

보건사회부 고시 제 90-81호

식품위생법 제 7조 제 1항, 제 9조 제 1항 및 제 10조 제 1항의 규정에 의한 식품등의 기준 및 규격을 다음과 같이 개정 고시한다.

1990. 10.

보 건 사 회 부 장 관

식품 기준 및 규격중 13. 인스턴트식품과 13-1. 클로렐라를 전면 삭제하고 14의 2. 특수영양식품, 14의 2-1. 이유식을 13. 특수영양식품, 13-1. 이유식으로 항목 변경하며, 14. 건강보조식품은 별지와 같이한다.

부 칙

- ① (시행일) 이 고시는 1991. 1. 1부터 시행한다.
- ② (품목제조허가에 관한 경과조치) 이 고시의 고시이전에 건강보조식품으로 품목제조허가를 받은 제품은 1991. 3. 31까지 이 고시기준에 적합하도록 품목제조 변경허가를 받아야 한다.
- ③ (표시기준에 관한 경과조치) 이 고시의 고시이전에 품목제조허가를 받은 제품은 1991. 6. 30까지 종전의 표시기준에 의할 수 있다.

14. 건강보조식품

14-1. 정제어유 가공식품

[1] 뱀장어유

1) 정의

뱀장어의 골수에서 분리정제한 것으로 섭취가 용이하도록 연질캡셀에 충전 가공한 것.

2) 원료의 구비조건

(1) 원료는 품질이 양호하고 변질되지 아니한 것이어야 한다.

(2) 원료는 품질변화를 방지할 수 있는 적절한 방법으로 보관 관리되어야 한다.

3) 제조, 가공기준

(1) 뱀장어골수는 이물질 및 험잡물 등을 충분히 제거한 후에 사용하여야 한다.

(2) 뱀장어골수를 가열하여 추출한 원유는 탈검, 탈산, 탈취공정을 거쳐 위생적으로 처리하여야 한다.

(3) 정제과정중 사용된 추출용제 및 수산화나트륨 등이 최종제품에 잔류하지 않도록 처리하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

(1) 식품첨가물은 식품공전 9. 식용유지 9-1. 콩기름(대두유)에 준한다. 다만, 산화방지의 목적으로는 비타민E에 한한다.

5) 주원료 성분배합기준

백장어유 98% 이상

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준 (1)에 해당하는 때

7) 성분규격

- (1) 색상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.
- (2) 산가 : 1.0 이하
- (3) 과산화물가(meq/kg) : 15 이하
- (4) 요오드가 : 90~110
- (5) 에이코사펜타엔산(%) : 1.0 이상
- (6) 도코사헥사엔산(%) : 2.0 이하
- (7) 봉해시험 : 적합

8) 표시기준

- (1) 백장어유로 표시하여야 한다.
- (2) 에이코사펜타엔산 및 도코사헥사엔산의 함량을 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

- (1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.
- (2) 제품의 품질에 영향을 줄 수 있는 다른 식품, 첨가물 등과는 분리 보관하여야 한다.
- (3) 권장 유통기한 : 2년 이내

10) 시험방법

- (1) 산가 제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 4) 지질
- (3) 화학적시험 ①산가에 따라 시험한다.
- (2) 과산화물가 제 7. 일반시험법 1. 일반

성분시험법 4) 지질 (3) 화학적시험 ⑤과산화물가에 따라 시험한다.

(3) 요오드가

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 4) 지질 (3) 화학적시험 ③요오드가에 따라 시험한다.

(4) 에이코사펜타엔산(EPA)

(5) 도코사헥사엔산(DHA)

(6) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험법에 따라 시험한다.

[2] 에이코사펜타엔산(EPA)함유 식품

1) 정의

에이코사펜타엔산(EPA) 함유 식품이라 함은 식용가능한 어류에서 채취 정제한 EPA 함유 정제어유로서 유상 혹은 페이스트상으로 해서 연질캡셀로 제조한 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

- (1) 원료가 되는 등푸른생선은 품질이 양호하고 변질되지 아니한 것이어야 한다.
- (2) 원료는 품질변화를 방지할 수 있는 적절한 방법으로 보관 관리되어야 한다.

3) 제조, 가공기준

- (1) 등푸른생선은 이물질 및 협잡물 등을 충분히 제거한 후에 사용하여야 한다.
- (2) 등푸른생선을 추출한 원유는 탈검, 탈산, 탈취공정을 거쳐 위생적으로 처리하여야 한다.
- (3) 정제공정중 사용된 추출용제 및 수산화나트륨 등이 최종제품에 잔류하지 않도록 처리하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

(1) 식품첨가물은 식품공전 9. 식용유지 9-1. 콩기름(대두유)에 준한다. 다만, 산화방지 목적으로는 비타민E에 한한다.

5) 주원료 성분배합기준

EPA 함유유지 70% 이상

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준 (1)에 해당하는 때

7) 성분규격

- (1) 색상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.
- (2) 산가 : 1.0 이하
- (3) 과산화물가(meq/kg) : 15 이하
- (4) 에이코사펜타엔산(%) : 12.0 이상 29.0 이하, 1.20~30미만(표시기준 이상)
- (5) 봉해시험 : 적합

8) 표시기준

- (1) EPA 함유 식품으로 표시하여야 한다.
- (2) EPA 함량을 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

- (1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.
- (2) 제품의 품질에 영향을 줄 수 있는 다른 식품, 첨가물 등과는 분리 보관하여야 한다.
- (3) 권장 유통기한 : 2년 이내

10) 시험방법

- (1) 산가 : 제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 4) 지질 (3) 화학적시험 ①산가에 따라 시험한다.
- (2) 과산화물가 : 제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 4) 지질 (3) 화학적시험 ⑤과산화물가에 따라 시험한다.
- (3) 에이코사펜타엔산

1. 가스크로마토그래피에 의한 정량법
가. 시험조작

A. 표준액의 조제

표준품 약 10 mg을 100 ml 환저플라스크에 취해 정확히 칭량한다. 여기에 0.5 N 수산화나트륨-메탄올액 약 4 ml를 가하고 플라스크위에 환류냉각기를 설치하고 5~10분간 수욕상에서

균질한 용액이 얻어질 때까지 가열한다. 그 후 14% 트리플루오로보란메탄올 약 5ml를 환류냉각기로부터 가하고 2분 동안 계속하여 가열한다. 마지막으로 n-헵탄 5 ml를 냉각기 위에서 가하고 1분간 가열한다. 이것을 냉각시킨 후 염화나트륨 포화용액 약 90 ml를 가하고 n-헵탄층을 분리한다. 물로 몇번 n-헵탄용액을 씻어내고, 무수황산나트륨 소량을 가하여 탈수시킨 후 표준액으로 한다.

B. 검액의 조제

검체(표준지방산으로서 10 mg에 상당하는 양)를 100 ml 환저플라스크에 취해 정확히 칭량한다. 여기에 0.5 N 수산화나트륨-메탄올액 약 4 ml를 가하고 플라스크 위에 환류냉각기를 설치하고, 5~10분간 수욕상에서 균질한 용액이 얻어질 때까지 가열한다. 그 후 트리플루오로보란메탄올액 약 5 ml를 환류냉각기로부터 가하고 2분 동안 계속하여 가열한다. 마지막으로 n-헵탄 5 ml를 냉각기 위에서 가하고 1분간 가열한다. 이것을 냉각시킨 후 염화나트륨포화용액 약 90 ml를 가하고 n-헵탄층을 분리한다. 물로 몇번 n-헵탄용액을 씻어내고, 무수황산나트륨 소량을 가하여 탈수시킨 후 시험용액으로 한다.

C. 조작법

검액 및 표준액 각각 1~5 μ씩을 가스크로마토그래프내에 주입하여 구성하고 있는 지방산의 그래프를 얻는다. 이 그래프를 표준그래프와 비교하여 그 지방산에 해당하는 피크를 확인한다. 지방산의 함량은 피크의 높이 또는 면적비교로 %를 계산한다.

○ 가스크로마토그래프 조건

칼럼 : 크로모솔브(AW-DMCS)에 5~20% DEGS(diethylene glycol succinate)로 코팅시켜 3~4 mm×1~m인 글라스 또는 스테인레스스틸관에 충전한 것.

검출기 : FLD(수소염이온화형 검출기)

가스유출속도 : 30~60 ml/min

칼럼온도 : 160~200℃

주입부온도 : 230~240℃

검출기온도 : 240~250℃

(4) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험에 따라 시험한다.

14-2. 로얄제리 가공식품

1) 정의

일벌의 인두선에서 분비되는 분비물을 수집하여 동결건조 또는 그대로의 생로얄제리를 섭취가 용이하도록 분말, 과립, 정제, 캡셀 등으로 가공한 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

(1) 로얄제리는 품질이 양호한 것이어야 한다.

(2) 로얄제리는 품질변화를 방지할 수 있는 냉동 및 기타의 방법으로 보관 관리되어야 한다.

3) 제조, 가공기준

(1) 로얄제리 원료는 신선한 것을 사용하며, 이물질이 충분히 제거된 것이어야 한다.

(2) 생로얄제리는 가공과정중 변질이 오지 않도록 적절한 방법으로 신선도를 유지하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

식품첨가물 공전에 준한다.

5) 주원료 성분배합기준

(1) 동결건조 로얄제리 : 20% 이상(10-HDA 4.0% 이상 함유 로얄제리)

(2) 생로얄제리 : 35% 이상(10-HDA 1.6% 이상 함유 로얄제리)

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준 (1)에 해당하는 때

7) 성분규격

(1) 색상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.

(2) 10-히드록시-2-데센산(10-HDA)(%) :
생로얄제리-0.56 이상
동결건조제품-0.8 이상

(3) 봉해시험 : 적합(정제 및 캡셀제품에 한함)

8) 표시기준

로얄제리 가공식품으로 표시하며 로얄제리 함량을 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

(1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.

(2) 제품의 풍미에 영향을 줄 수 있는 다른 식품, 첨가물 등과는 분리 보관하여야 한다.

(3) 권장 유통기한 : 2년 이내

10) 시험방법

(1) 10-히드록시-2-데센산(액체크로마토그래프법)

1. 검액조제

10-HDA로서 48 mg 해당량에 해당하는 본품 캡셀을 취하여 500 ml 용량 플라스크에 넣고, 물 약 50 ml를 넣어 50℃로 가온하고 진탕 혼합하여 연질캡셀 피막과 내용물을 완전히 균질하게 봉해시키고, 메탄올 약 350 ml를 넣어 약 30분간 초음파 진탕 추출하고 메탄올을 넣어 500 ml로 한다. 이 액을 여과하여 검액으로 한다. 따로 본품 20캡셀 이상을 취하여, 캡셀을 절개하고 개개의 내용물의 무게를 정밀하게 달아 평균무게를 구하여 1캡셀의 평균무게로 한다.

2. 표준액 조제

10-HDA 표준품을 황산데시케이타에서 건조시킨 후 48 mg을 정확히 취하여 500 ml 용량 플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 녹여 500 ml로 하여 표준액으로 한다.

3. 조작법

상기 검액과 표준액을 다음 기기조건에 따라 액체 크로마토그래프법으로 시험한다.

(기기조건)

○칼 램 : μ -Bondapak C₁₈ 또는 이와 유사한 칼람

○이동상 : 0.02 M(NH₄)₂HPO₄·메탄올(7 : 3) 혼합액(단, 인산을 가하여 pH 7.0으로 조정한다).

○검출기 : UV 214 nm

○유 속 : 1.4 ml/min
(유속은 10-HDA 주피이크의 유지시간이 7~10분 되도록 적절히 조정한다).

○감 도 : 0.1 Auf

○주입량 : 10 μ l

○계 산
10-HDA 함량(%)

$$= \frac{\text{검액중의 10-HDA의 피크면적}}{\text{표준액중의 10-HDA의 피크면적}} \times \frac{\text{표준품 취한량(mg)}}{\text{1캡셀의 평균무게(mg)} \times \text{취한캡셀수}} \times 100$$

(2) 방해시험

제 7. 일반시험법 10. 방해시험법에 따라 시험한다.

14-3. 효모식품

1) 정의

효모식품 및 효모엑기스가공식품이라 함은 식용효모의 균체 또는 엑기스를 주원료로 하여 분말, 과립, 정제, 캡셀 등으로 가공한 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

(1) 원료는 품질과 선도가 양호한 것이어야 한다.

3) 제조, 가공기준

(1) 원료를 정선하여 이물질을 제거한 후 적절한 방법으로 살균처리하여야 한다.

(2) 제조에 사용되는 기계 기구류는 이물질 혼입이나 이종미생물 오염을 방지할 수 있도록 세척 및 살균소독하도록 하여야 한다.

(3) 공기와 수분의 흡수를 방지할 수 있고 차광될 수 있는 용기에 밀폐포장하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

식품첨가물공전에 준한다.

5) 주원료 성분배합 기준

(1) 용어의 정의

1. 효모식품 : 효모를 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.

2. 효모엑기스 가공식품 : 효모엑기스를 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.

(2) 성분배합기준

1. 효모식품 : 건조효모 60% 이상 함유식품

2. 효모엑기스 가공식품 : 건조효모로 환산하여 30% 이상

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준 (1)에 해당하는 때

7) 성분규격

(1) 색상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.

(2) 수분(%) : 10.0 이하

(3) 조단백질(%) : 효모식품 20 이상
효모엑기스 가공식품 10 이상

(4) 방해시험 : 적합(정제 및 캡셀제품에 한함)

8) 표시기준

(1) 제품의 유형에 따라 효모식품 및 효모엑기스 가공식품으로 표시하여야 한다.

(2) 효모엑기스 가공식품에 있어서는 건조효모로 환산된 양을 표시하여야 한다.

(3) 효모의 종류에 따라 주원료명 다음에 효모식품으로 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

(1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.

(2) 제품의 취급은 신중히 행하고, 유통중 흡습되지 않도록 포장의 파손에 주의하여야 한다.

(3) 권장 유통기한 : 2년 이내

10) 시험방법

(1) 수분

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 1)수분에 따라 시험한다.

(2) 조단백질

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 3) 질소화합물 (1)총질소 및 조단백질에 따라 시험한다.

(3) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험법에 따라 시험한다.

14-4. 화분가공식품

1) 정의

화분가공식품이라 함은 화분을 껍질 파쇄, 유효성분 추출·농축정제 등의 공정에 의해 얻어진 성분을 주원료로 하여 분말, 과립, 정제, 캡슐, 페이스트 등으로 가공한 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

(1) 원료는 변질되지 아니한 것으로 품질이 양호한 것이어야 한다.

(2) 원료는 꿀벌에 의해 채취된 것이나 또는 기타의 방법으로 채취된 것으로 이물질이 섞여 있지 않는 것이어야 한다.

3) 제조가공기준

(1) 화분원료는 신선한 것을 사용하고 이물질이 충분히 제거되고 껍질이 파괴된 것이어야 한다.

(2) 화분은 가공과정중 변질이 오지 않도록 적절한 방법으로 신선도를 유지하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

식품첨가물공전에 준한다.

5) 주원료 성분배합기준

(1) 용어의 정의

1. 화분가공식품 : 화분을 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.

2. 화분엑기스 가공식품 : 화분엑기스를 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.

(2) 성분배합기준

1. 화분가공식품 : 화분 30% 이상

2. 화분엑기스 가공식품 : 화분엑기스 20% 이상(고형분 50% 이상)

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준 (1)에 해당하는 때

7) 성분규격

(1)성상 : 고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.

(2) 수분(%) : 10.0 이하(페이스트상 제외)

(3) 조단백질(%) : 화분가공식품 : 5.0 이상
화분엑기스 가공식품 : 2.0 이상

(4) 타르색소 : 검출되어서는 아니된다.

(5) 대장균군 : 음성이어야 한다.

(6) 봉해시험 : 적합(정제 및 캡셀제품에 한함)

8) 표시기준

(1) 제품의 유형에 따라 화분가공식품 및 화분엑기스 가공식품으로 표시하여야 한다.

(2) 화분엑기스 가공식품에 있어서는 화분 원료량으로 환산된 량을 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

(1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.

(2) 제품의 취급은 신중히 행하고, 유통중 흡습되지 않도록 포장의 파손에 주의하여야

한다.

(3) 권장 유통기간 : 2년 이내

10) 시험방법

(1) 수분

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 1) 수분에 따라 시험한다.

(2) 조단백질

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 3) 질소화합물 (1) 총질소 및 조단백질에 따라 시험한다.

(3) 타르색소

제 7. 일반시험법 5. 착색료시험법에 따라 시험한다.

(4) 대장균군

제 7. 일반시험법 8. 미생물시험법 5) 대장균군에 따라 시험한다.

(5) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험법에 따라 시험한다.

14-5. 스쿠알렌 식품

1) 정의

상어간을 정제가공하여 얻은 스쿠알렌을 주원료로한 제품으로서 연질캡셀에 충전한 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

(1) 원료가 되는 상어간은 품질이 양호하고 변질되지 아니한 것이어야 한다.

(2) 원료는 품질변화를 방지할 수 있는 적절한 방법으로 보관 관리되어야 한다.

3) 제조, 가공기준

(1) 원료는 이물질 및 협잡물 등을 충분히 제거한 후에 사용하여야 한다.

(2) 상어간을 추출한 원유는 탈검, 탈산, 탈취공정을 거쳐 위생적으로 처리하여야 한다.

(3) 정제공정중 사용된 추출용제 및 수산화나트륨 등이 최종제품에 잔류하지 않도록 처리하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

(1) 식품첨가물은 식품공전 9. 식용유지 9-1. 콩기름(대두유)에 준한다. 다만, 산화방지의 목적으로는 비타민E에 한한다.

5) 주원료 성분배합기준

(1) 용어의 정의

1. 스쿠알렌식품 : 스쿠알렌 98% 이상을 주원료로 하여 연질캡셀로 성형한 것을 말한다.

2. 스쿠알렌가공식품 : 스쿠알렌 60% 이상 98% 미만을 주원료로 하여 연질캡셀로 성형한 것을 말한다.

(2) 성분배합기준

1. 스쿠알렌식품 : 스쿠알렌 98% 이상

2. 스쿠알렌가공식품 : 스쿠알렌 60% 이상 98% 미만

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준 (1)에 해당하는 때

7) 성분규격

(1) 색상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.

(2) 산가 : 1.0 이하

(3) 과산화물가(meq/kg) : 15 이하

(4) 스쿠알렌함량

1. 스쿠알렌식품(%) : 98 이상

2. 스쿠알렌가공식품(%) : 59 이상 98 미만(표시기준 이상)

(5) 봉해시험 : 적합

8) 표시기준

(1) 스쿠알렌 98% 이상 제품은 스쿠알렌식품, 스쿠알렌 60% 이상 98% 미만 제품은 스쿠알렌가공식품으로 표시하여야 한다.

(2) 제품중 스쿠알렌의 함유비율을 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

- (1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.
- (2) 제품의 풍미에 영향을 줄 수 있는 다른 식품, 첨가물 등과는 분리 보관하여야 한다.
- (3) 권장 유통기한: 2년 이내

10) 시험방법

- (1) 산가: 제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 4) 지질 (3) 화학적시험 ① 산가에 따라 시험한다.
- (2) 과산화물가: 제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 4) 지질 (3) 화학적시험 ③ 과산화물가에 따라 시험한다.

(3) 스쿠알렌

1. 시험조작

가. 표준용액: 스쿠알렌 표준품 50 mg을 정밀히 달아 내부표준용액을 넣어 녹이고 정확히 50 ml가 되게 하여 표준용액으로 한다.

나. 내부표준용액: 콜레스테롤 200 mg을 정밀히 달아 클로로포름을 넣어 녹이고, 정확히 200 ml가 되게 하여 내부표준용액으로 한다.

<기기조건>

칼럼: 3.0% Silicon SE-30을 크로모솔브 W(AW/DMCS) 60~80 mesh에 코팅한 것(3 mm×2 m).

검출기: 수소염 이온화 검출기(FID)

시료주입구 온도: 300~310°C

칼럼온도: 260~270°C

검출기온도: 300~310°C

캐리어가스 및 유속: N₂, 30~60 ml/분

다. 시험용액의 조제

50 mg을 정밀히 달아 내부표준용액을 넣어 녹이고 정확히 50 ml가 되게 하여 시험용액으로 한다.

<조 작>

시험용액 및 표준용액을 1~5 μl씩 주입하여 가스크로마토그래피를 시행하고, 피크의 유지시간을 비교하여 정성시험을 행한다. 또한, 내부표준법에 따라 함량을 구한다.

(4) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험법에 따라

시험한다.

14-6. 효소식품

1) 정의

효소식품이라 함은 식용미생물을 배양시킨 후 분말, 페이스트, 과립, 정제, 캡셀 등으로 가공한 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

- (1) 원료는 품질과 선도가 양호한 것이어야 한다.
- (2) 배양에 사용하는 미생물은 안정성이 인정되는 것이어야 한다.

3) 제조 가공기준

(1) 원료를 정선하여 이물질을 제거한 후 적절한 방법으로 살균처리하여야 한다.

(2) 제조에 사용되는 기계 기구류는 이물질 혼입이나 이종미생물 오염을 방지할 수 있도록 세척 및 살균소독하여야 한다.

(3) 종균은 효소생산 능력이 높고 이미, 이취가 없는 순수 분리된 것이어야 한다.

(4) 원료에 접종된 미생물이 잘자라고 다른 미생물의 생육이 억제될 수 있도록 배양온도 및 습도를 철저히 관리하여야 한다.

(5) 미생물에 의해 생성된 효소가 불활성화되지 않도록 가급적 낮은 온도에서 가공처리하여야 한다.

(6) 공기와 수분의 흡수를 방지할 수 있고 차광될 수 있는 용기에 밀폐 포장하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

- (1) 식품첨가물 공전에 준한다.

5) 주원료 성분배합기준

(1) 용어의 정의

1. 곡류효소식품: 곡류를 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.
2. 배아효소식품: 곡물의 배아를 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.
3. 과채류효소식품: 과채류를 주원료로 가

공한 것을 말한다.

4. 기타효소식품 : 곡류, 곡물배아 및 과채류 이외의 식품을 주원료로 하여 가공한 것을 말한다.

(2) 성분배합기준

1. 곡류효소식품 : 곡류 60% 이상
2. 배아효소식품 : 곡물의 배아 40% 이상
3. 과채류효소식품 : 과채류 60% 이상
4. 기타효소식품 : 식물성 원료 60% 이상

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로서 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준에 해당하는 때

(2) 다음에서 정하는 원재료가 기준함량 이상인 때

1. 곡 류 : 각 60% 이상(곡류효소식품)
2. 배 아 : 각 40% 이상(배아효소식품)
3. 과채류 : 각 60% 이상(과채류효소식품)
4. 기 타 : 각 60% 이상(기타효소식품)

7) 성분규격

- (1) 색상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.
- (2) 수분(%) : 10.0 이하
- (3) 조단백질(%) : 10.0 이상
- (4) α-아밀라아제 : 양성이어야 한다.
- (5) 프로테아제 : 양성이어야 한다.
- (6) 봉해시험 : 적합(정제 및 캡셀제품에 한함)

8) 표시기준

(1) 제품의 유형에 따라 곡류효소식품, 배아효소식품, 과채류효소식품 및 기타효소식품으로 구분 표시하여야 한다.

(2) 기타효소식품에 있어서도 주원료명 다음에 효소식품으로 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

- (1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘

한 곳에서 보관 유통하여야 한다.

(2) 제품은 유통중 흡습되지 않도록 포장의 파손 등에 주의하여야 한다.

(3) 권장유통기한 : 1년 이내

10) 시험방법

(1) 수분

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 1) 수분에 따라 시험한다.

(2) 조단백질

제 7. 일반시험법 1. 일반성분시험법 3) 질소화합물 (1) 총질소 및 조단백질에 따라 시험한다.

(3) α-아밀라아제

1. 시약

가. 1% 가용성전분용액 : 가용성전분(최순품) 1g을 물에 녹이고 호화하여 100 ml로 한다.

나. 맥바인(Mclivaine) 완충액(pH 6.0 또는 7.0) : 0.1 N 인산일수소나트륨액 일정량에 0.1 N-구연산액을 넣어 pH 6.0 및 7.0으로 각각 만든다.

다. 0.1% 염화칼슘용액 : 염화칼슘(순품) 1g을 물에 녹여 1l로 한다.

라. 요오드시액 : 요오드 0.2g과 요오드칼륨 2g을 물에 녹여 100 ml로 하고 그 1ml에 1N 염산 1ml를 넣고 물로 100 ml로 한다.

2. 시험

검체 약 1~10g을 달아 물 또는 완충액에 녹여 일정량으로 한 다음 여과하여 검액으로 한다. 1% 가용성전분용액 5 ml에 맥바인완충액(pH 6.0 또는 7.0) 3 ml와 0.1% 염화칼슘용액 1 ml를 넣어 37°로 가온하고 여기에 검액 1 ml를 넣어 잘 흔들어 섞고 37°에서 30분간 방치한 다음, 그 0.2 ml를 요오드시액 10 ml에 넣고 따로 공시험으로 100°에서 30분간 가열하여 활성을 잃은 검액을 위와 같이 조작하여 물을 대조액으로 하여 파장 660 nm에서 흡광도를 측정할 때, 시험용액의 수치는 공시험보다 적어야 한다.

(4) 프로테아제

1. 시약

가. 0.6% 카제인용액 : 카제인(최순품)을 건

조하여 0.6g을 달아 0.1 N 수산화나트륨액 20 ml에 가열하여 녹여서 식힌 다음 0.1 M 인산을 넣어 pH 7.0으로 조정하고, pH 7.0 완충액 20 ml를 넣어 100 ml로 한다.

나. 0.4 M 삼염화초산액 : 삼염화초산(순품) 65.4g을 물에 녹여 1l로 한다.

다. 0.4 M 탄산나트륨액 : 탄산나트륨(순품) 42.5g을 물에 녹여 1l로 한다.

라. 포린시액 : 식품첨가물 공전에 따라 만들어 원액으로 한다.

마. 완충액 : 0.1 M 인산염완충액(pH 6.0 또는 8.0) 또는 0.1 M 초산염완충액(pH 6.0 또는 8.0)

2. 시험

검체 약 1~10g을 달아 물 또는 완충액에 녹여 일정량으로 한 다음 여과하여 검액으로 한다. 0.6% 카제인용액 1ml를 시험관에 넣고 37°의 항온수욕 중에서 가온한 다음 여기에 검액 1ml를 정확히 넣고 잘 흔들어 섞는다. 곧 37°의 항온수욕 중에 넣고 정확히 10분간 작용시킨 다음 여기에 0.4 M 삼염화초산액 2 ml를 넣고 다시 37°에서 25분간 방치한 다음 이것을 여과한다. 여액 1ml를 시험관에 정확히 취하여 0.4 M 탄산나트륨용액 5 ml 및 포린시액(원액을 3배 희석한 액) 17ml를 넣어 잘 흔들어 섞는다. 37°에서 20분간 방치한 다음 발색된 액과 따로 공시험으로 검액 1ml를 정확히 취하여 시험관에 넣고 0.4 M 삼염화초산액 2 ml를 넣어서 혼화한 다음 0.6% 카제인용액 1ml를 넣어 10분 후에 여과한다. 여액 1ml를 취하여 위와 같이 조작한 다음 물을 대조액으로 하여 파장 660 nm에서 흡광도를 측정할 때, 시험용액의 수치는 공시험보다 커야 한다.

(5) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험법에 따라 시험한다.

14-7. 유산균식품

1) 정의

유산균식품이라 함은 유산간균, 유산구균,

비피더스균 등의 식품위생상 안전하고 유익한 식용기능 생균을 배양하여 식품에 혼합한 것을 안정하고 섭취가 용이하도록 분말, 과립, 정제, 캡셀 등으로 만든 것으로 일반 유산균발효식품 및 유산균 발효유, 유산균음료 이외의 것을 말한다.

2) 원료의 구비조건

(1) 유산균은 식품위생상 안전한 것이어야 한다.

(2) 유산균은 상온에서 안정성이 인정되는 것이어야 한다.

3) 제조 가공기준

(1) 원료에 직접 접촉하는 기구류는 부식 등으로 인한 오염이 방지될 수 있는 스텐레스 강이어야 한다.

(2) 배양조는 배지물질 이외의 이물질이 제거한 후 적절한 방법으로 살균처리하여야 한다.

(3) 제조에 사용되는 기계 기구류는 이물질 혼입이나 이종미생물 오염을 방지할 수 있도록 세척 및 살균소독하여야 한다.

(4) 종균은 이미, 이취가 없는 순수 분리된 것이어야 한다.

(5) 원료에 접종된 미생물이 잘 자라고 다른 미생물의 생육이 억제될 수 있도록 배양온도 및 습도를 철저히 관리하여야 한다.

(6) 생균이 사멸하지 않도록 가급적 낮은 온도에서 가공처리하여야 한다.

(7) 공기와 수분의 흡수를 방지할 수 있고 차광될 수 있는 용기에 밀폐포장하여야 한다.

4) 사용할 수 있는 첨가물

(1) 식품첨가물 공전에 준한다.

5) 주원료 성분배합기준

(1) 용어의 정의

가) 유산균 이용식품 : 유산간균 및 유산구균을 이용한 것을 말한다.

나) 비피더스균 이용식품 : 비피더스균을 이용한 것을 말한다.

(2) 성분배합기준

- 가) 유산균 이용식품 : 1×10^7 /g 이상
- 나) 비피더스균 이용식품 : 1×10^7 /g 이상

6) 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준

(1) 제 3. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격중 6. 특정성분을 제품명으로 사용할 수 있는 원재료 배합기준의 2) 공통기준에 해당하는 때

7) 성분규격

- (1) 성상 : 고유의 색택을 가지고 이미, 이취가 없어야 한다.
- (2) 유산균 : 표시기준 이상이어야 한다(10^7 /g 이상).
- (3) 대장균군 : 음성이어야 한다.
- (4) 봉해시험 : 적합(정제 및 캡셀제품에 한함)

8) 표시기준

- (1) 유산균의 종류에 따라 유산균 이용식품 또는 비피더스균 이용식품으로 표시한다.
- (2) 제품에 함유된 균수를 $N \times 10^6$ /g으로 표시하여야 한다.

9) 보존 및 유통기준

- (1) 제품은 직사광선을 받지 아니하는 서늘한 곳에서 보관 유통하여야 한다.
- (2) 제품은 습기로부터 보호할 수 있도록 보관유통하여야 한다.
- (3) 권장 유통기한 : 2년 이내

10) 시험방법

- (1) 유산균수 : 제 7. 일반시험법 8. 미생물 시험법 8) 유산균수에 따라 시험한다.
- (2) 비피더스균수

가) 검체의 채취 및 시험용액의 조제

검체는 성분규격을 판정할 수 있는 양(1g 이상)을 무균적으로 채취하여 생리식염수 또는 10% 탈지분유 회석액으로 100배 회석이 되도록 전부 용해한 후 1평판당 30~300개 집락이 얻어질 수 있게 회석액으로 10배 단계 회석하

여 시험용액으로 사용한다.

나) 배지의 조제

비피더스생균수 측정용 배지는 BL 한천배지를 사용한다. 고압멸균시킨 BL 한천배지를 약 50°C로 냉각시킬 때 소, 말, 양 또는 사람 탈삼유소 혈액을 5% 되도록 첨가시켜 멸균페트리 접시에 20 ml씩 분주하여 편리하게 한 후 배지표면을 건조시켜 사용한다.

※ BL한천배지의 조성

Beef Extract	3g
Liver Extract	5g
Yeast Extract	5g
Proteose peptone	10g
Tryptone	5g
Soypeptone	3g
Soluble Starch	0.5g
Glucose	10g
Dipotassium phosphate	1g
Monopotassium phosphate	1g
Magnesium Sulphate	0.2g
Sodium Chloride	0.01g
Manganese Sulphate	0.006
	74g
L-Cysteine·HCl·H ₂ O	0.5g
Ferrous Sulphate	0.01g
Polysorbate 80(Tween 80)	1g
Agar	15g

위의 성분에 증류를 가하여 1,000 ml로 만들고 가열 용해한 후 pH가 7.2가 되도록 맞춘 다음 15파운드(121°C)로 15분간 고압증기멸균한다.

다) 회석액의 조제

10% 탈지분유 또는 생리식염수를 15파운드(121°C)에서 15분간 멸균하여 사용한다.

라) 배양 및 생균수 측정

① 검체 1g에 10% 탈지분유 회석액 또는 생리식염수를 가하여 100 ml되게 하고, 혼합기에서 혼합하여 균질화한다.

② ①의 검액(10^{-2} 용액) 1 ml에 회석액을 가하여 10 ml되게 하고, 10^{-3} 검액을 만든 후 동일하게 조작하여 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 검

액을 조제한다.

③ 각 회석검액 0.05 ml/씩을 각각 BL한천 배지상에 접종하여 멸균초자봉으로 도포한다.

④ 멸균 페트리접시를 혐기성 상자에 넣고 37℃에서 48~72시간 배양한다. 배양 후 균집락수를 측정하고 회석배수(×20)를 곱하여 검체 g당 생균수를 산출한다.

단, 1평판당 30~300개 집락의 회석검체만 측정한다. 또 집락수가 1평판당 30~300개의 범위에 있는 회석검체가 없는 경우에는 회석배수를 변경하여 재측정한다.

⑤ 배양후 BL한천, 평판상의 균의 성상

ㄱ. *Bifidobacterium longum*

유갈색-황갈색의 반구상으로 용기된 중심부가 적갈색인 직경 약 1.0~2.0 mm의 집락을 형성한다.

ㄴ. *Bifidobacterium bifidum*

유갈색-회색으로 용기된 중심부가 적갈색인 직경 0.5~1.5 mm 정도의 원형집락을 형성한다.

ㄷ. *Bifidobacterium breve*

유백색-유갈색의 반구형으로 중심부가 용기된 직경 1.0~2.0 mm 원형의 집락을 형성한다.

(3) 유산균과 비피더스균의 혼합제품시험

(1)유산균수와 (2)비피더스균의 시험방법에 따라 시험한 후 유산균수와 비피더스균수를 합하여 산출한다.

(4) 대장균군 : 제 7. 일반시험법 8. 미생물 시험법 6) 대장균군에 따라 시험한다.

(5) 봉해시험

제 7. 일반시험법 10. 봉해시험법에 따라 시험한다.

보건사회부 고시 제 90-84호

식품위생법 제7조 제1항 및 제10조 제1항의 규정에 의한 식품 등의 기준 및 규격 중 다음과 같이 개정한다.

1990. 11. 29.

보건사회부장관

식품 등의 기준 및 규격의 제 7. 일반시험법중 14. 축산식품중 잔류물질 시험법란을 별지와 같이 신설한다.

부 칙

이 고시는 고시한 날로 부터 시행한다.

14. 축산식품중 잔류물질 시험법

1. 항생물질

1) 총 칙

(1) 일반사항

① 시험에 사용되는 시약은 그 기준에 적합한 것을 사용한다.

② 시험에 사용되는 기기는 따로 지정된 것을 제외하고 그 통상검사에 사용하는 것을 사용한다.

③ 시험에 사용하는 물, 시약, 시액 및 기구의 필요한 부분은 멸균한 것을 사용한다.

(1) 시험용 기구

① 원통(컵) : 외경 8 ± 1 mm, 내경 6 ± 1 mm, 높이 10 ± 1 mm인 스테인레스틸제

② 디스크 : 직경 10 mm, 펄프디스크(흡수량 0.07~0.08 ml)

③ 페트리접시 : 내경 85 ± 1 mm, 높이 20 mm의 밑면이 평평한 것.

(3) 추출용 완충액

표 1에 따른다.

(4) 배지

① 배지의 종류

배지의 종류는 표 2에 따라 해당하는 배지의 조성을 물에 녹여 1,000 ml로 하고 멸균한 후 규정된 pH로 조정하여 15파운드(121)로 15분간 고압증기 멸균한 것을 이용한다.

② 배지의 조제

㉠ 기층의 조제

페트리접시에 배지 20 ml를 넣어 균일하게 펴서 균힌다.

㉡ 종층의 조제

시험균의 활력을 저해하지 않는 온도로 냉각한 배지에 시험균액을 완전히 섞어 그 4 ml를 기층 배지위에 균일하게 펴서 균힌다.

(5) 시험균 및 균액의 조제

표 3에 따른다.

(6) 상용표준 항생물질 희석액의 조제

(7) 시료

20g을 잘게 썰어 그 10 g을 시료로 한다.

(8) 정량시험법

① 표준곡선의 작성

규정된 기층 및 종층용 배지를 깔아 굳히고 각 농도(표 4에 따라 표준 항생물질 희석액을 고농도에서 저농도 사이의 5단계 농도)의 상용표준액에 대하여 3개의 원통한천평판을 쓴다. 3개의 원통한천평판을 한군으로 하여 각 원통한천평판위에 6개의 원통을 놓고 1개 간격으로 3개의 원통에 각각 상용표준중간희석액을 넣은 후 다른 3개의 원통에 같은 농도의 상용표준액을 넣는다.

이 조작을 각 농도의 표준액마다 한다. 동시에 따로 원통한천평판 3개를 가지고 각 평판위에 6개의 원통을 놓고 3개의 원통에 각각 상용표준희석액을 넣고 다른 3개의 원통에 검액을 넣는다.

각 원통한천평판을 규정된 온도 및 시간에서 배양하여 저지환의 직경을 0.5 mm 이하까지 정확히 측정한다. 각 농도의 상용표준액 각군의 3개 원통한천평판위에 상용표준중간희석액에 대한 저지환의 직경 평균치를 구하고 각 농도의 상용표준액에 대한 저지환의 직경 평균치를 구하고 각 농도의 상용표준액에 대한 저지환의 평균치 및 모든 군의 상용표준중간희석액에 대한 저지환의 직경평균치(이하 보정용 평균치라 한다)를 구한다. 보정용 평균치는 수정에 사용된다.

각 군의 상용표준중간희석액의 평균치가 보정용 평균치와 다를 때는 그 차를 각 군의 상용표준액 평균치에 가감하여 수정한다. 예를 들면 어느 희석농도의 군에 있어서 상용표준액의 평균치가 19.0 mm이고 그 군의 상용표준중간희석액 평균치가 19.8 mm이며 보정용 평균치가 20.0 mm이면 이것을 $19.0 \text{ mm} + (20.0 \text{ mm} - 19.8 \text{ mm})$ 로 수정한다. 이 수정치를 가지고 역가의 대수와 저지환의 직경과의 관계를 나타내는 표준곡선을 세미로그표에 그린다. 다음에 검액에 대한 저지환의 직경평균치와 이에 해당하는 상용표준중간희석액에 대한 저지환의 직경평균치를 구한다.

검액에 대한 저지환의 직경평균치가 상용표

준중간회석액의 평균치보다 클 경우에는 그 차를 표준곡선상의 중심농도를 나타내는 저지환의 직경에 더하고 적을 경우에는 그 차를 빼서 보정한다.

그 지름에 대한 표준곡선상의 점에서 검액에 m/당 역가를 구하며 다음 식에 의하여 표준곡선을 작성한다.

$$L = (3a + 2b + c - e) / 5$$

$$H = (3e + 2d + c - a) / 5$$

L : 표준곡선의 최저농도에 대한 저지환 직경의 계산치

H : 표준곡선의 최고농도에 대한 저지환 직경의 계산치

C : 보정용 평균치

a, b, d, e는 최저농도 상용표준액에 대한 저지환 직경의 수정한 평균치이며 b, d, e의 순서로 보다 고농도의 각 상용표준액에 대한 각각의 저지환 직경의 수정한 평균치 L점과 H점을 세미로그표에 나타내고 직선으로 연결한다.

2) 시험방법

(1) 네오마이신(Neomycin)

- ① 배지
- ㉠ 계대보존 및 증식용 : M-4 배지
- ㉡ 기층 및 종충용 : M-12 배지
- ② 시험균

S-7(*Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228)

③ 시험균액의 조제

M-4 배지에 계대배양한 시험균을 멸균생리식염수 2 ml로 부유하여 M-4 배지 300 ml를 넣어 굳힌 배양병(Roux Bottle)에 멸균 유리구를 이용하여 균일하게 이식한 후 32~35°에서 18~24시간 배양한다. 다시 멸균생리식염수 50 ml로 시험균을 현탁시킨 후 냉장고에 보관한다(1주까지 냉장보관가능). 현탁액은 580 nm에서 투과율이 25%가 되도록 멸균생리식염수로 희석한 후(보통 1 : 25 정도로 희석) 희석액 1.0~2.0 ml를 49°로 보온한 M-12 배지 100 ml에 접종하여 혼화한 것으로 시험균액으로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 10g을 달아 B-4 완충액 40 ml를 넣고 균질화하여 45분 이상 방치한 후 여과하여 그 여액을 시험용액으로 한다.

⑤ 시험방법

3매의 배지위에 각각 6개의 원통을 동심원상에 놓고 1개 간격으로 3개의 원통에는 시험용액과 나머지 3개에는 네오마이신 상용표준회석액을 각각 채워 32~35°에서 16~18시간 배양한다.

⑥ 측정

상용표준회석액에서와 같이 직경 10 mm 이상의 분명한 발육저지환이 나타나면 1) 총칙 (8) 정량시험법에 따른다.

(2) 노보비오신(Novobiocin)

- ① 배지
- ㉠ 계대보존용 : M-1 배지
- ㉡ 증식용 : M-2 배지
- ㉢ 시험용 : M-3 배지(pH 6.5로)
- ② 시험균

S-7(*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228)

③ 시험균액의 조제.

별표 3에 기재된 방법에 따른다. 다만, 시험에 사용하는 균은 M-2 배지에서 3대 이상 계대한 것을 사용하고 시험용 배지의 균농도는 M-3 배지에서 M-2 배지를 2%의 비율로 넣어 조제한다.

④ 시험용액의 조제

시료에 50% 아세톤 수용액 40 ml를 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리한다. 상등액의 일정량을 취하여 흡인 여과하고 여액에 증류수를 넣어 흡인전의 일정량으로 한 것을 시험용액으로 한다.

⑤ 시험방법

1매의 배지위에 시험용액을 충분히 흡착시킨 2매의 디스크를 대각이 되도록 놓고, 또한 노보비오신 상용표준회석액(저농도 0.25 µg/ml(역가), 고농도 1.0 µg/ml)을 충분히 흡착시킨 디스크 2매를 정사각형의 정점이 되도록 놓는다. 각 디스크를 핀셋으로 가볍게 눌러 고착

시키고 4°에서 1±0.5시간 방치한 후 36±1°에서 17±1시간 배양한다.

⑥ 측정

상용표준희석액에서와 같이 직경 12 mm 이상의 분명한 발육저지환이 나타나면 1) 총치(8) 정량시험법에 따른다.

(13) 모넨신(Monensin)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-4 배지

㉡ 기층 및 종충용 : M-13 배지

② 시험균

S-4(*Bacillus subtilis* ATCC 6633)

③ 시험균액의 조제

M-4 배지에서 배양된 시험균을 멸균수 3~5 ml로 부유하여, 0.03% 황산마그네슘용액 3~5 ml가 첨가된 M-4 배지를 넣어 균한 배양병(Roux Bottle)에 이식한 후 37°에서 1주일간 배양한다. 다시 멸균수 약 50 ml로 시험균을 현탁하여 원심분리관에 옮긴 후 65° 수욕에서 30분간 방치하고 원심분리하여 상등액을 버리는 조작을 3회 되풀이 한다.

침전물을 65° 수욕에서 30분간 재방치하고 다시 멸균수 30 ml로 현탁시켜 4~5°에서 보관한다.

현탁액을 530 nm에서 투과율이 20%가 되도록 멸균수로 희석한 후 희석액 0.05~0.1 ml를 54±2°로 보온한 M-13 배지에 접종하여 혼화한 것을 시험균액으로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 20g을 달아 시료 1g당 메탄올 2 ml를 넣어 균질하게 한 후 10~15분간 원심분리한다. 상등액 일정량에 사염화탄소를 30 ml씩 넣어 3회 진탕 추출하고 사염화탄소층을 취해 50~60°에서 감압건고한다. 건고물을 n-헥산 3 ml 및 2 ml를 이용하여 사료병에 옮긴 후 공기를 불어넣어 헥산을 날려 보낸 후 잔류물을 상등액 10 ml당 메탄올 0.05 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험방법

110°에서 30분간 활성화한 실리카겔박충판의 하단으로부터 3 cm의 부위에 시험용액 및

모넨신 표준용액을 각각 20 μ씩 2.5 cm 간격을 두어 찍어 말린 후, 사염화탄소, 벤젠 및 에칠렌글리콜모노메칠에틸(80 : 10 : 6)의 혼합액을 전개 용매로 하여 약 75분간 전개시킨다.

이 박충판을 말린 후, 그 표면에 약 54±2°로 보온한 M-13 배지를 스프레이어와 압축공기를 사용하여 균일하게 분무시킨다. 다시 54±2°로 보온한 시험균액을 37°로 보온한 박충판에 균일하게 퍼서 균한 다음 37°에서 16~18시간 배양한다.

배양 후 박충판에 INT 용액(10% 메탄올 수용액 m/당 2-P-Iodophenyl 1-3-p-nitrophenyl-5-phenyl tetrazolium chloride 2 mg을 녹인 용액)을 스프레이어로 분무하고 약 2~4시간 동안 발색시킨다.

⑥ 측정

표준품의 전개치(Rf치)와 동일한 위치에서 나타나는 저지환의 직경을 측정하여 시료 중 모넨신을 정량한다.

(4) 바시트라신(bacitracin)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-1 배지

㉡ 증식용 : M-2 배지

㉢ 기층용 : M-6 배지

㉣ 종충용 : M-4 배지

② 시험균

S-2(*Micrococcus flavus* ATCC 10240)

③ 시험용액의 조제

시료에 33% 피리딘수용액 17 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 상등액 10 ml에 메탄올 30 ml를 넣어 흔들어 섞고 다시 원심분리한다. 그 상등액을 감압건고하여 이에 5% 인산완충액(pH 6.5) 3 ml를 넣은 후 1 N 수산화나트륨 용액으로 pH 6.5로 조정하여 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

1매의 배지위에 4개의 원통을 정사각형의 정점이 되도록 놓고 대각이 되는 2개의 원통에 시험용액을 채우고 나머지 2개의 원통에는 바시트라신의 상용표준 희석액을 각각 채워 36±1°에서 17±1시간 배양한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(5) 버지니아마이신(Virginiamycin)

① 배지

㉞ 계대보존용 : M-1 배지

㉟ 증식용 : M-2 배지

㊱ 기층 및 종충용 : M-5 배지

② 시험균

S-6(*Corynebacterium xerosis* NCTC 9755)

③ 시험용액의 조제

시료에 메탄올 10 ml를 넣어 3분간 교반하고 즉시 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등액을 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

2매의 디스크에 시험용액을 충분히 적서 1매의 배지위에 대각이 되도록 놓고 또한 버지니아마이신 상용표준희석액을 충분히 적신 디스크 2매를 정사형의 정점이 되도록 놓는다. 각 디스크를 핀셋으로 가볍게 눌러 고착시키고 4°에서 1~2시간 방치한 후 30±1°에서 17±1시간 배양한 후, 다시 36±1°에서 6시간 배양한다.

⑤ 측정

(2) 노보비오신에 따른다.

(6) 살리노마이신(Salinomycin)

① 배지

㉞ 계대보존용 : M-9 배지

㉟ 증식용 : M-10 배지

㊱ 기층 및 종충용 : M-11 배지

② 시험균

S-9(*Bacillus stearothermophilus* var. *B. caldolactis* C-953)

③ 시험용액의 조제

㉞ 추출

시료에 메탄올 20 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등액을 취한다. 다시 메탄올 3 ml를 넣어 원심분리한 후 상등액을 앞의 상등액에 합한다. 이 액에 사염화탄소 80 ml를 넣어 약 10분간 흔들어 섞은 후 사염화탄소층을 취한다. 이 조작을 3회 되풀이하여 사염화탄소층을 합하여 45~45°에

서 감압건고하고, 잔류물을 n-헥산 20 ml로 녹인다.

㉟ 정제

안지름 10 mm의 칼럼에 35~70메쉬의 칼럼크로마토그래프용 실리카겔 3g을 넣고 그 위에 황산나트륨(무수) 2g을 n-헥산에 현탁시켜 넣은 후 충전물의 상단에 소량의 n-헥산이 남을 정도까지 흘려버린다. 이 칼럼에 위의 추출액을 넣고 0.6 ml분의 속도로 클로로포름 100 ml로 씻은 후 클로로포름 및 메탄올(95 : 5)의 혼합액 30 ml로 유출시켜 40~45°에서 감압건고하고, 잔류물을 90% 메탄올 20 ml로 녹인다.

안지름 10 mm의 칼럼에 200~300메쉬의 활성알루미나 5g을 90% 메탄올에 현탁시켜 넣은 후 충전물의 상단에 소량의 90% 메탄올이 남을 정도까지 흘려버린다. 이 칼럼에 위의 액 20 ml를 넣고 90% 메탄올 20 ml를 넣어 유출액을 받은 후 40~45°에서 감압건고하여 잔류물을 메탄올 1.6 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험방법

2매의 디스크에 시험용액을 충분히 적서 1매의 배지위에 대각이 되도록 놓고 다시 살리노마이신 상용표준희석액(저농도 5 µg/ml(역가) 및 고농도 20 µg(역가))을 충분히 적신 디스크 2매를 정사각형의 정점이 되도록 놓고 각 디스크를 핀셋으로 가볍게 눌러 고착시키고 4°에서 1~2시간 방치한 후 55±1°에서 17±1시간 배양한다.

⑥ 측정

(2) 노보비오신에 따른다.

(7) 스트렙토마이신(Streptomycin)

① 배지

㉞ 계대보존 및 증식용 : M-1 배지

㉟ 기층용 : M-6 배지

㊱ 종충용 : M-4 배지

② 시험균

S-4(*Bacillus subtilis* ATCC 6633)

③ 시험용액의 조제

시료에 B-8 완충액 40 ml를 넣어 호모게나

이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등액을 10 N 수산화나트륨용액으로 pH 8.5로 조정하고 다시 원심분리하여 그 상등액을 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에서와 같이 시험한다. 다만, 사용표준 회석액은 스트렙토마이신을 사용하고 배양조건을 $36 \pm 1^\circ$ 에서 17 ± 1 시간으로 한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(8) 스피라마이신(Spiramycin)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-1 배지

㉡ 증식용 : M-2 배지

㉢ 기층 및 종충용 : M-8 배지

② 시험균

S-3(Micrococcus luteus ATCC 9341)

③ 시험용액의 조제

시료를 호모게나이저로 균질하게 한 후 B-5 완충액 80 ml를 넣어 20분간 진탕한 후 원심분리하여 상등액 50 ml를 감압농축하여 15 ml로 하고 분액깔대기에 취해 디클로로에탄 20, 15 및 15 ml로 3회 추출한다. 디클로로에탄층을 합하여 2.5 ml로 감압농축한 후 이를 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에 따른다. 다만, 사용표준 회석액은 스피라마이신을 사용하고 배양조건은 $30 \pm 1^\circ$ 에서 20 ± 1 시간으로 한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(9) 암피실린(Ampicillin)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-9 배지

㉡ 증식용 : M-10 배지

㉢ 기층 및 종충용 : M-11 배지

② 시험균

S-9(Bacillus stearothermophilus var. B. calidolactis C-953)

③ 시험용액의 조제

시료에 B-6 완충액 40 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등

액을 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

(6) 살리노마이신에 따른다. 다만, 사용표준 회석액은 암피실린[저농도 $2.5 \mu\text{g/ml}$ (역가) 및 고농도 $10 \mu\text{g/ml}$ (역가)]에서 사용한다.

⑤ 측정

(2) 노보비오신에 따른다.

(10) 에리스로마이신(Erythromycin)

① 배지

㉠ 계대보존 및 증식용 : M-4 배지

㉡ 기층 및 종충용 : M-12 배지

② 시험균

S-3(Micrococcus luteus ATCC 9341)

③ 시험용액의 조제

M-4 배지에 2주간격으로 계대배양한 시험균을 M-4 배지에 두텁게 도말하여 $32 \sim 35^\circ$ 에서 18~24시간 배양한 다음, (1) 네오마이신에 따라 시험용액을 만든다. 다만, 회석액의 양은 0.1~0.5 ml로 하고 냉장보관하여 2주 이내에 사용한다.

④ 시험용액의 조제

(1) 네오마이신에 따른다.

⑤ 시험방법

(1) 네오마이신에 따른다. 다만, 사용표준 회석액은 에리스로마이신을 사용하고 배양조건은 30° 에서 16~18시간으로 한다.

⑥ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(11) 옥시테트라사이클린(Oxytetracycline)

① 배지

㉠ 계대보존 및 증식용 : M-1 배지

㉡ 기층 및 종충용 : M-6 배지

② 시험균

S-1(Bacillus coreus var. mycoides ATCC 11778)

③ 시험용액의 조제

시료에 B-1 완충액 20 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등액을 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에 따른다. 다만, 사용표준 회석액은 옥시테트라사이클린을 사용하고 배

양조건은 $30 \pm 1^\circ$ 에서 17 ± 1 시간으로 한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(12) 올레안도마이신(Oleandomycin)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-1 배지

㉡ 증식용 : M-2 배지

㉢ 기층 및 종충용 : M-4 배지

② 시험균

S-3(*Micrococcus luteus* ATCC 9341)

③ 시험균액의 조제

시료에 B-3 완충액 10 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등액을 시험용액을 한다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에 따른다. 다만, 상용표준 회석액은 올레안도마이신을 사용하고 배양조건은 $26 \pm 1^\circ$ 에서 17 ± 1 시간으로 한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(13) 클로람페니콜(Chloramphenicol)

① 배지

㉠ 계대보존, 기층 및 종충용 : M-1 배지

㉡ 증식용 : M-2 배지

② 시험균

S-8(*Escherichia coli* NIHJ)

③ 시험용액의 조제

시료에 초산에칠 40 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 초산에칠을 취하고 침전물은 초산에칠 20 ml로 2회 씻는다. 초산에칠층을 합하여 감압건조하고 잔류물에 B-6 완충액 10 ml를 넣어 약간 가운하면서 혼합하여 냉각한 후 n-헥산 5 ml를 넣어 진탕한다. 하층을 원심분리, 여과 또는 정치하여 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에 따른다. 다만, 상용표준 회석액은 클로람페니콜을 사용하고 배양조건은 $36 \pm 1^\circ$ 에서 17 ± 1 시간으로 한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(14) 클로르테트라사이클린(Chlortetracycline)

line)

① 배지

㉠ 계대보존 및 증식용 : M-1 배지

㉡ 기층 및 종충용 : M-6 배지

② 시험균

S-1(*Bacillus cereus* var. *mycoides* ATCC 11778)

③ 시험용액의 조제

(11) 옥시테트라사이클린에 따른다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에 따른다. 다만, 상용표준 회석액은 클로르테트라사이클린을 사용한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(15) 타일로신(Tylosine)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-1 배지

㉡ 증식용 : M-2 배지

㉢ 기층 및 종충용 : M-4 배지

② 시험균

S-3(*Micrococcus luteus* ATCC 9341)

③ 시험용액의 조제

시료에 증류수 10 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 염산으로 pH 4.5로 조정하여 원심분리한다. 그 상등액을 수산화나트륨 용액으로 pH 8.0으로 조정하여 시험용액으로 한다.

④ 시험방법

(4) 바시트라신에 따른다. 다만, 상용표준 회석액은 타일로신을 사용한다.

⑤ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(16) 페니실린(Penicillin)

① 배지

㉠ 계대보존 증식 및 기층용 M-4 배지

㉡ 종충용 : M-6 배지

② 시험균

S-3(*Micrococcus luteus* ATCC 9341)

③ 시험용액의 조제

(10) 에리스도마이신에 따른다. 다만, 회석액의 양은 0.1~1.0 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

(1) 네오마이신에 따른다. 다만, 추출액은

B-7 완충액을 사용한다.

⑤ 시험방법

(1) 네오마이신에 따른다. 다만, 상용표준 회색액은 페니실린을 사용하고, 배양조건은 30°에서 16~18시간으로 한다.

⑥ 측정

(1) 네오마이신에 따른다.

(17) 하이그로마이신 B(Hygomycin)

① 배지

㉠ 계대보존용 : M-1 배지

㉡ 증식용 : M-2 배지

㉢ 기층 및 종충용 : M-7 배지

② 시험균

S-5(*Pseudomonas syringae* ATCC 12885)

③ 시험용액의 조제

시료에 증류수 10 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 Steamcabinet 중에 넣어 10 분간 증기 가열한다. 식힌 후 40% 수산화나트륨용액으로 pH 8.5~9.0으로 조정하고 다시 호모게나이저로 균질하게 한 후 원심분리하여 그 상등액을 6N 염산을 넣어 pH 7.0으로 조정하여 시험용액으로 한다.

⑤ 시험방법

(5) 버지니아마이신에 따른다. 다만, 상용표준회색액은 하이그로마이신 B를 사용하고, 배양조건은 4°에서 1~2시간 방치한 후 36±1°에서 6시간 배양하고 다시 32±1°에서 17±1 시간 배양한다.

⑤ 판정

(2) 노보비오신에 따른다.

표 3. 시험균 및 균액의 조제

1) 시험균

기호	시 험 균
S-1	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i> (ATCC 11778)
S-2	<i>Micrococcus flavus</i> (ATCC 10240)
S-3	<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)
S-4	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)
S-5	<i>Pseudomonas syringae</i> (ATCC 12885)
S-6	<i>Corynebacterium xerosis</i> (NCTC 9755)
S-7	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)
S-8	<i>Escherichia coli</i> (NIHJ)
S-9	<i>Bacillus stearothermophilus</i> var. <i>B. calidolactis</i> C-953

2) 균액의 조제

다로 규정한 경우를 제외하고는 다음의 방법에 따라 균액 또는 포자액을 조제한다. 균액 또는 포자액의 종충용 한천배지에 넣는 양은 필요한 경우 배양용 액체배지, 물 또는 생리 식염수에 희석하고 상용표준 저농도 회색액을 사용하여 저지환의 직경이 원통에서는 10 mm 디스크에서는 12 mm 이상이 되도록 균량을 조정하여 종충용 한천배지에 넣는다.

(1) S-1, S-4 포자액의 조제

M-1 배지에 약 2주(S-4는 약 3개월) 간격으로 이식을 반복한 시험균을 M-1 배지에서 25±28°(S-4는 32~37°)에서 1주간 배양하여

표 1. 추출용 완충액

기호	조성 및 조제법	pH
B-1	인산이수소칼륨 13.6g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다.	4.5±0.1
B-2	인산이수소칼륨 13.3g을 물 900 ml에 녹인 액 및 수산화칼륨 6.2g을 물 100 ml에 녹인 액을 합한다.	8.0±0.1
B-3	인산이수소칼륨 0.523g 및 인산일수소칼륨 16.73g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다.	7.9±0.1
B-4	인산이수소칼륨 33.46g 및 인산일수소칼륨 1.046g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다.	8.0±0.1
B-5	인산 3.92g, 초산 2.4g 및 붕산 2.48g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다. 이 액 40 ml에 0.2 N 수산화나트륨용액 28 ml를 넣어 혼합하고 그 30 ml에 메탄올 70 ml를 넣어 혼합한다.	9.2
B-6	인산이수소칼륨 7.0g을 물 500 ml에 녹인 액 및 인산일수소나트륨 6.0g을 물 500 ml에 녹인 액을 합한다.	6.0±0.1
B-7	인산이수소칼륨 8.0g 및 인산일수소칼륨 2.0을 물에 녹여 1,000 ml로 한다.	6.0±0.05
B-8	인산이수소칼륨 0.523g 및 인산일수소칼륨 16.73g을 물에 녹여 1,000 ml로 하고 농황산 pH를 1.5로 조정한다.	1.5

(1,000 ml 중)

표 2. 배 지

배지 조성(g)	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	M-6	M-7	M-8	M-9	M-10	M-11	M-12	M-13
펩톤	10.0	10.0	6.0	6.0	10.0	6.0	6.0	5.0	5.0	-	-	6.0(gelsate) 4.0(trypticase)	-
육액기스	5.0	5.0	1.5	1.5	3.0	1.5	1.5	1.5	1.0	-	-	1.5	-
염화나트륨	2.5	2.5	-	-	5.0	-	-	3.5	5.0	-	-	-	-
효모엑기스	-	-	3.0	3.0	-	3.0	6.0	1.5	2.0	10.0	2.5	3.0	2.5
포도당	-	-	1.0	1.0	-	-	-	-	-	0.5	1.0	1.0	10.0
소화카제인	-	-	-	4.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
인산일수소칼륨 ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.69
인산이수소칼륨	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.45
트립톤	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.0	5.0	-	-
N-2 캐-즈	-	-	-	-	-	-	4.0	-	-	-	-	-	-
한천	15.0	-	15.0	15.0	15.0	15.0	20.0	17.5	15.0	-	15.0	15.0	6.0
평균 후의 pH	6.5±0.1	7.0±0.1	8.0±0.1	6.55±0.05	6.7±0.1	6.55±0.05	-	8.3	7.4±0.1	8.0±0.1	7.0±0.1	-	-
			단, 페니실린의 경우 6.55±0.05	단, 올레안도마이신의 경우 7.9±0.1, 스트렙토마이신의 경우 8.0±0.1, 타일로신의 경우 8.5±0.05		단, 옥시테트라싸이클린, 클로르테트라사이클린의 경우 5.8±0.1, 스트렙토마이신의 경우 8.0±0.1							

포자를 만들고 실온에서 1주간 방치한 다음 포자를 생리식염수(S-4는 증류수) 200~300 ml에 현탁시켜 65°에서 30분간 가열하여 포자를 취한다.

포자액을 50~100 ml의 생리식염수(S-4는 증류수)로 3회 세척한 후 다시 생리식염수(S-4는 증류수) 적당량에 현탁시켜 65°에서 30분간 가열하여 포자액으로 한다(5~15° 보존).

(2) S-2, S-5, S-6, S-7, S-8 균액의 조제

M-1 배지에 약 1주간격으로 이식을 반복한 시험균을 M-2 배지에 접종하여 32~37°(S-5는 25~28°)에서 16~18시간(S-6는 진탕배양 3~4시간) 배양한 균액을 사용한다(5° 이하 보존, 7일 이내 사용).

(3) S-3 균액의 조제

M-1 배지에 약 1주간격으로 이식을 반복한 시험균을 M-2 배지에 접종하여 32~37°에서

16~24시간 배양(필요시 진탕배양)한 균액 또는 M-1 배지의 표면에 접종하여 32~37°에서 16~24시간 배양하여 발육한 균을 적당량의 생리식염수 또는 증류수의 현탁액으로 만들어 균액으로 사용한다(5° 이하 보존, 7일 이내 사용).

(4) S-9 균액의 조제

M-9 배지에 약 3개월 간격으로 재대보존한 시험균을 M-10배지에 이식하여 55±1°에서 17±1시간으로 배양한 것을 균액으로 한다.

2. 합성항균제

(1) 나이카바진(Nicarbazin)

① 정량법의 원리

시료를 아세토리트리드로 추출하여 아세토니트릴·n-헥산 분배를 한 후 아세토니트릴을

표 4. 표준 항생물질 용해 및 희석액과 최종 농도

(농도는 이가임)

항 생 물 질	채취량 (mg)	용해용 용액	농 도 (µg/ml)	희석용 용 액	최종농도(µg/ml)	
					고농도 (저희석)	저농도 (고희석)
네오마이신	20	B-4	1,000	B-4	4.0	0.125
노보비오신	20	B-2	1,000	B-2	1.0	0.25
모넨신	50	메탄올	1,000	메탄올	—	0.03
바시트라신	30	B-6	2,380(100IU)	B-6	14.28(0.6IU)	3.57(0.15IU)
버지니아마이신	20	메탄올 10 ml, 0.05 M 인산염완충액	1,000	0.05 M, 인산염완충액	0.2	0.05
살리노마이신	8	메탄올	400		20.0	5.0
스트렙토마이신	20	0.05 M, 인산염완충액	1,000	B-2	1.0	0.25
스피라마이신	20	메탄올 2 ml, B-2	1,000	B-2	0.4	0.1
엠펜실린	20	B-6	1,000	B-6	10.0	0.25
에리스로마이신	30~50	메탄올 2 ml, B-4	1,000	B-4	0.8	0.05
옥시테트라	25	희염산(1→1000)	1,000	B-1	0.4	0.1
싸이크린						
올레안도마이신	20	메탄올 2 ml, B-2	1,000	B-2	0.5	0.1
클로람페니콜	20	메탄올 2 ml, B-6	1,000	B-6	5.0	1.25
클로르테트라	25	물	1,000	B-1	0.1	0.025
싸이크린						
타일로신	20	메탄올 2 ml, B-2	1,000	B-2	0.8	0.2
페니실린	10	B-6	600(1,000IU)	B-7	0.12(0.21IU)	0.0075(0.0125IU)
하이그로	10	B-2	1,000	B-2	1.2	0.3
마이신B						

감압건고하고 알루미늄 칼럼으로 정제한 후 메탄올 및 클로로포름(1:9)의 혼합액으로 용출하여 액체크로마토그래피로 측정한다.

② 측정기기

액체, 크로마토그래프

③ 시약, 시액

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 알루미늄 : 알루미늄 90, 활성형, 염기성 활성도 1, pH 10.0~10.5(pH의 측정 : 본품 10g을 달아 물 100 ml를 넣어 2분간 격렬히 흔든 후 알루미늄이 침전할 때까지 정치하고, 상층을 취해 pH를 측정한다).

㉢ 나리카바진 표준원액 : 나리카바진 표준품 10 mg을 정밀히 달아 아세트니트릴에 녹여 100 ml로 한다.

㉣ 나리카바진 표준용액 : 나리카바진 표준원액을 메탄올 및 아세트니트릴(7:3)의 혼합액으로 희석하여 각각의 농도를 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 µg/ml의 용액을 만든다.

④ 시험용액의 조제

㉠ 추출

시료 10g을 달아 아세트니트릴 100 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,000~3,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 분액깔대기에 취한다. 잔류물은 아세트니트릴 50 ml로 앞의 조작을 되풀이 한 후 상등액을 앞의 본액깔대기에 합한다.

이 액에 아세트니트릴 포화 n-헥산 75 ml를 넣어 10분간 진탕한 후 하층을 분액깔대기에 취한다. 이에 아세트니트릴 포화 n-헥산 10 ml를 넣고 위의 조작을 되풀이하여 하층을 감압건고한 후 잔류물을 클로로포름 5 ml로 녹인다.

㉡ 정제

내경 10 mm, 길이 200 mm의 칼럼에 알루미늄 5g을 클로로포름 약 25 ml에 현탁시켜 2 ml분 속도로 흘러버리고 클로로포름 30 ml로 충전물의 상단에 소량의 클로로포름이 남을 때까지 씻는다. 이 칼럼에 위의 추출액을 넣어 흘러버리고 다시 클로로포름 5 ml씩으로 수기를 2회 씻어 칼럼에 흘러버린 후 다시 클로

로포름 150 ml를 넣어 씻는다.

계속해서 위의 칼럼에 메탄올 및 클로로포름(1:9)의 혼합액 25 ml를 용출시켜 이 액을 감압건고한 후 잔류물을 메탄올 및 아세트니트릴(7:3)의 혼합액 1 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉠ 액체크로마토그래프의 측정조건

㉡ 칼럼 : Fine Gel 110, 4.6 mm i.d.x 250 mm

㉢ 이동상용매 : 메탄올 및 아세트니트릴(7:3)의 혼합액

㉣ 측정파장 : 340 nm

㉤ 정량시험

시험용액 및 표준용액 30 µl를 위의 조건에 따라 액체 크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 나리카바진의 함량을 구한다.

(2) 니트로빈(Nitrovin)

① 정량법의 원리

시료를 초산에칠로 추출, 농축하여 희염산 용액에 녹이고 에텔로 씻은 후 물층을 알칼리성으로 하여 에텔로 추출한다. 추출액을 감압 농축하여 잔류물을 초산에칠 및 에텔혼합액에 녹여 박층크로마토그래프-덴시토메타로 측정한다.

② 측정기기

덴시토메타

③ 시약, 시액

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 박층판 : 실리카겔 60(두께 0.25 mm)을 120°에서 1시간 활성화한다.

㉢ 인산염완충액(pH 6.8) : 인산이수소나트륨($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 15.6g을 물 400 ml에 녹이고 이에 20% 수산화나트륨 용액을 넣어 pH 6.8로 조정된 후 물을 넣어 500 ml로 한다.

㉣ 기타시약 : 최순품

㉤ 니트로빈표준원액 : 니트로빈 100 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 50 ml로 한다.

㉓ 니트로빈표준용액 : 니트로빈표준원액을 초산에칠 및 메탄올(10 : 1)의 혼합액으로 희석하여 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 및 5.0 µg/ml의 용액을 만든다.

④ 시험용액의 조제

시료 2g을 달아 초산에칠 10 ml 및 인산염 완충액 5 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 7 ml를 취해 인산염완충액 2 ml를 넣어 진탕한다. 다시 원심분리한 후 상등액 5 ml를 취해 실온에서 공기를 통하여 건고시킨다.

잔류물은 에텔 1 ml에 용해하여 0.1 N 염산 3 ml를 넣어 2분간 진탕한 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리한다. 상층액은 버리고 물층에 다시 에텔 1 ml를 넣어 위의 조작을 되풀이한다. 물층에 에텔 3 ml, 탄산수소나트륨 80 mg을 넣어 가스발생이 멈춘 후 2분간 진탕하여 에텔층을 취한다. 물층에 다시 에텔 2.5 ml를 넣어 진탕한 후 에텔층을 취하여 위의 에텔층에 합한다. 에텔층은 공기를 통하여 건고시킨 후 잔류물을 초산에칠 및 메탄올(10 : 1)의 혼합액 50 µl에 용해하여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험방법

㉑ 측정조건

㉒ 광원 : 텅스텐램프

㉓ 측정파장 : 400 nm

㉔ 슬릿 : 1×3 mm

㉕ 정량시험

박층판에 시험용액 및 표준용액을 각각 20 µl씩 찍고 말린 후 초산에칠 및 메탄올(100 : 4)의 혼합액을 전기용매로 하여 약 10 cm 전개시킨다.

전개가 끝나면 박층판을 말리고 위의 측정 조건에 따라 덴시토메타로 측정한 후 검량선을 작성하여 시료 중 니트로빈의 함량을 구한다.

(3) 데코퀴네이트(Decoquinat)

① 정량법의 원리

시료에 메탄올 및 클로로포름 혼합액을 넣어 호모게나이저로 균질하게 하고 초음파 추출한 후 메타인산을 넣어 클로로포름으로 추출한다. 후로리실 칼럼을 사용하여 정제한 후 염화칼

슘-메탄올 혼합액으로 용출시켜 형광광도계로 측정한다.

② 측정기기

형광광도계

③ 시약

㉑ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉒ 용출용 용액 : 염화칼슘(무수) 10g을 재증류한 후 메탄올에 녹여 1,000 ml로 하고 24 시간 방치한 후 여과하여 사용한다.

㉓ 5% 메타인산용액 : 메타인산 50g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다. 이 액은 냉장보관하여 사용한다.

㉔ 후로리실(Florisil) : 60~100 mesh의 칼럼크로마토그래프용

㉕ 기타시약 : 최순품

㉖ 데코퀴네이트 표준원액 : 데코퀴네이트 표준품 20 mg을 정밀히 달아 클로로포름에 녹여 100 ml로 한다.

㉗ 데코퀴네이트표준용액 : 데코퀴네이트 표준원액 5 ml를 취해 클로로포름을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

㉑ 추출

시료 20g을 달아 황산나트륨(무수) 20g과 메탄올 및 클로로포름(4 : 1)의 혼합액 40 ml를 넣어 호모게나이저로 1분간 균질하게 한 후 원심분리하여 상등액을 취한다. 잔류물에 메탄올 및 클로로포름(4 : 1)의 혼합액 적당량으로 위의 조작을 되풀이하여 상등액을 위의 상등액에 합해 메탄올 및 클로로포름(4 : 1)의 혼합액을 넣어 100 ml로 한다. 약 10분간 초음파 진탕한 후 약 2,000 rpm에서 원심분리하여 상등액 50 ml를 분액깔대기에 취해 5% 메타인산용액 100 ml를 넣어 가볍게 흔들고 10분간 정지하여 클로로포름층을 취한다. 다시 분액깔대기에 클로로포름 10 ml를 넣어 위의 조작을 되풀이하여 클로로포름층을 취한다. 클로로포름층을 합하고 메탄올 2 ml를 넣어 클로로포름으로 전량을 25 ml로 한다.

㉒ 정제

안지름 7 mm, 길이 300 mm의 칼럼에 후로리실 4g을 클로로포름에 현탁시켜 넣고 칼럼의

상단에 소량의 클로로포름이 남을 때까지 흘러보낸다.

이 칼럼에 위의 추출액 25 ml를 넣고 메탄올 10 ml를 넣어 씻은 후 용출용 용액을 넣어 용출액 15 ml를 취해 이를 시험용액으로 한다.

- ⑤ 시험조작
 - ㉠ 형광광도계의 측정조건
 - ㉠ 여기파장 : 270 nm
 - ㉡ 측정파장 : 360, 380, 400 nm
- ② 정량시험

시료 20g씩을 4개 달아 그 중 3개에 데코퀴네이트 표준용액을 각각 0.2, 0.4 및 0.8 ml를 넣고 ④ 시험용액의 조제에 따라 조작한 후 형광강도를 측정하여 아래 식에 의해 각각의 시험용액의 I치를 구하고 검량선을 작성하여 시료 중 데코퀴네이트의 함량을 구한다.

$$I = I_{380} - (I_{360} + I_{400})/2$$

(4) 설파디메톡신(Sulfadimethoxine)

① 정량법의 원리

시료를 아세트니트릴로 추출하여 농축한 후 초산에틸로 추출하여 감압건고한다. 잔류물을 아세톤에 녹여 디아조메탄시액으로 메틸화하여 가스크로마토그래프로 측정한다.

② 측정기기

가스크로마토그래프 : 전자포획 검출기(GC-ECD)

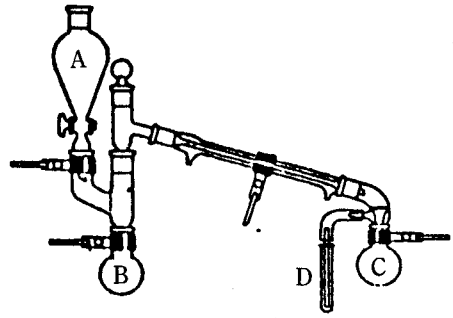
③ 시약, 시액

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 실리카겔 : 100~200 mesh의 칼럼 크로마토그래프용 실리카겔을 140°에서 3시간 활성화한 후 데시케이터 중에 식힌다.

㉢ 디아조메탄 시액 : 60% 수산화칼륨용액 10 ml, 에탄올 35 ml 및 에틸 10 ml의 혼합액을 넣은 플라스크(B)를 70°의 수욕상에 놓고, 플라스크(B)에 부착된 분액깔대기(A)에서 N-메틸-N-니트로소-P-톨루엔 설펜 아마이드(Diazald[®]) 21.5g을 140 ml의 에틸에 녹인 용액을 천천히 떨어뜨려 발생하는 디아조메탄을 에틸과 같이 증류한다.

수기 C 및 D 주위에는 얼음으로 채워 냉각시켜 두며 수기 D에는 에틸 10 ml를 넣어



디아조메탄 발생장치

C에서 발생하는 가스상의 디아조메탄을 포집시켜 C 및 D의 유액을 합하여 70°의 수욕상에서 재증류한 유액을 디아조메탄시액으로 한다(냉장보관시 1개월 사용, 위의 조작은 반드시 후드 중에서 실시하여야 한다).

㉣ 기타 시약 : 최순품

㉤ 설파디메톡신 표준원액 : 설파디메톡신 5 mg을 50 ml의 갈색플라스크에 정밀히 달아 디메틸 포름아마이드 0.5 ml에 녹인 후 아세톤을 넣어 50 ml로 한다.

㉥ 설파디메톡신 표준용액 : 설파디메톡신 표준원액 1 ml를 갈색플라스크에 취해 아세톤을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 50g을 달아 유발에서 마쇄하여 황산나트륨(무수) 250g을 넣고 다시 마쇄하여 균일하게 한다.

안지름 38 mm, 길이 350 mm의 칼럼에 실리카겔 4g을 넣고 균일하게 한 시료를 칼럼에 넣는다. 그 위에 황산나트륨(무수) 10g을 넣고 10 ml/분의 속도로 석유 에틸 200 ml를 흘린 후 칼럼에 남아있는 용매는 흡인하여 건조상태로 한다. 이 칼럼에 아세트니트릴 400 ml를 10 ml/분의 속도로 용출시켜 용출액을 45°에서 감압건고한다. 잔류물을 0.1 N 수산화나트륨용액 50 ml로 녹이고 1 M 인산이수소칼륨용액 5 ml를 넣고 0.1 N 염산으로 약 pH 8.0으로 조정한다. 이 액에 염화나트륨 5g을 넣어 녹이고 여과한 후 여액을 분액깔대기에 옮겨 클로로포름 50 ml를 넣어 진탕하고 클로로포름층을 취한다. 다시 이 액에 염화나트륨 20g 및

초산에칠 50 ml를 넣어 위와 똑같이 조작한 후 초산에칠층을 취하여 위의 클로로포름층과 합한다.

황산나트륨(무수)을 넣어 탈수한 후 45°에서 감압건고하고 잔류물은 아세톤 5 ml를 넣어 녹인다. 이 액 0.2 ml를 취해 디아조메탄 시액 5 ml를 넣어 실온에서 30분간 방치한 후 감압건고하고 잔류물을 아세톤 0.2 ml에 녹여 이를 시험용액으로 한다.

(5) 시험조작

㉞ 가스크로마토그래프의 측정조건

㉠ 칼럼 충전제

㉡ 고정상담체 : 크로모솔브 W(AW-DMCS)

60~12 mesh

㉢ 고정상액체 : 5% SE-30

㉣ 칼럼 : 안지름 3 mm, 길이 2 m의 유리관

㉤ 검출기온도 : 290°

㉥ 칼럼온도 : 280°

㉦ 캐리어 개스 및 유량 : N₂, 30~50 ml/min

㉧ 정량시험

설파디메톡신 표준용액 0.1, 0.2, 0.3 및 0.4 ml를 각각 취해 질소가스를 통하여 용매를 날려버린다. 각 잔류물을 아세톤 0.2 ml로 녹여 디아조메탄 시액 2 ml씩을 넣고 실온에서 30분간 방치시킨 후 감압건고한다. 잔류물을 아세톤 1 ml로 녹인 액 및 시험용액 2 μl를 위의 조건에 따라 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 설파디메톡신의 함량을 구한다.

(5) 설파메라진(Sulfamerazine)

① 정량법의 원리

시료를 아세토니트릴로 추출하여 농축한 후 다시 초산에칠로 추출한다. 이 액을 감압건고하여 잔류물을 아세톤으로 녹인 후 디아조메탄시액으로 메칠화하여 가스크로마토그래프로 측정한다.

② 분석기기

가스크로마토그래프 : 전자 포획 검출기(GC-ECD)

③ 시약, 시액

㉞ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉠ 실리카겔 : 100~200 mesh의 칼럼크로마토그래프용 실리카겔을 140°에서 3시간 활성화한 후 데시케이터 중에서 식힌다.

㉡ 1 M 인산칼륨용액 : 인산이수소칼륨 136 g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다.

㉢ 디아조메탄시액 : (4) 설파디메톡신의 ③㉠항에 따른다.

㉣ 기타시약 : 최순품

㉤ 설파메라진 표준원액 : 설파메라진 3 mg을 갈색플라스크에 정밀히 달아 에탄올 및 초산에칠(2 : 8)의 혼합액에 녹여 100 ml로 한다.

㉥ 설파메라진 표준용액 : 설파메라진 표준원액 1 ml를 갈색 플라스크에 취해 에탄올 및 초산에칠(2 : 8)의 혼합액을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 50g을 달아 유발에서 마쇄하여 황산나트륨(무수) 250g을 넣고 다시 마쇄하여 균일하게 한다. 안지름 38 mm, 길이 350 mm의 칼럼에 실리카겔 4g을 넣고 균일하게 한 시료를 칼럼에 넣는다. 그 위에 황산나트륨(무수) 10g을 넣고 10 ml/분의 속도로 석유에틸 200 ml를 흘린 후 칼럼에 남아있는 용매는 흡인하여 칼럼내를 건조상태로 한다. 이 칼럼에 아세토니트릴 400 ml를 10 ml/분의 속도로 용출시켜 용출액을 45°에서 감압건고한다. 잔류물을 0.1 N 수산화나트륨용액 50 ml로 녹인 후, 1 M 인산칼륨용액 50 ml를 넣고 0.1 N 염산으로 약 pH 8.0으로 조정한다.

이 액에 염화나트륨 5g을 넣어 녹이고 여과한 후 여액을 200 ml의 분액깔대기에 옮기고 초산에칠 50 ml를 넣어 진탕하여 초산에칠층을 취한다. 다시 분액깔대기에 염화나트륨 20g을 넣어 초산에칠 50 ml씩으로 2회 진탕하여 초산에칠층을 취한다. 초산에칠층을 합하여 황산나트륨(무수)을 넣어 탈수여과하고 45°에서 감압건고한다.

잔류물은 에탄올 및 초산에칠(2 : 8)의 혼합액 5 ml로 녹인다. 이 액 1 ml를 취해 디아조메탄시액 5 ml를 넣어 30분간 실온에 방치시킨

후 감압건고하고 잔류물을 아세톤 1 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉑ 가스크로마토그래프의 측정 조건

㉒ 칼럼 충전제

㉓ 고정상 담체 : 크로모솔브 W(AW-DMCS), 60~100 mesh

㉔ 고정상 액체 : 5% SE-30

㉕ 칼럼 : 3 mm, 길이 1.5 m의 유리관

㉖ 검출기 온도 : 290°

㉗ 칼럼 온도 : 260°

㉘ 캐리어가스 및 유량 : N₂, 40 ml/분

㉙ 정량시험

설파메타진 표준용액 1, 2 및 3 ml를 각각 취해 질소가스를 통하여 용매를 날려보내고 에탄올 및 초산에칠(2:8)의 혼합액 0.2 ml로 녹인 후 디아조메탄시액 2 ml를 넣어 실온에서 30분간 방치시킨 후 감압건고한다. 잔류물을 아세톤 1 ml씩으로 녹인 표준용액 및 시험용액 1 μl를 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 설파메타진의 함량을 구한다.

(6) 설파메타진(Sulfamethazine)

① 정량법의 원리

시료에 내부 표준품으로서 설파메타진을 넣어 아세톤 및 클로로포름으로 추출하여 농축한 후 알루미늄아 칼럼으로 정제하여 액체크로마토그래프로 측정한다.

② 분석기기

액체크로마토그래프

③ 시약, 시액

㉑ 유기용매 : 액체크로마토그래프용

㉒ 알루미늄아 : 칼럼크로마토그래프용, 염기성 활성도 I

㉓ 기타 시약 : 최순품

㉔ 설파메타진 표준원액 : 설파메타진 10 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 ml로 한다.

㉕ 설파메타진 표준용액 : 설파메타진 표준원액을 이동상 용매를 이용하여 10배로 희석

한다.

㉖ 내부 표준용액 : 설파메타진 10 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 ml로 한다. 이 액을 이동상 용매를 이용하여 10배로 희석한다.

④ 시험용액의 조제

㉑ 추출

시료 5g을 내부 표준용액 0.2 ml 및 아세톤 25 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한다. 잔류물에 아세톤 25 ml를 넣어 위의 조작을 되풀이하고 상등액을 위의 상등액에 합한다.

이에 n-프로필 알콜 5 ml를 넣어 40° 이하에서 약 1 ml로 감압 농축한다. 농축액을 분액깔대기(I)에 옮기고 수기를 아세톤 5 ml씩으로 2회 씻어 분액깔대기(I)에 합한 후 3% 염화나트륨용액 30 ml 및 핵산 15 ml를 넣어 가볍게 흔들어 하층을 분액깔대기에 (II)에 옮긴다. 다시 분액깔대기(II)에 핵산 15 ml를 넣어 위의 조작을 되풀이한 후 하층을 분액깔대기(III)에 옮긴다. 하층의 pH를 6~7로 조정하여 클로로포름 30 ml씩으로 3회 진탕 추출하여 클로로포름층을 삼각플라스크에 합한다.

클로로포름이 투명할 때까지 황산나트륨(무수)을 적당량 넣어 흔들어 섞으면서 방치한 후 여과하여 클로로포름을 40° 이하에서 약 1 ml로 감압 농축한다.

④ 정제

안지름 15 mm, 길이 300 mm의 칼럼에 알루미늄아 6g을 아세토니트릴 20 ml에 현탁하여 흘러버린 후 95% 아세토니트릴 수용액 30 ml를 넣어 충전물의 상단에 소량이 남을 때까지 씻는다.

이 칼럼에 위의 농축액을 넣고 클로로포름 5 ml씩으로 2회 수기를 씻어 칼럼에 흘린 후 다시 95% 아세토니트릴수용액 20 ml를 흘러버린다.

이어서 85% 아세토니트릴수용액 30 ml로 용출시킨 후 이 액을 40° 이하에서 감압건고하여 잔류물에 이동상 용매 1 ml를 넣어 이를

시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉔ 액체크로마토그래프의 측정조건

㉑ 칼럼 : Nucleosil 5 C₁₈, 4 mm i.d.x 250 mm

㉒ 이동상용매 : 아세트니트릴-초산-물(12 : 1 : 88)의 혼합액

㉓ 유속 : 0.8 ml/분

㉔ 측정파장 : 272 nm

㉕ 정량시험

설파메타진 표준용액을 각각 10, 25, 50 및 100 μ씩 취해 내부 표준용액 0.2 ml를 넣어 40 ° 이하에서 감압건고한 후, 잔류물을 이동상 용매 1 ml씩으로 녹인 표준용액 및 시험용액을 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 설파메타진의 함량을 구한다.

(7) 설파모노메톡신(Sulfamonomethoxine)

① 정량법의 원리

(4) 설파디메톡신과 같다.

② 분석기기

(4) 설파디메톡신과 같다.

③ 시약

㉑~㉓ : (4) 설파디메톡신과 같다.

㉔ 설파모노메톡신 표준원액 : 설파모노메톡신 1.25 mg을 갈색플라스크에 정밀히 달아 디메칠 포름아마이드 0.5 ml에 녹인 후 아세톤에 넣어 50 ml로 한다.

㉕ 설파모노메톡신 표준용액 : 설파모노메톡신 표준원액 1 ml를 갈색플라스크에 취해 아세톤을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

(4) 설파디메톡신에 따른다.

⑤ 시험조작

(4) 설파디메톡신에 따른다.

(8) 설파퀴녹살린(Sulfaquinolaxine)

① 정량법의 원리

(4) 설파디메톡신과 같다.

② 측정기기

(4) 설파디메톡신과 같다.

③ 시약

㉑~㉓ : (4) 설파디메톡신과 같다.

㉔ 설파퀴녹살린 표준원액 : 설파퀴녹살린 10 mg을 갈색플라스크에 정밀히 달아 디메칠 포름아마이드 0.5 ml에 녹인 후 아세톤을 넣어 50 ml로 한다.

㉕ 설파퀴녹살린 표준용액 : 설파퀴녹살린 표준원액 1 ml를 갈색플라스크에 취해 아세톤을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

(4) 설파디메톡신에 따른다.

⑤ 시험조작

(4) 설파디메톡신에 따른다.

(9) 암프로리움(Ampromlium)

① 정량법의 원리

시료를 5% 산염화초산으로 추출하여 그 일부를 알카리성으로 하고 질산은 및 페리시안화칼륨용액을 넣어 n-아밀알콜층으로 옮기고 이에 에탄올을 넣어 형광광도계로 측정한다.

② 측정기기

형광광도계

③ 시약, 시액

㉑ 시약 : 최순품

㉒ 암프로리움 표준원액 : 암프로리움 20 mg을 정밀히 달아 물에 녹여 1,000 ml로 한다. 다시 이 액 10 ml를 취해 물을 넣어 1,000 ml로 한다.

㉓ 암프로리움 표준용액 : 암프로리움 표준원액을 각각 5, 10 및 20 ml씩 취해 10% 산염화초산 25 ml로 녹이고 물을 넣어 50 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 50g을 달아 시료 1g에 대해 5% 산염화초산 2 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 그 일부를 취해 4,000 rpm에서 5분간 원심분리한다. 상등액을 취해 여과하고 여액 10 ml를 취한다. *이에 30% 수산화나트륨용액 4 ml 및 2% 질산은 용액 0.4 ml를 넣어 흔들어 섞은 후 2분간 방치한다. 이에 2% 페리시안화칼륨 용액 2 ml를 넣어 흔들어 섞고 1분간 방치한 후, n-아밀알콜 4 ml를 넣어 30초간 흔

들어 섞는다. 아밀알콜층이 투명하게 될 때까지 3,000 rpm에서 원심분리한다. 아밀알콜 2.5 ml를 취해 에탄올(무수) 0.5 ml를 넣어 흔들어 섞은 후 이를 시험용액으로 한다.

- ⑤ 시험조작
- ㉓ 형광광도계의 측정조건
- ㉔ 여기파장 : 400 nm
- ㉕ 측정파장 : 460 nm
- ㉖ 정량시험

암프롤리움 측정용 표준용액 10 ml를 취해 4) 시험용액의 조제항의 *이하와 똑같이 조작한 액 및 시험용액을 형광용 셀에 넣어 위의 조건에 따라 검량선을 작성하여 시료 중 암프롤리움의 함량을 구한다.

(10) 에토파베이트(Ethopabate)

① 정량법의 원리

시료를 아세토니트릴로 추출하여 농축한 후 초산에칠로 다시 추출하여 감압건고한다. 잔류물을 벤젠에 녹여 후로리실 칼럼으로 정제한 후 액체크로마토그래프로 측정한다.

② 측정기기

액체크로마토그래프

③ 시약, 시액

㉓ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉔ 후로리실(Florisil) : 60~80 mesh의 칼럼 크로마토그래프용 Florisil을 120°에서 1시간 활성화한 후 데시케이타 중에서 식힌다.

㉕ 기타 시약 : 최순품

㉖ 에토파베이트 표준원액 : 에토파베이트 표준품 10 mg을 정밀히 달아 아세토니트릴에 녹여 100 ml로 한다.

㉗ 에토파베이트 표준용액 : 에토파베이트 표준원액 10 ml를 취해 아세토니트릴을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

㉓ 추출

시료 20g을 취해 하이후로슈퍼셀 5g 및 아세톤 50 ml를 넣어 3분간 호모게나이저로 균질하게 한 후 하이후로슈퍼셀층을 통과하여 흡인 여과시킨다. 잔류물은 다시 아세톤 50 ml로 씻어 여과하여 여액을 합하여 40° 이하

에서 소량의 아세톤이 남을 때까지 감압 농축한다.

농축액에 염화나트륨 2g을 넣고 초산에칠 50 ml를 수회 나누어 수기를 씻으면서 분액깔대기(I)에 옮긴다. 10분간 진탕한 후 물층을 분액깔대기(II)에 옮긴다. 분액깔대기(II)에 초산에칠 50 ml를 넣어 위와 같이 조작하여 분액깔대기(I)(II)의 초산에칠층을 합하고 황산나트륨(무수)를 넣어 초산에칠층이 투명하게 될 때까지 방치한 후 여과하여 40° 이하에서 감압건고한다. 잔류물에 벤젠 1 ml를 넣어 녹인다.

㉔ 정제

안지름 10 mm의 칼럼에 후로리실 1.5g을 벤젠에 현탁시켜 충전물의 상단에 소량의 벤젠이 남을 때까지 흘려버린다. 이 칼럼에 위의 액을 넣고 벤젠 20 ml로 씻는다. 다시 이 칼럼에 에텔 및 벤젠 20 ml로 씻는다. 다시 이 칼럼에 에텔 및 벤젠(2 : 8)의 혼합액 50 ml를 넣어 씻은 후 초산에칠 및 벤젠(2 : 8)의 혼합액 50 ml로 용출시켜 용출액을 40° 이하에서 감압건고한다. 잔류물을 아세토니트릴 0.5 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉓ 액체크로마토그래프의 측정조건

㉔ 칼럼 : Lichrosorb RP 18, 5 μ , 4 mm i.d. x 150 mm

㉕ 이동사용매 : 아세토니트릴 및 물(3 : 7)의 혼합액

㉖ 측정파장 : 270 nm

㉗ 정량시험

시험용액 2~10 μ l 및 표준용액 2, 6 및 10 μ l를 위의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 에토파베이트의 함량을 구한다.

(11) 올라퀸독스(Olaquinox)

① 정량법의 원리

시료를 아세토니트릴로 추출하여 탄산칼륨(무수)으로 탈수하여 n-헥산으로 씻은 후 아

세토니트릴층을 감압건고하고 잔류물을 메탄올에 녹여 액체크로마토그래프로 측정한다.

② 측정기기

액체 크로마토그래프

③ 시약

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 기타 시약 : 최순품

㉢ 올라퀸독스 표준원액 : 올라퀸독스 표준품 10 mg을 정밀히 달아 소량의 물에 녹힌 후 메탄올을 넣어 100 ml로 한다.

㉣ 올라퀸독스 표준용액 : 올라퀸독스 표준원액을 메탄올로 희석하여 각각의 농도를 0.25, 0.5, 0, 2.0, 3.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 10g을 달아 하이후로 슈퍼셀 1g 및 아세토니트릴 100 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,000~3,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 삼각플라스크에 취한다. 잔류물은 아세토니트릴 50 ml로 앞의 조작을 되풀이하여 상등액을 앞의 삼각플라스크에 합한다.

이 액에 탄산칼륨(무수) 20g을 넣고 때때로 흔들어 섞으면서 약 30분간 방치한 후 분액깔대기 중에 여과한다. 분액깔대기에 n-헥산 100 ml를 넣고 5분간 진탕한 후 정치하여 아세토니트릴층을 취해 약 40°에서 감압건고한다. 잔류물을 메탄올 2 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉠ 액체크로마토그래프의 측정조건

㉡ 칼럼 : Nucleosil 10 C₁₈, 4.6 mm i.d.x 250 mm

㉢ 이동상용매 : 메탄올 및 물(15 : 85)의 혼합액

㉣ 측정파장 : 380 nm

㉤ 정량시험

시험용액 및 표준용액 20 μl 를 위의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 올라퀸독스의 함량을 구한다.

(12) 오르메토프림(Ormethoprim)

① 정량법의 원리

시료를 0.2 N 황산으로 추출하여 알칼리성으로 하여 초산에칠로 추출한다. 초산에칠층을 감압건고한 후 잔류물을 0.5% 과염소산 및 메탄올(7 : 3)의 혼합액에 녹여 액체크로마토그래프로 측정한다.

② 측정기기

액체크로마토그래프

③ 시약, 시액

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 완충액(pH 11) : 0.1 M 탄산나트륨 96.5 ml와 붕산-염화칼륨용액(붕산 6.2g 및 염화칼륨 7.45g을 물에 녹여 1,000 ml로 한다) 3.5 ml 혼합한다.

㉢ 기타 시약 : 최순품

㉣ 오르메토프림표준원액 : 오르메토프림 10 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 ml로 한다.

㉤ 오르메토프림표준용액 : 오르메토프림 표준원액 5 ml를 취해 메탄올을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 5g을 달아 0.2 N 황산 20 ml 및 클로로포름 15 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 2,500~3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 분액깔대기에 취한다. 잔류물은 0.2 N 황산 15 ml로 위의 조작을 되풀이 한 후 상등액을 위의 분액깔대기에 합한다.

이 액에 1 N 수산화나트륨용액을 넣어 pH 12로 조정하여 방치한 후 염화나트륨 5g 및 초산에칠 100 ml를 넣어 10분간 진탕하여 상층액을 취한다. 다시 하층에 초산에칠 50 ml로 위의 조작을 되풀이하여 상층액을 위의 액에 합한다. 초산에칠층에 황산나트륨(무수) 5g을 넣고 때때로 흔들어 섞으면서 방치한 후 탈수여과하고 감압건고한다.

잔류물을 0.5% 과염소산 및 메탄올(7 : 3)의 혼합액 1 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉠ 액체크로마토그래프의 측정조건

㉡ 칼럼 : Nucleosil 10 C₁₈, 4.6 mm i.d.x 250

mm

⑥ 이동상용매 : 0.5% 과염소산 및 메탄올(7 : 3)의 혼합액

⑦ 측정파장 : 230 nm

⑧ 정량시험

오르메토프림 표준용액을 취하여 메탄올을 감압건고한 후 0.5% 과염소산 및 메탄올(7 : 3)의 혼합액으로 녹여 각각 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 용액을 만든다.

이들 용액 및 시험용액 20 μl 의 위의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 오르메토프림의 함량을 구한다.

(13) 옥소리산(Oxolinic acid)

① 정량법의 원리

시료를 디클로로메탄으로 추출하여 디클로로메탄을 날려보내고 희염산용액으로 산성화한 후 디클로로메탄으로 다시 추출하고 정제한다.

디아조메탄으로 메칠화하여 액체크로마토그래프로 측정한다.

② 측정기기

액체크로마토그래프

③ 시약, 시액

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 디아조메탄 시액 : (4) 설파디메톡신의

③ ㉢항에 따른다.

㉣ 기타 시약 : 최순품

㉤ 옥소리산 표준용액 : 옥소리산 표준품 10 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 ml로 한다.

㉥ 옥소리산 표준용액 : 옥소리산 표준원액 1 ml를 취해 메탄올을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

시료 5g을 달아 디클로로메탄 30 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 디클로로메탄층은 유리솜을 사용하여 여과한다. 잔류물은 다시 디클로로메탄 30 ml로 위의 조작을 되풀이하여 여액을 합하고 감압건고한다. 잔류물에 0.1 N 염산 30 ml를 넣어 혼합한다. 여기에 n-헥산 30 ml를

넣어 5분간 진탕하고 세라이트 2g층을 통과하여 흡인여과한 후 여액의 하층을 취해 디클로로메탄 50 ml를 넣어 5분간 진탕하여 하층을 취한다. 상층은 다시 디클로로메탄 50 ml로 위와 똑같이 조작하여 하층을 앞의 하층에 합하고 황산나트륨(무수) 약 5g을 넣고 탈수여과하여 감압건고한다.

잔류물을 메탄올 및 물(8 : 2)의 혼합액 2 ml에 녹인 후 디아조메탄 시액 3 ml를 넣어 가볍게 흔들어 섞고 실온에서 1시간 반응시킨다.

이 액을 감압건고하여 잔류물을 메탄올 및 물(7 : 3)의 혼합액 1 ml에 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉦ 액체크로마토그래프의 측정조건

㉧ 칼럼 : Nucleosil 7 C₁₈, 4.6 mm i.d.x 250 mm

㉨ 이동상용매 : 메탄올 및 물(7 : 3)의 혼합액

㉩ 측정파장 : 254 nm

㉪ 정량시험

옥소리산 표준용액 0.3, 0.5, 1.0 및 2.0 ml를 취해 감압건고한 후 메탄올 및 물(8 : 2)의 혼합액 2.0 ml로 녹이고 이에 디아조메탄시액 3 ml를 넣어 시료와 똑같이 조작하여 각각 20 μl 씩 위의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 옥소리산의 함량을 구한다.

(14) 조렌(Zoalene)

① 정량법의 원리

시료를 아세토니트릴로 추출하여 후로리실 칼럼으로 정제한 후 가스크로마토그래프로 측정한다.

② 측정기기

가스크로마토그래프 : 전자포획검출기(GC-ECD)

③ 시약, 시액

㉦ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉧ 후로리실(Florisil) : 60~100 mesh의 칼

럼크로마토그래프용 Florisil을 140°에서 12시간 활성화한 후 데시케이터 중에서 식힌다.

㉔ 조렌표준원액 : 조렌 100 mg을 정밀히 달아 아세톤에 녹여 100 ml로 한다.

㉕ 조렌표준용액 : 조렌표준원액 1 ml를 취해 아세톤을 넣어 100 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

㉖ 시료 50g을 달아 아세토니트릴 150 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 취한다. 아세토니트릴 100 ml를 사용하여 위의 조작을 되풀이한 후 상등액을 합하여 n-헥산 100 ml로 씻는다. 아세토니트릴층을 45°에서 감압하여 약 50 ml로 농축한다. 농축액에 5% 염화나트륨용액을 함유한 0.1 N 염산 500 ml를 넣어 분액깔대기(II)에 옮긴 후 n-헥산 200 ml씩으로 2회 씻고 물층을 분액깔대기(II)에 옮긴다. 분액깔대기(II)에 에틸 100 ml씩 2회 진탕하여 에틸층을 취한 후 황산나트륨(무수)을 넣어 때때로 흔들어 섞으면서 약 30분 방치한 후 에틸층을 감압하에서 약 5 ml로 농축한다.

㉗ 정제

안지름 15 mm의 칼럼에 후로리실 10g을 넣고 그 위에 황산나트륨(무수) 약 5g을 n-헥산에 현탁시켜 넣은 후 충전물의 상단에 소량의 n-헥산이 남을 때까지 흘러버린다.

이 칼럼에 위의 농축액을 넣고 에틸 50 ml로 씻은 후 30% 아세톤을 함유한 n-헥산 150 ml를 2~3 ml/분의 속도로 용출시킨 액을 감압하에서 정확히 5 ml로 농축하여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉘ 가스크로마토그래프의 측정조건

㉙ 칼럼충전제

㉚ 고정상담체 : 크로모솔브 W(AW-DMCS)

㉛ 고정상액체 : 1.5% OV-17

㉜ 칼럼 : 길이 2 m의 유리관

㉝ 검출기온도 : 300°

㉞ 칼럼온도 : 270°

㉟ 캐리어 가스 및 유량 : N₂, 30~50 ml/분

㊱ 정량시험

조렌표준용액을 2, 8 및 16 ml를 취해 아세톤을 넣어 각각 100 ml로 한 용액 및 시험용액을 각각 5 μl씩 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 조렌의 함량을 구한다.

(15) 치암페니콜(Thiamphenicol)

① 정량법의 원리

시료를 아세톤으로 추출하여 염화나트륨 용액을 넣고 초산에칠로 추출하여 초산에칠을 날려보낸 후 아세토니트릴 및 n-헥산의 혼합액에 녹여 아세토니트릴층을 감압건고한다. 초산에칠, 초산(무수), 피리딘을 사용하여 아세칠화하여 실리카겔 칼럼으로 정제한 후 가스 크로마토그래프로 측정한다.

② 분석기기

가스크로마토그래프 : 질소인 검출기(GC-NPD)

③ 시약, 시액

㉚ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉛ 실리카겔 : 칼럼크로마토그래프용(100~200 mesh)

㉜ 기타 시약 : 최순품

㉝ 치암페니콜 표준원액 : 치암페니콜 10 mg을 정밀히 달아 아세톤에 녹여 50 ml로 한다.

㉞ 치암페니콜 표준용액 : 치암페니콜 표준원액 5 ml를 취해 아세톤을 넣어 50 ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

㉟ 추출

시료 20g을 달아 아세톤 30 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 3,000~3,500 rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 취한다.

다시 잔류물에 아세톤 20 ml를 10 ml씩 나누어 위의 조작을 되풀이한 후 상등액을 합하여 다시 5분간 원심분리한다. 상등액을 분액 깔대기에 옮기고 3% 염화나트륨용액 150 ml를 넣은 후 초산에칠 150 ml를 넣어 진탕하여 초산에칠층을 취한다.

물층은 다시 초산에칠 100 ml를 50 ml씩 나

누어 위와 같이 2회 되풀이한 후 초산에칠층을 합하여 감압건고한다. 잔류물은 아세토니트릴 10 ml를 5, 3 및 2 ml씩 나누어 녹여 분액깔 대기에 옮기고 n-헥산 30 ml를 넣어 진탕한 후 아세토니트릴층을 취해 감압건고한다. 잔류물에 초산에칠 0.5 ml, 초산(무수) 0.5 ml 및 피리딘 2방울을 넣고 혼합하여 30분간 방치한다.

이 액에 물 5 ml를 넣고 혼합한 후 클로로포름 5 ml씩으로 3회 추출하여 클로로포름층을 물 5 ml씩으로 3회 씻는다. 클로로포름층은 황산나트륨(무수) 5g을 넣어 흔들어 섞으면서 방치한 후 여과한다.

㉞ 정제

안지름 10 mm, 길이 300 mm의 칼럼에 실리카겔 3g을 넣고 그 위에 황산나트륨(무수) 1g을 클로로포름에 현탁시켜 넣은 후 충전물의 상단에 소량의 클로로포름이 남을 때까지 흘러버린다. 이 칼럼에 위의 여액을 넣고 클로로포름 약 30 ml로 씻은 후 메탄올 및 클로로포름(2 : 8)의 혼합액 50 ml로 용출시킨다. 이 액을 감압건고한 후 잔류물을 아세톤 0.5 ml로 녹여 이를 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉠ 가스크로마토그래프의 측정조건

㉡ 칼럼충전제

㉢ 고정상담체 : 크로모솔브 W(AW)

㉣ 고정상액체 : 2% OV-17

㉤ 칼럼 : 안지름 3 mm, 길이 1 mm의 유리관

㉥ 검출기온도 : 300°

㉦ 칼럼온도 : 280°

㉧ 캐리어가스 및 유량 : N₂, 60 ml/분

㉨ 정량시험

치암페니콜표준용액 0.1, 0.3, 0.5 및 1.0 ml를 취해 감압건고한 후 초산에칠, 초산(무수)을 각각 0.5 ml씩 넣고 피리딘 2방울을 넣어 잘 혼합한 후 30분간 방치하여 이하 ④ 시험용액의 조제항에 따라 조작하여 얻은 표준용액 및 시험용액 2 μl를 위의 조건에 따라 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여

시료 중 치암페니콜의 함량을 구한다.

(16) 카바독스(Carbadox)

① 정량법의 원리

(11) 올라퀸독스와 같다.

② 분석기기

(11) 올라퀸독스와 같다.

③ 시약, 시액

㉠~㉣ : (11) 올라퀸독스와 같다.

㉤ 카바독스 표준원액 : 카바독스 100 mg을 정밀히 달아 소량의 디메틸포름아마이드에 녹인 후 메탄올을 넣어 100 ml로 한다.

㉥ 카바독스 표준용액 : 카바독스 표준원액을 메탄올로 희석하여 각각의 농도를 0.25, 0.5, 1.2, 3.0 μg/ml로 한다.

④ 시험용액의 조제

(11) 올라퀸독스에 따른다.

⑤ 시험조작

(11) 올라퀸독스에 따른다.

(17) 클로피돌(Clopidol)

① 정량법의 원리

시료를 메탄올로 추출하고 음이온 교환수지 칼럼으로 정제한 후 유출액을 디아조메탄시액으로 메칠화하여 가스크로마토그래프로 측정한다.

② 분석기기

가스크로마토그래프 : 전자포획검출기(GC-ECD)

③ 시약, 시액

㉠ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉡ 0.5% 초산 및 메탄올 혼합액 : 메탄올 475 ml에 빙초산 25 ml를 넣는다.

㉢ 내부표준용액 : 2,4-디니트로클로로벤젠에 벤젠을 넣어 0.05 μg/ml의 용액을 만든다.

㉣ 기타 시약 : 최순품

㉤ 클로피돌 표준원액 : 클로피돌 10 mg을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 ml로 한다.

㉥ 클로피돌 표준용액 : 클로피돌 표준원액을 메탄올로 희석하여 0.1 μg/ml의 용액을 만든다.

④ 시험용액의 조제

㉠ 추출

시료 20g을 달아 메탄올 50 ml 및 하이후로

슈퍼셀 3g을 넣고 호모게나이저로 균질하게 하여 하이후로 슈퍼셀 2g을 통과하여 여과한 후 여액에 메탄올을 넣어 100 ml로 한다.

㉔ 정제

안지름 10 mm의 칼럼에 100~200메쉬의 도웁스(Dowex) 1×8의 C1⁻형을 물을 사용하여 1 cm 높이까지 채운 후 1 N 수산화나트륨 용액 100 ml를 흘려버리고 중성이 될 때까지 물로 세정한다.

다시 0.5 M 초산나트륨 용액 100 ml를 흘려버리고 중성이 될 때까지 물로 세정한 후 80% 메탄올 50 ml를 넣고 충전물의 상단에 소량의 80% 메탄올이 남을 정도까지 흘려버린다. 이 칼럼에 위의 추출액 20 ml를 넣어 흘려버리고 다시 메탄올 10 ml로 씻는다. 계속해서 위의 칼럼에 0.5% 초산 및 메탄올 혼합액 20 ml를 넣고 1 ml/분 속도로 용출시키고 용출액에 메탄올을 넣어 25 ml로 한다.

*「이 액 1 ml를 취해 감압건고한 후 80% 메탄올 0.2 ml를 넣어 가온하여 즉시 용해시키고 디아조메탄 시액 1 ml를 넣어 마개를 하여 70°의 수욕 중에서 5~10분간 가열한다.

이 액을 5분간 얼음으로 냉각시킨 후 실온에서 감압건고하고 잔류물에 물 5 ml, 내부표준용액 1 ml를 넣고 마개를 하여 1분간 격렬히 흔든다. 이 액을 3분간 원심분리한 후 벤젠층을 취하여 이 시험용액으로 한다.

⑤ 시험조작

㉕ 가스크로마토그래프의 측정조건

㉖ 칼럼충전제

㉗ 고정상담체 : 크로마솔브 W(AW-DMCS), 60~80 mesh

㉘ 고정상액체 : 10% DC-200

㉙ 칼럼 : 안지름 3 mm, 길이 2 m의 유리관

㉚ 시료주입부 및 검출기온도 : 220, 250°

㉛ 칼럼온도 : 170°

㉜ 캐리어 개스 및 유량 : N₂, 60 ml/분

㉝ 정량시험

클로피돌 표준용액 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1.0 ml를 취해 ④ 시험용액의 조제 ㉔ 정제항 중 「이 액 1 ml를 취해-벤젠층을 취하여」까지 조작하여 얻은 표준용액 및 시험용액 4 μl를

위의 조건에 따라 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피크의 머무름시간(Retention time)을 비교해서 피크의 높이 또는 면적으로 검량선으로 작성하여 시료 중 클로피돌의 함량을 구한다.

(18) 후라졸리돈(Furazolidone)

① 정량법의 원리

시료를 초산에칠로 추출하여 농축한 후 이소프로판올에 녹여 회염산을 넣어 가열 가수분해한다. 얻어진 5-니트로홀푸랄을 후로리실 칼럼으로 정제한 후 가스크로마토그래프로 측정한다.

② 분석기기

가스크로마토그래프 : 전자 포획검출기(GC-ECD)

③ 시약, 시액

㉕ 유기용매 : 잔류농약 시험용

㉖ 내부 표준용액 : 헵타크롤 10 μg을 벤젠에 녹여 1,000 ml로 한다.

㉗ 후로리실(Florisil) : 60~80 mesh의 칼럼 크로마토그래프용 Florisil을 130°에서 15시간 활성화한 후 데시케이터 중에서 식힌다.

㉘ 기타시약 : 표준품

㉙ 후라졸리돈 표준원액 : 5-니트로홀푸랄 62.7 mg(후라졸리돈 100 mg 상당량)을 정밀히 달아 벤젠에 녹여 100으로 한다.

㉚ 후라졸리돈 표준용액 : 후라졸리돈 표준원액을 벤젠으로 희석하여 후라졸리돈으로서 각각 0.0025~0.04 μg/ml의 용액을 만든다.

④ 시험용액의 조제

㉕ 추출

시료 10g을 달아 잘게 썬 후 염화나트륨 8g, 2% 메타인산용액 15 ml를 넣어 호모게나이저로 균질하게 한 후 n-헥산 10 ml를 넣고 진탕한다. 이 액을 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 n-헥산은 버리고 다시 n-헥산 10 ml를 넣어 위와 똑같이 조작한다.

여기에 초산에칠 10 ml를 넣어 진탕하고 원심분리한 후 초산에칠을 취한다. 다시 초산에칠 10 ml로 위의 조작을 2회 되풀이한 후 초산에칠층을 합하여 감압건고한다. 잔류물을 이소프로판올 10 ml에 녹여 이에 1 N 염산 20 ml를

넣고 70° 수욕 중에서 25분간 가수분해한다. 가수분해한 후 즉시 냉각하여 분액깔대기에 옮겨 0.5 µg/ml의 BHT를 함유한 벤젠 15 ml로 3회 추출하여 벤젠층을 감압하에서 정확히 2 ml로 농축한다.

㉔ 정제

안지름 8 mm, 길이 300 mm의 칼럼에 후로리실 1g을 넣고 그 위에 황산나트륨(무수) 소량을 벤젠에 현탁시켜 넣은 후 충전물의 상단에 소량의 벤젠이 남을 정도까지 흘려버린다. 다시 초산에칠 및 벤젠(1:1)의 혼합액 20 ml에 황산나트륨(무수)을 현탁시켜 넣은 후 흘려버리고 벤젠 20 ml를 넣어 충전물의 상단에 소량의 벤젠이 남을 정도까지 씻는다.

이 칼럼에 위의 농축액을 넣고 벤젠 4 ml로 씻은 후 초산에칠 및 벤젠(0.5:95.5)의 혼합액을 30 ml를 넣고 용출시킨 액을 감압건고하고 내부 표준용액 1 ml를 넣어 이를 시험용액으로 한다.

㉕ 시험조작

㉔ 가스크로마토그래프의 측정조건

㉔ 칼럼 충전제

㉔ 고정상담체: 크로모솔브 W(AW-DMCS), 80~100 mesh

㉔ 고정상액체: 5% EGSS-X

㉔ 칼럼: 안지름 3 mm, 길이 1.5 mm의 유리관

㉔ 검출기 온도: 220°

㉔ 캐리어 온도: 190°

㉔ 캐리어 개스 및 유량: N₂, 30~50 ml/분

㉔ 정량시험

시험용액 및 후라졸리돈 0.025~0.4 µg/ml에 상당하는 5-니트로홀푸랄 표준용액 10 µl를 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 각 피이크의 머무름시간(Rentention time)을 비교해서 피이크의 높이 또는 면적으로 검량선을 작성하여 시료 중 후라졸리돈의 함량을 구한다.

보건사회부 고시 제 90-85호

식품위생법 제 7조 제 1항 및 제 10조 제 1항의 규정에 의한 식품등의 기준 및 규격중 별지와 같이 개정한다.

1990. 12. 14.

보 건 사 회 부 장 관

식품등의 기준 및 규격중 제 3 식품일반에 대한 공통기준 및 규격, 5) 농산물의 농약잔류 허용기준을 별지와 같이 하고, 제 4. 식품별 기준 및 규격중 20. 기타식품의 20-4 냉동식품란중, 1) 정의중 “적용한다”를 “적용하되 식육가공품 성분규격중 미생물 규격항목이 없는 세균수와 대장균은 이 성분규격을 함께 적용한다 (비가열포장육제외)”로 한다.

부 칙

이 고시는 고시일로부터 시행하되 농산물의 농약잔류 허용기준중 개정부분은 1992년 1월 1일부터 시행한다.

5) 농산물중 농약잔류 허용기준

식품명	ppm	식품명	ppm	식품명	ppm
(1) 다미노자이드(Daminozide)					
도마도	0.1	배	0.1	자몽	0.05
땅콩	0.1	복숭아	0.1	체리	0.1
메론	0.1	사과	1	포도	1

(2) 다이아지논(Diazinon)

가지	0.1	무우	0.1	시금치	0.1
감	0.1	배	0.1	양배추	0.1
감귤	0.1	배추	0.1	오이	0.1
감자	0.1	복숭아	0.7	참외	0.1
고구마	0.1	사과	0.5	콩류	0.1
딸기	0.1	상추	0.1	파	0.1
도마도	0.3	쌀	0.1	포도	0.1
마늘	0.1	쭈갓	0.1	고추	0.5

(3) 디디티(DDT, DDD 및 DDE포함)

가지	0.2	마늘	0.2	쌀	0.2
감	0.2	무우	0.2	시금치	0.2
감귤	0.2	배	0.2	양배추	0.2
감자	0.2	배추	0.2	양파	0.2
고구마	0.2	보리	0.2	오이	0.2
당근	0.2	복숭아	0.2	옥수수	0.2
딸기	0.2	사과	0.2	콩류	0.2
도마도	0.2	상추	0.2	파	0.2
포도	0.2	고추	0.2		

(4) 디메토에이트(Dimethoate)

감귤	1	마늘	1
----	---	----	---

(5) 디클로보스(Dichlorvos : DDVP)

가지	0.3	밀	0.1	아몬드	0.1
곡류(저장)	0.1	배	0.1	오이	0.3
도마도	0.3	복숭아	0.1	피망	0.1
땅콩	0.1	사과	0.1		

(6) 디코폴(Dicofol)

감귤류	1	사과	2	자몽	1
레몬	1	살구	1	체리	1
메론	1	오렌지	1	콩류	0.5
배	2	자두	0.5	포도	1
복숭아	1				

(7) 말라치온(Malathion)

감	0.5	배	0.5	시금치	0.5
감귤	0.5	배추	0.5	양배추	0.5
감자	0.5	복숭아	0.5	오이	0.5
당근	0.5	무우	0.5	콩류	0.5
딸기	0.5	사과	0.5	고추	0.5
도마도	0.5	쌀	0.3		

(8) 메소밀(Methomyl)

고추	1	배추	0.5	오렌지	1
도마도	0.2	사과	1	자몽	1
레몬	1	시금치	0.5	파인애플	0.2
메론	0.2	아보카도	1	포도	1
밀	0.2	양배추	0.5		

(9) 메치다치온(Methidathion)

감귤류	0.3	복숭아	0.2	오이	0.2
도마도	0.1	사과	0.3	옥수수	0.1
레몬	0.3	아몬드	0.3	자몽	0.3
망고	0.05	양배추	0.2	체리	0.2
배	0.3	오렌지	0.3	포도	0.2

(10) 메틸브로마이드(Methyl bromide)

감자	30	밀	50	옥수수	50
고구마	30	보리	50	자몽	30
쌀	50	파인애플	20	레몬	30
파파야	20	마늘	30	아보카도	30
피망	30	망고	20	오렌지	30
고사리	30	바나나	20		

(11) 베노밀(Benomyl)

감귤류	1	배	1	오이	1
건포도	1	사과	1	옥수수	0.05
고추	1	상추	1	참깨	0.1
땅콩	0.2	쌀	0.1	체리	1
레몬	1	수박	1	콩류	0.2
마늘	1	아몬드	0.1	키위	1
메론	0.2	아보카도	0.5	파인애플	1
바나나	1	양배추	1	파파야	1

(12) 비에치씨(BHC : α , β , γ 및 δ -BHC의 합계)

가지	0.2	무우	0.2	양배추	0.2
감	0.2	배	0.2	양파	0.2
감귤	0.2	배추	0.2	오이	0.2
감자	0.2	보리	0.2	옥수수	0.2

고구마	0.2	복숭아	0.2	콩류	0.2
당근	0.2	사과	0.2	과	0.2
딸기	0.2	상추	0.2	포도	0.2
도마도	0.2	쌀	0.2	고추	0.2
마늘	0.2	시금치	0.2		

(13) 아진포스 메칠(Azinphos-methyl)

가지	0.3	메론	0.3	양파	0.3
감귤류	1	배	1	오이	0.3
감자	0.2	복숭아	1	체리	1
도마도	0.3	사과	1	키위	1
딸기	0.3	아몬드	0.2	포도	1

(14) 알드린 및 디엘드린(Aldrin & Dieldrin)

가지	0.01	무우	0.01	시금치	0.01
감	0.01	배	0.01	양배추	0.01
감귤	0.01	배추	0.01	양파	0.01
감자	0.01	보리	0.01	오이	0.01
고구마	0.01	복숭아	0.01	옥수수	0.01
당근	0.01	사과	0.01	콩류	0.01
딸기	0.01	상추	0.01	과	0.01
도마도	0.01	쌀	0.01	포도	0.01
마늘	0.01	고추	0.01		

(15) 에틸렌디브로마이드(Ethylene dibromide : EDB)

대두	0.001	밀	0.5	옥수수	0.5
망고	0.03	보리	0.5	파파야	0.25

(16) 엔드린(Endrin)

가지	0.01	무우	0.01	시금치	0.01
감	0.01	배	0.01	양배추	0.01
감귤	0.01	배추	0.01	양파	0.01
감자	0.01	보리	0.01	오이	0.01
고구마	0.01	복숭아	0.01	옥수수	0.01
당근	0.01	사과	0.01	콩류	0.01
딸기	0.01	상추	0.01	과	0.01
도마도	0.01	쌀	0.01	포도	0.01
마늘	0.01	고추	0.01		

(17) 오메토에이트(Omethoate)

감귤류	0.2	복숭아	0.2	사과	0.4
-----	-----	-----	-----	----	-----

(18) 이소프로카브(Isoprocarb : MIPC)

쌀	0.3
---	-----

(19) 이피엔(EPN)

가지	0.1	도마도	0.1	상추	0.1
감	0.1	무우	0.1	쌀	0.1
감귤	0.1	배	0.2	시금치	0.1
감자	0.1	배추	0.2	양배추	0.1
당근	0.1	복숭아	0.1	오이	0.1
딸기	0.1	사과	0.2	포도	0.1
고추	0.1				

(20) 치오파네이트메칠(Thiophanate-methyl)

감귤류	5	밀	0.05	수박	5
고추	5	바나나	0.2	아몬드	0.2
딸기	5	배	5	체리	5
망콩	0.2	사과	5	포도	5
쌀	2	메론	1		

(21) 카바릴(Cabaryl : NAC)

감귤	0.5	배추	0.5	양배추	0.5
감자	0.2	복숭아	0.5	포도	0.5
무우	0.5	사과	1	고추	0.5
배	0.5	쌀	1		

(22) 카보후란(Carbofuran)

감자	0.5	메론	0.4	오이	0.5
진포도	0.5	밀	0.2	옥수수	0.2
당근	0.5	바나나	0.1	콩류	0.2
망콩	0.5	쌀	0.2	과	0.5
마늘	0.5	양상치	0.1		

(23) 캡타폴(Captafol)

배	5	사과	5	포도	1
복숭아	5	오이	1	고추	1

(24) 캡탄(Captan)

가지	5	배	5	오이	5
딸기	5	보리	5	포도	5
도마도	5	사과	5	고추	5

(25) 크로로다로닐(Chlorothalonil)

감귤류	1	메론	0.5	아몬드	0.05
감자	0.1	바나나	0.05	양파	1
고추	1	배	1	오이	1
망콩	0.3	복숭아	1	옥수수	0.3
도마도	1	사과	1	체리	0.5

(26) 크로로피리포스(Chloropyrifos)

감귤류	0.5	배추	1	아몬드	0.2
고추	0.5	복숭아	0.5	양배추	0.5
땅콩	0.5	사과	1	양파	0.5
마늘	0.5	쌀	0.1	체리	0.5
바나나	0.25				

(27) 테트라디폰(Tetradifon)

감귤류	3	배	5	자몽	2
레몬	2	복숭아	2	포도	2
메론	1	사과	3		

(28) 파라치온(Parathion)

감	0.3	배	0.3	양파	0.3
감귤	0.3	배추	0.3	오이	0.3
감자	0.1	보리	0.3	옥수수	0.3
고구마	0.1	복숭아	0.3	참외	0.3
당근	0.3	사과	0.3	콩류	0.3
딸기	0.3	쌀	0.1	파	0.3
도마도	0.3	시금치	0.3	포도	0.3
마늘	0.3	양배추	0.3	고추	0.3

무우 0.3

(29) 페니트로치온(Fenitrothion : MEP)

감	0.2	배	0.2	양파	0.2
감귤	0.2	복숭아	0.2	오이	0.2
당근	0.2	사과	0.5	콩류	0.2
딸기	0.2	쌀	0.2	포도	0.5
도마도	0.2	시금치	0.2	고추	0.2

(30) 펜치온(Fenthion : MPP)

사과	0.2	쌀	0.1
----	-----	---	-----

(31) 펜토에이트(Phenthoate : PAP)

감	0.2	복숭아	0.2	오이	0.2
감귤	0.2	사과	0.2	옥수수	0.2
배	0.2	쌀	0.05		

(32) 홀펫(Folpet)

딸기	5	사과	5	체리	2
메론	2	오이	5	포도	5