

식품의약품안전처 공고 제2025-524호

건강기능식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안)
행정예고

2025. 12. 23.

식품의약품안전처

식품의약품안전처 공고 제2025-524호

「건강기능식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처고시 제2025-11호, 2025.3.5.)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2025년 12월 23일

식품의약품안전처장

「건강기능식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안) 행정예고

1. 개정 이유

키토올리고당의 기능성 내용을 추가하고, 관련 제조기준 및 시험법을 신설하는 한편, 비타민 B1, 나이아신 등 영양성분과 유산균수 등 기능성 원료의 시험법을 개선하여 건강기능식품에 대한 올바른 기준과 규격을 정하고자 함

2. 주요 내용

가. 기능성 원료의 기능성 내용 확대(안 제 3. 2. 2-49 1) 3) 및 4), 제 4. 3. 3-82)

- 1) 키토올리고당 제품의 활성화를 위하여 기능성 내용을 추가하여 고시화할 필요가 있음

- 2) 키토올리고당의 기능성 내용(식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음),
제조기준 및 시험법을 추가·신설하여 고시형 원료에 반영함
- 3) 고시형 원료의 기능성 내용 확대에 따른 제품 생산 활성화를 기대함

나. 개별성분별 시험법 개정(안 제 4.2.2-1.4.2.6, 제 3.3-6, 제 3.3-8, 제 3.3-12,
제 3.3-13, 제 3.3-32, 제 3.3-57, 제 3.3-58)

- 1) 시험 대상 명확화, 시료 채취량 확대, 정제방법 추가, 관련 규정의
개정 사항 반영 등 시험법 개선 필요
- 2) 붕해시험법, 비타민 B₁, 나이아신, 비타민 B₁₂, 비오틴, 지방산, 유산균수,
유산간·구균 및 비피더스균 시험법을 개선하고자 함
- 3) 시험법 개정으로 효율적이고 정확한 분석 가능

3. 의견 제출

「건강기능식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는
단체 또는 개인은 2026년 2월 23일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품
안전처장(우편번호 : 28159, 주소 : 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로
187 오송보건의료행정타운 식품의약품안전처, 참조 : 식품기준과, (전화)
043-719-2439, (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 제2025-524호

「건강기능식품에 관한 법률」 제14조 및 제15조에 따른 「건강기능식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처 고시 제2025-11호, 2025.3.5.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2025년 12월 23일

식품의약품안전처장

건강기능식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안)

건강기능식품의 기준 및 규격 일부를 다음과 같이 개정한다.

제 3. 2. 2-49 1) (3)을 다음과 같이 한다.

(3) 기능성분(또는 지표성분)의 함량

(가) 키토산 : 탈아세틸화도(당 사슬 중에 글루코사민 잔기 비율)가 80% 이상이어야 하며, 키토산(글루코사민으로서)을 800 mg/g 이상 함유하고 있어야 함

(나) 키토올리고당

(ㄱ) 키토올리고당을 200 mg/g 이상 함유하고 있어야 함

(ㄴ) 키토바이오스가 18% 이상인 키토올리고당을 200 mg/g 이상

함유하여야 함(식후 혈당상승 억제 기능성에 한함)

제 3. 2. 2-49 3) (1)을 다음과 같이 한다.

(1) 기능성분 내용

(가) 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음

(나) 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음(키토산에 한함)

(다) 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음[1) (3) (나) (ㄴ)에 한함]

제 3. 2. 2-49 3) (2) (가), (나)를 각각 (나), (가)로 하고, 같은 (3)에 (다)를 다음과 같이 신설한다.

(다) 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음 : 키토올리고당으로서
750 mg 및 키토바이오스로 135 mg

제 3. 2. 2-49 4) (4) 및 (5)를 각각 (5) 및 (6)으로 하고, 같은 4)에 (4)를 다음과 같이 신설한다.

(4) 키토바이오스 : 제 4. 3-82 키토바이오스

제 4. 2. 2-1. 4. 4.2. 4.2.6 중 “과립제품”과 “과립상의”를 각각 “장용과립제품”과 “장용과립상의”로 한다.

제 4. 2. 2-1. 4. 4.2. 4.2.6. 4.2.6.1 ① 중 “내용물”을 “장용성 내용물”로 한다.

제 4. 3-6. 3-6-2. 4. 4.2. 4.2.1 중 “비타민 B₁으로서 100 $\mu\text{g/mL}$ ”을 “100 $\mu\text{g/mL}$ ”로 한다.

제 4. 3. 3-6. 3-6-2. 4. 4.3. 4.3.1 중 “1 g”을 “0.1~1 g”으로 한다.

제 4. 3. 3-6. 3-6-2. 5. 5.2. 5.2.1을 다음과 같이 한다.

5.2.1. 비타민 B₁의 함량(mg/100 g)

$$= C \times \frac{(a \times b)}{S} \times \frac{100}{1000} \times \frac{263.35}{337.27}$$

C : 시험용액 중의 비타민 B₁의 농도($\mu\text{g/mL}$)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 시험용액의 희석배수

S : 시료 채취량(g)

263.35 : 비타민 B₁의 분자량

337.27 : Thiamine hydrochloride의 분자량

제 4. 3. 3-8. 3-8-3. 4. 4.1. 4.1.1 중 “911.9 mg”을 “941.1 mg”으로 한다.

제 4. 3. 3-8. 3-8-3. 4. 4.3. 4.3.6 중 “HLB”를 “필요시 HLB”로 한다.

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 1 중 “존재하는 비타민 B₁₂을 이동상으로 추출하고”를 “비타민 B₁₂를 충분히 추출하고 필요시에는 면역친화성 칼럼으로 정제

하여”로 한다.

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 2. 2.1 중 2.1.6부터 2.1.8까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

2.1.6 비타민 B₁₂용 면역친화성 칼럼(Vitamin B₁₂ immunoaffinity column)

2.1.7 질소농축기

2.1.8 수욕조

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 3. 3.2 중 3.2.5부터 3.2.9까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

3.2.5 초산나트륨(Sodium acetate)

3.2.6 시안화나트륨(Sodium cyanide)

3.2.7 개미산암모늄(Ammonium formate)

3.2.8 초산(Acetic acid)

3.2.9 아세토니트릴(Acetonitrile)

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 4. 4.1 중 4.1.2부터 4.1.4까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

4.1.2 0.2 M 초산나트륨 용액초산나트륨 16.41 g을 증류수에 용해시킨 후 초산을 이용하여 pH 4로 맞춘 후 증류수에 녹여 1 L로 정용

한다.

4.1.3 1%(w/v) 시안화나트륨 용액시안화나트륨 1 g을 증류수에 녹여 100 mL로 정용한다.

4.1.4 20 mM 개미산암모늄개미산암모늄 1.26 g을 증류수에 녹이고 전량을 1 L가 되게 한다(질량분석기로 분석 시 사용).

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 4. 4.3. 4.3.1을 다음과 같이 개정한다.

4.3.1 정제가 필요하지 않은 경우

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 4. 4.3. 4.3.1에 4.3.1.1부터 4.3.1.6까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

4.3.1.1 균질화한 시료 일정량(약 0.5~1 g)을 정밀히 취한다.

4.3.1.2 위의 시료를 50 mL 갈색 부피플라스크에 넣고 5 mM 인산이수소칼륨 용액 40 mL와 클로로포름 5 mL를 넣는다.

4.3.1.3 10분 동안 초음파 추출한 후 클로로포름을 제거한다.

4.3.1.4 5 mM 인산이수소칼륨용액으로 표선까지 맞춘다.

4.3.1.5 4,500 × g에서 원심분리한다.

4.3.1.6 마지막으로 맑은 액층을 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다.

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 4. 4.3. 4.3.2를 다음과 같이 개정한다.

4.3.2 정제가 필요한 경우

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 4. 4.3. 4.3.2에 4.3.2.1부터 4.3.2.13까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

4.3.2.1 균질화한 시료 일정량(0.1~1 g)을 정밀히 취한다.

4.3.2.2 위의 시료를 50 mL 갈색원심분리관에 넣고 0.2 M 초산나트륨 용액 49.5 mL와 1% 시안화나트륨 0.5 mL 넣는다.

4.3.2.3 10분 동안 초음파 추출한다.

4.3.2.4 100℃ 수욕 상에서 30분간 추출하고 상온으로 냉각한다.

4.3.2.5 여과지(Whatman No.2 또는 이와 동등한 것)로 여과하여 추출액으로 한다.

4.3.2.6 정제용 컬럼은 실온에 30분 방치하여 내부의 완충용액을 완전히 제거한다.

4.3.2.7 증류수 3 mL를 정제용 컬럼에 주입하여 활성화시킨다.

4.3.2.8 추출액 9 mL를 정제용 컬럼에 주입한다. 이때 정제용 컬럼에 흡착될 수 있는 비타민 B12의 최대량을 확인하고 이에 맞게 추출액을 적절히 희석한다.

4.3.2.9 증류수 3 mL 씩 3회 주입하여 불순물을 제거한다.

4.3.2.10 공기 10 mL를 주입하여 남아 있는 용액을 제거한다.

4.3.2.11 메탄올 3 mL로 시험관에 용출시킨다.

4.3.2.12 용출액을 70℃에서 질소로 건조시킨다.

4.3.2.13 잔류물에 증류수 1 mL 가하여 녹인 것을 시험용액으로 한다.

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 4. 4.3. 중 4.3.3부터 4.3.4까지를 삭제한다.

제 4. 3. 3-12. 3-12-2. 5. 5.2. 5.2.1을 다음과 같이 한다.

$$5.2.1. \text{비타민 B}_{12}(\mu\text{g}/100 \text{ g}) = C \times \frac{a \times b}{S} \times \frac{100}{1,000}$$

C : 시험용액 중의 비타민 B₁₂의 농도(ng/mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 시험용액의 희석배수

S : 시료 채취량(g)

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 1 중 “이동상으로 충분히 추출하고”를 “충분히 추출하고 필요시에는 면역친화성 칼럼으로 정제하여”로 한다.

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 2. 2.1 중 2.1.6부터 2.1.8까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

2.1.6 비오틴용 면역친화성 칼럼(Biotin immunoaffinity column)

2.1.7 질소농축기

2.1.8 수욕조

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 3. 3.2 중 3.2.7부터 3.2.9까지를 각각 다음과 같이

신설한다.

3.2.7 제일인산나트륨(Sodium dihydrogen phosphate monohydrate)

3.2.8 제이인산나트륨(Disodium hydrogen phosphate heptahydrate)

3.2.9 인산완충생리식염수(PBS, Phosphate buffered saline)

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 4. 4.1 중 4.1.2부터 4.1.3까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

4.1.2 0.15 M 인산나트륨 완충액

제일인산나트륨($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 8.07 g과 제이인산나트륨($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 18.36 g을 물에 녹인 것을 2 M 수산화나트륨 용액을 이용하여 pH 7.0으로 조정 한 후 1 L로 한다.

4.1.3 PBS(Phosphate buffered saline) 용액

시판되는 PBS 완충제 정제(tablet) 또는 파우치(pouch) 형태를 사용하여 제조한다. (최종 완충액 0.01 M phosphate buffer saline, 0.138 M NaCl, 0.0027 M KCl, pH 7.4, 25℃)

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 4. 4.3. 4.3.1을 다음과 같이 개정한다.

4.3.1 정제가 필요하지 않은 경우

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 4. 4.3. 4.3.1에 4.3.1.1부터 4.3.1.7까지를 각각 다음과 같이 신설한다.

4.3.1.1 균질화한 시료 일정량(약 0.5~5 g)을 정밀히 취한다.

4.3.1.2 위의 시료를 50 mL 갈색 부피플라스크에 넣고 0.01 M 인산이
수소 칼륨 용액 40 mL와 클로로포름 5 mL를 넣는다.

4.3.1.3 10분 동안 초음파 추출한 후 클로로포름을 제거한다.

4.3.1.4 0.01 M 인산이수소칼륨용액 넣어 표선까지 맞춘다.

4.3.1.5 추출액을 원심분리관으로 옮겨 10분간 shaker에서 격렬하게
흔든다.

4.3.1.6 0℃에서 $4,500 \times g$ 로 30분간 원심분리한 후 상층액을 취한다.

4.3.1.7 이 액을 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 것을 시험용액으로 한다.

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 4. 4.3. 4.3.2를 다음과 같이 개정한다.

4.3.2 정제가 필요한 경우

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 4. 4.3. 4.3.2에 4.3.2.1부터 4.3.2.14까지를 각각 다음과
같이 신설한다.

4.3.2.1 균질화한 시료 일정량(약 0.5~5 g)을 정밀히 취한다.

4.3.2.2 위의 시료를 50 mL 갈색 부피플라스크에 넣고 0.15 M 인산나
트륨 완충액 25 mL를 넣는다.

4.3.2.3 5분 동안 초음파 추출한다.

4.3.2.4 100℃ 수욕 상에서 30분간 추출하고 상온으로 냉각한다.

4.3.2.5 0.15 M 인산나트륨 완충액을 넣어 표선까지 맞추어 균질화한다.

4.3.2.6 추출액을 원심분리관으로 옮겨 0℃에서 $4,500 \times g$ 로 20분간 원심분리한다.

4.3.2.7 여과지(Whatman No.2 또는 이와 동등한 것)로 여과하여 추출액으로 한다.

4.3.2.8 정제용 컬럼은 실온에 30분 방치하여 내부의 완충용액을 완전히 제거한다.

4.3.2.9 추출액 10 mL를 정제용 컬럼에 주입한다. 이 때 정제용 컬럼에 흡착될 수 있는 비오틴의 최대량을 확인하고 이에 맞게 추출액을 적절히 희석한다.

4.3.2.10 PBS 용액 10 mL를 주입하여 불순물을 제거한다.

4.3.2.11 공기 10 mL를 주입하여 남아 있는 용액을 제거한다.

4.3.2.12 메탄올 4 mL로 시험관에 용출시킨다.

4.3.2.13 용출액을 70℃에서 질소로 건조시킨다.

4.3.2.14 잔류물에 0.01 M 인산이수소칼륨 용액 1 mL 가하여 녹인 것을 시험용액으로 한다.

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 4. 4.3. 중 4.3.3부터 4.3.7까지를 삭제한다.

제 4. 3. 3-13. 3-13-2. 5. 5.2. 5.2.1 중 “희석배수”를 “시험용액의 희석배수”로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 3. 3.1. 3.1.2를 다음과 같이 신설한다.

3.1.2 분석하고자 하는 지방산

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 3. 3.2. 3.2.1을 다음과 같이 개정한다.

3.2.1 지방산 메틸 에스테르 사용 시 : Undecanoic acid methyl ester

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 3. 3.2. 3.2.2를 다음과 같이 신설한다.

3.2.2 지방산 사용 시 : Triundecanoin ($C_{11}:0$)

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 3. 3.4. 3.4.3 중 “triundecanoin ($C_{11}:0$) 0.01 g”을
“내부표준물질”로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.1의 “표준용액의 제조”를 “표준용액의 제조
(지방산 메틸에스테르 사용 시)”로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.1. 4.1.1을 다음과 같이 개정한다.

4.1.1 분석하고자 하는 지방산 메틸 에스테르를 이소옥탄에 녹여 표준
원액으로 한다(1 mg/mL).

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.1. 4.1.2를 다음과 같이 신설한다.

4.1.2 표준원액을 적절한 농도로 희석한 용액 1 mL에 3.4.3용액 1 mL을

첨가하여 표준용액으로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.2의 “시험용액의 제조”를 “표준용액의 제조 (지방산 사용 시)”로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.2. 4.2.1 중 “시료 25 mg”을 “지방산”으로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.2. 4.2.7 중 “시험용액”을 “표준용액”으로 한다.

제 4. 3. 3-32. 3-32-2. 4. 4.3을 다음과 같이 신설한다.

4.3 시험용액의 제조

4.3.1 시료 25 mg을 유리튜브에 정밀히 취하고, 3.4.3용액을 1 mL 첨가한다.

4.3.2 4.2.2이하에 따라 제조하여 시험용액으로 한다.

제 4. 3. 3-57. 4. 4.1 4.1.7. 4.1.7.6을 다음과 같이 신설한다.

4.1.7.6 시험용액의 조제시 겔화 등으로 시험용액의 채취가 어려운 경우에 한하여 희석배수를 일부 조정 할 수 있다.

제 4. 3. 3-57. 4. 4.2 4.2.6. 4.2.6.3을 다음과 같이 신설한다.

4.2.6.3 다만, 유산균의 종류 등에 따른 배지 특이성을 고려하여 교차 확인 후 최종값을 산출할 수 있다.

제 4. 3. 3-57. 4. 4.2 4.2.7. 4.2.7.2를 다음과 같이 신설한다.

4.2.7.2 캡슐제품류의 경우 캡슐 당 균수를 기재 또는 보고할 경우 1 mL
중(1 g 중)의 유산균수에 캡슐당 평균중량(외피포함)을 곱하여
다음과 같이 계산한다.

$$\text{캡슐당 유산균수} = \frac{1\text{g 당 유산균수}}{\text{유산균수}} \times \frac{\text{시험용액 조제에 사용된 캡슐(외피포함)의 총중량}}{\text{시험용액 조제에 사용된 캡슐의 갯수}}$$

제 4. 3. 3-58. 4. 4.1 4.1.7. 4.1.7.6을 다음과 같이 신설한다.

4.1.7.6 시험용액의 조제시 겔화 등으로 시험용액의 채취가 어려운
경우에 한하여 희석배수를 일부 조정 할 수 있다.

제 4. 3. 3-82 키토바이오스를 다음과 같이 신설한다.

3-82 키토바이오스

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료로부터 키토바이오스를 추출한 후 액체크로마토그래프/
증기화광산란검출기를 이용하여 정량한다.

2. 장비와 재료

2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 부피플라스크(50 mL, 100 mL)

2.1.2 여과용 멤브레인 필터

2.1.3 액체크로마토그래피용 유리병

2.1.4 용매용 일회용 실린지

2.1.5 초음파진탕기

2.2 분석장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 증기화광산란검출기(Evaporative Light Scattering Detectors, ELSD)

2.2.3 칼럼오븐

2.2.4 NH₂P-50 4E (안지름 4.6 mm, 길이 250 mm) 또는 이와 동등한 것

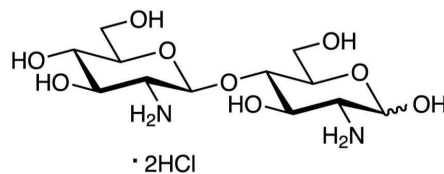
3. 표준물질 및 일반시약

3.1 표준물질

3.1.1 키토바이오스 이염화물(Chitobiose Dihydrochloride)

분자식 : C₁₂H₂₄N₂O₉ · 2HCl, 분자량 : 413.25, CAS No. :

577-76-4



3.2 일반시약

3.2.1 아세토니트릴(Acetonitrile, HPLC grade)

3.2.2 증류수(Distilled water)

4. 시험과정

4.1 표준용액의 조제

4.1.1 표준물질 키토바이오스 이염화물 50 mg을 정밀하게 칭량하고 50% 아세토니트릴로 녹여 50 mL로 한 것을 표준원액으로 한다.

4.1.2 상기 표준용액을 50% 아세토니트릴로 적절히 희석하여 표준용액을 준비한다.

4.2 시험용액의 조제

4.2.1 키토바이오스로서 약 100 mg에 해당하는 시료를 정밀히 취하여 100 mL 부피플라스크에 넣는다.

4.2.2 증류수 50 mL를 가하여 용해한다.

4.2.3 위의 용액을 30분간 초음파 추출한다.

4.2.4 아세토니트릴을 표선까지 채워 100 mL로 한다.

4.2.5 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 용액을 적절히 희석한 것을 시험용액으로 한다.

5. 분석 및 계산

5.1 기기분석

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항 목	조 건
주입량	20 μ L
칼럼온도	30℃
Nebulization Temp.	40℃
Pressure (N ₂ gas)	350KPa
이동상	아세토니트릴 : 증류수 (70 : 30, v/v)
유속	1.0 mL/분

* 증기화광산란검출기 내 Nebulization temp는 기기마다 조건이 다름

5.2 분석물질 함량 계산

5.2.1 키토바이오스 이염화물 표준용액의 피크면적으로 검량선을 작성하고, 검량선 식을 이용하여 시험용액 중의 키토바이오스 이염화물의 농도를 구한 후 아래 식을 이용하여 키토바이오스 함량을 계산한다.

$$\text{키토바이오스 함량(mg/g)} = \frac{C \times a \times b \times P}{S} \times \frac{340.33}{413.25}$$

C : 시험용액 중의 키토바이오스 이염화물의 농도(mg/mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

P : 표준품의 순도

S : 시료 채취량(g)

340.33 : 키토바이오스 분자량(g/mol)

413.25 : 키토바이오스 이염화물 분자량(g/mol)

부 칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시한 날부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 이후 최초로 제조·가공 또는 수입
(선적일을 기준으로 한다. 이하 같다)한 건강기능식품(원료를 포함한다.
이하 같다)부터 적용한다.

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

신 · 구조문대비표

현 행	개 정 안
제 1.~ 제 2. (생 략)	제 1.~ 제 2. (현행과 같음)
제 3. 개별 기준 및 규격	제 3. 개별 기준 및 규격
1. (생 략)	1. (현행과 같음)
2. 기능성 원료	2. 기능성 원료
2-1 ~ 2-48 (생 략)	2-1 ~ 2-48 (현행과 같음)
2-49 키토산/키토올리고당	2-49 키토산/키토올리고당
1) 제조기준	1) 제조기준
(1) ~ (2) (생 략)	(1) ~ (2) (생 략)
(3) <u>기능성분(또는 지표성분)의</u>	(3) <u>기능성분(또는 지표성분)의</u>
<u>함량 : 키토산은 탈아세틸</u>	<u>함량</u>
<u>화도(당 사슬 중에 글루코</u>	<u>(가) 키토산 : 탈아세틸화도</u>
<u>사민 잔기 비율)가 80% 이</u>	<u>(당 사슬 중에 글루코사민</u>
<u>상이어야 하며, 키토산(글루</u>	<u>잔기 비율)가 80% 이상</u>
<u>코사민으로서)을 800 mg/g</u>	<u>이어야 하며, 키토산(글</u>
<u>이상 함유하고 있어야 함.</u>	<u>루코사민으로서)을 800</u>
<u>키토올리고당은 키토올리고</u>	<u>mg/g 이상 함유하고 있</u>
<u>당을 200 mg/g 이상 함유</u>	<u>어야 함</u>
<u>하고 있어야함</u>	<u>(나) 키토올리고당</u>
	<u>(ㄱ) 키토올리고당을 200 mg/g</u>
	<u>이상 함유하고 있어야함</u>
	<u>(ㄴ) 키토바이오스가 18%</u>
	<u>이상인 키토올리고당을</u>
	<u>200 mg/g 이상 함유하</u>
	<u>여야 함(식후 혈당</u>

현 행	개 정 안
2) 규격 (생 략) 3) 최종제품의 요건 (1) 기능성 내용 : <u>혈중 콜레스테롤 개선·체지방 감소에 도움을 줄 수 있음</u> (2) 일일섭취량 <u>(가) (생 략)</u> <u>(나) (생 략)</u> <u><신 설></u> (3) (생 략) 4) 시험법 (1) ~ (3) (생 략) <u><신 설></u> <u>(4) · (5) (생 략)</u>	<u>상승 억제 기능성에 한함)</u> 2) 규격 (현행과 같음) 3) 최종제품의 요건 (1) 기능성 내용 <u>(가) 체지방 감소에 도움을 줄 수 있음</u> <u>(나) 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음(키토산에 한함)</u> <u>(다) 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음[1]</u> <u>(3) (나) (ㄴ)에 한함]</u> (2) 일일섭취량 <u>(가) (현행 (나)와 같음)</u> <u>(나) (현행 (가)와 같음)</u> <u>(다) 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음 : 키토올리고당으로서 750 mg 및 키토바이오스로 135 mg</u> (3) (현행과 같음) 4) 시험법 (1) ~ (3) (현행과 같음) <u>(4) 키토바이오스 : 제 4. 3-82 키토바이오스</u> <u>(5) · (6) (현행 (4) 및 (5)와 같음)</u>

현 행	개 정 안
2-49 ~ 2-69 (생 략)	2-49 ~ 2-69 (현행과 같음)
제 4. 건강기능식품 시험법	제 4. 건강기능식품 시험법
1. (생 략)	1. (현행과 같음)
2. 일반시험법	2. 일반시험법
2-1 봉해시험법	2-1 봉해시험법
1 ~ 3 (생 략)	1 ~ 3 (현행과 같음)
4. 시험과정	4. 시험과정
4.1. 조작 방법 (생 략)	4.1. 조작 방법 (현행과 같음)
4.2 시험방법	4.2 시험방법
4.2.1 ~ 4.2.5 (생 략)	4.2.1 ~ 4.2.5 (현행과 같음)
4.2.6 장용성 제품	4.2.6 장용성 제품
4.2.6.1 <u>과립제품</u> 또는 <u>과립상의</u> 형으로 충전한 캡슐제품	4.2.6.1 <u>장용과립제품</u> 또는 <u>장용</u> <u>과립상의</u> 형으로 충전한 캡슐제품
다음의 ① 제1액에 의한 시험 및 ② 제2액에 의한 시험의 두 시험을 한다.	다음의 ① 제1액에 의한 시험 및 ② 제2액에 의한 시험의 두 시험을 한다.
① 제1액에 의한 시험 <u>과립제품</u> 또는 캡슐제품 속 에서 빼낸 <u>내용물</u> 을 35호(500 μm) 체로 쳐서 35호 체 위 의 잔류물 0.10 g씩을 각각 보조통 6개에 넣고 보조통 을 시험기의 유리관에 1개 씩 넣어 밑에 고정하고 제1 액을 시험액으로 하여 60분	① 제1액에 의한 시험 <u>장용과립제품</u> 또는 캡슐제 품 속에서 빼낸 <u>장용성 내</u> <u>용물</u> 을 35호(500 μm) 체로 쳐서 35호 체 위의 잔류물 0.10 g씩을 각각 보조통 6 개에 넣고 보조통을 시험 기의 유리관에 1개씩 넣어 밑에 고정하고 제1액을 시

현 행	개 정 안
간 상하운동을 시킨 다음 관찰할 때 시험기의 망목으로부터 떨어지는 입자가 15알갱이 이내일 때에는 적합한 것으로 한다. ② (생 략) 4.2.6.2 <u>과립제품 또는 과립상의</u> 형으로 충전한 캡슐제 이외의 장용성 제품 다음의 ① 제1액에 의한 시험 및 ② 제2액에 의한 시험의 두 시험을 한다. ① (생 략) ② (생 략) 4.2.7 (생 략) 2-2 ~ 2-8 (생 략) 3. 개별 성분별 시험법 3-1 ~ 3-5 (생 략) 3-6 비타민 B₁ 3-6-1 (생 략) 3-6-2 비타민 B₁(제2법) 1. ~ 3. (생 략) 4. 시험과정 4.1 (생 략)	험액으로 하여 60분간 상하운동을 시킨 다음 관찰할 때 시험기의 망목으로부터 떨어지는 입자가 15알갱이 이내일 때에는 적합한 것으로 한다. ② (현행과 같음) 4.2.6.2 <u>장용과립제품 또는 장용과립상의</u> 형으로 충전한 캡슐제 이외의 장용성 제품 다음의 ① 제1액에 의한 시험 및 ② 제2액에 의한 시험의 두 시험을 한다. ① (현행과 같음) ② (현행과 같음) 4.2.7 (현행과 같음) 2-2 ~ 2-8 (현행과 같음) 3. 개별 성분별 시험법 3-1 ~ 3-5 (현행과 같음) 3-6 비타민 B₁ 3-6-1 (현행과 같음) 3-6-2 비타민 B₁(제2법) 1. ~ 3. (현행과 같음) 4. 시험과정 4.1 (현행과 같음)

현행	개정안
4.2 표준용액 조제	4.2 (현행과 같음)
4.2.1 Thiamine hydrochloride 를 <u>비타민 B1</u> 으로서 <u>100</u> <u>μg/mL</u> 가 되도록 10% 삼염화초산용액에 녹여 표준원액을 만든다. 표 준원액을 0.1~1.0 μg/m L가 되도록 희석한다.	4.2.1 Thiamine hydrochloride 를 <u>100 μg/mL</u> 가 되도록 10% 삼염화초산용액에 녹여 표준원액을 만든다. 표준원액을 0.1~1.0 μg/ mL가 되도록 희석한다.
4.3 시험용액의 조제(일반시료)	4.3 시험용액의 조제(일반시료)
4.3.1 시료 <u>1 g</u> (액상의 경우 5 g) 을 정밀히 취하여 15 mL 원심분리관에 넣는다.	4.3.1 시료 <u>0.1~1 g</u> (액상의 경우 5 g)을 정밀히 취하여 15 mL 원심분리관에 넣는다.
4.3.2~4.3.6 (생략)	4.3.2~4.3.6 (현행과 같음)
4.4 (생략)	4.4 (현행과 같음)
5. 분석 및 계산	5. 분석 및 계산
5.1 (생략)	5.1 (현행과 같음)
5.2 계산	5.2 계산
5.2.1 비타민 B ₁ 의 함량(mg/100 g) $\equiv \frac{C \times \frac{(a \times b)}{S} \times \frac{100}{1000}}{}$ C : 시험용액 중의 비타민 B ₁ 의 농도(μg/mL) a : 시험용액의 전량(mL) b : 시험용액의 희석배수 S : 시료 채취량(g) <u><신설></u>	5.2.1 비타민 B ₁ 의 함량(mg/100 g) $\equiv \frac{C \times \frac{(a \times b)}{S} \times \frac{100}{1000} \times \frac{263.35}{337.27}}{}$ C : 시험용액 중의 비타민 B ₁ 의 농도(μg/mL) a : 시험용액의 전량(mL) b : 시험용액의 희석배수 S : 시료 채취량(g) <u>265.35 : 비타민 B₁의 분자량</u>

현 행	개 정 안
	<u>337.27 : Thiamine hydrochl</u>
3-7 (생 략)	<u>oride</u> 의 분자량 3-7 (현행과 같음)
3-8 나이아신	3-8 나이아신
3-8-1 ~ 3-8-2 (생 략)	3-8-1 ~ 3-8-2 (현행과 같음)
3-8-3 나이아신(제3법)	3-8-3 나이아신(제3법)
1. ~ 3. (생 략)	1. ~ 3. (현행과 같음)
4. 시험과정	4. 시험과정
4.1 시약제조	4.1 시약제조
4.1.1 5 mM sodium hexanesulfonate 용액	4.1.1 5 mM sodium hexanesulfonate 용액
Sodium hexanesulfonate 911.1 mg을 증류수 500 mL에 녹여 증류수로 1 L가 되게 한다.	Sodium hexanesulfonate 941.1 mg을 증류수 500 mL에 녹여 증류수로 1 L가 되게 한다.
4.2 (생 략)	4.2 (현행과 같음)
4.3 시험용액의 조제	4.3 시험용액의 조제
4.3.1 ~ 4.3.5(생 략)	4.3.1 ~ 4.3.5(현행과 같음)
4.3.6 <u>HLB</u> 카트리지를 준비하고 메탄올 5 mL과 증류수 5 mL을 연속으로 통과시킨 후 카트리지에 여과액 10 mL를 통과시켜 니코틴산 및 니코틴산아미드가 카트리지에 흡착되도록 한다. 4.3.7	4.3.6 <u>필요시 HLB</u> 카트리지를 준비하고 메탄올 5 mL과 증류수 5 mL을 연속으로 통과시킨 후 카트리지에 여과액 10 mL를 통과시켜 니코틴산 및 니코틴산아미드가 카트리지에 흡착되도록 한다.

현 행	개 정 안
카트리지는 5 mL의 n-헥산으로 세척한 후 80% 메탄올용액 5 mL로 용출한다. 4.3.8 용출액은 10 mL 부피플라스크에 모으고 증류수를 가하여 10 mL로 정용한 것을 시험용액으로 한다. 5. (생 략) 3-9 ~ 3-11 (생 략) 3-12 비타민 B₁₂ 3-12-1 (생략) 3-12-2 비타민 B₁₂(제2법) 1. 시험방법의 요약 본 시험법은 시료 중 <u>존재하는</u> <u>비타민 B₁₂을 이동상으로 추출</u> <u>하고</u> 액체크로마토그래프(육방전환밸브시스템)/자외부흡광광도검출기(최대 흡수파장 550 nm) 또는 액체크로마토그래프/질량분석기를 이용하여 정량 분석 한다. 2. 장비와 재료 2.1 실험실 장비 및 소모품 2.1.1 ~ 2.1.5 (생 략)	4.3.7 카트리지는 5 mL의 n-헥산으로 세척한 후 80% 메탄올용액 5 mL로 용출한다. 4.3.8 용출액은 10 mL 부피플라스크에 모으고 증류수를 가하여 10 mL로 정용한 것을 시험용액으로 한다. 5. (생 략) 3-9 ~ 3-11 (현행과 같음) 3-12 비타민 B₁₂ 3-12-1 (생략) 3-12-2 비타민 B₁₂(제2법) 1. 시험방법의 요약 본 시험법은 시료 중 <u>비타민 B₁₂를 충분히 추출하고 필요 시에는 면역친화성 칼럼으로 정제하여</u> 액체크로마토그래프(육방전환밸브시스템)/자외부흡광광도검출기(최대 흡수파장 550 nm) 또는 액체크로마토그래프/질량분석기를 이용하여 정량 분석 한다. 2. 장비와 재료 2.1 실험실 장비 및 소모품 2.1.1 ~ 2.1.5 (현행과 같음)

현행	개정안
<u><신설></u> 2.2 (생략) 3. 표준물질 및 일반시약 3.1 (생략) 3.2 일반시약 3.2.1~3.2.4 (생략) <u><신설></u> 4. 시험과정 4.1 시약 제조 4.1.1 (생략) <u><신설></u>	<u>2.1.6</u> 비타민 B₁₂용 면역친화성 칼럼(Vitamin B₁₂ immunoaffinity column) <u>2.1.7</u> 질소농축기 <u>2.1.8</u> 수욕조 2.2 (현행과 같음) 3. 표준물질 및 일반시약 3.1 (현행과 같음) 3.2 일반시약 3.2.1~3.2.4 (현행과 같음) <u>3.2.5</u> 초산나트륨(Sodium acetate) <u>3.2.6</u> 시안화나트륨(Sodium cyanide) <u>3.2.7</u> 개미산암모늄(Ammonium formate) <u>3.2.8</u> 초산(Acetic acid) <u>3.2.9</u> 아세토니트릴(Acetonitrile) 4. 시험과정 4.1 시약 제조 4.1.1 (현행과 같음) <u>4.1.2</u> 0.2 M 초산나트륨 용액 초산나트륨 16.41 g을 증류수에 용해시킨 후 초산을 이용하여 pH 4 로 맞춘 후 증류수에 녹 여 1 L로 정용한다.

현 행	개 정 안
	4.1.3 1%(w/v) 시안화나트륨 용액시안화나트륨 1 g 을 증류수에 녹여 100 mL로 정용한다. 4.1.4 20 mM 개미산암모늄개미산암모늄 1.26 g을 증류수에 녹이고 전량을 1 L가 되게 한다(질량분석기로 분석 시 사용).
4.2 표준용액 제조	4.2 표준용액 제조
4.2.1 ~ 4.2.2(생략)	4.2.1 ~ 4.2.2(현행과 같음)
4.3 시험용액 제조	4.3 시험용액 제조
4.3.1 검체 적당량(0.1~1 g)을 취하여 마쇄기를 이용하여 잘게 부순 후 5 mM 인산이수소칼륨용액 40 mL와 클로로포름 5 mL를 가하여 10분간 초음파 진탕기로 추출한 후 클로로포름을 제거하고 5 mM 인산이수소칼륨용액으로 50 mL로 맞춘다.	4.3.1 정제가 필요하지 않은 경우 4.3.1.1 균질화한 시료 일정량 (약 0.5~1 g)을 정밀히 취한다. 4.3.1.2 위의 시료를 50 mL 갈색 부피플라스크에 넣고 5 mM 인산이수소 칼륨 용액 40 mL와 클로로포름 5 mL를 넣는다. 4.3.1.3 10분 동안 초음파 추출한 후 클로로포름을 제거한다. 4.3.1.4 5 mM 인산이수소칼륨용액으로 표선까지 맞춘다.
<신설>	

현 행	개 정 안
4.3.2 4,500 × g에서 원심분리한다. <u><신 설></u>	4.3.1.5 4,500 × g에서 원심분리한다. 4.3.1.6 마지막으로 맑은 액층을 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 한다. 4.3.2 정제가 필요한 경우 4.3.2.1 균질화한 시료 일정량 (0.1~1 g)을 정밀히 취한다. 4.3.2.2 위의 시료를 50 mL 갈색원심분리관에 넣고 0.2 M 초산나트륨 용액 4.95 mL와 1% 시안화나트륨 0.5 mL 넣는다. 4.3.2.3 10분 동안 초음파 추출한다. 4.3.2.4 100℃ 수욕 상에서 30분간 추출하고 상온으로 냉각한다. 4.3.2.5 여과지(Whatman No.2 또는 이와 동등한 것)로 여과하여 추출액으로 한다. 4.3.2.6 정제용 컬럼은 실온에 30분 방치하여 내부의 완충용액을 완전히 제

현 행	개 정 안
	<u>거한다.</u> <u>4.3.2.7 증류수 3 mL를 정제용</u> <u>컬럼에 주입하여 활성</u> <u>화시킨다.</u> <u>4.3.2.8 추출액 9 mL를 정제용</u> <u>컬럼에 주입한다. 이</u> <u>때 정제용 컬럼에 흡착</u> <u>될 수 있는 비타민 B1</u> <u>2의 최대량을 확인하고</u> <u>이에 맞게 추출액을 적</u> <u>절히 희석한다.</u> <u>4.3.2.9 증류수 3 mL 씩 3회</u> <u>주입하여 불순물을 제</u> <u>거한다.</u> <u>4.3.2.10 공기 10 mL를 주입하여</u> <u>남아 있는 용액을 제</u> <u>거한다.</u> <u>4.3.2.11 메탄올 3 mL로 시험</u> <u>관에 용출시킨다.</u> <u>4.3.2.12 용출액을 70℃에서 질</u> <u>소로 건조시킨다.</u> <u>4.3.2.13 잔류물에 증류수 1 mL</u> <u>가하여 녹인 것을 시험</u> <u>용액으로 한다.</u>
<u>4.3.3 분리 후 중간층을 취해서</u> <u>4,500 × g에서 10분간 원</u>	<u><삭 제></u>

현행	개정안
<u>심분리한다.</u> 4.3.4 <u>마지막으로 맑은 액층을</u> <u>0.45 μm 멤브레인 필터로</u> <u>여과하여 시험 용액으로</u> <u>한다.</u> 5. 분석 및 계산 5.1 (생략) 5.2 계산 5.2.1 <u>계산식</u> <u>비타민 B₁₂(μg/100 g) =</u> $\underline{S} \times \frac{a \times b}{\underline{\text{검체량(g)}}} \times \frac{100}{1,000}$ S : 시험용액 중의 비타민 B₁₂의 농도(ng/mL) a : 시험용액의 전량(mL) b : 시험용액의 희석배수 <u><신설></u> 3-13 비오틴 3-13-1 (생략) 3-13-2 비오틴(제2법) 1. 시험방법의 요약 본 시험법은 시료 중 비오틴을 <u>이동상으로 충분히 추출하고</u> <u>액체크로마토 그래프(육방전환</u> <u>밸브시스템)/자외부흡광광도검</u> <u>출기(최대 흡수파장 200 nm)</u>	5. 분석 및 계산 5.1 (현행과 같음) 5.2 계산 5.2.1 <u>비타민 B₁₂(μg/100 g) =</u> $\underline{C} \times \frac{a \times b}{\underline{S}} \times \frac{100}{1,000}$ <u>C</u> : 시험용액 중의 비타민 B₁₂의 농도(ng/mL) a : 시험용액의 전량(mL) b : 시험용액의 희석배수 <u>S : 시료 채취량(g)</u> 3-13 비오틴 3-13-1 (현행과 같음) 3-13-2 비오틴(제2법) 1. 시험방법의 요약 본 시험법은 시료 중 비오틴을 <u>충분히 추출하고 필요시에는</u> <u>면역친화성 칼럼으로 정제하여</u> <u>액체크로마토 그래프(육방전환</u> <u>밸브시스템)/자외부흡광광도검</u>

현 행	개 정 안
또는 액체크로마토그래프/질량 분석기를 이용하여 정량분석한다.	출기(최대 흡수파장 200 nm) 또는 액체크로마토그래프/질량 분석기를 이용하여 정량분석한다.
2. 장비와 재료	2. 장비와 재료
2.1 (생 략)	2.1 (현행과 같음)
2.1.1 ~ 2.1.5 (생 략)	2.1.1 ~ 2.1.5 (현행과 같음)
<u><신 설></u>	<u>2.1.6 비오틴용 면역친화성 칼럼</u> (Biotin immunoaffinity column)
	<u>2.1.7 질소농축기</u>
	<u>2.1.8 수욕조</u>
2.2 (생 략)	2.2 (현행과 같음)
3. 표준물질 및 일반시약	3. 표준물질 및 일반시약
3.1 (생 략)	3.1 (현행과 같음)
3.2 일반시약	3.2 일반시약
3.2.1~3.2.6 (현행과 같음)	3.2.1~3.2.6 (현행과 같음)
<u><신 설></u>	<u>3.2.7 제일인산나트륨(Sodium dihydrogen phosphate monohydrate)</u>
	<u>3.2.8 제이인산나트륨(Disodium hydrogen phosphate heptahydrate)</u>
	<u>3.2.9 인산완충생리식염수(PBS, Phosphate buffered saline)</u>
4. 시험과정	4. 시험과정

현 행	개 정 안
4.1 시약 제조	4.1 시약 제조
4.1.1(생 략)	4.1.1 (현행과 같음)
<u><신 설></u>	<u>4.1.2 0.15 M 인산나트륨 완충액</u> <u>제일인산나트륨($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 8.07 g과 제이인산</u> <u>나트륨($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 1</u> <u>8.36 g을 물에 녹인 것을</u> <u>2 M 수산화나트륨 용액을</u> <u>이용하여 pH 7.0으로 조정</u> <u>한 후 1 L로 한다.</u>
	<u>4.1.3 PBS(Phosphate buffered</u> <u>saline) 용액</u> <u>시판되는 PBS 완충제 정제</u> <u>(tablet) 또는 파우치(pouc</u> <u>h) 형태를 사용하여 제조</u> <u>한다. (최종 완충액 0.01</u> <u>M phosphate buffer salin</u> <u>e, 0.138 M NaCl, 0.0027</u> <u>M KCl, pH 7.4, 25℃)</u>
4.2 (생 략)	4.2 (현행과 같음)
4.3 시험용액의 조제	4.3 시험용액의 조제
<u>4.3.1 균질화한 시료 일정량(약 0.5</u> <u>~5 g)을 정밀히 취한다.</u>	<u>4.3.1 정제가 필요하지 않은 경우</u> <u>4.3.1.1 균질화한 시료 일정량</u> <u>(약 0.5~5 g)을 정밀</u> <u>히 취한다.</u>
<u><신 설></u>	<u>4.3.1.2 위의 시료를 50 mL</u>

현행	개정안
4.3.2 위의 시료를 50 mL 갈색 부피플라스크에 넣고 0.01 M 인산이수소 칼륨 용액 40 mL와 클로로포름 5 mL 를 넣는다. <신 설>	<u>갈색 부피플라스크에 넣고 0.01 M 인산이 수소 칼륨 용액 40 mL 와 클로로포름 5 mL 를 넣는다.</u> <u>4.3.1.3 10분 동안 초음파 추 출한 후 클로로포름을 제거한다.</u> <u>4.3.1.4 0.01 M 인산이수소칼륨 용액 넣어 표선까지 맞 춘다.</u> <u>4.3.1.5 추출액을 원심분리관으로 옮겨 10분간 shaker에서 격렬하게 흔든다.</u> <u>4.3.1.6 0℃에서 4,500 × g로 30 분간 원심분리한 후 상층 액을 취한다.</u> <u>4.3.1.7 이 액을 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 것을 시험 용액으로 한다.</u> <u>4.3.2 정제가 필요한 경우</u> <u>4.3.2.1 균질화한 시료 일정량 (약 0.5~5 g)을 정밀 히 취한다.</u> <u>4.3.2.2 위의 시료를 50 mL 갈색 부피플라스크에</u>

현 행	개 정 안
	<u>넣고 0.15 M 인산나트륨 완충액 25 mL를 넣는다.</u> <u>4.3.2.3 5분 동안 초음파 추출한다.</u> <u>4.3.2.4 100℃ 수욕 상에서 30분간 추출하고 상온으로 냉각한다.</u> <u>4.3.2.5 0.15 M 인산나트륨 완충액을 넣어 표선까지 맞추어 균질화한다.</u> <u>4.3.2.6 추출액을 원심분리관으로 옮겨 0℃에서 4, 500 × g로 20분간 원심분리한다.</u> <u>4.3.2.7 여과지(Whatman No.2 또는 이와 동등한 것)로 여과하여 추출액으로 한다.</u> <u>4.3.2.8 정제용 컬럼은 실온에 30분 방치하여 내부의 완충용액을 완전히 제거한다.</u> <u>4.3.2.9 추출액 10 mL를 정제용 컬럼에 주입한다. 이 때 정제용 컬</u>

현 행	개 정 안
	<u>럼에 흡착될 수 있는</u> <u>비오틴의 최대량을</u> <u>확인하고 이에 맞게</u> <u>추출액을 적절히 희</u> <u>석한다.</u> <u>4.3.2.10 PBS 용액 10 mL를</u> <u>주입하여 불순물을</u> <u>제거한다.</u> <u>4.3.2.11 공기 10 mL를 주입</u> <u>하여 남아 있는 용액</u> <u>을 제거한다.</u> <u>4.3.2.12 메탄올 4 mL로 시험</u> <u>관에 용출시킨다.</u> <u>4.3.2.13 용출액을 70℃에서</u> <u>질소로 건조시킨다.</u> <u>4.3.2.14 잔류물에 0.01 M 인산</u> <u>이수소칼륨 용액 1 mL</u> <u>가하여 녹인 것을 시</u> <u>험용액으로 한다.</u>
<u>4.3.3 10분 동안 초음파 추출</u> <u>한 후 클로로포름을 제</u> <u>거한다.</u> <u>4.3.4 0.01 M 인산이수소칼륨</u> <u>용액 넣어 표선까지 맞</u> <u>춘다.</u> <u>4.3.5 추출액을 원심분리관으로</u>	<u><삭 제></u>

현행	개정안
<u>옻겨 10분간 shaker에서</u> <u>격렬하게 흔든다.</u> <u>4.3.6 0℃에서 4,500 × g로 30</u> <u>분간 원심분리한 후 상</u> <u>층액을 취한다.</u> <u>4.3.7 이 액을 0.2 μm 멤브레인</u> <u>필터로 여과한 것을 시</u> <u>험용액으로 한다.</u> 5. (생략) 5.1 (생략) 5.2 계산 5.2.1 비오틴(mg/100 g) = $C \times (a \times b) / S \times 100 / 1,000$ C : 시험용액 중의 비오틴의 농도 (ug/mL) a : 시험용액의 전량(mL) b : <u>희석배수</u> S : 시료 채취량(g) 3-14 ~ 3-31 (생략) 3-32 지방산 3-32-1 (생략) 3-32-2 지방산(제2법) 1. ~ 2 (생략) 3. 표준물질 및 일반시약 3.1 표준물질	5. (현행과 같음) 5.1 (현행과 같음) 5.2 계산 5.2.1 비오틴(mg/100 g) = $C \times (a \times b) / S \times 100 / 1,000$ C : 시험용액 중의 비오틴의 농도 (ug/mL) a : 시험용액의 전량(mL) b : <u>시험용액의 희석배수</u> S : 시료 채취량(g) 3-14 ~ 3-31 (현행과 같음) 3-32 지방산 3-32-1 (현행과 같음) 3-32-2 지방산(제2법) 1. ~ 2 (현행과 같음) 3. 표준물질 및 일반시약 3.1 표준물질

현 행	개 정 안
3.1.1 (생 략)	3.1.1 (현행과 같음)
<u><신 설></u>	<u>3.1.2 분석하고자 하는 지방산</u>
3.2 내부표준물질	3.2 내부표준물질
<u>3.2.1 Undecanoic acid methyl ester</u>	<u>3.2.1 지방산 메틸 에스테르 사용 시</u> : Undecanoic acid methyl ester
<u><신 설></u>	<u>3.2.2 지방산 사용 시 : Triundecanoin (C₁₁:0)</u>
3.3 (생 략)	3.3 (현행과 같음)
3.4 시액의 제조	3.4 시액의 제조
3.4.1 ~ 3.4.2 (생 략)	3.4.1 ~ 3.4.2 (현행과 같음)
<u>3.4.3 내부표준용액 : triundecanoin (C₁₁:0) 0.01 g을 이소옥탄용액에 녹여 10 mL가 되게 한다(1 mg/mL).</u>	<u>3.4.3 내부표준용액 : 내부표준물질을 이소옥탄용액에 녹여 10 mL가 되게 한다(1 mg/mL).</u>
4. 시험과정	4. 시험과정
4.1 표준용액의 제조	4.1 표준용액의 제조(<u>지방산 메틸 에스테르 사용 시</u>)
<u>4.1.1 분석하고자 하는 지방산 메틸 에스테르와 내부표준물질 undecanoic acid 메틸 에스테르를 이소옥탄에 녹여 각각 0.5 mg/mL이 되도록 조제한다.</u>	<u>4.1.1 분석하고자 하는 지방산 메틸 에스테르를 이소옥탄에 녹여 표준원액으로 한다(1 mg/mL).</u>
<u><신 설></u>	<u>4.1.2 표준원액을 적절한 농도로 희석한 용액 1 mL에</u>

현 행	개 정 안
<u>4.2 시험용액의 제조</u> 4.2.1 <u>시료 25 mg</u>을 유리튜브에 정밀히 취하고, 3.4.3용액을 1 mL 첨가 한다. ※ (생 략) 4.2.2 ~ 4.2.6 (생 략) 4.2.7 상온으로 냉각한 후 수층으로부터 분리된 이소옥탄층을 무수황산 나트륨으로 탈수하여 <u>시험용액으로</u> 한다. <u><신 설></u> 5 (생 략) 3-33 ~ 3-56 (생 략) 3-57 유산균수 1~3 (생 략) 4 시험과정 4.1 시험용액의 조제 4.1.1~4.1.6 (생 략)	<u>3.4.3용액 1 mL</u>을 첨가하여 <u>표준용액으로</u> 한다. <u>4.2 표준용액의 제조(지방산 사용 시)</u> 4.2.1 <u>지방산</u>을 유리튜브에 정밀히 취하고, 3.4.3용액을 1 mL 첨가 한다. ※ (현행과 같음) 4.2.2 ~ 4.2.6 (현행과 같음) 4.2.7 상온으로 냉각한 후 수층으로부터 분리된 이소옥탄층을 무수황산 나트륨으로 탈수하여 <u>표준용액으로</u> 한다. <u>4.3 시험용액의 제조</u> <u>4.3.1 시료 25 mg</u>을 유리튜브에 정밀히 취하고, 3.4.3용액을 1 mL 첨가 한다. <u>4.3.2 4.2.2이하에 따라 제조하여 시험용액으로</u> 한다. 5 (현행과 같음) 3-33 ~ 3-56 (현행과 같음) 3-57 유산균수 1~3 (현행과 같음) 4 시험과정 4.1 시험용액의 조제 4.1.1~4.1.6 (현행과 같음)

현 행	개 정 안
4.1.7 시험용액조제 시 주의사항 4.1.7.1~4.1.7.5 (생 략) <u><신 설></u>	4.1.7 시험용액조제 시 주의사항 4.1.7.1~4.1.7.5 (현행과 같음) <u>4.1.7.6 시험용액의 조제시 겔화</u> <u>등으로 시험용액의 채취가</u> <u>어려운 경우에 한하여</u> <u>희석배수를 일부 조정</u> <u>할 수 있다.</u>
4.2 시험의 조작 4.2.1~4.2.5 (생 략) 4.2.6 집락수 산정 4.2.6.1 - 4.2.6.2 (생 략) <u><신 설></u>	4.2 시험의 조작 4.2.1~4.2.5 (현행과 같음) 4.2.6 집락수 산정 4.2.6.1~4.2.6.2 (현행과 같음) <u>4.2.6.3 다만, 유산균의 종류</u> <u>등에 따른 배지 특이</u> <u>성을 고려하여 교차</u> <u>확인 후 최종값을 산</u> <u>출할 수 있다.</u>
4.2.7 유산균수의 기재보고 4.2.7.1 (생 략) <u><신 설></u>	4.2.7 유산균수의 기재보고 4.2.7.1 (현행과 같음) <u>4.2.7.2 캡슐제품류의 경우 캡슐</u> <u>당 균수를 기재 또는</u> <u>보고할 경우 1 mL 중</u> <u>(1 g 중)의 유산균수에</u> <u>캡슐당 평균중량(외피</u> <u>포함)을 곱하여 다음과</u> <u>같이 계산한다.</u>
	$\frac{\text{캡슐당 유산균수}}{\text{1g 당 유산균}} = \frac{\text{시험용액 조제에 사용된 캡슐(외피포함)의 총중량}}{\text{1g 당 유산균}} \times$

현행	개정안
	2.1.3 액체크로마토그래피용 유리병 2.1.4 용매용 일회용 실린지 2.1.5 초음파진탕기 2.2 분석장비 2.2.1 고속액체크로마토그래프 2.2.2 증기화광산란검출기(Evaporative Light Scattering Detectors, ELSD) 2.2.3 칼럼오븐 2.2.4 NH2P-50 4E (안지름 4.6 mm, 길이 250 mm) 또는 이와 동등한 것 3. 표준물질 및 일반시약 3.1 표준물질 3.1.1 키토바이오스 이염화물(Chitobiose Dihydrochloride) 분자식 : $C_{12}H_{24}N_2O_9 \cdot 2HCl$, 분자량 : 413.25, CAS No. : 577-76-4 3.2 일반시약 3.2.1 아세토니트릴(Acetonitrile, HPLC grade)

현 행	개 정 안
	<u>3.2.2 증류수(Distilled water)</u> <u>4. 시험과정</u> <u>4.1 표준용액의 조제</u> <u>4.1.1 표준물질 키토바이오스 이 염화물 50 mg을 정밀하게 칭 량하고 50% 아세토니트릴로 녹여 50 mL로 한 것을 표준 원액으로 한다.</u> <u>4.1.2 상기 표준용액을 50% 아세 토니트릴로 적절히 희석하여 표준용액을 준비한다.</u> <u>4.2 시험용액의 조제</u> <u>4.2.1 키토바이오스로서 약 100 mg에 해당하는 시료를 정밀히 취하여 100 mL 부피플라스크 에 넣는다.</u> <u>4.2.2 증류수 50 mL를 가하여 용해한다.</u> <u>4.2.3 위의 용액을 30분간 초음 파 추출한다.</u> <u>4.2.4 아세토니트릴을 표선까지 채워 100 mL로 한다.</u> <u>4.2.5 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과한 용액을 적절히 희석</u>

현행	개정안														
	<u>한 것을 시험용액으로 한다.</u> 5. 분석 및 계산 5.1 기기분석 <u>표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)</u> <table> <tr> <th>항 목</th><th>조 건</th></tr> <tr> <td>주입량</td><td>20 μL</td></tr> <tr> <td>칼럼온도</td><td>30℃</td></tr> <tr> <td>Nebulization Temp.</td><td>40℃</td></tr> <tr> <td>Pressure (N₂ gas)</td><td>350KPa</td></tr> <tr> <td>이동상</td><td>아세트니트릴 : 증류수 (70 : 30, v/v)</td></tr> <tr> <td>유속</td><td>1.0 mL/분</td></tr> </table> * 증기화광산란검출기 내 Nebulization temp는 기기마다 조건이 다름 5.2 분석물질 함량 계산 5.2.1 키토바이오스 이염화물 표준용액의 피크면적으로 검량선을 작성하고, 검량선 식을 이용하여 시험용액 중의 키토바이오스 이염화물의 농도를 구한 후 아래 식을 이용하여 키토바이오스 함량을 계산한다. 키토바이오스 함량(mg/g) $= \frac{C \times a \times b \times P}{S} \times \frac{340.33}{413.25}$	항 목	조 건	주입량	20 μ L	칼럼온도	30℃	Nebulization Temp.	40℃	Pressure (N ₂ gas)	350KPa	이동상	아세트니트릴 : 증류수 (70 : 30, v/v)	유속	1.0 mL/분
항 목	조 건														
주입량	20 μ L														
칼럼온도	30℃														
Nebulization Temp.	40℃														
Pressure (N ₂ gas)	350KPa														
이동상	아세트니트릴 : 증류수 (70 : 30, v/v)														
유속	1.0 mL/분														

현 행	개 정 안
	<u>C : 시험용액 중의 키토바이오스</u> <u>이염화물의 농도(mg/mL)</u> <u>a : 시험용액의 전량(mL)</u> <u>b : 희석배수</u> <u>P : 표준품의 순도</u> <u>S : 시료 채취량(g)</u> <u>340.33 : 키토바이오스 분자량(g/mol)</u> <u>413.25 : 키토바이오스 이염화물</u> <u>분자량(g/mol)</u>