*J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 25, No. 4, pp. 325~332 (2010)

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

# 사용시간 및 온도조건 변화에 따른 살균소독제의 유효성

**김형일 · 박성관 · 곽인신 · 성준현 · 임호수 · 김후정 · 김소희***
식품의약품안전평가원 첨가물포장과

# Efficacy of Sanitizers Due to the Changes of Contact Time and Temperature

Hyungil Kim, Sungkwan Park, Inshin Kwak, Junhyun Sung, Hosoo Lim, Hoojung Kim, and Sohee Kim*
*Food Additives and Packages Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation*
(Received July 15, 2010/Revised September 9, 2010/Accepted November 10, 2010)

**ABSTRACT** - The bactericidal efficacy of three common sanitizers (100 or 200 ppm of sodium hypochlorite, 100 or 200 ppm of n-alkyl($C_{12}$-$C_{18}$)benzyldimethyl chloride, and 50 or 100 ppm of peroxyacetic acid) against *Escherichia coli* ATCC 10536 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 was studied using the suspension test method at various exposure temperatures (4~40°C) and times(1~60min) under both dirty and clean conditions, respectively. During the suspension tests, sodium hypochlorite (200 ppm) showed higher bactericidal activity than the other sanitizers under clean conditions, with 5 log reductions against *E. coli* as well as *S. aureus* in the first 1 min of treatments at 4°C. However, the efficacy of sodium hypochlorite decreased markedly under dirty conditions due to its susceptibility to interfering substances. The efficacy of the n-alkyl($C_{12}$-$C_{18}$)benzyldimethyl chloride increased considerable as the exposure temperature and time increased. The bactericidal efficacy of the n-alkyl($C_{12}$-$C_{18}$)benzyldimethyl chloride might be less effective on low temperature, however, the longer time the sanitizer is in contact, the more effective the sanitization effect. Treatment with peroxyacetic acid (100 ppm) showed at least 5 log reduction against *E. coli* and *S. aureus* for 5 min at 4°C under both clean and dirty conditions. The efficacy of the peroxyacetic acid was not much altered by interfering substances and affected by changes in temperature or time.

**Key words :** efficacy, exposure time and temperature, sanitizers

식품접객업소, 집단급식소, 식품제조업소 등에서 식품용 조리 기구나 가공기계에 오염된 식중독 원인균을 제거하기 위하여 사용되는 기구 등의 살균소독제는 2002년 8월 식품위생법 개정으로 기구 등의 살균소독제에 대한 법적 관리 근거가 마련되었으며, 식품의약품안전청을 중심으로 유효성과 안전성에 대한 관련 연구가 수행되었다[1-4]. 그 결과 식품첨가물공전[5]에 에탄올 등 10개 품목에 대한 개별 규격 및 기준과 유효성 평가시험법이 고시되었다.

기구 등의 살균소독제에 대한 유효성 평가는 대부분 사용농도로 희석한 기구 등의 살균소독제를 *Escherichia coli* ATCC 10536과 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538에 대하여 20°C에서 5분간 처리하였을 때 초기균수를 99.999%이상 감소시키는지 여부를 확인하는 세균현탁액시험법으로 평가하고 있다. 그러나 이 세균현탁액시험에 적합하더라도 20°C, 5분 처리 조건 외의 온도조건이나 접촉시간 변화에 따른 정보는 기구 등의 살균소독제 사용자에게 거의 전달되지 않는 실정이다. 따라서 살균소독제의 처리온도 및 사용시간 등이 규정된 시험조건과 다를 경우 살균효과가 과대 또는 과소평가됨으로써 오사용의 원인이 될 여지가 있다. 유럽의 경우에는 우리나라와는 달리 기본적인 20°C, 5분 조건 외에도 사용조건을 고려한 온도(4, 10, 40°C) 및 시간(1, 15, 30, 60분)에 대한 추가시험조건이 마련되어 있다[6]. 미국의 경우에는 AOAC 시험방법[7]을 토대로 기구 등의 살균소독제 허가를 위한 기준을 제시하고 살균소독제 제조업자가 실제 사용 환경에서 그 제품의 유효성을 평가할 수 있는 다양한 실험방법을 사용할 수 있도록 하고 있으며 일부 시험방법을 EPA (Environmental Protection Agency) 홈페이지를 통해 제공[8]하고 있다.

살균소독제의 접촉온도 및 시간은 살균효과에 영향을 주는 중요한 요소 중의 하나[9,10]로 알려져 있지만, 살균소독제의 유효성 관련 연구는 주로 살균소독제의 종류[11-15], 시험균[16-20], 시험방법[21-27]에 대해 수행되고 있으며 살균소독제의 접촉온도나 시간은 대부분 1~2개 조건에서만 평가되고 있

*Correspondence to: Sohee Kim, Food Additives and packages Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, 643 Yeonje-ri, Gangoe-myeon, Cheongwan-gun, Chungbuk, 363951 Korea
Tel: 82-43-719-4351, Fax: 82-43-719-4350
E-mail: mrsksh@korea.kr

다. 본 연구에서는 기구 등의 살균소독제에 대한 올바른 정보를 제공하기 위하여 다양한 접촉온도 및 시간에서 살균효과를 비교・평가하였기에 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 시약

*E. coli* ATCC 10536 및 *S. aureus* ATCC 6538은 코람바이오텍(주)(Seoul, Korea)으로부터 구입하여 사용하였다. 각 균주는 Tryptone soya agar (TSA; Oxoid사, hampshire, England)에 계대하여 37°C에서 18~24시간 배양하였으며 같은 방법으로 2차 배양과 3차 배양으로 활성화된 균만을 사용하였고, 모든 시약은 분석등급 이상의 시약을 사용하였다.

### 시액의 조제

#### 희석액의 조제

Tryptone, pancreatic digest of casein (Sigma-Aldrich사, Mo, USA) 1.0 g, NaCl 8.5 g을 증류수 1 L에 녹인 후 멸균하였다.

#### 중화제의 조제

lecithin 3 g, polysorbate80 30 g, sodium thiosulfate 5 g, L-histidine 1 g 및 saponine 30 g에 희석액을 가하여 1 L로 만든 용액을 조제한 후 멸균하였다.

#### 경수의 조제

용액 A($MgCl_2$ 19.84 g과 $CaCl_2$ 46.24 g을 물 1 L에 용해) 3 mL와 용액 B($NaHCO_3$ 35.02 g을 물 1 L에 용해) 8 mL에 증류수를 첨가하여 1 L로 정용한 뒤 pore size 0.45 μm의 membrane filter로 여과 멸균하였다.

#### 간섭물질의 조제

오염조건의 모사를 위하여 알부민(Sigma-Aldrich사, Mo, USA) 0.3 g을, 청정조건의 모사를 위하여 알부민 3 g을 증류수 100 mL에 녹이고 pore size 0.45 μm의 membrane filter로 여과 멸균하였다.

#### 시험균 현탁액 조제

희석액을 넣은 멸균용기에 활성배양된 시험균을 접종하여 생균수가 $1.5 \times 10^8$ cfu/mL~$5 \times 10^8$ cfu/mL가 되도록 조정하였다.

### 기구 등의 살균소독제

기구 등의 살균소독제로는 식품첨가물 생산실적[28]과 관련 연구보고서[29]의 자료를 근거로 사용량이 많을 것으로 예상되는 제품의 유효성분을 기준으로 차아염소산나트륨과 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄을 대상으로 하고, 최근 친환경 살균소독제로 주목받고 있는 과산화초산[30]을 추가하여 실험하였다. 차아염소산나트륨(유효염소 4% 이상) 및 과산화초산(과산화초산 32%, 초산 40~45%, 과산화수소 6% 이하)은 Sigma-Aldrich사(MO, USA)로부터 구입하였으며, 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄(50% 수용액)은 시판되는 표준품이 없어 (주)남강(Incheon, Korea)으로부터 제공받아 경수로 희석하여 사용하였다.

### 기구 등의 살균소독제 유효성 비교 평가

살균소독제 유효성 평가방법은 식품첨가물공전 IV. 일반시험법 36. 살균소독력시험법 중 세균현탁액시험법에 따라 Fig. 1과 같이 접촉시간(1, 5, 15, 30, 60분) 및 온도(4, 10, 20, 40°C)에 따른 생균수 감소를 각각 계산하였다.

### 통계 분석

각 실험군별 유의차 분석은 SPSS program (SPSS Inc., IL, USA)의 paired *t*-test 또는 ANOVA (Duncan's multiple range test)를 사용하여 분석하였으며, *p*값이 0.05 이하인 것을 통계적으로 유의한 것으로 하였다.

Interfering substance[1] 1 mL + Bacterial test suspention[1,2] 1 mL
↓
at θ ± 1°C for 2 min ± 10 sec
↓
Add product test solution[1] 8 mL
↓
at θ ± 1°C for *t* min ± 10 sec
↓
Test mixture 1 mL+Water[3] 1 mL+Neutralizer[3] 8 mL
↓
20 ± 1°C for 5 min ± 10 sec
↓
Transfer 1 mL into petri dish
↓
Add TSA 12~15 mL
↓
Incubate at 36 ± 1°C for 24hr

[1]Check that the temperature of all reagents (product test solution, bacterial test suspension, and interfering substance) is stabilized at θ°C ± 1°C
[2]Bacterial test suspension ($1.5 \times 10^8$ cfu/mL~$5 \times 10^8$ cfu/mL) : *E. coli* ATCC 10536 or *S. aureus* ATCC 6538
[3]Neutralizer and water shall be equilibrated at a temperature of 20°C ± 1°C
θ = 4, 10, 20, 40°C
*t* = 1, 5, 15, 30, 60 min

**Fig. 1.** Bacterial suspension test method.

**Table 1.** Susceptibility of *E. coli* ATCC 10536 and *S. aureus* ATCC 6538 to sodium hypochlorite in suspension under clean and dirty conditions

| Available chlorine (mg/L) | Exposure temp.(°C) | Exposure time(min) | Log reduction (log cfu/mL) in viability[1)] | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | *E. coli* ATCC 10536 | | *S. aureus* ATCC 6538 | |
| | | | Clean conditions | Dirty conditions | Clean conditions | Dirty conditions |
| 100 | 4 | 1 | >5[a2,3)] | 1.31 ± 0.31[a] | 4.64 ± 0.63[a] | 0.03 ± 0.03[a] |
| | | 5 | >5[a] | 2.87 ± 1.08[ef] | >5[a] | 0.11 ± 0.05[abcd] |
| | | 15 | >5[a] | 2.23 ± 0.52[bcde] | >5[a] | 0.17 ± 0.11[abcde] |
| | | 30 | >5[a] | 3.63 ± 0.58[gh] | >5[a] | 0.34 ± 0.06[abcdefg] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.60 ± 0.20[fgh] |
| | 10 | 1 | >5[a] | 1.53 ± 0.39[ab] | >5[a] | 0.08 ± 0.06[abc] |
| | | 5 | >5[a] | 2.87 ± 0.45[ef] | >5[a] | 0.06 ± 0.05[ab] |
| | | 15 | >5[a] | 2.77 ± 0.64[def] | >5[a] | 0.21 ± 0.15[abcde] |
| | | 30 | >5[a] | 4.19 ± 0.93[hi] | >5[a] | 0.31 ± 0.20[abcdefg] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.62 ± 0.35[fgh] |
| | 20 | 1 | >5[a] | 1.97 ± 1.04[abc] | >5[a] | 0.06 ± 0.06[ab] |
| | | 5 | >5[a] | 3.78 ± 0.20[gh] | >5[a] | 0.12 ± 0.10[abcd] |
| | | 15 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.20 ± 0.17[abcde] |
| | | 30 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.44 ± 0.27[cdefg] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 1.36 ± 0.27[i] |
| | 40 | 1 | >5[a] | 1.74 ± 0.37[abc] | >5[a] | 0.07 ± 0.07[ab] |
| | | 5 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.10 ± 0.05[abcd] |
| | | 15 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.36 ± 0.25[abcdefg] |
| | | 30 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 1.46 ± 0.34[i] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 4.76 ± 0.34[jk] |
| 200 | 4 | 1 | >5[a] | 2.10 ± 0.30[bcd] | >5[a] | 0.11 ± 0.08[abcd] |
| | | 5 | >5[a] | 2.08 ± 0.84[bcd] | >5[a] | 0.16 ± 0.07[abcde] |
| | | 15 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.24 ± 0.07[abcde] |
| | | 30 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.35 ± 0.06[abcdefg] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.46 ± 0.07[defg] |
| | 10 | 1 | >5[a] | 1.93 ± 0.41[abc] | >5[a] | 0.13 ± 0.13[abcde] |
| | | 5 | >5[a] | 2.14 ± 0.50[bcde] | >5[a] | 0.20 ± 0.14[abcde] |
| | | 15 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.19 ± 0.11[abcde] |
| | | 30 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.30 ± 0.11[abcdef] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.42 ± 0.18[bcdefg] |
| | 20 | 1 | >5[a] | 2.36 ± 0.66[cde] | >5[a] | 0.16 ± 0.14[abcde] |
| | | 5 | >5[a] | 3.45 ± 0.43[fg] | >5[a] | 0.24 ± 0.14[abcde] |
| | | 15 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.32 ± 0.09[abcdefg] |
| | | 30 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.50 ± 0.12[efg] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.89 ± 0.09[h] |
| | 40 | 1 | >5[a] | 2.01 ± 0.58[abcd] | >5[a] | 0.40 ± 0.11[abcdefg] |
| | | 5 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 0.66 ± 0.33[gh] |
| | | 15 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 1.30 ± 0.30[i] |
| | | 30 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | 4.47 ± 0.59[j] |
| | | 60 | >5[a] | >5[i] | >5[a] | >5[k] |

[1)] Each values are mean ± SD of at least three repeated experiments.
[2)] More than 5 log reduction in viable counts
[3)] Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

## 결과 및 고찰

### 사용조건 변화에 따른 차아염소산나트륨의 유효성 비교 평가

차아염소산나트륨의 규정된 시험조건(20°C, 5분)과 사용조건 변화(사용온도 : 4, 10, 40°C, 사용시간 : 1, 15, 30, 60분)에 따른 유효성 비교 평가 결과를 Table 1에 나타내었다. 세척을 충분히 수행한 조건을 모사한 청정조건에서는 4°C, 1분간 처리하였을 경우 외에는 접촉시간 및 온도에 관

계없이 본 연구에서 사용한 세균현탁액시험법의 측정 한계인 5 log 이상 감소하였다. 기구 등의 세척이 충분히 이루어진 경우라면 차아염소산나트륨을 저온(4°C 또는 10°C)에서 사용하더라도 1분 이내에 충분한 살균효과를 얻을 수 있으므로 살균효과를 증가시키기 위해서 온도를 높이거나 시간을 조정할 필요는 없을 것으로 판단된다.

세척을 충분히 수행하지 못한 조건을 모사한 오염조건에서는 *S. aureus* ATCC 6538에 대한 살균효과가 적었으며, 사용온도를 높이거나 사용시간을 증가시킬 경우 살균소독력이 증가하는 경향($p < 0.05$)을 나타냈으나 유효염소 200

**Table 2.** Susceptibility of *E. coli* ATCC 10536 and *S. aureus* ATCC 6538 to alkyl($C_{12}$-$C_{18}$)benzyldimethyl chloride in suspension under clean and dirty conditions

| Concentration (mg/L) | Exposure temp.(°C) | Exposure time(min) | Log reduction(log cfu/mL) in viability | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | *E. coli* ATCC 10536 | | *S. aureus* ATCC 6538 | |
| | | | Clean conditions | Dirty conditions | Clean conditions | Dirty conditions |
| 100 | 4 | 1 | 1.47 ± 0.28[a] | 2.70 ± 0.79[a] | >5[a] | 3.51 ± 0.68[a] |
| | | 5 | 3.14 ± 0.45[c] | 3.59 ± 0.80[bc] | >5[a] | 4.86 ± 0.25[cd] |
| | | 15 | 4.87 ± 0.21[f] | 4.27 ± 0.21[cde] | >5[a] | 4.85 ± 0.25[cd] |
| | | 30 | >5[f] | 4.73 ± 0.46[e] | >5[a] | 4.91 ± 0.15[cd] |
| | | 60 | >5[f] | 4.93 ± 0.12[e] | >5[a] | >5[d] |
| | 10 | 1 | 2.74 ± 0.35[b] | 2.31 ± 0.46[a] | >5[a] | 4.63 ± 0.21[c] |
| | | 5 | 3.80 ± 0.41[d] | 3.82 ± 1.05[cd] | >5[a] | 4.84 ± 0.28[cd] |
| | | 15 | >5[f] | 4.72 ± 0.48[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | 20 | 1 | 4.24 ± 0.66[e] | 2.27 ± 0.61[a] | >5[a] | >5[d] |
| | | 5 | >5[f] | 3.68 ± 0.78[bc] | >5[a] | >5[d] |
| | | 15 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | 40 | 1 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 5 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 15 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| 200 | 4 | 1 | 2.80 ± 0.05[b] | 3.40 ± 1.43[a] | >5[a] | 4.03 ± 0.50[b] |
| | | 5 | 4.28 ± 0.45[e] | 4.11 ± 1.26[cde] | >5[a] | 4.96 ± 0.07[d] |
| | | 15 | >5[f] | 4.84 ± 0.28[e] | >5[a] | 4.95 ± 0.09[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | 10 | 1 | 3.98 ± 0.23[de] | 2.94 ± 0.80[ab] | >5[a] | 4.82 ± 0.32[cd] |
| | | 5 | 4.70 ± 0.51[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 15 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | 20 | 1 | 4.66 ± 0.31[f] | 2.40 ± 0.47[a] | >5[a] | >5[d] |
| | | 5 | >5[f] | 4.56 ± 0.79[de] | >5[a] | >5[d] |
| | | 15 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | 40 | 1 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 5 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 15 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 30 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |
| | | 60 | >5[f] | >5[e] | >5[a] | >5[d] |

See footnote in Table 1.

**Table 3.** Susceptibility of *E. coli* ATCC 10536 and *S. aureus* ATCC 6538 to peroxyacetic acid in suspension under clean and dirty conditions

| Concentration (mg/L) | Exposure temp.(°C) | Exposure time(min) | Log reduction(log cfu/mL) in viability | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | *E. coli* ATCC 10536 | | *S. aureus* ATCC 6538 | |
| | | | Clean conditions | Dirty conditions | Clean conditions | Dirty conditions |
| 50 | 4 | 1 | >5[a] | 4.79 ± 0.36[a] | 0.58 ± 0.21[a] | 0.59 ± 0.11[a] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | 2.64 ± 0.13[e] | 2.53 ± 0.38[d] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | 10 | 1 | >5[a] | 4.92 ± 0.14[a] | 0.88 ± 0.24[b] | 0.55 ± 0.12[a] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | 4.63 ± 0.22[e] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | 20 | 1 | >5[a] | >5[a] | 1.47 ± 0.09[c] | 0.63 ± 0.16[a] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | 40 | 1 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| 100 | 4 | 1 | >5[a] | >5[a] | 1.37 ± 0.18[c] | 1.35 ± 0.08[b] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | 10 | 1 | >5[a] | >5[a] | 1.68 ± 0.26[d] | 2.21 ± 0.07[c] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | 20 | 1 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | 40 | 1 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 5 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 15 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 30 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |
| | | 60 | >5[a] | >5[a] | >5[f] | >5[f] |

See footnote in Table 1.

ppm에서 40°C, 60분 이상 처리할 경우에만 5 log 이상 감소하였다. Sisti 등[31]은 0.6 ppm 이하의 농도에서 염소의 살균소독력이 물의 온도에 따라 2~3배가량 차이를 보인 것으로 보고한 바 있지만 기구 등의 살균소독을 위해 사용되는 유효염소 100~200 ppm농도에서는 온도나 시간보다는 오염물질이 살균소독력에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 차아염소산나트륨은 반응성이 큰 물질로서 유기물, 금속, pH 등에 의해 살균 효과가 급속히 감소[32-34]하는

것으로 알려져 있다. 따라서 차아염소산나트륨은 기구 등의 표면 세척이 충분히 수행된 환경이라면 4급암모늄계 살균소독제나 과산화초산보다 우수한 효과를 나타낼 것으로 예상된다. 다만, 차아염소산나트륨이 식품중의 유기화합물과 반응 시 생성될 수 있는 부산물(monochloropropanediol, chlorohydrofuranones, trihalomethanes)의 발암 가능성 등 유해성에 대한 논란[35-37]으로 인하여 과산화초산 등 차아염소산나트륨을 대체할 수 있는 살균소독제에 대한 연구가 보고되고 있다[16,38-41]. 차아염소산나트륨은 기구 등의 살균소독을 위해 사용 시 유효염소 200 ppm까지는 별도의 안전성 자료 없이도 사용 가능하다[5,42].

### 사용조건 변화에 따른 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄의 유효성 비교 평가

염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄의 규정된 시험조건(20°C, 5분)과 사용조건 변화(사용온도 : 4, 10, 40°C, 사용시간 : 1, 15, 30, 60분)에 따른 유효성 비교 평가 결과를 Table 2에 나타내었다. 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄은 차아염소산나트륨보다 유기물질의 영향을 비교적 적게 받았으며 사용온도가 높을수록, 사용시간이 길수록 살균소독력이 증가하였다($p < 0.05$). 식품제조공장에서는 4급암모늄계 살균소독제를 상온보다 높은 온도에서 사용할 수 있는데, Langsrud와 Sundheim[22]은 염화벤잘코늄에 내성을 나타내는 *Pseudomonas*도 온도를 30~40°C로 높일 경우 살균소독력이 급격히 증가함을 보고한 바 있다. 또한, 차아염소산나트륨과는 달리 오염조건에서도 사용온도를 높이거나 사용시간을 늘일 경우 *E. coli* ATCC 10536 및 *S. aureus* ATCC 6538이 5 log 이상 감소하였다. 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄과 같은 4급암모늄계 살균소독제는 양이온계면활성제로서 작용하므로 세척효과도 있다는 장점이 있는 반면에 살균소독 전에 세척제로서 음이온 계면활성제를 사용한 경우 이를 제거하여야 살균소독력을 기대할 수 있으며, 효모나 곰팡이, 바이러스에 대해서는 효과가 적다는 단점[34]이 알려져 있다. 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄은 기구 등의 살균소독을 위해 사용 시 200 ppm까지는 별도의 안전성 자료 없이도 사용 가능하다[5,42].

### 사용조건 변화에 따른 과산화초산의 유효성 비교 평가

과산화초산의 규정된 시험조건(20°C, 5분)과 사용조건 변화(사용온도 : 4, 10, 40°C, 사용시간 : 1, 15, 30, 60분)에 따른 유효성 비교 평가 결과를 Table 3에 나타내었다. 과산화초산은 사용온도를 높이거나 사용시간을 증가시킬 경우 살균소독력이 증가하였으며 유기물질의 영향, 사용온도 및 사용시간에 따른 유효성 차이를 보였으나($p < 0.05$), 다른 두 살균소독제보다 유기물질에 의한 영향을 가장 적게 받았으며, 낮은 온도(4°C 및 10°C)에서도 높은 살균소독력을 보였다. *E. coli* ATCC 10536 및 *S. aureus* ATCC 6538 사이의 감수성에 대한 차이도 다른 살균소독제에 비해 적었다. *E. coli* ATCC 10536에 대해 과산화초산 50 ppm 처리 시 오염조건에서도 4°C 및 10°C, 1분의 경우를 제외하면 모두 5 log 이상 안전한 수준까지 감소하였다. 또한, *S. aureus* ATCC 6538의 경우에도 과산화초산을 50 ppm 농도 이상에서 사용 시 오염조건의 4°C의 온도조건에서도 15분 이상 처리할 경우 균이 5 log 이상 감소하였다. 따라서 사용조건을 비교하여 볼 때 과산화초산이 다른 두 살균소독제보다 우수한 살균효과를 나타내는 살균소독제로 판단된다. 또한 과산화초산은 최종적으로 산소, 초산 및 물로 분해되어 유기물을 남기지 않는다는 장점 때문에 친환경적이라는 평가를 받고 있으며 폐수처리에도 지장을 주지 않는 것으로 알려져 있고[43] WHO (World Health Organization)는 formaldehyde, sodium hypochlorite, glutaraldehyde와 함께 *Bacillus* 포자에 대한 효과적인 멸균제로 권고한 바 있다[44]. 식품접객업소용 기구는 58 ppm이하 농도로, 식품 제조가공용 기구에는 315 ppm까지 별도의 안전성 자료 제출 없이 살균소독제 유효성분으로 사용 가능하다[5,42].

## 감사의 글

본 연구는 2009년도 식품의약품안전평가원 연구개발사업의 연구비지원(09071식품안006)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 요 약

현탁액시험법을 사용하여 일반적으로 사용되는 살균소독제 3종(차아염소산나트륨 100 ppm 또는 200 ppm, 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄 100 ppm 또는 200 ppm 및 과산화초산 50 ppm 또는 100 ppm)의 *Escherichia coli* ATCC 10536 및 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538에 대한 살균소독력을 다양한 온도(4~40°C)와 시간(1~60분)에서 청정조건 및 오염조건별로 각각 연구하였다. 차아염소산나트륨(200 ppm)은 청정조건에서 4°C, 1분 처리로 *E. coli* 및 *S. aureus*를 5 log 이상 감소시켜 3가지 살균소독제 중 가장 효과적인 살균소독제로 나타났다. 그러나 차아염소산나트륨은 간섭물질과의 반응으로 인하여 오염조건에서는 살균소독력이 급속히 감소하였다. 염화알킬($C_{12}$-$C_{18}$)벤질디메틸암모늄(200 ppm)은 사용온도를 높이거나 사용시간을 늘일 경우 살균소독력이 증가하였으며, 저온에서는 살균효과가 낮을 수 있으나 사용시간을 증가시킴으로서 살균소독력을 확보할 수 있었다. 과산화초산(100 ppm)은 4°C, 5분 처리로 *E. coli* 및 *S. aureus*이 5 log 이상 감소하였다. 살균소독력은 간섭물질에 의해 크게 변하지 않았으며 온도 및 시간변화에 따른 영향도 크지 않았다.

## 참고문헌


1. 김형일, 이광호, 곽인신, 엄미옥, 전대훈, 성준현, 최정미, 강한샘, 김용수, 강길진: 살균소독력 시험법 확립 및 살균소독력 평가, 한국식품과학회지, **37**(5), 838-843 (2005).
2. 김형일, 윤혜정, 최현철, 전대훈, 엄미옥, 성준현, 박나영, 원선아, 김남희, 성덕화, 곽효선, 권기성, 이영자: *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella* spp.에 대한 Sodium hypochlorite 및 Benzalkonium chloride의 유효성 평가, 한국식품위생안전성학회지, **22**(2), 132-136 (2007).
3. 김형일, 전대훈, 강길진, 엄미옥, 성준현, 강한샘, 곽효선, 권기성, 이영자: 유통식품에서 분리한 *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli*의 살균소독제 감수성, 한국식품과학회지, **39**(1), 104-107 (2007).
4. 김형일, 전대훈, 윤혜정, 최현철, 엄미옥, 성준현, 박나영, 원선아, 김난영, 이영자: 표면시험법을 이용한 식품접촉표면 재질에 따른 살균소독제의 유효성 평가, 한국식품위생안전성학회지, **23**(4), 291-296 (2008).
5. 식품의약품안전청 : 식품첨가물공전. (2009).
6. European Committee for standardization : Chemical Disinfectants and Antiseptics-Quantitative supension test for the Evaluation of Bacteridal Activity of Chemical Disinfectant and Antiseptics Used in Food Industrial, Domestic, and Institutional Areas-Test Method and Requirement (Phase 2, Step1)-EN 1276. British Standards Institution (1997).
7. Tomasino, S.:Disinfectants. *In AOAC Official Methods of Analysis*. 16th Ed. AOAC international, Arlington, VA, USA (1995).
8. Microbiology laboratory antimicrobial testing methods & procedures. Available from http://www.epa.gov/oppbead1/methods/atmpa2z.htm#procedures. Accessed Nov. 22 (2009).
9. Russell, A.D.: Factors influencing the efficacy of antimicrobial agents. *In Russell, Hugo & Ayliffe's principles and practice of disinfection preservation & sterilization*, 4th Ed. (Fraise, A.P., Lambert, P.A., and Maillard, J-Y. eds.) Blackwell Publishing Ltd., Oxford, pp. 98-127 (2004).
10. Tuncan, E.U.: Effect of cold temperature on germicidal efficacy of quaternary ammonium compound, iodophor, and chlorine on *Listeria*. *J. Food Prot.* **56**(12), 1029-1033 (1993).
11. Best, M., Kennedt, M.E., and Coates, F.: Efficacy of a variety of disinfectants against *Listeria* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**(2), 377-380 (1990).
12. Sagripanti, J.L., Eklund, C.A., Trost, P.A., Jinneman, K.C., Abeyta, C.Jr., Kaysner, C.A., and Hill, W.E.: Comparative sensitivity of 13 species of pathogenic bacteria to seven chemical germicide. *AJIC* **25**(4), 335-339 (1997).
13. Ukuku, D.O.: Effect of sanitizing treatments on removal of bacteria from cantaloupe surface, and re-contamination with *Salmonella*. *Food Microbiol*. **23**, 289-293 (2006).
14. Sharma, M. and Beuchat, L.R.: Sensitivity of *Escherichia coli* O157:H7 to commercially available alkaline cleaners and subsequent resistance to heat and sanitizers. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**(3), 1795-1803 (2004).
15. Liu, C., Duan, J., and Su. Y.C.: Effects of electrolyzed oxidizing water on reducing *Listeria monocytogenes* contamination on seafood processing surfaces. *Int. J. Food Microbiol*. **106**, 248-253 (2006).
16. Kim, H.K., Ryu, J.H., and Beuchat, L.R.: Survival of *Enterobacter sakazakii* on fresh produce as affected by temperature, and effectiveness of sanitizers for its elimination. *Int. J. Food Microbiol.* **111**, 134-143 (2006).
17. Lopes, J.A.: Susceptibility of antibiotic-resistant and antibiotic-sensitive foodborne pathogens to acid anionic sanitizers. *J. Food Prot.* **61**(10), 1390-1395 (1998).
18. Langsrud, S., Sidhu, M.S., Heir, E., and Holck, A.L.: Bacterial disinfectant resistance-a challenge for the food industry. *Int. Biodeter. Biodegr.* **51**, 283-290 (2003).
19. Soumet, C., Ragimbeau, C., and Maris, P.: Screening of benzalkonium chloride resistance in *Listeria monocytogenes* strains isolated during cold smoked fish production. *Lett. Appl. Microbiol.* **41**, 291-296 (2005).
20. Gradel, K.O., Randall, L., Sayers, A.R., and Davies, R.H.: Possible association between *Salmonella* persistence in poultry houses and resistance to commonly used disinfectants and a putative role of *mar*. *Vet. Microbiol.* **107**, 127-138 (2005).
21. Bloomfield, S.F. and Looney, E.: Evaluation of the repeatability and reproducibility of European suspension test methods for antimicrobial activity of disinfectants and antiseptics. *J. Appl. Bacteriol.* **73**, 87-93 (1992).
22. Langsrud, S. and Sundheim, G.: Factore influencing a suspension test method for antimicrobial activity of disinfectants. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 1006-1012 (1998).
23. Jeffrey, D.J.: European disinfectant testing-Collaborative trials. *Int. Biodeter. Biodegr.* **36**, 367-374 (1995).
24. Fuster-Valls, N., Hernandez-Herrero, M., Marin-de-Mateo, M., and Rodriguez-Jerez, J.J.: Effect of different environmental conditions on the bacteria survival on stainless steel surfaces. *Food Control*, **19**, 308-314 (2008).
25. Oulahal, N., Brice, W., Martial, A., and Degraeve, P.: Quantitative analysis of survival of *Staphylococcus aureus* or *Listeria* innocua on two types of surfaces: Polypropylene and stainless steel in contact with three different dairy products. *Food Control,* **19**, 178-185 (2008).
26. Klingeren, B.V. : Disinfectant testing on surfaces. *J. Hosp. Infect.* **30**(Supplement), 397-408 (1995).
27. Tomasino, S.F. and Hamilton, M.A.: Comparative of two quantitative test methods for determination the efficacy of liquid sporicides and sterilants on a hard surface: A precollaborative study. *J. AOAC Int.* **90**(2), 456-464 (2007).
28. 식품의약품안전청: 식품첨가물 생산실적. Available from http://fa.kfda.go.kr/ Accessed Nov. 22 (2009).
29. 하상도: 식품가공공장의 살균소독제 안전관리에 대한 연구. 식품의약품안전청, pp. 46-49 (2004).
30. Lambert, P.A.: Sterilization. *In Russell, Hugo & Ayliffe's principles and practice of disinfection preservation & sterilization*, 4th Ed. (Fraise, A.P., Lambert, P.A., and Maillard, J-Y. eds.) Blackwell Publishing Ltd., Oxford, pp. 384-435 (2004).
31. Sisti, M., Albano, A., and Brandi, G.: Bactericidal effect of chlorine on motile *Aeromonas* spp. in drinking water supplies and influence of temperature on disinfection efficacy. *Lett. Appl. Microbiol.*, **26**, 347-351 (1998).

32. Vijayakumar, C., Wolf-Hall, C.: Minimum bacteriostatic and bactericidal concentrations of household sanitizers for *Escherichia coli* strains in tryptic soy broth. *Food Microbiol.* **19**, 383-388 (2002).
33. Bloomfield, S.F.: Chlorine and iodine formulations. *In Handbook of disinfectants and antiseptics*, 1st Ed. (Ascenzi, J.M. ed.) Dekker, Inc. New York, pp. 133-158 (1996).
34. Banner, M.J.: The selection of disinfectants for use in food hygine. *In Handbook of biocide and preservative use*, 1st Ed. (Rossmoore, H.W. ed) Blackie academic & professional, Glasgow, pp. 315 -333 (1995).
35. Villanueva, C.M., Cantor, K.P., Cordier, S., Jaakkola, J.J., King, W.D., Lynch, C.F., Porru, S., and Kogevinas, M.: Disinfection by products and bladder cancer:A polled analysis. *Epidemiology* **15(3)**, 357-367 (2004).
36. Sapers, G.M., Miller, R.L., Pilizota, V., and Mattrazzo, A.M.: Antimicrobial treatments for minimally processed cantaloupe melon. *J. Food Sci.* **66(2)**, 345-349 (2001).
37. Singh, N., Singh, R.K., Bhunia, A.K., and Stroshine, R.L.: Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Food Microbiol.* **19**, 183-193 (2002).
38. Silveira, A.C., Conesa, A., Aguayo, E., and Artes, F.: Alternative sanitizers to chlorine for use on fresh-cut "Galia" (*Cucumis melo* var. *catalupensis*) melon. *J. Food Sci.* **73(9)**, M405-M411 (2008).
39. Hilgren, J.D. and Salverda, J.A.: Antimicrobial efficacy of peroxyacetic/octanoic acid mixture in fresh-cut-vagatable process waters. *J. Food Sci.* **65(8)**, 1376-1379 (2000).
40. Martines-Sanchez, A., Allende, A., Bennett, R.N., Ferreres, F., and Gil, M.I.: Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biol. Technol.* **42**, 86-97 (2006).
41. Rodgers, S.L., Cash, J.N., Siddiq, M., and Ryser, E.T.: A comparision of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apple, lettuce, strawberries, and cantaloupe. *J. Food Prot.* **67(4)**, 721-731 (2004).
42. 40 CFR §180.940. Tolerance exemptions for active and inert ingredients for use in antimicrobial formulations (Food contact surface sanitizing solutions). *In Code of Federal Regulations.* U.S. Government printing office, Washington, DC, pp. 551-557 (2005).
43. Banner, M.J.: The selection of disinfectants for use in food hygine. *In Handbook of biocide and preservative use*, 1st Ed. (Rossmoore, H.W. ed) Blackie academic & professional, Glasgow, pp. 315 -333 (1995).
44. WHO/EMC/ZDI/98/6 Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Humans and Animals. Available from http://www.who.int/csr/resources/publications/anthrax/whoemczdi-986text.pdf. Accessed Aug. 21 (2009).