J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 2, pp. 127~131 (2007)

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

Vibrio parahaemolyticus 표준 및 식품분리 균주에 대한 살균소독제 유효성분별 감수성 평가

김일진 · 김용수[1] · 김형일[2] · 최현철[2] · 전대훈[2] · 이영자[2] · 하상도*
중앙대학교 식품공학과, [1]한국보건산업진흥원, [2]식품의약품안전청

Assessment of Both Standard and Isolated *Vibrio parahaemolyticus* on Efficacy of Commercial Sanitizers and Disinfectants

Il-Jin Kim, Yong-Su Kim[1], Hyung-Il Kim[2], Hyun-Chul Choi[2], Dea-Hoon Jeon[2], Young-Ja Lee[2], and Sang-Do Ha*
Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung 456-756, Korea
[1]Korea Health Industry Development Institute
[2]Korea Food & Drug Administration
(Received March 19, 2007/Accepted May 24, 2007)

ABSTRACT – This study evaluated the bactericidal effect of 10 sanitizers and disinfectants such as ethanol (75 and 95%), iodine (15 and 25 ppm), chlorine (100 and 200 ppm), quaternary ammonium, acid, hydrogen peroxide, and peroxide acetic acid against *V. parahaemolyticus.* Ten strains of *V. parahaemolyticus* isolated from Korean foods and 4 strains of standard *V. parahaemolyticus* were compared for efficacies of various sanitizers and disinfectants by EN 1276 method based on quantitative suspension test. Ethanol (75 and 95%), 25 ppm of iodine, 100 ppm of quaternary ammonium, 145 ppm of hydrogen peroxide and acid showed more than 5 $\log_{10}$CFU/mL reduction in both clean and dirty conditions. Tests result of chlorine (100 ppm) showed more than 5 $\log_{10}$CFU/mL reduction in clean condition. Iodine (15 ppm) showed more than 5 $\log_{10}$CFU/mL reduction except 4 isolated and 1 standard *V. parahaemolyticus* in clean condition. Iodine (15 ppm) also showed under 5 $\log_{10}$CFU/mL reduction (0.93~3.73 $\log_{10}$CFU/mL) in dirty condition. Eleven hundred ppm of hydrogen peroxide was evaluated as weak sanitizer and disinfectant due to their 0.99~4.79 $\log_{10}$CFU/mL reduction on both clean and dirty conditions. Consequently, ethanol, iodine (25 ppm), chlorine (200 ppm), quaternary ammonium, acid and peroxide acetic acid were thought to be effective sanitizer and disinfectant against *V. parahaemolyticus.*

Key words: sanitizer, disinfectant, foodborne pathogen, *Vibrio parahaemolyticus*

서 론

최근 학교 등 단체급식의 확대와 외식기회 증가 등에 의한 식생활 패턴의 변화, 지구 온난화 현상 및 실내온도 상승 등 환경의 변화로 식중독 발생이 증가하고 있고 규모면에서도 집단화, 대형화되어 감에 따라 식중독균 제어법 개발이 절실하다. 그 방법으로는 고전압펄스[1], 전기장, 진도 자기장, 초고압[2], 초음파, 마이크로웨이브[3,4] 등을 이용한 물리적 방법과 hot water holding, 염소계, ethanol[5-7], 4급암모늄계, 요오드계, 산알칼리제, 계면활성제, calcium oxide[8], hydrogen peroxide[5,9] 등과 같은 살균소독제를 이용하는 화학적 방법, 그리고 probiotics 등을 활용한 생물학적 방법이 있다. 그러나 비용 및 사용상의 편리성 때문에 화학적 살균소독제가 많이 사용되고 있다. 이러한 살균소독제들은 식품접촉 표면 및 기구 등의 살균소독제로 많이 사용되고, 식중독 예방 등 식품의 위생적 처리를 위해 집단급식소나 식품제조업체에서 식품의 제조가공 시 사용되는 설비기구 등에 대한 살균소독 목적으로 그 사용량이 점차 늘어날 것으로 예상된다. 현재 식품의약품안전청으로부터 인정된 기구 등 살균소독제 제품은 2006년 말 현재 142개 제품이 등록되어 있다. 기구 등 살균소독제 한시적 기준 및 규격인정 기준[10]은 *Escherichia coli* ATCC

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

10536(또는 ATCC 11229)과 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538균에 대하여 초기균수를 99.999%(5 $\log_{10}$CFU/mL) 이상 감소여부를 시험하여 살균소독력이 있다고 인정된 제품이다. 이 때 사용되는 공시균주는 제외국의 시험방법[11,12]과 식품의약품안전청의 연구사업[13,14]을 검토하여 G(-)과 G(+)을 대표하면서 균의 제어가 비교적 쉽고 재현성 있는 결과를 얻을 수 있는 균을 선택한 것이다. 하지만 공시균주가 *Escherichia coli* ATCC 10536(또는 ATCC 11229)와 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538균으로 한정되어 있어 식중독을 야기하는 다른 균주들에 대한 살균소독력 여부에 대한 평가 없이 허가 승인절차를 거친다. 우리나라는 삼면이 바다로 둘러싸인 지형적 특성상 어패류를 생선회 등 날로먹는 습관이 있기 때문에 2001부터 2005년까지 장염비브리오 식중독 사건 76건에 환자수 2,137명이 발생하였다.[13] 따라서 본 연구는 seafood로부터 오염[14]되어 식중독을 빈번하게 야기하는 호염성 세균인 *V. parahaemolyticus*에 대하여 현재 식약청 인정을 받아 시중에서 판매 및 유통되고 있는 주요 살균소독제의 살균소독력을 시험하였다.

재료 및 방법

배양조건 설정

본 실험에서 사용된 *Vibrio parahaemolyticus*는 호염성 균주이기 때문에 배양에 사용된 tryptic soy agar(TSA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)와 tryptic soy broth(TSB, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)는 NaCl의 농도를 2%로 조절하여 사용하였다.

사용균주 및 시약

본 실험에서 사용된 *V. parahaemolyticus* 분리균주는 굴 5종, 수조 5종에서 분리한 균주로서 중앙대학교 미생물연구실에서 분양받았다. *V. parahaemolyticus* 표준균주인 ATCC 17802, 27969, 33844, 27519을 중앙대학교 미생물연구실에서 분양받아 사용하였다. 보존 배양된 시험균을 NaCl이 2%로 조절된 TSA배지에 도말하여 18-24시간 배양하였다. *V. parahaemolyticus* 는 2% NaCl이 첨가된 TSB 배지에 접종하여 18~24시간 2차 배양을 하고 같은 방법으로 3차 배양을 하였다. 2차 배양과 3차 배양을 활성배양으로 사용하였다. 살균소독제에 대한 감수성을 평가하기 위하여 국내 유통 판매되는 살균소독제를 유효성분별로 선별하여 구입하였다(Table 1).

살균소독제의 살균소독력 평가

살균소독제 시험법은 유럽 정량적 현탁액 시험법인 EN 1276 방법[5]을 사용하였다. 시험균 1.0 mL와 간섭물질 1.0 mL이 들어있는 멸균시험관에 시험용액 8.0 mL를 넣고 20±1°C에서 5분간 반응시켰다. 반응이 종료되면 교반 후 중화제 8.0 mL와 멸균증류수 1.0 mL가 혼합된 멸균시험관에 반응혼합액 1.0 mL을 첨가하고 20±1°C에서 5분간 중화하였다. 중화시간이 완료되면, 즉시 중화반응혼합액 1.0mL를 멸균 페트리 접시에 분주하고 TSA로 생균수를 측정하였다(Fig. 1).

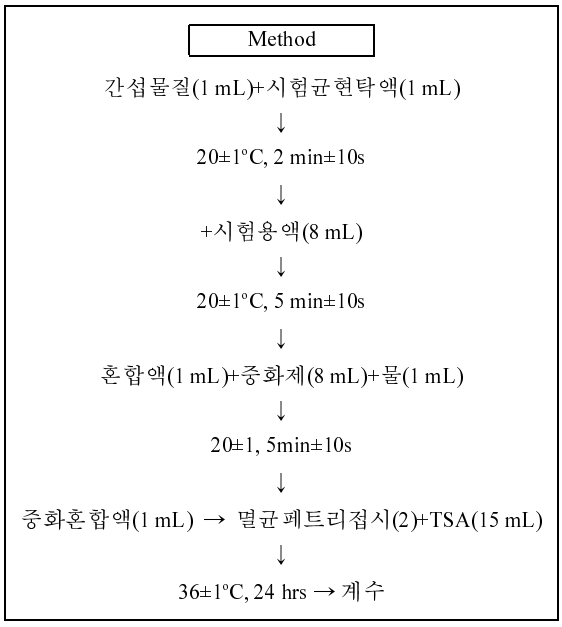

Fig. 1. Dilution-neutralization method.

Table 1. Commercial sanitizers and disinfectants in korea

Sanitizers and disinfectants	Effective Ingredients	Concentrations of effective ingredients	Treated concentrations
P-1	Ethanol	95.0%	100
P-2	Ethanol	75.0%	100
P-3	Hypochlorous acid	4.0%	200 ppm
P-4	Sodium dichloroisocyanurate	94%	100 ppm
P-5	Iodine	2.0%	15 ppm
P-6	Iodine	1.5%	25 ppm
P-7	Quaternary ammonium	5.0%	100 ppm
P-8	Acetic acid / Sulfuric acid	14.0% / 9.8%	280 ppm / 19 6ppm
P-9	Peroxyacetic acid	5.8%	145 ppm
P-10	Hydrogen peroxide	35%	1100 ppm

간섭물질

청정조건은 0.3 g의 bovine serum albumin(Sigma, St. Louis, Mo, USA)을 물 100 mL에 녹이고 막 여과 filter (0.45 μm, Diameter of pore, Sartorius AG 3770770, Cottingen, Germany)를 통하여 제균하여 사용하였다. 오염조건은 3 g의 bovine serum albumin을 물 100 mL에 녹이고 제균하여 사용하였다.

중화제

중화제는 3 g lecithin(Fluka, Product of india), 30 g polysorbate 80(Fluka, Product of switzerland), 5 g sodium thiosulfate(Aldrich, Product of USA), 1 g L-histidine(Sigma-Aldrich, product of japan), 30 g saponine(Fluka, Product of germany)을 1000 mL 용적플라스크에 넣고 희석수로 mass up 하여 녹인 후 멸균하여 사용하였다.

희석수

희석수는 1 g tryptone, 8.5 g NaCl을 증류수 1,000 mL에 녹인 후 멸균하여 사용하였다.

경수

A 용액은 19.84 g $MgCl_2$와 46.24 g $CaCl_2$를 물에 용해하여 1,000 mL로 맞추어 멸균한 후 조제하고, B 용액은 35.02 g의 $NaHCO_3$를 물에 녹여 막 여과 filter로 제균하여 조제하였다. 살균소독제 조제 시 사용되는 경수는 1,000 mL 용적플라스크에 A용액 6.0 mL를 넣은 후 최소 600 mL의 멸균수를 첨가하고 8.0 mL의 용액B를 첨가한 후 멸균수와 20 g의 NaCl을 첨가하여 1,000 mL로 만들어 사용하였다.

시험균 현탁액

시험균 현탁액은 활성배양이 완료되면 50 mL Falcon tube(BLUE MAX™ Jr. 50 mL. Polypropylene Conical Tube. USA)에 무균적으로 담고 20±1°C, 5,000 g(Hanil, Korea)에서 5분간 원심분리 후 상등액을 조심스럽게 제거하고, 준비된 멸균 희석수 2.0 mL을 첨가하여 교반하였다. 교반이 완료되면 5분간 원심분리 후 상등액을 조심스럽게 제거하고, 멸균 희석수 2.0 mL을 첨가하여 교반하여 사용하였다. 멸균된 100 mL 삼각플라스크에 10 mL의 멸균희석수와 5 g의 멸균 유리비드를 넣고 원심분리가 완료된 Falcon tube에 담긴 시험균액을 1,000 μL pipet으로 혈청튜브에 접종하고 colorimeter(Vitec, HACH BOX 389, Loveland, Colo, USA)를 이용하여 초기균수를 $1.5\sim2.5\times10^8$ CFU/mL로 조정하였다. 시험균 현탁액의 균수를 2% NaCl TSA를 사용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

10종의 살균소독제를 정량적 현탁액 시험법으로 평가한 결과를 Table 2에 나타내었다. 에탄올 함량이 95%와 75%에 대하여 *V. parahaemolyticus*는 표준균주 및 분리균주 모두에서 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상의 생균수감소율을 나타내었다. *V. parahaemolyticus*는 배양할 때 6, 8%의 에탄올의 첨가만으로도 생장이 저해 되는 것으로 보고하였다.[14] 본 실험에서 사용된 염소계 살균소독제(P-3, P-4)는 무기염소 및 유기염소를 포함하는 제품을 선정하여 실험하였다. 무기염소의 함량이 200 ppm인 살균소독제를 *V. parahaemolyticus* 처리하였을 때 청정과 오염조건에서 생균수 감소 기준을 만족하였으나 야생분리 균주 4종과 표준균주 1종에 경우 오염조건에서 생균수 감소 기준 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상을 넘기지 못하였다. 유기염소계 함량이 100 ppm인 살균소독제를 처리한 경우 청정조건에서는 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상의 생균수 감소율을 보였으나, 오염조건에서는 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상을 넘기지 못한 것으로 보아 유기물(간섭물질)에 대한 살균소독력이 저하되었기 때문으로 판단된다. 할로겐계 살균소독제 중 요오드를 유효성분으로 하는 살균소독제품 2종을 시험하였다. 선별된 살균소독제 중 요오드 함량이 15 ppm인 살균소독제 처리구의는 청정 및 오염조건에서 *V. parahaemolyticus*를 시험하였다. 그 결과 청정조건에서는 생균수 감소 기준을 만족하였으나 오염조건에서 생균수 감소 기준 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상을 넘기지 못하였다. 실제 사용 최고농도(안전성 자료 제출 면제기준 25 ppm)에서 살균소독력을 시험한 결과 *V. parahaemolyticus*는 청정조건과 오염조건에서 생균수 5 $\log_{10}$CFU/mL 감소 기준을 만족하였다. 4급 암모늄(QAC)계, 산으로 구성된 살균소독제와 과산화초산계 살균소독제를 *V. parahaemolyticus*에 처리한 결과에서는 표준균주와 분리균주 모두에 대해 청정, 오염조건에서 생균수 감소 기준인 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상을 만족하였다. 유효성분이 과산화수소인 살균소독제를 *V. parahaemolyticus* 표준 및 분리균주에 처리한 결과는 청정 및 오염조건 모두에서 1~4 $\log_{10}$CFU/mL 정도의 감소율을 보여 살균소독력이 가장 낮은 것으로 판단된다. Son 등[21]이 *V. parahaemolyticus*는 ampicillin, cephalothin, streptomycin과 ticarcillin에 내성을 나타내었다고 보고하였다. 본 실험 결과 시험한 모든 *V. parahaemolyticus*에 대해서 5 $\log_{10}$CFU/mL 감소를 나타낸 제품은 없었다. *V. parahaemolyticus*는 시험된 10종의 살균소독제에 대하여 저항성이 강한 균주는 아닌 것으로 판단된다. Yutaka 등[20]이 spices와 herbs의 항균력을 이용하여 *V. parahaemolyticus*의 개체 수를 줄일 수 있다고 보고하였다. 청정조건에 비해 오염조건에서의 살균소독력이 낮았다. Denyer 등[22]은 살균소독제에 의한 주요 손상원인으로 막 사이 간극연적 방해, 산화적 인산화 방해, 호흡작용, 이화작용, 동화작용

방해, 복제방해를 야기하고, 칼륨양이온, 무기인산, 펜토스, 뉴클레오타이드, 뉴클레오시드, 단백질 등과 같이 세포 내에서 필수적인 구성성분들의 누출을 야기한다고 보고 하였다. 또한 살균소독제는 세포의 lysis, 세포질 내의 물질 등의 응고를 유도하는 것으로 보고하였다. 본 실험결과 살균소독제가 세포 어느 한 곳에만 집중적으로 가해지는 것이 아니고, 세포에 복합적으로 작용하여 살균소독력을 나타내는 것으로 판단된다. 이번 실험에서 사용된 KFDA 허가제품 10가지 중 P5와 P10은 법적 허용기준(5 $\log_{10}$CFU/mL 이상 감소)을 만족하지 못 하였고, 총 8종은 *E. coli* 와 *Staph. aureus*에 대하여 5 $\log_{10}$CFU/mL 감소하여 효능을 인정받았다. 요오드계 15 ppm 및 과산화수소 1,100 ppm은 *V. parahaemolyticus*에 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상의 감소를 보이지 못하여 살균소독력이 미약한 것으로 판단된다. 따라서 급식업체, 주방 등에서 *V. parahaemolyticus*로 인한 식중독을 예방하고, 제어하기 위해서는 알콜, 염소계, 산, 4급 암모늄계 살균소독제를 사용하는 것이 효과적인 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 표준 및 식품분리 *V. parahaemolyticus*균에 대한 주요 유형별 살균소독제의 유효성을 평가하고자 하였다. 살균소독제는 에탄올, 요오드, 염소계(무기, 유기) 각 2종, 4급 암모늄, 산, 과산화초산계, 과산화수소를 선정하였다. 시험균주는 표준균주 4종과 자연에서 분리한 10종

Table 2. Efficacy of 10 sanitizers and disinfectans on reduction of *Vibrio parahaemolyticus*

Conditions		Test organisms	Reduction of *V. parahaemolyticus* ($\log_{10}$CFU/mL)									
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
Clean	Standard	ATCC 17802	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	2.20
		ATCC 27969	>5	>5	>5	>5	1.42	>5	>5	>5	>5	1
		ATCC 33844	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	1.27
		ATCC 27519	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	1.09
	Wild type	Oyster 1	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	0.95
		Oyster 2	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	1.45
		Oyster 3	>5	>5	>5	>5	4.70	>5	>5	>5	>5	2.26
		Oyster 4	>5	>5	>5	>5	4.83	>5	>5	>5	>5	1.92
		Oyster 5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	2.15
		Cistern 1	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	1.68
		Cistern 2	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	0.82
		Cistern 3	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	3.85
		Cistern 4	>5	>5	>5	>5	4.76	>5	>5	>5	>5	1.84
		Cistern 5	>5	>5	>5	>5	4.59	>5	>5	>5	>5	1.52
	E. coli	ATCC 10536	>5	>5	>5	>5	<5	>5	>5	>5	>5	<5
	S. aureus	ATCC 6538	>5	>5	>5	>5	<5	>5	>5	>5	>5	<5
Dirty	Standard	ATCC 17802	>5	>5	>5	1.45	1.45	>5	>5	>5	>5	0.80
		ATCC 27969	>5	>5	2.85	4.49	0.93	>5	>5	>5	>5	0.60
		ATCC 33844	>5	>5	>5	2.07	1.37	>5	>5	>5	>5	0.97
		ATCC 27519	>5	>5	>5	3.12	1.58	>5	>5	>5	>5	0.70
	Wild type	Oyster 1	>5	>5	>5	1.44	1.35	>5	>5	>5	>5	0.47
		Oyster 2	>5	>5	>5	1.70	1.49	>5	>5	>5	>5	0.90
		Oyster 3	>5	>5	>5	1.58	3.73	>5	>5	>5	>5	1.99
		Oyster 4	>5	>5	>5	1.36	0.99	>5	>5	>5	>5	1.36
		Oyster 5	>5	>5	2.44	1.18	1.65	>5	>5	>5	>5	1.25
		Cistern 1	>5	>5	3.55	1.83	1.81	>5	>5	>5	>5	1.17
		Cistern 2	>5	>5	>5	1.85	1.35	>5	>5	>5	>5	0.28
		Cistern 3	>5	>5	>5	4.38	3.30	>5	>5	>5	>5	1.54
		Cistern 4	>5	>5	2.40	2.13	1.85	>5	>5	>5	>5	1.30
		Cistern 5	>5	>5	2.66	4.19	2.05	>5	>5	>5	>5	0.37
	E. coli	ATCC 10536	>5	>5	>5	>5	<5	<5	>5	>5	>5	<5
	S. aureus	ATCC 6538	>5	>5	>5	>5	<5	<5	>5	>5	>5	<5

Initial concentration of *Vibrio parahaemolyticus* : 2×10^8 $\log_{10}$CFU/mL.

의 *V. parahaemolyticus*를 정량적 현탁액 시험방법(유럽 EN 1276)으로 비교 평가하였다. 에탄올(75, 95%), 요오드계 25 ppm, 4급 암모늄 100 ppm, 산, 과산화초산계 145 ppm은 청정조건과, 오염조건 모두에서 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상의 생균수 감소율을 보였다. 유기염소계의 시험 결과는 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상의 생균수 감소율을 보였다. 청정조건에서 요오드 15 ppm 처리구는 분리균주 4종과 표준균주 1종을 제외하고 5 $\log_{10}$CFU/mL 이상의 생균수 감소율을 보였다. 또한 오염조건에서 요오드 15 ppm 처리구는 5 $\log_{10}$CFU/mL(0.93~3.73 $\log_{10}$CFU/mL) 이하의 생균수 감소율을 보였다. 1,100 ppm의 과산화수소는 모든 시험균주에 대하여 청정, 오염조건에서 0.29~3.86 $\log_{10}$CFU/mL의 생균수 감소율을 보였으므로 소독력이 약한 것으로 판단된다. 결론적으로 에탄올, 요오드(25 ppm), 무기염소계, 4급 암모늄계, 산, 과산화초산계 살균소독제가 *V. parahaemolyticus* 제거에 효과적인 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 식품의약품안전청의 지원에 의해 연구되었음(KFDA-06042인체강079).

참고문헌

1. Kim, K.T., Kim, S.S., Hong, H.D., Ha, S.D., and Lee, Y.C.: Quality changes and pasteurization effects of citrus fruit juice by high voltage pulsed electric fields(PEF) treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **35**, 635-641 (2003).
2. Kalchayanand, N., Silker, T., Dunne, C.P., Ray, B.: Hydrostatic pressure and electroporation have increased bacterdial efficiency in combination with bacteriocins. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 4174-7177 (1994).
3. Shin, J.K., and Pyun, Y.R.: Inactivation of *Lactobacillus plantrum* by pulsed-microwave irradiation. *J. Food Sci.*, **62**, 163-166 (1997).
4. Qin, B.L., Pothakamurry, U.R.O., Vega, H., Martin, O., and Abosacanovas, G.V., and Swanson, B.G.: Food pasteurization using high-intensity electric fields. *Food Technol.,* **49**, 55-60 (1995).
5. European Committee for Standardization. Chemical disinfectants and antiseptics (Phase 2, step 1). European Committee for Standardization, EN 1276, British Standards Institution, Switzaland (1997).
6. Jang, J.H., Jang, J.S., Lee, S.Y., Kim, H.S., Kang, S.M., Park, J.H.: Growth inhibition effects of ethanol and sodium chloride on *Bacillus cereus*. *Korean J. Food Sci. Technol*, **35**, 998-1002 (2003).
7. Park, C.S., and Kim, M.R.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by low conentrations of ethanol. *Korean J. Soc. Food Sci.,* **11**, 379-385 (1995).
8. Yeon, J.H., Lee, D.H., Ha, S.D.: Bactericidal Effect of Calcium oxide(CaO, Scallop-shell Powder) on natural microflora and pathogenic bacteria in sesame leaf. *Korean J. Food Sci. Tecnol.*, **37**, 844-849 (2005).
9. Kim, H.J., Hwang, Y.I., and Lee, S.C.: Inhibitory effect of hydrogen peroxide on the growth of *Escherichia coli*. *J. Basic Sci.*, **19**, 113-117 (2004).
10. List of approved sanitizer/disinfectant products by KFDA. Available from http://kfda.go.kr Accessed Oct. 1, 2006
11. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 16th ed. Method 960.09. Association of Official Chemists, Arlington, VA, USA (1995).
12. British Standards Institution: Chemical Disinfectants and Antiseptics-Quantitative suspension test for the Evaluation of Bactericidal Activity of Chemical Disinfectant and Antiseptics Used in Food, Industrial, Domestic, and Institutional Areas-Test Method and Requirement(Phase 2, Step 1), European Committee for Standardization, EN 1276, UK (1997).
13. Korea Food and Drug Administration. The epidemiological characteristics of food poisoning in Korea. Available from: http://www.kfda.go.kr. Accessed mar., 2006
14. Chiang, M.L., Ho, W.L., and Chou, C.C.: Response of *Vibrio parahaemolyticus* to ethanol shock. *Food Microbiol.*, **23**, 461-467 (2006).
15. Cho, Y,H., and Kim, Y.S.: Evaluation of safety an efficacy od sanitizers and disinfectants. The Annual Report of KFDA, 7: 840 (2003).
16. Kim, H.I., Lee, K.H., Kwak, I.S., Eom, M.O., Jeon, D.H., Sung, J.H., Choi, J.M., Kang, H.S., Kim, Y.S., and Kang, K.J.: The establishing test method of bactericidal activity and the evaluating of Korean disinfectants/sanitizers efficacy. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **37**, 838-843 (2005).
17. Chapman, J.S.: Biocide resistance mechanisms. *Int. Biodeter. Biodegr.*, **51**, 133-138 (2003).
18. Langsrud, S., Sundheim, G., and Holck, A.L.: Cross-resistance to antibiotics of *Escherichia coli* adapted to benzalkonium chloride or exposed to stress-inducers. *J. Appl. Microbiol.*, **96**, 201-208 (2004).
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. Yutaka, Yano., Masataka, Satomi., and Hiroshi Oikawa.: Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*, *Int. J. Food Microbiol.*, **111**, 6-11 (2006).
21. Son, J.C., Park, S.w., and Min, K.J.: 경북 동해안 환경에서 분리된 *V. parahaemolyticus* 및 *V. vuluificus*의 생태학적 및 항생제 감수성 특성, *Kor. J. Env. Hlth.*, **29**, 94-102 (2003).
22. Denyer, S.P.: Mechanism of Action Antibacterial Biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **36**, 227-245 (1995).