



게르마늄 처리에 따른 맛두릅나무의 생육 증진 효과 및 유기게르마늄 생산

김희영* · 성은수** · 유지혜*** · 최재후* · 강병주* · 전미란* · 김명조**** · 유창연*†
*강원대학교 생물자원과학과, **수원여자대학교 약용식물과, ***강원대학교 한방바이오연구소

Effect of Germanium Treatment on Growth and Production of Organic Germanium in *Oplopanax elatus*

Hee Young Kim*, Eun Soo Seong**, Ji Hye Yoo***, Jae Hoo Choi*,
Byeong Ju Kang*, Mi Ran Jeon*, Myong Jo Kim**** and Chang Yeon Yu*†

*Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

**Department of Medicinal Plant, Suwon Women's University, Suwon 16632, Korea.

***Bioherb Research Institute, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

ABSTRACT

Background: This study was conducted to investigate the effects of germanium treatment on the growth and organic germanium production in the roots of *Oplopanax elatus* plantlets.

Methods and Results: *O. elatus* plantlets were cultured in Murashige and Skoog (MS) medium with different concentrations of germanium dioxide (GeO₂) to analyze optimum growth conditions. Exogenous treatment of 10 mg/l GeO₂ promoted growth and an increase in the contents of chlorophyll a, b and carotenoid in *O. elatus*. The germanium accumulation and production in roots of *O. elatus* plantlets treated with organic germanium reached the highest levels. The growth of the aerial and underground portion of *O. elatus* with organic germanium was greater than that of the control. The accumulation and production of organic germanium reached the highest level (40.89 µg/plantlet) with the treatment of 50 mg/l GeO₂. Antioxidant activity measured by DPPH and ABTS assays also increased with the germanium treatment and improved the DPPH and ABTS radical activity by 200% compared with that in the control. In addition, the total phenol and flavonoid contents of the plantlets with a treatment of 50 mg/l GeO₂ were higher than in the control.

Conclusions: Taken together, the growth of *O. elatus* was increased with the treatment of 50 mg/l GeO₂ germanium and the biological references improved, with increased antioxidant activity and organic germanium production.

Key Words: *Oplopanax elatus*, Antioxidant, Growth Effect, Organic Germanium, Photosynthetic Pigments

서 언

맛두릅나무 속 식물은, 미국 및 캐나다에 자생하는 *Oplopanax horridus*, 일본에서 주로 자생하는 *Oplopanax japonicus* 및 한국, 중국, 러시아 지역에서 자생하는 *Oplopanax elatus*로 크게 나뉜다 (Kwon *et al.*, 2007). 우리나라에 주로 자생하는 맛두릅나무 (*Oplopanax elatus* Nakai)는 낙엽관목으로 산림청 지정 희귀식물로 분류되고 있으며, 영

명은 Tall *Oplopanax*이며 한문명은 東北刺人蓼이다 (Fu and Chin, 1992; Kim *et al.*, 2012). 맛두릅나무의 줄기에는 syringin, daucosterol, β-sitosterol, L-rhamnose가, 잎에는 cirensenosides O와 cirensenosides P가 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며 (Zhang *et al.*, 1993), *Oplopanax elatus* 뿌리에는 *Oplopanax horridus*의 표준물질이며 강력한 항암활성을 가지는 falcarindiol, oplopandiol이 *Oplopanax horridus* 보다 10배 이상 많이 함유한 것으로 알려져 있다 (Huang *et al.*,

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6411 (E-mail) cyuu@kangwon.ac.kr

Received 2016 March 31 / 1st Revised 2016 May 16 / 2nd Revised 2016 June 1 / 3rd Revised 2016 June 8 / Accepted 2016 June 8

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2010). 한편 땃두릅나무는 체세포배 유도를 통한 대량증식 (Kim *et al.*, 2012), 마우스 실험을 통한 안전성 평가를 통하여 기능성 식품으로서의 개발 가능성이 제기된 바 있다 (Kwon *et al.*, 2007).

게르마늄의 특성은 무기게르마늄과 유기게르마늄으로 나누어 살펴볼 수 있는데, 무기게르마늄의 경우 신장 기능 이상, 체중감소, 빈혈, 저단백혈증, 근육장해 등을 유발하여 유독한 것으로 알려져 있다 (Sanai *et al.*, 1990). 반면, 유기게르마늄의 경우 산소 공급 증진, 혈액 정화, 체내 중금속 체외 배출 촉진, 면역 강화, 바이러스 감염 치료 등의 다양한 약리 작용에 대한 보고가 있다 (Levine and Kidd, 1986; Goodman, 1988; Asai, 1980). 유기게르마늄은 고온이 되면 전류가 잘 흐르는 반도체 역할을 한다. 이는 사람의 체온에서도 용이하게 이온끼리 결합되어 세포의 반도체 흐름을 원활히 하여 질병을 치료하는 효과가 있다 (Kim, 2004).

국내 토양과 곡물, 엽채류, 과채류 등 농작물에 함유된 게르마늄의 자연함량은 매우 낮은 농도로 존재하므로, 무기게르마늄을 처리하여 유기게르마늄화하기 위한 많은 노력이 진행되고 있다 (Chung and Oh, 2007). 최근에는 인삼, 명일엽, 마늘과 같은 약용식물의 유효물질과 함께 유기게르마늄 생산과 합성을 유도하는 기내배양 연구가 수행되었으며, 청경채, 배추, 갓 등 엽채류에서 게르마늄으로 인한 생육 증진 효과로 비료로서의 활용 가능성 연구가 활발히 전개되고 있다 (Chung and Oh, 2005; Lee *et al.*, 1995; Han *et al.*, 2007).

땃두릅나무는 게르마늄 흡수능이 우수한 것으로 전해지고 있으나, 그 흡수능 및 양상에 대한 연구 보고는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 무기유기게르마늄 흡수능에 따라 기내배양 한 땃두릅나무 유식물체의 생육 증진 및 유기게르마늄 생산량 증대를 위한 최적의 게르마늄 농도조건을 규명하고, 이에 따라 유기게르마늄 함량과 생리활성의 상관관계를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

실험에 사용된 재료는 강원대학교 실험농장의 땃두릅나무 (*Oplopanax elatus*)를 기내로 유도하여 유식물체 (plantlet)으로 분화시키고 이를 6개월 이상 계대배양된 기내배양체를 사용하였다.

2. 게르마늄 처리

1/2 MS (Murashige and Skoog, Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands) 배지에 3% sucrose를 넣고 pH 5.8이 되도록 조절하고, 1% plant agar (Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands)를 이용하여 고체 배지를 제조하였다.

게르마늄 종류 및 처리 농도가 유식물체의 생육 및 흡수능에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 유기게르마늄 [O{Ge(=O)CH₂CH₂CO₂H}₂, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA], 무기게르마늄 (GeO₂, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 각각 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 및 250 mg/l 가 첨가되도록 제조하고, 기내배양 한 땃두릅나무 유식물체의 초장이 3 cm 이상으로 완전히 분화된 것을 치상하여 2달 동안 25°C의 16시간 광조건, 8시간 암조건하에서 배양하였다.

3. 광색소 함량

게르마늄 처리에 따른 광합성 효율을 알아보기 위하여, 광색소인 클로로필 a, b 및 카로티노이드 함량을 Lichtenthaler와 Buschmann (2001)의 방법으로 측정하였다. 각 처리구의 유식물체의 잎을 0.1 g 채취하여 아세톤 10 ml에 냉암소 상태로 2일 동안 추출하고, 여과한 후 663.2, 646.8 및 470.0 nm에서 흡광도를 측정하고, 아래의 산출식을 이용하여 함량을 측정하였다.

$$\text{Chlorofila a } (\mu\text{g/ml}) = [12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}]$$

$$\text{Chlorofila b } (\mu\text{g/ml}) = [21.50A_{646.8} - 5.10A_{663.2}]$$

$$\text{Carotenoid } (\mu\text{g/ml}) = [(1000A_{470} - 1.82a - 85.02b)/198]$$

4. 게르마늄 분석

땃두릅나무 부위별 게르마늄 전이 여부 및 유기게르마늄 생산능을 확인하기 위하여, 땃두릅나무 유식물체의 잎, 줄기 및 뿌리 부위별로 분리하여 5일 이상 음건하고, 60 mesh 이하로 분말 시료를 만들고, 분말 시료 0.5 g에 35% 질산 10 ml을 넣고 6시간 이상 실온에 방치하고, 여기에 과산화수소 (Daejung chemical and metal Co., Ltd., Siheung, Korea) 1 ml을 넣어 microwave를 이용하여 예비 분해하는 습식 분해법을 수행하였다. 0.2 μm 필터를 이용하여 여과한 습식분해 산물에 다시 3차 증류수를 이용하여 50 ml이 되도록 정용하여 ICP-OES (Inductively coupled plasma optical emission spectrometer, OPTIMA 7300DV, PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 게르마늄 함량을 분석하였다.

5. 항산화 활성

항산화 활성 및 항산화 물질 분석은 게르마늄 무처리구, GeO₂ 10 및 50 mg/l 처리구에서 배양시킨 땃두릅나무를 부위별로 분리하여 음건한 것의 80% EtOH (Daejung chemical and metal Co., Ltd., Siheung, Korea)를 20배를 이용하여 2일 동안 추출한 것을 감압농축한 후, ppm별로 희석한 것을 사용하였다.

유기게르마늄 생산에 따른 항산화 활성 증진 효과는 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 및 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-

thiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical 소거 활성을 측정하여 확인하였다. DPPH radical 소거 활성은 Blois (1958)에 의해 실시된 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 100 μ l에 0.2 mM DPPH 100 μ l (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 혼합하여 30분 동안 상온에서 암반응시킨 후, UV-VIS spectrophotometer (Multiskan FC Microplate Photometer, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 DPPH radical 소거 활성은 대조군에 대한 DPPH radical 소거능을 백분율로 나타내었고, 소거 활성 양성 대조군으로는 ascorbic acid (Amresco LLC, Solon, OH, USA)를 사용하였다.

ABTS radical 소거 활성을 이용한 항산화 활성은 Re 등 (1999)에 의해 실시된 ABTS⁺ radical cation assay 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 2.45 mM potassium persulfate (Daejung chemical and metal Co., Ltd., Siheung, Korea)를 1:1 비율로 혼합하고 24시간 동안 실온에서 암소 조건에 두어 radical을 형성시키고, 732 nm에서 흡광도 값이 0.68 - 0.72 값이 되도록 phosphate saline (PBS, pH 7.4)을 이용하여 희석하였다. ABTS 반응액 990 μ l에 시료 10 μ l를 가하여 10분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 ABTS radical 소거 활성은 대조군에 대한 ABTS radical 소거능을 백분율로 나타내었고, 소거 활성 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

6. 항산화 물질 분석

총 페놀 함량은 Sato 등 (1996)에 의해 실시된 Folin-Ciocalteu 방법을 변형하여 측정하였다. 1,000 ppm 농도로 조제한 시료 100 μ l에 Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 50 μ l를 가하여 5분간 상온에서 안정화하였다. 20% sodium carbonate (Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 200 μ l를 가하고 30°C에 15분간 반응시킨 후, 증류수 1 ml를 넣어 혼합한 후 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 100 μ l (10 mg/ml)에 80% EtOH 900 μ l을 혼합하여 희석한 시료 500 μ l에 10% aluminium nitrate (Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 100 μ l, 1 M potassium acetate (Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 100 μ l를 혼합하고 40분간 상온에서 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행하였고, 통계처리는 Statistical analysis system (SAS 9.2, USA)을 사용하였고, 유의성 검정

은 분산분석 (ANOVA)을 이용하여 통계적 유의성을 5% 수준에서 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 게르마늄 종류 및 농도별 생육 증진 효과

잎, 줄기 및 뿌리의 각 부위로 완전히 분화한 땃두릅나무 (*Oplopanax elatus*)유식물체에 게르마늄 처리가 생육 및 광합

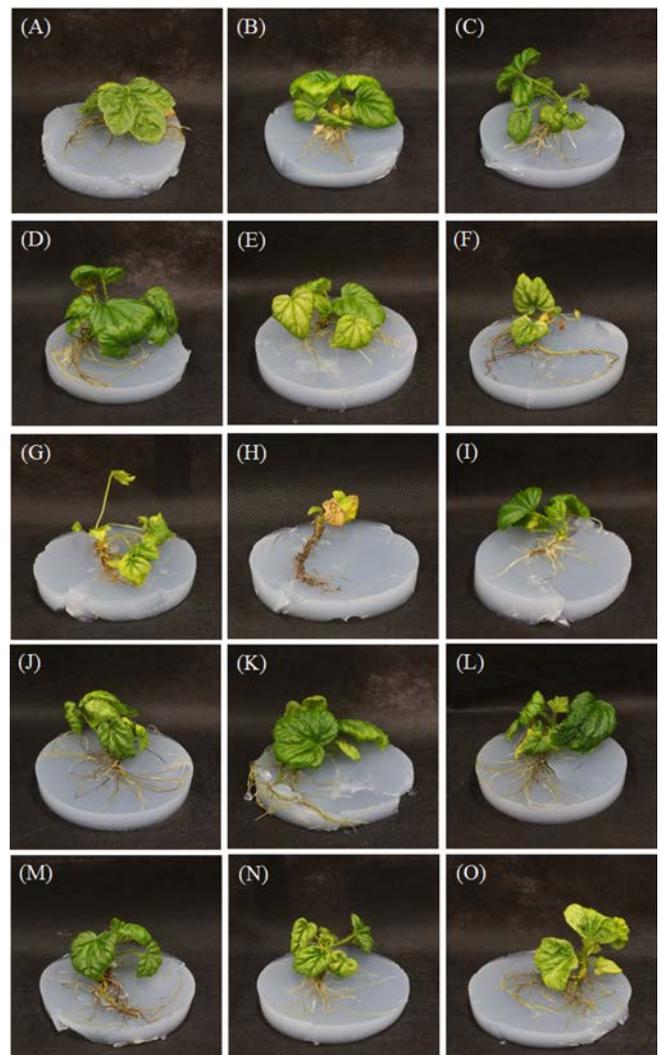


Fig. 1. Effect of different germanium concentration on the growth of *O. elatus* plantlet after 8 weeks. (A); control, (B); IG¹ 2.5 mg/l, (C); IG 5 mg/l, (D); IG 10 mg/l, (E); IG 25 mg/l, (F); IG 50 mg/l, (G); IG 100 mg/l, (H); IG 250 mg/l, (I); OG² 2.5 mg/l, (J); OG 5 mg/l, (K); OG 10 mg/l, (L); OG 25 mg/l, (M); OG 50 mg/l, (N); OG 100 mg/l, (O); OG 250 mg/l. ¹IG; Inorganic germanium, ²OG; Organic germanium.

Table 1. Effect of germanium concentration on photosynthetic pigment of plantlet of *O. elatus* after 8 weeks.

Germanium (mg/ℓ)	Chl a	Chl b	Chl a/b	Total chlorophyll	Carotenoid	Chl/Car
Control	11.60 ± 0.19 ^c	4.12 ± 0.15 ^{cd}	2.82 ± 0.06 ^{bcd}	15.49 ± 0.34 ^c	2.59 ± 0.09 ^{bcd}	6.08 ± 0.35 ^{bc*}
IG ¹⁾ 2.5	13.21 ± 0.89 ^b	4.58 ± 0.30 ^b	2.89 ± 0.02 ^{bc}	17.80 ± 1.18 ^b	2.92 ± 0.42 ^{abc}	6.21 ± 1.27 ^{abc}
IG 5	13.47 ± 1.15 ^b	4.72 ± 0.40 ^b	2.85 ± 0.02 ^{bc}	18.20 ± 1.55 ^b	2.82 ± 0.46 ^{bcd}	6.62 ± 1.60 ^a
IG 10	15.17 ± 0.04 ^a	5.60 ± 0.12 ^a	2.71 ± 0.06 ^{cde}	20.77 ± 0.08 ^a	3.33 ± 0.94 ^{ab}	6.24 ± 0.19 ^{abc}
IG 25	2.49 ± 0.28 ^e	0.96 ± 0.09 ^f	2.59 ± 0.10 ^{ef}	3.46 ± 0.36 ^e	1.00 ± 0.18 ^e	3.59 ± 1.00 ^g
IG 50	1.75 ± 0.10 ^e	0.67 ± 0.07 ^f	2.60 ± 0.16 ^{def}	2.42 ± 0.17 ^e	0.53 ± 0.11 ^e	4.80 ± 1.38 ^f
IG 100	1.64 ± 0.22 ^e	0.67 ± 0.06 ^f	2.44 ± 0.10 ^f	2.32 ± 0.28 ^e	0.73 ± 0.13 ^e	3.28 ± 0.90 ^g
IG 250	0.24 ± 0.05 ^f	0.14 ± 0.05 ^g	1.79 ± 0.34 ^g	0.38 ± 0.10 ^f	0.12 ± 0.06 ^e	4.15 ± 3.00 ^f
OG ²⁾ 2.5	11.61 ± 0.19 ^c	4.15 ± 0.15 ^{cd}	2.80 ± 0.06 ^{bcd}	15.6 ± 0.34 ^c	2.59 ± 0.09 ^{bcd}	6.10 ± 0.35 ^{bc}
OG 5	13.33 ± 1.15 ^b	4.48 ± 0.40 ^{bc}	3.00 ± 0.02 ^{ab}	17.81 ± 1.55 ^b	2.85 ± 0.46 ^{bcd}	6.40 ± 1.54 ^a
OG 10	13.31 ± 0.89 ^b	4.74 ± 0.30 ^b	2.81 ± 0.02 ^{bcd}	18.06 ± 1.18 ^b	2.90 ± 0.42 ^{bc}	6.35 ± 1.30 ^{ab}
OG 25	16.06 ± 0.09 ^a	5.61 ± 0.08 ^a	2.86 ± 0.03 ^{bc}	21.67 ± 0.16 ^a	3.85 ± 0.14 ^a	5.63 ± 0.24 ^d
OG 50	11.55 ± 1.03 ^c	3.94 ± 0.25 ^d	2.92 ± 0.09 ^{ab}	15.49 ± 1.28 ^c	3.00 ± 0.34 ^{abc}	5.23 ± 0.97 ^e
OG 100	8.66 ± 0.77 ^d	2.79 ± 0.22 ^e	3.10 ± 0.04 ^a	11.45 ± 0.99 ^d	2.23 ± 0.37 ^{cd}	5.27 ± 1.29 ^e
OG 250	7.82 ± 1.27 ^d	2.92 ± 0.42 ^e	2.67 ± 0.07 ^{cde}	10.74 ± 1.69 ^d	1.94 ± 0.56 ^d	6.05 ± 2.71 ^{bcd}

Means values ± SD from triplicate separated experiments are shown. *Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). ¹⁾IG; Inorganic germanium, ²⁾OG; Organic germanium.

성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 2달 동안 배양한 땃두릅나무 잎 생체 0.1 g을 이용하여 광색소 분석한 결과이다. 광에너지를 흡수하고 광합성 장치로 옮기는 엽록소 a, b의 각각의 함량을 살펴보면 유사한 경향을 보였는데 게르마늄 첨가 농도에 따라 증가하여 무기게르마늄은 10 mg/ℓ에서 유기게르마늄은 25 mg/ℓ의 농도에서 가장 높았으며 이보다 많은 게르마늄을 첨가하였을 때는 게르마늄 무처리구의 음성 대조구와 유사하거나 첨가 농도가 증가함에 따라 감소하였다 (Table 1).

엽록소 a는 광합성의 주된 광수용체로 적색과 청색 및 보라색 영역을 흡수하여 일반적인 식물의 엽록소 a와 b 함량의 비는 3:1로 알려져 있는데 이는 식물의 유전학적 특성이나 환경 조건에 따라 달라지는 것으로 알려져 있다 (Park et al., 2013). 땃두릅나무 유식물체의 게르마늄 처리에 따른 엽록소 a와 b의 함량의 비는 2.6:1 이상의 수준을 나타내었으며, 무기게르마늄 처리구의 경우 고농도에서 급격하게 감소하였다. 무기게르마늄 25 mg/ℓ 이상 처리구와 유기게르마늄 50 mg/ℓ 이상에서 육안으로도 잎의 황화 현상되었으며 게르마늄 농도가 높아짐에 따라 강하게 나타나는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1).

카로티노이드는 광합성 시스템에 에너지를 기여하고 광에너지 초과시 광합성 체계의 손상을 회피하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 엽록소는 식물이 스트레스 받거나 노화하는 과정에서 카로티노이드보다 급감하는 경향을 보이는데, 땃두릅나무 유식물체의 게르마늄 처리에서의 카로티노이드 함량을 살펴보면 엽록소 a와 b 함량과 동일한 경향을 보여 적정 농도에서는 무처리구보다 많이 합성되거나 고농도에서는 급감하였다

(Table 1).

게르마늄 처리가 땃두릅나무 유식물체의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 부위별 생체중 및 건조중을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 게르마늄의 생육 증진 효과는 광합성 색소의 함량과 동일한 경향을 보여 무기게르마늄은 10 mg/ℓ에서 유기게르마늄은 25 mg/ℓ의 농도에서 생체중과 건조중 모두에서 가장 많이 수확되었고, 게르마늄 처리 농도가 높아짐에 따라 수확량은 급감하였다. 특히, 유기게르마늄 25 mg/ℓ 처리구는 무처리구인 음성 대조구보다 잎 및 뿌리의 생체중과 건조중 모두에서 1.47배 이상 증가하였다. 적정 게르마늄 처리는 땃두릅나무 유식물체의 생육에 있어 지상부 및 지하부 생육의 증진을 유도한 것을 확인할 수 있었다 (Table 2). 무기게르마늄은 식물조직이나 세포와의 결합력이 약화로 인해 벼에 게르마늄 과잉 처리시 일부는 유기화되지 못하고 무기게르마늄 독성으로 식물에서 황백화 현상을 나타낸다 (Park et al., 2012). 따라서 본 연구결과인 저농도 유기게르마늄 처리는 땃두릅나무 유식물체의 생육 및 광합성 효율을 증진시키는 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

무기게르마늄은 갓, 배추 및 청경채를 이용한 채소 종자 발아에 있어, 100 mg/ℓ의 고농도를 제외하고는 무처리구의 발아 수준이 유지되고, 육묘 처리시 10 - 100 mg/ℓ 농도에서 뿌리의 생장에 심각한 저해를 보였으나, 지상부의 생육에는 10 - 25 mg/ℓ 저농도에서는 촉진하는 효과를 보이기도 하였다 (Han et al., 2007). 또한, 신고배의 무기게르마늄 엽면 살포에 따라 엽면적 및 비중이 증가하여 지상부의 생육 증진 효과를 보여 비료로서의 활용도를 확인한 바 있다 (Choi et al.,

Table 2. Effect of germanium on the growth of plantlet of *O. elatus* after 8 weeks.

Germanium (mg/ℓ)	Leaves		Stem		Root	
	Fresh weight (mg/plantlet)	Dry weight (mg/plantlet)	Fresh weight (mg/plantlet)	Dry weight (mg/plantlet)	Fresh weight (mg/plantlet)	Dry weight (mg/plantlet)
Control	944.0 ± 44.3 ^{bc}	116.2 ± 3.8 ^{bc}	123.7 ± 20.6 ^d	17.0 ± 1.3 ^d	655.3 ± 41.4 ^{def}	126.2 ± 6.4 ^{def*}
IG ¹⁾ 2.5	892.5 ± 88.5 ^c	110.0 ± 8.5 ^c	124.3 ± 5.5 ^d	17.7 ± 0.3 ^d	688.6 ± 52.1 ^{def}	126.9 ± 7.3 ^{def}
IG 5	924.6 ± 35.2 ^{bc}	120.1 ± 1.1 ^{bc}	156.0 ± 5.8 ^b	27.7 ± 0.7 ^b	674.6 ± 63.6 ^{ef}	118.3 ± 6.9 ^{ef}
IG 10	1344.2 ± 51.7 ^a	160.9 ± 6.8 ^a	176.5 ± 2.6 ^a	31.5 ± 0.2 ^a	775.7 ± 27.1 ^c	165.9 ± 2.0 ^c
IG 25	628.9 ± 55.7 ^d	80.3 ± 5.9 ^d	103.8 ± 9.1 ^e	13.6 ± 1.6 ^e	495.2 ± 80.5 ^f	112.5 ± 5.7 ^f
IG 50	335.3 ± 66.8 ^e	60.7 ± 5.3 ^e	64.7 ± 1.6 ^{fg}	11.4 ± 0.6 ^{fg}	496.9 ± 57.2 ^{ef}	119.1 ± 6.1 ^{ef}
IG 100	130.2 ± 62.6 ^f	30.6 ± 5.0 ^f	58.5 ± 5.6 ^{hi}	9.3 ± 0.4 ^{hi}	324.1 ± 55.0 ^g	83.7 ± 4.2 ^g
IG 250	114.0 ± 23.0 ^f	26.9 ± 1.2 ^f	38.9 ± 5.2 ⁱ	7.7 ± 0.9 ⁱ	162.4 ± 6.7 ^h	33.8 ± 2.0 ^h
OG ²⁾ 2.5	874.3 ± 87.3 ^{bc}	113.7 ± 7.9 ^{bc}	130.8 ± 5.3 ^d	17.1 ± 1 ^d	681.6 ± 21.3 ^{def}	127.2 ± 5.1 ^{def}
OG 5	899.2 ± 88.7 ^c	109.5 ± 8.3 ^c	146.0 ± 7.8 ^d	17.9 ± 1.3 ^d	697.8 ± 5.0 ^d	138.8 ± 0.8 ^d
OG 10	1331.7 ± 16.0 ^a	156.5 ± 1.4 ^a	178.2 ± 1.7 ^c	20.8 ± 0.6 ^c	725.3 ± 41.4 ^b	179.3 ± 8.2 ^b
OG 25	1444.6 ± 38.9 ^a	171.9 ± 3.6 ^a	183.0 ± 2.4 ^b	26.3 ± 0.8 ^b	848.0 ± 82.3 ^a	220.3 ± 17.5 ^a
OG 50	1073.2 ± 59.1 ^b	127.4 ± 6.5 ^b	73.0 ± 3.2 ^{ef}	12.2 ± 1.3 ^{ef}	681.7 ± 45.1 ^{de}	128.3 ± 1.9 ^{de}
OG 100	830.3 ± 58.3 ^{bc}	113.0 ± 5.6 ^{bc}	66.1 ± 9.9 ^{gh}	10.5 ± 1.6 ^{gh}	571.3 ± 77.3 ^g	89.6 ± 8.5 ^g
OG 250	714.4 ± 41.8 ^d	89.5 ± 2.0 ^d	58.1 ± 5.5 ⁱ	7.8 ± 0.6 ⁱ	517.5 ± 89.4 ^g	80.6 ± 15.0 ^g

Means values ± SD form triplicate separated experiments are shown. *Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). ¹⁾IG; Inorganic germanium, ²⁾OG; Organic germanium.

2011). 게르마늄 처리는 식물의 배양 및 재배에 있어 생육 증진 효과를 나타내며, 게르마늄 처리는 일반적으로 식물의 지상부 생육을 증진시킨다는 보고가 있었으나, 본 연구를 통하여 지상부와 지하부의 생육을 모두 증진시키는 효과를 확인하였다. 게르마늄의 적정 처리 농도는 식물종 및 상태에 따라 다르므로, 적합한 농도 및 처리시기에 대한 연구가 필요하겠다.

2. 땃두릅나무 유식물체 부위별 게르마늄 함량

게르마늄 종류, 처리농도 및 땃두릅나무 유식물체 부위별 게르마늄 함량 분석을 통하여, 뿌리, 줄기 및 잎으로의 게르마늄 전이 및 축적 양상을 분석하였다. 체내 게르마늄의 축적 및 전이는 유기게르마늄 보다 무기게르마늄을 처리하였을 때 효과적으로 이루어졌다. ICP-OES 분석을 통하여 체내 게르마늄 축적량을 확인하고 이 값에 유식물체 건조중을 곱하여 식물체별 유기게르마늄 생산량을 확인한 결과, 무기게르마늄 50 mg/ℓ 처리구의 뿌리에서 40.87 µg/plantlets로 가장 많이 생산하였다 (Table 3).

게르마늄 전이 양상은 2.5 mg/ℓ의 저농도에서는 유기게르마늄 처리구는 모든 부위에서 축적되지 않았고, 무기게르마늄 처리구의 뿌리 부위에서만 축적되기 시작하여 5 mg/ℓ의 농도에서는 뿌리 및 줄기까지 전이되었고, 10 mg/ℓ 이상 농도를 처리해야, 잎으로까지 게르마늄이 전이되어 체내 유기게르마늄을 생성하였다. 유기게르마늄 체내 축적량은 뿌리에서 가장 효과적이었고, 게르마늄 처리 농도가 높아짐에 따라 증가하여 100 mg/ℓ 농도에서 가장 많이 축적되었고, 250 mg/ℓ에서는

급감하였다. 뿌리에서 잎으로의 게르마늄 전이 및 축적은 유기게르마늄 처리가 효과적이었고, 특히 고농도 처리구에서 게르마늄 축적 및 생산이 이루어져 뿌리의 게르마늄 생산량과 유사한 수준을 보였다 (Table 3). 이와 대조적으로 게르마늄 염면시비시 벼의 줄기와 잎에서 게르마늄 흡수량은 높았으나, 상대적으로 뿌리는 매우 적은 흡수량을 보인 결과가 있다 (Park et al., 2012). 이는 게르마늄을 처음 흡수하는 식물 부위에서 다른 부위와는 달리 직접적인 영향을 받으므로, 이에 따라 게르마늄 함량도 가장 높은 것으로 사료된다.

인삼 부정근의 무기게르마늄 처리는 10 ppm의 저농도에서 생장을 증진시켰고, 부정근 내 게르마늄 함량이 가장 높은 것은 100 ppm 처리구였으나, 이는 무처리구의 1/2 정도의 생육을 보였다 (Chung and Oh, 2005). 배양 식물 종류 및 특성에 따라 게르마늄 처리에 따른 생육 및 축적 양상이 다르므로, 생육과 유기게르마늄 생산에 좋은 조건을 확립할 필요가 있다.

새포아풀 (*Poa annua* L.)을 이용한 게르마늄과 규소의 전이 양상 연구에서 게르마늄과 규소 모두 뿌리의 세포벽에 축적되었고, 잎으로의 전이는 규소는 활발히 이루어져 뿌리 세포벽만큼 축적된 반면, 게르마늄의 전이는 드물게 전이된 것으로 보고된 바 있다 (Sparks et al., 2011). 본 연구를 통해서, 땃두릅나무 유식물체 뿌리에서 잎으로의 게르마늄 전이는 비교적 고농도에서 이루어지고, 잎에서의 게르마늄 축적량 또한 뿌리에 1/2 이하의 수준으로 나타났다. 이로써, 게르마늄은 식물체내에 비교적 느리게 전이되는 원소임을 다시 한 번 확인할 수 있었다 (Table 3).

Table 3. Effect of germanium concentration on organic germanium accumulation and production in the plantlet of *O. elatus* after 8 weeks.

Germanium (mg/l)	Leaves		Stem		Root	
	Germanium accumulation ($\mu\text{g/g}$)	Germanium production ($\mu\text{g/plantlet}$)	Germanium accumulation ($\mu\text{g/g}$)	Germanium production ($\mu\text{g/plantlet}$)	Germanium accumulation ($\mu\text{g/g}$)	Germanium production ($\mu\text{g/plantlet}$)
Control	0.0 ± 0.0 ⁱ	0.00 ± 0.00 ^f	0.0 ± 0.0 ^j	0.00 ± 0.00 ^h	0.0 ± 0.0 ^l	0.00 ± 0.00 ^{h*}
IG ¹⁾ 2.5	0.0 ± 0.0 ⁱ	0.00 ± 0.00 ^f	0.0 ± 0.0 ^j	0.00 ± 0.00 ^h	6.8 ± 0.2 ^l	0.87 ± 0.00 ^h
IG 5	9.9 ± 0.1 ^h	1.19 ± 0.02 ^e	25.1 ± 0.1 ^{gh}	0.70 ± 0.02 ^{ef}	77.6 ± 0.6 ⁱ	9.18 ± 0.60 ^e
IG 10	11.3 ± 0.4 ^h	1.82 ± 0.08 ^e	31.7 ± 0.2 ^g	1.00 ± 0.01 ^{de}	92.3 ± 0.8 ^h	15.31 ± 0.32 ^d
IG 25	39.3 ± 0.4 ^d	3.16 ± 0.24 ^d	110.3 ± 10.3 ^d	1.50 ± 0.24 ^c	194.1 ± 9.7 ^d	21.86 ± 2.11 ^c
IG 50	58.9 ± 1.9 ^c	3.58 ± 0.40 ^{cd}	185.7 ± 10.1 ^b	2.11 ± 0.19 ^b	343.1 ± 9.9 ^b	40.89 ± 3.04 ^a
IG 100	120.4 ± 5.5 ^a	3.66 ± 0.47 ^{cd}	271.8 ± 10.8 ^a	2.53 ± 0.22 ^a	425.2 ± 11.8 ^a	35.58 ± 2.05 ^b
IG 250	14.3 ± 1.0 ^g	0.38 ± 0.02 ^f	21.5 ± 2.4 ^h	0.17 ± 0.04 ^h	50.2 ± 1.8 ^j	1.70 ± 0.07 ^{gh}
OG ²⁾ 2.5	0.0 ± 0.0 ⁱ	0.00 ± 0.00 ^f	0.0 ± 0.0 ^j	0.00 ± 0.00 ^h	0.0 ± 0.0 ^l	0.00 ± 0.00 ^h
OG 5	0.0 ± 0.0 ⁱ	0.00 ± 0.00 ^f	11.4 ± 0.1 ⁱ	0.20 ± 0.02 ^{gh}	25.1 ± 0.2 ^k	3.48 ± 0.04 ^{fg}
OG 10	0.0 ± 0.0 ⁱ	0.00 ± 0.00 ^f	26.6 ± 0.1 ^{gh}	0.55 ± 0.01 ^f	31.0 ± 0.2 ^k	5.56 ± 0.25 ^f
OG 25	24.4 ± 0.1 ^f	4.20 ± 0.11 ^{bc}	29.9 ± 0.2 ^{gh}	0.79 ± 0.02 ^{ef}	110.4 ± 0.5 ^g	24.23 ± 2.00 ^c
OG 50	34.1 ± 0.1 ^e	4.34 ± 0.24 ^b	45.3 ± 0.3 ^f	0.55 ± 0.06 ^f	186. ± 0.5 ^e	23.80 ± 0.39 ^c
OG 100	39.9 ± 0.2 ^d	4.51 ± 0.22 ^b	120.8 ± 0.2 ^c	1.26 ± 0.19 ^{cd}	271.7 ± 0.7 ^c	24.36 ± 2.36 ^c
OG 250	67.9 ± 2.8 ^b	6.08 ± 0.38 ^a	68.3 ± 3.9 ^e	0.53 ± 0.03 ^{fg}	120.8 ± 4.5 ^f	9.78 ± 2.15 ^e

Means values ± SD from triplicate separated experiments are shown. *Different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). ¹⁾IG; Inorganic germanium, ²⁾OG; Organic germanium.

3. 항산화 활성 및 물질 분석

항산화 활성 및 식물의 강력한 항산화력을 가진 것으로 알려진 물질인 총 페놀 및 플라보노이드 함량 검정은 게르마늄 무처리구와 생육 증진효과를 가졌던 무기게르마늄 10 mg/l 처리구, 체내 유기게르마늄 생산에 효과적이었던 무기게르마늄 50 mg/l 처리구를 분석에 사용하여 게르마늄의 게르마늄 증진 효과를 확인하였다.

항산화 활성은 DPPH 및 ABTS free radical을 50% 소거하는 RC₅₀ $\mu\text{g/ml}$ 값으로 나타내었다. 항산화 활성은 DPPH와 ABTS 소거 활성에서 비슷한 양상을 보였는데, 땃두릅나무 유식물체의 잎 부위가 높은 항산화 활성을 가지고 그 다음으로 뿌리, 줄기 순으로 나타났다. 항산화 활성은 게르마늄 처리에 따라 증진하였는데 free radical을 50% 소거에 사용하는 시료 양은 무처리구의 1/2 수준의 함량으로도 가능한 것을 확인할 수 있었다 (Table 4). 게르마늄은 끈적끈적한 산성상태의 혈액을 알카리성으로 전환시켜 혈액정화를 하며, 몸속에 있는 산화물질을 제거하여 노화방지에 효과가 있다 (Kim, 2004). 이는 게르마늄 처리 시 증가된 땃두릅나무 유식물체의 유기게르마늄이 DPPH와 ABTS assay를 통하여 항산화 작용을 일으킨 것으로 사료된다.

페놀은 하나 이상의 수산기를 가지는 구조로 이는 강력한 항산화의 기작이될 뿐만 아니라 항균, 항알러지, 항암, 충치예방, 심장질환 및 당뇨병 예방에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다 (Azuma et al., 1999). 이와 동시에 페놀 계열의 플라보노

이드 (flavonoid)는 방향족 고리 2개와 탄소 3개로 이루어진 일련의 기본 링 구조 (C6-C3-C6)를 갖는 화합물로, 항산화제, 자유라디칼 소거제, 양이온의 킬레이트 등으로 작용하는 천연 물질로 관심이 집중되고 있는 실정이다 (Knekt et al., 2002; Cha and Cho, 1999; Zhoh and Kim, 2002).

본 연구에서의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 각각 gallic acid와 quercetin의 흡광도를 측정 후 표준곡선을 작성하여 Table 5와 같이 결과를 산출하였다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 항산화 활성이 우수하였던 잎, 뿌리 및 줄기 순으로 많이 함유하고 있었다. 특히, 잎에서 총 페놀 함량은 게르마늄 무처리구에서 132.8 $\mu\text{g} \cdot \text{GAE/ml}$ 를 나타낸 반면, 무기게르마늄 50 mg/l 처리구에서는 309.5 $\mu\text{g} \cdot \text{GAE/ml}$ 로 그 함량이 2.3배 이상 급증하였으며, 줄기 및 뿌리에서도 게르마늄 처리에 따라 총 페놀 함량이 증가하는 양상을 보였다. 총 플라보노이드 함량의 경우 잎과 줄기에서 급증하였고, 뿌리에서는 다소 증가하였다 (Table 5).

항산화 활성과 항산화 물질 분석의 결과로, 잎에서의 무기게르마늄 처리구의 항산화 활성 증가는 총 페놀 및 총 플라보노이드의 급증에 의한 것이고, 뿌리에서의 항산화 활성 급증은 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량 및 유기게르마늄 축적에 의한 것으로 사료된다.

이와 같이 땃두릅나무에 저농도의 게르마늄 처리를 통하여 지상 및 지하부 생육, 항산화 활성 증진 효과 및 유효한 유기게르마늄 생산 방법을 구축함으로써 희귀 약용작물인 땃두릅

Table 4. Effect of germanium concentration on antioxidant activities of *O. elatus* after 8 weeks.

Germanium (mg/ℓ)	DPPH Scavenging activity (RC ₅₀ μg/ml)				ABTS Scavenging activity (RC ₅₀ μg/ml)			
	Leaves	Stem	Root	Ascorbic acid	Leaves	Stem	Root	Ascorbic acid
0	571.0 ± 9.8	1313.1 ± 8.7	1361.6 ± 5.0		925.7 ± 8.8	1385.7 ± 12.3	1295.0 ± 10.7	
10	327.5 ± 12.7	650.2 ± 13.5	928.6 ± 3.3	8.0 ± 0.6	617.0 ± 7.0	1118.1 ± 15.2	1112.6 ± 19.4	40.4 ± 0.7
50	237.2 ± 3.4	556.6 ± 10.4	445.6 ± 1.9		530.0 ± 8.4	964.8 ± 9.9	625.9 ± 8.7	

Means values ± SD form triplicate separated experiments are shown.

Table 5. Effect of germanium concentration antioxidant activities of *O. elatus* after 8 weeks.

Germanium (mg/ℓ)	Total phenolics (μg · GAE ¹ /ml)			Total flavonoids (μg · QE ² /ml)		
	Leaves	Stem	Root	Leaves	Stem	Root
0	132.8 ± 9.5	33.9 ± 0.3	104.5 ± 2.8	51.6 ± 1.4	11.0 ± 2.9	44.7 ± 0.4
10	218.5 ± 5.6	97.5 ± 1.7	106.1 ± 4.5	103.1 ± 0.9	40.8 ± 0.2	52.2 ± 0.6
50	309.5 ± 3.2	112.8 ± 4.2	187.9 ± 7.9	184.2 ± 2.3	41.9 ± 0.3	55.4 ± 0.8

Means values ± SD form triplicate separated experiments are shown. ¹GAE; Gallic acid equivalent, ²QE; Quercetin equivalent.

나무의 기능성 증진 및 소재 확보에 기여하였고, 이를 이용한 고부가 가치 제품으로 다양하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 교육부와 한국연구재단 지역혁신창의인력양성사업(과제번호: 2014H1C1A1067085)의 지원에 의해 이루어진 연구결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Asai K. (1980). Miracle cure: Organic germanium. Japan Publications. Kyoto, Japan. p.24-82.

Azuma K, Nakayama M, Koshioka M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamauchi Y, Ito H and Higashio H. (1999). Phenolic antioxidant from the leaves of *Corchorus olitorius* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47:3963-3966.

Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181:1199-1200.

Cha JY and Cho YS. (1999). Effect of potato polyphenolic on lipid peroxidation in rats. Journal of the Korean Society of Food Science Nutrition. 28:1131-1136.

Choi HS, Kim TY, Kim WS and Lee Y. (2011). Effects of germanium treatments on nutrient concentrations in soil and leaves and leaf characteristics in a 'Niiitaka' pear (*Pyrus pyrifolia*) Orchard. Korean Journal of Organic Agriculture. 19:273-282.

Chung EJ and Oh HI. (2005). Effects of addition of inorganic germanium, GeO₂ on the growth, germanium and saponin contents of ginseng adventitious root in submerged culture. Journal of Ginseng Research. 29:145-151.

Chung EJ and Oh HI. (2007). Effects of various chelating agents on accumulation of germanium in ginseng adventitious roots in submerged culture. Journal of Ginseng Research. 31:154-158.

Fu LK and Chin JM. (1992). China plant red data book: Rare and endangered plants. Science Press. Beijing, China. p.741-789.

Goodman S. (1988). Therapeutic effects of organic germanium. Medical Hypotheses. 26:207-215.

Han MJ, Kim SU, Seo DC, Cheong YH, Lee DJ, Park MS, Rim YS, Sohn BK, Heo JS and Cho JS. (2007). Uptake properties of germanium to vegetable plants and its effect on seed germination and on early stage growth. Korean Journal of Environmental Agriculture. 26:217-222.

Huang W, Yang J, Zhao J, Wang CZ, Yuan CS and Li SP. (2010). Quantitative analysis of six polyynes and one polyene in *Oplopanax horridus* and *Oplopanax elatus* by pressurized liquid extraction and on-line SPE-HPLC. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 53:906-910.

Kim HY, Seong ES, Lee JG, Yoo JH, Hwang IS, Kim MJ, Lim JD, Kim NY and Yu CY. (2012). Establishment of suspension culture system to induce somatic embryo in *Oplopanax elatus* Nakai. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 20:461-465.

Kim JC. (2004). A study on the effect of germanium on the skin. Korean Journal of Aesthetic Society. 2:19-32.

Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R, Rissanen H, Heliovaara M, Reunanen A, Hakulinen T and Aromaa A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. The American Journal of Clinical Nutrition. 76:560-568.

Kwon HS, Kim DH, Shin HK, Yu CY, Kim MJ, Lim JD, Park JK and Kim JK. (2007). Fourteen-day repeated-dose oral toxicity study of the ethanol extracts isolated from *Oplopanax elatus* in Sprague-Dawley rat. Korean Journal of Food Science and Technology. 39:470-475.

Lee MS, Kim SH, Baek SH and Namkoong SH. (1995). Basic studies for increment of germanium contents in *Angelica keiskei* Koidz and *A. acutiloba* Kitagawa. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 3:45-49.

- Levine SA and Kidd PM.** (1986). Oxygen-nutrition for super health: Research breakthrough on an oxygen catalyst. *Journal of Orthomolecular Medicine*. 1:145-150.
- Lichtenthaler HK and Buschmann C.** (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *In Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. Press. Hoboken. NJ, USA. p.171-178.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR and Vattuone MA.** (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*. 71:109-114.
- Park IS, Shin YG, Oh W and Kim KW.** (2013). Comparisons in pattern characteristics and chlorophyll contents of major foliages with variegated leaves. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*. 31:447-456.
- Park JH, Seo DC, Kim SH, Lee CH, Lee ST, Choi JH, Kim HC, Ha YR, Cho JS and Heo JS.** (2012). Effect of germanium foliar spray application on growth characteristics and germanium absorption in rice. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*. 45:649-656.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26:1231-1237.
- Sanai T, Oochi N and Okuda S.** (1990). Subacute nephrotoxicity of germanium dioxide in the experimental animal. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 103:345-353.
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M and Ochi H.** (1996). Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44:37-41.
- Sparks JP, Chandra S, Derry LA, Parthasarathy MV, Daugherty CS and Griffin R.** (2011). Subcellular localization of silicon and germanium in grass root and leaf tissues by SIMS: Evidence for differential and active transport. *Biogeochemistry*. 104:237-249.
- Zhang HG, Wu GX and Zhang YM.** (1993). Chemical constituents from stems of *Oplopanax elatus* Nakai. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 18:104-105.
- Zhoh CK and Kim IY.** (2002). The extracting methods of the seeds of yew(*Taxus cuspidata* Sieb.) by solvent extraction and its efficacy. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 33:364-371.