



인공광원별 단삼의 생육특성 및 기능성 평가

최혜림¹ · 서지원² · 황명하³ · 이화일⁴ · 김명조^{5*} · 유창연^{6†}

Growth Characteristics and Functional Analysis of *Salvia miltiorrhiza* Bunge by Artificial Light Sources

Hye Lim Choi¹, Ji Won Seo², Myeong Ha Hwang³, Hwa Il Lee⁴, Myong Jo Kim^{5*} and Chang Yeon Yu^{6†}

ABSTRACT

Received: 2020 January 20
1st Revised: 2020 February 10
2nd Revised: 2020 April 1
3rd Revised: 2020 May 22
Accepted: 2020 May 22

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.

Background: *Salvia miltiorrhiza* Bunge has been used in traditional medicine. The type of light source has an effect on the growth properties and composition of functional compounds in plants. In this study, we analyzed the effects of different artificial light sources on the growth characteristics as well as antioxidant and antimicrobial activities of *S. miltiorrhiza*.

Methods and Results: Seedlings of *S. miltiorrhiza* were grown under various artificial light sources, including fluorescent light (FL), light emitting diode (LED), and microwave electrodeless light (MEL), for 8 weeks. Growth characteristics were the best in plants treated with MEL. DPPH scavenging activity of the shoot was more pronounced with the FL treatments, while the roots were more active in plants grown under single wavelength lights (i.e., blue and red LEDs). Among the different light source treatments, the blue LED resulted in a higher total phenolic content in the plants. Furthermore, growing plants growth under the red LED enhanced their total flavonoid content. Notably, the antimicrobial properties of plants varied significantly between light source treatments in this study. Except for *E. coli*, all the tested microorganisms were susceptible to the plant extracts.

Conclusions: The type of light source may be an important parameter for the enhancement of plant growth and functional compounds in *S. miltiorrhiza*.

Key Words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Growth Characterization, Light Source, Phenolic Compound

서 언

최근 전통적으로 사용되어 왔던 한방 약재는 합성 약품의 부작용에 대한 우려와 약재 가공 기술의 발달로 인해 꾸준히 수요가 증가하고 있다 (Choi *et al.*, 2006).

단삼 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge)은 한국, 중국, 일본 및 아시아 국가에서 심혈관 질환, 뇌혈관 질환, 간기능 장애, 신장 결핍 및 당뇨병 혈관 합병증을 치료하는데 널리 사용된 약용식물 중 하나이다 (Wu *et al.*, 2012). 꿀풀과 (Labiatae)

다년생 식물로 적삼, 대홍포, 활혈근, 자단삼이라 불리기도 하며, 주로 붉은 뿌리를 한약재로 이용한다 (Chang *et al.*, 2008).

한의학에서는 월경불순, 월경통, 산후통, 어혈성의 심부부 동통과 타박상, 피부발진, 불면증 등을 치료하는 약재로 사용되어져 왔으며, 항산화, 항염, 항암, 항균, 항당뇨 등의 생리 활성이 보고되어 있다 (Yang *et al.*, 2007). 단삼의 주요 성분으로는 salvianolic acid B, salvianolic acid A 등의 수용성 phenolic acid 화합물과 tanshinone, cryptotanshinone 등의

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

^{*}Co-Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6413 (E-mail) kimmjo@kangwon.ac.kr

¹강원대학교 생물자원과학과 석사 / Master's degree, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

²강원대학교 생물자원과학과 석사과정생 / Master student, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

³강원대학교 생물자원과학과 학사과정생 / Bachelor student, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

⁴강원대학교 생물자원과학과 교수 / Professor, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

⁵강원대학교 생물자원과학과 교수 / Professor, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

⁶강원대학교 생물자원과학과 교수 / Professor, Department of Bio-Resource Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea.

지용성 diterpene 화합물, 비타민 A, 비타민 E 등이 밝혀져 있다 (Cheng *et al.*, 2000; Kwag and Baek, 2003).

식물공장은 광, 온도, 습도, CO₂, 양분 등의 환경 조건을 조절하여 실내에서 식물을 재배하는 것을 말한다 (Park *et al.*, 2012). 최근 이상기후로 인하여 안정적인 식량 공급을 위해 국내외에서 식물공장에 대한 연구가 진행되고 있으며, 특히 식물과 광원에 대한 연구가 계속 진행되고 있다 (Im *et al.*, 2013).

다양한 환경 요인 중에서 광은 광합성의 주요 에너지원이면서, 신호 자극원으로 식물의 발달에 중요한 역할을 담당하고 (Wang *et al.*, 2009), 유식물체의 성장과 발육뿐만 아니라 품질과 이차대사산물 축적에 가장 큰 영향을 미치는 요인으로 알려져 있다 (Debergh *et al.*, 1992). 식물에 처리되는 광원의 종류에 따라 생육 특성, 이차대사산물 함량 및 생리활성 등이 변화한다는 연구가 보고되고 있으며 (Ryu *et al.*, 2012; Yoo *et al.*, 2017), 뿌리를 이용 부위로 하는 약용작물을 이용한 연구에서도 그 효과가 확인되었다 (Jeong *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2009).

현재 단삼은 노지재배를 위한 재식밀도나 피복재료 (Kim *et al.*, 2013), 잡초방제, 수확시기 (Seo *et al.*, 2015) 등 다양한 연구가 이루어졌으나 고부가가치의 단삼을 균일하게 생산하기 위하여 인공광원이 단삼의 생육특성 및 생리활성에 미치는 영향에 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 단삼의 인공광원 처리에 따른 생육 특성, 항산화 활성, 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항균 활성 검정을 통하여, 인공광원이 단삼의 생육 및 생리활성 변화에 미치는 영향을 조사하고자 진행되었다.

재료 및 방법

1. 재배 방법

본 연구에 사용된 단삼 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge)은 농촌진흥청 국립원예과학원 인삼특작부에서 60 일간 기른 모종을 분양받아 사용하였다. 평균 초장이 2.8 cm로 균일하게 자란 유식물체를 화분에 이식하고, 24 ± 3°C 조건의 실내 배양실에서 생육시켰다.

광원으로는 형광등 (23.80 μmol/m²·s)을 대조구로 사용하였으며, 적색 LED (634 nm, 22.10 μmol/m²·s), 청색 LED (454 nm, 13.68 μmol/m²·s), 녹색 LED (522 nm, 11.80 μmol/m²·s), MEL (52.30 μmol/m²·s, microwave electrodeless light, RFHIC Co., Anyang, South Korea)을 사용하였다 (Fig. 1). 가로 230 cm, 세로 90 cm의 배양대를 사용하였으며, 광량을 동일하게 처리하기 위해 조명 개수와 높이를 조절하였다. 광량은 배양대 바닥에서 측정하였을 때, 70 ± 5 μmol/m²·s가 되도록 설정하였고, 16 시간 광/8 시간 암 주기로 재배하였다.

2. 생육 특성 조사

광원 종류에 따른 생육 특성을 조사하기 위하여, 실내 배양실에서 8 주간 키운 단삼을 수확하여 초장, 엽장, 엽폭, 지상부 건물중, 뿌리길이, 지하부 건물중을 측정하였다.

3. 추출 및 농축

광원 처리한 단삼을 지상부와 지하부로 나누어 강제순환식 건열건조기 (VS-1202D4N, VISION Scientific Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 사용하여 60°C에서 3일간 건조하였다. 건조된 시료를 믹서기로 분쇄하여 100% methanol을 사용하여 상온에서 48시간 추출한 후 여과지 (Tokyu Roshi Kaisha., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 여과하였다. 추출물은 회전압축기 (EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 45°C에서 농축하였다. 농축물은 100% methanol을 이용하여 농도를 희석하였다.

4. DPPH 자유 라디칼 소거 활성 측정

DPPH 자유 라디칼 소거능은 Kedare와 Singh (2011)의 방법을 변형하여 이용하였다. Methanol을 사용하여 0.15 mM로 희석한 DPPH (α, α-diphenyl-β-picrylhydrazyl)를 사용하였다.

희석된 DPPH 용액과 각 농도별 샘플은 1:1 비율로 96 well plate에 함께 넣고 실온에서 암조건으로 30분간 반응시켰다. UV-spectrophotometer (Multiskan FC Microplate Photometer, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 519 nm에서 흡광도를 측정하였다. 자유 라디칼 소거능은 라디칼 활성을 50% 감소시키는 RC₅₀ (μg/ml) 값으로 나타내었다.

5. 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량 검정은 Sato 등 (1996)의 방법을 변형하여 이용하였다. 시료액 100 μl에 Folin-Ciocalteu's phenol을 넣어 5분 반응시키고, 증류수로 희석한 20% Na₂CO₃을 넣어 실온에서 15분 반응시켰다. UV spectrophotometer (Multiskan FC Microplate Photometer, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 740 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지표물질로는 gallic acid를 사용하고, gallic acid equivalents (GAE)로 값을 나타내었다.

6. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 이용하였다. 증류수를 이용하여 희석한 10% aluminum nitrate와 1 M potassium acetate를 1:1로 혼합한 용액 200 μl를 샘플 500 μl를 혼합하여 실온에서 40분간 반응시키고 414 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin을 사용하고, quercetin equivalents (QE)로 값을 나타내었다.

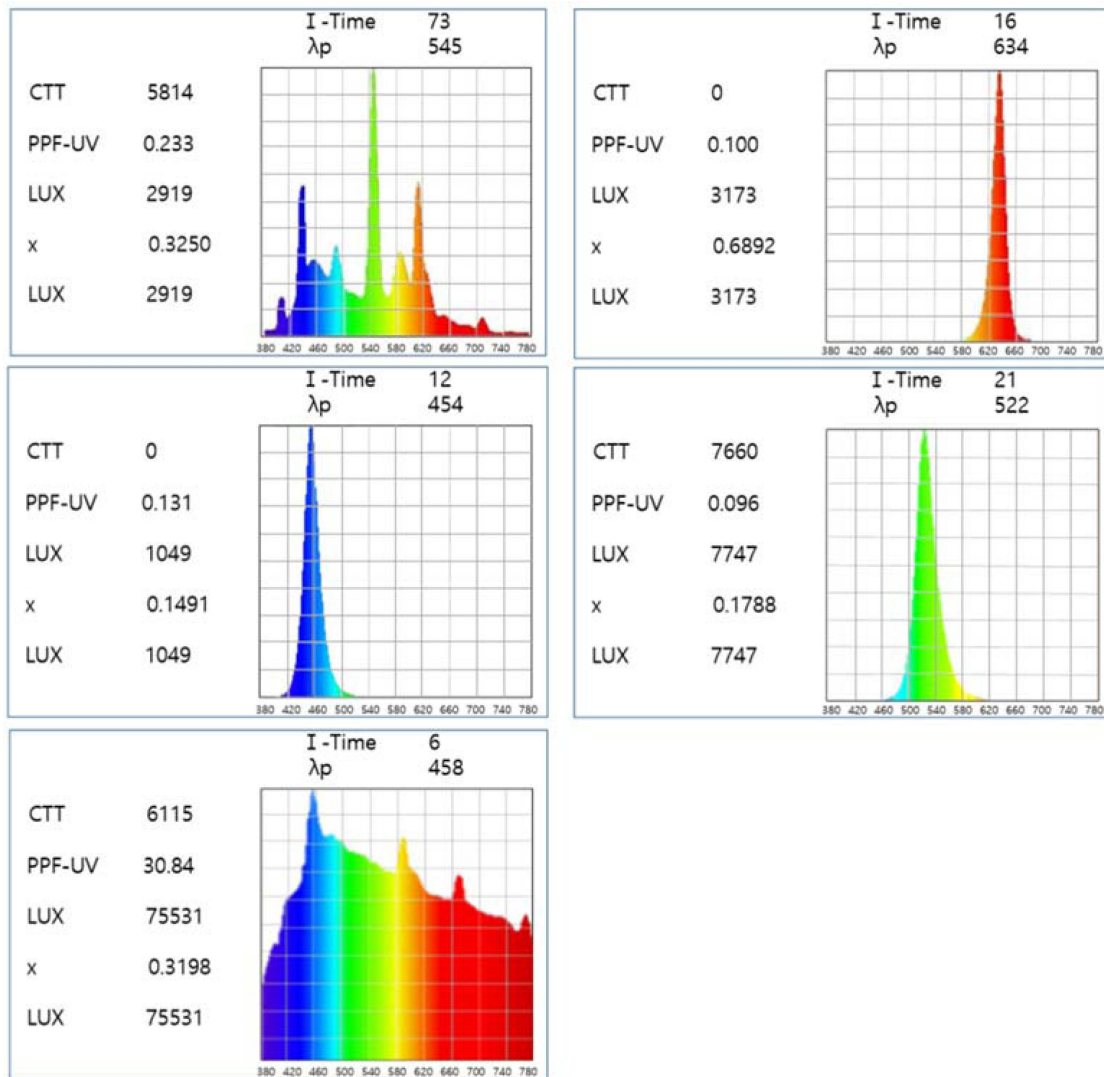


Fig. 1. Characteristics of Fluorescent light, LED (red, blue, green) and MEL.

7. 미생물 배양

Staphylococcus aureus (KCTC 1916), *Virgibacillus litoralis* (KCTC 13228), *Bacillus subtilis* (KCTC 1021), *Escherichia coli* (KCTC 1924), *Salmonella typhimurium* (KCTC 1925), *Pseudomonas aeruginosa* (KCTC 2742) 등 6 종류 미생물을 생물자원센터 (Korean Collection for Type Cultures, Jeongup, Korea)에서 분양받아 항미생물 활성을 검정하였다.

실험을 위해 LB액체배지 (bacto-tryptone 10 g/l, bacto-yeast 5 g/l, NaCl 10 g/l, pH 5.8; Duchefa Biochemie BV, Haarlem, Netherlands)를 이용하여 *Bacillus subtilis*는 30 °C, 그 외 균주는 37°C에서 미생물 생장을 유도하였다.

8. 미생물의 최소 저해 농도 (MIC) 활성

미생물의 최소 저해 농도 (minimum inhibitory concentration,

MIC)는 Kobayashi 등 (1993)의 방법을 이용하여 실험을 수행하였다. LB 액체배지를 이용하여 미생물 농도를 10^7 - 10^8 CFU/ml로 희석하여 투입하고, 샘플 농도는 7.8 - 1,000 μ g/ml가 되도록 96 well micro plate에 분주하였다. 30°C 및 37°C의 incubator에서 배양하였다. 양성대조군은 tetracycline을 사용하였다.

9. 디스크 확산분석법에 의한 미생물의 저해 활성

MIC 분석에서 억제 활성 보인 단삼의 뿌리 추출물을 이용하여 디스크 확산법을 이용한 미생물 저해 활성을 분석하였다 (Seo et al., 2016). 배양한 미생물을 10^7 - 10^8 CFU/ml로 희석하여 LB 고체배지에 100 μ l씩 도말한 후, paper disc를 올리고, 각 샘플 (100 mg/ml)을 20 μ l씩 흡수시켰다. 30°C 또는 37°C에서 배양하면서 생성된 clear zone을 측정하여 항균 활성 검정을 실시하였다.

10. 통계처리

모든 실험은 3 회 반복하였으며, 각 실험별 데이터의 통계 처리를 통한 유의성 검정을 위해 IBM SPSS Statistics v24 (SPSS, International Business Machines Co., Armonk, NY, USA) 프로그램을 사용하였다. 시료간의 유의적인 차이는 유의수준 0.05에서 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 검증하였다 ($p < 0.05$).

결과 및 고찰

1. 인공광원별 생육 특성

광원의 종류는 식물의 신장 및 잎의 크기, 중량 등에 영향을 미친다고 알려져 있다 (Wongnok *et al.*, 2008). 다양한 광원을 처리한 단삼 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge)의 생육특성을

조사한 결과, MEL 처리에서 지상부 생육이 가장 우수하였으며, 뿌리 역시 MEL 처리 시 가장 길고 굵었다 (Fig. 2).

MEL 처리에서 초장은 21.10 ± 1.30 cm 로 가장 컸으며, 엽장 또한 12.10 ± 0.40 cm 로 가장 우수한 생육을 나타냈다. 엽폭은 형광등, 적색광과 유의적인 차이를 보이지는 않았지만 건물중은 3.07 ± 0.19 g으로 가장 높았다. 뿌리길이는 형광등과 비교하였을 때 유의적인 차이는 없었지만, 뿌리의 건물중이 1.23 ± 0.11 g으로 지상부와 지하부 모두 우수한 생육을 보였다.

청색광 처리 시 초장은 12.50 ± 0.20 cm 로 가장 작았지만, 녹색광을 처리한 단삼의 엽장 (3.30 ± 0.30 cm), 엽폭 (2.00 ± 0.30 cm), 지상부의 건물중 (0.27 ± 0.04 g) 모두 가장 낮은 값을 나타내었다. 뿌리에서도 녹색 LED 처리 시 길이 6.8 ± 1.0 cm, 건물중 0.07 ± 0.01 g으로 가장 낮았다 (Table 1).



Fig. 2. Effect of artificial light sources on the growth of *S. miltiorrhiza* cultivated for 8 weeks. FL; fluorescent light (control), MEL; microwave electrodeless light.

Table 1. Growth characterization of *S. miltiorrhiza* cultivated for 8 weeks under the different light sources.

Light source	Aerial part				Underground part	
	Plant length (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Dry weight (g)	Root length (cm)	Dry weight (g)
FL ¹⁾	15.50 ± 0.50^b	7.40 ± 1.50^b	5.30 ± 1.10^a	2.28 ± 0.10^b	27.40 ± 1.60^a	0.96 ± 0.11^b
LED-Red	13.90 ± 1.50^b	7.70 ± 1.00^b	4.80 ± 0.60^a	0.85 ± 0.11^c	18.70 ± 2.40^b	0.33 ± 0.08^c
LED-Blue	10.50 ± 0.20^c	5.40 ± 0.90^c	3.30 ± 0.10^b	0.77 ± 0.13^c	16.50 ± 0.80^b	0.25 ± 0.11^c
LED-Green	13.20 ± 2.10^b	3.30 ± 0.30^d	2.00 ± 0.30^c	0.27 ± 0.04^d	6.80 ± 1.00^c	0.07 ± 0.01^d
MEL ²⁾	21.10 ± 1.30^a	12.10 ± 0.40^a	5.70 ± 0.50^a	3.07 ± 0.19^a	27.70 ± 3.10^a	1.23 ± 0.11^a

Data represent means $\pm$ S.D. of three independent experiments. ¹⁾FL; fluorescent light (control), ²⁾MEL; microwave electrodeless light. Data having the same letter in a column were not significantly differed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

청색광은 묘목생장 및 뿌리형성과 같은 영양생장을 억제한다는 연구결과가 보고되어져 있으며 (Kurilcik *et al.*, 2008), 녹색광은 식물의 생육, 생체중, 건물중에 부정적인 영향을 끼친다고 알려져 있다 (Son *et al.*, 2012). 태양광과 유사한 광원인 LEP 처리에서 황기의 생육특성이 가장 우수하였다는 연구결과가 보고되었으며 (Choi *et al.*, 2018), 광파장대의 영역이 다양한 형광등 처리에서 상추의 생육이 우수하였다는 연구결과도 보고되었다 (Park *et al.*, 2012). 이는 본 실험의 연구결과에서도 생육반응이 일치하는 경향을 보였다.

따라서 단삼은 특정 파장보다는 광범위한 파장 영역을 가진 광조건에서 생육이 우수한 것으로 사료되며, 녹색광에서 생육이 가장 저조한 것으로 사료된다.

2. DPPH free radical 소거 활성

DPPH free radical 소거능은 추출물의 농도를 25, 50, 100, 200, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 맞추어 RC_{50} 값으로 나타내어 비교하였다. 다양한 파장 영역을 가진 형광등과 MEL 처리 시, 지하부보다 지상부에서 더 높은 소거능이 나타났으며, 하나의 파장만을 가진 광 처리에서는 지상부보다 지하부에서 높은 소거능을 보임을 확인하였다.

지상부를 비교하였을 때는 형광등 처리에서 $64.75 \pm 8.89 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 활성이 좋았으며, 지하부에서는 청색광에서 $31.43 \pm 1.74 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소거능이 가장 높았지만, 녹색광 ($31.76 \pm 0.37 \mu\text{g}/\text{ml}$)과 적색광 ($37.05 \pm 0.41 \mu\text{g}/\text{ml}$)을 처리한 샘플과 큰 차이를 보이지 않았다 (Table 2). 형광등 처리 시 지상부에서는 활성이 높았던 반면, 지하부에서는 $782.67 \pm 13.47 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 활성이 낮았다.

Table 2. Effect of different light sources on DPPH free radical scavenging activity of *S. miltiorrhiza* cultivated for 8 weeks.

Light source	Plant parts	DPPH radical scavenging activity RC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
FL ¹⁾	Shoot	64.75 ± 8.89^b
	Root	782.67 ± 13.47^h
LED-Red	Shoot	483.09 ± 5.43^g
	Root	37.05 ± 0.41^a
LED-Blue	Shoot	336.92 ± 8.34^e
	Root	31.43 ± 1.74^a
LED-Green	Shoot	463.43 ± 2.00^f
	Root	31.76 ± 0.37^a
LED-MEL ²⁾	Shoot	154.69 ± 1.16^c
	Root	206.30 ± 10.88^d

Data represent means $\pm$ S.D. of three independent experiments. ¹⁾FL; fluorescent light (control), ²⁾MEL; microwave electrodeless light. Data having the same letter in a column were not significantly differed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

DPPH 소거법은 자유 라디칼 제거제 또는 수소 공여체로서 작용하는 화합물의 능력을 측정하고 항산화능을 평가하는 방법으로 사용된다 (Kedare and Singh, 2011). 들깨에 다양한 인공광원을 처리했을 때, LEP, 형광등, 백색, 청색, 적색, 녹색광 순으로 DPPH 활성이 우수하였다는 연구결과가 보고되었다 (Yoo *et al.*, 2017). 이는 본 연구에서 지상부의 DPPH 활성이 형광등, MEL, 청색, 녹색, 적색광 순으로 높은 결과와 유사한 경향을 보인다. 반면 지하부의 DPPH 활성은 청색, 녹색, 적색, MEL, 형광등 순으로 높은 것을 보아 항산화능이 높은 뿌리를 얻기 위해서는 단일 파장을 가진 광원을 이용하거나 보조적으로 사용하는 것이 효율적일 것으로 사료된다.

3. 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

지상부의 총 페놀 함량은 청색광에서 $104.20 \pm 1.34 \text{ mg} \cdot \text{GAE}/\text{g}$ 으로 가장 높은 반면, 녹색광 처리에서 $29.40 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{GAE}/\text{g}$ 으로 가장 낮게 측정되었다. 지하부에서도 청색광 처리에서 $186.21 \pm 2.31 \text{ mg} \cdot \text{GAE}/\text{g}$ 으로 가장 높았고 형광등 처리에서 $132.90 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{GAE}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 지상부에서는 적색과 녹색광에서 총 페놀 함량이 낮게 측정된 반면, 지하부에서는 형광등이나 MEL 처리보다 높게 측정되었다.

지상부의 총 플라보노이드 함량은 적색광에서 $28.66 \pm 1.60 \text{ mg} \cdot \text{QE}/\text{g}$ 으로 가장 높았고, 녹색광에서 $13.51 \pm 1.10 \text{ mg} \cdot \text{QE}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 지하부에서는 녹색광 처리에서 $9.65 \pm 1.15 \text{ mg} \cdot \text{QE}/\text{g}$ 으로 가장 높은 반면, MEL 처리에서 $7.53 \pm 0.45 \text{ mg} \cdot \text{QE}/\text{g}$ 으로 가장 낮았다. 총 플라보노이드 함량은 지하부보다

Table 3. Total phenol and total flavonoid contents of *S. miltiorrhiza* cultivated for 8 weeks grown under different light sources.

Light source	Plant parts	Total phenol content ($\text{mg} \cdot \text{GAE}^{1)/\text{g}}$	Total flavonoid content ($\text{mg} \cdot \text{QE}^{2)/\text{g}}$
FL ³⁾	Shoot	97.17 ± 1.02^g	22.67 ± 1.22^b
	Root	132.90 ± 1.12^e	9.00 ± 1.19^e
LED-Red	Shoot	31.82 ± 0.78^h	28.66 ± 1.60^a
	Root	165.28 ± 0.12^c	16.18 ± 1.35^c
LED-Blue	Shoot	104.20 ± 1.34^f	22.23 ± 1.43^b
	Root	186.21 ± 2.31^a	9.66 ± 0.95^e
LED-Green	Shoot	29.40 ± 0.22^i	13.51 ± 1.10^d
	Root	179.66 ± 2.83^b	9.65 ± 1.15^e
MEL ⁴⁾	Shoot	103.97 ± 0.43^f	21.50 ± 1.32^b
	Root	137.17 ± 1.02^d	7.53 ± 0.45^e

Data represent means $\pm$ S.D. of three independent experiments. ¹⁾GAE; gallic acid equivalent, ²⁾QE; quercetin equivalent, ³⁾FL; fluorescent light (control), ⁴⁾MEL; microwave electrodeless light. Data having the same letter in a column were not significantly differed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

지상부에서 높은 함량을 나타냈다 (Table 3).

페놀 화합물은 식물체에 널리 분포하는 이차대사산물로 항산화, 항암, 항균, 항알레르기 등 다양한 생리활성을 갖는다. 특히 페놀 화합물에 속하는 플라보노이드는 항산화, 항염증, 세포분열 억제, 세포의 산화 환원 조절에 기여한다고 알려져 있다 (Rice-Evans, 2001; Cho *et al.*, 2017). 단삼의 잎과 뿌리는 페놀 성분이 풍부하고 높은 항산화능을 갖는다고 알려져 있다 (Zhang *et al.*, 2010). 상추에 광원을 처리하였을 때, 청색광에서 총 페놀 함량이 가장 높았으며, 녹색광에서 가장 낮은 함량을 보였다 (Son *et al.*, 2012). 지황에 인공광원을 처리하여 잎과 뿌리의 페놀 함량을 측정하였을 때, 청색, 적색, 형광등 순으로 총 페놀 함량이 높게 나타났으며, 플라보노이드 함량은 적색, 청색, 형광등 순으로 높게 나타났다 (Manivannan *et al.*, 2015). 이러한 결과는 본 실험 결과와 유사한 경향을 보였다.

따라서 청색광은 단삼의 지상부와 지하부 모두에서 총 페놀 함량을 증가시키는데 효과적인 것으로 사료되며, 청색광과 적색광을 함께 사용하면 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 증가에 효과적일 것으로 생각된다.

4. 항미생물 활성

MIC법을 이용하여 6 종류 미생물에 대해 항미생물 활성을 분석하였다. 지상부 추출물에서는 저해능이 나타나지 않았지만, 뿌리 추출물에서는 6 종류의 미생물 모두에 대해서 최소 저해능을 나타냈다.

V. litoralis, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*에 대해서는 모든 광 처리한 뿌리 추출물에서 16 µg/ml 이하의 농도에서 최

소 저해능이 있는 것으로 확인되었다. *S. aureus*에 대해서는 MEL을 처리한 추출물에서는 8 µg/ml 이하, 다른 광처리에서는 모두 16 µg/ml 이하의 농도에서 최소 저해능을 보였다. *B. subtilis*에 대해서는 대조구로 사용된 형광등 처리에서 63 µg/ml 이하, 다른 광처리에서는 모두 31 µg/ml 이하에서 최소 저해능을 보였다. *E. coli*에 대해서는 모든 추출물에서 8 µg/ml 이하에서 최소 저해능을 보임을 확인하였다 (Table 4).

항미생물 활성이 1 차적으로 나타난 뿌리 추출물을 사용하여 6 종류의 미생물에 대해 paper disc를 이용하여 clear zone을 측정하여 관찰하였다 (Fig. 3). Clear zone 측정 결과, *S. aureus*에 대해서는 청색광을 처리한 샘플에서 12.7±0.6 mm로 가장 컸으며, 형광등 처리한 샘플에서 9.7±0.6 mm로 가장 작게 나타났다. *V. litoralis*와 *B. subtilis*에 대해서는 각각 녹색광 처리에서 6.7±1.2 mm, 적색광 처리에서 4.3±1.5 mm로 가장 크게 측정되었지만 다른 광처리 샘플들과 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. *E. coli*에 대해서는 양성대조군인 tetracycline보다 모든 단삼 샘플에서 더 큰 clear zone이 측정되었다. 그 중에서도 특히 다양한 과장 영역을 가진 형광등 (11.0±1.0 mm)과 MEL (10.3±0.6 mm)을 처리한 샘플에서 저해 활성이 더 높은 것으로 확인되었다. *S. typhimurium*에 대해서는 단색과장인 적색광과 녹색광에서 4.0±1.0 mm로 가장 컸으며, 청색광에서도 3.7±1.5 mm로 높은 값을 보였다. *P. aeruginosa*에 대해서는 양성대조군과 적색광 처리에서 4.7±0.6 mm로 동일하게 높은 값을 보였고, 청색광 처리에서 3.0±0.0 mm로 가장 낮게 측정되었다 (Table 5).

단삼은 *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* 등 다양한 미생물

Table 4. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) in the extract of *S. miltiorrhiza* cultivated for 8 weeks grown under different light sources.

Light source	Plant parts	Minimal inhibitory concentration (µg/ml)					
		<i>S. aureus</i> (+)	<i>V. litoralis</i> (+)	<i>B. subtilis</i> (-)	<i>E. coli</i> (-)	<i>S. typhimurium</i> (-)	<i>P. aeruginosa</i> (-)
FL ²⁾	Shoot	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND	ND
	Root	<16	<16	<63	<8	<16	<16
LED-Red	Shoot	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Root	<16	<16	<31	<8	<16	<16
LED-Blue	Shoot	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Root	<16	<16	<31	<8	<16	<16
LED-Green	Shoot	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Root	<16	<16	<16	<8	<16	<16
MEL ³⁾	Shoot	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Root	<8	<16	<31	<8	<16	<16
Tetracycline		8	8	8	8	8	8

The MIC values against bacteria were determined by the serial 2-fold dilution method. ¹⁾ND; not detected. ²⁾FL; fluorescent light (control), ³⁾MEL; microwave electrodeless light.

Table 5. The effect of light quality on antimicrobial activity of *S. miltiorrhiza*.

Light source	Concentration (mg/ml)	Inhibitory zone (mm)					
		<i>S. aureus</i> (+)	<i>V. litoralis</i> (+)	<i>B. subtilis</i> (-)	<i>E. coli</i> (-)	<i>S. typhimurium</i> (-)	<i>P. aeruginosa</i> (-)
FL ¹⁾	100	9.3±0.6 ^c	5.7±0.6 ^a	3.7±0.6 ^a	11.0±1.0 ^a	1.7±0.6 ^b	3.7±0.6 ^{bc}
LED-Red	100	9.7±0.6 ^c	6.3±1.5 ^a	4.3±1.5 ^a	6.3±1.5 ^d	4.0±1.0 ^a	4.7±0.6 ^a
LED-Blue	100	12.7±0.6 ^a	6.3±1.5 ^a	3.7±1.2 ^a	7.0±1.0 ^{cd}	3.7±1.5 ^a	3.0±0.0 ^c
LED-Green	100	11.3±0.6 ^b	6.7±1.2 ^a	3.0±1.0 ^a	8.7±0.6 ^{bc}	4.0±1.0 ^a	3.7±0.6 ^{bc}
MEL ²⁾	100	10.0±1.0 ^c	6.3±1.2 ^a	3.7±0.6 ^a	10.3±0.6 ^{ab}	2.3±0.6 ^b	4.0±0.0 ^{ab}
PC ³⁾	100	15.0±1.0	8.0±1.0	8.7±0.6	6.0±1.0	9.3±0.6	4.7±0.6
NC ⁴⁾	-	2.3±0.6	1.7±0.6	2.7±0.6	3.3±0.6	2.0±1.0	2.7±0.6

¹⁾FL; fluorescent light (control), ²⁾MEL; microwave electrodeless light, ³⁾PC; tetracycline (positive control), ⁴⁾NC; 100% MeOH (negative control). Data having the same letter in a column were not significantly differed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

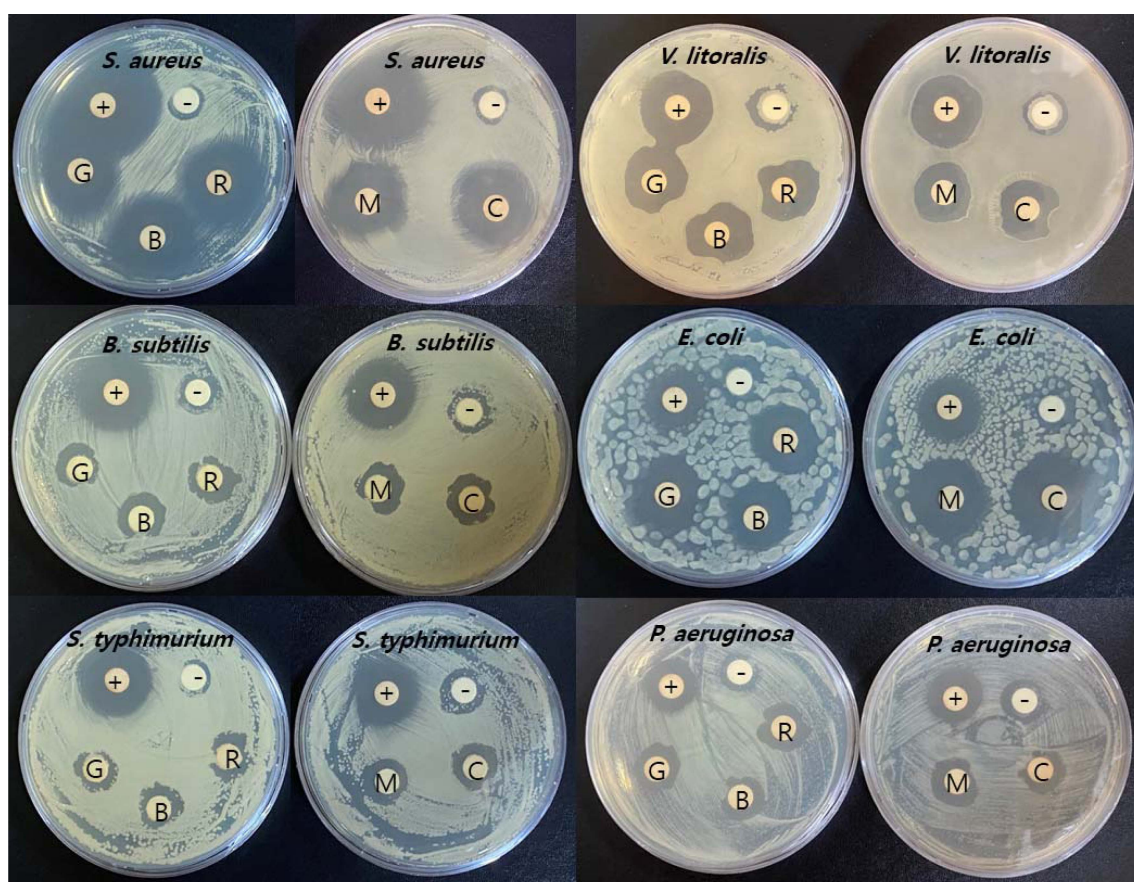


Fig. 3. The effect of artificial light sources on antimicrobial activity of *S. miltiorrhiza* cultivated for 8 weeks using disc diffusion method. +; tetracycline (positive control), -; 100% MeOH (negative control), C; fluorescent light (control), R; LED-red, B; LED-blue, G; LED-green, M; microwave electrodeless light (MEL).

대하여 항균활성을 지니고 있다는 연구결과가 많이 보고되어 있다 (Mok *et al.*, 1995; Choi, 2009). 이처럼 단삼은 항균활성이 우수한 약용식물로 많은 연구가 이루어져 있지만, 광원 처리가 식물의 항균활성에 영향을 준다는 연구결과는 전무한

실정이다. 본 실험결과를 통하여 다양한 광원처리는 식물의 항균활성에도 영향을 주는 것으로 사료되며, 특히 *E. coli*를 제외한 5 종류의 미생물활성은 단일 파장을 가진 광 조건에서 더 뛰어난 항균활성을 보임을 확인하였다.

본 실험의 연구결과를 통하여 다양한 인공광원 처리가 식물의 생육 및 생리활성에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 단삼의 생육 증가에는 다양한 파장 영역을 지닌 태양광과 가장 유사한 MEL에서 가장 우수하였으며, DPPH free radical 소거능, 총 페놀, 총 플라보노이드 함량, 항미생물 검정 결과에서도 광원 종류에 따라 활성의 변화를 확인하였다. 따라서 기능성 물질이 증가된 단삼을 대량으로 생산하기 위해서 인공광원을 보광으로 사용할 수 있을 것이라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2019년 대학혁신지원사업, 강원대학교 한방바이오연구소 및 ㈜RFHC의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Chang BY, Oh BR, Sohn DH and Kim SY. (2008). Single oral toxicity study on the standardized extract of *Salvia miltiorrhiza*. Korean Journal of Pharmacognosy. 39:352-356.
- Cheng GC, Lee JY, Kim DC, Suh SO and Hwang WI. (2000). Inhibitory effect of *Salvia miltiorrhiza* extract on growth of some cancer cells. Korean Journal of Food And Nutrition. 29:726-731.
- Cho JJ, Kim HS, Kim CH and Cho SJ. (2017). Interaction with polyphenols and antibiotics. Journal of Life Science. 27:476-481.
- Choi HY. (2009). Antimicrobial activity of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extract and its effects on quality characteristics in Sulgidduk. Korean Journal of Food and Nutrition. 22:321-331.
- Choi JH, Seong ES, Yoo JH, Choi SK, Lee JG, Lim JD, Na JK and Yu CY. (2018). Enhancement of growth characteristics and biological activities in *Astragalus membranaceus* using artificial light sources. Russian Journal of Plant Physiology. 65:732-739.
- Choi SY, Cho HS and Sung NJ. (2006). The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape(*Vitis coignetiea*) skin. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 35:961-966.
- Debergh P, Aitken-Christie J, Cohen D, Grout B, Von Arnold S, Zimmerman R and Ziv M. (1992). Reconsideration of the term 'vitricification' as used in micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 30:135-140.
- Im JU, Yoon YC, Seo KW, Kim KH, Moon AK and Kim HT. (2013). Effect of LED light wavelength on Chrysanthemum growth. Protected Horticulture and Plant Factory. 22:49-54.
- Jeong JH, Kim YS, Moon HK, Hwang SJ and Choi YE. (2009). Effects of LED on growth, morphogenesis and eleutheroside contents of *in vitro* cultured plantlets of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:39-45.
- Kedare SB and Singh RP. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of Food Science and Technology. 48:412-422.
- Kim MJ, Li X, Han JS, Lee SE and Choi JE. (2009). Effect of blue and red LED irradiation on growth characteristics and saponin contents in *Panax ginseng* C.A. Meyer. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:187-191.
- Kim YG, Yeo JH, Han SH, Hur M, Lee YS and Park CB. (2013). Characteristics of growth and yield by planting density and mulching materials in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 21:179-183.
- Kobayashi A, Koguchi Y, Takahashi S, Kanzaki H and Kawazu K. (1993). ST-1, a novel radical scavenger from fungus F-124. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 57:1034-1046.
- Kurilčik A, Miklušytė-Čanova R, Dapkūnienė S, Žilinskaitė S, Kurilčik G, Tamulaitis G, Duchovskis P and Žukauskas A. (2008). *In vitro* culture of *Chrysanthemum* plantlets using light-emitting diodes. Central European Journal of Biology. 3:161-167.
- Kwag JS and Baek SH. (2003). Cytotoxicity and antimicrobial effects of extracts from *Salvia miltiorrhiza*. Korean Journal of Pharmacognosy. 34:293-296.
- Manivannan A, Soundararajan P, Halimah N, Ko CH and Jeong BR. (2015). Blue LED light enhances growth, phytochemical contents, and antioxidant enzyme activities of *Rehmannia glutinosa* cultured *in vitro*. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 56:105-113.
- Mok JS, Kim YM, Kim SH and Chang DS. (1995). Antimicrobial property of the ethanol extract from *Salvia miltiorrhiza*. Journal of Food Hygiene and Safety. 10:23-28.
- 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 JE, Park YG, Jeong BR and Hwang SJ. (2012). Growth and anthocyanin content of lettuce as affected by artificial light source and photoperiod in a closed-type plant production system. Korean Journal of Horticultural Science and Technology. 30: 673-679.
- Rice-Evans C. (2001). Flavonoid antioxidants. Current Medicinal Chemistry. 8:797-807.
- Ryu JH, Seo KS, Kuk YI, Moon JH, Ma KH, Choi SK, Rha ES, Lee SC and Bae CH. (2012). Effects of LED(light-emitting diode) treatment on antioxidant activities and functional components in *Taraxacum officinale*. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 20:165-170.
- 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.
- Seo GE, Kim SM, Pyo BS and Yang SA. (2016). Antioxidant activity and antimicrobial effect for foodborne pathogens from extract and fractions of *Sanguisorba officinalis* L. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 24:303-308.
- Seo YJ, Kim JS, Kim SH, Kim MY, Jeong YJ, Seong GU and Chung SK. (2015). Effect of temperature on photosynthetic capacity and influence of harvesting time on quality of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Korean Journal of Food Preservation.

22:804-810.

- Son KH, Park JH, Kim DI and Oh MM.** (2012). Leaf shape index, growth, and phytochemicals in two leaf lettuce cultivars grown under monochromatic light-emitting diodes. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*. 30:664-672.
- Wang H, Gu M, Cui J, Shi K, Zhou Y and Yu J.** (2009). Effects of light quality on CO₂ assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 96:30-37.
- Wongnok A, Piluek C, Techasilpitak T and Tantivivat S.** (2008). Effects of light emitting diodes on micropropagation of *Phalaenopsis* orchids. *International Workshop on Ornamental Plants*. 788:149-156.
- Wu W, Zhu Y, Zhang L, Yang R and Zhou Y.** (2012). Extraction, preliminary structural characterization, and antioxidant activities of polysaccharides from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Carbohydrate Polymers*. 87:1348-1353.
- Yang SA, Im NK and Lee IS.** (2007). Effects of methanolic extract from *Salvia miltiorrhiza* Bunge on *in vitro* anti-thrombotic and antioxidative activities. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 39:83-87.
- Yoo JH, Choi JH, Kang BJ, Jeon MR, Lee CO, Kim CH, Seong ES, Heo K, Yu CY and Choi SK.** (2017). Antioxidant and tyrosinase inhibition activity promoting effects of Perilla by the light emitting plasma. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 25:37-44.
- Zhang Y, Li X and Wang Z.** (2010). Antioxidant activities of leaf extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and related phenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*. 48:2656-2662.