(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0097382
(43) 공개일자 2019년08월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A01N 29/04* (2006.01) *A01N 31/08* (2006.01)
*A01N 33/06* (2006.01) *A01N 33/08* (2006.01)
*A23L 3/3463* (2017.01) *A23L 3/3517* (2006.01)
*A61K 31/192* (2006.01) *A61K 31/20* (2006.01)
*A61K 8/36* (2006.01) *A61L 2/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A01N 29/04* (2013.01)
*A01N 31/08* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0016731
(22) 출원일자 2018년02월12일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
**고려대학교 산학협력단**
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
**이민석**
경기도 성남시 분당구 내정로 152 파크타운 롯데아파트 133동 701호
**김혜원**
서울특별시 구로구 천왕로 천황이펜하우스 309-704
(74) 대리인
**특허법인다나**

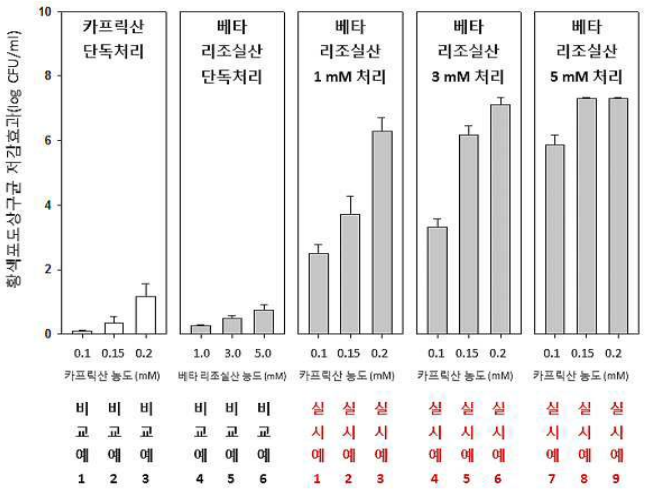
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **벤조일 유도체군과 중쇄지방산을 포함하는 살균용 조성물**

## (57) 요 약

본 발명은 벤조일 유도체; 및 중쇄지방산을 포함하는 살균 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 살균 조성물은 벤조일 유도체와 중쇄지방산의 살균 시너지 효과를 이용하여 벤조일 유도체와 중쇄지방산을 최소량으로 사용함으로써, 개별 물질의 과다 사용을 방지하면서 경제적으로 살균력을 극대화할 수 있다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
*A01N 33/06* (2013.01)
*A01N 33/08* (2013.01)
*A23L 3/3463* (2013.01)
*A23L 3/3517* (2013.01)
*A61K 31/192* (2013.01)
*A61K 31/20* (2013.01)
*A61K 8/36* (2013.01)
*A61L 2/0082* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711054695
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 기초연구사업
연구과제명 트리클로산 대체 차세대 천연 복합체의 초 단시간 살균효능 및 시너지 살균기작 구명
기 여 율 1/1
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2016.06.01 ~ 2019.05.31

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

벤조일 유도체; 및

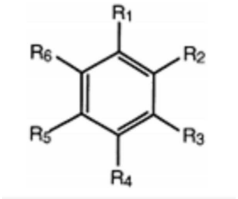
중쇄지방산을 포함하는 살균 조성물.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

벤조일 유도체는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인 살균 조성물:

[화학식 1]




상기 화학식 1에서 $R_1$은 카르복실기이고,

$R_2$ 내지 $R_6$는 각각 독립적으로 수소, 하이드록시기, 할로겐, 탄소수 1 내지 3의 알콕시기, 메르캅토기, 아민기, 니트로기, 아세틸기 또는 아세테이트기이다.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

벤조일 유도체는 베타 리조실산, 하이드록시 벤조산, 벤조산, 프로토카테츄산, 갈산 및 시링산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상인 살균 조성물.

### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

벤조일 유도체를 0.01 내지 10.0 mM 포함하는 살균 조성물.

### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

중쇄지방산은 카프릭산, 카프릴산 및 라우린산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상인 살균 조성물.

### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

중쇄지방산을 0.01 내지 10.0 mM 포함하는 살균 조성물.

**청구항 7**

제 1 항에 있어서,

벤조일 유도체 1.0 내지 5.0 mM 및 중쇄지방산 0.1 내지 0.2 mM 및 을 포함하는 살균 조성물.

**청구항 8**

제 1 항에 있어서,

살균 대상 세균은 식중독 세균을 포함하는 위해 세균인 살균 조성물.

**청구항 9**

제 1 항에 있어서,

살균 대상 세균은 대장균(*Escherichiac coli* O157:H7), 이질균(*Shigella* spp.), 쥐티푸스균(*Salmonella* Typhimurium), 슈도모나스균(*Pseudomonas aeruginosa*), 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*), 및 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상인 살균 조성물.

**청구항 10**

제 1 항에 따른 살균 조성물을 살균 대상에 처리하는 것을 포함하는 살균 방법.

**청구항 11**

제 10 항에 있어서,

살균 대상은 식품, 화장료 또는 의약품인 살균 방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

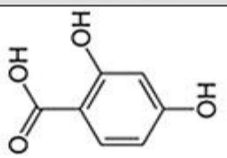
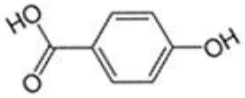
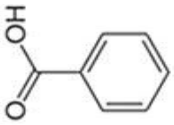
[0001] 본 발명은 벤조일 유도체 및 중쇄지방산을 포함하는 살균용 조성물에 대한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0003] 벤조일 유도체 중 베타 리조실산은 식물 매개체 사이에 널리 분포되어있는 식물성 페놀 화합물로서, 크랜베리 주스 섭취 시 체내에서 발견되는 대사물질이다. 상기 베타 리조실산과 유사한 구조를 가지는 항균물질로 하이드록시 벤조산 및 벤조산이 있다. 이러한 벤조일 유도체는 광범위한 미생물에 대해 항균효과가 인정되어 식품, 화장료 및 의약품 등에 보존제로 널리 활용되고 있다. 상기 벤조일 유도체는 미국 FDA에 의해 식품에 첨가 가능한 '일반적으로 안전하다고 인정된 물질(Generally Recognized as Safe, GRAS)'로 분류된다.

*표 1*

[0005]

| 베타 리조실산 | 하이드록시 벤조산 | 벤조산 |
|---|---|---|
|  |  |  |
| 속씨식물에서 유래<br>크랜베리 주스 섭취 후 체내에서<br>발견되는 대사물질<br>향미제(flavoring agent)<br>미국 FDA (GRAS)로 허가 | 순비기나무(Vitex) 종 및 담수의<br>녹조류 등에 존재<br>Cocos nucifera, 와인, 바닐라<br>등의 식품에 존재<br>향미제(flavoring agent)<br>미국 FDA GRAS 물질 | 많은 식물 및 척추동물에서<br>자연적으로 발생<br>보존료 등 식품 첨가물로 사용<br>미국 FDA GRAS 물질 |

[0007] 카프릭산은 탄소 10개로 구성된 중쇄지방산($CH_3(CH_2)_8COOH$)으로, 코코넛 오일, 종자유 및 포유동물의 모유 등에서 자연적으로 발견된다. 향미가 좋아 향수 등 화장품 및 식품 첨가제(향미제)로 활용되고 있으며, 약물 전달 효율을 높이기 위한 지질 입자로서 의약품에 첨가된다.

[0009] 벤조일 유도체의 경우 그람 음·양성균을 포함하는 광범위한 미생물에 대해 생육 억제효과가 알려져 있으나, 단독처리의 살균력이 미미하여 과량을 사용해야 한다. 카프릭산의 경우 다른 유기산에 비해 가격이 비싸다는 한계점이 있다. 따라서, 이들 성분을 최소량으로 사용하면서 살균력을 극대화할 수 있는 효율적 살균 조성물에 대한 개발이 필요하다.

[0011] 한편, 그람 양성균은 세포막을 둘러싼 두꺼운 펩티도글리칸 층의 보호에 의해 세포외 공격에 대한 내성을 지니며, 다제내성균의 경우 항생제를 자가적으로 세포외로 배출하는 기작으로 내성을 획득하여 그람 음성균에 비해 사멸이 어려운 실정이다. 대표적 그람 양성균인 황색포도상구균은 인체에 가장 대표적인 병원성 균주로서, 피부 감염증 및 패혈증을 일으키거나 독소형 식중독을 유발할 수 있다. 이 균의 항생제 내성 획득(예: 메티실린 내성 황색포도상구균)이 사회적으로 큰 문제를 일으키고 있으므로, 식품, 헬스 케어 및 의료분야 등에서 이를 효과적으로 살균·제어하기 위한 신기술 개발이 필요하다.

[0013] 벤조일 유도체의 항균 활성에 대한 연구는 주로 장시간 처리 하여 미생물의 생육 저해정도를 확인하는 수준으로, 실제 살균 조성물 개발에 적용한다면 단시간 내 살균효과를 얻기 위해 과량의 물질을 사용해야 한다는 한계점이 있다. 또한, 한국등록특허 제 10-1392808호 에는, 식물 추출물을 유효성분으로 하는 항균 조성물에 대하여 개시되어 있으나, 이는 암피실린 등 항균용 약제와 조합하여 항균 시너지를 확인한 것으로 그 활용도가 의약 분야로 제한되며, 앞서 기술한 바와 같이 살균 조성물 개발에 활용 시 과량의 물질을 사용해야 하는 한계점이 있다.

## *선행기술문헌*

### *특허문헌*

[0015] (특허문헌 0001) 1. 한국등록특허 제 10-1392808호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0016] 이에 본 발명자들은, 천연 항균제로서 기능성이 뛰어난 벤조일 유도체 및 중쇄지방산을 주성분으로 하여, 적은 양으로도 메티실린 내성 황색포도상구균 등의 세균을 효과적으로 제어할 수 있는 살균 조성물을 개발하였다.

[0017] 따라서, 본 발명은 벤조일 유도체와 중쇄지방산의 살균 시너지 효과를 이용하여, 개별 물질의 과다 사용을 방지하면서 경제적으로 살균력을 극대화할 수 있으며, 특히 메티실린 내성 황색포도상구균 등의 세균을 효과적으로 살균, 제어할 수 있는 살균 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

### 과제의 해결 수단

[0019] 본 발명은 벤조일 유도체; 및

[0020] 중쇄지방산을 포함하는 살균 조성물을 제공한다.

[0022] 또한, 본 발명은 전술한 살균 조성물을 살균 대상에 처리하는 것을 포함하는 살균 방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0024] 본 발명의 살균 조성물은 벤조일 유도체와 중쇄지방산의 살균 시너지 효과를 이용하여 벤조일 유도체와 중쇄지방산을 최소량으로 사용함으로써, 개별 물질의 과다 사용을 방지하면서 경제적으로 살균력을 극대화할 수 있다. 특히, 본 발명의 살균 조성물은 메티실린 내성 황색포도상구균 등의 세균을 효과적으로 살균, 제어할 수 있다.

[0025] 본 발명의 살균 조성물은 식품, 헬스 케어, 의료 분야 등의 다양한 분야에서 활용할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0027] 도 1 및 2는 베타 리소실산 및 카프릭산을 포함하는 살균 조성물의 황색포도상구균 및 메티실린 내성 황색포도상구균에 대한 살균력을 측정한 그래프이다.

도 3 및 4는 하이드록시 벤조산 및 카프릭산을 포함하는 살균 조성물의 황색포도상구균 및 메티실린 내성 황색포도상구균에 대한 살균력을 측정한 그래프이다.

도 5 및 6은 벤조산 및 카프릭산을 포함하는 살균 조성물의 황색포도상구균 및 메티실린 내성 황색포도상구균에 대한 살균력을 측정한 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명은 벤조일 유도체; 및

[0029] 중쇄지방산을 포함하는 살균 조성물에 관한 것이다.

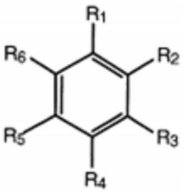
[0031] 이하, 본 발명의 살균 조성물을 보다 상세하게 설명한다.

[0032] 본 발명에 있어서, 용어 “살균”은 바이러스, 균류(fungi), 원생동물(protozoa) 및 세균(bacteria)을 포함하는 미생물을 죽이거나 성장을 억제시키는 것을 의미한다. 또한, 본 발명에서 용어 “살균 조성물”은 이러한 살균 물질을 함유하는 조성물을 의미한다. 따라서, 상기 살균 조성물은 항세균 활성(antibacterial activity), 항진균 활성(antifungal activity) 또는 항바이러스 활성(antiviral activity) 등을 갖는다.

[0034] 본 발명에서 벤조일 유도체는 광범위한 미생물에 대해 항균 효과를 가지며, 식품, 화장료 및 의약품 등에서 보존제로 사용된다. 상기 벤조일 유도체는 미국 FDA에 의해 식품에 첨가 가능한 '일반적으로 안전하다고 인정된 물질(Generally Recognized as Safe, GRAS)'로 분류된 안정한 화합물이다. 상기 벤조일 유도체는 후술할 중쇄지방산과 함께 상호작용 하여, 살균 효과에 대한 상승효과를 나타낸다. 이는, 살균 조성물의 중쇄지방산이 세포막 손상을 야기하고 소수성 벤젠링을 지닌 벤조일 유도체가 세포막 내부로 쉽게 통과하여 세포 내부에서 해리하면서 생성되는 $H^+$ 이온이 세포 항상성을 저해하기 때문이다.

[0035] 상기 벤조일 유도체의 종류는 특별히 한정되지 않으며, 식품, 의약품 등에 사용 가능하고, 살균 특성을 가지는 벤조일 유도체를 제한없이 사용할 수 있다. 예를 들어, 벤조일 유도체로 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 사용할 수 있다.

[0037] [화학식 1]

[0038] 


[0040] 상기 화학식 1에서 $R_1$은 카르복실기이고,

[0041] $R_2$ 내지 $R_6$는 각각 독립적으로 수소, 하이드록시기, 할로겐, 탄소수 1 내지 3의 알콕시기, 메르캅토기, 아민기, 니트로기, 아세틸기 또는 아세테이트기일 수 있으며, 할로겐은 플루오르, 클로로, 요오드 또는 브롬일 수 있다.

[0042] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 표 1의 화합물일 수 있다.

표 2

[0044]

| No. | Compound | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Salicylic acid | COOH | OH | H | H | H | H |
| 2 | 2,3-Dihydroxybenzoic acid | COOH | OH | OH | H | H | H |
| 3 | 2,4-Dihydroxybenzoic acid | COOH | OH | H | OH | H | H |
| 4 | 2,5-Dihydroxybenzoic acid | COOH | OH | H | H | OH | H |
| 5 | 2,6-Dihydroxybenzoic acid | COOH | OH | H | H | H | OH |
| 6 | 2-Hydroxy-3-methoxybenzoic acid | COOH | OH | $OCH_3$ | H | H | H |
| 7 | 3-Chlorosalicylic acid | COOH | OH | Cl | H | H | H |
| 8 | 4-Chlorosalicylic acid | COOH | OH | H | Cl | H | H |
| 9 | 5-Chlorosalicylic acid | COOH | OH | H | H | Cl | H |
| 10 | 5-Formylsalicylic acid | COOH | OH | H | H | CHO | H |
| 11 | 2,3,4-Trihydroxybenzoic acid | COOH | OH | OH | OH | H | H |
| 12 | 2,4,6-Trihydroxybenzoic acid | COOH | OH | H | OH | H | OH |
| 13 | 3,5-Dichlorosalicylic acid | COOH | OH | Cl | H | Cl | H |
| 14 | 3,5,6-Trichlorosalicylic acid | COOH | OH | Cl | H | Cl | Cl |
| 15 | 2-Methoxybenzoic acid | COOH | $OCH_3$ | H | H | H | H |
| 16 | Acetylsalicylic acid (Aspirin) | COOH | $OCOCH_3$ | H | H | H | H |
| 17 | 2-Acetyl benzoic acid | COOH | $COCH_3$ | H | H | H | H |
| 18 | 2-Aminobenzoic acid | COOH | $NH_2$ | H | H | H | H |
| 19 | 2-Nitrobenzoic acid | COOH | $NO_2$ | H | H | H | H |
| 20 | 2-Mercaptobenzoic acid | COOH | SH | H | H | H | H |
| 21 | 2-Fluorobenzoic acid | COOH | F | H | H | H | H |
| 22 | 2-Chlorobenzoic acid | COOH | Cl | H | H | H | H |
| 23 | 2-Bromobenzoic acid | COOH | Br | H | H | H | H |
| 24 | 2-Iodobenzoic acid | COOH | I | H | H | H | H |
| 25 | 2,3-Dichlorobenzoic acid | COOH | Cl | Cl | H | H | H |
| 26 | 2,4-Dichlorobenzoic acid | COOH | Cl | H | Cl | H | H |
| 27 | 2,5-Dichlorobenzoic acid | COOH | Cl | H | H | Cl | H |
| 28 | 2,6-Dichlorobenzoic acid | COOH | Cl | H | H | H | Cl |
| 29 | Benzoic acid | COOH | H | H | H | H | H |
| 30 | *m*-Hydroxybenzoic acid | COOH | H | OH | H | H | H |
| 31 | *p*-Hydroxybenzoic acid | COOH | H | H | OH | H | H |
| 32 | 3-Methoxybenzoic acid | COOH | H | $OCH_3$ | H | H | H |
| 33 | 4-Methoxybenzoic acid | COOH | H | H | $OCH_3$ | H | H |
| 34 | 3-Chlorobenzoic acid | COOH | H | Cl | H | H | H |
| 35 | 4-Chlorobenzoic acid | COOH | H | H | Cl | H | H |
| 36 | 3,4-Dihydroxybenzoic acid | COOH | H | OH | OH | H | H |
| 37 | 3,5-Dihydroxybenzoic acid | COOH | H | OH | H | OH | H |
| 38 | 4-Hydroxy-3-methoxybenzoic acid | COOH | H | $OCH_3$ | OH | H | H |
| 39 | 3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid | COOH | H | OH | $OCH_3$ | H | H |
| 40 | 3,4-Dichlorobenzoic acid | COOH | H | Cl | Cl | H | H |
| 41 | 3,5-Dichlorobenzoic acid | COOH | H | Cl | H | Cl | H |
| 42 | 3,4,5-Trihydroxybenzoic acid | COOH | H | OH | OH | OH | H |

[0046] 일 구체예에서, 상기 벤조일 유도체로 베타 리조실산, 하이드록시 벤조산, 벤조산(benzoic acid), 프로토카테츄산(3,4-dihydroxybenzoic acid), 갈산(3,4,5-Trihydroxybenzoic acid) 및 시링산(4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다. 특히 벤조산(안식향산)은 식품첨가물 공전에 등록되어 있는 첨가물 제제로서, 식품에 첨가하는 경우 화학적 제제 첨가물에 비해 소비자의 우려를 감소시킬 수 있다.

[0047] 이러한 벤조일 유도체는 살균 조성물에 0.01 내지 10.0 mM, 0.05 내지 9.0 mM, 0.1 내지 8.0 mM, 0.2 내지 7.0 mM, 0.5 내지 6.5 mM, 0.7 내지 6.0 mM, 1.0 내지 5.0 mM, 2.0 내지 5.0 mM, 또는 3.0 내지 5 mM의 농도로 포함될 수 있다. 상기 농도 범위에서 벤조일 유도체를 개별적으로 사용하였을 때는 살균 효과가 미미하나, 후술할 중쇄지방산과 병용 사용할 때 살균 효과의 상승작용이 매우 극명하여 살균 조성물의 생산 효율 및 효과를 극대화할 수 있다.

[0048] 중쇄지방산(Medium-chain triglycerides)은 탄소수 8 내지 12의 이중결합이 없는 지방산을 의미한다. 이러한 지방산은 식품에 첨가가능하고 살균 특성을 가진다면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어, 카프릴산, 카프릭산 및 라우린산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있다. 상기 카프릴산, 카프릭산 및 라우린산은 식품첨가물 공전에 등록되어 있는 첨가물 제제로서, 식품에 첨가하는 경우 화학적 제제 첨가물에 비해 소비자의 우려를 감소시킬 수 있다.

[0049] 특히, 중쇄지방산 중 카프릭산은 탄소 10개로 구성된 중쇄지방산($CH_3(CH_2)_8COOH$)으로서, 향미가 좋아 향수 등

화장품 및 식품 첨가제(향미제) 등으로 활용된다.

[0050] 이러한 중쇄지방산은 살균 조성물에 0.01 내지 10.0 mM, 0.02 내지 5 mM, 0.05 내지 1 mM, 0.08 내지 0.8 mM, 0.1 내지 0.5 mM, 0.1 내지 0.2 mM 또는 0.15 내지 0.2 mM의 농도로 포함될 수 있다. 상기 농도 범위에서 벤조일 유도체와 병용 사용할 때 살균 효과의 상승작용이 매우 극명하여 살균 조성물의 생산 효율 및 효과를 극대화할 수 있다. 즉, 상기 벤조일 유도체의 농도 및 중쇄지방산의 농도를 가지는 것이 낮은 농도로도 유의한 살균 효과를 나타낼 수 있다.

[0051] 일 구체예에서, 살균 조성물은 벤조일 유도체 1.0 내지 5.0 mM 및 중쇄지방산 0.1 내지 0.2 mM을 포함할 수 있다. 또한 일 구체예에서, 살균 조성물은 벤조일 유도체 3.0 내지 5.0 mM 및 중쇄지방산 0.15 내지 0.2 mM를 포함할 수 있다.

[0052] 또한, 살균 조성물에서 벤조일 유도체는 전체 살균 조성물에 대하여 0.001 내지 0.1 중량%, 0.005 내지 0.09 중량%, 0.01 내지 0.08 중량%, 또는 0.03 내지 0.08 중량%로 포함될 수 있으며, 중쇄지방산은 0.001 내지 0.01 중량%, 0.002 내지 0.005 중량% 또는 0.003 내지 0.005 중량%의 함량으로 포함될 수 있다.

[0053] 본 발명에서, 살균용 조성물은 미생물 중 식중독 세균을 포함하는 위해 세균에 대해 살균 효과를 나타낼 수 있다. 일 구체예에서, 상기 세균은 대장균(*Escherichiac coli* O157:H7), 이질균(*Shigella* spp.), 쥐티푸스균(*Salmonella* Typhimurium), 슈도모나스균(*Pseudomonas aeruginosa*), 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*), 및 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0054] 하기 실시예에서는, 그람 양성균인 황색포도상구균(ATCC 23235, 25923, NRS 111) 및 메티실린에 내성을 가지는 황색포도상구균(ATCC 33591, 33592, 43300)에 대하여, 살균 조성물에 포함된 극미량의 벤조일 유도체와 중쇄지방산의 시너지 효과를 도출함으로써, 우수한 살균 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 살균용 조성물은 벤조일 유도체 및 중쇄지방산을 적은 농도로 포함하면서도 유의한 살균 효과 나타냄으로써, 식품, 화장료 또는 의약품 등에 넓게 적용시킬 수 있다.

[0056] 또한, 본 발명은 전술한 살균 조성물을 살균 대상에 처리하는 것을 포함하는 살균 방법을 제공한다.

[0057] 본 발명에서는 벤조일 유도체와 중쇄지방산의 시너지 효과에 의해, 상기 성분을 극미량 사용하여도 우수한 살균 효과를 도출할 수 있다. 상기 살균 조성물의 처리는 살균 대상에 따라 달라질 수 있으나, 예를 들어 1 내지 30 분, 1 내지 1 분일 수 있다. 본 발명에서는 종래 대비 단시간 동안 처리하여도 벤조일 유도체와 중쇄지방산의 시너지 효과에 의해 우수한 살균 효과를 가질 수 있다.

[0058] 이 때, 살균 대상은 식품, 화장료 또는 의약품일 수 있으며, 항균, 살균, 소독, 방부 등의 목적을 달성하기 위해 광범위하게 사용될 수 있다.

[0059] 본 발명의 일 구체예에서는 전술한 살균 조성물을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.

[0060] 본 발명의 살균 조성물이 식품 조성물로 제조될 경우, 상기 살균 조성물은 세균에 의해 식품이 변질되는 것을 예방하므로 식품 방부제를 대체하여 사용될 수 있다. 상기 살균 조성물은 식품에 허용되는 함량으로 식품 조성물에 포함될 수 있다.

[0061] 상기 식품 조성물은 살균 조성물 외에 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함할 수 있다. 상기 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등]) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 본 발명의 식품 조성물이 드링크제로 제조되는 경우에는 살균 조성물 외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 두충 추출액, 대추 추출액, 감초 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0062] 또한, 본 발명의 일 구체예에서는 살균 조성물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

[0063] 상기 살균 조성물이 화장료 조성물로 제조될 경우, 살균 조성물은 세균에 의해 화장료 조성물이 변질되는 것을 예방하므로 화장품 방부제를 대체하여 사용될 수 있다. 상기 살균 조성물은 화장품에 허용되는 함량으로 화장료 조성물에 포함될 수 있다.

[0064] 상기 화장료 조성물은 살균 조성물 외에 화장품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 용해제, 농축제, 겔화제, 연화제, 항산화제, 현탁화제, 안정화제, 발포제(foaming agent), 방향제, 계면활성제, 물, 이온형 유화제, 비이온형 유화제, 충전제, 금속이온봉쇄제, 킬레이트화제, 보존제, 비타민, 차단제, 습윤화제, 필수 오일, 염료, 안료, 친수성 활성제, 친유성 활성제 또는 지질 소낭 등 화장품 분야에서 통상적으로 사용되는 보조제를 포함할 수 있다.

[0065] 화장품은 일반적인 유화 제형 또는 가용화 제형의 형태로 제조될 수 있다. 예를 들어, 유연 화장수 또는 영양 화장수 등과 같은 화장수; 훼이셜 로션 또는 바디로션 등과 같은 유액; 영양 크림, 수분 크림 또는 아이 크림 등과 같은 크림; 에센스; 화장연고; 스프레이; 젤; 팩; 선 스크린; 메이크업 베이스; 액체 타입, 고체 타입 또는 스프레이 타입 등의 파운데이션; 파우더; 클렌징 크림, 클렌징 로션, 클렌징 오일과 같은 메이크업 제거제; 클렌징 폼, 비누, 바디 워쉬 등과 같은 세정제 등의 제형을 가질 수 있다.

[0066] 또한, 본 발명의 일 구체예에서는 살균 조성물을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.

[0067] 상기 살균 조성물은 의약품에 허용되는 함량으로 약학적 조성물에 포함될 수 있다.

[0068] 상기 약학적 조성물은 살균 조성물 외에 화장품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 약학적이르 허용 가능한 담체를 포함할 수 있다. 이러한 담체는 완충액, 주사용 멸균수, 일반 식염수 또는 인산염 완충 식염수, 슈크로스, 히스티딘, 또는 폴리솔베이트 등과 같은 여러 성분을 함유할 수 있다.

[0071] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0073] 실시예

[0074] **참조예. 제어대상 세균**

[0075] 두꺼운 세포막 구조에 의해 그람 양성균의 제어가 그람 음성균에 비해 매우 어렵다는 점에 착안하여, 식품, 헬스 케어 및 의료 분야에서 광범위하게 문제가 되고 있는 대표적 그람 양성균인 황색포도상구균(ATCC 23235, 25923, NRS 111)을 선정하였으며, 개발 기술의 적용 가능성을 보다 넓게 제시하기 위하여 메티실린에 내성을 가지는 황색포도상구균(ATCC 33591, 33592, 43300)을 실험에 사용하였다(배양조건: Muller Hinton broth에 분주, 37℃, 24시간).

[0077] **실시예 1 내지 54 및 비교예 1 내지 24. 살균 조성물 제조**

[0078] 살균 조성물을 제조하기 위해 99.9% 에탄올을 용매로 하여 0.5 M 베타 리조실산 수용액(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0.5 M 하이드록시 벤조산(Sigma-Aldrich), 0.5 M 벤조산(Sigma-Aldrich) 및 200 mM 카프릭산 수용액(Sigma-Aldrich)을 각각 제조하였다. 이를 원액으로 적정 비율로 에탄올에 희석하여 0.1-0.5 M 베타 리조실산, 100-200 mM 카프릭산을 제조하였다. 멸균된 0.85% 생리 식염수에 제조한 수용액을 희석하여 하기 표 3의 실시예 및 비교예에 기술한 최종농도가 되도록 첨가하는 방식으로 제조하였다.

*표 3*

[0080]

| | 벤조일 유도체 | | 카프릭산 | | 벤조일 유도체 | | 카프릭산 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 종류 | 농도(mM) | 농도(mM) | | 종류 | 농도(mM) | 농도(mM) |
| 비교예 1 | - | 0 | 0.1 | 비교예 7 | - | 0 | 0.1 |
| 비교예 2 | - | 0 | 0.15 | 비교예 8 | - | 0 | 0.15 |
| 비교예 3 | - | 0 | 0.2 | 비교예 9 | - | 0 | 0.2 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 비교예 4 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0 | 비교예 10 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0 |
| 비교예 5 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0 | 비교예 11 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0 |
| 비교예 6 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0 | 비교예 12 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0 |
| 비교예 13 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0 | 비교예 16 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0 |
| 비교예 14 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0 | 비교예 17 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0 |
| 비교예 15 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0 | 비교예 18 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0 |
| 비교예 19 | 벤조산 | 1.0 | 0 | 비교예 22 | 벤조산 | 1.0 | 0 |
| 비교예 20 | 벤조산 | 3.0 | 0 | 비교예 23 | 벤조산 | 3.0 | 0 |
| 비교예 21 | 벤조산 | 5.0 | 0 | 비교예 24 | 벤조산 | 5.0 | 0 |
| 실시예 1 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0.1 | 실시예 10 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0.1 |
| 실시예 2 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0.15 | 실시예 11 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0.15 |
| 실시예 3 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0.2 | 실시예 12 | 베타 리조실산 | 1.0 | 0.2 |
| 실시예 4 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0.1 | 실시예 13 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0.1 |
| 실시예 5 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0.15 | 실시예 14 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0.15 |
| 실시예 6 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0.2 | 실시예 15 | 베타 리조실산 | 3.0 | 0.2 |
| 실시예 7 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0.1 | 실시예 16 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0.1 |
| 실시예 8 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0.15 | 실시예 17 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0.15 |
| 실시예 9 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0.2 | 실시예 18 | 베타 리조실산 | 5.0 | 0.2 |
| 실시예 19 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0.1 | 실시예 28 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0.1 |
| 실시예 20 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0.15 | 실시예 29 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0.15 |
| 실시예 21 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0.2 | 실시예 30 | 하이드록시 벤조산 | 1.0 | 0.2 |
| 실시예 22 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0.1 | 실시예 31 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0.1 |
| 실시예 23 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0.15 | 실시예 32 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0.15 |
| 실시예 24 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0.2 | 실시예 33 | 하이드록시 벤조산 | 3.0 | 0.2 |
| 실시예 25 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0.1 | 실시예 34 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0.1 |
| 실시예 26 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0.15 | 실시예 35 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0.15 |
| 실시예 27 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0.2 | 실시예 36 | 하이드록시 벤조산 | 5.0 | 0.2 |
| 실시예 37 | 벤조산 | 1.0 | 0.1 | 실시예 46 | 벤조산 | 1.0 | 0.1 |
| 실시예 38 | 벤조산 | 1.0 | 0.15 | 실시예 47 | 벤조산 | 1.0 | 0.15 |
| 실시예 39 | 벤조산 | 1.0 | 0.2 | 실시예 48 | 벤조산 | 1.0 | 0.2 |
| 실시예 40 | 벤조산 | 3.0 | 0.1 | 실시예 49 | 벤조산 | 3.0 | 0.1 |
| 실시예 41 | 벤조산 | 3.0 | 0.15 | 실시예 50 | 벤조산 | 3.0 | 0.15 |
| 실시예 42 | 벤조산 | 3.0 | 0.2 | 실시예 51 | 벤조산 | 3.0 | 0.2 |
| 실시예 43 | 벤조산 | 5.0 | 0.1 | 실시예 52 | 벤조산 | 5.0 | 0.1 |
| 실시예 44 | 벤조산 | 5.0 | 0.15 | 실시예 53 | 벤조산 | 5.0 | 0.15 |
| 실시예 45 | 벤조산 | 5.0 | 0.2 | 실시예 54 | 벤조산 | 5.0 | 0.2 |

[0082] **실험예 1. 베타 리조실산 및 카프릭산을 포함하는 살균 조성물의 살균력 비교**

[0083] 실시예 및 비교예에서 제조된 살균 조성물을 하기 표 4에 따라, 전술한 참조예의 황색포도상구균 및 메티실린 내성 황색포도상구균에 처리하였다.

표 4

[0085]

| 실험군 | 베타 리조실산 농도(mM) | 카프릭산 농도(mM) | 처리시간 (분) | 황색포도상구균 | 메티실린 내성 황색포도상구균 |
|---|---|---|---|---|---|
| 대조군 (단일 조성물) | - | 0.1-0.2 | 5 | 비교예 1-3 | 비교예 7-9 |
| | 1.0-5.0 | - | 5 | 비교예 4-6 | 비교예 10-12 |
| 실험군 (혼합 조성물) | 1.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 1-3 | 실시예 10-12 |
| | 3.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 4-6 | 실시예 13-15 |
| | 5.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 7-9 | 실시예 16-18 |

[0087] 모든 실험은 5회 수행하였으며, 그 결과를 도 1 및 도 2에 나타내었다.

[0088] 도 1에 나타난 바와 같이, 황식포도상구균은 비교예 1 내지 6의 살균 조성물을 처리한 것에 비해 실시예 1 내지 9의 살균 조성물을 처리할 경우 저감효과가 현저히 높아지는 것을 확인할 수 있다.

[0089] 구체적으로, 1.0 mM 이상의 베타 리조실산 및 0.15 mM 이상의 카프릭산을 첨가한 실시예 2 내지 3, 5 내지 6 및 8 내지 9의 저감효과가 현저히 증가하여, 5log 이상의 저감효과(99.999% 살균; 6.2-7.3 log 살균)를 나타내었다. 특히 5.0 mM 이상의 베타 리조실산 및 0.15 mM 이상의 카프릭산을 첨가한 실시예 8 내지 9의 경우 접종한 황색포도상구균을 회생 불가능한 수준까지 제어함을 확인하였다.

[0090] 도 2에 나타난 바와 같이, 상대적으로 항균제 내성이 강한 메티실린 내성 황색포도상구균의 경우 비교예 7 내지 12의 살균 조성물에 비해 실시예 10 내지 18의 살균 조성물의 저감효과가 높아졌으나, 일반 황색포도상구균을 대상으로 한 실시예 7 내지 9에 비해 저감효과가 감소하였다.

[0091] 1.0 mM 이상의 베타 리조실산 및 0.2 mM 이상의 카프릭산을 첨가한 실시예 12, 15, 18에서 5log 이상의 저감효과(5.3-7.2 log 살균)를 보였으며, 특히, 실시예 18에서 일반 황색포도상구균에 대한 결과와 마찬가지로 메티실린 내성 황색포도상구균을 회생불가능한 수준까지 제어함을 확인하였다.

[0093] **실험예 2. 하이드록시 벤조산 및 카프릭산을 포함하는 살균 조성물의 살균력 비교**

[0094] 실시예 및 비교예에서 제조된 살균 조성물을 하기 표 5에 따라, 전술한 참조예의 황색포도상구균 및 메티실린 내성 황색포도상구균에 처리하였다.

표 5

[0096]

| 실험군 | 하이드록시 벤조산 농도(mM) | 카프릭산 농도(mM) | 처리시간 (분) | 황색포도상구균 | 메티실린 내성 황색포도상구균 |
|---|---|---|---|---|---|
| 대조군 (단일 조성물) | - | 0.1-0.2 | 5 | 비교예 1-3 | 비교예 7-9 |
| | 1.0-5.0 | - | 5 | 비교예 13-15 | 비교예 16-18 |
| 실험군 (혼합 조성물) | 1.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 19-21 | 실시예 28-30 |
| | 3.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 22-24 | 실시예 31-33 |
| | 5.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 25-27 | 실시예 34-36 |

[0098] 모든 실험은 5회 수행하였으며, 그 결과를 도 3 및 도 4에 나타내었다.

[0099] 도 3에 나타난 바와 같이, 비교예 1 내지 3, 13 내지 15의 살균 조성물에 비해 실시예 19 내지 27의 살균 조성물의 저감효과가 현저히 높아지는 것을 확인할 수 있다.

[0100] 구체적으로, 1.0 mM 이상의 하이드록시 벤조산 및 0.2 mM의 카프릭산을 첨가한 실시예 21, 24, 27의 살균 조성물에서 5 log 이상의 저감효과(5.4-6.8 log 살균)를 보였다.

[0101] 또한, 도 4에 나타난 바와 같이, 상대적으로 항균제 내성이 강한 메티실린 내성 황색포도상구균의 경우 비교예

7 내지 9, 16 내지 18의 살균 조성물에 비해 실시예 25 내지 33의 살균 조성물의 저감효과가 증가하였으나, 일반 황색포도상구균을 대상으로 한 실시예 20 내지 27의 살균 조성물에 비해 저감효과가 감소하였다. 그러나, 5.0 mM의 하이드록시 벤조산 및 0.2 mM 의 카프릭산을 첨가한 실시예 33의 살균 조성물은 5log 이상의 저감효과(5.5 log 살균)를 보였다.

[0103] **실험예 3. 벤조산 및 카프릭산을 포함하는 살균 조성물의 살균력 비교**

[0104] 실시예 및 비교예에서 제조된 살균 조성물을 하기 표 6에 따라, 전술한 참조예의 황색포도상구균 및 메티실린 내성 황색포도상구균에 처리하였다.

표 6

[0106]

| 실험군 | 벤조산 농도(mM) | 카프릭산 농도(mM) | 처리시간 (분) | 황색포도상구균 | 메티실린 내성 황색포도상구균 |
|---|---|---|---|---|---|
| 대조군 (단일 조성물) | - | 0.1-0.2 | 5 | 비교예 1-3 | 비교예 7-9 |
| | 1.0-5.0 | - | 5 | 비교예 19-21 | 비교예 22-24 |
| 실험군 (혼합 조성물) | 1.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 37-39 | 실시예 46-48 |
| | 3.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 40-42 | 실시예 49-51 |
| | 5.0 | 0.1-0.2 | 5 | 실시예 43-45 | 실시예 52-54 |

[0108] 모든 실험은 5회 수행하였으며, 그 결과를 도 5 및 도 6에 나타내었다.

[0109] 도 5에 나타난 바와 같이, 비교예 1 내지 3, 19 내지 21의 살균 조성물에 비해 실시예 37 내지 45의 살균 조성물의 저감효과가 현저히 높아지는 것을 확인할 수 있다. 특히, 3.0 mM 이상의 벤조산 및 0.2 mM의 카프릭산을 첨가한 실시예 42, 45의 살균 조성물에서 5log 이상의 저감효과(6.8-6.9 log 살균)를 보였다.

[0110] 또한, 도 6에 나타난 바와 같이, 상대적으로 항균제 내성이 강한 메티실린 내성 황색포도상구균의 경우 비교예 7 내지 9, 22 내지 24의 살균 조성물에 비해 실시예 47 내지 54의 살균 조성물의 저감효과가 증가하였으나, 일반 황색포도상구균을 대상으로 한 실시예 38 내지 45의 살균 조성물에 비해 저감효과가 감소하였다. 그러나, 3.0 mM의 벤조산 및 0.2 mM의 카프릭산을 첨가한 실시예 51의 살균 조성물에서 5log 이상의 저감효과(6.4 log 살균)를 보였다.

[0111]

[0112] 하기 표 7은 농도 변환을 나타낸다.

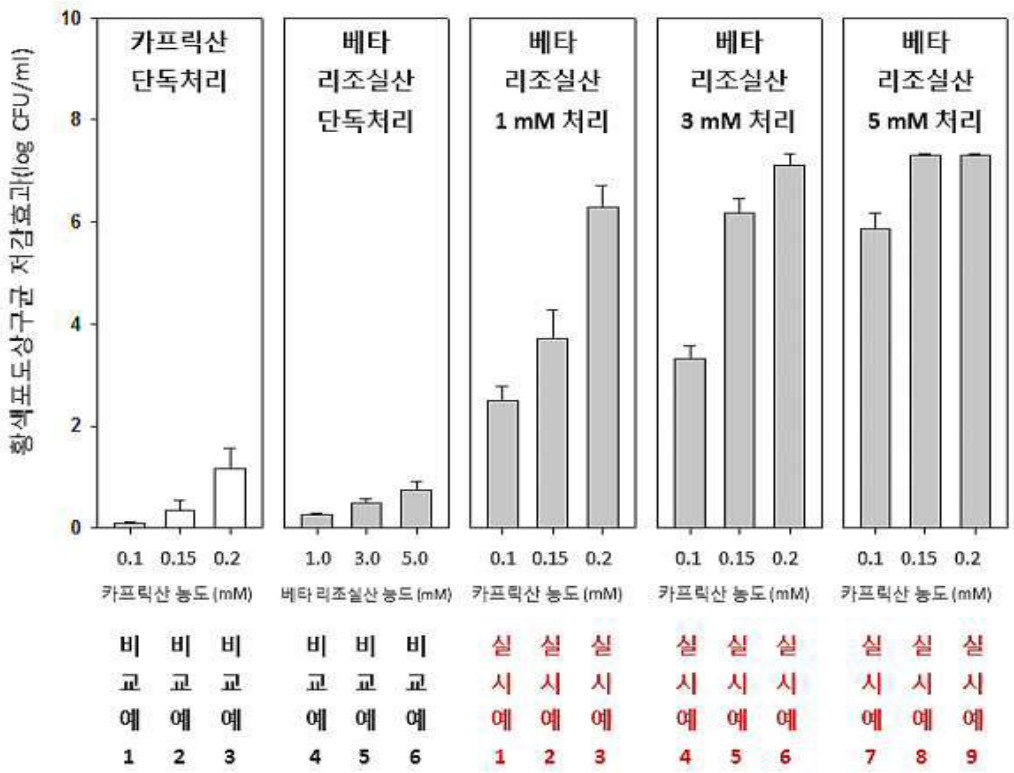
표 7

[0113]

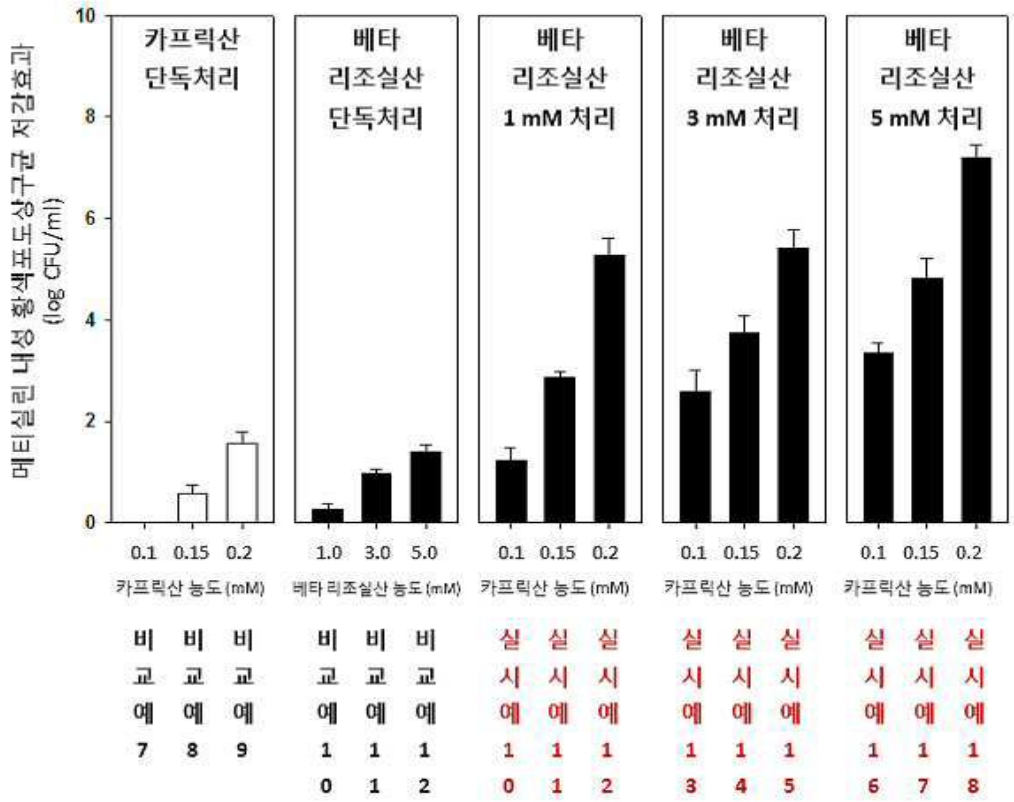
| 벤조일 유도체군 | | | | | | 카프릭산 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 베타 리조실산 | | 하이드록시 벤조산 | | 벤조산 | | | |
| mM | % | mM | % | mM | % | mM | % |
| 1 | 0.012 | 1 | 0.014 | 1 | 0.016 | 0.1 | 0.002 |
| 3 | 0.037 | 3 | 0.041 | 3 | 0.048 | 0.15 | 0.003 |
| 5 | 0.061 | 5 | 0.069 | 5 | 0.079 | 0.2 | 0.004 |

도면

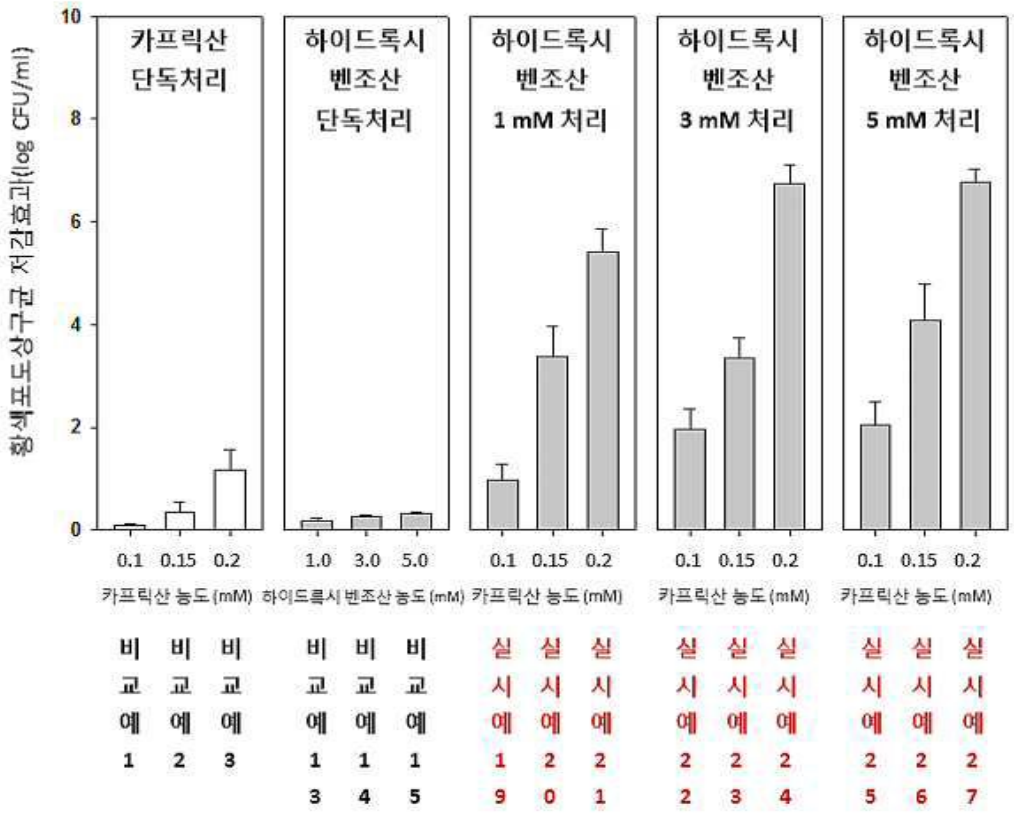
도면1


황색포도상구균 저감효과(log CFU/ml)
10
8
6
4
2
0
카프릭산 단독처리
베타 리조실산 단독처리
베타 리조실산 1 mM 처리
베타 리조실산 3 mM 처리
베타 리조실산 5 mM 처리
0.1 0.15 0.2
1.0 3.0 5.0
0.1 0.15 0.2
0.1 0.15 0.2
0.1 0.15 0.2
카프릭산 농도 (mM)
베타 리조실산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
비교예 1
비교예 2
비교예 3
비교예 4
비교예 5
비교예 6
실시예 1
실시예 2
실시예 3
실시예 4
실시예 5
실시예 6
실시예 7
실시예 8
실시예 9

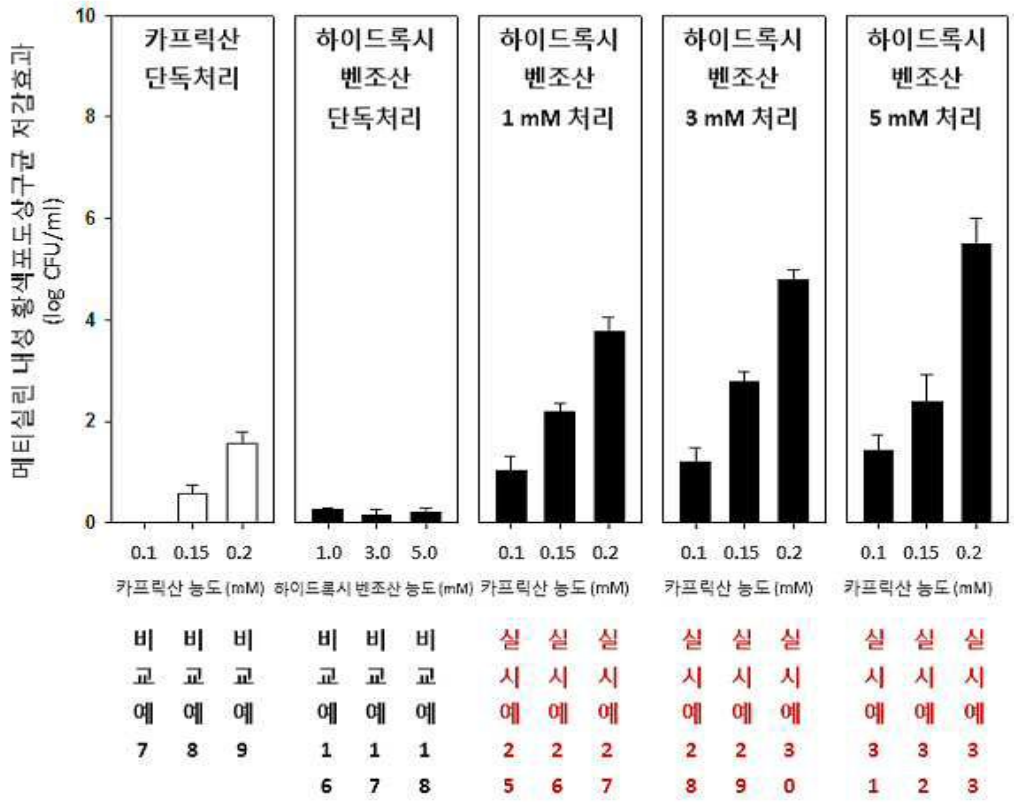
도면2


메티실린 내성 황색포도상구균 저감효과
(log CFU/ml)
10
8
6
4
2
0
카프릭산
단독처리
베타
리조실산
단독처리
베타
리조실산
1 mM 처리
베타
리조실산
3 mM 처리
베타
리조실산
5 mM 처리
0.1 0.15 0.2
1.0 3.0 5.0
카프릭산 농도 (mM)
베타 리조실산 농도 (mM)
비교예 7
비교예 8
비교예 9
비교예 10
비교예 11
비교예 12
실시예 13
실시예 14
실시예 15
실시예 16
실시예 17
실시예 18
실시예 19
실시예 20
실시예 21
실시예 22
실시예 23
실시예 24

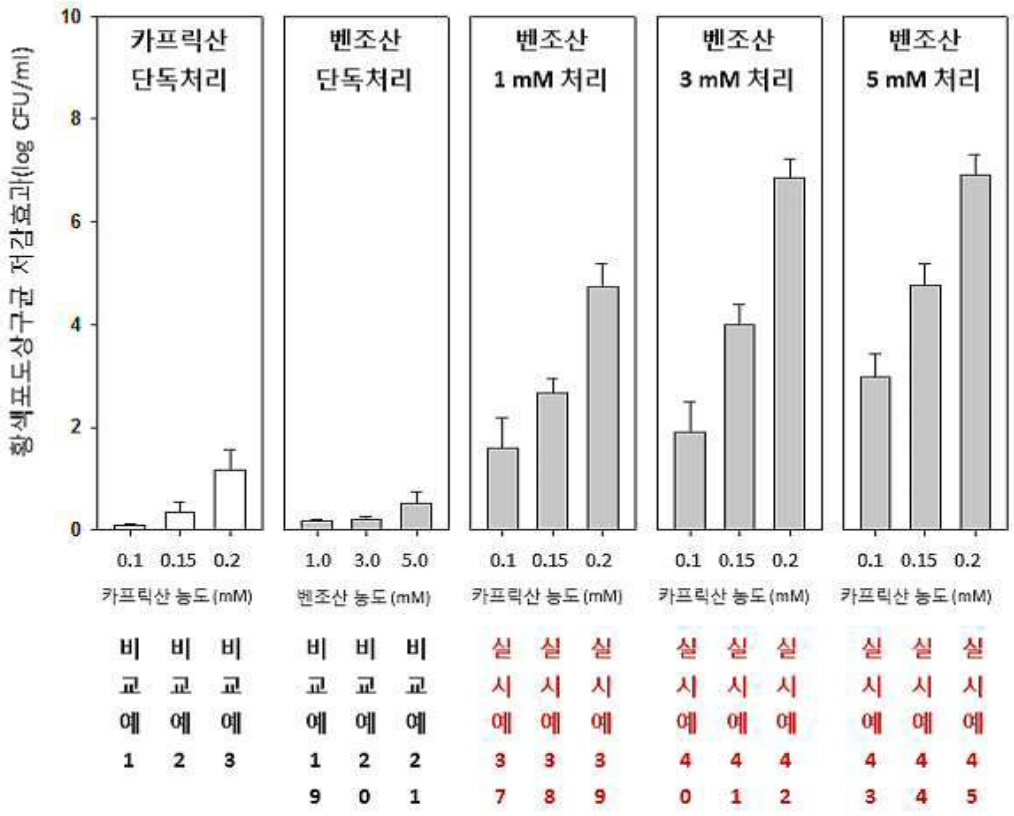
도면3


황색포도상구균 저감효과(log CFU/ml)
10
8
6
4
2
0
카프릭산 단독처리
하이드록시 벤조산 단독처리
하이드록시 벤조산 1 mM 처리
하이드록시 벤조산 3 mM 처리
하이드록시 벤조산 5 mM 처리
0.1 0.15 0.2
1.0 3.0 5.0
0.1 0.15 0.2
0.1 0.15 0.2
0.1 0.15 0.2
카프릭산 농도 (mM)
하이드록시 벤조산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
비교예 1
비교예 2
비교예 3
비교예 13
비교예 14
비교예 15
실시예 19
실시예 20
실시예 21
실시예 22
실시예 23
실시예 24
실시예 25
실시예 26
실시예 27

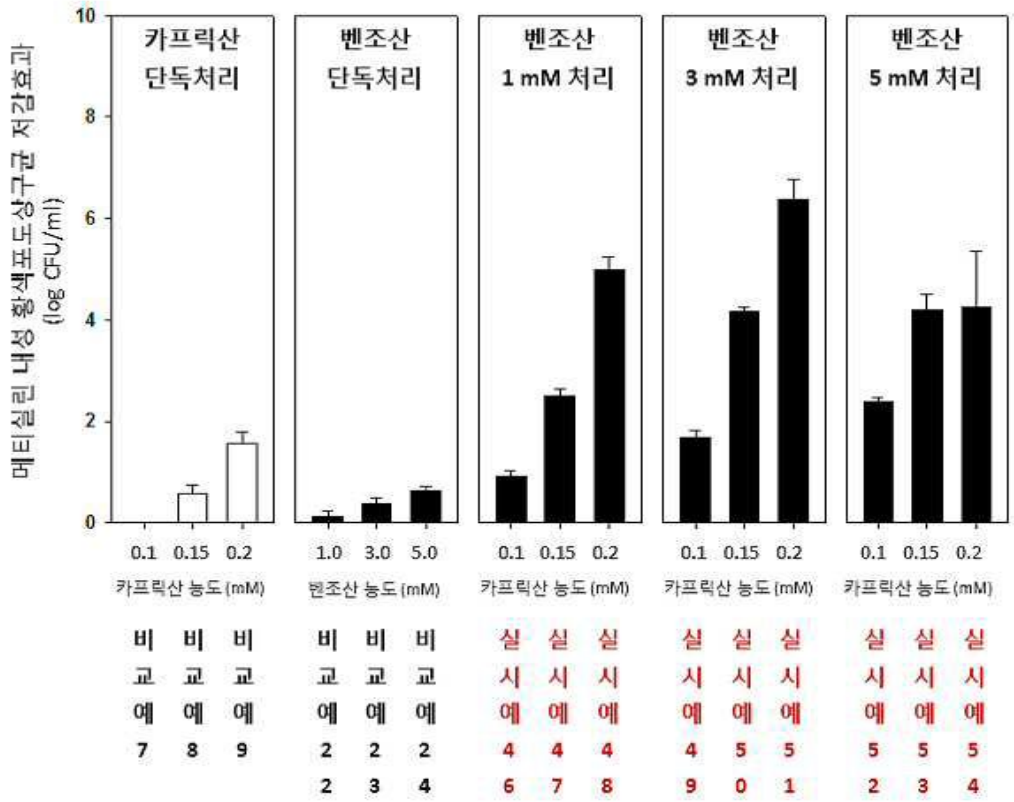
도면4


메티실린 내성 황색포도상구균 저감효과
(log CFU/ml)
10
8
6
4
2
0
카프릭산
단독처리
하이드록시
벤조산
단독처리
하이드록시
벤조산
1 mM 처리
하이드록시
벤조산
3 mM 처리
하이드록시
벤조산
5 mM 처리
0.1 0.15 0.2
1.0 3.0 5.0
0.1 0.15 0.2
0.1 0.15 0.2
0.1 0.15 0.2
카프릭산 농도 (mM)
하이드록시 벤조산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
카프릭산 농도 (mM)
비교예 7
비교예 8
비교예 9
비교예 16
비교예 17
비교예 18
실시예 25
실시예 26
실시예 27
실시예 28
실시예 29
실시예 30
실시예 31
실시예 32
실시예 33

도면5


황색포도상구균 저감효과(log CFU/ml)
10
8
6
4
2
0
카프릭산 단독처리
벤조산 단독처리
벤조산 1 mM 처리
벤조산 3 mM 처리
벤조산 5 mM 처리
0.1 0.15 0.2
카프릭산 농도 (mM)
1.0 3.0 5.0
벤조산 농도 (mM)
비교예 1
비교예 2
비교예 3
실시예 37
실시예 38
실시예 39
실시예 40
실시예 41
실시예 42
실시예 43
실시예 44
실시예 45

도면6


메티실린 내성 황색포도상구균 저감효과
(log CFU/ml)
10
8
6
4
2
0
카프릭산
단독처리
벤조산
단독처리
벤조산
1 mM 처리
벤조산
3 mM 처리
벤조산
5 mM 처리
0.1 0.15 0.2
1.0 3.0 5.0
카프릭산 농도 (mM)
벤조산 농도 (mM)
비교예 7
비교예 8
비교예 9
비교예 2 2
비교예 2 3
비교예 2 4
실시예 4 6
실시예 4 7
실시예 4 8
실시예 4 9
실시예 5 0
실시예 5 1
실시예 5 2
실시예 5 3
실시예 5 4