

식품의약품안전처 공고 제2014-11호

식품의 기준 및 규격 일부개정고시안
행정예고

2014. 1. 16.

식품의약품안전처

식품의약품안전처 공고 제2014-11호

「식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처고시 제2013-261호, 2013. 12. 31)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2014년 1월 16일

식품의약품안전처장

식품의 기준 및 규격 일부개정고시안 행정예고

1. 개정 이유

옻나무의 원료 사용기준을 명확히 하여 관련 제품의 생산 및 개발에 혼선을 방지하고 초콜릿류의 보존 및 유통기준을 개정하여 유통과정의 현실을 반영하고자 함

국·내외적으로 사용되는 농약과 동물용의약품에 대한 잔류허용기준 설정 및 관련 시험법을 마련하여 식품 중 잔류물질의 안전관리를 강화하고 수산물의 검체 채취 및 취급방법과 중금속, 다이옥신의 시험방법을 개정하여 시험검사의 신뢰성을 높이고자 함.

더불어, 유전자재조합식품 신규 승인 품목 추가 및 카페인 표시기준 개정에 따른 관련 시험법을 추가하여 식품의 표시관리의 과학적 근거를 마련하고, 환자용균형영양식에 영양소의 기준 및 규격 신설에 따른

관련 시험법을 마련하여 식품안전관리를 강화하고자 함

2. 주요 내용

가. 옻나무 사용기준 명확화[안 제 2, 2, 1), (17) 및 [별표 2]]

- 1) 옻나무 물 추출물 형태에 대한 정의가 명확하지 않아 기존에 티백 형태로 제조되던 제품의 사용 가능 여부 등에 대한 논란이 발생
- 2) 현행 옻나무의 원료 사용기준을 명확히 하여 옻나무 제품 생산 및 개발에 혼선을 방지하고, 옻나무의 무분별한 식품원료 사용에 따른 위해발생을 예방하고자 함

나. 초콜릿류에 대한 보존 및 유통기준 개정[안 제 2, 6, 8)]

- 1) 초콜릿류의 고온에서 저장성이 떨어지는 현실을 고려
- 2) 냉동 초콜릿류의 안전성과 유통기한 변조 등의 우려가 없음이 확보한 후 제조 업소에서 해동하여 유통할 수 있도록 유통기준 및 유통기간 산출시점 기준 개정

다. 환자용균형영양식에 불소기준 신설[안 제 5, 19, 19-5, 5)]

- 1) 장기적으로 경관급식(tube feeding)을 통해 식사를 공급받는 환자의 경우, 영양공급을 환자용균형영양식에만 의존하고 있어 불소 섭취가 부족할 수 있음
- 2) 환자용균형영양식에 영양 강화 목적으로 사용되는 불소의 기준 신설

라. 검체채취 및 취급 방법 개정[안 제 9, 6, (2), ④]

- 1) 수산물 정밀검사시 검체 고유의 수분을 유지할 수 있도록 검체 전처리 필요
- 2) 검체를 물에서 꺼내거나 물로 씻은 경우에 임의의 물을 제거하여 시험할 수 있도록 함
- 3) 시험검사의 신뢰성 확보

마. 식품 중 농약 잔류허용기준 신설 [[별표 4] 중 (345)피라크로스트

로빈, (352)메톡시페노자이드]

- 1) 수입식품에 대한 잔류농약 안전관리를 위한 기준설정 필요
- 2) 피라크로스트로빈 및 메톡시페노자이드에 대한 잔류허용기준 신설
- 3) 농약 잔류허용기준 개정(합리화)을 통한 국민에게 안전한 식품을 공급하고자 함

마. 인삼의 농약 잔류허용기준 개정 [[별표 5] 중 (24)카보설판, (66)

카보후란]

- 1) 잔류물의 정의에 따른 농약의 기준통합 필요
- 2) 카보설판 및 카보후란에 대한 잔류허용기준 개정
- 3) 농약 잔류허용기준 개정(합리화)을 통한 국민에게 안전한 식품을 공급하고자 함

사. 식품 중 동물용의약품 잔류허용기준 신설 [[별표 7] 중 (125)설피린, (126)싸이퍼 메쓰린, (127)피페라진, (128)아미카신, (129)노르제스토메트, (130)리팍시민]

- 1) 축산물에 대한 동물용의약품으로 사용이 등록되어 있으나 잔류허용 기준이 없는 물질에 대한 기준 신설 필요
- 2) 설피린, 싸이퍼메쓰린, 피페라진, 아미카신, 노르제스토메트, 리팍시민에 대한 잔류허용기준 신설
- 3) 동물용의약품 잔류허용기준 개정(합리화)을 통한 국민에게 안전한 식품을 공급하고자 함

아. 일반시험법 개정

- 1) 불소 시험법 신설 [안 제 9, 1, 1.2., 1.2.1, 1.2.1.13]
환자용균형영양식에 불소 기준 신설에 따른 시험법 신설
- 2) 중금속 시험법 개정 [안 제 9, 7, 7.1]
분석 간접물질 제거방법을 개정하여 시험법의 신뢰성을 확보하고자 함
- 3) 다이옥신 시험법 개정 [안 제 9, 7, 7.3]
WHO에서 1998년에 설정한 다이옥신 동족체의 독성등가계수가 최신 독성자료를 근거로 개정된 사항을 반영

4) 우루시올 시험법 개정 [안 제 9, 7, 7.6]

상용화된 우루시올 표준품을 활용한 정량시험법 마련

5) 신규 승인 유전자재조합식품 시험법 신설 [안 제 9, 8.1.5~8.1.6 및 8.1.11~8.1.14]

가) 신규 승인 유전자재조합식품인 A5547-127, MON87701, CV127, MON87769, MON87705 (이상 총 5종), Event 3272, MON87460, 5307 (이상 옥수수 3종), T304-40×GHB119 (이상 면화 1종)의 정성시험법 신설

나) 신규 승인 유전자재조합식품인 DP356043-5, DP305423-1, A5547-127, MON87701, CV127 (이상 총 5종), NK603, TC1507, MON863, DAS59122-7, MON88017, MIR604, MIR162, DP098140-6, Event 3272, MON87460 (이상 옥수수 10종)의 정량시험법 신설

6) 카페인 시험법 신설 [안 제 9, 8, 8.4, 8.4.1]

현행 「식품등의 표시기준」에 카페인의 함량이 0.15 mg/mL 이상인 음료에 대하여 총 카페인 함량을 의무적으로 표시토록 개정됨에 따라 카페인 정량 시험법 신설

3. 의견 제출

「식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2014년 3월 16일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품안전처장(우편번호 : 363-700, 주소 : 충청북도 청원군 오송읍 오송생명 2로 187(연제리 643번지) 오송보건의료행정타운 식품의약품 안전처, 참조 : 식품기준과, 전화 043-719-2417, 팩스 043-719-2400)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 제2014-11호

「식품위생법」 제7조제1항에 따른 「식품의 기준 및 규격」(식품의약품 안전처 고시 제2013-261호, 2013. 12. 31)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2014년 3월 일

식품의약품안전처장

식품의 기준 및 규격 일부개정고시안 행정예고

식품의 기준 및 규격 일부를 다음과 같이 개정한다.

제 2, 2, 1), (17)을 다음과 같이 한다.

(17) 옻나무의 사용기준

① 옻나무는 옻닭 또는 옻오리 조리에 사용되는 제품의 원료로만 다음과 같은 형태로 사용할 수 있다.

ⓐ 물추출물

ⓑ 물추출물 제조용 티백(Tea bag)

② 또한 아까시재목버섯(장수버섯, *Fomitella fraxinea*)을 이용하여 우루시올 성분을 제거한 옻나무 물추출물은 장류, 발효식초, 택주, 약주, 청주, 과실주에 한하여 발효공정 전에만 사용할 수 있으며, 사용량은 다음과 같다.

- ④ 장류 및 발효식초 : 추출물 제조에 사용된 옻나무 중량을 기준으로 최종제품 중량의 10.0% 이하
- ⑤ 탁주, 약주, 청주 및 과실주 : 추출물 제조에 사용된 옻나무 중량을 기준으로 최종제품 중량의 2.0% 이하
- ⑥ 이때 옻나무를 사용한 제품은 우루시올(urushiol) 성분이 검출되어서는 아니 된다.

제 2, 5, 8) 중 (2)를 다음과 같이 한다.

(2) 아플라톡신 M₁

대상식품	기준
조제유류(조제분유, 조제우유, 성장기용 조제분유, 성장기용 조제우유, 기타조제분유, 기타조제우유), 특수용도식품(영아용 조제식, 성장기용 조제식, 영·유아용 극류조제식, 기타영·유아식, 영·유아용 특수조제식품) 중 유성분 함유제품	0.025 µg/kg 이하 [분말제품의 경우 희석하여 섭취하는 형태(제조사가 제시한 섭취방법)를 반영하여 기준적용]

제 2, 6, 8)과 16)를 다음과 같이 한다.

8) 냉동제품을 해동시켜 실온 또는 냉장제품으로 유통시켜서는 아니 되며, 실온 또는 냉장제품을 냉동시켜 냉동제품으로 유통시켜서는 아니된다. 다만, 냉동 어패류를 즉석에서 당일 판매를 목적으로 냉장하는 것은 그러하지 아니할 수 있으며, 이때 재냉동하여서는 아니 된다. 또한, 제조업자가 냉동제품인 빵류, 떡류, 초콜릿류 및 젓갈류에 냉동포장완료일자, 해동일자, 해동일로부터 유통

조건에서의 유통기한(냉동제품으로서의 유통기한 이내)을 별도로 표시하여 해동시키는 경우는 제외한다.

16) “유통기간”의 산출은 포장완료(다만, 포장 후 제조공정을 거치는 제품은 최종공정 종료) 시점으로 하고 캡슐제품은 충전·성형완료 시점으로 하며, 선물세트와 같이 유통기한이 상이한 제품이 혼합된 경우에는 유통기한이 먼저 도래하는 제품의 유통기한으로 정하여야 한다. 다만, 소분판매하는 제품은 소분하는 원료제품의 포장시점을, 원료제품의 저장성이 변하는 않는 단순가공처리만을 하는 제품은 원료제품의 포장시점을 각 유통기간 산출시점으로 하여야 한다. 또한 해동하여 출고하는 냉동제품인 빵류, 떡류, 초콜릿류 및 젓갈류는 해동시점을 해동일로부터 유통조건에서의 유통기간 산출시점으로 본다.

제 5, 19, 19-5, 5), (9)를 다음과 같이 신설한다.

5) 규격

항목	유형 환자용 균형영양식	당뇨환자용 식품
(1) ~ (8)	(생 략)	(생 략)
(9) 불소	0.2 mg/100kcal 이하이어야 한다.	-
(10) ~ (13)	(생 략)	(생 략)

제 5, 19, 19-5, 5) 중 (9)부터 (12)까지를 각각 (10)부터 (13)까지로 한

다.

제 8, 6, (2) 중 ④를 다음과 같이 한다.

④ 정밀검사는 채취된 검체 전체에서 먹을 수 있는 부위만을 취해 균질화 한 후 그 중 일정량을 1개의 시험검체로 한다. 다만, 어류는 머리, 꼬리, 내장, 뼈, 비늘을 제거한 후 껍질을 포함한 근육부위를 시험검체로 하고, 이때 검체를 물에서 꺼낸 경우나, 물로 씻은 경우에는 표준체(20 mesh 또는 이와 동등한 것)에 얹어 물을 제거한 후 균질화 한다.

제 9, 1, 1.2, 1.2.1, 1.2.1.13을 다음과 같이 한다.

1.2.1.13 불소

가. 이온선택전극법

1) 시험법 적용범위

환자용균형영양식에 적용한다.

2) 장치

가) 불소이온선택전극

나) 온도측정전극

다) 전위차측정기

라) 교반기 및 자석교반 막대

마) 플라스틱(Polyethylene) 정용플라스크 및 용기

3) 시약 및 시약

가) 이온세기조절액(Total ionic strength adjustment buffer, TISAB)

57 mL의 빙초산과 염화나트륨 58 g, (1,2-cyclohexylenedinitrilo)tetraacetic acid 4 g을 500 mL의 중류수에 녹인 후 5 N NaOH로 pH를 5.25 ± 0.25로 조정한 뒤 이를 1 L로 정용하여 제조한다. 시판용 이온세기 조절액(TISAB II 혹은 이와 동등한 것)을 사용할 수 있다.

나) 불소 표준용액

(1) 불소 표준품 : 불화나트륨(NaF)을 표준품으로 사용한다.

(2) 불소 표준원액 : 불화나트륨(NaF)을 105~110°C에서 4시간 가열하고, 데시케이터 안에서 식힌 다음 221.0 mg을 중류수에 녹여 100 mL로 한 것을 표준원액으로 하거나, 시판용 표준원액을 사용한다.

(3) 불소 표준용액 : 표준원액을 중류수로 희석하여 10 mg/L가 되게 희석하고 검량선 최종농도가 0.05~1.0 mg/L가 되도록 희석하여 사용하며 필요에 따라 농도를 달리 할 수 있다.

4) 시험용액의 조제

검체 5 mL를 50 mL 플라스틱 정용플라스크에 취하고 적당량의 중류수를 가하여 충분히 섞은 후 여기에 25 mL의 이온세기조절액을 가하고 중류수를 가하여 표선까지 정확히 50 mL로 정용한 것을 시험용액으로 한다.

5) 시험조작

가) 기기 측정조건

(1) 불소이온 측정

시험용액을 플라스틱 용기에 옮기고 자석교반 막대를 넣고 충분히 교반한 후 일정한 속도로 교반하면서 이온선택전극과 온도측정전극의 측정값이 안정화 되었을 때에 불소이온 농도별 전위 값(mV)을 구한다. 상온에서 측정 시 온도편차가 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 가 되도록 한다. 매 측정 시 물로 전극 표면을 씻고 물기를 제거한다.

(2) 검량선 작성

표준용액을 시험용액과 같이 반응시킨 후 농도별로 전위 값(mV)을 측정하고, 불소 농도의 상용대수(log) 값으로 검량선을 작성하여 기울기와 y 절편을 구한다.

6) 계산방법

검체 중의 불소의 함량의 계산은 다음과 같다.

$$\text{불소}(\text{mg}/100 \text{ mL}) = S \times \frac{a}{\text{검체채취량}(\text{mL})} \times \frac{100}{1,000}$$

S : 시험용액중의 불소농도($\mu\text{g}/\text{mL}$) = 10 [(전위값 - y 절편) / 기울기]

a : 시험용액의 전량(50 mL))

제 9, 5.3.50, 6), (5) 중 “230 nm”를 “360 nm”로 한다.

제 9, 5, 5.3, 5.3.70, 4), 바) 중 “기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것”을 “수산화암모늄 : 30%, 특급”으로 하고, 사)를 다음과 같이 신설한

다.

사) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

제 9, 5, 5.3, 5.3.70, 5), 가), (1) 중 “수산암모늄”을 “수산화암모늄”으로 하고, (2)의 나) 중 “수산암모늄”을 “수산화암모늄”으로 한다.

제 9, 5, 5.3 중 5.3.105에서 5.3.110까지를 다음과 같이 신설한다.

5.3.105 설피린/디피론/메타미졸(Sulpyrine/Dipyrone/Metamizole)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

시료 중의 설피린의 주대사체인 4-methylamino antipyrine(MAP)을 내부표준물질 4-dimethylamino antipyrine(DAP)을 첨가하고 아세토니트릴로 추출한 다음, 헥산으로 지방을 제거한 후 액체크로마토그래프/질량분석기/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기/질량분석기

4) 시약 및 시액

- 가) 용매 : 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것
- 나) 물 : 3차 중류수 또는 이와 동등한 것
- 다) 표준원액 : 4-methylamino antipyrine(MAP) 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 µg/mL이 되게 한다.
- 라) 내부표준원액 : 4-dimethylamino antipyrine(DAP) 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 µg/mL이 되게 한다.
- 마) 표준용액 : 표준원액과 내부표준원액을 아세토니트릴로 희석하여 사용한다.
- 바) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 유(乳)

균질화한 검체 5 mL 중 내부표준물질 500 µL(농도 : 1 µg/mL)와 아세토니트릴 8 mL를 가하고 5분간 균질화한 후, Na₂SO₄ 5 g를 가하고 5분간 균질화 한다. 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 상동액을 질소퍼지용 튜브에 모은 뒤, 다시 시료에 아세토니트릴 7 mL를 가하고 5분간 균질화한 후, 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 상동액을 이전의 상동액과 합한 뒤, 헥산 15 mL를 첨가하여 5분간 균

질화 한다. 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 하층액을 40°C 질소 기류 하에서 건고한다. 이를 아세토니트릴 2.5 mL으로 재용해하고, 1분간 균질화한 뒤, 4°C, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 한다. 원심분리한 시료 용액을 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

나) 유(乳)를 제외한 식품

균질화한 검체 5 g에 내부표준물질 500 μL(농도 : 1 μg/mL)와 아세토니트릴 8 mL를 가하고 5분간 균질화한 후, 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리한다. 상등액을 질소폐지용 튜브에 모은 뒤, 다시 시료에 아세토니트릴 7 mL를 가하고 30초간 흔들어 준 다음 5분간 균질화한 후, 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리한다. 상등액을 이전의 상등액과 합한 뒤, 헥산 15 mL를 첨가하여 5분간 균질화한 후, 4°C, 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 헥산층을 버리고, 하층액을 40°C 질소 기류 하에서 건고한다. 이를 아세토니트릴 2.5 mL으로 재용해하고, 1분간 균질화한 뒤, 4°C, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 한다. 원심분리한 시료 용액을 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

- (1) 칼럼 : HILIC (2.1 mm × 100 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A : 0.1% 개미산이 함유된 물

(나) 이동상 B : 0.1% 개미산이 함유된 아세토니트릴

min	A(%)	B(%)
0	5	95
12	50	50
13	5	95
20	5	95

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 주입량 : 10 μL

(5) 칼럼온도 : 20°C

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization : ESI(positive)

(2) Capillary temperature : 350°C

(3) Capillary voltage : 5,500 V

(4) Collision gas : Ar(아르곤)

(5) Collision energy

Compound	Precursor Ion (m/z)	Fragment ion (m/z)	Collision energy(eV)
4-methylamino antipyrine(MAP)	218.0	<u>56.1</u> , 96.8	23, 19
4-dimethylamino antipyrine(DAP, IS)	232.0	<u>58.2</u> , 97.0	47, 51

다) 표준품 크로마토그램

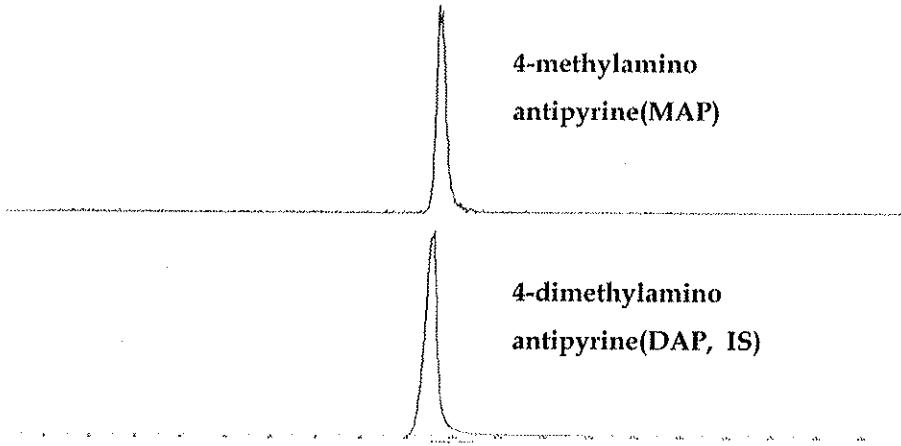


그림. MAP(9.5분), DAP(IS, 9.3분) 표준품의 크로마토그램

라) 정량한계

0.005 mg/kg

7) 정량시험

시험용액 및 표준용액을 각각 질량분석기에 주입한다. 이후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름 시간을 비교하여, 내부표준물질인 4-Dimethylamino antipyrine(DAP)의 피크면적비에 대한 4-Methylamino antipyrine(MAP)의 피크면적비를 구하고 검량선을 작성하여 시험용액 중 MAP의 함량을 구한다.

5.3.106 싸이퍼메쓰린(Cypermethrin)

1) 시험법 적용범위

축산물(알 제외) 등에 적용한다.

2) 분석원리

시료 중의 싸이퍼메쓰린을 아세토니트릴과 황산마그네슘을 가하여 추출하고, Florisil 카트리지로 정제한 후 가스크로마토그래프/전자포획 검출기로 분석한다.

3) 장치

가스크로마토그래프/전자포획검출기

4) 시약 및 시액

가) 용매 : 가스크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물 : 3차 종류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액 : 싸이퍼메쓰린 표준품을 정밀히 달아 아세톤에 녹여 $100 \mu\text{g/mL}$ 이 되게 한다.

라) 표준용액 : 표준원액을 아세톤으로 희석하여 사용한다.

마) SPE 카트리지 : Florisil 카트리지(6 mL, 500 mg) 또는 이와 동등한 것

바) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 추출

균질화한 검체 5 g에 아세토니트릴 20 mL와 황산마그네슘 2 g을 가하고 10분간 균질화한 후 4,500 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상동액을 취한다. 다시 아세토니트릴 10 mL를 가하여 반복한다. 상동액을 이전의 상동액과 합한 뒤, 감압농축하여 헥산 5 mL로 재용해한 용액을 추출액으로 한다.

나) 정제

미리 헥산 5 mL로 활성화 시킨 Florisil 카트리지에 추출액을 흡착시키고, 헥산 10 mL로 세척한 후 60% 디클로로메탄을 함유한 헥산 10 mL로 용출 시킨다. 용출액을 감압농축 한 다음 아세톤 2 mL로 재용해한 후 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 가스크로마토그래프/전자포획검출기 측정조건

- (1) 칼럼 : HP-5(30 m × 250 μm × 0.25 μm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 캐리어가스 및 유량 : N₂, 1 mL/min
- (3) Make-up flow : 60 mL/min, N₂
- (3) 오븐온도 : 200 °C(1min) → 5 °C/min → 290 °C(2min)
- (4) 주입부 : split mode(10 : 1), 250 °C, 1 μL
- (5) 검출부 : 280°C

나) 표준품 크로마토그램

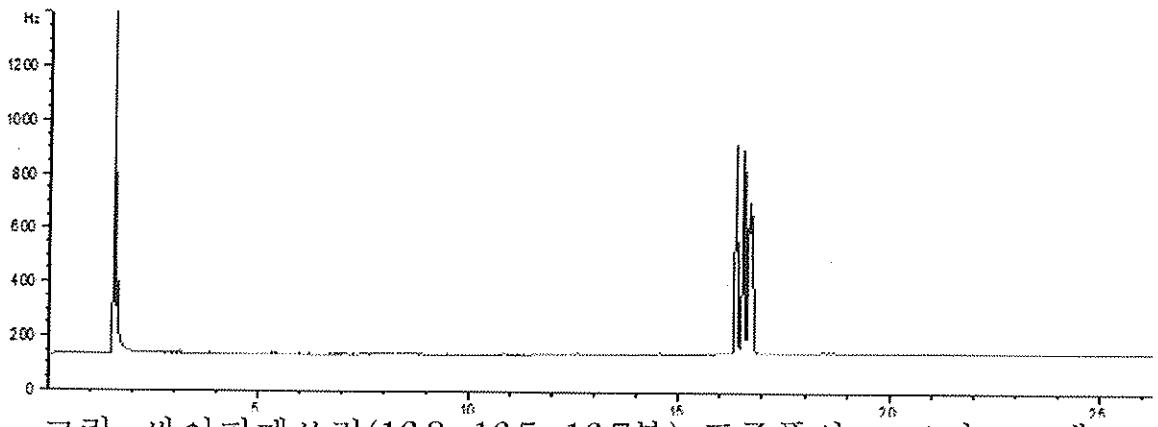


그림. 싸이퍼메쓰린(16.3, 16.5, 16.7분) 표준품의 크로마토그램

다) 정량한계

(1) 유(乳) : 0.1 mg/kg

(2) 유(乳)를 제외한 식품 : 0.05 mg/kg(소고기)

7) 정량시험

표준용액 및 시험용액을 각각 가스크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 피크 면적을 비교하여 싸이퍼메쓰린의 피크 면적으로 검량선을 작성하고 시험용액 중 싸이퍼메쓰린 함량을 구한다.

8) 정성시험

가) 기체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : BR-5MS($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$) 또는 이와 동등한 것

- (2) 캐리어가스 및 유량 : He(헬륨), 0.8 mL/분
- (3) 오븐온도 : 70 °C에서 3분간 유지하고 20 °C/분의 비율로 180 °C까지 온도를 상승시킨 후 다시 5 °C/분의 비율로 300 °C까지 상승시켜 7.5분간 유지한다.
- (4) 주입부 : split mode(10:1), 280°C, 1 μL
- 나) 질량분석기 조건
- (1) Source temperature : 200 °C
 - (2) Interface 온도 : 250 °C
 - (3) Collision gas : Ar(아르곤)
 - (4) Collision energy

Compound	Molecular Weight(MW)	Precursor Ion (<i>m/z</i>)	Fragment ion (<i>m/z</i>)	Collision energy(eV)
Cypermethrin	416.3	181	180, 152	10

5.3.107 피페라진(Piperazine)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

시료 중의 피페라진을 2% 개미산으로 추출하고, SPE(PCX) 카트리지로 정제한 후, 액체크로마토그래프/형광검출기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/형광검출기

4) 시약 및 시액

가) 용매 : 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물 : 3차 증류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액 : 피페라진 표준품을 정밀히 달아 물에 녹여 100μ g/mL이 되게 한다.

라) 표준용액 : 표준원액을 불로 희석하여 사용한다.

마) SPE 카트리지 : Bond Elut Plexa PCX 카트리지(200 mg, 6 mL) 또는 이와 동등한 것

바) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 유(乳)

균질화한 검체 5 mL에 2% 개미산 아세토니트릴 용액 3 mL를 가한 뒤, 20분간 균질화한 다음 2% 개미산 수용액 12 mL를 가한 뒤, 20분간 균질화한다. 이를 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하고 상동액을 새로운 tube에 모아 40°C 저소 기류 하에서 17 mL 이하로 전고한다. 미리 메탄올 3 mL와 2% 개미산 3 mL로 활성화 시킨 PCX cartridge

에 추출액을 흡착시킨 다음 2% 개미산 수용액 3 mL와 메탄올 3 mL를 차례로 세척한 후, 5% 메탄올성 수산화암모늄 3 mL로 2회 용출한다. 용출액은 40°C 질소 기류 하에서 건조한 다음, 0.1% 트리에틸아민 (TEA) 1 mL로 재용해하고 20분간 균질화한 후, 아세토니트릴에 용해시킨 단실염화물 용액(0.5 mg/mL) 1 mL를 넣고 암실에서 40°C 항온수조에 30분간 반응시킨 다음, 이를 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

나) 알

균질화한 검체 5 mL에 2% 개미산 아세토니트릴 용액 6 mL를 가한 뒤, 20분간 균질화한 다음 2% 개미산 수용액 10 mL를 가한 뒤, 20분간 균질화한다. 이를 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 새로운 tube에 모아 40°C 질소 기류 하에서 10 mL 이하로 건조한다. 미리 메탄올 3 mL와 2% 개미산 3 mL로 활성화 시킨 PCX cartridge에 추출액을 흡착시킨 다음 2% 개미산 수용액 3 mL와 메탄올 3 mL를 차례로 세척한 후, 5% 메탄올성 수산화암모늄 3 mL로 2회 용출한다. 용출액은 40°C 질소 기류 하에서 건조한 다음, 0.1% 트리에틸아민 (TEA) 1 mL로 재용해하고 20분간 균질화한 후, 아세토니트릴에 용해시킨 단실염화물 용액(0.5 mg/mL) 1 mL를 넣고 암실에서 40°C 항온수조에 30분간 반응시킨 다음, 이를 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

다) 유(乳), 알을 제외한 식품

균질화한 검체 5 g에 2% 개미산 수용액 15 mL를 가한 뒤, 20분간
균질화한 다음 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하고 상동액을 새로운
tube에 모은다. 남은 침전물에 다시 2% 개미산 수용액 10 mL를 가한
뒤, 20분간 균질화한 다음 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하고 상동액
을 이전의 상동액과 합하여 추출액으로 한다. 미리 메탄올 3 mL와
2% 개미산 3 mL로 활성화 시킨 PCX cartridge에 추출액을 흡착시킨
다음 2% 개미산 수용액 3 mL와 메탄올 3 mL를 차례로 세척한 후,
5% 메탄올성 수산화암모늄 3 mL로 2회 용출한다. 용출액은 40°C 질
소 기류 하에서 건고한 다음, 0.1% 트리에틸아민(TEA) 1 mL로 재용
해하고 20분간 균질화한 후, 아세토니트릴에 용해시킨 단실염화물 용
액(0.5 mg/mL) 1 mL를 넣고 암실에서 40°C 항온수조에 30분간 반응
시킨 다음, 이를 0.45 μm 맴브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한
다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프/형광검출기 측정조건

- (1) 칼럼 : C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 이동상 : 물 : 아세토니트릴(30 : 70, v/v)
- (3) 유속 : 1.0 mL/min
- (4) 주입량 : 20 μL
- (5) 칼럼온도 : 30°C

(6) 측정파장 : 여기파장-338 nm, 측정파장-523 nm

나) 표준품 크로마토그램

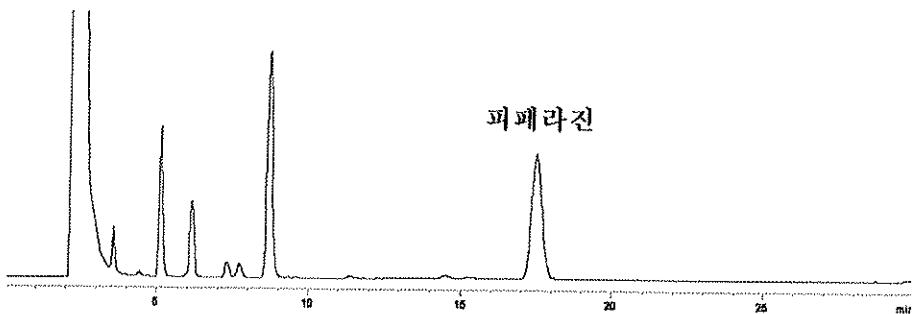


그림. 피페라진(17.4분) 표준품의 크로마토그램

다) 정량한계

0.02 mg/kg

7) 정량시험

표준용액 및 시험용액을 각각 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 피크 면적률 시간을 비교하여 피페라진의 피크 면적으로 검량선을 작성하고 시험용액 중 피페라진 함량을 구한다.

8) 정성시험

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A : 0.1% 아세트산

(나) 이동상 B : 아세토니트릴

min	A(%)	B(%)
0	95	5
3	95	5
5	0	100
15	0	100
15.1	95	5
20	95	5

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 주입량 : 10 μ L

(5) 칼럼온도 : 20°C

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization : ESI(positive)

(2) Capillary temperature : 350°C

(3) Capillary voltage : 5,500 V

(4) Collision gas : N₂(질소)

(5) Collision energy

Compound	Precursor Ion (m/z)	Fragment ion (m/z)	Collision energy(eV)
DNS-Cl-piperazine	320.07	170.1, 154.2	35, 71

5.3.108 아미카신(Amikacin)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

시료 중의 아미카신을 5% 삼염화초산으로 추출하고, 암모니아수로 염기화 시킨 다음 HLB 카트리지로 정제한 후 액체크로마토그래프/ 질량분석기/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기/질량분석기

4) 시약 및 시액

가) 용매 : 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물 : 3차 중류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액 : 아미카신 표준품을 정밀히 달아 아세토니트릴/물/초산(20/78/2)에 녹여 100 $\mu\text{g/mL}$ 이 되게 하여 4°C에 보관한다.

라) 표준용액 : 표준원액을 20 mM HFBA로 희석하여 사용한다.

마) SPE 카트리지 : HLB(hydrophile-Lipophile-balance) 카트리지 (60 mg, 3 mL) 또는 이와 동등한 것

바) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

균질화한 검체 5 g을 50 mL 원심 분리관에 취하고 5% TCA 10 mL을 가하여 5분간 진탕하고 5000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상동액을 원심 분리관에 모은 뒤, 다시 시료에 5% TCA 10 mL을 넣고 1분간 흔들어 준 다음 5000 rpm에서 5분간 원심분리 한다. 상동액을 이전의 상동액과 합한다. 여기에 0.2 M HFBA 5 mL를 가하여 1분간 잘 흔들어 준 다음 5000 rpm에서 5분간 원심분리 한다. 이 중 5 mL를 취하여 20% 암모니아수로 pH 8로 조절 한 후 미리 메탄올 3 mL, 물 3 mL와 20 mM HFBA 3 mL로 활성화 시킨 HLB 카트리지에 흡착시키고, 물 5 mL로 세척한 후 아세토니트릴/0.2 M HFBA(8/2, v/v) 6 mL로 용출시킨다. 용출액은 55°C 질소 기류 하에서 건고한 후 잔류물을 20 mM HFBA 1 mL로 재용해하여 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과시켜 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A : 아세토니트릴

(나) 이동상 B : 20 mM HFBA

min	A(%)	B(%)
0	20	80
3	20	80
8	90	10
10	90	10
10.1	20	80
15	20	80

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 주입량 : 5 μ L

(5) 칼럼온도 : 35°C

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization : ESI(positive)

(2) Capillary temperature : 300°C

(3) Capillary voltage : 4.000 V

(4) Collision gas : N₂(질소)

(5) Collision energy

Compound	Precursor Ion (m/z)	Fragment ion (m/z)	Collision energy(eV)
Amikacin	586.4	162.9 , 425.2	60 , 34

나) 표준품 크로마토그램

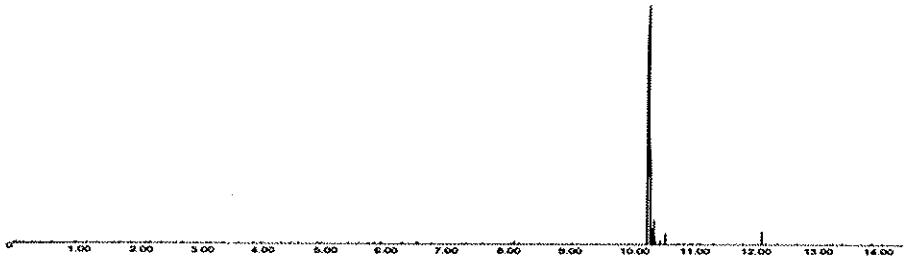


그림. 아미카신(10.5분) 표준품의 크로마토그램

다) 정량한계

0.05 mg/kg

7) 정량시험

시험용액 및 표준용액을 각각 질량분석기에 주입한다. 이후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름 시간을 비교하여, 아미카신 m/z 162.9 이온의 피크면적으로 검량선을 작성하고 시험용액 중 아미카신의 함량을 구한다.

5.3.109 노르제스토메트(Norgestomet)

1) 시험법 적용범위

축산물 등에 적용한다.

2) 분석원리

시료 중의 노르제스토메트를 아세토니트릴과 황산마그네슘으로 추

출하고, C18 흡착제로 정제한 후, 내부표준물질로 재용해하여 액체크로마토그래프/질량분석기/질량분석기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/질량분석기/질량분석기

4) 시약 및 시액

- 가) 용매 : 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것
- 나) 물 : 3차 중류수 또는 이와 동등한 것
- 다) 표준원액 : 노르제스토메트 표준품을 정밀히 달아 아세톤에 녹여 $100 \mu\text{g/mL}$ 이 되게 하여 냉동보관 한다.
- 라) 표준용액 : 표준원액을 메탄올로 희석하여 사용한다.
- 마) 내부표준원액 : 이소프로필안티피린 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 $100 \mu\text{g/mL}$ 이 되게하여 냉동보관 한다.
- 바) 내부표준용액 : 내부표준원액을 50% 메탄올로 희석하여 사용 한다.
- 사) C18 흡착제 : endcapped C18 bulk sorbent 또는 이와 동등한 것
- 아) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 유(乳)

균질화한 검체 5 mL에 아세토니트릴 10 mL와 황산마그네슘 2 g을 가한 뒤, 1분간 균질화한 다음 20분간 초음파 추출하여 다시 30분간 균질화한다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 새로운 tube에 모은 후 남은 침전물에 다시 아세토니트릴 10 mL를 가한 뒤 1분간 균질화하고 20분간 초음파 추출하여 다시 30분간 균질화한다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 이전의 상등액과 합한 뒤 45°C 질소 기류 하에서 약 6 mL가 남을 때까지 증발시킨 뒤, 미리 C18 sorbent 0.15 g을 첨가한 tube로 옮겨 황산마그네슘 0.9 g을 가하고 5분간 균질화한 다음, 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, -18°C에서 30분간 보관한다. 상등액을 새로운 tube로 옮긴 뒤 45°C 질소 기류 하에서 건조한 뒤, 내부표준물질(10 ng/mL) 0.5 mL를 가하여 재용해하고, 이를 0.45 μm 맴브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

나) 유(乳)를 제외한 식품

균질화한 검체 5 g에 아세토니트릴 10 mL와 황산마그네슘 2 g을 가한 뒤, 1분간 균질화한 다음 20분간 초음파 추출하여 다시 30분간 균질화한다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 새로운 tube에 모은 후 남은 침전물에 다시 아세토니트릴 10 mL를 가한 뒤 1분간 균질화하고 20분간 초음파 추출하여 다시 30분간 균질화한다.

3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상동액을 이전의 상동액과 합한 뒤 45°C 질소 기류 하에서 약 6 mL가 남을 때까지 증발시킨 뒤, 미리 C18 sorbent 0.15 g을 첨가한 tube로 옮겨 황산마그네슘 0.9 g을 가하고 5분간 균질화한 다음, 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, -18°C에서 30분간 보관한다. 상동액을 새로운 tube로 옮긴 뒤 45°C 질소 기류 하에서 건조한 뒤, 내부표준물질(10 ng/mL) 0.5 mL를 가하여 재용해하고, 이를 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프/질량분석기/질량분석기 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(2.1 mm × 150 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A : 0.1% 개미산 수용액

(나) 이동상 B : 메탄올

min	A(%)	B(%)
0	30	70
0.5	30	70
2.5	5	95
5	5	95
5.1	30	70
15	30	70

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 주입량 : 10 μ L

(5) 칼럼온도 : 30°C

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization : ESI(positive)

(2) Capillary temperature : 600°C

(3) Capillary voltage : 5,500 V

(4) Collision gas : N₂ (질소)

(5) Collision energy

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Fragment ion (<i>m/z</i>)	Collision energy(eV)
Norgestomet	373.2	<u>313.1</u> , 271.0	<u>19</u> , 23
Isopropylantipyrine (internal standard, IS)	231.3	<u>201.2</u> , 189.2	<u>45</u>

나) 표준품 크로마토그램

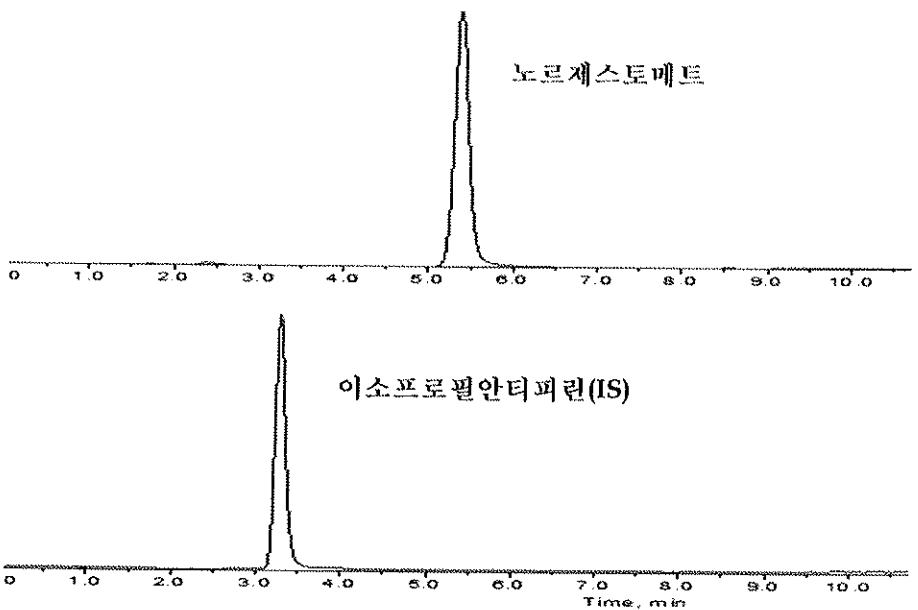


그림. 노르제스토메트(5.4분) 및 이소프로필안티피린(IS, 3.3분) 표준품의 크로마토그램

다) 정량한계

- (1) 유 : 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- (2) 소고기 : 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$

7) 정량시험

시험용액 및 표준용액을 각각 질량분석기에 주입한다. 이후, 각각에서 얻은 크로마토그램으로부터 머무름 시간을 비교하여, 내부표준물질인 이소프로필안티피린 m/z 313.1 이온의 피크면적비에 대한 노르제스토메트 m/z 201.2 이온의 피크면적비를 구하고 검량선을 작성하여 시험용액 중 노르제스토메트의 함량을 구한다.

5.3.110 리팍시민(Rifaximin)

1) 시험법 적용범위

유(乳)에 적용한다.

2) 분석원리

시료 중의 리팍시민을 아세토니트릴과 황산마그네슘을 가하여 추출하고, SPE(PAX) 카트리지로 정제한 후 액체크로마토그래프/자외부흡광검출기로 분석한다.

3) 장치

액체크로마토그래프/자외부흡광검출기

4) 시약 및 시액

가) 용매 : 액체크로마토그래프용 또는 이와 동등한 것

나) 물 : 3차 중류수 또는 이와 동등한 것

다) 표준원액 : 리팍시민 표준품을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 $\mu\text{g/mL}$ 이 되게 한다.

라) 표준용액 : 표준원액을 50% 메탄올로 희석하여 사용한다.

마) SPE 카트리지 : Bond Elut Plexa PAX 카트리지(60 mg, 3 mL) 또는 이와 동등한 것

바) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

가) 추출

균질화한 검체 5 mL에 아세토니트릴 8 mL와 무수황산나트륨 5 g 을 가하고 1분간 균질화한 다음, 3,500 rpm에서 20분간 원심분리한 후, 상등액을 질소폐지용 튜브에 모은 뒤, 다시 시료에 아세토니트릴 7 mL를 넣고 5분간 균질화한다. 균질화한 시료를 3,500 rpm에서 20분 간 원심분리하고 상등액을 이전의 상등액과 합한 뒤, 50°C 질소 기류 하에서 건고한 다음, 2% 수산화암모늄 수용액 2.5 mL로 재용해하고 헥산 0.5 mL를 가하여 1분간 균질화 하여 이액을 추출액으로 한다.

나) 정제

미리 메탄올 3 mL와 증류수 3 mL로 활성화 시킨 PAX cartridge(Bond Elut Plexa)에 추출액을 흡착시킨 다음 2% 수산화암모늄 수용액 3 mL와 메탄올 3 mL를 차례로 세척한 후, 2% 메탄올성 개미산 3 mL로 용출한다. 용출액은 50°C 질소 기류 하에서 건고한 다음, 이를 1 mL 이동상으로 재용해하고 1분간 균질화한 후, 원심분리 한다. 상등액을 0.45 μm 맴브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프/자외부흡광검출기 측정조건

- (1) 칼럼 : C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- (2) 이동상 : 0.1% 초산/아세토니트릴(5/5, v/v)
- (3) 유속 : 1 mL/min
- (4) 주입량 : 20 μL
- (5) 칼럼온도 : 30°C
- (6) 측정파장 : 237 nm

나) 표준품 크로마토그램

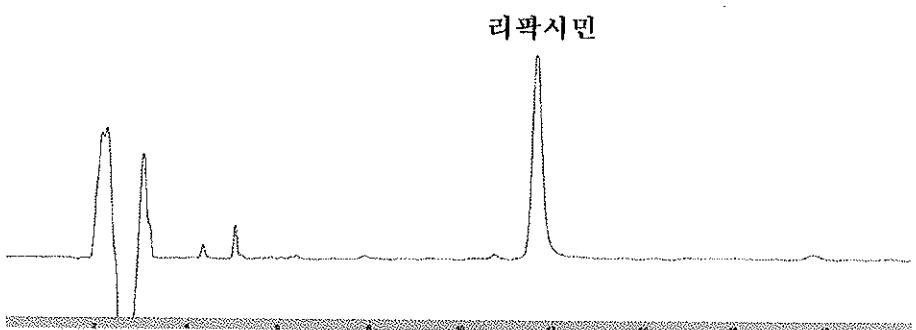


그림. 리팍시민(11.5분) 표준품의 크로마토그램

다) 정량한계

0.03 mg/L

7) 정량시험

표준용액 및 시험용액을 각각 액체크로마토그래프에 주입한다. 얻어진 피크 면적을 시간을 비교하여 리팍시민의 피크 면적으로 검량선을 작성하고 시험용액 중 리팍시민 함량을 구한다.

8) 정성시험

가) 액체크로마토그래프 측정조건

(1) 칼럼 : C₁₈(2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

(가) 이동상 A : 0.1% 아세트산

(나) 이동상 B : 아세토나트릴

min	A(%)	B(%)
0	95	5
3	95	5
5	0	100
15	0	100
15.1	95	5
20	95	5

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 주입량 : 10 μL

(5) 칼럼온도 : 20°C

나) 질량분석기 조건

(1) Ionization : ESI(positive)

(2) Capillary temperature : 350°C

(3) Capillary voltage : 5,500 V

(4) Collision gas : N₂(질소)

(5) Collision energy

Compound	Precursor Ion (<i>m/z</i>)	Fragment ion (<i>m/z</i>)	Collision energy(eV)
DNS-Cl-rifaximin	785.88	754.0, 736.1	33, 39

제 9, 7, 7.1, 7.1.2, 7.1.2.3, 2), 나), 주1) 중 ‘염이’를 ‘염이 많거나 분석간섭물질이’로, ‘반응가스(NH₃ 또는 O₂ 또는 CH₄ gas)를’를 ‘활성가스(암모니아, 산소, 메탄, 수소 등)를’ 통한 화학적 간섭 제거 방식을 이용하거나 비활성 가스(헬륨 등)을 이용한 물리적 간섭제거 방식을’으로 한다.

제 9, 7, 7.6을 다음과 같이 한다.

7.6 우루시올

1) 시험법 적용범위

옻나무를 원료로 사용한 식품 등에 적용한다.

2) 분석원리

식품 내에 존재하는 우루시올을 에탄올로 교반추출한 후 액체크로마토그래프를 이용하여 분석한다. 또한, 액체크로마토그래프-질량분석기를 이용하여 우루시올 성분을 재확인한다.

3) 장치

액체크로마토그래프-자외부흡광검출기(UV detector), 액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS)를 사용한다.

4) 시약 및 시약

- 가) 용매 : 특급 또는 이와 동등한 것
- 나) 물 : 종류수 또는 이와 동등한 것
- 다) 표준원액 : 우루시올(I, II) 표준품을 아세토니트릴에 녹여 500 μ g/mL가 되도록 한다.
- 라) 표준용액 : 표준원액을 각각 아세토니트릴에 녹여 적당한 농도로 각각 혼합, 희석한다.
- 마) 기타시약 : 특급 또는 이와 동등한 것

5) 시험용액의 조제

검체 20 g을 취하여 에탄올(95%) 100 mL를 첨가한 후 3시간 이상 교반추출한다. 이를 부흐너깔때기로 흡인여과 후 에탄올로 잔사 및 용기를 세척하여 여액을 모아 40 °C 이하의 수욕 중에서 감압농축한다. 잔류물을 아세토니트릴 2 mL에 녹여 0.2 μ m 시린지 필터로 여과한 후 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프 측정조건

- (1) 칼럼 : C18(2.1×100 mm, 1.7 μ m) 또는 이와 동등한 것
- (2) 이동상
 - A : 0.1% 트리플루오로초산 용액
 - B : 아세토니트릴

Time	A(%)	B(%)
0.0	90	10
5.0	90	10
20.0	5	95
27.0	5	95
29.0	90	10
30.0	90	10

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 검출기 : 자외부흡광검출기(276 nm)

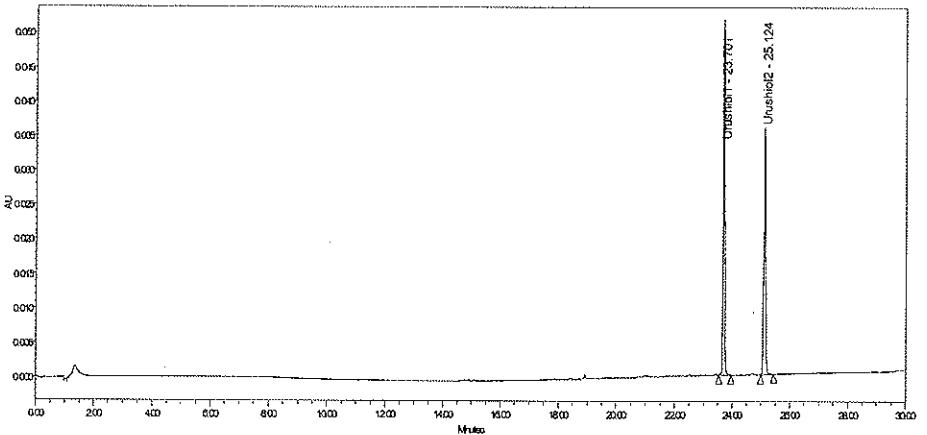
(5) 컬럼온도 : 60 °C

(6) 시험용액주입량 : 10 μL

나) 검량선 작성

표준용액을 농도별로 일정량을 취하여 액체크로마토그래프에 각각 주입한다. 얻어진 크로마토그램상의 각 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성한다.

다) 표준품의 크로마토그램



라) 정량한계 : 1.0 mg/kg(우루시올 I과 II의 합으로써)

7) 정량시험

위 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크가 표준용액 피크의 면적을 시간과 일치할 때 피크 높이 또는 면적을 검량선에 대입하여 정량한다. 우루시올 함량은 I 및 II의 합으로 계산한다.

가) 계산

$$\text{우루시올 함량}(\text{mg/kg}) = C \times V/M \times D$$

C : 검량선에서 구한 우루시올 I 및 II의 각 농도($\mu\text{g/mL}$)

V : 최종부피(mL)

M : 시료 채취량(g)

D : 희석배수

8) 확인시험

가) 액체크로마토그래프-질량분석기 측정조건

(1) 칸럼 : C18(2×100 mm, 3 μm) 또는 이와 동등한 것

(2) 이동상

- A : 0.1% 포름산 용액

- B : 메탄올

Time	A(%)	B(%)
0.0	70	30
1.1	70	30
5.0	0	100
13.0	0	100
13.1	70	30
20.0	70	30

(3) 유속 : 0.2 mL/min

(4) 이온화모드 : ESI(negative)

(5) 컬럼온도 : 40 °C

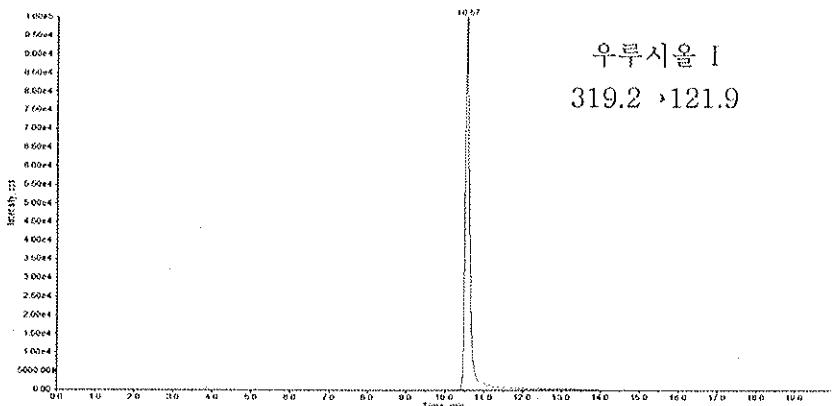
(6) 시험용액주입량 : 2 μ L

(7) 분자량 범위 : 100~500 m/z

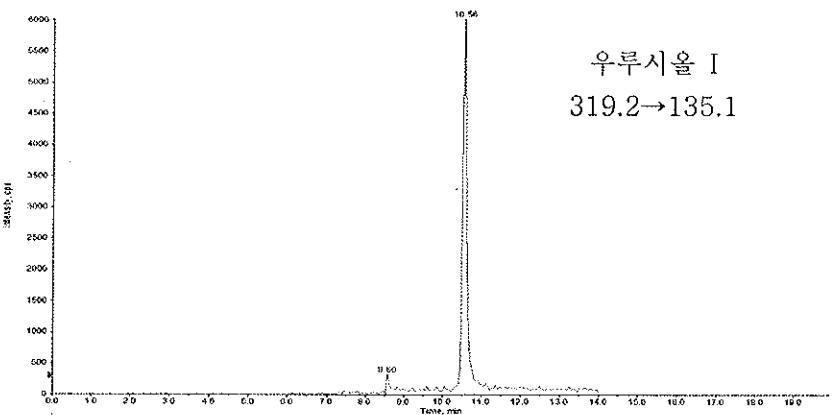
표 1. 액체크로마토그래프-질량분석기 분석을 위한 특성이온

성분	머무름 시간(분)	Precursor ion(m/z)	Fragment ion(m/z)	Collision energy(eV)
우루시올 I	10.6	319.2	121.9	44
			135.1	54
우루시올 II	11.7	347.2	121.9	48
			134.9	54

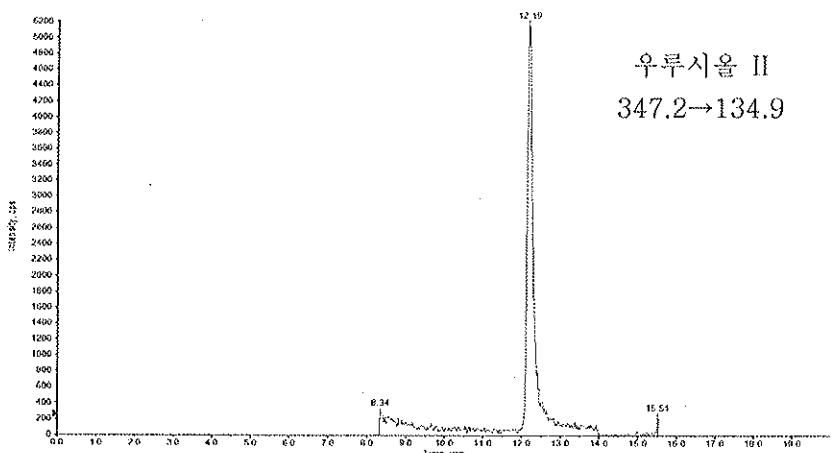
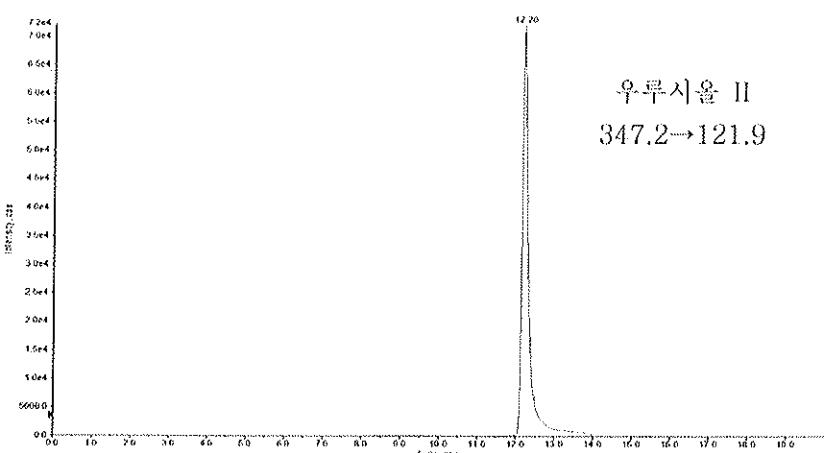
나) 표준품의 크로마토그램



우루시올 I
319.2 → 121.9



우루시올 I
319.2→135.1



제 9, 7, 7.3, 8) 중 표 4를 다음과 같이 한다.

표 4. 독성등가계수 (Toxic Equivalency Factors)

다이옥신	WHO - TEF
2,3,7,8-TCDD	1.0
2,3,7,8-TCDF	0.1
1,2,3,7,8-PeCDD	1.0
1,2,3,7,8-PeCDF	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	0.3
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1

1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01
OCDD	0.0003
OCDF	0.0003

제 9, 8, 8.1.5 중 3)의 표 1과 표 2를 다음과 같이 한다.

표 1. 유전자재조합 콩의 PCR 검사에 사용되는 프라이머와 프로브

목적	이벤트 (증폭산출크기)	프라이머/프로브	염기서열
내재 성유 전자	콩 lectin (118 bp)	LeIn02-5' LeIn02-3' Le1-Taq	5'-GCC CTC TAC TCC ACC CCC A-3' 5'-GCC CAT CTG CAA GCC TTT TT-3' 5'-FAM-AGC TTC GCC GCT TCC TTC AAC TTC C-TAMRA-3'
스크 리닝	CaMV P35S (101 bp)	P35S 1-5'	5'-ATT GAT GTG ATA TCT CCA CTG ACG T-3'
		P35S 1-3'	5'-CCT CTC CAA ATG AAA TGA ACT TCC T-3'
		P35S-Taq	5'-FAM-CCC ACT ATC CTT CGC AAG ACC CTT CCT-TAMRA-3'
구조 유전 자	tNOS (151 bp)	NOS ter 2-5'	5'-GTC TTG CGA TGA TTA TCA TAT AAT TTC TG-3'
		NOS ter 2-3'	5'-CGC TAT ATT TTG TTT TCT ATC GCG T-3'
		NOS-Taq	5'-FAM-AGA TGG GTT TTT ATG ATT AGA GTC CCG CAA-TAMRA-3'
	RRS (GTS40-3- 2) (121 bp)	RRS 01-5'	5'-CCT TTA GGA TTT CAG CAT CAG TGG-3'
		RRS 01-3'	5'-GAC TTG TCG CCG GGA ATG-3'
		RRS-Taq	5'-FAM-CGC AAC CGC CCG CAA ATC C-TAMRA -3'
	MON89788 (139 bp)	MON89788-5'	5'-TCC CGC TCT AGC GCT TCA AT-3'
		MON89788-3'	5'-TCG AGC AGG ACC TGC AGA A-3'
	A2704-12 (64 bp)	MON89788-Taq	5'-FAM-CTG AAG GCG GGA AAC GAC AAT CTG-TAMRA-3'
		KVM175-5' SMO001-3'	5'-GCA AAA AAG CGG TTA GCT CCT-3' 5'-ATT CAG GCT GCG CAA CTG TT-3'

목적	이 벤트 (증폭산물크기)	프라이머/프로브	염기서열
		A2704-12-Taq	5'-FAM-CGG TCC TCC GAT CGC CCT TCC-TAMRA-3'
	DP356043-5 (145 bp)	DP356-f8-5' DP356-r8-3'	5'-CTT TTG CCC GAG GTC GTT AG-3' 5'-GCC CTT TGG TCT TCT GAG ACT G-3'
	DP356043-5 (99 bp)	DP356-f1 DP356-r1 DP356-p	5'-GTC GAA TAG GCT AGG TTT ACG AAA AA-3' 5'-TTT GAT ATT CTT GGA GTA GAC GAG AGT GT-3' 5'-FAM-CTC TAG AGA TCC GTC AAC ATG GTG GAG CAC-TAMRA-3'
	DP305423-1 (149 bp)	DP305 f7-5' DP305 r7-3'	5'-CCC GTG TTC TCT TTT TGG CTA-3' 5'-TGA ATT TCT AAC CTG GCT GCT ATA GTT-3'
	DP305423-1 (93 bp)	DP305423-f1 DP305423-r5 DP305423-1p	5'-CGT GTT CTC TTT TTG GCT AGC-3' 5'-GTG ACC AAT GAA TAC ATA ACA CAA ACT A-3' 5'-FAM- TGA CAC AAA TGA TTT TCA TAC AAA AGT CGA GA-TAMRA-3'
	A5547-127 (150 bp)	A5547-127-5' A5547-127-3'	5'-TGT GGT TAT GGC GGT GCC ATC-3' 5'-TGC TAC AGG CAT CGT GGT GTC-3'
	A5547-127 (75 bp)	A5547-127Q-5' A5547-127Q-3' A5547-127-Taq	5'-GCT ATT TGG TGG CAT TTT TCC A-3' 5'-CAC TGC GGC CAA CTT ACT TCT-3' 5'-FAM-CCG CAA TGT CAT ACC GTC ATC GTT GT-TAMRA-3'
	MON87701 (150 bp)	MON87701-5' MON87701-3'	5'-GCA CGC TTA GTG TGT GTG TCA AAC-3' 5'-GGA TCC GTC GAC CTG CAG TTA AC-3'
	MON87701 (89 bp)	MON87701Q-5' MON87701Q-3' MON87701-Taq	5'-CGT TTC CCG CCT TCA GTT TAA A-3' 5'-TGG TGA TAT GAA GAT ACA TGC TTA GCA T-3' 5'-FAM-TCA GTG TTT GAC ACA CAC ACT AAG CGT GCC-TAMRA-3'
	CV127 (135 bp)	CV127-F CV127-R	5'-GCC CTC CTT ATT TAT CCC CTT AG-3' 5'-GGT TCG TTT AAG GAT GAA AAT TG-3'
	CV127 (88 bp)	SE-127-f4 SE-127-r2 SE-127-p3	5'-AAC AGA AGT TTC CGT TGA GCT TTA AGA C-3' 5'-CAT TCG TAG CTC GGA TCG TGT AC-3' 5'-6FAM-TTT GGG GAA GCT GTC CCA TGC CC-TAMRA-3'
	MON87769 (111 bp)	MON87769G-1 MON87769G-2	5'-ATG TAG ATT TCC CGG ACA TGA AGC-3' 5'-GTA TGC TCG ACA CTT GTC TTT TCT TTC -3'

목적	이벤트 (증폭산물크기)	프라이머/프로브	염기서열
	MON87705 (92 bp)	MON87705-1 MON87705-2	5'-CTC CAT ATT GAC CAT CAT ACT CAT TG-3' 5'-GAT AAC AAC ACC CTG AGT CTC TTC-3'

표 2. 유전자재조합 옥수수의 PCR 검사에 사용되는 프라이머와 프로브

목적	이벤트 (증폭산물크기)	프라이머/프로브	염기서열
내재 성유 전자	옥수수 SSIIb1 (151 bp)	SSIIb 1-5' SSIIb 1-3' SSIIb-Taq	5'-CTC CCA ATC CTT TGA CAT CTG C-3' 5'-TCG ATT TCT CTC TTG GTG ACA GG-3' 5'-FAM-AGC AAA GTC AGA GCG CTG CAA TGC A-TAMRA-3'
	옥수수 SSIIb3 (114 bp)	SSIIb 3-5' SSIIb 3-3' SSIIb-Taq	5'-CCA ATC CTT TGA CAT CTG CTC C-3' 5'-GAT CAG CTT TGG GTC CGG A-3' 5'-FAM-AGC AAA GTC AGA GCG CTG CAA TGC A-TAMRA-3'
	옥수수 adh1 (135 bp)	Zm adh1-F Zm adh1-R Zm adh1-P	5'-CGT CGT TTC CCA TCT CTT CCT CC-3' 5'-CCA CTC CGA GAC CCT CAG TC-3' 5'-FAM-AAT CAG GGC TCA TTT TCT CGC TCC TCA-TAMRA-3'
스크 리닝	옥수수 hmg (79 bp)	MaiJ-F2 Mhmg-rev Mhmg-probe	5'-TTG GAC TAG AAA TCT CGT GCT GA-3' 5'-GCT ACA TAG GGA GCC TTG TCC T-3' 5'-FAM-CAA TCC ACA CAA ACG CAC GCG TA-TAMRA-3'
	C a M V P35S (101 bp)	P35S 1-5' P35S 1-3' P35S-Taq	5'-ATT GAT GTG ATA TCT CCA CTG ACG T-3' 5'-CCT CTC CAA ATG AAA TGA ACT TCC T-3' 5'-FAM-CCC ACT ATC CTT CGC AAG ACC CTT CCT-TAMRA-3'
	tNOS (151 bp)	NOS ter 2-5' NOS ter 2-3' NOS-Taq	5'-GTC TTG CGA TGA TTA TCA TAT AAT TTC TG-3' 5'-CGC TAT ATT TTG TTT TCT ATC GCG T-3' 5'-FAM-AGA TGG GTT TTT ATG ATT AGA GTC CCG CAA-TAMRA-3'
구조 유전 자	Bt176 (100 bp)	Bt176 2-5' Bt176 2-3' Bt176-Taq	5'-TGT TCA CCA GCA GCA ACC AG-3' 5'-ACT CCA CTT TGT GCA GAA CAG ATC T-3' 5'-FAM-CCG ACG TGA CCG ACT ACC ACA TCG A-TAMRA-3'
	Bt11 (127 bp)	Bt11 3-5' Bt11 3-3' Bt11-Taq	5'-AAA AGA CCA CAA CAA GCC GC-3' 5'-CAA TGC GTT CTC CAC CAA GTA CT-3' 5'-FAM-CGA CCA TGG ACA ACA ACC CAA

		ACA 'TCA-TAMRA-3'
GA21 (133 bp)	GA21 3'-5' GA21 3'-3' GA21-Taq	5'-GAA GCC TCG GCA ACG TCA-3' 5'-ATC CGG TTG GAA AGC GAC TT-3' 5'-FAM-AAG GAT CCG GTG CAT GGC CG-TAMRA-3'
T25 (149 bp)	T25 1-5' T25 1-3' T25-Taq	5'-GCC AGT TAG GCC AGT TAC CCA-3' 5'-TGA GCG AAA CCC TAT AAG AAC CCT-3' 5'-FAM-TGC AGG CAT GCC CGC TGA AAT C-TAMRA-3'
MON810 (113 bp)	M810 2-5' M810 2-3' M810-Taq	5'-GAT GCC TTC TCC CTA GTG TTG A-3' 5'-GGA TGC ACT CGT TGA TGT TTG-3' 5'-FAM-AGA TAC CAA GCG GCC ATG GAC AAC AA-TAMRA-3'
NK603 (143 bp)	NK603 01-5' NK603 01-3'	5'-TAT CTT GCT CGA TGC CTT CTC C-3' 5'-ACA CCA TTG CAG ATT CTG CTA ACT-3'
NK603 (108 bp)	NK603 primer F NK603 primer R NK603 probe PR	5'-ATG AAT GAC CTC GAG TAA GCT TGT TAA-3' 5'-AAG AGA TAA CAG GAT CCA CTC AAA CAC T-3' 5'-FAM-TGG TAC CAC GCG ACA CAC TTC CAC TC-TAMRA-3'
TC1507 (103 bp) TC1507 (58 bp)	TC1507 01-5' TC1507 01-3' MaiJ-F2 MaiY-R3 MaiY-S1	5'-GCT TCA ACA GGG CTG AGT TTG-3' 5'-CCC CAC ACA GTT TGG GAT CTA-3' 5'-TAG TCT TCG GCC AGA ATG G-3' 5'-CTT TGC CAA GAT CAA GCG-3' 5'-FAM-TAA CTC AAG GCC CTC ACT CCG-TAMRA-3'
MON863 (152 bp)	tahsp17-5' MON 3-3'	5'-GTG TTT TTT GGA TCC CCG G-3' 5'-CCA TCA TGG TTG GTT GGA CTT-3'
MON863 (84 bp)	MON863 primer F MON863 primer R MON863 probe	5'-GTA GGA TCG GAA AGC TTG GTA C-3' 5'-TGT TAC GGC CTA AAT GCT GAA CT-3' 5'-FAM - TGA ACA CCC ATC CGA ACA AGT AGG GTC A-TAMRA-3'
DAS59122-7 (141 bp)	DAS 5-5' Pubi-3'	5'-GCA CCT GTG ATT GGC TCA TAA A-3' 5'-CTC CCT TAA TTC TCC GCT CAT G-3'
DAS59122-7 (84 bp)	DAS-59122-7 rb1f DAS-59122-7 rb1r DAS-59122-7 rb1s	5'-GGG ATA AGC AAG TAA AAG CGC TC-3' 5'-CCT TAA TTC TCC GCT CAT GAT CAG-3' 5'-FAM-TTT AAA CTG AAG GCG GGA AAC GAC AA-TAMRA-3'
MON88017 (100 bp)	MON88017-G-5' MON88017-G-3'	5'-GCT AGC TTG ATG GGG ATC AGA TTG-3' 5'-GAT TGG TTT GTT TTC GGC AGT ATG-3'
MON88017 (79 bp)	MON88017AF MON88017AR MON88071AP	5'-GAG CAG GAC CTG CAG AAG CT-3' 5'-TCC GGA GTT GAC CAT CCA-3' 5'-FAM-TCC CGC CTT CAG TTT AAA CAG

		AGT CGG GT-TAMRA-3'
MIR604 (142 bp)	MIR604-CJB264-5' MIR604es-LB-R-3'	5'-TCG CGC GCG GTG TCA TCT ATG-3' 5'-CGC GAC ACA CCT CGT TAG TTA A-3'
MIR604 (76 bp)	MIR604 primer F MIR604 primer R	5'-GCG CAC GCA ATT CAA CAG-3' 5'-GGT CAT AAC GTG ACT CCC TTA ATT CT-3'
	MIR604 probe	5'-FAM-AGG CGG GAA ACG ACA ATC TGA TCA TG-TAMRA-3'
MON89034 (112 bp)	MON89034-5' MON89034-3'	5'-CTC CAT ATT GAC CAT CAT ACT C-3' 5'-GGG TTG AAA TGA AAT TTC CAA TAC-3'
	MON89034-Taq	5'-FAM-ATC CCC GGA AAT TAT GTT-MGBNFQ-3'
MIR162 (149 bp)	FE02402-5' FE01004-3'	5'-GTG GAC TGA AAG GAG ACT TTG TTT ATC-3' 5'-GAT TGT CGT TTC CCG CCT TCA GTT-3'
MIR162 (92 bp)	MIR162-f1 MIR162-r1 MIR162-p1	5'-GCG CGG TGT CAT CTA TGT TAC TAG-3' 5'-TGC CTT ATC TGT TGC CTT CAG A-3' 5'-FAM-TCT AGA CAA TTC AGT ACA TTA AAA ACG TCC GCC A-TAMRA-3'
DP098140-6 (147 bp)	DP098140-6-5' DP098140-6-3'	5'-TCT CTT TGC TTG GTC TTT CTC TAT CGA-3' 5'-CCA AAC GTA AAA CGG CTT GTC C-3'
DP098140-6 (80 bp)	DP098-f6 DP098-r2 DP098-p5	5'-GTG TGT ATG TCT CTT TGC TTG GTC TT-3' 5'-GAT TGT CGT TTC CCG CCT TC-3' 5'-FAM-CTC TAT CGA TCC CCC TCT TTG ATA GTT TAA ACT-TAMRA-3'
3272 (141 bp)	FE02401-5' FE01002-3'	5'-CGA TCG AAT TCA TCA GAC CAG ATT C-3' 5'-CGT GAC TCC CTT AAT TCT CCG CT-3'
3272 (95 bp)	Event 3272-F Event 3272-R Event 3272-P	5'-TCA TCA GAC CAG ATT CTC TTT TAT GG-3' 5'-CGT TTC CCG CCT TCA GTT TA-3' 5'-FAM-ACT GCT GAC GCG GCC AAA CAC TG-TAMRA-3'
MON87460 (85 bp)	MON87460-5' MON87460-3'	5'-AGC GTT AGA CGG CTG TCT TTG AG -3' 5'-GAT GGG GGG CGT TTC TTT GGA AG -3'
MON87460 (82 bp)	MON87460 1Q MON87460 2Q MON87460-Taq	5'-CAC GTT GAA GGA AAA TGG ATT G-3' 5'-TCG CGA TCC TCC TCA AAG AC-3' 5'-FAM-AGG GAG TAT GTA GAT AAA TTT TCA AAG CGT TAG ACG GC-TAMRA-3'
5307 (149 bp)	FE06138 MIC5307es-R21	5'-CGC GCG GTG TCA TCT ATG T-3' 5'-GGC CCA GGG AAG AGG GTA TAT-3'

제 9, 8, 8.1.5 중 4)를 다음과 같이 한다.

4) 시험조작(PCR)

각 추출 DNA에 대한 PCR은 2회의 확인시험으로 나누어 아래의 방법으로 실시하며, 1차 확인시험에서는 내재성유전자와 전사개시인자(promoter 35S) 및/또는 전사종결인자(NOS terminator)에 대한 프라이머로 PCR을 실시한다. 그 결과 2 반복 추출 DNA 중 내재성유전자 특이 PCR 산물이 확인된 DNA에서의 35S 프로모터와 NOS 터미네이터의 검출 결과에 따라 다음의 유전자재조합 이벤트에 대한 2차 확인시험을 실시한다.

- ① 35S 프로모터와 NOS 터미네이터 특이 PCR 산물이 모두 확인된 경우: RRS, MON89788, A2704-12, DP356043-5, DP305423-1, A5547-127, MON87701, CV127, MON87769, MON87705(이상 콩), Bt176, Bt11, GA21, T25, MON810, NK603, TC1507, MON863, DAS59122-7, MON88017, MIR604, MON89034, MIR162, DP098140-6, 3272, MON87460, 5307(이상 옥수수)
- ② 35S 프로모터 특이 PCR 산물만 확인된 경우: MON89788, A2704-12, DP356043-5, DP305423-1, A5547-127, MON87701, CV127, MON87769, MON87705(이상 콩), Bt176, T25, MON810, TC1507, DAS59122-7, DP098140-6(이상 옥수수)
- ③ NOS 터미네이터 특이 PCR 산물만 확인된 경우: MON89788,

DP356043-5, DP305423-1, MON87701, CV127, MON87769, MON87705(이상 콩), GA21, MIR604, MIR162, DP098140-6, 3272, 5307(이상 옥수수)

④ 35S 프로모터와 NOS 터미네이터 특이 PCR 산물이 모두 확인되지 않은 경우: MON89788, DP356043-5, DP305423-1, MON87701, CV127, MON87769, MON87705(이상 콩), DP098140-6(이상 옥수수)

가) PCR 반응액의 조제

PCR을 하고자 하는 검체 수에 맞춰 사용하는 튜브의 수를 정하고, 이에 따른 전체 필요량에 여유분을 더하여 전체 PCR 반응액의 양을 정한다. 주형 DNA를 뺀 나머지 성분이 표 4의 PCR 반응액의 조성과 같이 되도록 하여 혼합한다. PCR 반응액은 얼음 위에서 취급하며, PCR용 튜브에 각 22.5 μ L씩 소분한다. 프라이머를 사용하지 않는 음성대조군에 대해서는 별도로 프라이머를 함유하지 않은 PCR 반응액으로부터 22 μ L를 분주하고 멸균증류수 0.5 μ L를 가한다.

나) 주형 DNA의 첨가

분취한 PCR 반응액 22.5 μ L에 주형 DNA용액 2.5 μ L를 첨가한다. 주형 DNA의 첨가는 음성대조군, 추출 DNA (20 ng/ μ L), 양성대조군의 순서로 한다.

다) PCR 증폭

모든 반응액을 분주한 후 PCR을 실시하는데, PCR의 반응조건은 표 5와 같다. 95°C에서 10분간 방치하여 최초의 변성이 일어나게 한 후, 95°C에서 30초간 변성시키고(denaturation), 60°C에서 30초간 유전자를 결합시키며(annealing), 72°C에서 30초간 신장반응(extension)이 일어나도록 하는 것을 1회로 하여, 40회를 반응시킨다. 이후 72°C에서 7분간 최종 신장반응(elongation)을 하고, 모든 반응이 종료되면 4°C를 유지하도록 설정한다. 이상에서 얻어진 PCR 산물은 바로 전기영동하여 증폭산물을 확인하거나 냉동 보관한다.

제 9, 8, 8.1.5, 5) 중 “전기영동에 의해”를 “전기영동 등으로”으로 하 고, 6), 다)를 다음과 같이 한다.

유전자재조합 이벤트 중 35S 프로모터 및 NOS 터미네이터를 모두 사용하는 것으로는 RRS, Bt11, NK603, MON863, MON88017, MON89034, MON87460이 있고, 35S 프로모터를 사용하는 것으로는 RRS, A2704-12, A5547-127, Bt176, Bt11, T25, MON810, NK603, TC1507, MON863, DAS59122-7, MON88017, MON89034, MON87460이 있으며, NOS 터미네이터를 사용하는 것으로는 RRS, Bt11, GA21, NK603, MON863, MON88017, MIR604, MON89034, MIR162, 3272, MON87460이 있다.

제 9, 8, 8.1.6, 8.1.11, 8.1.12, 8.1.13의 “Real-Time”을 “실시간”으로 한다.

제 9, 8, 8.1.6 중 2)를 다음과 같이 한다.

콩 및 옥수수의 내재성유전자와 구조유전자의 복제수(copy number)를 구하는데 사용되는 프라이머와 프로브는 표 1 및 표 2와 같으며, 이와 동등한 결과를 얻을 수 있는 프라이머와 프로브를 사용할 수도 있다. 동일한 검체에 대하여 내재성유전자와 구조유전자의 복제수 측정은 같은 플레이트에서 실시되어야 하며, 여러 종의 유전자 재조합 이벤트가 혼재하고 있을 수 있어 분석대상이 복수이므로 정성분석 결과 검출된 구조유전자를 대상으로 실시간 PCR을 실시하여 각 이벤트별로 정량하고, 이들을 합산하여 결과를 판정한다.

제 9, 8, 8.1.6, 3), 가) 중 “참고”를 삭제하고, 나)에서 “Master mixture”를 “실시간 PCR 반응액”으로 하고, 7) 중 “RRS, GA21, Bt176, Bt11, T25, MON810”을 “유전자재조합 이벤트”로 한다.

제 9, 8, 8.1.11 중 “면화인 531, 1445, 15985, 281/3006, LLCotton25, MON88913, GHB614, T304-40×GHB119”를 삭제하고, 표 9를 다음과 같이 한다.

목적	이벤트 (증폭산물크기)	프라이머/프로브	염기서열
내재 성유 전자	면화 acp1 (76 bp)	acp1 primer1-5' acp1 primer2-3'	5'-ATT GTG ATG GGA CTT GAG GAA GA-3' 5'-CTT GAA CAG TTG TGA TGG ATT

품적	이벤트 (증폭산물크기)	프라이머/프로브	임기시열
		acp1 probe-Taq	GTG-3' 5'-FAM-ATT GTC CTC TTC CAC CGT GAT TCC GAA -TAMRA-3'
	531* (72 bp)	531 primer1-5' 531 primer2-3' 531 probe-Taq	5'-TCC CAT TCG AGT TTC TCA CGT-3' 5'-AAC CAA TGC CAC CCC ACT GA-3' 5'-FAM-TTG TCC CTC CAC TTC TTC TC-TAMRA-3'
	1445 (87 bp)	1445 primer1-5' 1445 primer2-3' 1445 probe-Taq	5'-GGA GTA AGA CGA TTC AGA TCA AAC AC-3' 5'-ATC GAC CTG CAG CCC AAG CT-3' 5'-FAM-ATC AGA TTG TCG TTT CCC GCC TTC AGT TT -TAMRA-3'
	15985 (82 bp)	15985 primer1-5' 15985 primer2-3' 15985 probe-Taq	5'-GTT ACT AGA TCG GGG ATA TCC-3' 5'-AAG GTT GCT AAA TGG ATG GGA-3' 5'-FAM-CCG CTC TAG AAC TAG TGG ATC TGC ACT GAA-TAMRA-3'
구조 유전자	Mon88913 (94 bp)	Mon88913 primer1-5' Mon88913 primer2-3' Mon88913 probe-Taq	5'-GGC TTT GGC TAC CTT AAG AGA GTC-3' 5'-CAA ATT ACC CAT TAA GTA GCC AAA TTA C-3' 5'-FAM-AAC TAT CAG TGT TTG ACT ACA T-MGBNFQ***-3'
	LLCotton25 (79 bp)	KVM156 1-5' KVM155 2-3' TM018 probe-Taq	5'-CAA GGA ACT ATT CAA CTG AG-3' 5'-CAG ATT TTT GTG GGA TTG GAA TTC-3' 5'-FAM-CTT AAC AGT ACT CGG CCG TCG ACC GC -TAMRA-3'
	281/3006 (111 bp)	281 f1-5' 281 r2-3' 281s2 probe-Taq	5'-CTC ATT GCT GAT CCA TGT AGA TTT C-3' 5'-GGA CAA TGC TGG GCT TTG TG-3' 5'-FAM-TTG GGT TAA TAA AGT CAG ATT AGA GGG AGA CAA -TAMRA-3'
	GHB614 (120 bp)	SHA007-5' SHA008-3' TM072-Taq	5'-CAA ATA CAC TTG GAA CGA CTT CGT-3' 5'-GCA GGC ATG CAA GCT TTT AAA-3' 5'-FAM-CTC CAT GGC GAT CGC TAC GTT CTA GAA TT-TAMRA-3'
	T304-40 (79 bp)	T304-40-5' T304-40-3' T304-40-Taq	5'-AGC GCG CAA ACT AGG ATA AAT T-3' 5'-CCT AGA TCT TGG GAT AAC TTG AAA AGA-3' 5'-FAM-TCG CGC GCG GTG TCA TCT ATC TC-TAMRA-3'
	GHB119 (90 bp)	GHB119-5' GHB119-3' GHB119-Taq	5'-CCA GTA CTA AAA TCC AGA TCA TGC A-3' 5'-GAA ATT GCG TGA CTC AAA TTC C-3' 5'-FAM-CCT GCA GGT CGA CGG CCG AGT AC-TAMRA-3'

제 9, 8, 8.1, 8.1.11, 3) 중 표 15와 표 16과 제 10, 8, 8.1.12, 3), 표 22

와 제 10, 8, 8.1.13, 2), 나)와 3) 중 표 29와 표 30에서 “PCR 반응 조건”을 “실시간 PCR 반응 조건”으로 한다.

제 9, 8, 8.1, 8.1.12 중 “제조제 내성”을 삭제한다.

제 9, 8, 8.4를 다음과 같이 신설한다.

8.4 카페인 시험법

1) 시험법 적용범위

녹차, 액상커피, 음료 등 카페인 함유 액상식품에 적용한다.

2) 분석원리

본 시험법은 시료 중 카페인을 물로 추출하여 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 통해 카페인의 최대 흡수 파장인 280 nm에서 정성 및 정량 분석하는 방법이다.

3) 장치

가) 액체크로마토그래프

나) 역상계 카트리지 : Sep-pak C₁₈(500 mg) 또는 이와 동등한 것
(사용 전에 메탄올 5 mL 및 물 5 mL를 차례로 흘려 보낸 후 사용한다).

4) 시약 및 시약

가) 카페인(Caffeine) : 표준품

나) 메탄올(Methanol)

다) 초산(Acetic acid)

라) 이동상 용매 = 메탄올:초산:물(20:1:79)

마) 카페인 표준용액 : 카페인 표준품 0.1 g을 정밀히 달아 물에 녹여 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다. 표준원액을 물로 희석하여 1~100 μg /mL가 되도록 한 액을 검량선용 표준용액으로 한다.

5) 시험용액의 조제

가) 추출

(1) 다큐(액상차), 커피(액상커피), 음료류, 코코아가공품 또는 초콜릿류(시럽류), 당류가공품(시럽류), 주류, 기타 액상식품의 시판되는 상태의 검체를 온탕으로 적당히 희석한다.

나) 정제

추출액 5 mL를 역상계 카트리지에 분당 3~4 mL의 속도로 통과 시켜 버린 후 이동상 용액 15 mL로 용출시킨 액을 시험용액으로 한다.

6) 시험조작

가) 액체크로마토그래프의 측정조건

(1) 검출기 : 자외부흡광검출기(UV), 280 nm

(2) 칼럼 : Nova-Pak C₁₈(3.9 mm×300 mm, 5 μm) 또는 이와 동등

한 것

(3) 이동상 = 메탄올 : 초산 : 물(20:1:79)

(4) 이동상 유량 : 1.0 mL/min

(5) 주입량 : 10 µL

7) 정성시험

시험용액 및 표준용액을 앞의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입하고, 얻어진 크로마토그램상의 피크는 어느 측정 조건에서도 표준 용액과 시험용액의 머무름 시간이 일치하여야 한다.

8) 정량시험

시험용액 및 표준용액을 앞의 조건에 따라 액체크로마토그래프에 주입하고, 얻어진 피크의 높이 또는 면적으로부터 검체중의 카페인 함량을 산출한다.

[별표 2], 1. 중 38를 다음과 같이 신설하고, 38부터 62까지를 39부터 63 까지로 한다.

38	옻나무	칠목, Chinese sumac	<i>Rhus verniciflua</i> Stokes	줄기	동 공전 제2, 2, 1), (17) 옻나무의 사용기준에 따름
----	-----	-------------------	--------------------------------	----	---------------------------------------

[별표 4], (345) 피라크로스트로빈(Pyraclostrobin) 중 다음 항목을 신

설한다.

체리 2.0

※ 체리는 수입식품에 대한 농약 잔류허용기준임

[별표 4] (352) 메톡시페노자이드(Methoxyfenozide) 중 다음 항목을 각각 신설한다.

아몬드 0.1

피칸 0.05

※ 아몬드, 피칸은 수입식품에 대한 농약 잔류허용기준임

[별표 5] (24) 카보설판(Carbosulfan) 중 모든 기준을 삭제하고, 다음 항목을 신설한다.

(66) 카보후란(Carbofuran)의 개별농산물의 농약잔류허용기준에 따른다.

[별표 5] (66) 카보후란(Carbofuran) 중 “수삼 0.03”을 “수삼 0.1”로 하고, 다음 항목을 각각 신설한다.

건삼 0.5

홍삼 0.2

인삼농축액 0.7

홍삼농축액 0.3

[별표 7]의 (125)에서 (130)까지를 다음과 같이 신설한다.

(125) 셀피린(Sulpyrine, Dipyrone, Metamizole) : 항염증제

식품명	mg/kg
소근육	0.1
소간	0.1
소신장	0.1
소지방	0.1
유	0.05
돼지근육	0.1
돼지간	0.1
돼지신장	0.1
돼지지방	0.1
말근육	0.1
말간	0.1
말신장	0.1
말지방	0.1

(126) 싸이퍼메쓰린(Cypermethrin) : 살충제

식품명	mg/kg
소근육	0.05
소간	0.05
소신장	0.05
소지방	0.2
양근육	0.05
양간	0.05
양신장	0.05
양지방	0.2

유 0.1

(127) 피페라진(Piperazine) : 구충제

식품명	mg/kg
가금근육	0.1
가금간	0.1
가금신장	0.1
가금지방	0.1
알	2.0
돼지근육	0.3
돼지간	1.0
돼지신장	0.6
돼지지방	0.5
소근육	0.3
소간	1.0
소신장	0.6
소지방	0.5
유	0.05

(128) 아미카신(Amikacin) : 항생제

식품명	mg/kg
돼지근육	0.1
돼지간	0.6
돼지신장	2.5
돼지지방	0.1
소근육	0.1
소간	0.6

소신장	2.5
소지방	0.1
유	0.15

(129) 노르제스토메트(Norgestomet) : 합성호르몬제

식품명	mg/kg
소근육	0.0002
소간	0.0002
소신장	0.0002
소지방	0.0002
유	0.0002

(130) 리파시민(Rifaximin) : 항생제

식품명	mg/kg
유	0.06

부칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시 후 14일이 경과한 날부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 이후 최초로 제조·가공 또는 수입한 식품(수입하기 위해 선적한 식품을 포함한다)부터 적용한다.

제3조(농약 및 동물용의약품 잔류허용기준 적용례) 별표 4, 별표 5, 별표 7의 개정규정은 이 고시 시행 당시 이미 제조·가공 또는 수입한 식품(수입하기 위해 선적한 식품 및 유통 중인 농산물을 포함한다)에 대하여

여도 적용한다.

제4조(경과조치) 이 고시는 이 고시 시행 당시 제조·가공·판매 또는 수입되어 검사가 진행 중인 사항에 대하여는 종전의 규정에 따른다.

신 · 구조문 대비표

현 행	개 정 안
제 1. 총칙 (생 략)	제 1. 총칙 (현행과 같음)
제 2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격 1. (생 략) 2. 식품원료 기준 1) 원료 등의 구비요건 (1) ~ (16) (생 략) (17) 옻나무의 사용기준 ① 옻나무는 우루시올(urushiol) <u>성분을 제거한 옻나무 물추출물 형태로 옻닭 또는 옻오리 조리에 사용되는 제품의 원료로만 다음과 같은 형태로 사용할 수 있다.</u> 수 있다. ② (생 략) ③ 이때 옻나무 물추출물 또는 이를 사용한 제품은 우루시올 성분이 검출되어서는 아니 된다. (18) (생 략) 2) (생 략)	제 2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격 1. (현행과 같음) 2. 식품원료 기준 1) 원료 등의 구비요건 (1) ~ (16) (현행과 같음) (17) 옻나무의 사용기준 ① 옻나무는 옻닭 또는 옻오리 조리에 사용되는 제품의 원료로만 다음과 같은 형태로 사용할 수 있다. ④ 물추출물 ⑤ 물추출물 제조용 티백(Tea bag) ② (현행과 같음) ③ 이때 옻나무를 사용한 제품은 우루시올(urushiol) 성분이 검출되어서는 아니 된다. (18) (현행과 같음) 2) (현행과 같음)

현 행	개 정 안																								
유통기간 산출시점으로 본다.																									
16) ~ 18) (생 략)	16) ~ 18) (현행과 같음)																								
제 3. ~ 제 4. (생 략)	제 3. ~ 제 7. (현행과 같음)																								
제 5. 식품별 기준 및 규격	제 5. 식품별 기준 및 규격																								
1. ~ 18. (생 략)	1. ~ 18. (현행과 같음)																								
19. 특수용도식품	19. 특수용도식품																								
19-1 ~ 19-4 (생 략)	19-1 ~ 19-4 (현행과 같음)																								
19-5 특수의료용도등식품	19-5 특수의료용도등식품																								
1) ~ 4) (생 략)	1) ~ 4) (현행과 같음)																								
5) 규격	5) 규격																								
<table border="1"> <thead> <tr> <th>유형 항목</th><th>환자용 균형영양식</th><th>당뇨환자용 식품</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(1)~(8)</td><td>(생 략)</td><td>(생 략)</td></tr> <tr> <td>< 신 설 ></td><td>< 신 설 ></td><td>< 신 설 ></td></tr> <tr> <td>(9)~(12)</td><td>(생 략)</td><td>(생 략)</td></tr> </tbody> </table>	유형 항목	환자용 균형영양식	당뇨환자용 식품	(1)~(8)	(생 략)	(생 략)	< 신 설 >	< 신 설 >	< 신 설 >	(9)~(12)	(생 략)	(생 략)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>유형 항목</th><th>환자용 균형영양식</th><th>당뇨환자용 식품</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(1)~(8)</td><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td></tr> <tr> <td>(9) 볼소</td><td><u>0.2 mg/100kcal</u> <u>이하이어야</u> 한다.</td><td>-</td></tr> <tr> <td>(10)~(12)</td><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td></tr> </tbody> </table>	유형 항목	환자용 균형영양식	당뇨환자용 식품	(1)~(8)	(현행과 같음)	(현행과 같음)	(9) 볼소	<u>0.2 mg/100kcal</u> <u>이하이어야</u> 한다.	-	(10)~(12)	(현행과 같음)	(현행과 같음)
유형 항목	환자용 균형영양식	당뇨환자용 식품																							
(1)~(8)	(생 략)	(생 략)																							
< 신 설 >	< 신 설 >	< 신 설 >																							
(9)~(12)	(생 략)	(생 략)																							
유형 항목	환자용 균형영양식	당뇨환자용 식품																							
(1)~(8)	(현행과 같음)	(현행과 같음)																							
(9) 볼소	<u>0.2 mg/100kcal</u> <u>이하이어야</u> 한다.	-																							
(10)~(12)	(현행과 같음)	(현행과 같음)																							
제 6. ~ 제 7. (생 략)	제 6. ~ 제 7. (현행과 같음)																								
제 8. 검체의 채취 및 취급방법	제 8. 검체의 채취 및 취급방법																								
1. ~ 5. (생 략)	1. ~ 5. (현행과 같음)																								
6. 개별 검체채취 및 취급 방법	6. 개별 검체채취 및 취급 방법																								
1) 수산물의 검체채취	1) 수산물의 검체채취																								
(1) (생 략)	(1) (현행과 같음)																								
(2) 정밀검사용 검체채취 방법	(2) 정밀검사용 검체채취 방법																								

현 행	개 정 안
① ~ ③ (생 략)	① ~ ③ (현행과 같음)
④ 정밀검사는 채취된 검체 전체에서 먹을 수 있는 부위만을 취해 균질화 한 후 그 중 일정량을 1개의 시험검체로 한다. 다만, 어류는 머리, 꼬리, 내장, 뼈, 비늘을 제거한 후 껍질을 포함한 근육부위를 시험검체로 한다.	④ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____하고, 이때 검체를 물에서 끼낸 경우나, 물로 씻은 경우에는 표준체 (20 mesh 또는 이와 동등한 것)에 없어 물을 제거한 후 균질화 한다.
⑤ (생 략)	⑤ (현행과 같음)
2) ~ 6) (생 략)	2) ~ 6) (현행과 같음)
제 9. 일반시험법	
1. ~ 4. (생 략)	1. (현행과 같음)
1.1 ~ 1.2.1.12 (생 략)	1.1 ~ 1.2.1.12 (현행과 같음)
<신 설>	1.2.1.13 불소 가. 이온선택전극법 1) 시험법 적용범위 환자용균형영양식에 적용한다.

현 행	개 정 안
	<p>2) 장치</p> <p>가) 불소이온선택전극</p> <p>나) 온도측정전극</p> <p>다) 전위차측정기</p> <p>라) 교반기 및 자석교반 막대</p> <p>마) 플라스틱(Polyethylene) 정용플라스크 및 용기</p> <p>3) 시약 및 시액</p> <p>가) 이온세기조절액(Total ionic strength adjustment buffer, TISAB)</p> <p>57 mL의 빙초산과 염화나트륨 58 g, (1,2-cyclohexylene dinitrilo)tetraacetic acid 4 g 을 500 mL의 중류수에 녹인 후 5 N NaOH로 pH를 5.25 ± 0.25로 조정한 뒤 이를 1 L로 정용하여 제조한다. 시판용 이온세기조절액 (TISAB II 혹은 이와 동등한 것)을 사용할 수 있다.</p> <p>나) 불소 표준용액</p> <p>(1) 불소 표준품 : 불화나트륨 (NaF)을 표준 품으로 사용한다.</p>

현 행	개 정 안
	(2) 불소 표준원액 : 불화나트륨(NaF)을 105~110°C에서 4시간 가열하고, 테시케이터 안에서 식힌 다음 221.0 mg을 중류수에 녹여 100 mL로 한 것을 표준원액으로 하거나, 시판용 표준원액을 사용한다.
	(3) 불소 표준용액 : 표준원액을 중류수로 희석하여 10 mg/L가 되게 희석하고 검량선 최종농도가 0.05~1.0 mg/L가 되도록 희석하여 사용하며 필요에 따라 농도를 달리 할 수 있다.
	4) 시험용액의 조제 검체 5 mL를 50 mL 플라스틱 정용플라스크에 취하고 적당량의 중류수를 가하여 충분히 섞은 후 여기에 25 mL의 이온세기조절액을 가하고 중류수를 가하여 표선까지 정확히 50 mL로 정용한 것을 시험용액으로 한다.
	5) 시험조작

현 행	개 정 안
	<p>가) 기기 측정조건</p> <p>(1) 불소이온 측정</p> <p>시험용액을 플라스틱 용기 에 옮기고 자석교반 막대 를 넣고 충분히 교반한 후 일정한 속도로 교반하면서 이온선택전극과 온도측정 전극의 측정값이 안정화 되었을 때에 불소이온 농 도별 전위 값(mV)을 구한 다. 상온에서 측정 시 온 도편차가 $\pm 1^{\circ}\text{C}$가 되도록 한다. 매 측정 시 물로 전 극 표면을 씻고 물기를 제 거한다.</p>
	<p>(2) 검량선 작성</p> <p>표준용액을 시험용액과 같 이 반응시킨 후 농도별로 전위 값(mV)을 측정하 고, 불소 농도의 상용대 수(log) 값으로 검량선 을 작성하여 기울기와 y 절편을 구한다.</p>
	<p>6) 계산방법</p> <p>검체 중의 불소의 함량의 계산은 다음과 같다.</p>

현 행	개 정 안
	$\frac{\text{불소}}{(\text{mg}/100 \text{ mL})} = S \times \frac{a}{\text{검체취량(mL)}} \times \frac{100}{1,000}$ <p>S : 시험용액중의 불소농도($\mu\text{g/mL}$) $= 10 [(\text{전위값} - y \text{ 절편}) / \text{기울기}]$</p> <p>a : 시험용액의 전량(50 mL))</p>
5. 식품 중 잔류동물용의약품시험법	5. (현행과 같음)
5.1 ~ 5.3.49 (생약)	5.1 ~ 5.3.49 (현행과 같음)
5.3.50 옥시테트라싸이클린(Oxytetracycline)	5.3.50 옥시테트라싸이클린(Oxytetracycline)
1) ~ 5) (생약)	1) ~ 5) (현행과 같음)
6) 시험조작	6) 시험조작
가) 측정조건	가) 측정조건
(1) ~ (4) (생약)	(1) ~ (4) (현행과 같음)
(5) 측정파장 : <u>230 nm</u>	(5) 측정파장 : <u>360 nm</u>
(6) (생약)	(6) (현행과 같음)
7) (생약)	7) (현행과 같음)
5.3.51 ~ 5.3.69 (생약)	5.3.51 ~ 5.3.69 (현행과 같음)
5.3.70 티암페니콜(Thiamphenicol)	5.3.70 티암페니콜(Thiamphenicol)
1) ~ 3) (생약)	1) ~ 3) (현행과 같음)
4) 시약 및 시액	4) 시약 및 시액
가) ~ 마) (생약)	가) ~ 마) (현행과 같음)
바) 기타시약 : 특급 또는 이와	바) 수산화암모늄 : 30%, 특급

