J. Fd Hyg. Safety
Vol. 25, No. 3, pp. 238~244 (2010)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

살균소독제의 정량적 표면시험방법별 유효성 비교

김애영 · 김용수 · 하상도[1]*
한국보건산업진흥원, [1]중앙대학교

Comparison Study on Efficacies of Disinfectants and Sanitizers Among Methods for Quantitative Surface Test

Ae-Young Kim, Yong-Su Kim, and Sang-Do Ha[1]*
Korea Health Industry Development Institute, [1]Department of Food Science & Technology, Chung-Ang University
(Received March 9, 2010/Revised June 20, 2010/Accepted August 12, 2010)

ABSTRACT - Currently, *in vitro* suspension tests using tubes are used as a authorized test method for sanitizers and disinfectants. However, the methods could not accurately assess the efficacy of sanitizers and disinfectant on the food-contacted surfaces in the field. This study evaluated the effectiveness of 5 kinds of representative sanitizers and disinfectants against *E. coli* and *S. aureus* to compare three quantitative surface testing methods that have been internationally standardized. As a result, the ASTM E2111-05 (ASTM(1)) test method obtained 5.18 ± 0.03 and 5.27 ± 0.04 log cfu/carrier reduction in dealing with *E. coli* and *S. aureus*, respectively, the ASTM E2197-02 (ASTM(2)) test method obtained 4.63 ± 0.04 and 3.97 ± 0.03 log cfu/carrier reduction and the CEN EN 13697 test method should 6.14 ± 0.05 and 5.31 ± 0.10 log cfu/carrier reduction in clean condition (CEN(1)) but 4.37 ± 0.02 and 4.06 ± 0.01 log cfu/carrier reduction in dirty condition (CEN(2)). Among them, CEN(1) showed the highest bactericidal effects, whereas ASTM(2) and CEN(2) revealed low performance ($p < 0.05$). In conclusion, the bactericidal effects of the ASTM(2) method and the CEN EN 13697 method adopting stainless steel were lower than the ASTM(1) method, which uses glass. The effectiveness assessment results among nationally accredited test methods were different each other. This implies that they could not fit for in the accurate evaluation of sanitization and disinfection on food-contact surfaces in practical food-processing fields. These results could be used as a basic data for establishment of an official surface test methods applicable in the field.

Key words: Sanitizers and Disinfectants, surface test, efficacy, food safety

식품산업은 병원성 및 부패 미생물로부터 위협을 받고 있으며, 이러한 오염을 방지하기 위해, 식품 또는 접촉표면의 미생물 관리가 중요시 되고 있다[32]. 식품접촉표면으로부터 교차오염은 식중독의 중요한 인자로서 다른 식품으로 쉽게 전파될 수 있으며[17,18] 이를 제거하기 위해 비용과 편리성 측면에서 가장 많이 사용되는 방법이 화학적 살균소독제이다. 국내 시장에서 유통되고 있는 살균소독제 제품은 식품의약품안전청으로부터 유효성을 인증 받은 제품들인데, 그 유효성 평가방법으로는 *European Committe for Standardisation* EN 1276시험법[10]을 모방한 표준화된 현탁액 시험법을 주로 사용하고 있다. 하지만 현탁액 시험법으로 얻어진 결과는 실제 식품제조 및 조리환경 표면에 건조된 상태로 존재하는 제거 대상 미생물에 대한[15,16] 제품의 유효성을 정확히 대변하지 못한다[1]. 2005년 실시된 Lee 등[24]의 살균소독제의 사용실태 조사결과, 실제 현탁액 시험법으로 허가된 제품이 식품가공공장의 식품접촉표면에 사용된 경우, 그 살균효과가 최대 5배까지 낮게 나타나고 있다고 보고된 바 있다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여 실제 사용될 식품가공공장의 식품접촉표면에서의 살균조건을 모방한(simulation) 표면시험법(Surface test)을 사용하여 실제 현장 적용성(application)을 높이는 국가 공인시험방법의 도입이 필요하게 되었다[6,8,28]. 따라서 본 연구는 국내에서 식품접촉표면에 사용하는 주요 화학적 살균소독제의 실제 사용 조건에서의 유효성 평가 능력을 확인하기 위하여 3가지 국제공인 표면시험법을 비교, 평가하여 그 결과의 차이와 개선점을 제안하고자 한다.

*Correspondence to: Sang-Do Ha, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung, Gyeonggi-do 456-756, Korea. Tel: 82-31-670-4831, Fax: 82-31-675-4853
E-mail: sangdoha@cau.ac.kr

연구내용 및 방법

시험균 및 활성배양조건

살균소독제의 유효성을 확인하기 위하여 시험균주는 *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538을 한국미생물보존센터(KCCM, Korean Culture Collection of Microorganisms, Seoul, Korea)로부터 동결 건조된 상태로 분양받아 사용하였다. 분양받은 시험균주는 European Norm의 방법[3]에 따라 초저온 냉동고 (MDF-U71V, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd., Wood Dale, IL, USA)에 보관된 시험균을 4ºC 냉장고(MIR-553, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd.)에서 해동한 후, Tryptone Soy Broth (TSB, Oxoid Ltd. Basingstoke, Hampshire, England) 배지에 각각 접종하여 36 ± 1ºC로 조정된 배양기(MIR-253, Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd.)에서 18~24시간 활성 배양하였다. 시험균주의 활성배양을 위하여 배양된 시험균 1백금이를 채취하여 Tryptone Soy Agar (TSA, Oxoid Ltd. Basingstoke, Hampshire, England)에 획선 접종한 후 36 ± 1ºC로 조정된 배양기에서 18~24시간 배양하였다. 같은 방법으로 2차 배양과 3차 배양으로 활성 배양된 균만을 사용하였다.

시험균현탁액(Suspension of test microorganism)의 준비

시험균의 현탁액의 제조방법은 European Norm의 방법[3]에 준하여 수행하였다. 멸균된 100 ml 삼각플라스크 (Pyrex® Lab. Glassware, Corning Inc., USA)에 Tryptone Sodium Chloride Solution (TSCS, 1 l당 1 g의 tryptone pancreatic casein digestion과 8.5 g의 sodium chloride) 10 ml와 5 g의 멸균된 유리비드를 넣고 활성배양된 시험균을 백금이로 채취하여 삼각플라스크의 벽면에 문질러 완전히 균괘가 떨어지도록 하였고 진탕교반기(MaxiMix II Vortex mixer, Thermo Fisher Sci. Inc., USA)로 잘 혼합하였다. Densimeter (Densichek, bioMeriéux, Inc., France)를 사용하여 생균수가 $1.5\sim5.0 \times 10^8$ Colony forming uint (cfu)/ml이 되도록 조절하였다.

시험대상 제품의 선정

표면시험법의 비교를 위하여 국내 시중에 유통되고 있는 식약청에서 한시적으로 인정한 살균소독제 중 판매량이 높은 염소계, 알코올계, 요오드계, 과산화물계, 4급 암모늄계 등 유효성분별로 총 5종을 선정하여, Table 1에 나타내었다. 선정된 대상제품들의 시험용액은 살균소독제의 사용방법을 고려하여 경수를 사용, 희석해서 사용하였다.

살균소독제의 유효성 평가를 위한 정량적 표면시험법

국내 적용평가에 적합한 표면시험법은 세부적 검토를 통해 국제기구와 전문학술지 등에 게제된 살균소독제 유효성 시험방법들 중 실험소간 비교실험(Ring trial test)을 이미 수행하였거나, 발표 논문에서 사용되었던 방법을 대상으로 선정하였다. 이렇게 선정된 정량적 표면시험법의 정확한 비교・검토를 위하여 각 시험방법의 세부절차, 기술적 배경 및 동향, 문제점 등을 관련 전문학술지 중심으로 조사하고 각 시험법의 단계별 세부시험항목들을 비교・검토하였다. 그 결과 국내 제품에 대한 적용평가를 위한 비교대상이 되는 시험방법으로 American Society for Testing Material (ASTM) E 2111-05 (ASTM(1)), E 2197-02 (ASTM(2)), European Committee for Standardization EN 13697 (EN 13697, 청정조건(1), 오염조건(2))의 3가지를 선정하였다[2,3,4]. 각각의 정량적 표면시험법에 대한 상세한 시험조건은 아래 Table 2와 같다.

시험균 현탁액 준비를 제외하고 상기에 열거된 각 시험방법 절차를 준수하여 수행하였다. 시험균 현탁액과 시험용액은 사용 전 20 ± 1ºC에서 보관하였다. 또한 본 방법에 사용된 담체로 ASTM E 2111-05는 유리병(28 mm × 58 mm), ASTM(2)와 CEN EN 13697은 스테인리스 스틸 ANSI 304 2B (Posco Co., Seoul, Korea) 디스크(ϕ1.0 cm × 0.7 mm, ϕ2.0 cm × 0.7 mm)를 사용하였다. 각 시험방법의 표면접종액의 초기균수와 유효성분 및 시험균에 대한 시험균 현탁액(N), 유효성시험(N_d), 대조구 시험(N_c) 및 검증시험(A, B)의 살균소독력(Bactericidal Effect, BE)은 대조구 시험균수의 대수값을 유효성분에 노출 후 생존한 시험균수 대수값으로 차감한 값으로 나타내었다. 각 유효성분별 시험균에 대한 살균소독력은 다음 (1)의 식에 따라 산출하였다.

$$Bactericidal\ Effect\ (BE) = N_c - N_d \quad (1)$$

N_c - 대조구 시험의 생균수(log cfu/carrier)

N_d - 유효성 시험의 생균수(log cfu/carrier)

Table 1. The sanitizers and disinfectants used to evaluate the efficacies of various official methods

Products No.	Active ingredients	Contents	Used concentrations
1	Ethanol	Ethanol 70%	Ready to use
2	Iodine compound	Iodine 0.5~1.5%	0.0005~0.17%
3	Chlorine compound	Sodium hypochlorite 4%	2.04%
4	Hydrogen peroxide compound	Peroxyacetic acid 14.0% Hydrogen peroxide 20.3%	0.2%
5	Quarternary ammonium compound	Alkyl(C12-C18)benzyldimethyl ammonium 200 ppm	2.0%

Table 2. Test conditions of tested quantitative surface methods

Comparison items	CEN EN 13697	ASTM(1)	ASTM(2)
Carrier Types (Size)	Stainless disk (ϕ2 cm × 1.5 mm)	Glass vial (28 mm × 58 mm)	Stainless disk (ϕ1 cm × 0.7 mm)
Soil load	BSA (clean, dirty)	BSA + Bovin mucin + Tryptone	BSA + Bovin mucin + Tryptone
Inoculum of test organism	50 μl	10 μl	10 μl
Disinfection volume	100 μl	1 ml	50 μl
Test conditions	18~25°C/5min	-	-
Counting method	pour plate	filtration	filtration
Suspension concentrations	1.5~5.0 × 10^8 CFU	≥ 10^9 CFU	≥ 10^9 CFU
Suspension concentrations/carrier	1.5~5.0 × 10^6 CFU	-	-
Reduction limit for test	4 log	~6 log	~6 log

CEN EN 13697 : European Committee for Standardization EN 13697 (EN 13697).
ASTM(1) : American Society for Testing Material E 2111-05.
ASTM(2) : American Society for Testing Material E 2197-02.

통계처리

각 시험방법별 제품에 대한 시험균의 유효성 결과를 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 개별 결과에 대한 통계분석을 위하여 전문통계소프트웨어인 Statistica Ver 7.1 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) 이용하였으며, 유의성 검증을 위하여 분산분석(ANOVA) 한 후 Duncan 검정법을 이용하였다.

결과 및 고찰

염소계 살균소독제의 유효성 평가

염소계 살균소독제의 시험방법별 대상시험균주에 대한 유효성 평가 결과는 Fig. 1과 같다. 시험방법별 결과 *E. coli, S. aureus* 모두 유사한 결과를 보였고, 염소계 살균소독제에 대하여 각 시험법의 살균소독력이 5.0~6.0으로 높게 평가되었으며, 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다($p > 0.05$). 그 중 CEN 시험법 살균소독력이 높게 평가되었고, ASTM(2)의 살균소독력이 5.20 ± 0.02로 가장 낮게 평가되었다. CEN 시험법은 청정조건(CEN 1)과 오염조건(CEN 2) 모두에서 살균소독제의 유효성을 유의적 차이 없이 평가해내었다.

알코올계 살균소독제의 유효성 평가

알콜계 살균소독제의 시험방법별 대상시험균주에 대한 유효성 평가 결과는 Fig 2와 같다. 시험방법별 결과 염소계와 마찬가지로 *E. coli, S. aureus* 모두 유사한 결과를 보였고, 알콜계 살균소독제에 대하여 각 시험법의 살균소독력이 5.2~6.3 log로 높게 평가되었으며, CEN 시험법과 ASTM 시험법간에 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다($p < 0.05$). CEN 시험법의 경우 청정조건(CEN 1)에서 살균소독력이 *E. coli, S. aureus*에 대하여 6.2 log이상으로 유의적인 차이 없이($p > 0.05$) 가장 높게 평가되었다.

요오드계 살균소독제의 유효성 평가

요오드계 살균소독제의 시험방법별 대상시험균주에 대한 유효성 평가 결과는 Fig. 3과 같다. 시험방법별 결과 ASTM(1)과 CEN(1)에서 *E. coli*에 대한 살균소독력(BE)이 5.0 log 이상으로 유의적으로($p < 0.05$) 높게 평가되었으나 *S. aureus*에

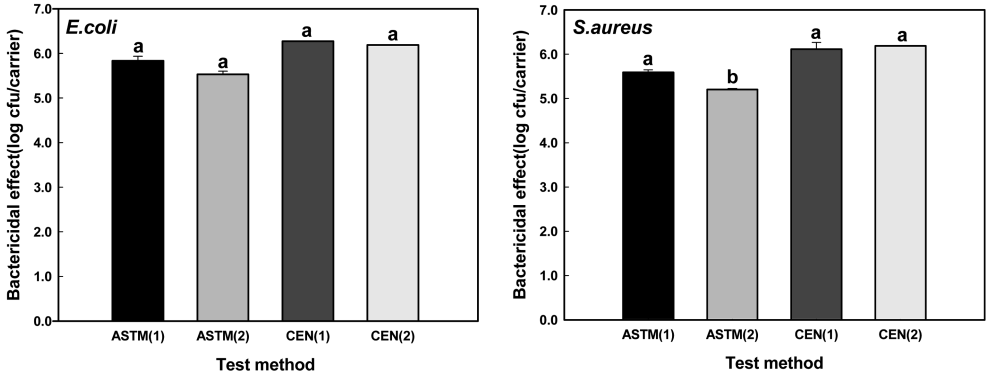

Fig. 1. Efficacy test results of sanitizers and disinfectants containing chlorine. ASTM(1): ASTM E 2111-05, ASTM(2): ASTM E 2197-02, CEN(1): CEN EN 13697 (Clean condition), CEN(2): CEN EN 13697 (Dirty condition). Bactericidal effect values obtained from each experiments were analyzed with ANOVA using Statistica Ver. 7.1. Values with different letters (a-d) within a column differ significantly ($p < 0.05$).

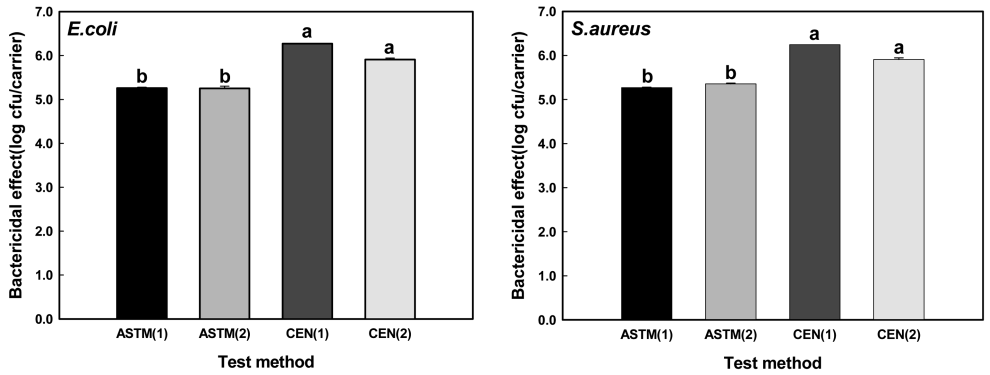

Fig. 2. Efficacy test results of sanitizers and disinfectants containing ethanol. ASTM(1): ASTM E 2111-05, ASTM(2): ASTM E 2197-02, CEN(1): CEN EN 13697 (Clean condition), CEN(2): CEN EN 13697 (Dirty condition). Bactericidal effect values obtained from each experiments were analyzed with ANOVA using Statistica Ver. 7.1. Values with different letters (a-d) within a column differ significantly ($p < 0.05$).

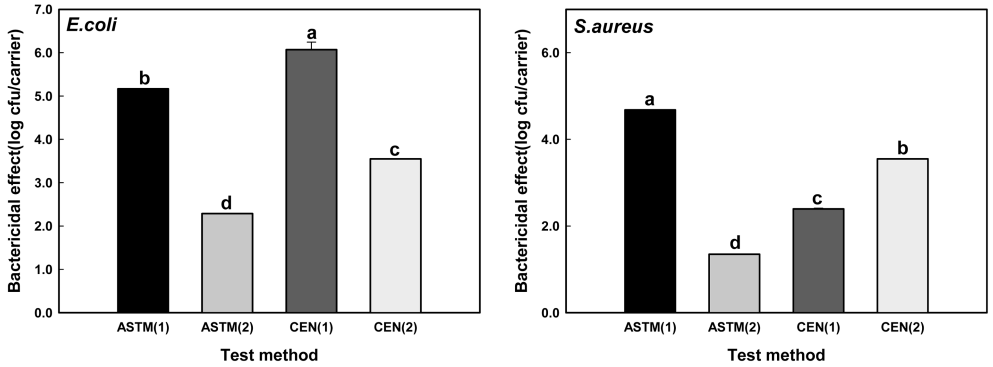

Fig. 3. Efficacy test results of sanitizers and disinfectants containing Iodine. ASTM(1): ASTM E 2111-05, ASTM(2): ASTM E 2197-02, CEN(1): CEN EN 13697 (Clean condition), CEN(2): CEN EN 13697 (Dirty condition). Bactericidal effect values obtained from each experiments were analyzed with ANOVA using Statistica Ver. 7.1. Values with different letters (a-d) within a column differ significantly ($p < 0.05$).

대한 살균소독력은 4.0 log이하로 유의적으로($p < 0.05$) *E. coli*보다는 비교적 낮게 평가되었다. 반면에 ASTM(2)와 CEN(2)에서는 *E. coli, S. aureus* 모두 살균소독력이 3.0 log 이하로 유의적으로($p < 0.05$)낮게 평가되었으며, 이 중 CEN(2)보다는 ASTM(2)에 대한 살균소독력이 유의적으로 ($p < 0.05$) 더 낮게 평가되었다.

과산화물계 살균소독제의 유효성 평가

과산화물계 살균소독제의 시험방법별 대상시험균주에 대한 유효성 평가 결과는 Fig. 4와 같다. 시험방법별 결과 ASTM(1), (2)와 CEN(1)에서 *E. coli, S. aureus* 모두 유사한 결과를 보였고, 살균소독력이 5.0 log 이상으로 유의적인 차이 없이($p > 0.05$) 높게 평가되었다. 반면에 CEN(2)에서는 *E. coli, S. aureus*에 대하여 살균소독력이 3.0 log 이하로 유의적으로($p < 0.05$) 낮게 평가되었으며, 이 중 *E. coli*에 대한 살균소독력이 1.0 log 이하로 가장 낮게 평가되었다.

4급암모늄계 살균소독제의 유효성 평가

4급암모늄계 살균소독제의 시험방법별 대상시험균주에 대한 유효성 평가 결과는 Fig. 5와 같다. 시험방법별 결과 *E. coli, S. aureus* 모두 청정조건인 CEN(1)에서 살균소독력이 5.0 log 이상으로 유의적인 차이 없이($p > 0.05$) 가장 높게 평가되었다. *E. coli*의 경우 3가지 시험법에 대하여 살균소독력이 4.0 log 이상으로 유의적인 차이 없이($p > 0.05$) 높게 평가되었으나, *S. aureus*의 경우 ASTM(2)와 CEN(2)에 대한 살균소독력이 2.0 log이하로 유의적인 차이 없이($p > 0.05$) 가장 낮게 평가되었다.

국내에서 살균소독제의 유효성 평가의 표준화 방법으로 CEN EN 1276의 모태가 되는 현탁액 시험법을 사용하고 있다. 하지만 이 시험법은 실제 환경 조건을 적용한 시험법이 아니기 때문에 많은 유효성에 대한 문제점이 발생하고 있다. 이 등[19]에 따르면 국제적으로 공인된 현탁액 시험법으로 *E. coli*와*Staph. aureus*에 대한 유효성을 test한 결과, 염소계, 4급암모늄, 과산화수소계 살균소독제는 모두 8 log 이상의 감소를 보였다. 이 결과로 보아 현탁액시험법은 표면시험법에 비해 살균효과가 과다하게 나타나 실제 기구등의 표면에 사용되는 살균소독제의 평가에 문제가 있다는 점을 제시하고 있다.

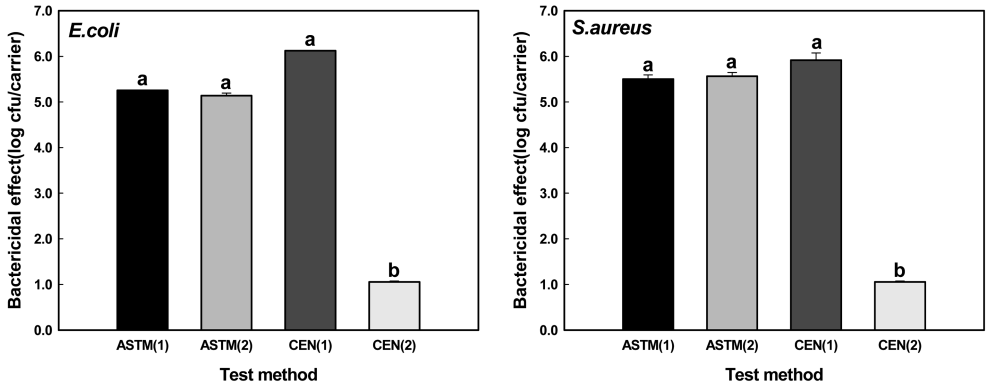

Fig. 4. Efficacy test results of sanitizers and disinfectants containing hydrogen peroxide. ASTM(1): ASTM E 2111-05, ASTM(2): ASTM E 2197-02, CEN(1): CEN EN 13697 (Clean condition), CEN(2): CEN EN 13697 (Dirty condition), PA: Peroxiacetic Acid, HP: Hydrogen Peroxide. Bactericidal effect values obtained from each experiments were analyzed with ANOVA using Statistica Ver. 7.1. Values with different letters (a-d) within a column differ significantly ($p < 0.05$).

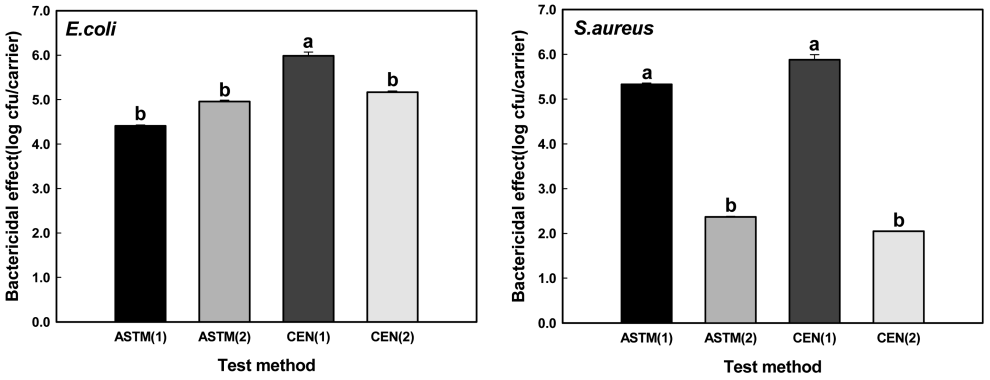

Fig. 5. Efficacy test results of sanitizers and disinfectants contained quarternary ammonium compound. ASTM(1): ASTM E 2111-05, ASTM(2): ASTM E 2197-02, CEN(1): CEN EN 13697 (Clean condition), CEN(2): CEN EN 13697 (Dirty condition). Bactericidal effect values obtained from each experiments were analyzed with ANOVA using Statistica Ver. 7.1. Values with different letters (a-d) within a column differ significantly ($p < 0.05$).

본 연구에서 실제 환경을 고려한 시험법인 표면시험법 중 국제적으로 표준화된 3가지 방법을 대상으로 유효성을 평가하였다. 그 결과 ASTM(1) 살균소독력이 5.18 ± 0.03(*E. coli*), 5.27 ± 0.04(*S. aureus*)log cfu/carrier,ASTM(2)는 4.63 ± 0.04(*E. coli*), 3.97 ± 0.03(*S. aureus*)log cfu/carrier, CEN(1)은 6.14 ± 0.05(*E. coli*), 5.31 ± 0.10(*S. aureus*)log cfu/carrier, CEN(2)는 4.37 ± 0.02 (*E. coli*), 4.06 ± 0.01(*S. aureus*) log cfu/carrier로 나타났다. *E. coli*의 경우 각 시험방법에 대하여 높은 살균소독력을 나타내었고, 그 중에서도 CEN(1)에서 가장 높은 살균소독력을 나타내었다. 또한 두 가지 균주에 대하여 ASTM(1)와 CEN(1)에서 비슷한 살균소독력 결과를 나타내었지만 그 중 CEN(1)에서 더 높은 살균소독력을 나타내었고, CEN(2)에서는 가장 낮은 살균소독력을 나타내었다. 통계적으로는 각 시험방법 간에 유의적인 차이가 있는 것($p < 0.05$)으로 나타났다.

전체적인 결과로 미루어 볼 때 ASTM(1)는 사용되는 표면이 유리로서 건조된 균의 회수가 용이하고, 처리하는 시험용액의 양이 1 ml로 과다 처리되기 때문에 높은 살균소독력을 낼 수 있는 환경이라 유효성이 높게 평가된 것으로 판단된다. 반면, CEN법은 스테인리스 표면을 사용하므로 유리표면보다는 회수 균수가 적어 유효성이 낮게 평가될 수 있었으나, 간섭물질 문제로 오히려 높게 평가되었다. CEN법에서는 알부민 한 가지의 간섭물질만이 사용되나, ASTM(1)에서는 3가지 간섭물질(트립신, 뮤신, 알부민)이 사용되기 때문에 유기물의 영향에 의하여 CEN법 보다는 유효성이 저 평가된 것으로 판단된다. 그러나 ASTM(2)의 경우 스테인리스 스틸 표면에 세 가지 간섭물질이 사용되므로 살균소독력이 낮게 평가된 것으로 판단된다. CEN(1)은 스테인리스 스틸 표면을 사용하고, 표면의 지름이 2 cm로 넓기 때문에 유리 또는 지름 1 cm인 표면을 사용하는 ASTM(2)방법보다는 건조 균의 회수가 더 어려워 살균소독력이 낮게 평가된 것으로 생각된다. 그리고 ASTM(2)는 표면 접종액의 양이 10 μl라서 50 μl를 접종하는 CEN법 보다는 살균제의 희석 가능성이 적어 CEN(1)보다는 좀 더 높

게 살균소독력이 평가되는 것으로 생각된다. 또한 CEN법은 간섭물질로 사용되는 유기물의 양에 따라 오염조건의 유기물의 농도가 높기 때문에 오염조건보다는 청정조건에서 높은 감소치를 나타내었다. 이는 간섭물질이 살균소독력을 감소시키기 때문인데, 이는 여러 연구의 청정조건과 오염조건에 대한 제품 비교에서 그 차이를 증명한 바 있다[1,19,24].

따라서 이번 연구를 통해 비교된 3개의 시험법 중 유리를 담체로 사용한 ASTM(1)시험법에 비해 스테인리스 스틸을 사용한 ASTM(2)와 CEN 시험법 적용 시 살균소독력이 낮게 평가되어 실제 사용현장에서 사용되는 표면에서의 살균소독력에 대한 문제점을 확인할 수가 있었다. 상기의 적용평가 결과를 통해 문제점을 개선하여 국내에 적합한 표면시험법을 확립할 필요가 있다고 판단된다.

요 약

현재 살균소독제의 국가 공인시험법은 시험관 내에서 행하는 현탁액시험법으로 실제 현장의 표면 살균을 정확히 평가하기에는 무리가 있다. 본 연구는 국제적으로 표준화되어 있는 3가지 정량적 표면시험법간의 유효성 평가력 비교를 목적으로 *E. coli*와 *S. aureus*를 대상으로 시중 유통되는 대표적 5개 계열 살균소독제의 유효성을 평가하였다. 그 결과 *E. coli*와 *S. aureus*에 대한 각 방법별 살균소독력은 ASTM(1)법에서 5.18 ± 0.03, 5.27 ± 0.04 log cfu/carrier, ASTM (2)법에서 4.63 ± 0.04, 3.97 ± 0.03 log cfu/carrier, CEN EN 13697법의 청정조건(CEN(1))에서 6.14 ± 0.05, 5.31 ± 0.10 log cfu/carrier, 오염조건(CEN(2))에서 4.37 ± 0.02, 4.06 ± 0.01 log cfu/carrier로 나타났다. CEN(1)시험법이 ASTM(2)와 CEN(2) 시험법에 비해 살균소독력이 유의적으로 높게 평가되었다. 적용된 3개의 시험법 중 유리를 담체로 사용한 ASTM(1)법에 비해 스테인리스 스틸을 사용한 ASTM(2)와 CEN법 적용 시 살균소독효과가 낮게 평가되었다. 결론적으로 3 가지 국가 공인시험법간 유효성 평가결과가 달랐으며, 실제 식품제조 현장에서 사용되는 표면에서의 살균소독력을 정확히 평가하기 어렵다는 것을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Aarnisalo, K., Salo, S., Miettinen, H., Suihko, M., Wirtanen, G., Autio, T., Lundén, J. Korkeala, H., and Sjöberg., A.: Bactericidal efficiencies of commercial disinfectatns against *Listeria monocytogenes* on surfaces. *J. Food Hygiene Safety.*, **20**, 237-250 (2000).
2. Anonymous. BS EN 13697:2001 Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas. Test method and requirements without mechanical action (phase 2/step 2) (2001).
3. Anonymous. BS EN 12353:2006 Chemical disinfectants and antiseptics - Preservation of test organisms used for the determination of bactericidal, mycobactericidal, sporicidal and fungicidal activity (2006).
4. ASTM International. Standard quantitative disk carrier test method for determining the bactericidal, virucidal, fungicidal, mycobactericidal and sporicidal activities of liquid chemical germicides, Document No. E-2197-02, ASTM, West Conshohocken, PA, pp 1607-1616 (2003).
5. ASTM International. Standard quantitative carrier test method to evaluate the bactericidal, fungicidal, mycobactericidal and sporicidal potencies of liquid chemical microbicides, Document No. E-2111-05, ASTM, West Conshohocken, PA, pp 1526-1533 (2005).
6. Bloomfield, S.F., and Looney, E.: Evaluation of the repeatability and reproducibility of European suspension test for antimicrobial activity of disinfectants and antiseptics. *J. Appl. Bactierio.*, **73**, 87-93 (1992).
7. Bloomfield, S.F., Arthur, M., Klingeren, B. van., Pullen, W., Holah, J.T., and Elton, R.: An evaluation of the repeatability and reproducibility of a surface test for the activity of disinfectants. *J. Appl. Bactierio.*, **76**, 86-94 (1994).
8. Cremieux, A., Freney, J., and Davin-Regli, A.: In Disinfection, Sterilization and Preservation, 5th edn. (Seymour, S.B. eds) Chap. **68**, 1305-1327 (2001).
9. Denyer, S. P.: Mechanism of action of disinfectants. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 227-245 (1995).
10. European Committee for Standardization, EN 1276, (1997). Chemical Disinfectants and Antiseptics: Quantitative Suspension Test for The Evaluation of Bactericidal Activity of Chemical Disinfectants and Antiseptics used in Food, Industrial, Domestic and Institutional Areas Test Method and Requirements (Phase 2, step1). British Standards Institution, UK.
11. Faille, C., Jullien, C., Benezech, T, and Carpentier. B.: Identification of surface characteristics relevant to the hygienic status of stainless steel for the food industry. *J. Food Eng.,* **56**, 77-87 (2002).
12. Frank, J. F and Chmielewski, R. A. N.: Effectiveness of sanitation with quaternary ammonia compound or chlorine on stainless steel or other domestic food preparation surfaces. *J. Food Prot*., **60**, 43-47 (1997).
13. Goeres, D. M., Palys, T., Sandal, B. B., and Geiger, J.: Evaluation of disinfectant efficacy against biofilm and suspended bacteria in a laboratory swimming pool model. Water Res., **38**, 3103-3109 (2004).
14. Grab, L. A. and Bennet, M. K.: Methods of testing sanitizers and bacteriostatic substances. In Disinfection, Sterilization and Preservation 5th erd. Ed. (Seymour, S.B. eds) Chap. **71**, 1373-1382 (2001).
15. Hansen, E. H., Albertsen, L., Schafer, T., Johansen, C., Jens Frisvad, C., Molin, S. and Gram, L.: Curvularia haloperoxidase: antimicrobial activity and potential application as a surface disinfectant. *Appl. Environ. Microb*., **69**, 4611-4617 (2003).
16. Holah, J. T., Amelie Lavaud, Wendy Peters, Dye, Kathyn.

A.: Future techniques for disinfectant efficacy testing. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 273-279 (1998).
17. Holah, J.T., Taylor, J.H., Dawson, D.J., and Hall., K.E.: Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbio.,* Symposium Supplement, **92**, 111S-120S (2002).
18. KHIDI/KFDA (Korea Health Industry Development Institute/ Korea Food and Drug Administration).: Studies on the management of sanitizers and disinfectants(ethanol etc, ozone, institutional foodservice) (in Korean) (2007).
19. Lee, M.J., Kim, Y.S., Cho, Y.H., Park, H.K., Park, B.K., Lee, K.H. Kang, K.J., Jeon, D.H., Park, K.H., and Ha, S.D.: Evaluation of Efficacy of Sanitizers and Disinfectants Marketed in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 671-677 (2005).
20. Lee, Y.S., Lee, S.H., Ryu, K., Kim, Y.S., Kim, H.I. Choi, H.C., Jeon, D.H., Lee, Y.J. & Ha, S.D.: Survey on Practical use Sanitizers and Disinfectants on Food Utensils in Institutional Foodservice. *Korean J. Food Hygiene Safety*, **22**, 338-345 (2007).
20. McDonne, G and Russell, A. D.: Antiseptics and disinfectants : activity, action, and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**, 147-179 (1999).
21. Mariscal, A., Carnero-Varo, M., Gomez-Aracena, J. and Fernandez-crehuet, J.: Development and testing of a microbiological assay to detect residual effects of disinfectant on hard surfaces. *Appl. Environ. Microb*., **65**, 3717-3720 (1999).
22. Marriott, N. G.: Essentials of Food Sanitation, Chapman & Hall, New York, USA (1997).
23. Marriott, N. G.: Principles of Food Sanitation, 4th ed. An Aspen Publication, Gaithersburg, MD, USA (1997).
24. Park, H.K., Park, B.K., Shin, H.W., Park, D.W., Kim, Y.S., Cho, Y.H. Lee, K.H., Kang, K.J., Jeon, D.H., Park, K.H. and Ha, S.D.: Evaluation of Efficacy of Sanitizers and Disinfectants used in Domestic Food Processing Plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 1042-1047 (2005).
25. Paulson, D. S.: Topical Antimicrobial Testing and Evaluation. Marcel Dekker, Inc (1999).
26. Reybrouck, G. and Werner, H. P.: Comparative study of four national disinfectant testing techniques. Zentralblatt fuer Bakteriologi, **160**, 392-411 (1975).
27. Reybrouck, G.: The testing of disinfectants. International Deterioration & Biodegradation, **41**, 269-272 (1998).
28. Sattar, S.A.: Microbicidal testing of germicides: an update. In Disinfection, Sterilization and Antisepsis in Health Care ed. Rutala, W.A. pp. 227-240. Champlain, NY: Polyscience Publications Inc (1998).
29. Springthorpe, V.S. and Sattar, S.A.: Carrier test to assess microbicidal activities of chemical disinfectants for use on medical devices and environmental surfaces. *Journal of AOAC International*., **88**, 182-201 (2005).
30. Taylor, J.H., Rogers, S.J., & Holah., J.T.: A comparison of the bactericidal efficacy of 18 disinfectants used in the food industry against Escherichia coli O157:H7 and Psuedomonas aeruginosa at 10 and 20ºC. *J. Appl. Microbio.*, **87**, 718-725 (1999).
31. Van Klingeren, B., Koller, W., Bloomfield, S.F. *et. al.*: Assessment of the efficacy of disinfectant on surface. *Int. Biodeterior. Biodegrad.,* **41**, 289-296 (1998).
32. Wirtanen, G. and Salo, S.: Disinfection in food processing-efficacy testing of disinfectants, Reviews in Environmental Science and Bio/Technology., **2**, 293-306 (2003).
33. Yeon, J.H., Kim, I.J., Park, K.H., Park, B.K., Park, H.K., Park, D.W., Kim, Y.S., Kim, H.I., Jeon, D.H., Lee, Y.J. and Ha, S.D.: Treatment and Effect of Sanitizers and Disinfectants in Animal Food Manufacturing Plant. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 599-603 (2006).