

식품의약품안전처 공고 제2013-166호

**축산물의 가공기준 및 성분규격
일부개정고시안 행정예고**

2013. 9. 5.

식품의약품안전처

식품의약품안전처 공고 제2013-166호

「축산물의 가공기준 및 성분규격」(식품의약품안전처고시 제2013-137호, 2013. 4. 5)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2013년 9월 5일

식품의약품안전처장

축산물의 가공기준 및 성분규격 일부개정고시(안) 행정예고

1. 개정 이유

축산물가공품에 식품원료로 사용가능한 유산균을 첨가하여 다양한 축산물을 생산 및 수입을 할 수 있는 여건을 마련하였으며, 아이스크림(믹스)류 및 알가공품의 대장균군 기준·규격에 3군법의 시료채취법을 도입하여 검사결과의 신뢰성을 높였으며, 조제유류 중 엔테로박터 사카자키균 시료채취 기준 및 시험법을 개정하여 영유아 식품의 관리 효율성을 높이고자 함.

축산물 중 조제유류의 비타민, 무기질 등 일부 영양성분의 기준이 식품이나 코덱스 기준과 상이한 부분이 있어 수출·입 무역 시 통상문제 발생의 우려가 있고, 국내 영·유아의 성장 발달에 필요한 영양성분의 균형을 위하여 국내 영·유아의 영양섭취기준 및 국내·외 영양성분기준과 조화

시킬 수 있도록 조제유류의 일부 영양성분의 기준·규격을 개선하고자 함.

조제유류의 비타민류 시험법이 오래되고 전처리 및 기기분석이 복잡하여 검사 소요시간이 길고 검사 시 어려움이 많아 최신 검사법을 도입한 연구 결과를 통하여 일부 비타민 시험법의 전처리 및 기기분석법을 개선하여 검사의 효율성 및 신뢰성을 높이고자 함.

도축장(도계장)에서 세균수 및 대장균의 검사에 자동화된 검사법을 적용하여 검사자에게 편의 제공 뿐만 아니라 검사의 효율성을 증대시킴

2. 주요 내용

가. 공통기준 중 유산균 단서조항 신설 [안 제1, 6, 가, (4)]

- 축산물가공품에 식품원료로 사용가능한 유산균을 첨가하여 다양한 축산물을 생산 및 수입을 할 수 있어 산업체 활성화 및 소비자 욕구 충족

나. 조제분유·조제우유의 영양성분 기준 및 규격 개정 [안 제2. 1.

더. (4) (라), (바), (사), (아), (자), (차), (카), (타), (파), (하), (너)
(더), (머), (버), (서), (어), (저), (처), (커), (터), (퍼), (허), (고)]

- 조제분유·조제우유의 비타민, 무기질 등 일부 영양성분 기준을 국내·외 기준과 조화시킬 수 있도록 리놀레산, 비타민 A·D·C·B1·B2·B6·E, 니코틴산, 엽산, 판토텐산, 칼륨, 염소, 칼슘, 인, 마그네슘, 철, 요오드, 구리, 아연, 망간 기준을 개정, 셀레늄의 기준을 신설 및 니코틴산의 명칭을 나이아신으로 변경하여 개정하고자 함

다. 성장기용 조제분유·성장기용 조제우유의 영양성분 기준 및 규격

개정 [안 제2. 1. 더. (4) (라), (바), (사), (카), (타), (더), (어), (고)]

- 성장기용 조제분유 · 성장기용 조제우유의 일부 영양성분의 기준을 국내 · 외 기준과 조화시킬 수 있도록 리놀레산, 비타민 A · B6 · D · E, 인 기준을 개정, 셀레늄의 기준을 신설 및 니코틴산의 명칭을 나이아신으로 변경하여 개정하고자 함

라. 기타조제분유 · 기타조제우유의 영양성분 기준 및 규격 개정 [안 제2. 1. 더. (4) (카), (고)]

- 기타조제분유 · 기타조제우유의 일부 영양성분의 기준을 국내 · 외 기준과 조화시킬 수 있도록 셀레늄의 기준을 신설 및 니코틴산의 명칭을 나이아신으로 변경하여 개정하고자 함

마. 조제유류 중 엔테로박터 사카자키균 시료채취기준 및 시험법 개정 [안 제2, 1, 더, (4), (보) 및 제3, III, 9, 더, (3)]

- 1) 영유아 식품은 영유아의 특성(빠른 흡수, 장기 미성숙, 고민감도)을 고려한 안전관리가 필요하며, 시료의 대표성과 검사신뢰도 확보를 위해 통계적 기법을 이용한 시료채취법 도입
- 2) 영유아가 섭취하는 식품의 안전관리를 강화하고, 국내·외 규격과의 조화

바. 아이스크림(믹스)류 및 알가공품의 대장균군에 통계적 개념의 미생물 기준·규격 도입[안 제2, 1, 러, (4), (라) 및 제2, 1, 버, (4), (라) 및 제2, 3, (4), (라)]

- 아이스크림(믹스)류 및 알가공품의 대장균군에 국제식품규격위원회 (Codex), 미국, EU 등 제외국에서 운영하고 있는 통계적 개념(3군법,

n, c, m, M))의 미생물 기준·규격 도입하여 미생물 검사의 대표성과 신뢰도를 확보함에 따라 국민건강보호 및 수출입 시 무역마찰 감소

사. 조제유류의 비타민류 시험법 개정 [안 제3. III. 3, 바, 사, 아]

- 조제유류의 비타민류 시험법에 대하여 최신 검사법을 도입한 연구 결과를 반영하여 비타민 D·E·K1 시험법의 전처리 및 기기분석법으로 개정하고, 비타민 B1·B2·B6, 엽산, 니코틴산아미드에 대한 수용성비타민 동시분석법을 신설하고자 함

아. 세균수 및 대장균 시험법 중 자동화된 최확수법 검사대상 확대

[안 제3, III, 9, 다, (1), (다) 및 제3, III, 9, 바, (3), (라)]

- 1) 도축장(도계장)에서 세균수 및 대장균의 검사에 자동화된 검사법을 적용함으로써 검사물량으로 인한 어려움 해소하여 검사자에게 편의 제공
- 2) 검사 효율성의 증대로 도축장(도계장)의 위생관리를 강화

3. 의견 제출

「축산물의 가공기준 및 성분규격」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2013년 10월 7일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품안전처(우편번호 : 363-700, 주소 : 충청북도 청원군 오송읍 오송생명2로 187(연제리 643번지) 오송보건의료행정타운 식품의약품안전처, 참조 : 축산물기준과, 전화 043-719-3860, 팩스 043-719-3850)에게 제출하여 주시기 바랍니다.

가. 예고사항에 대한 항목별 의견(찬·반 여부와 그 이유)

- 나. 성명(단체의 경우 단체명과 그 대표자의 성명), 주소 및 전화번호
- 다. 기타 참고사항

식품의약품안전처 고시 제2013- 호

「축산물위생관리법」 제4조제2항의 규정에 따른 「축산물의 가공기준 및 성분규격」(식품의약품안전처 고시 2013-137호, 2013.4.5.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2013년 월 일

식품의약품안전처장

축산물의 가공기준 및 성분규격 일부개정고시(안) 행정예고

축산물의 가공기준 및 성분규격 일부를 다음과 같이 개정한다.

제1, 6, 가 중 “(4)” 및 “(5)”를 각각 “(5)” 및 “(6)”으로 하고, “(4)”를 다음과 같이 신설한다.

(4) 유산균을 첨가한 축산물가공품에서 일반세균수 산정은 총세균수에서 유산균수를 제외한다

제2, 1, 더 중 (4)를 다음과 같이 한다.

(4) 성분규격

항 목	유 형	조제분유·조제우유		성장기용조제분유· 성장기용 조제우유	기타조제분유· 기타조제우유
		최대권장기 준			
(가) 성상		고유의 색택과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.		고유의 색택과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.	고유의 색택과 향미를 가지고 이미·이취가 없어야 한다.
(나) 수분(%)		5.0이하 (단, 액상제품 제외)		5.0이하 (단, 액상제품 제외)	5.0이하 (단, 액상제품 제외)
(다) 조단백질 (g/100kcal)		1.8~4.0		2.4~5.5	-
(라) 조지방 (g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)		3.0~6.0 300 이상 1400		3.0~6.0 300 이상	-
(마) 유성분 (g/100kcal)		12.0이상		12.0이상	-
(바) 비타민A (μ g/100kcal 또는 IU/100kcal)		60~180 또는 200~600		250~750 또는 75~225	-
(사) 비타민D (μ g/100kcal 또는 IU/100kcal)		1.0~2.5 또는 40~100		40~120 또는 1.0~3.0	-
(아) 비타민C (mg/100kcal)		10.0 이상		8.0이상	-
(자) 비타민B ₁ (μ g/100kcal)		60 이상	300	40이상	-
(차) 비타민B ₂ (μ g/100kcal)		80 이상	500	60이상	-
(카) 나이아신 (μ g/100kcal)		300 이상	1500	250이상	-
(타) 비타민B ₆ (μ g/100kcal) <단서 신설>		35이상	175	45이상	-
		(다만, 단백질 2.3g 이상인 경우 초과 단백질 1g 당 비타민 B6 15 μ g의 비율이어야 한다)		(다만, 단백질 3.0g 이상인 경우 초과 단백질 1g 당 비타민 B6 15 μ g의 비율이어야 한다)	-
(파) 엽산 (μ g/100kcal)		10.0 이상	50	4.0이상	-
(하) 판토텐산 (μ g/100kcal)		400 이상	2000	300이상	-
(거) 비타민B ₁₂ (μ g/100kcal)		0.1이상		0.15이상	-
(너) 비타민K ₁ (μ g/100kcal)		4.0이상	27	4.0이상	-
(더) 비타민E (mg α -TE/100kcal 또는 IU/100kcal) <단서 신설>		0.7이상 또는 0.5이상	5.0 또는 7.0	0.7이상 또는 0.5이상	-
		(다만, 리놀레산 1g 이상인 경우 리놀레산 1g 당 최소한 0.5mg α -TE 또는 0.7IU의 비율이어야 한다)		(다만, 리놀레산 1g 이상인 경우 리놀레산 1g 당 최소한 0.5mg α -TE 또는 0.7IU의 비율이어야 한다)	-
(러) 나트륨 (mg/100kcal)		20 ~ 60		20 ~ 85	-

항 목	유 형	조제분유·조제우유		성장기용조제분유· 성장기용 조제우유	기타조제분유· 기타조제우유
		최대권장기 준			
(머) 칼륨 (mg/100kcal)		60~180		80이상	-
(버) 염소 (mg/100kcal)		50~160		55이상	-
(서) 칼슘 (mg/100kcal)		50이상	140	90이상	-
(어) 인 (mg/100kcal) <단서 신설>		25이상	100	60이상 (다만, 칼슘과 인의 비율이 1:1~2:1이어야 한다)	- (다만, 칼슘과 인의 비율이 1:1~2:1이어야 한다)
(저) 마그네슘 (mg/100kcal)		5.0 이상	15	6.0이상	-
(처) 철 (mg/100kcal)		0.45 이상 (철분강화제품의 경우 1.0이상)		1.0~2.0	-
(커) 요오드 (μ g/100kcal)		10.0 이상	60	5.0이상	-
(터) 구리 (μ g/100kcal)		35 이상		-	-
(퍼) 아연 (mg/100kcal)		0.5이상	1.5	0.5이상	-
(허) 망간 (μ g/100kcal)		1.0 이상	100	5.0이상	-
(고) <신 설> 셀레늄 (μ g/100kcal)		1.0~9.0		9.0 이하	9.0 이하
(노) 인공감미료		검출되어서는 아니된다		검출되어서는 아니된다	검출되어서는 아니된다
(도) 타르색소		검출되어서는 아니된다		검출되어서는 아니된다	검출되어서는 아니된다
(로) 세균수		n=5, c=2, m=1,000/g, M=10,000/g(조제우유는 음성이어야한다) (단, 유산균 첨가 제품의 경우 유산균수를 제외한다)	n=5, c=2, m=1,000/g, M=10,000/g(성장기용 조제 우유는 음성이어야한다) (단, 유산균 첨가 제품의 경우 유산균수를 제외한다)	n=5, c=2, m=1,000/g, M=10,000/g(기타조제 우유는 음성이어야한다) (단, 유산균 첨가 제품의 경우 유산균수를 제외 한다)	
(모) 대장균군		n=5, c=1, m<3, M=10		n=5, c=1, m<3, M=10	n=5, c=1, m<3, M=10
(보) 엔테로박터 사카자키		n=5, c=0, m=0/60g (조제분유에 한한다)		-	n=5, c=0, m=0/60g (기타조제분유에 한한다)
(소) 탄화물 (scorched particle)		100g당 7.5mg이하		100g당 7.5mg이하	100g당 7.5mg이하
(오) 바실러스 세레우스		1g당 100이하(평균제품의 경우 음성이어야한다)		1g당 100이하(평균제품의 경우 음성이어야한다)	1g당 100이하(평균제품의 경우 음성이어야한다)

※ 비타민A 1IU=0.30 μ g, 비타민D 1IU=0.025 μ g, 비타민E 1mg=1.49IU, 1mg α -TE(alpha-tocopherol equivalent)=1mg d- α -tocopherol

※ 기타조제분유, 기타조제우유의 경우 영양소는 표시량이상여야 한다. 다만, 제한할 필요가 있는 영양소는 표시량 이하 도는 표시량 범위이내 이어야 한다.

주) 조제우유 및 성장기용조제우유의 성분규격 적용은 조제분유 및 성장기용 조제분유의 수분 규격 (5.0%)을 기준으로 하여 각각의 성분규격을 환산적용한다.

제2, 1, 러, (4) 중 (라) 대장균균란을 다음과 같이 한다.

구분 \ 유형	아이스크림 저지방아이스크림	아이스밀크, 샤베트, 비유지방아이스크림
(라) 대장균균	<u>n=5, c=2, m=10, M=100</u>	<u>n=5, c=2, m=10, M=100</u>

제2, 1, 버, (4) 중 (라) 대장균균란을 다음과 같이 한다.

구분 \ 유형	아이스크림믹스 저지방아이스크림믹스	아이스밀크믹스, 샤베트믹스, 비유지방아이스크림믹스
(라) 대장균균	<u>n=5, c=2, m=10, M=100</u>	<u>n=5, c=2, m=10, M=100</u>

제2, 3, (4)중 (라)를 다음과 같이 한다.

(라) 대장균균 : 살균제품은 $n=5, c=1, m=10, m=100$, 비살균제품은 $n=5, c=1, m=100, m=1000$ 이어야 한다(피단의 경우에는 $n=5, c=0, m=0$ 이어야 한다)

제3, III, 3, 바, (1) 중 “고속액체크로마토그래피에 의한 정량”을 “고속액체크로마토그래피에 의한 정량(제1법)”으로 하고, “(2)”를 “(3)”으로 하며, (2)를 다음과 같이 신설한다.

(2) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량(제2법)

(가) 시험법 적용범위

조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.

(나) 분석원리

시료 중의 비타민 E를 에탄올과 피로갈롤에탄올 용액으로 비누화시키고 석유에테르로 추출 후 감압건조시켜 역상칼럼으로 분리한 후 고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기(HPLC/UV)

② 기구

㉠ 환류냉각장치

㉡ 감압농축기

㉢ 용매여과장치

㉣ 초자기구 : 분액깔대기, 농축 플라스크(갈색, 125 mL 또는 250 mL)

㉤ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

① 에탄올, 메탄올, 석유에테르 : 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것

② 피로갈롤, 수산화칼륨, 페놀프탈레인, 무수황산나트륨 : 특급시약 또는 이와 동등한 것

③ 증류수 : 3차 증류수로 18 M Ω 이상인 것

④ 10% 피로갈롤에탄올용액 : 피로갈롤 10 g을 에탄올에 녹여 100 mL

이 되게 한다.

- ⑤ 90 % 수산화칼륨용액 : 수산화칼륨 9 g을 증류수에 녹여 10 mL이 되게 한다.
- ⑥ 이동상 : 메탄올 950 mL에 증류수 50 mL를 혼합하고 0.45 μm 나일론 필터로 여과하고 탈기하여 사용한다.

(마) 표준용액 조제

- ① 표준원액: 토코페롤 (α , β , γ , δ)를 각각 50 mg을 채취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올로 용해하면서 용량을 맞춘다.
- ② 표준용액: 표준원액을 1 mL 취하여 메탄올로 10 mL까지 채워 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.
- ③ 검량곡선표준용액 : 표준용액을 0.2, 0.5, 1, 2 및 5 mL를 각각 취하여 10 mL까지 메탄올로 채워 2, 5, 10, 20 및 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

시료 약 1 g을 정밀히 달아 농축 플라스크에 넣고 에탄올 30 mL 및 10% 피로갈롤에탄올 용액 1 mL를 가하고 이에 90% 수산화칼륨용액 3 mL를 가해 환류냉각기를 이용하여 90°C 비등 수욕조 중에서 30분간 비누화한다. 비누화 후 즉시 실온으로 냉각한 후 물 30 mL를 가해 분액깔대기에 옮긴다. 플라스크는 물 10 mL로 씻고 이어서 석유에테르 30 mL로 씻은 후 분액깔대기에 합한다. 분액깔대기를 세게 흔들고, 10분간 방치한 후 하층(물층)을 다른 분액깔대기에 옮긴다. 물층을 석

유에테르 30 mL로 2회 추출하고 추출액을 합하여 페놀프탈레인 지시약 1~2방울 넣는다. 분액깔대기에 물 10 mL 넣어 1회 씻고 뒤이어 물 50 mL를 넣어 세게 흔들고, 여러 차례 반복하여 분홍색이 없어질 때까지 석유에테르층을 씻는다. 분액깔대기 중에서 물을 충분히 분리한 후 무수황산나트륨을 가해 탈수한 후 석유에테르층을 플라스크에 옮긴다. 잔존하는 황산나트륨은 다시 석유에테르 10 mL씩으로 2회 씻고 씻은 액을 플라스크에 모두 합한다. 이 액을 40~50℃에서 감압건조한 후 메탄올 10 mL를 가하여 용해시키고 0.2 μm 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 칼럼 : C₈(4.6×150 mm, 5 μm) 또는 C₁₈(3.9×150 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 칼럼온도 : 30 °C
- 이동상 : 95 % 메탄올
- 유 속 : 1.0 mL/min
- 검출과장 : UV 298 nm
- 주입량 : 10 μL

② 정량시험

표준용액과 시험용액을 각각 주입하고 피크의 머무름 시간을 비교하여 동일 물질인지 정성 확인 후 표준용액의 피크면적 또는 높이에 의해

구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 E의 농도($\mu\text{g/mL}$)를 구하고, 검사시료 중 비타민 E의 함량($\text{mg}/100\text{ g}$)을 산출한다.

$$\text{비타민 E 함량}(\text{mg}/100\text{ g}) = C \times V/S \times \frac{100}{1000}$$

C : 검량선에서 구한 α , β , γ , δ -토코페롤의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 시험용액의 최종부피 (mL)

S : 시료 채취량 (g)

$\frac{100}{1000}$: 단위환산

제3, III, 3, 사, (1) 중 “고속액체크로마토그래프를 이용한 정량”을 “고속액체크로마토그래피에 의한 정량(제1법)”으로 하고, (2)를 다음과 같이 신설한다.

(2) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량(제2법)

(가) 시험법 적용범위

조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.

(나) 분석원리

시료 중의 비타민 D_3 를 수산화칼륨에탄올 용액으로 비누화시키고 핵산 추출 및 고체상 카트리지로 정제하여 역상칼럼으로 분리한 후 고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기(HPLC/UV)

② 기구

㉠ 환류냉각장치

㉡ 감압농축기

㉢ 용매여과장치

㉣ 고체상추출장치

㉤ 진공펌프

㉥ 실리카 카트리지 (500 mg, 6 mL) 또는 이와 동등한 것

㉦ 초자기구 : 분액깔대기, 농축 플라스크(갈색, 125 mL 또는 250 mL)

㉧ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

① 아세트산, 아세토나이트릴, 에틸아세테이트, 디클로르메탄, 에탄올, 이소프로판올, 헥산, 메탄올 : 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것

② 수산화칼륨, 페놀프탈레인, 무수황산나트륨 : 특급시약 또는 이와 동등한 것

③ 증류수 : 3차 증류수로 18 MΩ 이상인 것

④ 10% 아세트산용액 : 아세트산 10 mL를 100 mL 용량플라스크에 넣은 후 증류수로 용량을 맞춘다.-

- ⑤ 이소프로판올용액 A : 이소프로판올용액 2 mL를 1 L 용량플라스크에 넣은 후 디클로르메탄으로 용량을 맞추고 잘 혼합한다.
- ⑥ 이소프로판올용액 B : 이소프로판올용액 200 mL를 1 L 용량플라스크에 넣은 후 디클로르메탄으로 용량을 맞추고 잘 혼합한다.
- ⑦ 에탄올수산화칼륨용액 : 에탄올 310 mL에 수산화칼륨 140 g을 녹인 후 증류수 50 mL을 넣고 혼합한다.
- ⑧ 1% 페놀프탈레인용액 : 페놀프탈레인 1 g을 100 mL 용량플라스크에 넣은 후 에탄올로 용량을 맞춘다.

(마) 표준용액 조제

- ① 표준원액: 비타민 D₂(내부표준물질) 및 D₃를 각각 30 mg을 채취하여 200 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올로 용해하면서 용량을 맞춘다.
- ② 표준용액: 표준원액을 각각 4 mL 취하여 에탄올로 200 mL까지 채워 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.
- ③ 검량곡선표준용액 : 표준용액을 각각 4 mL를 취하여 에탄올로 200 mL까지 채워 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

① 비누화 및 추출

시료 약 2 g을 정밀히 달아 농축 플라스크에 넣고 증류수 15 mL로 용해한다. (비타민 D₃ 표준용액을 4 mL 취하여 농축 플라스크에 넣고 증류수 15 mL를 첨가하여 시료와 동일하게 전처리한다.) 시험용액 및 표준용액에 내부표준물질 비타민 D₂를 4 mL 씩 첨가하고 에

탄올수산화칼륨용액 15 mL를 가한 후 환류냉각기를 이용하여 60℃ 비등 수욕조 중에서 30분간 비누화한다. 비누화후 즉시 실온으로 냉각한 후 분액깔대기에 옮긴다. 농축 플라스크에 증류수 15 mL를 넣고 잘 행균 후 분액깔대기로 옮기고 이어서 헥산 60 mL로 잘 행균 후 분액깔대기에 합한다. 분액깔대기를 90초간 격렬하게 진탕한 후 10분간 방치하여 층을 분리시킨다. 물층(하층)을 버리고, 증류수 15 mL를 넣고 다시 90초간 격렬하게 진탕한 후 하층을 버린다. 남아 있는 헥산층에 1% 페놀프탈레인용액 1방울과 증류수 15 mL를 넣고 분액깔대기를 흔들면서 중성(무색)이 될 때까지 10% 아세트산용액을 넣은 후 층이 분리되면 물층(하층)을 버린다. 상층인 헥산층을 무수 황산나트륨에 통과시켜 탈수하고 농축 플라스크에 넣어 40~50℃에서 감압건조한 후 이소프로판올용액 A 2 mL에 녹인다.

② 정제

실리카 카트리지에 이소프로판올용액 B 4 mL를 흘려주고, 뒤이어 이소프로판올용액 A 5 mL를 흘려 카트리지를 활성화시킨 후 ①의 추출용액을 통과시킨다. 농축플라스크의 잔류물을 이소프로판올용액 A 1 mL로 세척하고 카트리지에 통과시킨 후 이소프로판올용액 A 2 mL로 카트리지를 세척하고, 이소프로판올용액 A 7 mL로 용출하여 질소하 건조한다. 건조 잔류물에 아세토나이트릴 1 mL를 가하여 용해시키고 0.45 μm 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 분석칼럼 : C₁₈(6×250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 가드칼럼 : C₁₈(4.6×10 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 칼럼온도 : 30℃
- 검출과장 : UV 265 nm
- 주입량 : 250 μL
- 이동상 : 아세토나이트릴(A), 메탄올(B), 에틸아세테이트(C)

시간(분)	유속(mL/min)	A(%)	B(%)	C(%)
0	0.7	91	9	0
33	0.7	91	9	0
33.5	1.5	0	0	100
36	1.5	0	0	100
36.5	1.5	91	9	0
38	1.5	91	9	0
45	0.7	91	9	0

* 이동상 A와 B를 각각 또는 91:9로 혼합하여 사용한다.

② 정량시험

표준용액과 시험용액을 각각 주입하여 피크의 머무름 시간을 비교하고 동일 물질인지 정성 확인 후 내부표준법으로 농도비에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 D₃의 농도(μg/mL)를 구하고, 검사시료 중 비타민 D₃의 함량(μg/100 g)을 산출한다.

$$\text{비타민 D}_3 \text{ 함량 } (\mu\text{g}/100 \text{ g}) = C \times V/S \times 100$$

C : 내부표준법으로 구한 비타민 D₃의 농도 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

V : 시험용액의 최종부피 (mL)

S : 시료 채취량 (g)

100 : 단위환산

제3, III, 3, 아, (1) 중 “고속액체크로마토그래피에 의한 정량”을 “고속액체크로마토그래피에 의한 정량(제1법)”으로 하고, (2)를 다음과 같이 신설한다.

(2) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량(제2법)

(가) 시험법 적용범위

조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.

(나) 분석원리

시료 중의 비타민 K₁을 분해효소로 처리한 후 헥산으로 추출하여 역상칼럼으로 분리하고 포스트칼럼으로 환원시켜 고속액체크로마토그래프/형광검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/형광검출기(HPLC/FLD)

② 기구

㉠ 항온수조

- ㉔ 질소농축기
- ㉕ pH meter
- ㉖ 원심분리기
- ㉗ 교반기
- ㉘ 진탕기
- ㉙ 용매여과장치
- ㉚ 초자기구 : 유리시험관, 비이커
- ㉛ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

- ① 에탄올, 디클로르메탄, 에틸아세테이트, 헥산, 이소프로판올, 메탄올 : 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것
- ② 탄산칼륨, 수산화칼륨, 인산칼륨, 무수초산나트륨, 염화아연 : 특급시약 또는 이와 동등한 것
- ③ 초산 : Glacial 급
- ④ Lipase : *Candida rugosa*를 기원으로 하는 것으로써 약 1000 unit/mg의 활성이 있는 것 또는 동등한 효소 활성을 가진 것으로써 *Pseudomonas*와 *Rhizopus*를 기원으로 하는 것
- ⑤ 아연분말 : 입자 60 μm 이하인 것 또는 이와 동등한 것
- ⑥ 증류수 : 3차 증류수로 18 M Ω 이상인 것
- ⑦ 40% 수산화칼륨용액 : 수산화칼륨 40 g을 100 mL 용량플라스크에 넣은 후 증류수로 녹여 용량을 맞춘다.

- ⑧ 0.8 M 인산완충용액 : 인산칼륨 55 g을 500 mL 비이커에 넣은 후 증류수 350 mL로 녹인 후 40% 수산화칼륨용액을 이용해 pH를 7.9 ~8.0으로 맞춘 후 500 mL 용량플라스크에 옮긴 후 증류수로 용량을 맞춘다.
- ⑨ 알콜혼합용매 : 에탄올과 메탄올을 95:5의 부피비로 혼합하여 조제한다.
- ⑩ 이동상 : 디클로르메탄 900 mL에 메탄올 100 mL을 혼합한 용매에 메탄올 5 mL에 녹인 염화아연 1.37 g과 초산 0.3 g 및 무수초산나트륨 0.41 g을 넣고 혼합한 후 0.2 μ m 나일론 멤브레인 필터로 여과하고 탈기하여 사용한다.

(마) 표준용액 조제

- ① 표준원액: Vitamin K₁ 0.025 g을 50 mL 용량플라스크에 넣은 후 이소프로판올로 녹여 조제한다.
- ② 표준용액: 표준원액을 1 mL 취하여 메탄올로 100 mL까지 채워 5 μ g/mL이 되도록 조제한다.
- ③ 검량곡선표준용액 : 표준용액을 0.2, 0.5, 1, 2 및 4 mL를 각각 취하여 100 mL까지 메탄올로 채워 10, 25, 50, 100 및 200 ng/mL이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

① 분해

시료 약 1 g을 시험관에 넣고, 38°C 증류수 15 mL을 넣은 후 잘 흔

들어 녹인다. 여기에 0.8 M 인산완충용액 5 mL을 넣고, 분해 효소인 lipase 1 g을 넣고 교반기를 이용하여 녹인 후, 마개로 시험관을 막고 세계 흔들어 lipase 가 충분히 분산되도록 한다. 38°C 항온수조에서 20분 간격으로 15초간 흔들면서 120분간 효소처리를 한 다음, 알콜혼합용액 10 mL을 넣고 흔든 후 탄산칼륨 1 g을 넣고 흔든다.

② 추출

시험관에 헥산 30 mL을 넣고 10분 이상 진탕기를 이용하여 세계 흔든다. 이를 냉암소에 10분 이상 정치하여 두 층으로 분리되는 것을 확인하고(층분리가 완전하지 않으면 1000 rpm에서 10분간 원심분리한다.), 상층액 1 mL을 별도의 유리시험관으로 옮겨 질소농축기를 이용하여 건조한 후 다시 메탄올 1 mL을 넣고 진탕기를 이용하여 용해한 후 0.45 μ m 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 분석칼럼 : C₁₈(4.6×250 mm, 5 μ m) 또는 이와 동등한 것
- 포스트칼럼 : C₁₈(4.6×30 mm) 또는 이와 동등한 것
 - ※ 분석 전 아연분말을 채우고 분석칼럼과 형광검출기 사이에 장착한다.
- 칼럼온도 : 30°C
- 이동상 유속 : 1.1 mL/min
- 검출파장 : 여기파장 265 nm, 측정파장 430 nm

- 주입량 : 10 μ L

② 정량시험

표준용액과 시험용액을 각각 주입하여 피크의 머무름 시간을 비교하고 동일 물질인지 정성 확인 후 표준용액의 피크면적 또는 높이에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 K₁의 농도(μ g/mL)를 구하고, 검사시료 중 비타민 K₁의 함량(μ g/100 g)을 산출한다.

$$\text{비타민 K}_1 \text{ 함량 } (\mu\text{g}/100 \text{ g}) = C \times V/S \times 100$$

C : 검량선에서 구한 비타민 K₁의 농도 (μ g/mL)

V : 시험용액의 최종부피 (mL)

S : 시료 채취량 (g)

100 : 단위환산

제3, III, 3에 타를 다음과 같이 신설한다.

타. 비타민 B군 동시분석법

(가) 시험법 적용범위

조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.

(나) 분석원리

시료 중의 수용성 비타민 B군 5종(B₁, B₂, B₆, 니코틴아미드, 엽산)을 핵산설펜산나트륨이 함유된 초산용액으로 추출 정제하여 역상칼럼으로 분리한 후 고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기를 이용하여 정

량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기(HPLC/UV)

② 기구

㉠ 원심분리기

㉡ 진탕기

㉢ 용매여과장치

㉣ 원심분리관

㉤ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

① 메탄올: 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것

② 초산, 수산화나트륨, 헥산설폰산나트륨 : 특급시약 또는 이와 동등한 것

③ 증류수 : 3차 증류수로 18 M Ω 이상인 것

④ 이동상

㉠ 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 0.1% 초산용액 : 초산 1 mL을 1 L 용량플라스크에 넣은 후 증류수로 약 900 mL까지 채우고, 헥산설폰산나트륨을 5 mM 농도가 되도록 넣고 혼합한 후 증류수로 1 L를 맞춘다.

- ㉔ 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 메탄올 : 메탄올을 약 900 mL 까지 채우고, 헥산설폰산나트륨을 5 mM 농도가 되도록 넣고 혼합한 후 메탄올로 1 L를 맞춘다.

(마) 표준용액 조제

① 표준원액

- ㉕ Vitamin B₁, Vitamin B₆, 니코틴아미드, : B₁ 0.01 g, B₆ 0.01 g, 니코틴아미드 0.1 g을 100 mL 용량플라스크에 넣고 이동상 ㉔의 용액으로 용해하면서 용량을 맞춘다.

- ㉖ Vitamin B₂, 엽산 : B₂ 0.01 g, 엽산 0.01 g을 100 mL 용량플라스크에 넣고 0.1 N 수산화나트륨 용액으로 용량을 맞춘다.

- ② 표준용액: Vitamin B₁, B₂, B₆, 엽산 표준원액은 1 mL, 니코틴아미드의 표준원액은 1 mL을 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 이동상 ㉔의 용액으로 용량을 맞추어 각각 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 및 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

- ③ 검량곡선표준용액 : Vitamin B₁, B₂, B₆, 엽산 표준용액은 이동상 ㉔로 희석하여 0.05, 0.10, 0.25, 0.5 및 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제하고, 니코틴아미드 표준용액은 이동상 ㉔로 희석하여 0.5, 1, 2.5, 5 및 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

시료 약 1 g을 정밀히 달아 원심분리관에 넣고 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 0.1% 초산용액을 20 mL를 넣어 녹인다. 15분간 진탕기로 잘 섞은 후, 이어서 15분간 초음파 추출하고 15,000 rpm, -10 °C에서

10분간 원심 분리한다. 상층액의 일부를 0.2 μm 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 칼럼 : C₁₈(4.6×250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 칼럼온도 : 30℃
- 유 속 : 0.6 mL/min
- 검출파장 : UV 270 nm
- 주입량 : 50 μL
- 이동상 : 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 0.1 % 초산용액(A)

5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 메탄올(B)

시간(분)	A(%)	B(%)
0	80	20
8.0	80	20
16.0	40	60
18.0	20	80
18.1	0	100
30.0	0	100
30.1	80	20
35	80	20

② 정량시험

표준용액과 시험용액을 각각 주입하여 피크의 머무름 시간을 비교하고 동일 물질인지 정성 확인 후 표준용액의 피크면적 또는 높이에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 B군의 농도(μg/mL)를 구하고, 검사시료 중 비타민 B군의 함량(μg/100 g)을 산출한다.

비타민 B군 개별 함량 ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$) = $C \times V/S \times 100$

C : 검량선에서 구한 비타민 B군의 개별 농도 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

V : 시험용액의 최종부피 (mL)

S : 시료 채취량 (g)

100 : 단위 환산

* 비타민 B1은 첨가된 형태만 정량 가능하며, 부적합 시 개별 정량법으로 확인검사를 실시한다.

제3, III, 9, 다, (1), (다) 중 “분유류에 한한다”를 “분유류, 소, 돼지, 닭(오리)도체에 한한다”로 한다.

제3, III, 9, 바, (3), (라) 중 “식육추출가공품에 한한다”를 “식육추출가공품, 닭(오리)도체에 한한다”로 한다.

제3, III, 9, 며, (3), (가) 중 “시료 100g을 무균적으로 채취하여 900mL의 멸균 증류수에 접종하여”를 “시료 60g을 무균적으로 채취하여 540mL의 멸균증류수에 접종하여”로 한다.

부칙 <제2013- 호, 2013. . .>

제1조(시행일) 이 고시는 고시한 날부터 시행한다. 다만, 제2. 1. 더. (4)의 개정규정(셀레늄, 엔테로박터 사카자키 관련 부분 제외)은 2014년 5월 1

일부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 고시 시행 후 최초로 제조·가공 또는 수입(선적일 기준)하는 축산물부터 적용한다.

제3조(경과조치) 이 고시 시행 당시 접수되어 검사가 진행 중인 사항에 대하여는 종전의 규정에 따른다.

신 · 구조문 대비표

현 행	개정안																																																	
<p>제 1. 축산물에 대한 공통기준 및 규격</p> <p>1. ~ 5. (생 락)</p> <p>6. 축산물의 성분규격</p> <p>가. 일반규격</p> <p>(1) ~ (3) (생 락)</p> <p><신 설></p> <p>(4) (생 락)</p> <p>(5) (생 락)</p> <p>나. ~ 바. (생 락)</p> <p>7. ~ 8. (생 락)</p> <p>제 2. 축산물별 기준 및 규격</p> <p>1. 유가공품</p> <p>가. ~ 너. (생 락)</p> <p>더. 조제유류</p> <p>(1) ~ (3) (생 락)</p> <p>(4) 성분규격</p>	<p>제 1. 축산물에 대한 공통기준 및 규격</p> <p>1. ~ 5. (현행과 같음)</p> <p>6. 축산물의 성분규격</p> <p>가. 일반규격</p> <p>(1) ~ (3) (현행과 같음)</p> <p>(4) <u>유산균을 첨가한 축산물가공품에서 일반세균수 산정은 총세균수에 서 유산균수를 제외한다.</u></p> <p>(5) (현행과 같음)</p> <p>(6) (현행과 같음)</p> <p>나. ~ 바. (현행과 같음)</p> <p>7. ~ 8. (현행과 같음)</p> <p>제 2. 축산물별 기준 및 규격</p> <p>1. 유가공품</p> <p>가. ~ 너. (현행과 같음)</p> <p>더. 조제유류</p> <p>(1) ~ (3) (현행과 같음)</p> <p>(4) 성분규격</p>																																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">항 목</th> <th style="width: 15%;">유 형</th> <th style="width: 15%;">조제분유·조제우유</th> <th style="width: 15%;">성장기용조제분유·성장기용 조제우유</th> <th style="width: 15%;">기타조제분유·기타조제우유</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="5" style="text-align: center;">(가) ~ (다) (생 락)</td> </tr> <tr> <td>(라) 조지방(g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)</td> <td>(생 락) 270 이상 <최대권장기준 신설></td> <td>(생 락) 270 이상</td> <td></td> <td>(생 락)</td> </tr> <tr> <td colspan="5" style="text-align: center;">(마) 유성분 (생 락)</td> </tr> </tbody> </table>	항 목	유 형	조제분유·조제우유	성장기용조제분유·성장기용 조제우유	기타조제분유·기타조제우유	(가) ~ (다) (생 락)					(라) 조지방(g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)	(생 락) 270 이상 <최대권장기준 신설>	(생 락) 270 이상		(생 락)	(마) 유성분 (생 락)					<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2" style="width: 15%;">항 목</th> <th rowspan="2" style="width: 15%;">유 형</th> <th colspan="2" style="width: 20%;">조제분유·조제우유</th> <th rowspan="2" style="width: 15%;">성장기용조제분유·성장기용 조제우유</th> <th rowspan="2" style="width: 15%;">기타조제분유·기타조제우유</th> </tr> <tr> <th style="width: 5%;">최대권장 기준</th> <th style="width: 15%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="6" style="text-align: center;">(가) ~ (나) (현행과 같음)</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">(라) 조지방(g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)</td> <td rowspan="2"></td> <td colspan="2" style="text-align: center;">(현행과 같음)</td> <td rowspan="2" style="text-align: center;">(현행과 같음)</td> <td rowspan="2" style="text-align: center;">(현행과 같음)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">300 이상</td> <td style="text-align: center;">1400</td> <td style="text-align: center;">300 이상</td> </tr> <tr> <td colspan="6" style="text-align: center;">(마) 유성분 (현행과 같음)</td> </tr> </tbody> </table>	항 목	유 형	조제분유·조제우유		성장기용조제분유·성장기용 조제우유	기타조제분유·기타조제우유	최대권장 기준		(가) ~ (나) (현행과 같음)						(라) 조지방(g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)		(현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)	300 이상	1400	300 이상	(마) 유성분 (현행과 같음)					
항 목	유 형	조제분유·조제우유	성장기용조제분유·성장기용 조제우유	기타조제분유·기타조제우유																																														
(가) ~ (다) (생 락)																																																		
(라) 조지방(g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)	(생 락) 270 이상 <최대권장기준 신설>	(생 락) 270 이상		(생 락)																																														
(마) 유성분 (생 락)																																																		
항 목	유 형	조제분유·조제우유		성장기용조제분유·성장기용 조제우유	기타조제분유·기타조제우유																																													
		최대권장 기준																																																
(가) ~ (나) (현행과 같음)																																																		
(라) 조지방(g/100kcal) 리놀레산(mg/100kcal)		(현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)																																													
		300 이상	1400			300 이상																																												
(마) 유성분 (현행과 같음)																																																		

항 목	유 형	조제분유·조제우유		성장기용조제분유·성장기용 조제우유	기타조제분유·기타조제우유
		조제분유·조제우유	성장기용조제분유·성장기용 조제우유		
(바) 비타민A (IU/100kcal 또는 $\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		250~500 또는 75~150	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(사) 비타민D (IU/100kcal 또는 $\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		40~80 또는 1.0~2.0	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(아) 비타민C (mg/100kcal)		8.0 이상	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(자) 비타민B ₁ ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		40 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(차) 비타민B ₂ ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		60 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(카) 니코틴산 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		250 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(타) 비타민B ₆ ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		(생 략) <최대권장기준 신설> <단서 신설>	(생 략) <단서 신설>	(생 략)	(생 략)
(파) 엽산 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		4.0 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(하) 판토텐산 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		300 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(거) (생 략)					
(너) 비타민K1 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		(생 략) <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(더) 비타민E (IU/100kcal 또는 mg α -TE/100kcal)		(생 략) <최대권장기준 신설> <단서 신설>	(생 략) <단서 신설>	(생 략)	(생 략)
(러) (생 략)					
(미) 칼륨 (mg/100kcal)		80~200	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(비) 엽소 (mg/100kcal)		55~150	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(서) 칼슘 (mg/100kcal)		(생 략) <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(어) 인 (mg/100kcal)		(생 략) <최대권장기준 신설> <단서 신설>	(생 략) <단서 신설>	(생 략)	(생 략)
(저) 마그네슘 (mg/100kcal)		6.0 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(차) 철 (mg/100kcal)		0.25 이상 (생 략)	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(커) 요오드 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		5.0 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(터) 구리 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		60 이상	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(피) 아연 (mg/100kcal)		(생 략) <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
(허) 망간 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		5.0 이상 <최대권장기준 신설>	(생 략)	(생 략)	(생 략)
<신 설>		<신 설>	<신 설>	<신 설>	<신 설>

항 목	유 형	조제분유·조제우유		성장기용조제분유·성장기용 조제우유	기타조제분유·기타조제우유
		조제분유·조제우유	최대권장 기준		
(바) 비타민A ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$ 또는 IU/100kcal)		60~180 또는 200~600		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(사) 비타민D ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$ 또는 IU/100kcal)		1.0~2.5 또는 40~100		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(아) 비타민C (mg/100kcal)		10.0 이상		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(자) 비타민B ₁ ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		60 이상	300	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(차) 비타민B ₂ ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		80 이상	500	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(카) 나이아신 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		300 이상	1500	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(타) 비타민B ₆ ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		(현행과 같음)	175	(현행과 같음) (다만, 단백질 2.3g 이상인 경우 초과 단백질 1g 당 비타민 B6 15 μg 의 비율이어야 한다)	(현행과 같음) (다만, 단백질 3.0g 이상인 경우 초과 단백질 1g 당 비타민 B6 15 μg 의 비율 이어야 한다)
(파) 엽산 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		10.0 이상	50	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(하) 판토텐산 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		400 이상	2000	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(거) (현행과 같음)					
(너) 비타민K1 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		(현행과 같음)	27	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(더) 비타민E (mg α -TE/100kcal 또는 IU/100kcal)		(현행과 같음)	5.0 또는 7.0 (다만, 리놀레산 1g 이상인 경우 리놀레산 1g 당 최소한 0.5mg α -TE 또는 0.7IU의 비율이어야 한다)	(현행과 같음) (다만, 리놀레산 1g 이상인 경우 리놀레산 1g 당 최소한 0.5mg α -TE 또는 0.7IU의 비율이어야 한다)	(현행과 같음)
(러) (현행과 같음)					
(미) 칼륨 (mg/100kcal)		60~180		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(비) 엽소 (mg/100kcal)		50~160		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(서) 칼슘 (mg/100kcal)		(현행과 같음)	140	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(어) 인 (mg/100kcal)		(현행과 같음)	100	(현행과 같음) (다만, 칼슘과 인의 비율이 1:1~2:1이어야 한다)	(현행과 같음) (다만, 칼슘과 인의 비율이 1:1~2:1이어야 한다)
(저) 마그네슘 (mg/100kcal)		5.0 이상	15	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(차) 철 (mg/100kcal)		0.45 이상 (현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(커) 요오드 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		10.0 이상	60	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(터) 구리 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		35 이상		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(피) 아연 (mg/100kcal)		(현행과 같음)	1.5	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(허) 망간 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		1.0 이상	100	(현행과 같음)	(현행과 같음)
(고) 셀레늄 ($\mu\text{g}/100\text{kcal}$)		1.0~9.0		9.0 이하	9.0 이하

항 목	유 형	조제분유· 조제우유	성장기용조제분유· 성장기용 조제우유	기타조제분유· 기타조제우유
(고) ~ (로) (생 략)				
(모) 엔테로박터 사카자키	음성이여야한다 (생 략)	-	음성이여야한다 (생 략)	
(보) ~ (소) (생 략)				

※ (생 략)
 ※ (생 략)
 주) (생 략)
 (5) (생 략)
 러. 아이스크림류
 (1) ~ (3) (생 략)
 (4) 성분규격

구분	유형	아이스크림 저지방아이스크림	아이스밀크, 샤베트, 비유지방아이스크림
(가)~(다) (생 략)		(생 략)	(생 략)
(라) 대장균군		1ml당 10이하	1ml당 10이하
(마) (생 략)		(생 략)	(생 략)

(5) (생 략)
 며. (생 략)
 버. 아이스크림믹스류
 (1) ~ (3) (생 략)
 (4) 성분규격

구분	유형	아이스크림 저지방아이스크림	아이스밀크, 샤베트, 비유지방아이스크림
(가)~(다) (생 략)		(생 략)	(생 략)
(라) 대장균군		1ml당 10이하 (단, 멸균제품은 음성이여야 한다.)	1ml당 10이하 (단, 멸균제품은 음성 이어야 한다.)
(마) (생 략)		(생 략)	(생 략)

(5) (생 략)
 2. (생 략)
 3. 알가공품
 (1) ~ (3) (생 략)
 (4) 성분규격
 (가) ~ (다) (생 략)

항 목	유 형	조제분유· 조제우유		성장기용조제분유· 성장기용 조제우유	기타조제분유· 기타조제우유
		최대권장 기준			
(노) ~ (모) (현행과 같음)					
(보) 엔테로박터 사카자키		n=5, c=0, m=0/60g (현행과 같음)		-	n=5, c=0, m=0/60g (현행과 같음)
(소) ~ (오) (현행과 같음)					

※ (현행과 같음)
 ※ (현행과 같음)
 주) (현행과 같음)
 (5) (현행과 같음)
 러. 아이스크림류
 (1) ~ (3) (현행과 같음)
 (4) 성분규격

구분	유형	아이스크림 저지방아이스크림	아이스밀크, 샤베트, 비유지방아이스크림
(가)~(다) (현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(라) 대장균군		n=5, c=2, m=10, M=100	n=5, c=2, m=10, M=100
(마) (현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)

(5) (현행과 같음)
 며. (현행과 같음)
 버. 아이스크림믹스류
 (1) ~ (3) (현행과 같음)
 (4) 성분규격

구분	유형	아이스크림 저지방아이스크림	아이스밀크, 샤베트, 비유지방아이스크림
(가)~(다) (현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)
(라) 대장균군		n=5, c=2, m=10, M=100 (단 멸균제품은 n=5, c=0, m=0이어야 한다.)	n=5, c=2, m=10, M=100 (단 멸균제품은 n=5, c=0, m=0이어야 한다.)
(마) (현행과 같음)		(현행과 같음)	(현행과 같음)

(5) (현행과 같음)
 2. (현행과 같음)
 3. 알가공품
 (1) ~ (3) (현행과 같음)
 (4) 성분규격
 (가) ~ (다) (현행과 같음)

<p>(라) 대장균균: <u>살균제품은 1g 당 10이하, 비살균제품은 100이하이어야한다(피단의 경우에는 음성이어야 한다)</u></p> <p>(마) (생 략)</p> <p>(5) (생 략)</p> <p>제 3. 축산물 시험방법</p> <p>I.~ II. (생 략)</p> <p>III. 일반시험법</p> <p>1.~ 2. (생 략)</p> <p>3. 비타민류</p> <p>가. ~ 마. (생 략)</p> <p>바. 비타민 E</p> <p>(1) <u>고속액체크로마토그래피에 의한 정량</u></p> <p><신 설></p>	<p>(라) 대장균균: <u>살균제품은 n=5 c=1 m=10 M=100, 비살균제품은 n=5 c=1 m=100, M=1000이어야한다(피단의 경우에는 n=5, c=0, m=0이어야 한다)</u></p> <p>(마) (현행과 같음)</p> <p>(5) (현행과 같음)</p> <p>제 3. 축산물 시험방법</p> <p>I.~ II. (현행과 같음)</p> <p>III. 일반시험법</p> <p>1.~ 2. (현행과 같음)</p> <p>3. 비타민류</p> <p>가. ~ 마. (현행과 같음)</p> <p>바. 비타민 E</p> <p>(1) <u>고속액체크로마토그래피에 의한 정량 (제1법)</u></p> <p>(2) <u>고속액체크로마토그래피에 의한 정량 (제2법)</u></p> <p>(가) <u>시험법 적용범위</u> <u>조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.</u></p> <p>(나) <u>분석원리</u> <u>시료 중의 비타민 E를 에탄올과 피로갈롤에탄올 용액으로 비누화시키고 석유에테르로 추출 후 감압건조시켜 역상칼럼으로 분리한 후 고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기를 이</u></p>
---	--

용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/자외부
흡광검출기(HPLC/UV)

② 기구

㉠ 환류냉각장치

㉡ 감압농축기

㉢ 용매여과장치

㉣ 초자기구 : 분액깔대기, 농축
플라스크(갈색, 125 mL 또는
250 mL)

㉤ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이
가능한 것

(라) 시약 및 시액

① 에탄올, 메탄올, 석유에테르 :
액체크로마토그래피용 또는 이
와 동등한 것

② 피로갈롤, 수산화칼륨, 페놀프
탈레인, 무수황산나트륨 : 특급
시약 또는 이와 동등한 것

③ 증류수 : 3차 증류수로 18 MΩ
이상인 것

④ 10% 피로갈롤에탄올용액 : 피
로갈롤 10 g을 에탄올에 녹여
100 mL이 되게 한다.

⑤ 90 % 수산화칼륨용액 : 수산화
칼륨 9 g을 증류수에 녹여 10
mL이 되게 한다.

⑥ 이동상 : 메탄올 950 mL에 증

류수 50 mL를 혼합하고 0.45 μm 나일론 필터로 여과하고 탈기하여 사용한다.

(마) 표준용액 조제

① 표준원액: 토코페롤 (α , β , γ , δ)를 각각 50 mg을 채취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올로 용해하면서 용량을 맞춘다.

② 표준용액: 표준원액을 1 mL 취하여 메탄올로 10 mL까지 채워 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

③ 검량곡선표준용액 : 표준용액을 0.2, 0.5, 1, 2 및 5 mL를 각각 취하여 10 mL까지 메탄올로 채워 2, 5, 10, 20 및 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

시료 약 1 g을 정밀히 달아 농축플라스크에 넣고 에탄올 30 mL 및 10% 피로갈롤에탄올 용액 1 mL를 가하고 이에 90% 수산화칼륨용액 3 mL를 가해 환류냉각기를 이용하여 90°C 비등 수욕조 중에서 30분간 비누화한다. 비누화 후 즉시 실온으로 냉각한 후 물 30 mL를 가해 분액깔대기에 옮긴다. 플라스크는 물 10 mL로 씻고 이어서 석유에테르 30 mL로

씻은 후 분액깔대기에 합한다. 분액깔대기를 세게 흔들고, 10분 간 방치한 후 하층(물층)을 다른 분액깔대기에 옮긴다. 물층을 석유에테르 30 mL로 2회 추출하고 추출액을 합하여 페놀프탈레인 지시약 1~2방울 넣는다. 분액깔대기에 물 10 mL 넣어 1회 씻고 뒤이어 물 50 mL를 넣어 세게 흔들고, 여러 차례 반복하여 분홍색이 없어질 때까지 석유에테르층을 씻는다. 분액깔대기 중에서 물을 충분히 분리한 후 무수황산나트륨을 가해 탈수한 후 석유에테르층을 플라스크에 옮긴다. 잔존하는 황산나트륨은 다시 석유에테르 10 mL씩으로 2회 씻고 씻은 액을 플라스크에 모두 합한다. 이 액을 40~50°C에서 감압건조한 후 메탄올 10 mL를 가하여 용해시키고 0.2 μm 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

- ① 고속액체크로마토그래프 조건
 - 칼럼 : C₈(4.6×150 mm, 5 μm)
또는 C₁₈(3.9×150 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
 - 칼럼온도 : 30°C

<p>(2) (생 약)</p> <p>사. 비타민 D</p> <p>(1) <u>고속액체크로마토그래프를 이용한 정량</u></p>	<p>- 이동상 : 95% 메탄올</p> <p>- 유 속 : 1.0 mL/min</p> <p>- 검출과장 : UV 298 nm</p> <p>- 주입량 : 10 μL</p> <p>② 정량시험</p> <p><u>표준용액과 시험용액을 각각 주입하고 피크의 머무름 시간을 비교하여 동일 물질인지 정성 확인 후 표준용액의 피크면적 또는 높이에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 E의 농도(μg/mL)를 구하고, 검사시료 중 비타민 E의 함량(mg/100 g)을 산출한다.</u></p> <p><u>비타민 E 함량(mg/100 g)</u></p> $= C \times V/S \times \frac{100}{1000}$ <p><u>C : 검량선에서 구한 α, β, γ, δ - 토코페롤 합 의 농도 (μg/mL)</u></p> <p><u>V : 시험용액의 최종부피 (mL)</u></p> <p><u>S : 시료 채취량 (g)</u></p> <p><u>$\frac{100}{1000}$: 단위환산</u></p> <p>(3) (현행과 같음)</p> <p>사. 비타민 D</p> <p>(1) <u>고속액체크로마토그래피에 의한 정량 (제1법)</u></p>
--	--

<신 설>

(2) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량

(제2법)

(가) 시험법 적용범위

조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.

(나) 분석원리

시료 중의 비타민 D₃를 수산화칼륨에 탄올 용액으로 비누화시키고 헥산 추출 및 고체상 카트리지로 정제하여 역상칼럼으로 분리한 후 고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기(HPLC/UV)

② 기구

㉠ 환류냉각장치

㉡ 감압농축기

㉢ 용매여과장치

㉣ 고체상추출장치

㉤ 진공펌프

㉥ 실리카 카트리지 (500 mg, 6 mL) 또는 이와 동등한 것

㉦ 초자기구 : 분액깔대기, 농축플라스크(갈색, 125 mL 또는 250 mL)

㉧ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정

이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

- ① 아세트산, 아세토나이트릴, 에틸아세테이트, 디클로르메탄, 에탄올, 이소프로판올, 헥산, 메탄올 : 액체크로마토그래피 용 또는 이와 동등한 것
- ② 수산화칼륨, 페놀프탈레인, 무수황산나트륨 : 특급시약 또는 이와 동등한 것
- ③ 증류수 : 3차 증류수로 18 MΩ 이상인 것
- ④ 10% 아세트산용액 : 아세트산 10 mL를 100 mL 용량플라스크에 넣은 후 증류수로 용량을 맞춘다.
- ⑤ 이소프로판올용액 A : 이소프로판올용액 2 mL를 1 L 용량플라스크에 넣은 후 디클로르메탄으로 용량을 맞추고 잘 혼합한다.
- ⑥ 이소프로판올용액 B : 이소프로판올용액 200 mL를 1 L 용량플라스크에 넣은 후 디클로르메탄으로 용량을 맞추고 잘 혼합한다.
- ⑦ 에탄올수산화칼륨용액 : 에탄올 310 mL에 수산화칼륨 140 g을 녹인 후 증류수 50 mL을 넣고 혼합한다.

⑧ 1% 페놀프탈레인용액 : 페놀프탈레인 1 g을 100 mL 용량 플라스크에 넣은 후 에탄올로 용량을 맞춘다.

(마) 표준용액 조제

① 표준원액: 비타민 D₂(내부표준물질) 및 D₃를 각각 30 mg을 채취하여 200 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올로 용해하면서 용량을 맞춘다.

② 표준용액: 표준원액을 각각 4 mL 취하여 에탄올로 200 mL 까지 채워 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

③ 검량곡선표준용액 : 표준용액을 각각 4 mL를 취하여 에탄올로 200 mL까지 채워 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

① 비누화 및 추출

시료 약 2 g을 정밀히 달아 농축 플라스크에 넣고 증류수 15 mL 로 용해한다. (비타민 D₃ 표준용액을 4 mL 취하여 농축 플라스크에 넣고 증류수 15 mL를 첨가하여 시료와 동일하게 전처리한다.) 시험용액 및 표준용액에 내부표준물질 비타민 D₂를 4 mL 씩 첨가하고 에탄올수산화칼륨용액 15 mL를 가한 후 환

류냉각기를 이용하여 60℃ 비등 수욕조 중에서 30분간 비누화한다. 비누화후 즉시 실온으로 냉각한 후 분액깔대기에 옮긴다. 농축 플라스크에 증류수 15 mL를 넣고 잘 행균 후 분액깔대기로 옮기고 이어서 헥산 60 mL로 잘 행균 후 분액깔대기에 합한다. 분액깔대기를 90초간 격렬하게 진탕한 후 10분간 방치하여 층을 분리시킨다. 물층(하층)을 버리고, 증류수 15 mL를 넣고 다시 90초간 격렬하게 진탕한 후 하층을 버린다. 남아있는 헥산층에 1% 페놀프탈레인 용액 1방울과 증류수 15 mL를 넣고 분액깔대기를 흔들면서 중성(무색)이 될 때까지 10% 아세트산용액을 넣은 후 층이 분리되면 물층(하층)을 버린다. 상층인 헥산층을 무수황산나트륨에 통과시켜 탈수하고 농축 플라스크에 넣어 40~50℃에서 감압건조한 후 이소프로판올용액 A 2 mL에 녹인다.

② 정제

실리카 카트리지에 이소프로판올용액 B 4 mL를 흘려주고, 뒤이어 이소프로판올용액 A 5 mL를 흘려 카트리지를 활성화

시킨 후 ①의 추출용액을 통과시킨다. 농축플라스크의 잔류물을 이소프로판올용액 A 1 mL로 세척하고 카트리지에 통과시킨 후 이소프로판올용액 A 2 mL로 카트리지를 세척하고, 이소프로판올용액 A 7 mL로 용출하여 질소하 건조한다. 건조 잔류물에 아세토나이트릴 1 mL를 가하여 용해시키고 0.45 μ m 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 분석칼럼 : C₁₈(6×250 mm, 5 μ m) 또는 이와 동등한 것
- 가드칼럼 : C₁₈(4.6×10 mm, 5 μ m) 또는 이와 동등한 것
- 칼럼온도 : 30℃
- 검출과장 : UV 265 nm
- 주입량 : 250 μ L
- 이동상 : 아세토나이트릴(A), 메탄올(B), 에틸아세테이트(C)

시간(분)	유속 (mL/min)	A(%)	B(%)	C(%)
0	0.7	91	9	0
33	0.7	91	9	0
33.5	1.5	0	0	100
36	1.5	0	0	100
36.5	1.5	91	9	0
38	1.5	91	9	0
45	0.7	91	9	0

<p>아. 비타민 K₁ <u>(1) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량</u> <u><신 설></u></p>	<p>*이동상 A와 B를 각각 또는 9:1:9로 혼합하여 사용한다. <u>② 정량시험</u> <u>표준용액과 시험용액을 각각 주입하여 피크의 머무름 시간을 비교하고 동일 물질인지 정성 확인 후 내부표준법으로 농도비에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 D₃의 농도(μg/mL)를 구하고, 검사시료 중 비타민 D₃의 함량(μg/100 g)을 산출한다.</u> <u>비타민 D₃ 함량 (μg/100 g)</u> <u>= C × V/S × 100</u> <u>C : 내부표준법으로 구한 비타민 D₃의 농도 (μg/mL)</u> <u>V : 시험용액의 최종부피 (mL)</u> <u>S : 시료 채취량 (g)</u> <u>100 : 단위 환산</u></p> <p>아. 비타민 K₁ <u>(1) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량 (제1법)</u> <u>(2) 고속액체크로마토그래피에 의한 정량 (제2법)</u> <u>(가) 시험법 적용범위</u> <u>조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.</u> <u>(나) 분석원리</u></p>
--	---

시료 중의 비타민 K₁을 분해효소로 처리한 후 헥산으로 추출하여 역상칼럼으로 분리하고 포스트칼럼으로 환원시켜 고속액체크로마토그래프/형광검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/형광검출기(HPLC/FLD)

② 기구

㉠ 항온수조

㉡ 질소농축기

㉢ pH meter

㉣ 원심분리기

㉤ 교반기

㉥ 진탕기

㉦ 용매여과장치

㉧ 초자기구 : 유리시험관, 비이커

㉨ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

① 에탄올, 디클로르메탄, 에틸아세테이트, 헥산, 이소프로판올, 메탄올 : 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것

② 탄산칼륨, 수산화칼륨, 인산칼륨, 무수초산나트륨, 염화아연 : 특급시약 또는 이와 동등한 것

	<p>③ 초산 : Glacial 급</p> <p>④ Lipase : <i>Candida rugosa</i>를 기원으로 하는 것으로써 약 1000 unit/mg의 활성이 있는 것 또는 동등한 효소 활성을 가진 것으로써 <i>Pseudomonas</i> 와 <i>Rhizopus</i>를 기원으로 하는 것</p> <p>⑤ 아연분말 : 입자 60 μm 이하인 것 또는 이와 동등한 것</p> <p>⑥ 증류수 : 3차 증류수로 18 MΩ 이상인 것</p> <p>⑦ 40% 수산화칼륨용액 : 수산화칼륨 40 g을 100 mL 용량플라스크에 넣은 후 증류수로 녹여 용량을 맞춘다.</p> <p>⑧ 0.8 M 인산완충용액 : 인산칼륨 55 g을 500 mL 비이커에 넣은 후 증류수 350 mL로 녹인 후 40% 수산화칼륨용액을 이용해 pH를 7.9~8.0으로 맞춘 후 500 mL 용량플라스크에 옮긴 후 증류수로 용량을 맞춘다.</p> <p>⑨ 알콜혼합용매 : 에탄올과 메탄올을 95:5의 부피비로 혼합하여 조제한다.</p> <p>⑩ 이동상 : 디클로르메탄 900 mL에 메탄올 100 mL을 혼합한 용매에 메탄올 5 mL에 녹</p>
--	---

인 염화아연 1.37 g과 초산 0.3 g 및 무수초산나트륨 0.41 g을 넣고 혼합한 후 0.2 µm 나일론 멤브레인 필터로 여과하고 탈기하여 사용한다.

(마) 표준용액 조제

① 표준원액: Vitamin K₁ 0.025 g을 50 mL 용량플라스크에 넣은 후 이소프로판올로 녹여 조제한다.

② 표준용액: 표준원액을 1 mL 취하여 메탄올로 100 mL까지 채워 5 µg/mL이 되도록 조제한다.

③ 검량곡선표준용액 : 표준용액을 0.2, 0.5, 1, 2 및 4 mL를 각각 취하여 100 mL까지 메탄올로 채워 10, 25, 50, 100 및 200 ng/mL이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

① 분해

시료 약 1 g을 시험관에 넣고, 38°C 증류수 15 mL을 넣은 후 잘 흔들어 녹인다. 여기에 0.8 M 인산완충용액 5 mL을 넣고, 분해 효소인 lipase 1 g을 넣고 교반기를 이용하여 녹인 후, 마개로 시험관을 막고 세게 흔들어 lipase 가 충분히 분산되도록

한다. 38℃ 항온수조에서 20분
간격으로 15초간 흔들면서 120
분간 효소처리를 한 다음, 알콜
혼합용액 10 mL을 넣고 흔든
후 탄산칼륨 1 g을 넣고 흔든다.

② 추출

시험관에 헥산 30 mL을 넣고
10분 이상 진탕기를 이용하여
세게 흔든다. 이를 냉암소에 10
분 이상 정치하여 두 층으로 분
리되는 것을 확인하고(층분리가
완전하지 않으면 1000 rpm에서
10분간 원심분리한다.), 상층액
1 mL을 별도의 유리시험관으로
 옮겨 질소농축기를 이용하여 건
조한 후 다시 메탄올 1 mL을
넣고 진탕기를 이용하여 용해한
후 0.45 µm 나일론 멤브레인 필
터로 여과하여 시험용액으로 한
다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 분석칼럼 : C₁₈(4.6×250 mm, 5
µm) 또는 이와 동등한 것

- 포스트칼럼 : C₁₈(4.6×30 mm)
또는 이와 동등한 것

※ 분석 전 아연분말을 채우고
분석칼럼과 형광검출기 사이에
장착한다.

- 칼럼온도 : 30℃

<p>자. ~ 카. (생 약)</p> <p><u><신 설></u></p>	<p>- 이동상 유속 : 1.1 mL/min</p> <p>- 검출과장 : 여기과장 265 nm, 측정과장 430 nm</p> <p>- 주입량 : 10 μL</p> <p>② 정량시험</p> <p>표준용액과 시험용액을 각각 주입하여 피크의 머무름 시간을 비교하고 동일 물질인지 정성 확인 후 표준용액의 피크면적 또는 높이에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 K₁의 농도(μg/mL)를 구하고, 검사 시료 중 비타민 K₁의 함량(μg/100 g)을 산출한다.</p> <p>비타민 K₁ 함량 (μg/100 g)</p> $= C \times V/S \times 100$ <p>C : 검량선에서 구한 비타민 K₁의 농도 (μg/mL)</p> <p>V : 시험용액의 최종부피 (mL)</p> <p>S : 시료 채취량 (g)</p> <p>100 : 단위환산</p> <p>자. ~ 카. (현행과 같음)</p> <p>타. <u>비타민 B군 동시분석법</u></p> <p>(가) <u>시험법 적용범위</u></p> <p>조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유 및 성장기용 조제우유 등 조제유류에 적용한다.</p> <p>(나) <u>분석원리</u></p>
--	--

시료 중의 수용성 비타민 B군 5종(B₁, B₂, B₆, 니코틴산아미드, 엽산)을 헥산설폰산나트륨이 함유된 초산용액으로 추출 정제하여 역상칼럼으로 분리한 후 고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

(다) 장치 및 기구

① 장치

고속액체크로마토그래프/자외부흡광검출기(HPLC/UV)

② 기구

㉠ 원심분리기

㉡ 진탕기

㉢ 용매여과장치

㉣ 원심분리관

㉤ 분석저울 : 0.1 mg까지 측정이 가능한 것

(라) 시약 및 시액

① 메탄올: 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것

② 초산, 수산화나트륨, 헥산설폰산나트륨 : 특급시약 또는 이와 동등한 것

③ 증류수 : 3차 증류수로 18 MΩ 이상인

④ 이동상

㉠ 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 0.1% 초산용액 : 초

산 1 mL을 1 L 용량플라스크에 넣은 후 증류수로 약 900 mL까지 채우고, 헥산 설펜산나트륨을 5 mM 농도가 되도록 넣고 혼합한 후 증류수로 1 L를 맞춘다.

㉞ 5 mM 헥산설펜산나트륨이 함유된 메탄올 : 메탄올을 약 900 mL까지 채우고, 헥산설펜산나트륨을 5 mM 농도가 되도록 넣고 혼합한 후 메탄올로 1 L를 맞춘다.

(마) 표준용액 조제

① 표준원액

㉠ Vitamin B₁, Vitamin B₆, 니코틴산아미드, : B₁ 0.01 g, B₆ 0.01 g, 니코틴산아미드 0.1 g을 100 mL 용량플라스크에 넣고 이동상 ㉠의 용액으로 용해하면서 용량을 맞춘다.

㉡ Vitamin B₂, 엽산 : B₂ 0.01 g, 엽산 0.01 g을 100 mL 용량플라스크에 넣고 0.1 N 수산화나트륨 용액 용액으로 용량을 맞춘다.

② 표준용액: Vitamin B₁, B₂, B₆, 엽산 표준원액은 1 mL, 니코틴산아미드의 표준원액은 1 mL을 취하여 100 mL 용량플

라스크에 넣고 이동상 ㉔의 용액으로 용량을 맞추어 각각 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 및 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

③ 검량곡선표준용액 : Vitamin B₁, B₂, B₆, 엽산 표준용액은 이동상 ㉔로 희석하여 0.05, 0.10, 0.25, 0.5 및 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제하고, 니코틴산아미드 표준용액은 이동상 ㉔로 희석하여 0.5, 1, 2.5, 5 및 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 조제한다.

(바) 시험용액 조제

시료 약 1 g을 정밀히 달아 원심분리관에 넣고 5 mM 헥산설폰산 나트륨이 함유된 0.1% 초산용액을 20 mL를 넣어 녹인다. 15분간 교반기로 잘 섞은 후, 이어서 15분간 초음파 추출하고 15,000 rpm, -10 °C에서 10분간 원심 분리한다. 상층액의 일부를 0.2 μm 나일론 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

(사) 시험조작

① 고속액체크로마토그래프 조건

- 칼럼 : C₁₈(4.6×250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 칼럼온도 : 30 °C
- 유 속 : 0.6 mL/min
- 검출파장 : UV 270 nm

- 주입량 : 50 μ L
- 이동상 : 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 0.1 % 초산용액(A) 5 mM 헥산설폰산나트륨이 함유된 메탄올(B)

시간(분)	A(%)	B(%)
0	80	20
8.0	80	20
16.0	40	60
18.0	20	80
18.1	0	100
30.0	0	100
30.1	80	20
35	80	20

② 정량시험

표준용액과 시험용액을 각각 주입하여 피크의 머무름 시간을 비교하고 동일 물질인지 정성 확인 후 표준용액의 피크면적 또는 높이에 의해 구한 검량선을 사용하여 시험용액 중의 비타민 B군의 농도(μ g/mL)를 구하고, 검사 시료 중 비타민 B군의 함량(μ g/100 g)을 산출한다.

$$\text{비타민 B군 개별 함량 } (\mu\text{g}/100 \text{ g}) \\ = C \times V/S \times 100$$

C : 검량선에서 구한 비타민 B군 개별 농도 (μ g/mL)

V : 시험용액의 최종부피 (mL)

S : 시료 채취량 (g)

100 : 단위환산

* 비타민 B1은 첨가된 형태만 정량 가능

<p>4. ~ 8. (생 략)</p> <p>9. 미생물시험법</p> <p>가. ~ 나. (생 략)</p> <p>다. 세균수</p> <p>(1) 일반세균수</p> <p>(가) ~ (나) (생 략)</p> <p>(다) 자동화된 최확수법 (Automated MPN)</p> <p>우유류, 저지방우유류, 유당 분해우유, 가공우유(유음료 제 외), 조제우유, <u>분유류에 한한다.</u></p> <p>라. ~ 마. (생 략)</p> <p>바. 대장균수(Generic <i>E. coli</i>)</p> <p>(1) ~ (2) (생 략)</p> <p>(3) 시험방법</p> <p>(가) ~ (다) (생 략)</p> <p>(라) 자동화된 최확수법(Automated MPN)</p> <p>자연치즈, <u>식육추출가공품에 한한다.</u></p> <p>사. ~ 러 (생 략)</p> <p>머. 엔테로박터 사카자키</p> <p>[<u><i>Enterobacter</i>(<i>Cronobacter</i>) <i>sakazakii</i></u>]</p>	<p><u>하며, 부적합 시 개별 정량법으로 확인검 사를 실시한다.</u></p> <p>4. ~ 8. (현행과 같음)</p> <p>9. 미생물시험법</p> <p>가. ~ 나. (현행과 같음)</p> <p>다. 세균수</p> <p>(1) 일반세균수</p> <p>(가) ~ (나) (현행과 같음)</p> <p>(다) 자동화된 최확수법 (Automated MPN)</p> <p>----- ----- -----<u>분유류,</u> <u>소, 돼지, 닭(오리)도체에 한한다.</u></p> <p>라. ~ 마. (현행과 같음)</p> <p>바. 대장균수(Generic <i>E. coli</i>)</p> <p>(1) ~ (2) (현행과 같음)</p> <p>(3) 시험방법</p> <p>(가) ~ (다) (현행과 같음)</p> <p>(라) ----- -----<u>식육추출가공품, 닭 (오리)도체에 한한다.</u></p> <p>사. ~ 러. (현행과 같음)</p> <p>머. 엔테로박터 사카자키</p> <p>[<u><i>Enterobacter sakazakii</i>(<i>Cronobacter</i> <i>spp.</i>)</u>]</p>
--	---

<p>(1) ~ (2) (생 략)</p> <p>(3) 시험방법</p> <p>(가) 증균배양</p> <p>시료 100g을 무균적으로 채취하여 900mL의 멸균증류수에 접종하여 36℃에서 18시간 증균배양한다. 증균배양액 10 mL를 90 mL의 Enterobacteriaceae enrichment broth(EE broth)에 첨가하여 36℃에서 18시간 증균배양한다.</p> <p>(나) ~ (다) (생 략)</p> <p>버. ~ 서. (생 략)</p> <p>10. ~ 16. (생 략)</p> <p>IV. ~ IX. (생 략)</p>	<p>(1) ~ (2) (현행과 같음)</p> <p>(3) 시험방법</p> <p>(가) 증균배양</p> <p>시료 60g을 무균적으로 채취하여 540mL의 멸균증류수에 접종하여 ----- ----- ----- ----- ----- -----.</p> <p>(나) ~ (다) (현행과 같음)</p> <p>버. ~ 서. (현행과 같음)</p> <p>10. ~ 16. (현행과 같음)</p> <p>IV. ~ IX. (현행과 같음)</p>
--	---