.7, pH 5.4, pH 6.0순으로 callus형성이 좋았다. 明日葉에서는 일당귀와는 달리 callus증식 중 상당수 신탄를 형성했는데 특히 pH 5.7에서 가장 많았다.

기내배양시 Ge 처리와 callus 증식과의 관계를 실험한 연구로는 고려인삼⁵⁽¹¹⁾에서 MS배지에 GeO₂을 첨가시 5ppm까지는 callus 증식이 잘 되었으나 50, 100 ppm으로 농도가 증가 할수록 저지되었고, 마늘¹²⁾에서도 고려인삼과 비슷한 양상을 보였다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다.

Table 4. Effect of Ge(compd. and conc.) and pH on callus formation from leaf of *Angelica keiskei* and *A. acutiloba*.

Ge Compd, conc. (ppm)	<i>A. keiskei</i> koidz			<i>A. acutiloba</i> kitagawa		
	pH			pH		
	5.4	5.7	6.0	5.4	5.7	6.0
0	+++	+++	+++	+++	+++	+++
GeO ₂						
1	+++	+++ (S)	+++ (S)	+++	+++	++
5	++	+++ (S)	++	+++	+++	++
10	++	+++	+	++	+++	++
50	+	+	-	+	++	+
100	-	-	-	-	+	-
C.E.	1	+++ (S)	+++ (S)	+++ (S)	+++	+++
Ge.O.	5	+++	+++ (S)	++ (S)	+++	+++
	10	+++	+++ (S)	+	+++	+++
	50	++	++ (S)	-	++	++
	100	-	++ (S)	-	++	+

Callus rad. (mm) : - : 0, + : 0.1~2.0, ++ : 2.1~4.0, +++ : above 4.1

(s) : shooting

Angelica屬 식물의 기내배양 연구로는 明日葉에서 callus 유도는 MS배지에 잎의 경우 NAA가 2, 4-D보다 좋았지만 배발생 callus 빈도는 2, 4-D가 효과적이라고 하였으며 또한 배발생 callus 형성은 잎을 1.0 ppm 2, 4-D가 첨가된 배지에서 가장 좋은 조건²⁾이라 했으나 이 등¹⁰⁾은 자엽절편 및 엽병 조직을 0.5 ppm 2, 4-D와 1.0 ppm kinetin의 혼합 MS배지에 치상했을 때 배발생 캘러스가 잘 발생했다고 한다.

참당귀(*A. gigas* Nakai)⁴⁾는 잎 절편을 1.0 ppm 2, 4-D가 첨가된 MS배지에 배양하였을 때 배발생 캘러스가 잘 유도되었고 이를 2, 4-D가 첨가되지 않은 배지에 옮길 시 체세포배가 발생되었으며 중국 당귀[*A. sinensis*(Oliv.) Diels]¹⁹⁾는 뿌리에서 유기된 callus를 0.05 ppm NAA와 0.5 kinetin 혼합처리시 배발생 캘러스가 잘 유도되었다 한다. 일당귀¹⁶⁾는 자엽은 1.0 ppm 2, 4-D, 胚軸은 0.5~1.0 ppm 2, 4-D가 첨가된 MS배지에 각각 배양하였을 때 callus가 가장 잘 유도되었으며 지리강황(*A. purpuraeifolia* Chung)³⁾에서는 엽병을 MS배지에 2, 4-D와 BA를 각각 0.1 ppm 첨가구에서 체세포배발생이 양호하였다 한다.

본 실험의 Ge 처리별 callus는 분석에 필요한 양을 확보하려고 증식 중에 있는데 앞으로 그들의 분석 결과가 기대되어진다.

摘 要

1. Ge는 明日葉이 일당귀에 비하여 2.1배 함유량이 더 높았다.
2. 분해 온도를 높이면 분해를 단시간에 할 수 있으나 Ge 함량에 있어서는 낮은 온도로 분해할 때보다 낮았다.
3. Ge 처리시 callus 형성은 일당귀가 明日葉보다 좋았으나 두 식물 모두 pH 5.7, 5.4, 6.0 순으로 좋았다. 明日葉에서는 일당귀와는 달리 pH 5.7에서 callus증식 중 신초형성이 많았다.
4. Callus형성에는 明日葉과 일당귀 모두 무기 Ge의 5 ppm까지 대체로 좋았으나 10 ppm부터 저해되다가 100 ppm에서는 거의 형성되지 않았고 유기 Ge의 처리에서는 10 ppm까지 양호했고, 50 ppm

부터 저해하지만 100 ppm에서도 다소 형성되었다.

引用 文 獻

1. 淺井一彦. 1985. 警異の元素ゲルマニウムと私. 玄同社. 東京. p.28.
2. 채영암, 박상언, 정만영. 1993. 명일엽의 체세포 배발생과 식물체 재생. 제 2회 韓國藥用 作物學 會 發表要旨 : 53.
3. 최은경, 박학봉. 1994. 지리강황(*Angelica purpuraeifolia* Chung)의 체세포배 발생과 식물체 재분화. 한국식물조직배양학회 춘계학술발표대회 발표요지 : 22
4. 최용의, 소웅영. 1993. 참당귀(*Angelica gigas* Nakai)의 캘러스로부터 체세포배 발생에 미치는 계대배양 주기의 영향. 한국식물조직배양학회지 20(4) : 199~204.
5. 韓昶烈, 李萬相, 李重浩, 全炳機. 1980. 高麗人蔘의 組織培養에 關한 研究. 特히 Germanium의 效果에 對하여. 園大農大論文集 3 : 49~56.
6. 肥田和夫. 1991. 藥草健康法. アシタバ. 土屋書店. pp. 28~30.
7. 堀田滿 外 19人. 1989. 世界有用植物事典. 平凡社. p. 90.
8. 金日光, 千賢子, 鄭昇湓, 朴聲雨, 柳在薰. 1993. 네모과 산화전극 벋김 전압전류법을 이용한 게르마늄의 미량분석. 大韓化學會誌 37(11) : 943~950.
9. 김옥경, 궁성실, 박원봉, 이명환, 함승시. 1992. 명일엽 전초 및 생즙의 영양성분 분석. 한국식품과학회지 24(6) : 582~596.
10. 이병기, 김명준, 이장원. 1994. 신선초의 조직배양을 통한 식물체 재분화. 한국식물조직배양학회 춘계학술발표대회 발표요지 : 58.
11. 李萬相. 1982. 高麗人蔘의 組織培養에 關한 研究. II. 植物 部位別, 培地別 試驗. 한국식물조직배양학회지 9(1) : 43~46.
12. 李萬相, 崔鎔勳. 1990. 無機 Germanium 添加가 蔘의 callus 形成 및 器官分化에 미치는 影響. 園大農大論文集 13 : 21~31.
13. McGraw Hill Encyclopedia of Science & Tech-

- nology. 1982. McGraw Hill. Inc. p. 237.
14. 水野卓, 太田原紳一, 李敬軒. 1988. 藥用キノコの灰分組成とゲルマニウム含量について. 静岡大學農學部研究報告 38 : 37~46.
 15. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15 : 473~497.
 16. 大賀康之, 小野正則, 吉野久美. 1989. トウキ及びウイキョウの組織培養による培養體形成と再分化. 日作九支報 56 : 89~91.
 17. Okuyama, T., M. Takata, J. Takayasu, T. Hasegawa, H. Tokuda, A. Nishino, H. Nishino, and A. Iwashima. 1991. Anti-tumor promotion by principles obtained from *Angelica*. *Planta Med.* 57 : 242~246.
 18. 嚴秉憲. 1991. 明日葉(神仙草)의 形態, 幼苗生長 및 化學成分에 대한 基礎적인 研究. 서울大學校大學院 農學碩士學位論文(農生物學科).
 19. Zhang, S. Y., G. C. Zheng. 1986. Induction of embryogenic callus and histocytological on embryoid development of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. *Acta Botanica Sinica* 28(3) : 241~244.