J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 2, pp. 132~136 (2007)

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

# *Listeria monocytogenes*와 *Salmonella* spp.에 대한 Sodium Hypochlorite 및 Benzalkonium Chloride의 유효성 평가

김형일 · 윤혜정 · 최현철 · 전대훈 · 엄미옥 · 성준현 · 박나영 · 원선아 · 김남희 · 성덕화 · 곽효선 · 권기성 · 이영자*
식품의약품안전청 식품본부

# Evaluation on Efficacies of Sodium Hypochlorite and Benzalkonium Chloride against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp.

Hyungil Kim, Haejung Yoon, Hyuncheol Choi, Daehoon Jeon, Miok Eom, Junhyun Sung, Nayoung Park
Sunah Won, Namhee Kim, Deokwha Sung, Hyosun Kwak, Kisung Kwon, and Youngja Lee*
*Center for Food Evaluation, Korea Food and Drug Administration*
(Received April 18, 2007/Accepted May 29, 2007)

**ABSTRACT** – Disinfectants/sanitizers, showing the bactericidal activity of 5 $\log_{10}$ reduction against *E. coli* ATCC 10536 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 used for assessing disinfectants/sanitizers efficacies, were examined whether showing similar efficacies against *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*, the major food poisoning bacteria, isolated from foods in current Korean market. The bactericidal efficacies on sodium hypochlorite and benzalkonium chloride were assessed by quantitative suspension tests in both 'clean' and 'dirty' conditions, respectively. Test organisms were consisted of *E. coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, 10 kinds of *Salmonella* spp. from foods, and 11 kinds of *Listeria monocytogenes* from foods. More than 5 $\log_{10}$ reduction in viable count for all strains was only achieved with benzalkonium chloride at the tolerance exemption concentration under dirty conditions. However, all strains were achieved more than 5 $\log_{10}$ reduction under clean conditions.

**Key words:** *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, bactericidal activity

식품안전 위험요소에 대한 각국 소비자들의 우려정도를 보면 우리나라 국민은 미생물 오염과 비위생적인 식품취급을 가장 중요한 요소로 생각하고 있는 것으로 보고[1]된 바 있다. 이와같은 조사결과는 우리나라 식품제조업소의 영세성과 매년 증가하고 있는 식중독의 집단화, 대형화와 관련이 있는 것으로 보인다. 특히, *Salmonella, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus* 등으로 인한 세균성 식중독이 전체 식중독의 90% 이상을 차지하고 있다[2]. 최근에는 높은 치사율과 저온에서도 생육이 가능한 *Listeria monocytogenes*로 인한 식중독 발병사례도 다수 보고[3]되고 있는 실정이다. 이러한 식중독 원인균의 증식억제 및 제거방법으로 편리성과 비용적 측면을 고려할 때 살균소독제의 사용량은 점차 늘어날 것으로 전망된다. 실제로 식중독 예방 등 식품의 위생적 처리를 위해 집단급식소나 식품제조업체에서 식품의 제조가공시 사용되는 기구의 살균소독을 위해 식약청으로부터 기구등의 살균소독제로 인정된 제품의 수도 꾸준히 증가하고 있다[4]. 그러나, 식약청으로부터 인정된 기구등의 살균소독제는 *Escherichia coli* ATCC 10536(또는 ATCC 11229)과 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538에 대하여 살균소독력을 평가하고 있을 뿐, 실제 국내에서 식중독을 일으킬 수 있는 식품분리균을 대상으로 평가한 연구는 최근에서야 시작[5,6]되었으며, 육류식품에서 발생하는 식중독 원인균으로 알려진 *Salmonella*나 *Listeria monocytogenes*[7-10]에 대한 검토는 거의 이루어지지 않고 있다. 따라서, 본 연구에서는 국내 유통식품에서 분리한 *Listeria monocytogenes* 및 *Salmonella* spp.를 대상으로 기구등의 살균소독제 유효성분 중 실제 제품수와 사용량이 가장 많은 것으로 알려진[11] 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite)과 염화벤잘코늄

*Correspondence to: Youngja Lee, Food Packaging Team, Center for Food Evaluation, Korea Food and Drug Administration, 194 Tongilno, Eunpyunggu, Seoul, 122704, Korea
Tel: 82-2-380-1695, Fax: 82-2-385-0525
E-mail: snoopy7@kfda.go.kr

(bezalkonium chloride)에 대한 감수성(susceptibility)을 *Escherichia coli* ATCC 10536 및 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538과 비교한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 시약

*E. coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 및 *Listeria monocytogenes* ATCC 19111는 질병관리본부 병원체방어연구실로부터 분양받아 사용하였으며, 식품에서 분리한 *Salmonella* spp. 10균주 및 *Listeria monocytogenes* 11균주는 식약청 식품미생물팀에서 2004년에서 2005년 사이에 분리하여 보관(-70 °C)중인 것을 사용하였다(Table 1).

살균소독제의 유효성을 조사하기 위한 유효성분으로 차아염소산나트륨은 Fisher Scientific사(Fair Lawn, NJ, USA)로부터, 염화벤잘코늄은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 각각 구입하여 사용하였다.

### 식품분리균에 대한 살균소독력 평가

살균소독력 평가방법은 Kim 등[12]의 방법에 따라 간섭물질로 알부민(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)용액(청정조건: 3 g/L, 오염조건: 30 g/L)을 여과 멸균하여 사용하였으며, 20°C에서 5분간 처리하였을 때, 5 log CFU/mL 감소를 보이는 각 유효성분의 최소 농도(mg/L)를 구하였다. 유의성 검증은 Student's t-test로 양측검증을 시행하여 $p$값이 0.05미만인 때를 통계적으로 유의한 것으로 결정하였다.

**Table 1.** Bacterial isolates used in this study.

| Species | Culture No. | Isolated Area | Isolated Date | Source |
|---|---|---|---|---|
| *Salmonella* spp. | S1 | -[1)] | '04 | Chicken |
| | S2 | - | '04 | Chicken |
| | S3 | - | '04 | Chicken |
| | S4 | - | '04 | Chicken |
| | S5 | Incheon | '05.08.29 | Chicken |
| | S6 | Incheon | '05.08.29 | Chicken |
| | S7 | - | '04 | Black rock fish |
| | S8 | Daejeon | '05.09.20 | Beef |
| | S9 | Daejeon | '05.08.22 | Chicken |
| | S10 | Daejeon | '05.08.22 | Beef |
| *Listeria monocytogenes* | L1 | Daejeon | '05.05.23 | Pork |
| | L2 | Incheon | '05.04.25 | Pork |
| | L3 | Incheon | '05.04.25 | Pork |
| | L4 | Incheon | '05.04.25 | Beef |
| | L5 | Incheon | '05.04.25 | Pork |
| | L6 | Incheon | '05.04.25 | Beef |
| | L7 | Incheon | '05.04.25 | Beef |
| | L8 | Incheon | '05.04.25 | Chicken |
| | L9 | Incheon | '05.04.25 | Beef |
| | L10 | Incheon | '05.04.25 | Pork |
| | L11 | Daejeon | '05.05.23 | Beef |

[1)]Unknown

## 결과 및 고찰

### 차아염소산나트륨에 대한 살균소독력 평가

식품에서 분리한 *Salmonella* spp. 및 *Listeria monocytogenes*의 차아염소산나트륨에 대한 살균소독력을 평가한 결과를 Fig. 1 및 2에 나타내었다. 오염조건에서는 기구등

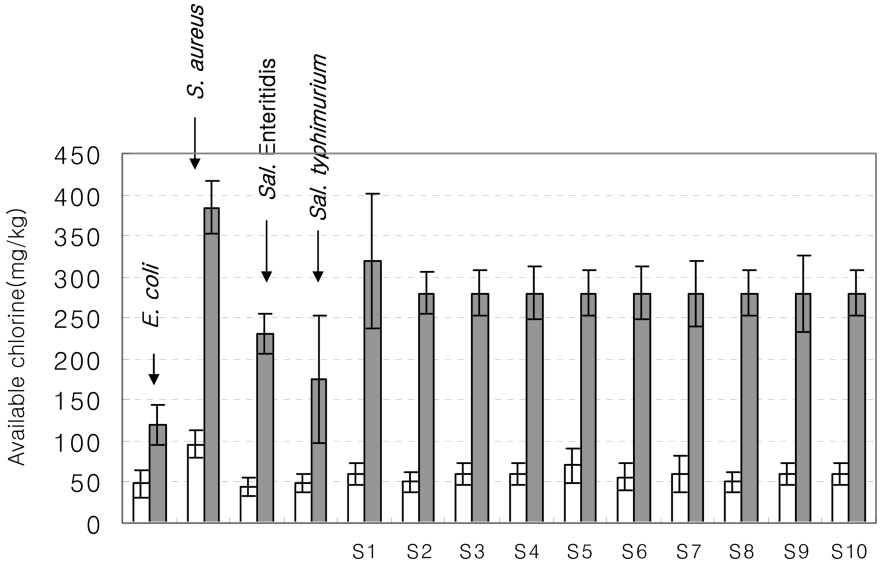


**Fig. 1.** Minimum bactericidal concentration of available chlorine to achieve 5 log reduction of *Salmonella* spp. isolates (□, clean conditions; ■, dirty conditions). The arrows indicate *E. coli* ATCC 10536, *S. aureus* ATCC 6538, *Sal*. Enteritidis ATCC 13076, and *Sal. typhimurium* ATCC 13311 used as reference strains, respectively.

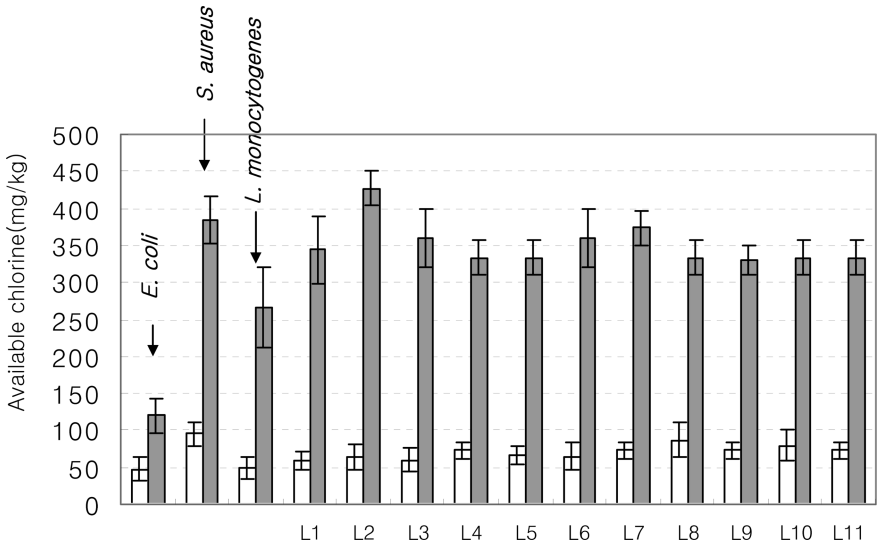


**Fig. 2.** Minimum bactericidal concentration of available chlorine to achieve 5 log reduction of *Listeria monocytogenes* isolates (□, clean conditions; ■, dirty conditions). The arrows indicate *E. coli* ATCC 10536, *S. aureus* ATCC 6538, and *L. monocytogenes* ATCC 19111 used as reference strains, respectively.

의 살균소독시 안전성을 고려하여 일반적으로 사용되는 농도[13,14]인 유효염소 200 mg/L 이하에서 살균소독력 기준[4]인 5 log 이상의 감소를 보이는 균은 없었다. 식품분리주간에 차아염소산나트륨에 대한 살균소독력에 큰 차이는 보이지 않았으나, *E. coli* ATCC 10536과 *Salmonella typhimurium* ATCC 13311은 식품분리균주와 살균소독력에 차이를 보였다. 청정조건에서는 모든 균주가 유효염소 100 mg/L 미만에서 살균소독력 기준인 5 log 이상 감소하였다. *Salmonella*는 *Salmonella typhimurium* ATCC 13311을 제외하면 모든 균주간에 살균소독력에 큰 차이가 없었으나, *Listeria monocytogenes*는 식품분리주간에도 살균소독력에 차이를 보이는 균이 있었으며, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111은 상대적으로 차아염소산나트륨에 대한 감수성이 높았다. 차아염소산나트륨과 같은 염소계 살균소독제는 비교적 싼 가격과 넓은 항균 스펙트럼을 갖고 있기 때문에 가장 널리 쓰이고 있으나[15], 유기물과 쉽게 반응하여 항균력을 잃는 것으로 알려져 있다[16]. 식품에서 분리한 *Salmonella* spp.와 *Listeria monocytogenes*에 대한 살균소독력 평가결과에서도 오염조건에서는 5 log 감소 이상의 살균소독력을 보이기 위해서 청정조건에 비해 3배 이상의 유효염소농도가 필요한 것을 확인할 수 있었으며, 올바른 살균소독을 위해서 차아염소산나트륨 사용전 충분한 세척과정이 있어야 할 것으로 보인다.

### 염화벤잘코늄에 대한 살균소독력 평가

염화벤잘코늄과 같은 4급암모늄계 살균소독제는 부식성이 없고, 독성이 낮으며, 세척효과도 있어 식품가공기구에 많이 사용되는 살균소독제이나, 최근 가금류나 어류 가공공장에서 분리된 *Pseudomanas* spp., *Staphylococcus* spp., *Listeria monocytogenes*중 10~30%가 염화벤잘코늄에 대해 내성(resistance)을 나타낸다고 보고[17-19]된 바 있다. 그러나, Fig. 3과 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 국내 식품에서 분리한 *Salmonella* spp.와 *Listeria monocytogenes*의 경우 청정조건 및 오염조건에서 식품분리균주 모두 염화벤잘코늄의 실제 사용 농도인 200 mg/L 이하에서 살균소독력 기준인 5 log 이상 감소하였다. *Listeria monocytogenes*는 *Salmonella*보다 염화벤잘코늄에 대해 더 민감한 것으로 나타났는데, 이 결과는 Lopes의 보고[20]와 일치하는 것이었다. L6와 L7의 경우와 같이 식품분리균주 사이에 살균소독력에 차이를 보이는 균이 있었고 L11과 같이 염화벤잘코늄에 대해 감수성이 높은 균도 발견되었다. *Salmonella*와 같은 G(-)균의 외층은 살균소독제의 흡수를 저해하는 성질을 갖고 있어 일반적으로 G(+)균이 G(-)균보다 살균소독제에 대한 감수성이 큰 것으로 알려져 있고[21] 염화벤잘코늄과 같은 4급암모늄을 세포내에서 제거할 수 있는 유전인자를 가진 몇몇 Staphylococci를 제외하면 G(+)균은 4급암모늄계 살균소독제에 민감한 것으로 보고[22]된 바 있다.

## 요 약

살균소독력 평가균주로 사용되는 *E. coli* ATCC 10536과 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538균에 대하여 5 log CFU/ml 감소의 살균소독력을 보이는 살균소독제가 국내에서 식중독을 일으키고 있는 식중독 원인균중 *Salmonella* spp.와 *Listeria monocytogenes*에 대하여도 같은 살균소독력을 나타내는지 비교평가하였다. 청정조건 및 오염조건에서 현탁액시험법을 사용하여 차아염소산나트륨과 염화벤잘코늄의 살균소독력을 평가하였다. 시험균주로는 *E. coli*

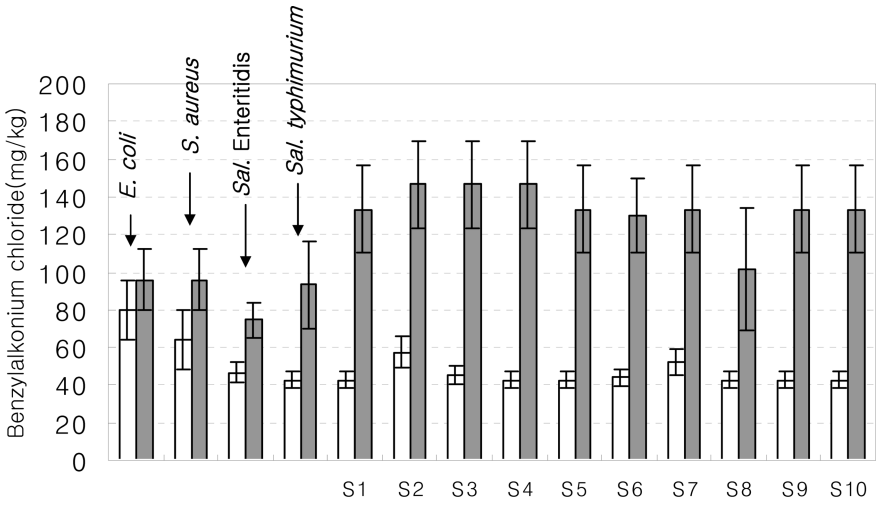


**Fig. 3.** Minimum bactericidal concentration of benzalkonium chloride to achieve 5 log reduction of *Salmonella* spp. isolates (□, clean conditions; ■, dirty conditions). The arrows indicate *E. coli* ATCC 10536, *S. aureus* ATCC 6538, *Sal*. Enteritidis ATCC 13076, and *Sal. typhimurium* ATCC 13311 used as reference strains, respectively.

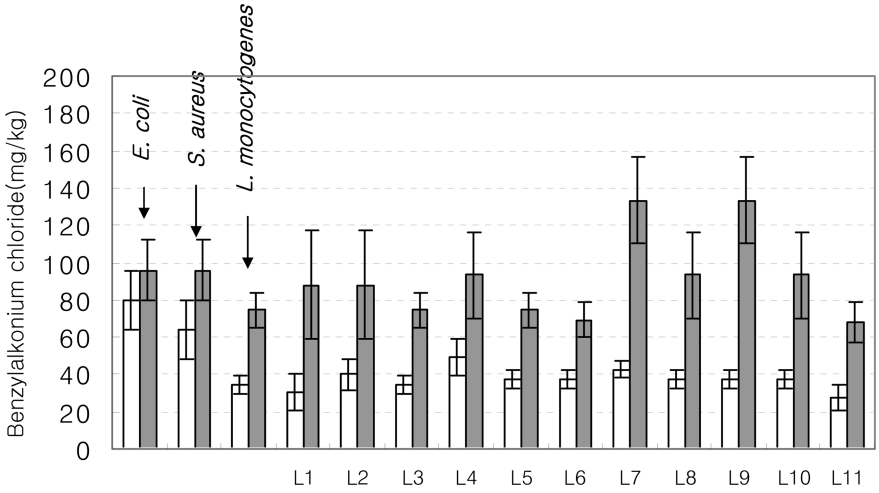


**Fig. 4.** Minimum bactericidal concentration of benzalkonium chloride to achieve 5 log reduction of *Listeria monocytogenes* isolates (□, clean conditions; ■, dirty conditions). The arrows indicate *E. coli* ATCC 10536, *S. aureus* ATCC 6538, and *L. monocytogenes* ATCC 19111 used as reference strains, respectively.

ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Salmonella* spp. 10균주 및 *Listeria monocytogenes* 11균주를 사용하였다. 오염조건에서는 염화벤잘코늄만이 살균소독제의 유효성분 사용범위 농도 내에서 5 log 감소 이상의 살균소독력을 보였으나, 청정조건에서는 실험대상 균주 전부 5 log 감소 이상의 살균소독력을 보였다.

## 참고문헌


1. Lee, C.H. : Food safety in Korea;Historical perspectives and future prospects. *20th International symposium and conference*. Korean Society of Food Hygiene and Safety. Konkuk University, Seoul, Korea. November 17. (2006).
2. The incidence of food poisoning. Available from: http://fm.kfda.go.kr. Accessed April 2, 2007.
3. Liu, C., Duan, J. and Su, Y. : Effects of electroyzed oxidizing water on reducing *Listeria monocytogenes* contamination on seafood processing surfaces. *Int. J. Food Microbiol.*, **106**, 248-253 (2006).
4. List of approved sanitizer/disinfectant products by KFDA. Available from: http://rndmoa.kfda.go.kr/dis/index.jsp. Accessed April 2, 2007.
5. Kim, H.I., Jeon, D.H., Kang, K.J., Eom, M.O., Sung, J.H., Kang, H.S., Kwak, H.S., Kwon, K.S., and Lee, Y.J.: Comparative susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains isolated from korean foods to commercially available sanitizers/disinfectants. *Korean J. Food Sci. Technol,* **39**(1), 104-107 (2007).

6. Ha, S.D.: The study to add index bacteria of sanitizers and disinfectants and improve efficacy test system. In studies on management of sanitizers and disinfectants (I). KFDA, Seoul, pp. 395-613 (2006).
7. Tompkin, R.B.:Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. *J. Food Prot.*, **65**, 709-725 (2002).
8. Rose, B.E., Hill, W.E., Umholtz, R., Ransom, G.M., and James, W.O.: Testing for *Salmonella* in raw meat and poulty products collected at federally inspected establishments in the United States. *J. Food Prot.*, **65**, 937-947 (2002).
9. Kanuganti, S.R., Wealey, I.V., Reddy, P.G., Mckean, J., and Hurd, H.S.: Detection of *Listeria monocytogenes* in pigs and pork. *J. Food Prot.*, **65**, 1470-1474 (2002).
10. Mikolajczyk, A. and Radkoeski, M.: *Salmonella* spp. on chicken carcasses in processing plant in Poland. *J. Food Prot.*, **65**, 1475-1479 (2002).
11. 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 marked in korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**(4), 671-677 (2005).
12. 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., Kang, K.J.: The establishing test method of bactericidal activity and the evaluating of korean disinfectants/sanitizers efficacy. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**(5), 838-843 (2005).
13. Wei, C.I., Huang, T.S., Kim, J.M., Lin, W.F., Tamplin, M.L., and Bartz, J.A.: Growth and survival of *Salmonella montevideo* on tomatoes and disinfection with chlorinated water. *J. Food Prot.* **58**, 829-836 (1995).
14. Tolerance exemptions for active and inert ingredients for use in antimicrobial formulations(Food contact surface sanitizing solutions). *In Code of Federal Regulations*, A special edition, Office of Federal Register National Archives and Records Administraion, Protection of Environment, 40 CFR 180.940, Washington, DC, pp 551-557 (2005).
15. Eifert, J.D. and Sanglay, G.C.: Chemistry of chlorine sanitizers in food processing. *Dairy Food Environ. Sanit.* **22**, 534-538 (2002).
16. Bloomfield S.: Chlorine and iodine formulations. In Handbook of disinfectants and antiseptics. (Joseph A. ed) Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 133-158. (1996).
17. Heir, E., Sundheim, G., and Holck, A.L.: Resistance to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus* spp. isolated from the food industry and nucleotide sequence of resistance plasmid pST 827. *J Appl Bacteriol* **79**, 149-156 (1995).
18. Aase, B., Sundheim, G., Langsrud, S., and Rorvik, L.M.: Occurrence of and a possible mechanism for resistance to a quaternary ammonium compound in *Listeria monocytogenes Int J Food Microbiol* **62**, 57-63 (2000).
19. Langsrud, S. and Sundheim, G.: Factors contributing to the survival of poultry associated *Pseudomanas* spp. exposed to a quaternary ammonium compound. *J Appl Bacteriol* **82**, 705-712 (1997).
20. Lopes, J.A.: Evaluation of dairy and food plant sanitizers against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *J Dairy Sci* **69**, 2791-2796 (1986).
21. Russell, A.D.: Bactrial resistance to disinfectants:present knowledge and future problems. *J Hosp Infect* **43**(Supplement), S57-S68 (1998).
22. Sundheim, G., Langsrud, S., Heir, E., and Holck, A.A.: Bacterial resistance to disinfectants containing quaternary ammonium compounds. *Int Biodeter Biodegr* **41**, 235-239 (1998).