대한한의학회지 제41권 제2호(2020년 6월)
J Korean Med. 2020;41(2):*1-8*
http://dx.doi.org/10.13048/jkm.20010
pISSN 1010-0695 • eISSN 2288-3339

Original Article

미생물에 대한 항균효과를 이용한 한약 전탕팩의 유효기한 연구

하혜경[1], 최순용[2], 서창섭[1], 이나리[1], 신현규[1*]

[1]한국한의학연구원 한약연구부, [2]한남대학교 생명나노과학대학 생명시스템과학과

Establishment of the Expiration Date of Herbal Formula Decoction Pouch by Antimicrobial Activities Against Microorganisms

Hyekyung Ha[1], Soon-Yong Choi[2], Chang-Seob Seo[1], Nari Lee[1], Hyeun-Kyoo Shin[1*]

[1]Herbal Medicine Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine
[2]Dept. of Biological Sciences and Biotechnology, Hannam University

Objectives: To establish the expiration date of herbal decoction pouch, the change in antimicrobial activities was measured according to storage temperature and period.
Methods: Five herbal formulas, *Gyeji-tang*, *Jakyakgamcho-tang*, *Saengmaek-san*, *Paljung-san*, and *Dangguisu-san*, with antimicrobial activity were selected from 51 herbal formulas commonly used in traditional Korean medical institutions. Five herbal formula decoction pouches were prepared and stored at room temperature (RT) or 4℃ from 0 to 12 weeks to evaluate the antimicrobial activity against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, or *Vibrio parahaemolyticus*. The antimicrobial activities were evaluated by the disk diffusion method (disk size: 10 mm).
Results: The decoction pouches of *Gyeji-tang* and *Jakyakgamcho-tang* maintained antimicrobial activity against *V. parahaemolyticus* from week 0 (14 mm) to week 12 (14 mm) at both temperatures. *Saengmaek-san* pouch had antimicrobial activities against *V. parahaemolyticus* and *B. cereus* from week 0 (19 mm and 20 mm) to week 12 (both 18 mm), respectively. At RT and 4℃, the antimicrobial activity of *Paljung-san* pouch was maintained week 0 (17 mm) to week 12 (both 13 mm) against *B. cereus*. Against *L. monocytogenes*, the antimicrobial activity of *Dangguisu-san* pouch showed 27 mm at week 0 and 23 mm (RT) and 24 mm (4℃) at week 12, respectively.
Conclusion: According to increase of the storage duration, the antimicrobial activities of 5 herbal formula decoction pouches decreased slightly but remained up to 12 weeks. These results can be used as important data to establish the expiration date of herbal formula decoction pouches.

Key Words *: herbal formula, decoction pouch, expiration date, antimicrobial activity*

서 론

한약은 각 질환에 따라 효과를 높이기 위해 환제, 산제, 전탕액 등 여러 제형으로 투여되고 있다. 이중 전탕액은 한방의료기관에서 가장 많이 투여하는 방식이며, 수용액 상태로 흡수가 빠른 반면 제형의 특성상 안정성이 떨어지며, 유효기한에 대한 명확한 기준이 없는 실정이다[1]. 한의계에서는 통상적으로 한약 전탕팩의 유효기한에 대한 환자들의 문의에 2개월, 3개월 혹은 6개월로 답변하고 있다[2].

따라서 한약 복약지도 정보들 중 한약 전탕액의 보관 및 유효기한에 대하여 과학적 근거를 마련하기

• Received : 6 March 2020 • Revised : 24 April 2020 • Accepted : 8 May 2020
• Correspondence to : 신현규 (Hyeun-Kyoo Shin)
대전광역시 유성구 유성대로 1672 한국한의학연구원 한약연구부
Tel : +82-42-868-9464, Fax : +82-42-864-2120, E-mail : hkshin@kiom.re.kr

위한 여러 연구가 진행되었으며, 연구 방법은 크게 세 가지로 나눌 수 있다. 1) 한약처방 전탕액 내 한약재 지표성분 함량을 기준으로 보관 온도 및 기간에 따른 지표성분의 함량 변화를 비교하는 정량적 연구[1,3], 2) 통계적으로 유효기한을 예측하는 연구[4-6], 3) 한약처방의 유효성을 기준으로 항균, 진통, 항염, 항산화 등의 활성 효과를 이용한 유효기한 연구이다[7,8].

이처럼 한약 유효기한을 제시한 다양한 방법의 기존 연구들 중에서, 항균효과를 기준으로 한 유효기한이 비교적 짧게 보고되어 있었다. 이에 본 연구자들은 한방의료기관에서 다빈도로 처방되는 51종의 한약처방을 대상으로 10종 미생물 균주에 대한 항균활성을 평가한 선행 연구 결과[9]를 바탕으로 농도 의존적으로 항균 활성이 증가되는 유효 한약처방 5종 (계지탕, 작약감초탕, 생맥산, 팔정산, 당귀수산)을 선정하여 본 실험에 적용하였다. 5종의 한약처방 전탕팩을 제조하여 상온 (23±1℃)과 냉장 (4±1℃)의 보관온도에서 보관 기간별 시료를 사용하여 미생물에 대한 항균 효과를 관찰하였으며 이를 기준으로 한약 전탕팩의 유효기한을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 한약처방 선정 및 시료 제조

계지탕, 작약감초탕, 생맥산, 팔정산, 당귀수산 등 5종 한약처방의 구성약재 및 양은 각 한의서의 기원에 따른 비율로 제조하였으며 각 처방의 구성약재 양은 Table 1에 나타내었다. 5종의 처방 (계지탕과 팔정산 각 4 kg, 작약감초탕, 생맥산 및 당귀수산 각 2 kg)에 대하여 약 10배수의 물을 넣어 100℃에서 2시간 동안 초고속 진공 저온 추출기 (COSMOS-660, Kyungseo E&P, Incheon, Korea)를 이용하여 추출한 후, 추출액을 약 2 L로 농축하여 30 mL씩 파우치 포장한 후 상온 (23±1℃)과 냉장 (4±1℃)에 각각 보관하였다. 각 처방의 농축 전탕액에 대한 동결건조 추출물 파우더에 해당되는 농도는 계지탕 400 mg/mL, 팔정산 200 mg/mL, 당귀수산 160 mg/mL, 생맥산 170 mg/mL 그리고 작약감초탕 290 mg/mL로 산출되었다. 전탕팩을 제조한 당일 (0 W) 시료는 곧바로 항균실험에 적용하였고, 나머지 시료들은 모두 상온 (23±1℃) 또는 냉장 (4±1℃) 상태에서 보관하였으며, 상온 및 냉장 조건으로 12주차 (12 W)까지 매주 항균활성을 관찰하였다.

2. 실험균주 및 배양 조건

실험에 사용한 그람양성균주인 *Bacillus cereus*와 *Listeria monocytogenes,* 그리고 그람음성균주인 *Vibrio parahaemolyticus*는 한국미생물보존센터 (Korean Culture Center of Microorganisms; KCCM, Seoul, Korea)에서 구입한 후, 한남대학교 미생물 유전학교실에서 보관하여 사용하였다. *B. cereus*는 Nutrient Broth 배지를 사용하여 유산소, 30℃, *L. monocytogenes*는 Brain Heart Infusion Broth 배지를 사용하여 유산소, 37℃, 그리고 *V. parahaemolyticus*는 3%의 NaCl을 함유하는 Nutrient Broth 배지를 사용하여 유산소, 37℃의 조건하에서 각각 배양하였다.

3. 항균 활성의 평가 (디스크 확산법)

이전의 연구결과[9]를 바탕으로 계지탕과 작약감초탕은 *V. parahaemolyticus*에 대해서, 생맥산은 *V. parahaemolyticus*와 *B. cereus*, 팔정산은 *B. cereus,* 당귀수산은 *L. monocytogenes*에 대해서 전탕팩의 보관방법 및 보관기간에 따른 항균활성을 평가하였다. 항균활성의 평가에는 디스크 확산법을 사용하였으며, 간단히 서술하면 다음과 같다. 각 배양 조건에서 16시간 배양된 균주를 새로운 배지에 10배로 희석한 후 100 μL를 해당 평판배지에 균일하게 도말하였다. 이후 직경 10 mm의 멸균된 filter paper disc를 평판배지 중앙에 올려놓았으며, 각 보관 시기에 해당 한약처방 전탕팩을 개봉하여 전탕액 100 μl씩을 디스크에 흡착시킨 후 각 균주별 배양 조건에서 배양하

Table 1. The contents (g) of herbal medicines in herbal formulas

생약명	Latin name	Scientific name	*Gyeji-tang*	*Jakyakgamcho-tang*	*Saengmaek-san*	*Paljung-san*	*Dangguisu-san*
계지 (桂枝)	Cinnamomi Ramulus	*Cinnamomum cassia* Presl	1500.0				
작약 (芍藥)	Paeoniae Radix	*Paeonia lactiflora* Pallas	1000.0	1333.3			246.9
감초 (甘草)	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	*Glycyrrhiza uralensis* Fischer	500.0	666.7		444.4	123.5
생강 (生薑)	Zingiberis Rhizoma Recens	*Zingiber officinale* Roscoe	500.0				
대추 (大棗)	Zizyphi Fructus	*Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis* Rehder	500.0				
맥문동 (麥門冬)	Liriopis seu Ophiopogonis Tuber	*Liriope platyphylla* Wang et Tang			1000.0		
인삼 (人蔘)	Ginseng Radix	*Panax ginseng* C. A. Meyer			500.0		
오미자 (五味子)	Schisandrae Fructus	*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baillon			500.0		
대황 (大黃)	Rhei Radix et Rhizoma	*Rheum palmatum* Linné				444.4	
목통 (木通)	Akebiae Caulis	*Akebia quinata* Decaisne				444.4	
구맥 (瞿麥)	Dianthi Herba	*Dianthus superbus* var. *longicalycinus* Williams				444.4	
편축 (萹蓄)	Polygoni Avicularis Herba	*Polygonum aviculare* Linné				444.4	
활석 (滑石)	Talcum					444.4	
치자 (梔子)	Gardeniae Fructus	*Gardenia jasminoides* Ellis				444.4	
차전자 (車前子)	Plantaginis Semen	*Plantago asiatica* Linné				444.4	
등심초 (燈心草)	Junci Medulla	*Juncus effusus* Linné				444.4	
당귀 (當歸)	Angelicae Gigantis Radix	*Angelica gigas* Nakai					370.4
오약 (烏藥)	Linderae Radix	*Lindera strichnifolia* Fernandez- Villar					246.9
향부자 (香附子)	Cyperi Rhizoma	*Cyperus rotundus* Linné					246.9
소목 (蘇木)	Sappan Lignum	*Caesalpinia sappan* Linné					246.9
홍화 (紅花)	Carthami Flos	*Carthamus tinctorius* Linné					197.5
도인 (桃仁)	Persicae Semen	*Prunus persica* Batsch					172.8
육계 (肉桂)	Cinnamomi Cortex	*Cinnamomum cassia* Presl					148.1
Total (g)			4000	2000	2000	4000	2000

였다. 각 한약처방 전탕액 제조 후 일부를 동결 건조한 것으로 추출물 분말의 수득율을 산출하였기 때문에 디스크에 처리된 5개 처방의 농도를 모두 일정하게 맞추어 실험을 수행할 수는 없었으며, 동결건조 분말 제조 후 산출된 각 처방의 디스크당 농도는 계지탕 40 mg/disc, 팔정산 20 mg/disc, 당귀수산 16 mg/disc, 생맥산 17 mg/disc 그리고 작약감초탕 29 mg/disc 였다. 24시간 배양 후 균주의 생장이 억제되어 형성된 억제환 (clear zone)의 크기 (직경, mm)를 측정하여 각 보관 온도 및 기간에 따른 항균활성의 변화를 비교하였다.

실험결과

1. 계지탕 전탕팩의 보관 조건에 따른 항균 활성 변화

*V. parahaemolyticus*에 대한 계지탕 전탕팩의 항균활성을 관찰한 결과, 제조 당일 (0 W)에 억제환이 14 mm로 측정되었고, 이는 상온 및 냉장에서 2주차까지 유지되었으나 3주차부터는 13 mm로 감소하였다. 이후 8주차까지 억제환의 크기가 13 mm로 유지되었고, 9주차부터 12주차까지는 다시 14 mm로 증가되었다. 상온이나 냉장 보관 모두 같은 보관 기간에서는 동일한 억제환의 크기를 나타냈다 (Fig. 1A).

2. 작약감초탕 전탕팩의 보관 조건에 따른 항균 활성 변화

*V. parahaemolyticus*에 대한 작약감초탕 전탕팩의 항균활성을 관찰한 결과, 제조 당일 (0 W)에 억제환이 14 mm로 측정되었고, 이는 상온 및 냉장에서 1주차까지 유지되었으나 2주차부터는 13 mm로 감소하였다. 이후 5주차부터는 12주차까지는 다시 억제환의 크기가 14 mm로 증가되었다. 상온이나 냉장 보관 모두 같은 보관 기간에서는 동일한 억제환의 크기를 나타냈다 (Fig. 1B).

3. 생맥산 전탕팩의 보관 조건에 따른 항균 활성 변화

*V. parahaemolyticus*에 대한 생맥산 전탕팩의 항균활성을 관찰한 결과, 제조 당일 (0 W)에 억제환이

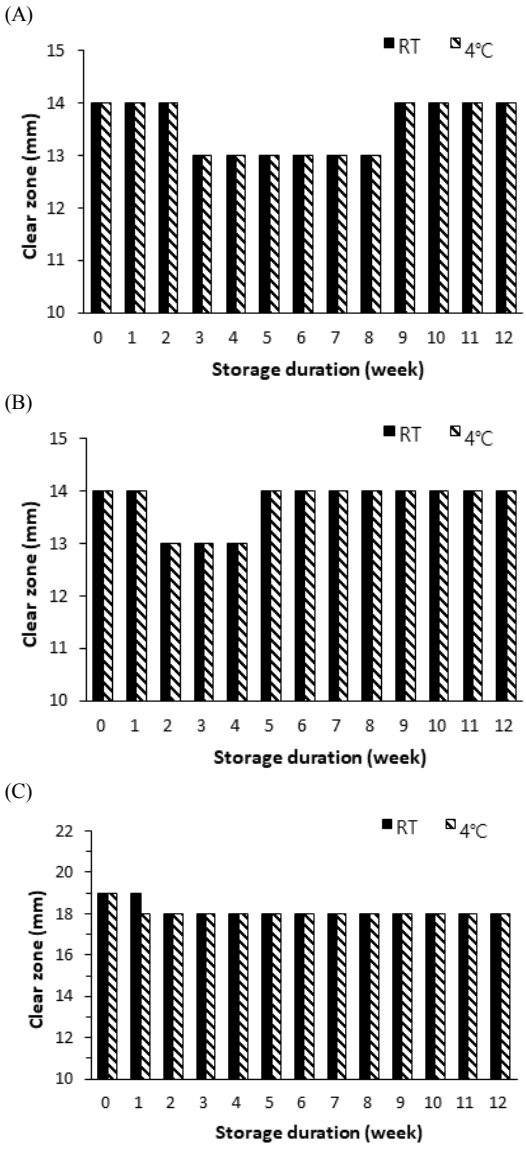

Fig. 1. Changes of antimicrobial activity against *Vibrio parahaemolyticus* according to storage temperature and duration of decoction pouch of *Gyeji-tang* (A), *Jakyakgamcho-tang* (B), and *Saengmaek-san* (C). RT: room temperature

19 mm로 측정되었고, 이는 상온 및 냉장에서 1주차까지 유지되었으나 2주차부터는 18 mm로 감소하였으며 12주차까지 유지되었다. 상온이나 냉장 보관 모두 같은 보관 기간에서는 동일한 억제환의 크기를 나타냈다 (Fig. 1C).

*B. cereus*에 대한 생맥산 전탕팩의 항균활성을 관찰한 결과, 제조 당일 (0 W)에 억제환이 20 mm로 측정되었고, 1주차에는 19 mm로 감소하였으며, 2주차에는 더 감소하여 18 mm를 나타냈고 이후 12주차까지 유지되었다. 상온이나 냉장 보관 모두 같은 보관 기간에서는 동일한 억제환의 크기를 나타냈다 (Fig. 2A).

4. 팔정산 전탕팩의 보관 조건에 따른 항균 활성 변화

*B. cereus*에 대한 팔정산 전탕팩의 항균활성을 관찰한 결과, 제조 당일 (0 W)에 억제환이 17 mm로 측정되었고, 1주차에는 14 mm로 항균활성이 감소하였으며, 2주차에는 더 감소하여 13 mm를 나타냈고 이후 12주차까지 유지되었다. 상온이나 냉장 보관 모두 12주차까지는 같은 보관 기간에 대해 동일한 억제환의 크기를 나타냈다 (Fig. 2B).

5. 당귀수산 전탕팩의 보관 조건에 따른 항균 활성 변화

*L. monocytogenes*에 대한 당귀수산 전탕팩의 항균활성을 관찰한 결과, 제조 당일 (0 W)에 억제환이 27 mm로 측정되었고 이는 2주차까지 유지되었다. 상온 보관시료의 경우, 3주차에는 억제환의 크기가 26 mm, 5주차에는 25 mm, 6주차 24 mm, 7주차부터 12주차까지 23 mm로 감소하였다. 냉장 보관시료의 경우 3주차에 억제환의 크기가 26 mm, 4주차에는 25 mm, 7주차부터 12주차까지 24 mm로 감소하였다. 11주차의 경우 당귀수산 시료 처리 후 오염이 발생하였으나 재실험 시 균주의 배양 및 처리시간을 고려하면 3일 이상의 보관 기간 차이가 발생하므로 11주차의 재실험은 진행하지 않았다. 6주차 이후부터 상온 보관시료와 냉장 보관시료의 억제환의 크기 차이가 1 mm 이내로 상온보다 냉장 보관시료의 항균활성이 더 높게 유지되었으나 보관온도에 따른 항균활성의 큰 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 3).

고 찰

한의계는 한약 전탕액을 투여할 경우, 약효에 근거한 유효기한의 명확한 복약지도지침이 없어 이에 대

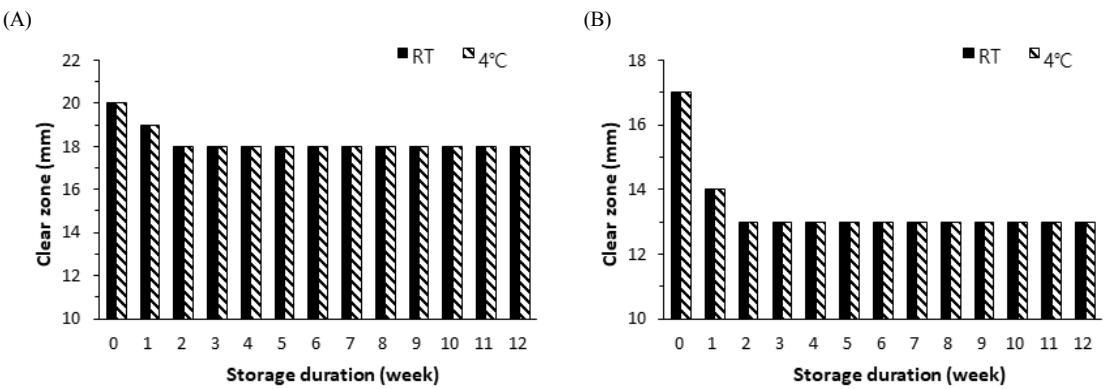

Fig. 2. Changes of antimicrobial activity against *Bacillus cereus* according to storage temperature and duration of decoction pouch of *Saengmaek-san* (A) and *Paljung-san* (B). RT: room temperature

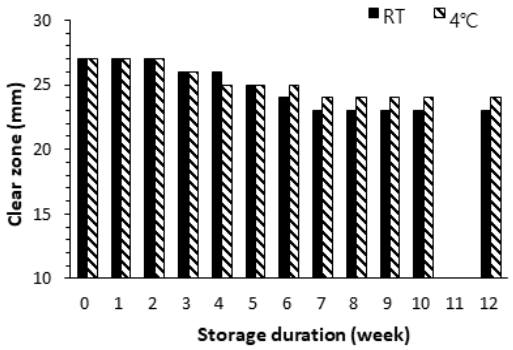

Fig. 3. Changes of antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* according to storage temperature and duration of decoction pouch of *Dangguisu-san.* RT: room temperature

한 다양한 연구를 수행하였다. 합성의약품의 경우 유효 성분에 의해 약효가 발현되므로 유효 성분의 지속 검출 기한이 약효 유효기한일 수 있으나, 천연물인 한약은 합성의약품과 같은 논리를 적용할 수가 없다. 따라서 한약 지표성분 기준과 약효 유효 기준에 따라서 각자 보관 및 유효기한이 다를 수밖에 없다.

전탕액에 포함된 한약재 지표성분 함량을 중심으로 수행한 연구에서는 최하 4주에서 최장 72개월까지 유효기한을 제시하고 있다[1,4]. 장기보존시험을 통해 지표성분 함량을 관찰한 연구에서는 다빈도 한약처방인 쌍화탕은 14~72개월, 평위산은 24~41개월, 보중익기탕은 23개월로 유효기한을 예측 제시하고 있다[4-6].

전탕액의 효능실험을 수행한 연구를 살펴보면, 작약감초탕의 진통 및 항경련 실험에서 6일까지 유의성이 있었고[10], 영선제통음은 진통·소염실험에서 9일까지 유의성이 나타났으며[11], 소시호탕과 인진호탕은 혈액지표 활성 실험에서 10일까지 효능이 유지되었다[12,13]. 반하사심탕은 항염, 항산화 실험을 통해 60일의 유효기한을 제시하였고[14], 항염 효과 실험에서 평위산은 6개월, 청심연자탕은 12개월까지 효과가 유지되는 것으로 보고되었다[15,16].

본 연구에서는 이전의 보고에서 비교적 보관 기한이 짧게 설정된 항균 실험 결과에 대해 사전 검토를 하였다. 한의계의 항균활성 연구는 한약을 이용한 천연방부제나 화장품 개발 연구가 많았고[17,18], 그 외 한약 전탕액을 의약품 기준에서의 일반 세균 검출 및 기간별로 미생물 발현 실험[19,20]과 전탕액 보관 기간별 항균 활성 실험 연구도 있었다[7,21].

디스크 확산법을 이용한 대황목단피탕 전탕액의 항균활성 관찰연구 (기준 디스크 크기 6 mm)에서는 그람양성 *Staphylococcus aureus* (황색포도당구균)에 대해서 1일차 12 mm, 4일차 10 mm, 22일차 8 mm로 감소되었고, *Escherichia coli*에 대해서 1일차 15 mm, 22일차 12 mm, *Pseudomonas aeruginosa* (녹농균)에 대해서는 1일차 10 mm, 10일차 9 mm, 그 이후 효과가 없는 것으로 보고되었으며, *Streptococcus pyogenes* (화농연쇄상구균)에 대해서 1일차 12 mm, 22일차 13 mm, *Klebsiella pneumoniae*에 대해서 1일차 16 mm, 22일차 12 mm까지 항균활성이 관찰되었다[7]. 연교패독산 전탕액은 기준 디스크 크기 6 mm에서 그람양성 *S. aureus*에 대한 항균활성은 1일차 9 mm, 10일차 8 mm, 13일차 6 mm로 관찰되었고, 세균성 이질을 일으키는 *Shigella sonnei*에 대해서 1일차 8 mm, 10일차 7 mm, 13일차 6 mm, *P. aeruginosa*에 대해 1일차 9 mm, 10일차 7 mm, 13일차 6 mm, *S. pyogenes*에 대해 1일차 8 mm, 10일차 7 mm, 13일차 6 mm, *Shigella flexneri* (플렉스네리아 이질균)에 대해 1일차 12 mm, 10일차 7 mm, 13일차 6 mm로 관찰되어, 10일까지는 각 미생물에 항균작용이 있었으나, 13일부터는 항균효과가 나타나지 않았다[21].

본 연구를 진행하기 전, 한방의료기관 다빈도 한약처방 51종을 대상으로 10종의 미생물에 대한 항균활성 연구를 수행하였으며, 그 결과 5개의 유효 한약처방을 선정하였다[9]. 멸균된 디스크 크기 10 mm를 기준으로 계지탕과 작약감초탕은 *V. parahaemolyticus*에 대해 0주차 14 mm에서 12주차 14 mm까지 상온 및 냉장 보관 모두 항균활성을 유지하고 있었다. 생

맥산은 *V. parahaemolyticus, B. cereus* 두 균주에 대해 각각 0주차 19 mm 및 20 mm, 12주차에 *V. parahaemolyticus* 및 *B. cereus*에 대해서 상온, 냉장 보관 전탕팩 모두 18 mm로 항균활성의 큰 차이는 나타나지 않았다. 팔정산은 *B. cereus*에 대해 0주차 17 mm에서 12주차 상온, 냉장에 보관된 전탕팩 모두 13 mm까지 감소하였으나 항균활성은 사라지지 않았다. 당귀수산은 *L. monocytogenes*에 대해 0주차 27 mm에서 12주차에 상온은 23 mm, 냉장은 24 mm로 항균활성을 유지하였다.

이전 보고된 대황목단피탕과 연교패독산의 미생물 항균 효과가 각 22일[7], 13일에 비하여[21], 본 연구에서 선정된 5개 한약처방 전탕액은 12주까지 항균효과가 있었다. 동일 처방으로 동일 미생물로 비교 실험하는 것이 명확하나, 대황목단피탕은 한방의료기관 다빈도 한약처방에서 우선 순위가 아니었고, 연교패독산은 본 연구팀의 선행 연구에서 10종의 미생물에 대해 항균 효과가 나타나지 않아 본 연구 대상에서는 탈락되었다[9].

본 연구에서는 최대 12주까지만 항균효과를 평가하였고, 항균활성이 유지된 12주까지를 유효기한으로 제시하였지만, 그 이후에도 지속적인 항균활성 평가가 진행되었다면 한약처방 전탕팩의 유효기한이 더 연장되었을 수 있다는 연구의 제한점이 있다.

결 론

계지탕, 팔정산, 당귀수산, 생맥산, 작약감초탕 5개 한약처방 전탕팩을 상온과 냉장 방법으로 보관하며 각각 *B. cereus, L. monocytogenes,* 또는 *V. parahaemolyticus*에 대해 12주까지 매주 항균활성을 평가한 결과, 시험 기간 중 한약처방에 따라 항균활성의 변화는 나타났으나 12주까지는 모두 항균활성을 유지하였다. 따라서 항균활성을 기준으로 할 때, 5종 한약처방 전탕팩의 유효기한은 상온 및 냉장 모두에서 최소 12주로 제시될 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 '한방의료기관 한약 처방의 안전성·유효성 구축 사업(KSN1812240)'에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

1. Do HJ, Shin YS, Lee JH, Ahn YJ, Ha IH, Lee YJ, et al. Stability of Danggwisu-san (Dangguixu-san) water extract, a herbal medicine, under various storage conditions. J Korean Med Rehabil. 2016;26(4):1-8.
2. Available from: URL:https://kin.naver.com/qna/detail.nhn?d1id=7&dirId=70304&docId=340234081&qb=7ZWc7JW9IOuztOq0gOq4sOqwhA==&enc=utf8&section=kin&rank=1&search_sort=0&spq=0
3. Son JY, Shin JW, Son CG. Stability study for herbal drug according to storage conditions and periods. J Korean Med. 2009;30(2):127-32.
4. Seo CS, Kim JH, Lim SH, Shin HK. Establishment of shelf-life of Ssanghwa-tang by long-term storage test. Nat Prod Sci. 2012;43(3):257-64.
5. Seo CS, Kim JH, Lim SH, Shin HK. Estimation of shelf-life by long-term storage test of Pyungwi-san. Korean J Oriental Med Prescription. 2011;19(1):183-94.
6. Seo CS, Kim JH, Lim SH, Kim SS, Shin HK. Evaluation of shelf-life of Bojungikgi-tang by long-term storage test. Nat Prod Sci. 2013;44(2):200-8.
7. Kim HG, Lee SI. A study on the effect changes of Dae Hwang Mo Nan Pi Tang due to the time elapse. J of Herbology. 1991;5(1):83-98.

8. Jin SE, Kim OS, Shin HK, Jeong SJ. Comparative study on biological activities of Gwakhyangjeonggi-san decoction according to the preservation periods. J Korean Med. 2014;25(3):60-9.
9. Lee N, Shin HK, Ha H, Choi SY. Antimicrobial activities of 51 herbal formulae on pathogenic microorganisms. Herb Formula Sci. 2019;27(4): 257-67.
10. Youn SJ, Lee SI. Study of Jagyakgamchotang's effect change by time. J of Herbology. 1992; 6(1):29-34.
11. Choi YB, Lim DB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Youngsunjetongeum over a period. J Korean Med. 1998;19(1):410-8.
12. Han KS, Choi YB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Sosihotang over a period. Kor J Herbology. 1998;13(2):7-12.
13. Kim WG, Choi YB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Injinhotang over a period. Kor J Herbology. 1998:13(2):14-8.
14. Jin SE, Kim OS, Seo CS, Shin HK, Jeong SJ. Comparative study on stability and efficacy of Banhasasim-tang decoction depending on the preservation temperature and periods. J Korean Med. 2016;37(1):21-33.
15. Ha H, Shin IS, Yim HS, Jeon WY, Kim JH, Seo CS, Shin HK. Changes in anti-inflammatory effect of Pyungwi-san decoction according to the preservation temperature and period. Formula Sci. 2012;20(2):29-35.
16. Yoo SR, Ha H, Lee NR, Shin HK, Seo CS. A study on change of marker compounds and biological activity in Chungsimyeonja-eum decoction depending on a storage temperature and periods. Kor J Herbology. 2017;32(4): 25-32.
17. Lee IC, Kim MK. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory of mixed medicinal herb extract. Kor J Herbology. 2015;30(5):51-8.
18. Kim JH, Do EJ, Lee G. Investigation of anti-microbial activity of herbal medicines used as natural preservatives based on the analysis of papers and patents. J Physiol & Pathol Korean Med. 2015;29(1):101-13.
19. Seo CS, Shin HK, Shin KS. Monitoring on microbial flora of herbal powder in long term preservation. Korean J Oriental Med Prescription. 2011;19(2):83-92.
20. Seo CS, Shin HK, Kim JH, Shin KS. Changes of principal components and microbial population in Pyungwi-san decoction according to the preservation temperature and period. J Korean Med. 2011;32(5):41-9.
21. Kil GJ, Lim DB, Lee YJ. A study on the degraded effect of decocted Yeonkyopaedogsan over a period. J of Herbology. 1998;13(1): 173-186.

ORCID

하혜경 https://orcid.org/0000-0002-7326-6366
최순용 https://orcid.org/0000-0002-8312-8143
서창섭 https://orcid.org/0000-0002-8156-446X
이나리 https://orcid.org/0000-0001-7447-3044
신현규 https://orcid.org/0000-0003-2319-6678

 http://dx.doi.org/10.13048/jkm.20010