

## 生薑中 게르마늄 成分에 관한 研究

白南豪 · 朴萬基 · 崔承浩 · 文東轍\*

서울대학교 藥學大學 · 忠北대학교 藥學大學\*

(Received November 12, 1981)

Nam Ho Paik, Man Ki Park, Seung Ho Choi and Dong Cheul Moon\*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151 and College of Pharmacy,  
Chungbuk National University\*, Cheong Ju 310, Korea

### Studies on the Germanium Components of *Zingiberis Rhizoma*

**Abstract**—Germanium (Ge) content in *Zingiberis Rhizoma* was determined by flameless atomic absorption spectrometry with a graphite tube atomizer. The Ge content of the cortical layer was 65 $\mu$ g/g, the central cylinder, 98 $\mu$ g/g and the total, 87 $\mu$ g/g. In the effect of the extraction of Ge by various solvents, polar solvent was more effective than the nonpolar one, Especially, water was the most effective solvent. The water extract of *Zingiberis Rhizoma*, separated by sephadex G-25 gel filtration, was fractionated into 2 peaks at 254nm. Both the peaks showed atomic absorptions of Ge. It may be concluded that the Ge components of *Zingiberis Rhizoma* exist as the form of an aqueous organic compounds or associated forms with proteins.

Germanium (Ge)은 Wincler<sup>1)</sup>에 의해 1886年 최초로 發見된 이래 여러 研究者<sup>2-14)</sup>에 의하여 生體內에서의 Ge의 存在와 生物活性이 研究되어 왔다. 生體內에서 Ge의 濃度는 0.1~1.0ppm인 것으로 일반적으로 알려졌으며 Ge의 生物活性으로는 植物生育阻害<sup>7,8)</sup>, 高等植物種子의 發芽抑制<sup>9)</sup> rat에서의 壽命短縮 및 tumor cell 成長阻害<sup>11)</sup> 등이 報告되고 있다. 또한 水溶性 有機 Ge 化合物이 動物의 健康增進에 卓越한 效果가 있다는 보고<sup>12)</sup>와 生藥中 特히 人蔘, 當歸, 生薑, 스크폴리아根<sup>13-14)</sup> 등의 Ge 含量이 地殼의 Ge 濃度인 1~10ppm 보다 월등히 높다는 보고는 Ge의 存在와 藥理作用과의 관계에 관심을 불러 일으키고 있다.

著者 등은 生藥中 Ge의 含量 및 어떤 狀態로 含有되어 있는가를 研究할 目的과 그 藥理作用과의 相關性 鮮明에 寄與코자, 生藥뿐 아니라 食品으로도 많이 이용되고 있는 生薑을 택하여 生薑의 皮層部와 中心柱의 Ge 含量 및 여러 溶媒에 의한 Ge의 抽出 效果와 Ge 抽出 生薑액 기스를 column chromatography 로 分離하여 각 fraction들의 Ge 含量을 檢討하였다.

Ge의 定量法으로는 최근 微量金屬의 定量에 널리 쓰이고 있는 graphite tube 를 이용한 無炎 原子吸收光度法<sup>14-21)</sup>을 사용하였다.

### 實驗 方法

裝置—Ultraviolet spectrophotometer는 Unicam SP1750 을 High performance liquid chromatography (HPLC)는 Waters Model 6000A Solvent Delivery System 과 Waters Model 440 Absorbance Detector 를 사용하였다. Atomic absorption spectrophotometer는 Rank Hilger H

1550型을, 光源은 Hilger & Watt 製 Hollow Cathode Lamp를 Graphite Atomiser는 L'vov 型을 사용하였으며 Freeze Dryer는 Edwards Model EFO3을 Centrifuge는 Beckman Model J-21을 사용하였다.

**試料**—서울 지역에서 市販되고 있는 生薑을 사용하였다.

**試藥**—Sephadex는 Sigma Chemical社 製品을 사용하였고 弗酸, 窒酸, 過鹽素酸은 和光純藥製 特級을, 그 外의 試藥은 E. Merck 製를 사용하였으며 물은 脫이온水를 사용하였다.

保存用 Ge 標準液—SPEX industries INC製  $\text{GeO}_2$  純品 2.8800g을 精秤하여 HF 5ml,  $\text{HNO}_3$  10ml 및  $\text{HClO}_4$  5ml를 加하여 완전히 녹이고 脫이온水를 加하여 1000ml로 한 溶液을 保存用 標準液으로 하였다( $\text{Ge}$  2000 $\mu\text{g/ml}$ ).

**原子吸光度의 測定**—1) 器具의 洗滌: 실험기구에 의한 오차를 막기 위해 모든 유리기구는 질산과 과염소산의 混液(2:1)을 加하여 加열하고 上水와 脫이온水로 세척하였으며 폴리에칠렌용기는 弗酸, 窒酸, 過鹽素酸의 混液(1:2:1)을 넣고 24時間 동안 방치한 다음 上水와 脫이온水로 세척하였다.

2) 定量操作—Ge의 量으로 2~6 $\mu\text{g/ml}$ 의 試料溶液 10 $\mu\text{l}$ 를 精確히 取하여 Table I과 같은 조건에서 Ge의 原子吸光度를 測定하였다.

3) 檢量線—Ge 保存用 標準液을 段階의 으로 稀釋한 溶液을 定量操作에 따라 吸光度를 測定하여 檢量線을 作成한 結果, Fig. 1과 같이

1~10 $\mu\text{g/ml}$ 의 濃度에서 良好한 直線性을 나타내었다(最終液의 弗酸 濃度를 0.5N로 함)

**乾燥減量**—市販 生薑을 脫이온水로 세척한 후 105°C에서 恒量이 될 때까지 乾燥시켜 구한 乾燥減量은 82 $\pm$ 0.8% (Mean $\pm$ S. D.)였다.

**部位別 Ge含量**—市販 生薑을 皮層部와 中心柱로 나누어 105°C에서 乾燥시킨 試料 각 2.0g을 精秤하여 kjeldahl flask에 넣고 窒酸 5ml와 過鹽素酸 2ml를 각각 加하고 hot plate上에서 白煙이 發生하고 混酸이 거의 蒸發濃縮될 때까지 서서히 加熱하여 有機物을 分解시켰다. 이 液을 폴리에칠렌容器에 옮기고 弗酸 1ml를 力한 다음 濾過하고 脫이온水를 加하여 適當한 濃度로 한 溶液을 試料溶液으로 하여 Table I과 같은 조건에서 Ge의 原子吸光度를 測定하였다.

溶媒에 따른 Ge의 抽出效果—Kjeldahl flask에 溶媒 100ml와 乾薑 2.0g을 각각 넣고 하루 밤 reflux 시켰다. 이것을 약 8,000rpm에서 원심분리하여 上澄液만 취하고 減壓下에서 溶媒를 蒸發시킨 후 上記方法으로 有機物을 分解시키고 HF를 加한 것을 試料溶液으로 하여 Table I과 같은 조건에서 Ge의 原子吸光度를 測定하였다.

Table I—Conditions of AA for determination of Ge.

Wavelength	265.2nm
Slit width	87.0 $\mu$
Lamp current	6.0mA
Flow rate(Ar)	4.0l/min
Dry	100°C, 35sec
Ash	1400°C, 20sec
Atomise	2700°C, 7sec

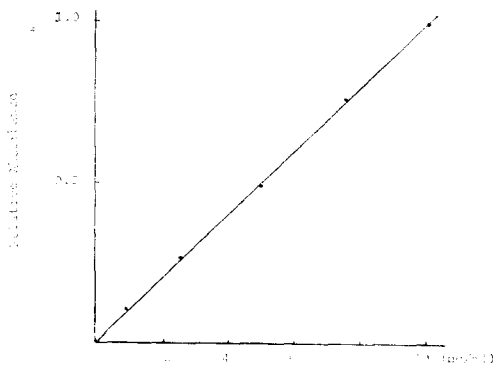


Fig. 1—Calibration curve of germanium.

**Table II**—Conditions of HPLC.

Column	Lichrosorb RP-18(4mm×25cm)
Detector	UV 254 absorbance detector
Mobile phase	Water
Flow rate	1.5ml/min
Column temp.	Ambient
Sample size	10 $\mu$ l
Chart speed	1cm/min
Sensitivity	0.1 AUFS

HPLC의 測定—용매와 시료를 0.45 $\mu$  millipore 로 여과한 후 시료 10 $\mu$ l 씩 注入하여 Table II 와 같은 조건에서 측정하였다.

**結果 및 考察**

**部位別 Ge含量**—市販 生薑을 皮層部와 中心 柱로 나누어 測定한 Ge의 原子吸光度는 Table III 과 같다. Table III 에 나타난 바와 같이 中心 柱의 Ge含量이 皮層部の Ge含量보다 높은 것으로 나타났다.

**溶媒에 따른 Ge의 抽出效果**—각 溶媒로 추출한 生薑엑기스의 Ge 原子吸光度는 Table IV 와 같다. Table IV 에서 나타난 바와 같이 非極性溶媒에서는 Ge 이 거의 抽出되지 않았으며 極性溶媒, 특히 H<sub>2</sub>O 가 Ge의 抽出效果가 높은 것으로 나타났다.

**pH에 따른 Ge의 抽出效果**—pH1~7의 HCl 酸性에서 上記方法으로 Ge의 原子吸光度를 測定하여 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에 나타난 바와 같이 酸性이 강해질수록 Ge의 抽出效果가 높아지는 것으로 나타났다.

**Fraction 別 Ge 含量**—Ge의 抽出效果가 가장 좋은 H<sub>2</sub>O를 택하여 市販 生薑을 하루밤 抽出한 후 약 8000rpm에서 원심분리시키고 0.46 $\mu$  여과기로 여과하여 추출액의 용매를 freeze dry하여 증발시켰다. 여기서 얻은 抽出物적당량을 Sephadex G-25 glass column(2.2×28cm)에 注入하여 fraction collector로 5ml 씩 fraction을 받았다. 각 fraction들로 UV,

**Table III**—Ge contents in each part of *Zingiberis Rhizoma*.

Sample	Contents ( $\mu$ /g)
Cortical layer	65 $\pm$ 8.5*
Central cylinder	98 $\pm$ 7.2
Total	87 $\pm$ 9.4

\*n=5 : Mean $\pm$ S. D.

**Table IV**—Effect of extraction of Ge in various solvents.

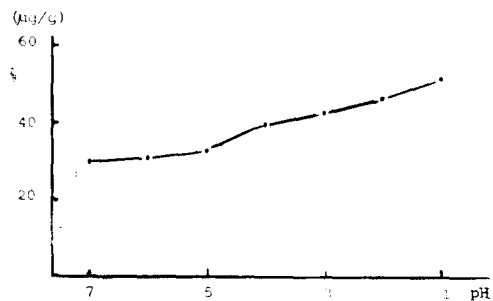
Solvent	Contents ( $\mu$ /g)
CHCl <sub>3</sub>	7 $\pm$ 0.5*
Me <sub>2</sub> CO	7.6 $\pm$ 0.8
EtOH+CHCl <sub>3</sub> (1 : 1)	9.5 $\pm$ 0.7
EtOH	17 $\pm$ 0.8
H <sub>2</sub> O	30 $\pm$ 1.2

\*n=5 : Mean $\pm$ S. D.

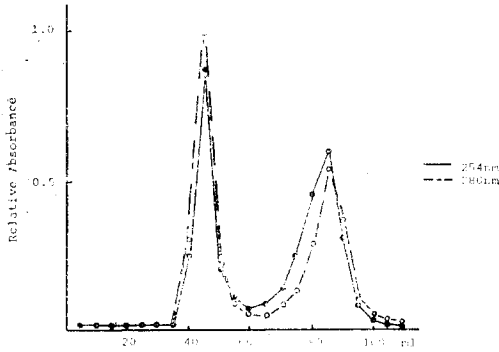
HPLC, AA를 각각 測定하였다.

Fig. 3은 Sephadex로 분리한 fraction들을 UV 254nm, 280nm에서 吸光度를 測定한 것이다. 分子量 5000 (Sephadex G-25의 fractionation range는 분자량 1000-5000)을 전후하여 Elution volume 45ml의 Group 1과 Elution volume 85ml의 Group 2로 분리되었다.

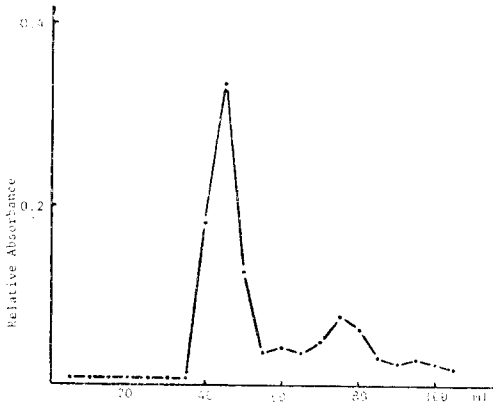
Fig. 4는 Sephadex로 분리한 fraction들을 Folin-Phenol Reagent를 이용한 Lowry法<sup>22)</sup>



**Fig. 2**—Effects of various pH on the extraction of germanium.



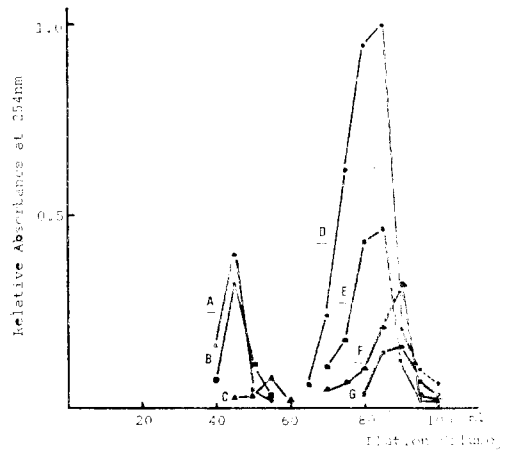
**Fig. 3**—The SephadexG-25 gel filtration of the water-extractable fractions of *Zingiberis Rhizoma*.



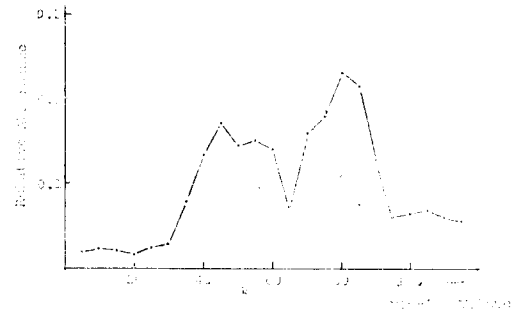
**Fig. 4**—UV absorption at 540nm of the fractionated water extract after reacting by Lowry method.

으로 발색시킨 것을 540nm에서測定한 것이다. 그 결과 Group 1의 흡광치가 높은 것으로 나타났으며 Group 1의 분자량이 5000보다 크고 UV測定結果  $\lambda_{max}$ 가 280nm인 것으로 보아 Group 1은 단백질의 양이 많은 fraction으로推定된다.

Fig. 5는 Sephadex로 분리한 fraction들을 Table II의 조건으로 HPLC에 10 $\mu$ l씩 注入한 것이다. 그 결과 Group 1은 최소한 A, B, C 세 가지物質 Group 2는 최소한 DEFG 4가지物質인 것으로推定된다. Group 1이 Group 2보다 UV 254nm에서의 吸光度는 높으나 HPLC



**Fig. 5**—The HPLC profile of water extractable fractions of *Zingiberis Rhizoma* after gel filtration.



**Fig. 6**—Contents of germanium in the water extractable fractions of *Zingiberis Rhizoma* measured by the atomic absorption method after the gel filtration.

254nm에서 吸光度가 낮아지는 것은 column 통과시 분자량이 월등히 큰 것은 유출되지 않는 것으로推定된다.

Fig. 6은 Sephadex로 분리한 fraction들을 freeze dry시켜 H<sub>2</sub>O를 蒸發시키고 前記와 같은 방법으로 酸처리하여 Table I의 조건에서 Ge의 原子吸光度를測定한 것이다. 그 결과 Group 1과 Group 2에서 다같이 Ge의 原子吸光이 있었으며 특히 Group 2의 Ge原子吸光이

높은 것으로 나타났다.

### 結 論

市販 生薑中 中心柱의 Ge含量이 皮層部의 Ge含量보다 높은 것으로 나타났다.

非極性溶媒보다 極性溶媒가 生薑의 Ge抽出效果가 높았으며 특히 H<sub>2</sub>O가 Ge의 抽出效果가 높은 것으로 나타났다.

pH 7에서 抽出된 Ge의 量이 30 $\mu$ g/g 이던 것이 HCl 酸性이 增加할수록 抽出效果가 높아져 pH 1에서는 52 $\mu$ g/g 인 것으로 나타났다.

Group 1의 Ge原子吸光은 Ge이 protein과 association되어 있을 가능성이 큰 것으로 생각된다.

위의 結果로 Ge無機物 形態는 水溶性인 것이 드물므로<sup>23)</sup> 生薑중 Ge의 存在狀態는 水溶性 有機物狀態나 protein과 association되어 있는 狀態로 存在하는 것으로 推定된다.

본 연구는 문교부 학술연구조성비 지원에 의한 것으로, 관계당국에 사의를 포함합니다.

### 文 獻

1. C. Wincler, *J. Prakt. Chem.*, **34**, 177(1886).
2. G.H. Whipple and F.S. Robscheit-Robbins, *Amer. J. Physiol.*, **72**, 419(1925).
3. W.C. Hueper, *Amer. J. Med. Sci.*, **181**, 820(1931).
4. G. Rosenfeld and E.D. Wallace, *Arch. Ind. Hy.*, **8**, 466(1953).
5. G. Rosenfeld, *Arch. Biochem. Biophys.*, **48**, 84(1954).
6. H.A. Schroeder and J.J. Balassa, *J. Chron. Dis.*, **20**, 211(1967).
7. E. Takahashi, S. Somei and Y. Miyake, *Nippon Dojo-Hiryogaku Zasshi*, **47**, 183(1976).
8. E. Takahashi, S. Somei and Y. Miyake, *ibid*, **47**, 191(1976).
9. N. Sankhla and D. Sankhla, *Naturwissenschaften*, **54**, 627(1967).
10. H.A. Schroeder and J.J. Balassa, *J. Nutr.*, **92**, 245(1967).
11. H.A. Schroeder, M. Kanisawa, D.V. Frost and M. Mitchner, *J. Nutr.*, **96**, 37(1968).
12. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **8**, N105(1978).
13. 淺井一彦, "Germanium と 私" 玄同社, 東京 (1977).
14. N.H. Paik, W.K. Lee, M.K. Park and J.I. Park, *Yakhak Hoeji*, **23**, 141(1979).
15. P.L. Larkins and J.B. Willis, *Spectrochim. Acta*, Part B, **26**, 491(1971)
16. E.N. Dollock and S.J. West, *At. Abs. Newslett.*, **12**, 6(1973).
17. A.E. Smith, *Analyst*, **100**, 300(1975).
18. D.J. Johnson, T.S. West and R.M. Dagnall, *Anal. Chim Acta*, **67**, 79(1973).
19. S. Shimomura, H. Sakurai, H. Morita and Y. Mino, *Anal. Chim. Acta*, **96**, 69(1978).
20. Y. Mino, S. Shimomura and N. Ota, *Anal. Chim. Acta*, **107**, 253(1979).
21. Y. Mino, N. Ota, S. Sakaō and S. Shimomura, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2687(1980).
22. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951).
23. "Handbook of Chemistry" McGraw-Hill, New York (1967).