

Ortho-phenylphenol을 주성분을 하는 훈증소독제의 *Pseudomonas aeruginosa*와 *Enterococcus hirae*에 대한 살균효과

차춘남¹ · 박은기² · 김용팔³ · 유은아⁴ · 유창열⁵ · 홍일화 · 김석 · 이후장*

경상대학교 수의과대학 생명과학연구원, ¹경상대학교 공과대학 공학연구원 ²고신대학교 의과대학,
³엘카모 바이오(주), ⁴보건복지부 통영검역소, ⁵경남도립남해대학 인터넷정보학과

Bactericidal Efficacy of a Fumigation Disinfectant with Ortho-phenylphenol as an Active Ingredient Against *Pseudomonas Aeruginosa* and *Enterococcus Hirae*

Chun-Nam Cha¹, Eun-Kee Park², Yongpal Kim³, Eun-Ah Yu⁴, Chang-Yeol Yoo⁵,
Il-Hwa Hong, Suk Kim, and Hu-Jang Lee*

Research Institute of Life Sciences, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 600-701, Korea

¹Engineering Research Institute and Department of Industrial Systems Engineering,
Gyeongsang National University, Chinju, Korea

²Department of Medical Humanities and Social Medicine, College of Medicine, Kosin University, Busan 602-703, Korea

³Elkahnco Bio Co., Ltd., Seoul 143-802, Korea

⁴Tongyeong National Quarantine Station, Ministry of Health & Welfare, Tongyeong 650-110, Korea

⁵Department of Computer Information, Gyeongnam Provincial Namhae College, Namhae 668-801, Korea

(Received November 13, 2013/Revised December 27, 2013/Accepted February 14, 2014)

ABSTRACT - This test was performed to evaluate the bactericidal efficacy of a fumigation disinfectant containing 20% ortho-phenylphenol against *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) and *Enterococcus hirae* (*E. hirae*). In preliminary tests, *P. aeruginosa* and *E. hirae* working culture suspension number (N value) were 2.8×10^8 and 4.0×10^8 CFU/mL, respectively. And all the colony numbers on the carriers exposed to the fumigant (n1, n2, n3) were higher than 0.5N1 (the number of bacterial test suspensions by pour plate method), 0.5N2 (the number of bacterial test suspensions by filter membrane method) and 0.5N1, respectively. In addition, the mean number of *P. aeruginosa* and *E. hirae* recovered on the control-carriers (T value) was 2.8×10^8 and 3.4×10^6 CFU/mL, respectively. In the bactericidal effect of the fumigant, the reduction number of 2.8×10^8 (d value) was 6.46 and 5.19 logCFU/mL, respectively. According to the French standard for the fumigant, the d value for the effective bactericidal fumigant should be over than 5 logCFU/mL. With the results from this study, the fumigation disinfectant containing 20% ortho-phenylphenol has an effective bactericidal activity, then the fumigant can be applied to disinfect food materials and kitchen appliances contaminated with the pathogenic bacteria.

Key words : Fumigation disinfectant, ortho-phenylphenol, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus hirae*

식품의 가공, 유통 및 저장에 있어서 미생물의 오염은 식품의 변질 혹은 부패를 일으켜 생산자와 유통업자들에게 경제적 손실을 입힐 뿐만 아니라, 소비자들에게 있어서

도 식중독이나 각종 질병들을 일으키는 중요한 요인이 되고 있다¹⁾.

전 세계적으로, 사람의 소비를 목적으로 생산된 식품의 약 33.3%, 즉, 13억 톤이 여러 가지 이유로 인해 매년 폐기되거나 쓰레기로 버려지고 있다고 보고되고 있다²⁾. 2008년, 미국의 식품매장에서 폐기된 식품은 미국 전체에 공급된 총 식품의 10%에 달하는 43억 톤이었으며, 미국 가정에서 구입한 식품의 25%가 변패 등의 이유로 쓰레기로

*Correspondence to: Hu-Jang Lee, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, 900 Gajwa-dong, Chinju 660-701, Korea

Tel: 82-55-772-2352, Fax: 82-55-772-2308

E-mail: hujang@gsnu.ac.kr

버려졌는데, 이는 미국 4인 가족 기준으로 연간 1,365 - 2,275 달러에 달하는 금액이었다고 한다^{3,4)}.

우리나라의 경우, 2009년에 육가공품, 유가공품, 식품첨가물 등 일반식품 제조업체를 대상으로 폐기식품 발생 현황을 조사한 결과, 2,756만 톤의 식품이 생산됐으며, 이 중 식품 전체 1.45% (약 40만 톤)가 판매부진, 취급 부주의로 인한 오염 및 변패 등의 이유로 반품되어, 약 16만 4천 톤이 폐기되었으며, 금액으로 환산하면 2,400억 원에 달하는 것으로 나타났다⁵⁾.

Pseudomonas spp.는 *Pseudomonadaceae*과에 속하는 그람 음성의 호기성 간균으로 포자를 형성하지 않으며, 냉장온도에서도 잘 생육하며, 열에 안정한 세포의 독소를 생성하는 것으로 알려져 있다^{6,7)}. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)는 *Pseudomonas* spp.의 대표적인 균으로서, 육류, 우유, 수산 제품, 신선 채소 등의 부패와 밀접한 관련이 있는 변패세균으로, 폴리에틸렌과 같은 식품포장재에 생물막을 형성하여 식품안전에 위해를 주는 것으로 보고되고 있다⁸⁻¹⁰⁾. 또한, *P. aeruginosa*는 유전적으로 많은 항생제에 대해 내성을 갖으며¹¹⁾, 면역력이 약한 사람에게 기회감염을 일으켜 치명상을 입힐 수 있는 것으로 보고되고 있다⁹⁾.

식품분야에서 장구균은 대장균과 함께 소화기계 전염병균이나 식중독균의 존재 가능성을 나타내므로, 비위생적인 처리의 척도로서 분변 오염 지표 세균으로 활용되고 있다¹²⁾. *Enterococcus* spp.는 사람과 동물의 장내 균총을 형성하는 일부 균으로서, 치즈나 소시지를 소화시키는데 도움을 주는 무해한 공생균이다^{13,14)}. *Enterococcus hirae* (*E. hirae*)는 사람의 장내 *Enterococcus* spp.의 1-3%를 차지하는 균종으로, 사람에서 창상감염, 위염, 그리고 드물지만 균혈증을 일으키며, 가축과 조류에서도 질병을 일으키는 것으로 보고되고 있다^{14,15)}.

식품공장, 가축농장, 병원, 가정 등에서 병원성 세균의 제어를 목적으로 살균제의 사용이 증가함에 따라, 항생제 내성균 출현기전과 동일하게, 살균제 내성균의 출현이 증가하고 있다¹⁶⁾. 그러나 살균제는 주로 세균의 대사기전에 광범위하게 작용하는 성분들의 혼합으로 구성되어 있으며, 이러한 조성물들은 살균제에 대한 세균의 내성형성을 어렵게 만드는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾.

인류는 수세기 동안, 유해해충 및 유해 병원균으로부터 식품의 보호 및 보존 방법을 찾기 위해 많은 노력을 경주해 왔으며, 최근, 보존제의 사용을 포함한 식품보존 기술은, 식품공급에 있어서 식품의 질과 안전성의 개선과, 부패, 미생물 오염, 영양소 파괴 등으로부터 식품을 보호하는데 있어서, 중요한 역할을 담당해 왔다¹⁸⁾.

식품저장 기간 동안, 식품의 보호 및 보존을 위해, phosphine 가스, 이산화염소, 인화수소, ortho-phenylphenol (OPP) 등과 같은 많은 훈증소독제가 전세계적으로 광범위

하게 사용되고 있다^{19,21)}. 특히, OPP는 가정, 식품산업, 병원 등에서 기구나 표면재의 소독을 위해 사용되고 있다¹⁹⁾.

현재까지, 식품의 변패 및 오염에 관여하는 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 대해 OPP를 주성분으로 하는 훈증소독제의 효능에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 Association Francaise de Normalisation (AFNOR)²²⁾의 '훈증소독제의 살균, 살곰팡이, 살효모, 그리고 살아포 효력을 결정하기 위한 기준법'과 Park 등²³⁾의 연구방법에 따라, 식품의 변패 및 오염에 관여하는 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 대해, OPP를 주성분으로 하는 훈증소독제의 살균 효과를 확인하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

실험물질

본 시험에 사용된 실험물질은 (주)엘컴코바이오(서울)에서 공급받은 OPP를 주성분으로 하는 훈증소독제, Fumagari OPP® (1 캔 (20 g), OPP 4 g)를 사용하였다. 물질은 흰색의 분말로서 사용기간 동안 실온에 보관하여 실험에 사용하였다.

균주 배양

P. aeruginosa (ATCC 17853)와 *E. hirae* (KACC 10779)는 농업유전자원정보센터(수원)에서 분양받아 실험에 사용하였다.

*P. aeruginosa*와 *E. hirae*를 고압 멸균된 tryptone soy agar (TSA, Difco, Detroit, MI)에 심어 37°C에서 24시간 동안 계대배양한 후, McFaland 등의 방법²⁴⁾에 따라 배양액의 탁도를 측정하고, 희석액(중류수 1 L 중, tryptone 1.0 g, sodium chloride 8.5 g)을 사용하여, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 농도가 10⁹ CFU/mL 이상이 되도록 조정하였다. 이어서, 환원유(중류수 1 L 중, 탈지분유 100 g)를 가하여 20배로 희석하여, 각각 10⁸-10⁹ CFU/mL로 조정하여 시험에 사용하였다.

환원유 혼합 현탁액의 균수계산

환원유 혼합 *P. aeruginosa*와 *E. hirae* 현탁액을 각각 희석액으로 10⁷과 10⁸ 배로 희석한 다음, 각각의 희석액 1 mL를 취하여 페트리접시에 넣고, *P. aeruginosa*와 *E. hirae* 희석액이 들어 있는 페트리접시에 각각 37°C의 TSA배지 20 mL을 넣었다. 또한, 10⁷과 10⁸ 배로 희석한 균주 현탁액 1 mL를 각각 취하여 분리 막 여과장치에 넣고 여과한 후, 세척액으로 씻어준 다음, 각각의 여과막을 TSA배지 위에 올려놓았다. 각각의 배지를 37°C에서 24시간 동안 배양한 다음, 균수 계산이 불가능한 배지는 폐기하고, 다시 24시간 동안 더 배양한 후, 균수를 계산하였다. 평판배지법²⁵⁾과 여과법²⁶⁾으로 배양한 균수를 각각 N1과 N2로 하였다.

균주의 담체 도포 및 소독제 적용

각각의 *P. aeruginosa*와 *E. hirae* 현탁액 0.05 mL을 각각 5개의 비다공성의 스테인리스 담체(지름 3 cm, 높이 1.2 mm)에 도포하고, 도포된 담체들을 멸균 페트리접시에 담아, 37°C 배양기에서 건조시켰다. 이때, 건조시간은 45분을 초과하지 않도록 하였다. 21 ± 0.5°C, 습도 60 ± 10% 조건의 밀폐된 방(25 m³)에 건조된 담체 2개를 페트리 접시에 담아, 훈증소독제 노출 없이 15시간 동안 놓아두었다. 나머지 3개의 건조된 담체는 2개의 건조된 담체와 동일한 환경에서, 훈증소독제와 담체를 담은 페트리 접시와의 거리를 2.2 m로 하고, 바닥으로부터 1.2 m 높이에 페트리 접시를 수직으로 세워 훈증소독제와 반대 방향이 되도록 한 다음, 훈증소독제에 불을 붙여 15시간 동안 놓아두었다.

소독제 잔류효과

Fig. 1은 훈증소독제 잔류에 의한 균 증식 억제 효과를 확인하기 위한 실험을 수행하는 과정을 Park 등²²⁾의 연구로부터 인용하여 나타낸 것이다.

*P. aeruginosa*와 *E. hirae*를 도포·건조시킨 각각의 담체를 훈증소독제에 15시간 노출시킨 직후, 각각의 담체를 100 mL 회복액(증류수 1 L 중, tryptone 1.0 g, NaCl 8.5 g)이 들어있는 삼각플라스크에 넣고, 수초 동안 흔들어서 다음, 1 mL을 취하여 페트리접시에 넣고, 각각의 균주 희석액(10⁷과 10⁸ 배) 1 mL를 섞이지 않게 넣은 다음, 배양 배지에서 잘 혼합한 후, 37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 후에, 자란 집락수의 평균값을 n1로 하였다. 담체를 넣은 회복액 98 mL를 막 여과하고, 50 mL 희석액으로 3번 세정한 후, 희석액에 4번 침지시킨 여과막을 배지에 넣고, 희석한 각각의 시험 균주 현탁액(10⁷과 10⁸ 배) 1 mL를 가하여, 혼합한 다음, 배양한 후, 형성된 집락수의

평균값을 n2로 하였다. 희석한 각각의 시험 균주 현탁액(10⁷과 10⁸ 배) 1 mL과, 회복액에서 잔류물이 제거된 담체를 넣은 회복액 1 mL을 페트리접시에 넣고, 배지를 가하여 혼합하여 배양한 후, 자란 집락수의 평균값을 n3으로 하였다. 이렇게 얻은 n1, n2, n3를 각각 N1, N2, N1과 비교하였다.

훈증소독제 적용

*P. aeruginosa*와 *E. hirae*를 도포·건조시킨 각각의 담체를 훈증소독제에 15시간 노출시킨 직후, 각각의 담체를 100 mL 회복액이 있는 삼각플라스크에 넣고, 수초 동안 흔들어서 다음, 유리봉을 이용하여, 담체에 부착된 잔류물을 제거하고, 1분 동안 초음파 진동기를 이용하여 남은 잔류물을 제거하였다. 이어서, 담체 잔류물이 들어 있는 회복액으로부터 1 mL을 취하여 9 mL 새로운 회복액에 넣고, 연속적으로 두 번 더 희석시켜 10³ 배로 희석하였다. 담체 잔류물이 들어 있는 회복액과, 10²와 10³ 배 희석액을 각각 1 mL을 취하여 배양배지가 들어 있는 평판배지에 접종하여, 37°C에서 48시간 동안 배양한 다음, 각각의 집락수를 계산하였다. 담체로부터 부착된 잔류물을 제거한 회복액 현탁액 87 mL을 분리 막 여과장치에 넣고 여과한 후, 여과막을 영양배지 위에 올려놓고 37°C에서 48시간 동안 배양한 다음, 각각의 집락수의 평균값을 n'1로 하였다. 잔류물을 제거한 담체를 넣은 회복액 현탁액을 배지에 넣고 배양하여, 자란 집락수의 평균을 n'2로 하였다.

실험 결과의 계산

14이하 300 이상인 배지의 집락수는 세지 않았으며, 실험균주 현탁액 중 균수(N), 대조 담체의 회복 균수(T), 그리고 훈증소독제 노출 담체의 균수 감소 log값 (d)의 계산은 아래 각각의 식에 의해 산출하였다.

$$N \text{ (CFU/mL)} = \frac{x+y+z+w}{2.2} \times 10^7$$

(10⁷ 배로 희석하여 얻은 값: x, y; 10⁸ 배로 희석하여 얻은 값: z, w)

$$T \text{ (CFU/carrier)} = \frac{x+y+z+w}{2.2} \times 10^2 \times 100$$

(10² 배 회복액에서 얻은 값: x, y; 10³ 배 회복액에서 얻은 값: z, w)

$$d \text{ (logCFU/mL)} = \log T - \log(n'1 + n'2) = \log[T/(n'1 + n'2)]$$

(n'1: 담체 부착물 함유 회복액 여과막에서 자란 균주 집락수의 평균,

n'2: 담체 부착물 함유 회복액을 심은 배지에서 자란 균주 집락수의 평균)

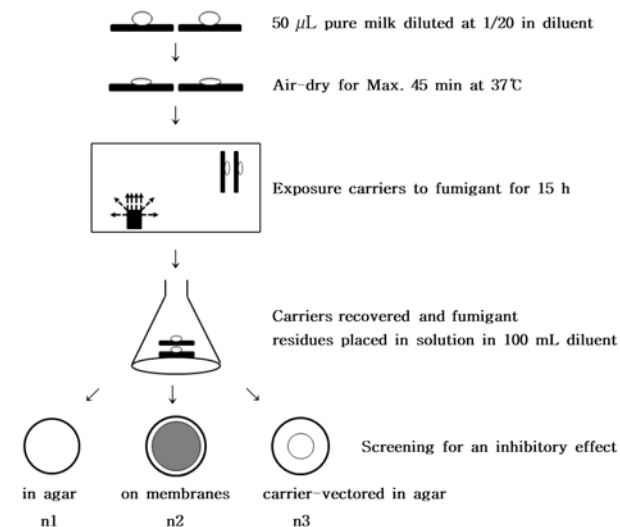


Fig. 1. Schematic diagram of the preliminary screening test for an inhibitory effect of fumigant residues.

혼중소독제 살균효과 판정

AFNOR²²⁾의 기준에 따라, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 대한 혼중소독제의 효과는 ‘실험결과의 계산’에 의해 얻은 d값이 5 logCFU/mL 이상인 경우로 하였다.

결과 및 고찰

소독제 잔류효과

Table 1과 2는 각각 환원유 혼합 *P. aeruginosa*와 *E. hirae* 현탁액의 균수와, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*를 도포·건조시킨 담체에 소독제를 노출시킨 후, 산출한 균수를 나타낸 것이다.

AFNOR²²⁾에 따르면, 실험균주 현탁액 배양 균수로부터

산출된 N값은 10⁸에서 5 × 10⁹ 사이에 있어야 하며, 소독제에 노출되지 않은 대조군-담체로부터 배양된 균수로부터 산출된 T값은 10⁶ CFU/mL 이상이어야 한다고 규정하고 있다.

Table 1과 2에서, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*로부터 구한 N값은 각각 2.8 × 10⁸과 3.6 × 10⁸ CFU/mL이었으며, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*로부터 구한 T값은 각각 3.6 × 10⁶과 2.7 × 10⁶ CFU/mL이었다. 따라서 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 N값과 T값은 모두 AFNOR²¹⁾에서 규정한 기준을 만족하였다.

AFNOR²²⁾에 따르면, 소독제 노출 담체로부터 증식한 균수 n1, n2, n3값이 각각 0.5N1, 0.5N2, 0.5N1값 보다 모두 커야 혼중소독제 실험을 수행할 수 있는 조건을 만족하는

Table 1. Viable counts (CFU/mL) of *P. aeruginosa* in milk-to-suspensions and in the carriers exposed to disinfectant

Milk-to-suspensions					Exposure to disinfectant											
N1 ¹⁾		N2 ²⁾			N value ³⁾	Exposure-carriers ⁴⁾				Control-carriers		T value ⁶⁾				
10 ⁷	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁸	No.		n1	n2	n3	DT ₅	1	2					
19	17	12	10	21	19	15	13	2.8 × 10 ⁸	1	10	14	10	10 ²	251	277	2.9 × 10 ⁶
									2	14	13	11				
									3	12	15	12	10 ³	55	67	
18		11		20		14				12	14	11				

¹⁾N1, the number of bacterial test suspensions by pour plate method.
²⁾N2, the number of bacterial test suspensions by filter membrane method.
³⁾N, the number of bacteria of working culture suspension.

$$N = \frac{(x+y+z+w)}{2.2} \times 10^7$$
 (x, y: 10⁷ dilution colony; z, w: 10⁸ dilution colony)
⁴⁾n1, n2, n3, the colony numbers on the carriers exposed the fumigant.
⁵⁾DT, dilution time.
⁶⁾T, the mean number of bacteria recovered on the control-carriers.

$$T = \frac{(x+y+z+w)}{2.2} \times 10^2 \times 100$$
 (x, y: 10² dilution colony; z, w: 10³ dilution colony)

Table 2. Viable counts (CFU/mL) of *E. hirae* in milk-to-suspensions and in the carriers exposed to disinfectant

Milk-to-suspensions					Exposure to disinfectant											
N1 ¹⁾		N2 ²⁾			N value ³⁾	Exposure-carriers ⁴⁾				Control-carriers		T value ⁶⁾				
10 ⁷	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁸	No.		n1	n2	n3	DT ⁵⁾	1	2					
24	20	18	16	25	23	19	17	3.6 × 10 ⁸	1	14	17	18	10 ²	193	275	2.7 × 10 ⁶
									2	18	21	13				
									3	19	19	17	10 ³	55	76	
22		17		24		18				17	19	16				

¹⁾The number of bacterial test suspensions by pour plate method.
²⁾N2, the number of bacterial test suspensions by filter membrane method.
³⁾N, the number of bacteria of working culture suspension.

$$N = \frac{(x+y+z+w)}{2.2} \times 10^7$$
 (x, y: 10⁷ dilution colony; z, w: 10⁸ dilution colony)
⁴⁾n1, n2, n3, the colony numbers on the carriers exposed the fumigant.
⁵⁾DT, dilution time.
⁶⁾T, the mean number of bacteria recovered on the control-carriers.

$$T = \frac{(x+y+z+w)}{2.2} \times 10^2 \times 100$$
 (x, y: 10² dilution colony; z, w: 10³ dilution colony)

것으로 규정하고 있다. Table 1과 2에서, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*로부터 구한 각각의 n1, n2, n3값이 각각 0.5N1, 0.5N2, 0.5N1값 보다 모두 큰 값을 나타내어, AFNOR²²⁾ 기준을 만족하였다. 만일, n1, n2, n3값이 각각 0.5N1, 0.5N2, 0.5N1값과 같거나 작으면, 배지나 여과막에 균의 증식을 충분히 억제 할 수 있는 많은 양의 소독제가 잔류하고 있다는 것을 의미하므로, 배지의 조성을 조정하거나, 담체 회복액에 중화제를 첨가하거나, 여과막의 세정 횟수를 증가시켜 실험을 다시 수행하여 조건을 만족시켜야 한다²¹⁾.

훈증소독제의 살균효과

Table 3과 4는 훈증소독제를 노출시킨 담체로부터 회복된 균수와 훈증소독제의 살균효과를 나타낸 것이다.

Table 3과 4에서, *P. aeruginosa*와 *E. hirae* 도포 담체에 소독제를 노출시킨 후, 배양을 통해 확인된 각각 균수의 logCFU/mL 감소값, 즉, d 값은 각각 6.46과 5.19 logCFU/mL로 나타나, OPP를 주성분으로 하는 훈증소독제, Fumagari OPP[®]는 *P. aeruginosa*에 대해 *E. hirae*보다 더 높은 살균효과를 나타내었다.

AFNOR²²⁾의 기준에 따르면, 훈증소독제가 효과적인 살균력을 갖기 위해서는 d 값이 5 logCFU/mL 이상이어야 한다고 규정하고 있다. 본 연구에서, 훈증소독제를 적용한

Table 3. Viable counts (CFU/mL) of *P. aeruginosa* in the carriers exposed to disinfectant and antibacterial effect of the fumigant

Dilution time	Colony number in carriers ¹⁾			n'1 ²⁾	n'2 ³⁾	d value (log) ⁴⁾
	C1	C2	C3			
10 ²	0	0	0	0	0	6.46
10 ³	0	0	0	0	0	

¹⁾C1, C2, C3, test-carriers.

²⁾n'1, the mean number of bacteria in recovery solution.

³⁾n'2, the mean number of bacteria on carriers plated in agar.

⁴⁾d, the reduction of bacterial number.

$d = \log T - \log(n'1 + n'2) = \log[T/(n'1 + n'2)]$

(T, the mean number of bacteria recovered on the carriers)

Table 4. Viable counts (CFU/mL) of *E. hirae* in the carriers exposed to disinfectant and antibacterial effect of the fumigant

Dilution time	Colony number in carriers ¹⁾			n'1 ²⁾	n'2 ³⁾	d value (log) ⁴⁾
	C1	C2	C3			
10 ²	0	0	0	17	0	5.19
				15	0	
10 ³	0	0	0	20	0	

¹⁾C1, C2, C3, test-carriers.

²⁾n'1, the mean number of bacteria in recovery solution.

³⁾n'2, the mean number of bacteria on carriers plated in agar.

⁴⁾d, the reduction of bacterial number.

$d = \log T - \log(n'1 + n'2) = \log[T/(n'1 + n'2)]$

(T, the mean number of bacteria recovered on the carriers)

후, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 d 값은 각각 6.46과 5.19 logCFU/mL로 나타나, 훈증소독제, Fumagari OPP[®]는 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 대해 효과적인 살균력을 갖는 것으로 확인되었다.

Thorn 등²⁷⁾은 각종 재질의 담체에 3×10^9 CFU/mL로 희석한 *P. aeruginosa* 회석액 10 μL를 도포하고 실온에서 건조시킨 후, 실험 공간에 놓고, 대조 담체에는 증류수를 10분간 분무하였고, 실험 담체에는 각각 이산화염소와 차아염소산나트륨을 100 ppm 농도로 10분간 분무한 다음, 담체를 회복액에 넣고 부착된 균을 제거하여, 평판배지에 배양하여 회복된 균수를 측정된 결과, 스테인리스 재질의 대조 담체에서의 *P. aeruginosa* 균수는 5.616 logCFU/coupon 이었던 반면에, 이산화염소와 차아염소산나트륨 분무한 스테인리스 재질의 실험 담체에서 *P. aeruginosa*는 검출되지 않았다. Wu와 Rioux²⁸⁾의 연구에 따르면, 이산화염소 4.0 g을 감자 저장소에 가스 상태로 5시간 동안 훈증 소독한 결과, 감자표면의 *P. aeruginosa*가 6 logCFU/potato 감소하였다고 보고하였다. 한편, Pitten 등²⁹⁾은 각각의 담체에 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*를 도포하고, 과산화수소 5%를, 습도 40%, 온도 25.3°C 조건에서 3시간 동안 훈증한 결과, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 균수가 각각 4.65와 7.10 logCFU/coupon 감소하였다고 보고하였다.

처리대상, 처리 농도, 그리고 처리시간 등을 고려할 경우, 본 연구에서 사용한 Fumagari OPP[®]의 *P. aeruginosa*에 대한 살균효과는 이전의 연구결과²⁷⁻²⁹⁾ 보다는 높게 나타났다으며, *E. hirae*에 대한 살균효과는 Pitten 등²⁹⁾의 연구 결과보다는 낮았던 것으로 사료된다.

이상의 연구 결과로부터, OPP를 주성분으로 하는 훈증소독제, Fumagari OPP[®]은 비다공성의 표면에 부착되어 있는 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 적용할 경우, 5.0 logCFU 이상의 감소결과를 나타내어, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 살균을 목적으로 사용할 수 있는 훈증살균 소독제로 사료된다.

본 연구를 통해, OPP를 주성분으로 하는 훈증 소독제의 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 대한 살균효과를 처음으로 실험실 수준에서 규명하였으며, 향후, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 오염된 식품저장소나 환경 중에서 OPP를 주성분으로 하는 훈증 소독제의 적용시험을 통해 그 효과를 규명할 필요가 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*을 대상으로 ortho-phenylphenol 20%를 함유한 훈증소독제, Fumagari OPP[®]의 살균효과를 평가하기 위해 수행되었다. 예비 시험에서, *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 현탁액 균수는 각각 2.8×10^8 와 3.6×10^8 CFU/mL이었으며, 모든 훈증소독제에 노출시

킨 담체의 균수는 모두 평판배지법과 여과법으로 배양한 시험균주 현탁액의 균수의 50%보다 많았다. 또한, 대조 담체로부터 회복된 *P. aeruginosa*와 *E. hirae* 균수는 각각 2.9×10^6 와 2.7×10^6 CFU/mL이었다. 훈증소독제의 살균효과 시험에서는, 훈증소독제를 처리한 담체의 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*의 감소 균수는 각각 6.46와 5.19 logCFU/mL로 나타났다. 이상의 결과로부터, 훈증소독제, Fumagari OPP®는 *P. aeruginosa*와 *E. hirae*에 대해 효과적인 살균력을 갖는 것으로 확인되었으며, 병원성 세균에 오염된 식품재료 및 주방용품의 소독에 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 (주)엘컴바이오(서울)의 연구용역으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Park, K.D. and Cho, S.H.: Antimicrobial characteristics of *Paeonia lactiflora* Pall. extract tested against food-putrefactive microorganisms. *Korean J. Food Preserv.*, **17**, 706-711 (2010).
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R. and Meybeck, A.: Global food losses and food wastes. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 4-5 (2011).
- Buzby, J.C., Hyman, J., Stewart, H. and Wells, H.F.: The value of retail- and consumer-level fruit and vegetable losses in the United States. *J. Consum. Aff.*, **45**, 492-515 (2011).
- Gunders, D.: How America is losing up to 40 percent of its food from farm to fork to landfill. NRDC, Washington, D.C., USA, pp. 12-13 (2012).
- 최승근: 식품폐기로 인한 손실 연간 5800억원대... 자원 낭비 줄여야. *식품음료신문*, 2011. 10. 06.
- Kim, S., Park, I.S. and Kim, D.K.: Detection of *Pseudomonas aeruginosa* with a label-free immunosensor from various cold storage foods. *J. Fd Hyg. Safety*, **18**: 101-106 (2003).
- Arslan, S., Eyi, A. and Özdemir, F.: Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. *J. Dairy Sci.*, **94**, 5851-5856 (2011).
- Stanier, R.Y., Ingraham, J.L., Wheelis, M.L. and Painter, P.R.: Effect of the environment on microbial growth. In: *The microbial world*, 5th Ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA. pp. 196-212 (1986).
- Liu, X., Li, J., Yang, Y. and Chen, X.: Exposure of *Pseudomonas aeruginosa* to green tea polyphenols enhances the tolerance to various environmental stresses. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **28**, 3373-380 (2012).
- Le Magrex-Debar, E., Lemoine, J., Gelle, M.P., Jacquelin, L.F. and Choisy, C.: Evaluation of biohazards in hdhydrated biofilms on foodstuff packaging. *Int. J. Food Microbiol.*, **55**, 239-243 (2000).
- Master, R.N., Clark, R.B., Karlowsky, J.A., Ramirez, J. and Bordon, J.M.: Analysis of resistance, cross-resistance and antimicrobial combinations for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 1997 to 2009. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **38**, 291-295 (2011).
- Kim, J.Y., Park, M.A., Kim, J.E., Chae, H.S., Park, Y.J., Son, J.W., Yang, Y.M., Choi, T.S. and Lee, J.H.: Isolation frequency and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from beef & pork on sale in Seoul, Korea. *Korean J. Vet. Serv.*, **36**, 111-119 (2013).
- Savini, V., Bonfini, T., Marrollo, R., Argentieri, A.V., Riccioni, S., Astolfi, D., Fazii, P., D'Antonio, D., Gherardi, G.: *Enterococcus hirae*: a zoonotic microorganism in human umbilical cord blood. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **11**, 1-4 (2013).
- Chan, T.S., Wu, M.S., Suk, F.M., Chen, C.N., Chen, Y.F., Hou, Y.H. and Lien, G.S.: *Enterococcus hirae*-related acute pyelonephritis and cholangitis with bacteremia: an unusual infection in humans. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, **28**, 111-114 (2012).
- Talarmin, J.P., Pineau, S., Guillouzoic, A., Boutoille, D., Giraudeau, C., Reynaud, A., Lepelletier, D. and Corvec, S.: Relapse of *Enterococcus hirae* prosthetic valve endocarditis. *J. Clin. Microbiol.*, **49**, 1182-1184 (2011).
- Russell, A.D.: Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect. Dis.*, **3**, 794-803 (2003).
- Sheldon, A.T. Jr.: Antiseptic "resistance": real or perceived threat? *Clin. Infect. Dis.*, **40**, 1650-1656 (2005).
- Loaharanu, P.: Irradiated foods. 5th Ed. American Council on Science and Health, New York, pp. 7-8 (2003).
- Coelhan, M., Bromig, K.H., Glas, K. and Roberts, A.L.: Determination and levels of the biocide ortho-Phenylphenol in canned beers from different countries. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 5731-5735 (2006).
- Trinetta, V., Morgan, M.T. and Linton, R.H.: Use of high-concentration-short-time chlorine dioxide gas treatments for the inactivation of *Salmonella enterica* spp. inoculated onto Roma tomatoes. *Food Microbiol.*, **27**, 1009-1015 (2010).
- Formato, A., Naviglio, D., Pucillo, G.P. and Nota, G.: Improved fumigation process for stored foodstuffs by using phosphine in sealed chambers. *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 331-338 (2012).
- Association Francaise de Normalisation (AFNOR): Methods of airborne disinfection of surfaces - Determination of bactericidal, fungicidal, yeasticidal and sopricidal activity. French standard NF T 72-281, AFNOR, Saint-Denis, pp. 6-22 (2009).
- Park, E.K., Kim, Y., Yu, E.A., Yoo, C.Y., Choi, H., Kim, S. and Lee, H.J.: Bactericidal efficacy of Fumagari OPP®, fumigant against *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *J. Fd Hyg. Safety*, **28**, 1-7 (2013).
- Mills-Robertson, F.C., Tay, S.C.K., Duker-Eshun, G., Walana, W. and Badu, K.: *In vitro* antimicrobial activity of ethanolic fractions of *Cryptolepis sanguinolenta*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, **11**, 16 (2012).

25. Brashears, M.M., Amezcua, A. and Stratton J.: Validation of methods used to recover *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. subjected to stress conditions. *J. Food Prot.* **64**, 1466-1471 (2001).
26. Tanny, G.B., Mirelman, D. and Pistole, T.: Improved filtration technique for concentrating and harvesting bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **40**, 269-273 (1980).
27. Thorn, R.M., Robinson, G.M. and Reynolds, D.M.: Comparative antimicrobial activities of aerosolized sodium hypochlorite, chlorine dioxide, and electrochemically activated solutions evaluated using a novel standardized assay. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **57**, 2216-2225 (2013).
28. Wu, VC and Rioux, A.: A simple instrument-free gaseous chlorine dioxide method for microbial decontamination of potatoes during storage. *Food Microbiol.*, **27**, 179-184 (2010).
29. Pitten, F.A., Tilkes, F. and Keiner, M.: Surface disinfection using a hydrogen peroxide aerosol. *Hyg. Med.*, **33**, 290-295 (2008).