

## 킬레이트제가 액체배양 중 인삼 부정근의 게르마늄 축적에 미치는 영향

장은정 · 오훈일<sup>#</sup>

세종대학교 식품공학과

(2007년 8월 23일 접수; 2007년 9월 4일 수리)

### Effects of Various Chelating Agents on Accumulation of Germanium in Ginseng Adventitious Roots in Submerged Culture

Eun Jung Chang and Hoon Il Oh<sup>#</sup>

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

(Received August 23, 2007; Accepted September 4, 2007)

**Abstract :** In order to increase the content of germanium in ginseng adventitious roots, the effects of chelating agents on germanium content and root growth were investigated in the submerged cultures of ginseng adventitious roots. Chelating agents such as citric acid, oxalic acid, phosphoric acid, EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid) or EGTA (Ethylene glycol-bis ( $\beta$ -aminoethylether)-tetraacetic acid) were administrated in the submerged culture of ginseng root containing 50 ppm  $\text{GeO}_2$ . After 6 weeks of cultivation, fresh weight, germanium and saponin contents in the roots were analyzed. Among chelating agents, addition of 1.0mM phosphoric acid was found to be best for germanium accumulation. Under this condition, germanium content increased 1.4 times as compared to that of the control. The germanium content in the adventitious roots also increased with addition of EDTA or EGTA, while they inhibited the growth of ginseng adventitious root. Citric and oxalic acids were not effective for increasing germanium content in adventitious roots. As the results, it suggests that the phosphoric acid can be proved as the optimal agent for the enhancement of germanium accumulation in ginseng adventitious roots. These results can be served as a guideline for the mass production of ginseng adventitious roots containing germanium by large-scale production.

**Key words :** Ginseng, adventitious root, germanium, chelating agent

## 서 론

게르마늄(Ge)은 1930년 프랑스와 스페인 국경지방인 Lourdes의 샘물이 여러 가지 질병치료에 큰 효과가 있다는 보고서가 발표된 이후 계속된 샘물의 성분 분석결과, 게르마늄 함량이 매우 높다는 사실이 알려지면서 그 의학적 효능이 알려졌다<sup>1)</sup>. Sanai 등<sup>2)</sup>은 유기 Ge은 안전하지만 무기 Ge은 신장 및 간장의 기능 장애를 일으킨다고 보고하였다. 그 후 독성이 강하고 많은 부작용이 보고된 무기 Ge보다는 체내에 잔류하지 않고 약리작용을 나타내는 유기 Ge에 대한 연구가 활발히 진행되었다. 지금까지 알려진 생체내 유기 Ge의 역할

로 세포내 산소공급증진<sup>3)</sup>, 혈액의 정화<sup>4)</sup>, 체내 중금속의 체외 배출 촉진<sup>5)</sup>, NK세포와 macrophage의 활성화 및 인터페론 분비 유도<sup>6)</sup>, 세포독성 T-lymphocyte의 생산 조절<sup>7)</sup> 등이 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 식물조직배양에 의한 기내(器內)에서의 연구가 활발히 전개되고 있다. 따라서 다양한 약리효과를 가지는 유기 Ge를 생산하기 위해 그 동안 식물체를 조직배양<sup>(8~15)</sup>하거나, 미생물을 이용하여 단 시간 내에 대량으로 유기 Ge를 생산하려고 노력해왔다<sup>1,16)</sup>. 또한, 식물체내로의 Ge 흡수를 촉진시켜 유기 Ge의 생산성을 향상시키고자 여러 종류의 킬레이트제 (chelating agent)를 처리한 보고들도 있다. Kwon 등<sup>10)</sup>은 현미로부터 유도한 캘러스의 Ge 흡수를 향상시키기 위해 citric acid와

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

myo-inositol을 처리하였고, Park 등<sup>12)</sup>과 Namkoong<sup>13)</sup>도 *Angelica*속 식물들의 Ge 흡수를 향상시키기 위해 citric acid를 첨가하였다. 그러나, 인삼 부정근에 있어서 Ge 흡수를 촉진시키기 위해 킬레이트제를 처리한 연구는 없는 실정이다.

따라서, 본 연구는 Ge를 함유하는 인삼 부정근의 생산 시 Ge의 함량을 향상시키고자, 다양한 킬레이트제가 인삼 부정근의 Ge 축적과 사포닌 형성 및 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 캘러스의 유도

한국인삼연조연구원(현 KT&G 중앙연구소) 수원경작시험장에서 분양받은 고려인삼 (*Panax ginseng* C.A. Meyer) 씨앗을 개입하여 70%(v/v) ethanol로 20초, 4% NaOCl 용액(v/v)으로 15분간 살균한 후, 캘러스를 유도하기 위해 메스로 씨앗에 작은 상처를 낸 다음, BAP (6-Benzylaminopurine) 0.5 mg/L와 NAA (1-Naphthaleneacetic acid) 3.0 mg/L를 첨가한 Murashige-Skoog (MS)<sup>17)</sup> 고체배지에서 배양하였다. 배양온도는 25°C로 유지하였으며 빛이 없는 암조건에서 배양하였다.

### 부정근(Adventitious root)의 유도 및 배양

MS배지에서 유도된 캘러스로부터 부정근을 얻기 위해 BAP 0.5 mg/L와 NAA 3.0 mg/L를 첨가한 Schenk-Hildebrandt(SH)<sup>18)</sup> 고체배지에 캘러스를 옮겨 25°C 암조건에서 배양하였다. 이 조건에서 3개월간 배양한 후 유도된 root를 동일한 조성의 SH 액체배지에 옮겨 25°C, 암조건에서 60rpm으로 4주간 진탕배양한 후 다음의 실험에 사용하였다.

### GeO<sub>2</sub>와 산 및 킬레이트제 첨가

인삼 부정근에 게르마늄 흡수를 촉진하는 것으로 생각되는 여러 종류의 킬레이트제 (citric acid, oxalic acid, phosphoric acid, EDTA, EGTA)를 BAP 0.5 mg/L와 NAA 3.0 mg/L 및 GeO<sub>2</sub> 50 ppm이 첨가된 Schenk-Hildebrandt (SH) 배지에 일정량 첨가하여 6주간 배양한 후, 게르마늄과 사포닌의 함량 및 생장률을 측정하였다.

### 게르마늄 분석

배양한 인삼 root를 50% EDTA로 수세하고 3차 증류수로 3회 수세한 후, 70°C에서 열풍 건조시켜 분쇄하고 40 mesh의 체를 통과시켜 시료로 사용하였다. 시료의 전처리는 Abbasi의 방법<sup>19)</sup>을 변형하여 시료 0.1 g에 0.5 ml의 conc.

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 첨가하고 70°C에서 5분간 가열한 후, HNO<sub>3</sub> 0.5 ml를 첨가하여 100°C에서 15분간 분해하였다. 분해가 완료되면 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.2 ml를 첨가하고 10 ml로 정용한 후, ICP로 Table 1과 같은 조건하에서 Ge를 측정하였다.

### 생장률 및 총 사포닌 함량 측정

인삼 부정근의 생장률은 무게를 측정하여 생체중량으로 나타내었고 사포닌 함량은 Kim과 Lee<sup>20)</sup>의 방법에 따라 건조 시료 1g을 80% methanol로 3회 추출하고 여과, 농축 하였다. 이어서 ethyl ether를 가해 지질을 제거한 다음, 수포화 n-butanol로 4회 추출한 뒤 n-butanol층을 모아 감압 농축시켜 vanillin-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 비색법<sup>21)</sup>으로 정량하였다.

## 결과 및 고찰

### Ge 흡수 촉진을 위한 킬레이트제 선택

식물은 자신이 체내에서 합성한 물질을 여러 기관을 통하여 체외로 분비하는데, 그 중 뿌리에서 분비하는 구연산(citric acid)과 같은 분자량이 작은 유기산들은 토양에 있는 미량원소와 킬레이트(chelate)를 잘 형성한다고 보고되어 있다<sup>22)</sup>. 또한 식물체내에서 구연산은 여러 원소와 결합하여 원소들의 안정성을 높여주는 역할을 하기도 한다<sup>23)</sup>. 이는 구연산의 3개의 카르복실기 (-COOH)가 원소와 배위결합을 할 수 있는 전자를 제공함으로써, 식물의 원소 흡수를 용이하게 해주는 킬레이트제 (chelating agent) 역할을 하기 때문인 것으로 생각된다. 이밖에도 유기산인 oxalic acid는 식물의 xylem에서 무기원소들의 흡수를 촉진시키는 역할을 하며<sup>23)</sup>, phosphoric acid (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)는 Ge와 유사한 특징과 작용을 하는 Se이 식물체로 흡수될 때 이를 촉진시킨다는 보고<sup>24)</sup>가 있다.

**Table 1.** 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 <sup>-1</sup>
Nebulizing gas	0.8 min <sup>-1</sup>
Auxillary gas	0.5 min <sup>-1</sup>
Read delay	20sec
Spectrum rate	0.1
Spectrum range	0.5 nm
Replicate	3
Viewing height	10 min
Elemental parameters :	
Ge wavelength	209.426 nm

**Table 2.** Effects of chelating agents on the germanium accumulation with the addition of 50 ppm GeO<sub>2</sub>

Chelating agent*	Fresh weight (g)**	Germanium content (mg%)**
Control***	3.4 ± 0.3	16.5 ± 0.5
Citric acid	2.1 ± 0.2	11.0 ± 0.3
Oxalic acid	3.0 ± 0.3	15.8 ± 1.1
Phosphoric acid	2.8 ± 0.5	22.5 ± 0.8
EDTA	2.3 ± 0.4	17.5 ± 1.0
EGTA	2.3 ± 0.2	17.2 ± 0.4

\*Chelating agents were added into medium at a final conc. of 1.0 mM.

\*\*Triplicate, Average±STD.

\*\*\*Chelating agent was not added into the medium.

따라서 본 실험에서는 Ge의 킬레이트제로 생각되는 이 세가지 물질 외에 일반적으로 금속과 킬레이트화합물을 잘 생성하여 phytoextraction시 여러 중금속 흡수를 촉진하기 위해 사용되어지는 EDTA·Na<sub>2</sub> (Ethylenediamine-tetraacetic acid, disodium salt)와 EGTA (Ethylene glycol-bis(β-aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid)를 배지에 첨가하여 인삼 부정근의 성장률과 Ge의 흡수촉진정도를 조사하였다.

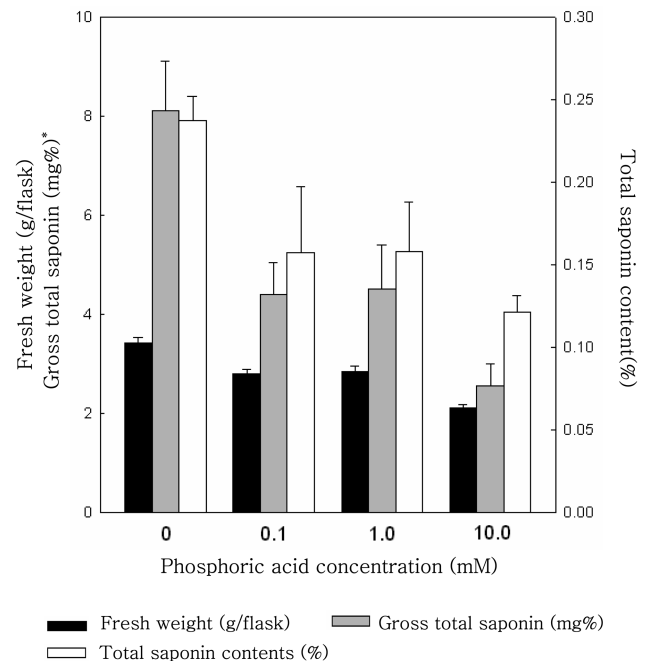
GeO<sub>2</sub> 50ppm과 함께 5종류의 킬레이트제 각각을 1.0 mM 씩 배지에 첨가하여 비교 실험한 결과(Table 2), 인삼 부정근의 성장률은 킬레이트제를 처리한 모든 실험구가 대조구에 비해 낮았다. 이 결과는 Park 등<sup>12)</sup>이 강활의 캘러스 유도 시 0.1 mM과 1.0 mM의 citric acid를 첨가하였을 때 캘러스가 왕성하게 증가한 반면 10 mM의 농도에서는 캘러스 증식이 현저하게 감소하였다는 보고와는 상이하였다. 한편, Ge 함량은 phosphoric acid 1.0 mM를 처리한 배지에서 성장한 인삼 부정근에서 22.5±0.8 mg%로 가장 높았는데, 이는 대조구에 비해 약 1.4배 정도 증가된 값이었다. EDTA와 EGTA 처리구는 대조구에 비해 Ge 함량이 다소 증가한 반면, citric acid와 oxalic acid 처리구에서는 오히려 감소되었다. 이 결과는 Namkoong<sup>13)</sup>이 명일엽과 일당귀에서 Ge의 함량증진을 위해 citric acid를 처리하였을 때, 식물의 부위와 첨가한 GeO<sub>2</sub>의 농도에 따라 다소 차이가 있으나 citric acid 1.0 mM까지는 Ge함량이 증가하여 대조구에 비해 2.5~3배 정도 Ge의 함량이 증가하고 1.0 mM보다 농도가 높아지면 Ge 함량이 감소한다는 보고와 차이가 있다. 또한 Park 등<sup>12)</sup>이 강활 캘러스에 2.5ppm GeO<sub>2</sub>와 citric acid 0.1 mM를 처리하였을 때, 함량이 56 ppm (citric acid 무처리구)에서 77 ppm까지 증가한다고 한 보고와도 차이가 있다. 이는 식물종과 부위가 다르며 또한 첨가한 GeO<sub>2</sub>의 농도, pH 및 배지의 조성이 다르기 때문인 것으로 사료된다.

식물체에서 Ge의 흡수 향상을 위해 킬레이트제를 사용한

연구로, 현미 배양시 citric acid와 myo-inositol을 GeO<sub>2</sub>와 함께 첨가하였을 때 myo-inositol과 citric acid 모두 1.0 mM의 농도까지는 무처리구에 비해 Ge 흡수가 좋은 반면 그 이상에서는 오히려 흡수가 저해되었다는 보고<sup>10)</sup>가 있다. 또한 Ge 흡수 촉진의 정도에 있어서도 myo-inositol, citric acid 모두 약 1.5배 정도의 향상효과를 가지는데, citric acid에 비해 myo-inositol의 효과가 좀 더 뛰어난 것으로 보고되었다<sup>10)</sup>. 식물을 이용하여 기타 다른 금속들을 흡수시키기 위해 킬레이트제를 사용한 연구로 납, 카드뮴, 우라늄과 같은 중금속이 오염된 토양을 정화하는 phytoextraction시, 중금속의 식물체내 축적을 높이기 위해 납의 경우 EDTA를, 카드뮴의 경우 EGTA와 citric acid, 우라늄은 citric acid를 킬레이트제로 처리한 보고<sup>24)</sup>가 있다.

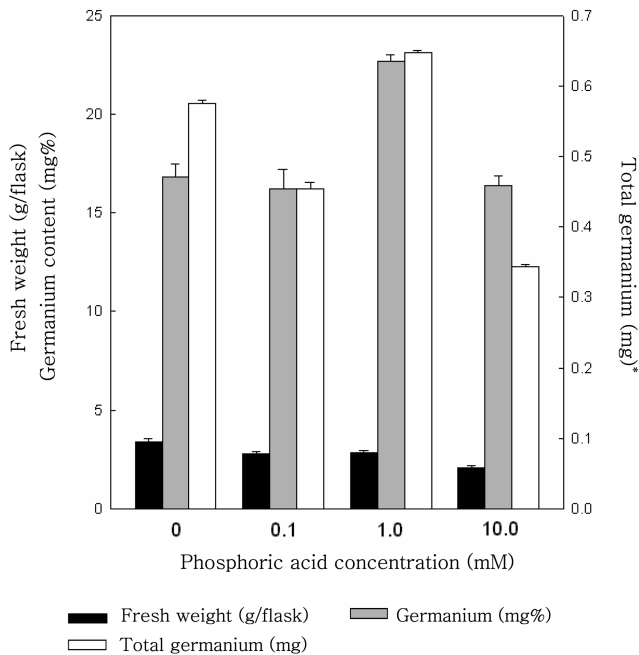
### Phosphoric acid 농도가 인삼 부정근의 Ge 흡수에 미치는 영향

5 종류의 킬레이트제 중 Ge 흡수 촉진 효과가 가장 우수한 phosphoric acid를 농도별로 처리하여, 성장률과 사포닌 함량에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 일반적으로 성장률과 사포닌 함량은 phosphoric acid의 첨가 농도가 증가할수록 감소하였다. 사포닌 함량은 phosphoric acid 0.1 mM 첨가구와 1.0 mM 첨가구가 대조구의 2/3 정도 수준이었고, 10 mM 첨가구의 사포닌 함량은 대조구의 1/2 정도였



**Fig. 1.** Effects of phosphoric acid concentration on the growth and saponin accumulation with the addition of 50 ppm GeO<sub>2</sub>.

\*Gross total saponin=Fresh weight×Total saponin content



**Fig. 2.** Effects of phosphoric acid concentration on the germanium accumulation with the addition of 50 ppm  $\text{GeO}_2$ .  
\*Total germanium = Fresh weight  $\times$  Germanium content

다. 따라서 전체 총 사포닌 함량 (생장률  $\times$  총 사포닌 함량)은 phosphoric acid의 첨가 농도가 증가할수록 감소하였다. 이 결과는 Yu 등<sup>25)</sup>의 유기  $\text{Ge}(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{Ge}_2\text{O}_7)$  60 ppm을 첨가한 배지에서 인삼 부정근을 배양하였을 때, biomass와 ginsenoside 함량이 증가되었다고 하는 보고와는 차이가 있다. 이는 본 연구에서 인삼 부정근 배양 시 사용한  $\text{Ge}$ 가 무기  $\text{Ge}$ 인  $\text{GeO}_2$ 인데 반해, Yu 등<sup>25)</sup>은 유기  $\text{Ge}$ 를 사용했으므로 처리한  $\text{Ge}$ 의 종류가 다르고 phosphoric acid 첨가에 따라 배양액의 pH가 감소된 것에 기인한 것으로 생각된다. Chang 과 Oh<sup>15)</sup>는 인삼부정근 배양 시 배양액의 초기 pH를 달리하였을 때 pH 5.5에서 최대 성장률과 사포닌 함량을 보였고 pH가 감소함에 따라 성장률과 사포닌 함량이 감소하였다고 보고하였다. 한편, phosphoric acid 0.1 mM 첨가의  $\text{Ge}$  함량은 대조구와 거의 차이가 없는 반면, phosphoric acid 1.0mM 처리구 ( $22.7 \pm 0.3\text{mg}\%$ )는 대조구 ( $16.8 \pm 0.7\text{mg}\%$ )에 비해 1.4배정도  $\text{Ge}$  함량이 증가하였다. 그러나, 그 이상의 농도에서는 오히려  $\text{Ge}$  함량을 감소시키는 효과를 나타내었다 (Fig. 2). Sarret 등<sup>26)</sup>은 배양액 중에 존재하는 Zn 이온이 강낭콩 (*Phaseolus vulgaris*)에 흡수되어 뿌리와 잎에서는 대부분 Zn phosphate dihydrate로 존재하여 phosphoric acid가 일부 식물에 있어서 금속의 흡수 과정에 관여한다는 것을 보여 주고 있다. 이는 인삼의  $\text{Ge}$  흡수에 phosphoric acid가 관여하여 이를 촉진한다고 하는 본 연구의 결과를 뒷받침해 준다.

인삼부정근의 성장률과  $\text{Ge}$  함량을 종합적으로 평가하는 총 germanium값 (생장률  $\times$   $\text{Ge}$  함량)도 phosphoric acid 1.0 mM 첨가구가 가장 높았다.

이상의 결과에서, 인삼 부정근 배양 시  $\text{GeO}_2$ 와 함께 첨가되어  $\text{Ge}$  흡수를 촉진시키는데 효과적인 킬레이트제는 phosphoric acid이고, 최적 농도는 1.0 mM이라는 것을 알 수 있었다.

## 요 약

식물조직배양기술을 이용한  $\text{Ge}$  함유 인삼 부정근 생산 시  $\text{Ge}$ 의 생산성을 향상시키고자, 다양한 킬레이트제가 인삼 부정근의  $\text{Ge}$  축적과 사포닌 형성 및 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

$\text{GeO}_2$  50ppm과 함께 citric acid, oxalic acid, phosphoric acid, EDTA 및 EGTA와 같은 킬레이트제를 인삼 부정근 배양시 첨가하여  $\text{Ge}$  흡수에 미치는 영향을 조사한 결과, phosphoric acid, EDTA 및 EGTA가  $\text{Ge}$  흡수를 촉진시킨다는 사실을 알 수 있었다. 그러나, EDTA와 EGTA는 인삼 부정근의 생육을 억제시킬 뿐만 아니라  $\text{Ge}$  흡수 촉진 효과도 phosphoric acid에 비해 낮으므로 인삼 부정근의  $\text{Ge}$  흡수를 촉진하는데 가장 효과적인 킬레이트제는 phosphoric acid인 것으로 확인되었다. 인삼 부정근의  $\text{Ge}$  흡수 촉진을 위한 phosphoric acid의 최적 농도는 1.0 mM이었고, 이때의  $\text{Ge}$  함량은  $22.7 \pm 0.3\text{mg}\%$ 로 대조구 ( $16.8 \pm 0.7\text{mg}\%$ )의 1.4배에 해당하는 양이다. 한편, 인삼 부정근의 성장률과 총 사포닌 함량은 phosphoric acid의 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 나타내었다.

## 감사의 말씀

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

## 인용문헌

1. 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).
2. Sanai, T., Oochi, N. and Okuda, S. : Subacute nephrotoxicity of germanium dioxide in the experimental animal. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **103**, 345-353 (1990).
3. Levine, S. A. and Kidd, P. M. : Oxygen-nutrition for super health. *J. Orthomol. Medicine.* **1**, 145-150 (1986).

4. Sandra, G. : Therapeutic effects of organic germanium. *Med. Hypotheses*. **26**, 207-215 (1988).
5. Asai, K. : Miracle cure organic germanium. 1st ed. Japan Publications, Inc., Tokyo, Japan p.17-25 (1980).
6. 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. *Microbiol. Immunol.* **29**, 65-74 (1985).
7. 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).
8. 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).
9. Tensho, K. and Yeh, K. L. : Tracer study on preferential uptake of germanium by rice plant. *Soil Sci. Plant Nutr.* **18**, 173-179 (1972).
10. Kwon, T. O., Namkoong, S. B. and Park, B. W. : Effect of germanium treatment in culture medium on germanium absorption by callus induced from brown rice. *Korean J. Crop Sci.* **41**, 729-735 (1996).
11. Lee, M. S. and Choi, Y. H. : Effect of inorganic germanium( $\text{GeO}_2$ ) in callus growth and organ differentiation of *Allium sativum* L. J. College of Agriculture, Univ. of Wonkwang **13**, 21-31 (1990).
12. Park, B. W., Lee, J. H. and Kwon, T. O. : Effect of  $\text{GeO}_2$  and citric acid on germanium content of callus and plant in *Angelica koreana* MAX. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **4**, 101-108 (1996).
13. Namkoong, S. B. : In vitro culture and increment of germanium content in the genus *Agelica* L. Ph.D. thesis, Univ. of Wonkwang, Chonbuk (1995).
14. 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).
15. Chang, E. J. and Oh, H. I. : Effects of addition of inorganic germanium,  $\text{GeO}_2$  on the growth, germanium and saponin contents of ginseng adventitious root in submerged culture. *J. Ginseng Res.* **29**, 145-151 (2005).
16. Wei, X. S. : Effect of yeast on bioenrichment of germanium. *Food Sci.* **149**, 49-54 (1992).
17. Murashige, T. and Skoog, F. : A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum.* **15**, 473-497 (1962).
18. Schenk, R. U. and Hildebrandt, A. C. : Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell culture. *Can. J. Bot.* **50**, 199-204 (1972).
19. Abbasi, S. A. : Atomic absorption spectrometric and spectrophotometric trace analysis of germanium in environmental samples with N-p-bromophenyl-2-furylacrylylhydroxamic acid and phenylfluorone. *J. Environ. Anal. Chem.* **33**, 149-160 (1987).
20. 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).
21. Korea Ginseng & Tobacco Research Institute : Methods in Ginseng Component Analysis. Deajeon, Korea p. 59-61 (1991).
22. Wang, T. S. C., Cheng, S. Y. and Tung, H. : Dynamics of soil organic acids. *Soil Sci.*, **104**, 138-144 (1967).
23. White, M. C. : Metal complexation in xylem fluid. . Chemical composition of tomato and soybean stem exudate. *Plant Physiol.* **67**, 292-300 (1981).
24. Salt, D.E., Smith, R. D. and Raskin, I. : Phytoremediation. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* **49**, 643-668 (1998).
25. Yu, K. W., Murthy, H. N., Jeong, C. S., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. : Organic germanium stimulate the growth of ginseng adventitious roots and ginsenoside production. *Process Biochem.* **40**, 2959-2961 (2005).
26. Sarret, G., Van Gronsveld, J., Manceau, A., Musso, M., D'Haen, J., Menthonnex, J. J. and Hazemann, J. L. : Accumulation forms of Zn and Pb in *Phaseolus vulgaris* in the presence and absence of EDTA. *Environ. Sci. Tehcnol.* **35**, 2854-2859 (2001).