



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년12월26일
(11) 등록번호 10-1811263
(24) 등록일자 2017년12월15일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 31/02 (2006.01) A23L 3/3463 (2017.01)
A23L 3/3508 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A01N 31/02 (2013.01)
A23L 3/34635 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2017-0083201</p> <p>(22) 출원일자 2017년06월30일
심사청구일자 2017년06월30일</p> <p>(30) 우선권주장
1020160115626 2016년09월08일 대한민국(KR)</p> <p>(56) 선행기술조사문헌
KR1020150090559 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌</p> | <p>(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)</p> <p>(72) 발명자
이민석
경기도 성남시 분당구 내정로 152 파크타운 롯데아파트 133동 701호
조태진
서울특별시 노원구 노원로 428 204동 2301호 (상계동, 중앙하이츠아파트)
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
특허법인다나</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 8 항

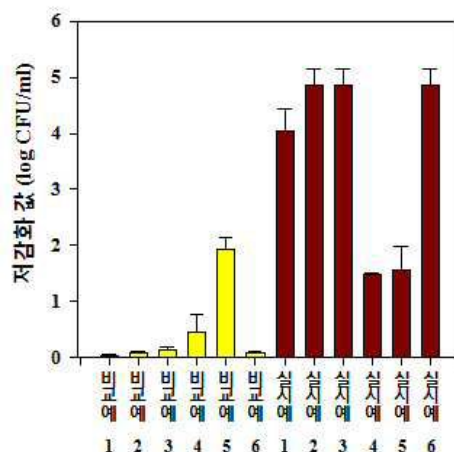
심사관 : 이선화

(54) 발명의 명칭 지오바실러스 스테아로써모필러스에 대한 살균용 조성물 및 이를 이용한 살균 방법

(57) 요약

본 발명은 지방산과 유기산을 극미량으로 포함하면서도 이들의 시너지 효과로부터 우수한 살균 효과를 도출함으로써 식품 부패의 원인균을 효과적으로 제어하기 위한 조성물 및 이를 이용한 부패 미생물의 살균 방법에 관한 것으로, 단시간 내에 영양세포 상태의 부패 원인균을 완전 사멸시키고 저장 중 포자 발아 및 생장을 제어하여 식품의 안전성 및 보존성을 높일 수 있다. 더욱이 본 발명은 식품 부패균인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대해 최적의 살균 효과를 나타내는 지방산과 유기산의 조합으로 라우린산과 구연산의 조합을 도출하였으며, 라우린산과 유기산의 조합처리 효과의 모델링으로부터 최적의 처리 조건을 확보하였다. 이에 다양한 처리 조건에 따른 살균 효과의 조절 가능성을 제공할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 3/3508 (2013.01)

(72) 발명자

김용기

경기도 용인시 기흥구 서천동로21번길 11-22 605
동 1304호

권정일

경기도 오산시 대원로 70, 513동 1061호

오준구

경기도 안양시 만안구 연현로 79번길 101동 1302
호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 314046032HD030

부처명 농림수산식품기술기획평가원

연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원

연구사업명 고부가가치식품기술개발사업

연구과제명 [제2협동]대중국 수출용 조제분유의 생산단계 안전성 확보 기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2015.11.28 ~ 2016.11.27

명세서

청구범위

청구항 1

지방산 및 유기산을 포함하는 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균용 조성물에 있어서,

상기 지방산은 라우린산이고, 유기산은 젖산이며,

상기 라우린산과 젖산은 농도가 각각 0.03mM 내지 0.07mM인 살균용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

지방산과 유기산은 2:1 내지 1:2의 농도비로 포함되는 것인, 살균용 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

지방산과 유기산은 1.5:1, 1:1 또는 1:1.5의 농도비로 포함되는 것인, 살균용 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 살균용 조성물을 포함하는, 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*) 살균용 식품 포장재.

청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 살균용 조성물을 식품 포장재에 도포 또는 코팅하는 단계를 포함하는, 식품에서 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)를 살균하기 위한 식품 포장 방법.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 살균용 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는, 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 의한 부패 억제 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

살균용 조성물의 처리 온도는 30 내지 80℃의 온도조건에서 수행되는 것인, 부패 억제 방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

살균용 조성물의 처리 시간은 1 내지 10분간 수행되는 것인, 부패 억제 방법.

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 지오바실러스 스테아로써모필러스에 대한 살균용 조성물 및 이를 이용한 지오바실러스 스테아로써모필러스의 살균 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)는 포자 형성이 가능한 그람 양성 세균으로, 병원성은 보유하고 있지 않으나 40℃ 내지 60℃ 수준의 고온 환경에서 활발하게 성장하여 부패 효소를 생산할 수 있는 부패 원인균 중 하나로 알려져 있다. 특히 이 부패 원인균의 포자는 일반적인 식품 가공·제조 중 살균 처리 조건에서 생존할 수 있는 수준의 높은 열 저항성을 나타내기 때문에 살균 처리 이후 공정 또는 제품화 이후 보관 및 조리 과정 등에서 부패에 의한 제품 열화를 초래할 수 있으므로 제어가 필요하다.

[0003] 이에, 양질의 식품을 위해 부패 미생물이나 병원성 미생물을 제어함으로써 식품의 안정성을 확보하기 위한 물리적, 화학적, 생물학적으로 다양한 첨단 살균 방법이 개발되고 있다. 최근에는 인공화합물 및 합성첨가물에 대한 소비자의 부정적 인식이 천연재료에서 분리되는 천연첨가물에 대한 관심 증가로 연결되었고, 이에 따라 천연 유래 항균제제를 이용한 친환경 살균 처리법이 각광받고 있는 추세이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0004] (특허문헌 0001) 한국 등록특허 제10-1007869호(2011.01.06.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 목적은 단시간 내에 영양세포 상태의 지오바실러스 스테아로써모필러스를 완전 사멸시키고 저장 중 포자 발아 및 생장을 제어하여 식품의 안전성 및 보존성을 높이는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 이에, 본 발명자들은 포자 수준의 완전 사멸이 어려운 부패 원인균 중 하나인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)를 살균하기 위해 연구하던 중, 본 발명의 살균용 조성물이 지방산과 유기산을 극미량으로 포함하면서도 이들의 시너지 효과로부터 우수한 살균 효과를 도출하여 지오바실러스 스테아로써모필러스를 효과적으로 제어할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

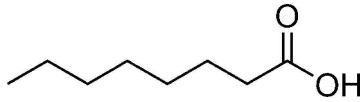
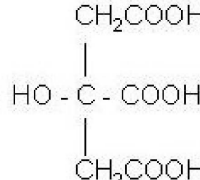
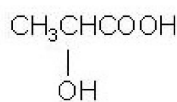
[0007] 이에, 본 발명은 카프릴산, 카프릭산 및 라우린산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 지방산 0.001mM 내지 0.07mM; 및

[0008] 구연산 및 젖산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인 유기산 0.001mM 내지 0.07mM을 포함하는 지오바실러스

스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균용 조성물을 제공한다.

- [0009] 본 발명에 있어서, 용어 “살균”은 세균, 효모, 곰팡이 등 미생물의 영양세포를 사멸시키는 것을 의미한다. 본 발명에 있어서, 살균 효과는 지오바실러스 스테아로써모필러스의 영양세포를 사멸시키는 것일 수 있다.
- [0010] 본 발명에 있어서, 상기 지방산은 카프릴산, 카프릭산 및 라우린산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 종류가 이에 한정되는 것은 아니며, 식품에 첨가가능하고 살균 특성을 갖는 지방산이라면 제한없이 사용될 수 있다.
- [0011] 상기 유기산은 구연산 및 젖산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으나, 종류가 이에 한정되는 것은 아니며, 식품에 첨가가능하고 살균 특성을 갖는 유기산이라면 제한없이 사용될 수 있다.
- [0012] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 지방산과 유기산은 식품첨가물 공전에 등록되어 있는 첨가물 제제일 수 있다(표 1). 따라서, 식품에 첨가하는 경우, 화학적 제제 첨가물에 대한 소비자의 우려를 감소시킬 수 있다.

표 1

식품첨가물명		식품첨가물 공전 등 재번호	식품첨가물 공전 정의 및 화학 구조식
지방산	카프릴산	식품첨가물 공전 192번	이 품목은 지방에서 얻어지는 포화지방산으로서 그 주성분은 카프릴산($C_8H_{16}O_2$)이다. 
	카프릭산	식품첨가물 공전 188번	이 품목은 지방에서 얻어지는 포화지방산으로서 그 주성분은 카프릭산($C_{10}H_{20}O_2$)이다.
	라우린산	식품첨가물 공전 180번	이 품목은 코코넛오일 및 기타 식물성지방에서 얻어지는 고형지방산으로서 그 주성분은 라우린산($C_{12}H_{24}O_2$)이다.
유기산	구연산	식품첨가물 공전 16번	이 품목에는 결정물(일수염) 및 무수물이 있고, 각각을 구연산(결정) 및 구연산(무수)라 칭한다. 
	젖산	식품첨가물 공전 206번	이 품목은 젖산 및 젖산축합물의 혼합물이다. 

- [0014] 본 발명에 있어서, 상기 지방산과 유기산은 조성물 10ml당 각각 0.001mM 내지 0.1mM의 농도로 포함될 수 있으며, 예컨대 0.001mM 내지 0.09mM, 0.001mM 내지 0.08mM, 0.001mM 내지 0.07mM, 0.005mM 내지 0.065mM, 0.008mM 내지 0.06mM, 0.009mM 내지 0.055mM, 0.0075mM 내지 0.05mM, 0.01mM 내지 0.05mM, 0.015mM 내지 0.04mM, 0.015mM 내지 0.045mM, 0.03mM 내지 0.07mM, 0.02mM 내지 0.05mM, 0.02mM 내지 0.035mM, 0.02mM 내지 0.03mM, 0.025mM 내지 0.05mM, 0.015mM 내지 0.05mM, 0.01mM 내지 0.02mM, 0.01mM 내지 0.07mM의 농도로 포함될 수 있다. 본 발명의 조성물은 상기와 같은 농도범위로 지방산과 유기산이 포함되는 경우, 낮은 농도로도 부패 원인균에 대해 유의한 살균 효과를 나타낼 수 있다.
- [0015] 또한, 상기 지방산 및 유기산은 전체 조성물 중량 대비 0.1 내지 5 중량%로 포함될 수 있으며, 예컨대 0.1 내지 3 중량%, 0.5 내지 3 중량%, 0.5 내지 2 중량%, 0.5 내지 1.5 중량%로 포함될 수 있다.

- [0016] 본 발명에 있어서, 상기 살균용 조성물은 부패 원인균 중 하나인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대해 살균 효과를 나타낼 수 있다.
- [0017] 본 발명에 있어서, 상기 지방산과 유기산은 2:1 내지 1:2의 농도비로 포함될 수 있으며, 가장 바람직하게는 1.5:1, 1:1 또는 1:1.5의 농도비로 포함될 수 있다.
- [0018] 한 구체예에서, 상기 지방산은 카프릴산일 수 있으며, 유기산은 구연산일 수 있다. 이때, 상기 카프릴산과 구연산은 각각 0.03 내지 0.07mM의 농도로 포함될 수 있으며, 예컨대 0.04 내지 0.06mM의 농도로 포함될 수 있다.
- [0019] 다른 구체예에서, 상기 지방산은 카프릭산일 수 있으며, 유기산은 구연산일 수 있다. 이때, 상기 카프릴산과 구연산은 각각 0.03 내지 0.07mM의 농도로 포함될 수 있으며, 예컨대 0.04 내지 0.06mM의 농도로 포함될 수 있다.
- [0020] 또 다른 구체예에서, 지방산은 라우린산일 수 있으며, 유기산은 구연산 또는 젖산일 수 있다. 이때, 상기 라우린산과 구연산 또는 젖산은 각각 0.03mM 내지 0.07mM의 농도로 포함될 수 있으며, 예컨대 0.04mM 내지 0.06mM의 농도로 포함될 수 있다.
- [0021] 또 다른 구체예에서, 상기 지방산은 라우린산일 수 있으며, 유기산은 구연산일 수 있다. 이때, 상기 라우린산과 구연산은 0.01mM 내지 0.025mM의 농도로 포함될 수 있으며, 예컨대 0.01mM 내지 0.02mM의 농도로 포함될 수 있다. 특히, 하기 실시예에서는, 라우린산과 구연산의 조합이 지방산과 유기산의 조합 중 가장 월등한 살균 효과를 나타내는 것으로부터 더 낮은 농도의 라우린산-구연산 조합처리에서 지오바실러스 스테아로써모필러스에 대한 살균 효과를 확인한 결과, 다른 지방산과 구연산의 조합처리 농도보다 더 낮은 농도에서도 유의한 수준의 살균 효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0022] 하기 실시예에서는, 부패 원인균 중 하나인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대하여 상기 조성물에 포함된 극미량의 지방산과 유기산이 시너지 효과를 도출함으로써 우수한 살균 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명에 따른 살균용 조성물은 식품첨가물 공전에 등재된 지방산 및 유기산을 적은 농도로 포함하면서도 유의한 살균 효과 나타냄으로써, 가공식품 제조 시 식품 및 식품 포장재 등에 넓게 적용시킬 수 있다.
- [0023] 이에, 본 발명에서는 상기 살균용 조성물을 포함하는 식품 포장재 및 이를 이용한 살균 방법을 제공한다.
- [0025] 본 발명의 한 구체예에서는 상기 살균용 조성물을 포함하는 식품 포장재를 제공한다.
- [0026] 본 발명에 따른 식품 포장재는 가공식품 제조 시, 높은 열저항성으로 인해 살균 처리 후에도 사멸되지 않아 부패 발생 위험성을 내포하고 있는 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 나타낸다.
- [0027] 따라서, 상기 살균용 조성물은 식품에서 부패를 유발하는 부패 원인균인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)의 예방, 활성 억제 등을 위해 사용될 수 있으며, 상기 식품은 가공식품과 같은 장기간 보관을 위해 제조된 식품을 포함한다.
- [0028] 또한, 본 발명은 상기 살균용 조성물을 식품 포장재에 도포 또는 코팅하는 단계를 포함하는, 식품에서 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)를 살균하기 위한 식품 포장 방법을 제공한다.
- [0029] 본 발명의 식품 포장 방법에 따라 살균용 조성물을 식품 포장재에 처리함으로써 식품에서의 부패 원인균에 의한 부패를 예방하거나 부패 원인균의 활성을 억제시킬 수 있으므로, 식품의 안전성 및 보존성을 높일 수 있다.
- [0031] 본 발명은 상기 살균용 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는, 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 의한 부패 억제 방법을 제공한다.
- [0032] 상기 식품에 처리하는 단계는 식품에 극소량으로 첨가하는 단계일 수 있다. 또한, 상기 식품에 처리하는 단계는 상기 조성물을 식품에 첨가한 후 45 내지 60℃의 온도범위로 1 내지 10분 간 열처리하는 단계를 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 열처리 단계는 30 내지 80℃, 예컨대 40 내지 70℃에서 수행되는 것일 수 있다. 본 발명에 따른 조성물은 상기와 같은 조건에서 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대해 우수한 살균력을 나타내므로, 식품에 첨가되는 경우 상기 균의 생장 온도에서도 완전 살균이 가능하여 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 의한 부패를 억제시킬 수 있다.
- [0033] 따라서, 본 발명에 따른 살균용 조성물은 식품첨가물 공전에 등재된 지방산 및 유기산을 포함하므로 식품에 첨

가되어도 안전할 뿐만 아니라, 극소량으로 첨가되어 맛, 향과 같은 관능적 특성에 영향을 미치지 않고서도 단시간 내에 영양세포를 사멸시킬 수 있으므로 우수한 살균 효과를 나타낼 수 있다.

[0035] 본 발명은 라우린산 및 구연산의 조합처리에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)를 사멸시키는 방법을 제공한다.

[0036] 구체적으로, 상기 방법은

[0037] (i) 시료로부터 목표 미생물인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)의 초기 농도(N_0)를 측정하는 단계;

[0038] (ii) 상기 목표 미생물의 초기 농도 및 사멸시키고자 하는 특정 미생물의 농도(N_s)를 하기 일반식에 적용하여, X_1 (라우린산 농도), X_2 (구연산 농도), X_3 (처리 온도) 및 X_4 (처리 시간)을 결정하는 단계; 및

[0039] (iii) 상기 (ii) 단계에서 결정된 X_1 (라우린산 농도), X_2 (구연산 농도), X_3 (처리 온도) 및 X_4 (처리 시간)에 따라, 시료에 라우린산 및 구연산을 조합처리하는 단계를 포함한다:

[0040] [일반식]

$$Y = -34.80 + 1153.75X_1 + 569.08X_2 + 0.79X_3 + 1.15X_4 \\ - 19633X_1X_1 - 4433.33X_2X_2 - 0.004X_3X_3 - 0.05X_4X_4 \\ + 200X_1X_2 - 11.95X_1X_3 + 17.75X_1X_4 - 7.15X_2X_3 - 0.25X_2X_4 - 0.01X_3X_4$$

[0041]

[0042] 상기 일반식에서, Y는 미생물의 상용로그 감소 비율(N_s/N_0)을 나타낸다.

[0043] 한 구체예에서, X_1 (라우린산 농도) 및 X_2 (구연산 농도)는 0.001 내지 0.07mM이고, X_3 (처리 온도)는 30 내지 80℃이며, X_4 (처리 시간)는 1 내지 10분일 수 있다.

[0044] 다른 한 구체예에서, 상기 X_3 (처리 온도)는 40 내지 70℃일 수 있다.

발명의 효과

[0045] 본 발명에 따른 살균용 조성물은 지방산과 유기산을 극미량으로 포함하면서도 이들의 시너지 효과로부터 우수한 살균 효과를 도출함으로써 식품 부패의 원인균을 효과적으로 제어할 수 있고, 단시간 내에 영양세포 상태의 부패 원인균을 완전 사멸시키는 동시에 살균 처리 이후 제품의 저장 및 보관 과정에서 부패 원인균의 성장 온도에 노출되는 경우 즉시 제어가 가능하여 포자 발아 및 생장을 제어함으로써 지속적인 살균 효과를 나타낼 수 있어 식품의 안전성 및 보존성을 높일 수 있다. 더욱이 본 발명은 식품 부패균인 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대해 최적의 살균 효과를 나타내는 지방산과 유기산의 조합으로 라우린산과 구연산의 조합을 도출하였으며, 라우린산과 유기산의 조합처리 효과의 모델링으로부터 최적의 처리 조건을 확보하였다. 이에 다양한 처리 조건에 따른 살균 효과의 조절 가능성을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 본 발명에 따른 살균용 조성물이 0.05mM의 지방산 및 유기산을 포함하는 경우의 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 나타낸 결과이다.

도 2는 본 발명에 따른 살균용 조성물이 0.025mM의 지방산 및 유기산을 포함하는 경우의 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 나타낸 결과이다.

도 3은 라우린산 농도(0.0075-0.0175mM) 및 구연산의 농도(0.0075-0.0175mM) 조건에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 3차원 반응표면 그래프로 나타낸 결과이다.

도 4는 라우린산 농도(0.0075-0.0175mM) 및 처리 온도(30-70℃)의 조건에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 3차원 반응표면 그래프로 나타낸 결과이다.

도 5는 구연산 농도(0.0075-0.0175mM) 및 처리 온도(30-70℃)의 조건에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 3차원 반응표면 그래프로 나타낸 결과이다.

도 6은 라우린산 농도(0.0075-0.0175mM) 및 처리 시간(1-8분)의 조건에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스

(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 3차원 반응표면 그래프로 나타낸 결과이다.

도 7은 구연산 농도(0.0075-0.0175mM) 및 처리 시간(1-8분)의 조건에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 3차원 반응표면 그래프로 나타낸 결과이다.

도 8은 처리 온도(30-70℃) 및 처리 시간(1-8분)의 조건에 따른 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 살균 효과를 3차원 반응표면 그래프로 나타낸 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

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.

[실시예 1 내지 12 및 비교예 1 내지 11] 살균 조성물의 제조

살균 조성물을 제조하기 위해 98% 에탄올을 이용하여 카프릴산, 카프릭산, 라우린산(Sigma Chemical co., St, Louis, MO, USA)의 0mM, 2.5mM, 5mM 표준 용액을 각각 제조하였다. 또한, 2차 멸균 증류수를 이용하여 구연산, 젖산(Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA)의 0mM, 2.5mM, 5mM 표준 용액을 각각 제조하였다. 멸균된 튜브에 0.85%(w/v) 멸균 생리 식염수를 9.8ml씩 담고, 각 처리군에 해당하는 상기 표준 용액 0.1ml씩을 첨가 및 균질화하여 처리 용액을 제조하였다. 비교예로는, 단일 항균물질만을 첨가한 양성 대조구를 설정하여 최종적으로 0mM, 0.025mM, 0.05mM의 지방산 또는 유기산을 첨가하여 제조하였으며, 실시예로는, 0.025mM, 0.05mM의 지방산 및 유기산이 첨가된 살균 조성물을 제조하였다. 상기와 같이 제조한 실시예 및 비교예의 조성은 하기 표 2와 같다.

표 2

그룹	구분	지방산 처리 조건		유기산 처리 조건	
		종류	농도(mM)	종류	농도(mM)
대조구	비교예 1	-	-	-	-
	양성 대조구	비교예 2	카프릴산	-	-
		비교예 3	카프릭산	-	-
		비교예 4	라우린산	-	-
		비교예 5	-	구연산	0.05
		비교예 6	-	젖산	0.05
		비교예 7	카프릴산	-	-
		비교예 8	카프릭산	-	-
		비교예 9	라우린산	-	-
		비교예 10	-	구연산	0.025
		비교예 11	-	젖산	0.025
실험구	실험구	실시예 1	카프릴산	구연산	0.05
		실시예 2	카프릭산	구연산	0.05
		실시예 3	라우린산	구연산	0.05
		실시예 4	카프릴산	젖산	0.05
		실시예 5	카프릭산	젖산	0.05
		실시예 6	라우린산	젖산	0.05
		실시예 7	카프릴산	구연산	0.025
		실시예 8	카프릭산	구연산	0.025
		실시예 9	라우린산	구연산	0.025
		실시예 10	카프릴산	젖산	0.025
		실시예 11	카프릭산	젖산	0.025
		실시예 12	라우린산	젖산	0.025

[제조예] 지오바실러스 스테아로써모필러스 균액의 제조

부패 원인 유포자균 중 특히 높은 열저항성을 지닌 포자를 형성할 수 있어 식품 공정에서 사용되는 일반적 살균

조건으로 제어가 어려운 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*) 표준균주(ATCC 12980)를 실험 대상균으로 선정하여 Tryptic soy broth(TSB, Difco, Detroit, MI, USA)에 접종한 후 55° C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양된 균주는 15 ml 플라스틱 튜브(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 옮긴 후 3,000×g에서 15분간 원심분리하였다. 상등액을 따라내 제거한 후 0.85%(w/v) 멸균 생리식염수를 동량 첨가해 미생물 세포를 2회 세척하여 균액(cell suspension)을 제조하였다.

[0056] [실험예 1] 지오바실러스 스테아로써모필러스에 대한 살균력 확인

상기 실시예 및 비교예의 제조방법에 의해 제조된 살균 조성물에 7 log CFU/ml 수준의 균액 0.1ml를 접종하여 5분 처리한 후, 균액을 타 증균배지인 Tryptic Soy Agar(TSA, Difco)에 도말하였다(검출 한계: 1 CFU/ml). 모든 실험은 세번 반복 수행되었으며, 도말한 배지는 55° C에서 48시간 배양한 후 배지 상에 형성된 콜로니를 계수하여 각 조건별 균 농도를 log 값으로 산출하였다. 초기 접종균수(N_0)와 처리 후 균수(N_1)를 바탕으로 각 용액에서 처리 시간별 저감화값($\log(N_0/N_1)$)을 산출하였다. 또한 검출 한계 이하 수준의 저감 결과가 나타난 실험구의 경우 처리 후 1 ml의 균액을 20 ml의 증균배지 TSB에 첨가한 후 55° C에서 48시간 배양하였다. 배양 완료된 균액은 TSA에 희석 도말하여 55° C에서 48시간 배양한 후 배지 상 콜로니가 생성되지 않는 경우 대상균이 완전 사멸한 것으로 판정하였다.

상기와 같은 방법으로 확인한 실험예의 결과는 도 1 및 도 2에 나타내었다. 도 1은 0.05mM의 지방산 및 유기산이 조합된 조성물에 의한 저감화 정도, 도 2는 0.025mM의 지방산 및 유기산이 조합된 조성물에 의한 저감화 정도를 나타낸 것이다.

도 1 및 2에 따르면, 지방산 및 유기산에 노출되지 않은 비교예 1의 경우, 초기 수준의 대상균 수가 유지되었고, 지방산 또는 유기산을 각각 단독 처리한 비교예 2 내지 4에서 역시 미미한 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)에 대한 저감 효과를 나타난 반면 지방산 및 유기산을 복합 처리한 실시예에서는 대부분 저감 효과가 더욱 큰 폭으로 나타났다. 특히 0.05mM의 카프릭산 및 0.05mM의 구연산이 조합된 실시예 2와, 0.05mM의 라우린산과 0.05mM의 구연산 또는 젖산이 조합된 실시예 3 및 6, 0.025mM의 라우린산과 0.025mM의 구연산이 조합된 실시예 9의 경우, 대상균의 완전 사멸을 확인하여 본 발명에서 제시하는 복합 조성물의 살균효과가 뛰어난임을 입증하였다. 이는 미량의 천연항균물질을 이용하여 단시간 내 영양 세포를 모두 제거할 뿐만 아니라 이후 포자 상태의 균이 적절한 조건에서 발아 시에도 단시간 내 제거가 가능하기 때문에 지오바실러스 스테아로써모필러스(*Geobacillus stearothermophilus*)의 생장 및 부패 효소 생산 가능성을 완전히 없앤다는 점에서 의미가 있다.

[0062] [실험예 2] 실험 설계

상기 실험예 1을 통해 다양한 지방산 및 유기산의 조합 중 라우린산과 구연산의 조합처리가 가장 월등한 살균 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 특히, 실험예 1의 최소 처리 조건에서도 ND 수준의 저감 효과가 확보되었는데, 이를 통해 더 낮은 처리 조건에서도 충분한 저감 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예측하였다. 더 나아가, 지방산 및 유기산의 농도, 처리 시간 및 처리 온도를 요인으로 선정하여 다양한 조건이 적용가능하도록 예측모델식을 개발하고자 하였다.

이에, 본 실험예에서는 예측모델식 개발 및 최적 처리 조건을 도출하기 위해 반응표면분석법을 이용하여 중심합성계획법으로 설계하였다. 중심합성계획법을 사용하면 2차 모델의 제공 항들의 효율적인 추정이 가능하고, 직교블록화(orthogonal blocking) 및 회전성(retatiability) 구현이 용이하다. 중심합성계획은 중심점(central point), 요인배치 실험점(factorial points), 꼭지점(axial point)으로 이루어진다. 독립변수는 라우린산의 농도(x_1), 구연산의 농도(x_2), 처리 온도(x_3), 처리 시간(x_4)의 4개 요인으로 하였으며, 종속변수(Y_1)는 지오바실러스 스테아로써모필러스에 대한 살균 효과로 하였다. 각 요인은 상기 실험예 1의 결과를 기반으로 설정하였으며, 라우린산 및 구연산의 농도는 실험예 1에서 고정되었던 조건보다 낮게(0.0075-0.0175mM) 설정하였으며, 처리 온도 및 시간은 실험예 1에서 고정되었던 조건을 중심으로 높은 값과 낮은 값을 그 범위(0.0075-0.0175mM)로 하여 보다 넓은 범위에서의 살균 효과를 확인하고자 하였다. 해당 기준에 의거한 예비 실험을 통해 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하여 하기 표 3과 같이 구간을 설정하였다. 하기 표 3은 중심합성계획을 위한 조합처리의 독립변수와 구간을 나타내었다.

표 3

요인	부호	구간				
		-2	-1	0	+1	+2
라우린산 농도(mM)	x_1	0.0075	0.01	0.0125	0.015	0.0175
구연산 농도(mM)	x_2	0.0075	0.01	0.0125	0.015	0.0175
처리 온도($^{\circ}$ C)	x_3	30	40	50	60	70
처리 시간(분)	x_4	1	3	5	7	9

6개의 중심점을 포함하여 중심합성설계에서 4개의 독립변수로 선택할 경우, 실험해야 하는 수인 30개의 조건(실험점 16개, 꼭지점 8개, 중심점 반복원리에 따른 6개)에 대해서 3반복 실험을 수행하여 평균값을 반응표면회귀 분석에 사용하였다. 하기 표 4는 조합처리의 반응표면분석 조건을 나타내었다.

표 4

그룹	구분	조건							
		라우린산(mM)		구연산(mM)		온도($^{\circ}$ C)		시간(분)	
		x_1	(X_1)	x_2	(X_2)	x_3	(X_3)	x_4	(X_4)
실험점 (Factorial points)	1	-1	(0.01)	-1	(0.01)	-1	(40)	-1	(3)
	2	+1	(0.015)	-1	(0.01)	-1	(40)	-1	(3)
	3	-1	(0.01)	+1	(0.015)	-1	(40)	-1	(3)
	4	+1	(0.015)	+1	(0.015)	-1	(40)	-1	(3)
	5	-1	(0.01)	-1	(0.01)	+1	(40)	-1	(3)
	6	+1	(0.015)	-1	(0.01)	+1	(40)	-1	(3)
	7	-1	(0.01)	+1	(0.015)	+1	(60)	-1	(3)
	8	+1	(0.015)	+1	(0.015)	+1	(60)	-1	(3)
	9	-1	(0.01)	-1	(0.01)	-1	(40)	+1	(7)
	10	+1	(0.015)	-1	(0.01)	-1	(40)	+1	(7)
	11	-1	(0.01)	+1	(0.015)	-1	(40)	+1	(7)
	12	+1	(0.015)	+1	(0.015)	-1	(40)	+1	(7)
	13	-1	(0.01)	-1	(0.01)	+1	(60)	+1	(7)
	14	+1	(0.015)	-1	(0.01)	+1	(60)	+1	(7)
	15	-1	(0.01)	+1	(0.015)	+1	(60)	+1	(7)
	16	+1	(0.015)	+1	(0.015)	+1	(60)	+1	(7)
꼭지점 (Axial points)	17	-2	(0.0075)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	18	+2	(0.0175)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	19	0	(0.0125)	-2	(0.0075)	0	(50)	0	(5)
	20	0	(0.0125)	+2	(0.0175)	0	(50)	0	(5)
	21	0	(0.0125)	0	(0.0125)	-2	(30)	0	(5)
	22	0	(0.0125)	0	(0.0125)	+2	(70)	0	(5)
	23	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	-2	(1)
	24	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	+2	(9)
중심점 (Central points)	25	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	26	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	27	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	28	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	29	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)
	30	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)

[실험예 3] 라우린산 및 구연산의 단독처리에 대한 지오바실러스 스테아로써모필러스 살균 효과 관찰

라우린산과 구연산의 조합처리에 따른 살균 효과를 도출하기 위해, 살균 효과의 면밀한 비교를 위해 각 요인의 +1 수준에서 라우린산 단독, 구연산 단독, 열 단독처리의 살균 효과(저감화)를 관찰하였다(표 5). 하기 표 5

는 지오바실러스 스테아로써모필러스에 대한 라우린산, 구연산, 열 처리의 살균 효과(+1 range)를 나타낸 것이다(초기 지오바실러스 스테아로써모필러스 균수: $4.87 \pm 0.13 \log \text{CFU/ml}$).

표 5

[0071]

Run	단독처리 조건				
	라우린산(mM)	구연산(mM)	온도(℃)	시간	저감화(Log CFU/ml)
	X_1	X_2	X_3	X_4	Y_1
1	0.015	-	30	9	0.31 ± 0.14
2	-	0.015	30	9	0.17 ± 0.21
3	-	-	60	9	0.45 ± 0.05

[0072]

그 결과, 각각의 단독처리에서는 최대 $0.45 \log \text{CFU/ml}$ 의 매우 미미한 지오바실러스 스테아로써모필러스 살균 효과를 확인할 수 있었다. 이는 본 실험의 조합처리에서 사용된 조건이 매우 미약한 조건임을 의미한다.

[0074]

[실험예 4] 조합처리의 반응표면분석 조건에서의 살균 효과 및 예측 모델식 도출

[0075]

중심합성계획에 의해 설계된 실험 대상 실험점, 꼭지점, 중심점의 각 조건의 처리 결과 확보된 지오바실러스 스테아로써모필러스 저감화 결과는 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

[0076]

그룹	구분	조건								효과
		라우린산(mM)		구연산(mM)		온도(℃)		시간(min)		저감화(Log CFU/ml)
		x_1	(X_1)	x_2	(X_2)	x_3	(X_3)	x_4	(X_4)	Y_1
실험점 (Factorial points)	1	-1	(0.01)	-1	(0.01)	-1	(40)	-1	(3)	0.62 ± 0.34
	2	+1	(0.015)	-1	(0.01)	-1	(40)	-1	(3)	1.46 ± 0.20
	3	-1	(0.01)	+1	(0.015)	-1	(40)	-1	(3)	1.34 ± 0.31
	4	+1	(0.015)	+1	(0.015)	-1	(40)	-1	(3)	2.18 ± 0.44
	5	-1	(0.01)	-1	(0.01)	+1	(60)	-1	(3)	4.49 ± 0.36
	6	+1	(0.015)	-1	(0.01)	+1	(60)	-1	(3)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
	7	-1	(0.01)	+1	(0.015)	+1	(60)	-1	(3)	4.77 ± 0.18
	8	+1	(0.015)	+1	(0.015)	+1	(60)	-1	(3)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
	9	-1	(0.01)	-1	(0.01)	-1	(40)	+1	(7)	1.24 ± 0.40
	10	+1	(0.015)	-1	(0.01)	-1	(40)	+1	(7)	2.88 ± 0.52
	11	-1	(0.01)	+1	(0.015)	-1	(40)	+1	(7)	1.94 ± 0.42
	12	+1	(0.015)	+1	(0.015)	-1	(40)	+1	(7)	3.88 ± 0.29
	13	-1	(0.01)	-1	(0.01)	+1	(60)	+1	(7)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
	14	+1	(0.015)	-1	(0.01)	+1	(60)	+1	(7)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
	15	-1	(0.01)	+1	(0.015)	+1	(60)	+1	(7)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
	16	+1	(0.015)	+1	(0.015)	+1	(60)	+1	(7)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
꼭지점 (Axial points)	17	-2	(0.0075)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	2.59 ± 0.31
	18	+2	(0.0175)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	4.42 ± 0.33
	19	0	(0.0125)	-2	(0.0075)	0	(50)	0	(5)	3.21 ± 0.14
	20	0	(0.0125)	+2	(0.0175)	0	(50)	0	(5)	4.56 ± 0.15
	21	0	(0.0125)	0	(0.0125)	-2	(30)	0	(5)	0.29 ± 0.24
	22	0	(0.0125)	0	(0.0125)	+2	(70)	0	(5)	$4.87 \pm 0.13 \text{ (ND)}$
	23	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	-2	(1)	1.54 ± 0.19
	24	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	+2	(9)	4.74 ± 0.15
중심점 (Central points)	25	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	4.37 ± 0.28
	26	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	4.27 ± 0.42
	27	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	3.82 ± 0.19
	28	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	3.87 ± 0.22
	29	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	4.14 ± 0.30
	30	0	(0.0125)	0	(0.0125)	0	(50)	0	(5)	3.90 ± 0.11

[0077] 단독처리에서와 달리 조합처리에서는 각 요인 수준에 따라 다양한 살균 효과가 나타났다. ND(no detection) 수준의 저감화에 해당하는 완전 사멸 결과의 경우, 실험에 1을 통해 확인할 수 없었던 조건이 다수 도출되었다. 예를 들면, 라우린산 0.015mM과 구연산 0.01mM의 60℃, 3분 처리를 조합한 경우, 매우 낮은 수준의 항균 물질과 짧은 처리 시간으로도 충분한 살균 효과를 얻을 수 있음을 증명하였다.

[0079] 상기 표 6의 살균 효과 결과를 기반으로, 종속변수[Y: 미생물 살균 효과(저감화; log CFU/ml)]와 독립변수[X₁, X₂, X₃, X₄: 각각 라우린산 농도(mM), 구연산 농도(mM), 처리 온도(℃), 처리 시간(분)]와의 관계를 반응표면회귀분석을 통해 다항 회귀식으로 도출하였으며, 1차 선형효과와 2차 곡선효과, 인자간의 교호작용 등을 살펴보았다. 예측모델식 도출을 위한 회귀분석은 statistical analysis system program(SAS, Version 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 수행하였다. 회귀식은 아래와 같다.

[0080]
$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1 X_1 + \beta_{22} X_2 X_2 + \beta_{33} X_3 X_3 + \beta_{44} X_4 X_4 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4$$

[0081] 각 상수는 model intercept(β_0), linear quadratic coefficients($\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}, \beta_{44}$), interaction coefficients($\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{14}, \beta_{23}, \beta_{24}, \beta_{34}$)에 해당한다. 회귀분석을 통해 아래와 같은 4 요인에 대한 2차 다항식의 예측모델식을 도출하였다. 각 변수들을 코드화시켜 산출한 예측모델식은 아래와 같다.

[0082]
$$Y = -34.80 + 1153.75 X_1 + 569.08 X_2 + 0.79 X_3 + 1.15 X_4 - 19633 X_1 X_1 - 4433.33 X_2 X_2 - 0.004 X_3 X_3 - 0.05 X_4 X_4 + 200 X_1 X_2 - 11.95 X_1 X_3 + 17.75 X_1 X_4 - 7.15 X_2 X_3 - 0.25 X_2 X_4 - 0.01 X_3 X_4$$

[0083] Y: 미생물 살균 효과;

[0084] X₁, X₂, X₃, X₄: 각각 라우린산 농도, 구연산 농도, 처리 온도, 처리 시간;

[0086] 전체 모델의 회귀분석(종속변수와 독립변수의 관계) 및 분산분석(각 처리 결과와 변동성 관계)을 통해 전체 모델에 어떻게 영향을 주는지 파악하기 위하여 분산분석을 수행한 결과, 일차항 및 이차항에서 각각 $p < 0.0001$ 및 $p=0.0039$ 의 높은 유의수준을 나타냈으며, 상호항의 경우 $p=0.0472$ 로 95%의 신뢰수준에서 유의적인 결과를 나타냈다. 회귀분석 및 분산분석 결과는 하기 표 7에 나타내었다.

[0087] 상기 표 6과 같은 중심합성계획법 기반 반응표면분석 결과를 바탕으로 2차 회귀식 분석 결과, 아래 표 6에서와 같이 관측점들의 변동을 예측모델식이 얼마나 잘 설명해주는가를 나타내는 결정계수 R-square(R^2)의 값이 0.9584로, 변이의 95%를 설명가능한 매우 높은 신뢰도를 보였으며(결정계수의 값이 1에 가까울수록 회귀식의 적합도가 높은 것을 나타낸다), $p < 0.0001$ 수준의 높은 유의확률을 나타내는 예측 모델식을 도출할 수 있었다. 특히, 본 모델의 독립변수가 4개임을 감안했을 때 매우 높은 신뢰수준이었다. 본 특허와 같은 수의 독립변수(4 요인), 같은 방법(중심합성계획법, 반응표면분석법)으로 예측모델식을 도출한 선행연구와 비교했을 때, Gao 등 (Use of response surface methodology to investigate the effect of food constituents on Staphylococcus aureus inactivation by high pressure and mild heat, 2006, Process Biochemistry, 41: 362-369)의 연구에서는 예측모델식의 결정계수의 값이 0.720으로 나타났고, Tanyldizi 등(Optimization of α -amylase production by Bacillus sp. using response surface methodology, 2005, Process Biochemistry, 40: 2291-2296)의 연구에서는 0.63으로 낮게 나타났다. 또한, 적합결여검정(Lack of fit) 결과, $p=0.0563$ 으로 95% 신뢰수준에서 반응 모델의 변수와 실험 요인 간 함수 관계를 설명할 수 있는 적절한 회귀식이 도출되었다고 판단하였다.

표 7

[0088]

Regression	자유도 (DF; Degree of freedom)	제곱합 (SS; Sum of squares)	R-square	F-value	P-value
Total Model	14	60.747180	0.9584	24.68	<.0001****
Linear(일차항)	4	53.421367	0.8428	75.96	<.0001****
Quadratic (이차항)	4	4.329263	0.0683	6.16	0.0039**
Cross-product (상호항)	6	2.996550	0.0473	2.84	0.0472*

[0089] * p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001 **** p<0.0001

[0090] 예측모델식의 각 항의 계수와 t-value, p-value를 기반으로 한 각 계수의 유의성 분석은 표 8에 나타내었다.

표 8

[0091]

계수(Coefficients)	Model term	Estimate	t-value	P-value
model intercept	β_0 Intercept	-34.80	-5.39	<.0001****
linear quadratic coefficients	β_1 라우린산 농도(X_1)	1153.75	2.56	0.0216*
	β_2 구연산 농도(X_2)	569.08	1.26	0.2254
	β_3 처리 온도(X_3)	0.79	6.99	<.0001****
	β_4 처리 시간(X_4)	1.15	2.32	0.0351*
	β_{11} 라우린산 농도 $\times$ 라우린산 농도(X_1^2)	-19633.00	-1.53	0.1462
	β_{22} 구연산 농도 $\times$ 구연산 농도(X_2^2)	-4433.33	-0.35	0.7341
	β_{33} 처리 온도 $\times$ 처리 온도(X_3^2)	-0.004	-4.42	0.0005***
	β_{44} 처리 시간 $\times$ 처리 시간(X_4^2)	-0.05	-2.67	0.0174*
interaction coefficients	β_{12} 라우린산 농도 $\times$ 구연산 농도(X_1X_2)	200.00	0.01	0.9906
	β_{13} 라우린산 농도 $\times$ 처리 온도(X_1X_3)	-11.95	-2.85	0.0122*
	β_{14} 라우린산 농도 $\times$ 처리 시간(X_1X_4)	17.75	0.85	0.4105
	β_{23} 구연산 농도 $\times$ 처리 온도(X_2X_3)	-7.15	-1.71	0.1088
	β_{24} 구연산 농도 $\times$ 처리 시간(X_2X_4)	-0.25	-0.01	0.9906
	β_{34} 처리 온도 $\times$ 처리 시간(X_3X_4)	-0.01	-2.30	0.0361*

[0092] 독립변수에 대한 종속변수의 반응 표면상태를 도 3 내지 도 8에 3차원 그래프로 나타내었다. 각각의 그래프는 두 변수에 대한 반응을 나타낸 것으로, 나타낸 변수 외의 다른 두 변수는 0 구간으로 고정하였다(라우린산 농도 0.0125mM, 구연산 농도 0.0125mM, 처리 온도 50℃, 처리 시간 5분). 4개의 요인 중 온도가 미생물 살균 효과에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 나타났고, 라우린산 농도와 처리 시간 또한 영향을 미치는 요소로 나타났다. 따라서 실제 산업에서 조합처리 기술을 적용할 때에는 처리 온도를 고려한 향균물질 농도, 시간의 조절이 필요할 것으로 생각된다.

[0094] [실험예 5] 최적 조건 도출

[0095] 회귀분석 결과 정상점(stationary point)이 안장점(saddle point)으로 판명되어, 최적 조건을 도출하기 위한 ridge 분석을 수행하여 최적 조건을 도출하였다. 그 결과, 지오바실러스 스테아로써모필러스 살균 효과의 최적 조건은 라우린산 농도 0.014mM, 구연산 농도 0.016mM, 처리 온도 59.263℃, 처리 시간 6.437분으로, 상기 조건이 5.199 log CFU/ml의 저감화 값을 도출할 수 있는 최적의 조건임을 확인하였다.

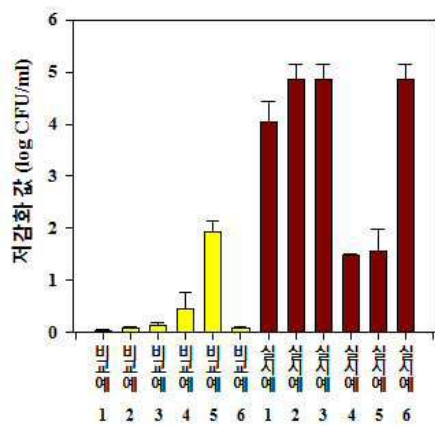
표 9

[0096]

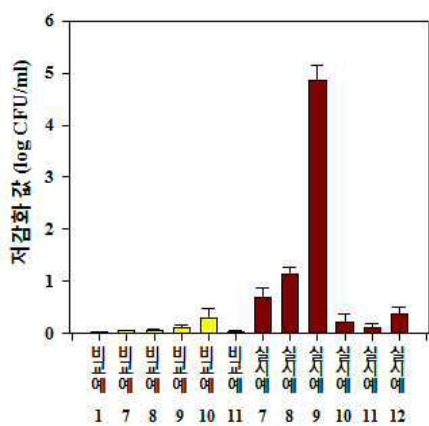
Factor	Coded	Un-coded
라우린산 농도(X_1)	0.368135	0.014341
구연산 농도(X_2)	0.807013	0.016535
처리 온도(X_3)	0.463157	59.263137
처리 시간(X_4)	0.359128	6.436510
Predicted value at stationary point: 5.199006		

도면

도면1

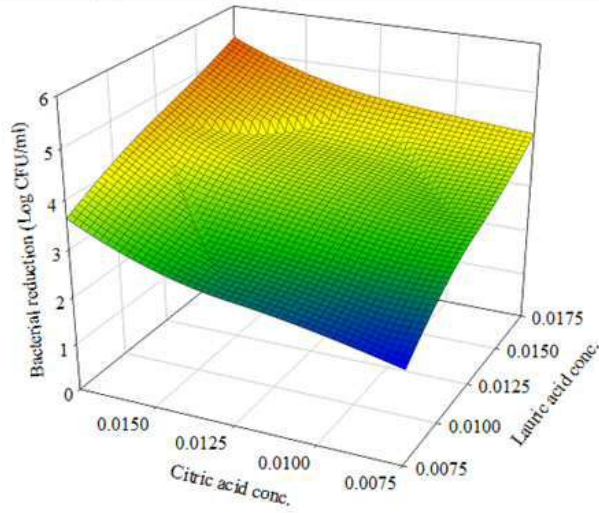


도면2



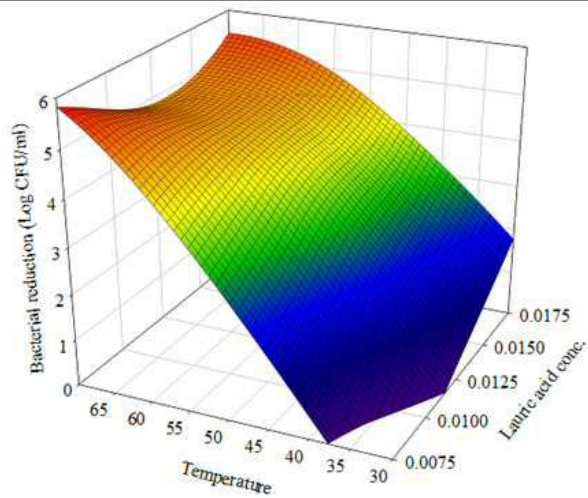
도면3

도 3. 라우린산-구연산



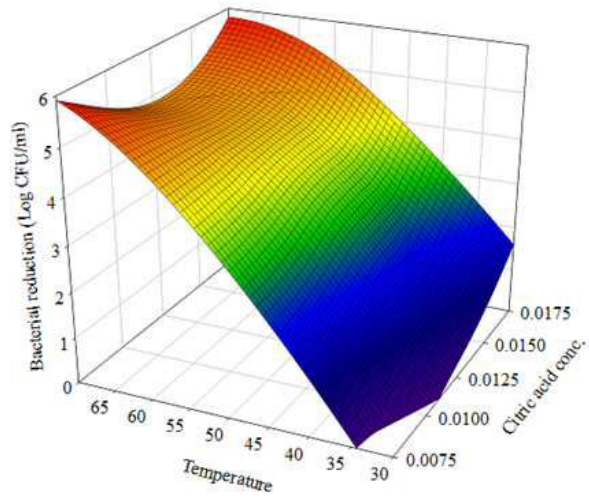
도면4

도 4. 라우린산-온도



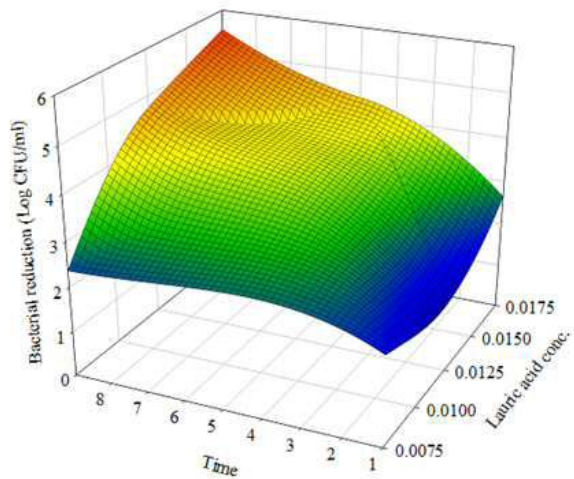
도면5

도 5. 구연산-온도



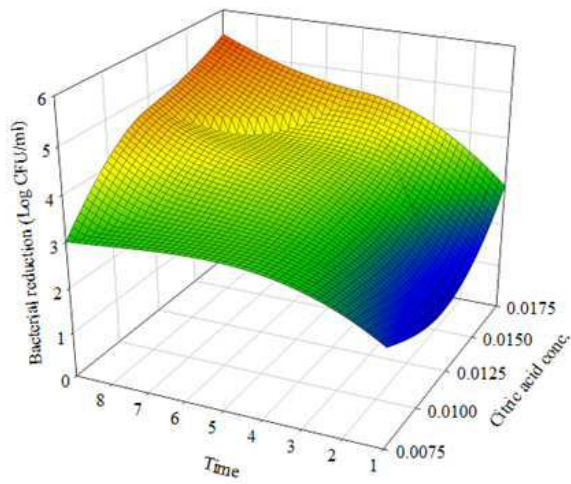
도면6

도 6. 라우린산-시간



도면7

도 7. 구연산-시간



도면8

도 8. 온도-시간

