

2023년도 제9회 수산물품질관리사 2차 시험 정밀검사 기술 참고자료

○ 과목명: 수산물 등급판정 실무

주요영역	세부영역	세세영역
품질 검사	3. 정밀검사 기술 (식품의 기준 및 규격 = 식품공전)	1. 수분 시험방법
		2. 염분 시험방법
		3. 일반세균수 시험방법
		4. 대장균군 시험방법
		5. 마비성 패독 시험방법
		6. 수은 시험방법
		7. 복어독 시험방법

※ 식품의약품안전처 고시 제2023-56호(2023. 8. 31.)

식품의 기준 및 규격 (식품공전) - 수산물에 대한 규격 및 시험방법 관련 내용 발췌

〈목 차〉

1. 수분	1
2. 염분 (회화법)	3
3. 일반세균수	4
4. 대장균군	6
5. 마비성패독	13
6. 수은	20
7. 복어독	23

□ 출처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 2. 식품성분시험법
▶ 2.1 일반성분시험법 ▶ 2.1.1 수분

□ 수 분

- 이 시험에서 수분이라 함은 건조감량법, 증류법 및 칼피셔(Karl-Fisher)법에 따라 정량되는 것을 말한다.

□ 건조감량법(상압가열건조법)

1) 시험법 적용범위

이 시험법은 식품의 종류, 성질에 따라서 가열온도를 ㉠ 98~100℃ ㉡ 100~103℃ ㉢ 105℃전후(100~110℃) 및 ㉣ 110℃이상으로 한다.
즉 ㉠은 동물성 식품과 단백질 함량이 많은 식품 ㉡는 자당과 당분을 많이 함유한 식품 ㉢는 식물성 식품 ㉣는 곡류 등의 신속법으로 쓰인다.

2) 분석원리

검체를 물의 끓는점보다 약간 높은 온도 105℃에서 상압건조시켜 그 감소되는 양을 수분량으로 하는 방법으로서 가열에 불안정한 성분과 휘발성분을 많이 함유한 식품에 있어서는 정확도가 낮은 결점이 있으나 측정원리가 간단하여 여러 가지 식품에 있어서 많이 이용된다.

3) 장치

가) 칭량접시

상부직경 55 mm, 하부직경 50 mm, 높이 25 mm 또는 상부직경 75 mm, 하부직경 70 mm, 높이 35 mm로서 뚜껑이 있으며 중량은 전자가 약 25 g, 후자가 약 35 g의 알루미늄으로 만들어진 것을 사용한다.

나) 유리봉

해사(정제) 20 g을 칭량접시에 옆으로 삽입했을 때 적어도 1.5 cm 이상 해사로부터 나와 있어야 하며 뚜껑을 닫을 수 있을 정도의 길이일 것.

다) 자동조절기가 달린 건조기적어도 $\pm 1^\circ\text{C}$ 이내의 온도조절이 가능해야 한다.

4) 시험방법

미리 가열하여 항량으로 한 칭량접시에 검체 3~5g을 정밀히 달아(건조가 어려운 검체인 경우에는 20 메쉬(mesh) 정제해사 20g과 유리봉을 넣어 항량이 되게 하고 이에 검체를 넣어 잘 섞은 후 유리봉은 그대로 넣어 둔다), 뚜껑을 약간 열어 놓고 각 식품마다 규정된 온도의 건조기에 넣어 3~5시간 건조한 후 데시케이터 중에서 약 30분간 식히고 질량을 측정한다. 다시 칭량접시를 1~2시간 건조하여 항량이 될 때까지 같은 조작을 반복한다.

5) 계산방법

$$\text{수분(\%)} = \frac{b-c}{b-a} \times 100$$

a : 칭량접시의 질량(g)

b : 칭량접시와 검체의 질량(g)

c : 건조 후 항량이 되었을 때의 질량(g)

□ 출처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 2. 식품성분시험법
 - ▶ 2.2 미량영양성분시험법 ▶ 2.2.1 무기질 ▶ 2.2.1.5 식염

□ 식염

가. 회화법

1) 분석원리

전처리한 검체용액을 비커에 넣고 크롬산칼륨(K_2CrO_4)시액 몇방울 가한 후 뷰렛 등으로 질산은($AgNO_3$) 표준용액을 적하하면 Cl^- 은 전부 $AgCl$ 의 백색침전으로 되고 또 K_2CrO_4 와 반응하여 크롬산은(Ag_2CrO_4)의 적갈색 침전이 생기기 시작하므로 완전히 적갈색으로 변하는데 소비되는 $AgNO_3$ 액의 양으로 정량하는 방법이다.

2) 시험방법

식염 약 1g을 함유하는 양의 검체를 취하여 필요한 경우 수욕상에서 증발 건조한 후 회화시켜 이를 물에 녹이고 다시 물을 가하여 500 mL로 한 후 여과하고 여액 10 mL에 크롬산칼륨시액 2~3방울을 가하고 0.02 N 질산은 액으로 적정한다.

3) 계산방법

$$\text{식염} = \frac{b}{a} \times f \times 5.85(\text{w/w}\%, \text{w/v}\%)$$

a : 검체 채취량(g, mL)

b : 적정에 소비된 0.02 N 질산은액의 양(mL)

f : 0.02 N 질산은 액의 역가

□ 출 처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 4. 미생물시험법 ▶ 4.5 세균수 ▶ 4.5.1 일반세균수

□ 세균수

세균수 측정법은 일반세균수를 측정하는 표준평판법, 건조필름법 또는 자동화된 최확수법(Automated MPN)을 사용할 수 있다.

□ 일반세균수

가. 표준평판법

표준한천배지에 검체를 혼합 응고시켜 배양 후 발생한 세균 집락수를 계수하여 검체 중의 생균수를 산출하는 방법이다.

1) 시험조작

시험용액 1 mL와 10배 단계 희석액 1 mL씩을 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 취하여 약 43~45 °C로 유지한 표준한천배지(배지 1) 약 15 mL를 무균적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시킨다.

※ 시험용액 제조법: 멸균생리식염수 또는 멸균인산완충액을 이용하여 시료 25 g을 희석(균질화)한다.

※ 표준한천배지 제조법: Tryptone 5.0 g, Yeast Extract 2.5 g, Dextrose 1.0 g, Agar 15.0 g을 증류수 1,000 mL에 녹여 pH 7.0±0.2로 조정 후 121 °C로 15분간 멸균한다.

확산집락의 발생을 억제하기 위하여 다시 표준한천배지 3~5 mL를 가하여 중첩시킨다. 이 경우 검체를 취하여 배지를 가할 때까지의 시간은 20분 이상 경과하여서는 아니 된다.

응고시킨 페트리접시는 뒤집어 35±1 °C에서 48±2시간(시료에 따라서 30±1 °C 또는 35±1 °C에서 72±3시간) 배양한다. 집락수의 계산은 확산집락이 없고 1개의 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 한다. 시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL를 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다.

2) 집락수 산정

배양 후 생성된 집락수를 신속히 계산한다. 부득이할 경우에는 5 °C에 보존시켜 24시간 이내에 산정한다. 집락수의 계산은 확산집락이 없고(전면의

1/2이하 일 때에는 지장이 없음) 1개의 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 한다. 전 평판에 300개 초과 집락이 발생한 경우 300에 가까운 평판에 대하여 밀집평판 측정법에 따라 계산한다. 전 평판에 15개 미만의 집락만을 얻었을 경우에는 가장 희석배수가 낮은 것을 측정한다.

3) 세균수의 기재보고

표준평판법에 있어서 검체 1 mL 중의 세균수를 기재 또는 보고할 경우에 그것이 어떤 제한된 것에서 발육한 집락을 측정한 수치인 것을 명확히 하기 위하여 1평판에 있어서의 집락수는 상당 희석배수로 곱하고 그 수치가 표준평판법에 있어서 1 mL 중(1 g 중)의 세균수 몇 개라고 기재보고하며 동시에 배양온도를 기록한다. 숫자는 높은 단위로부터 3단계에서 반올림하여 유효숫자를 2단계로 끊어 이하를 0으로 한다.

① 15 - 300CFU/ plate인 경우

$$N = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)\} \times (d)}$$

N = 식육 g 또는 mL 당 세균 집락수

$\sum C$ = 모든 평판에 계산된 집락수의 합

n_1 = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판수

n_2 = 두 번째 희석배수에서 계산된 평판수

d = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판의 희석배수

구 분	희 석 배 수		CFU/g(mL)
	1:100	1:1,000	
집 락 수	232 244	33 28	24,000

$$N = \frac{(232+244+33+28)}{\{(1 \times 2) + (0.1 \times 2)\} \times 10^{-2}} = 537/0.022 = 24,409 = 24,000$$

② 15 CFU / plate 미만인 경우

구 분	희 석 배 수		CFU/g(mL)
	1:10	1:100	
집 락 수	14 10	2 1	120

$$N = \frac{(14+10)}{(1 \times 2) \times 10^{-1}} = 24/0.2 = 120$$

4

대장균군

□ 출처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 4. 미생물시험법 ▶ 4.7 대장균군

□ 대장균군

대장균군은 Gram음성, 무아포성 간균으로서 유당을 분해하여 가스를 발생시키는 모든 호기성 또는 통성 혐기성세균을 말한다. 대장균군 시험에는 대장균군의 유무를 검사하는 정성시험과 대장균군의 수를 산출하는 정량시험이 있다.

□ 정성시험

가. 유당배지법

유당배지를 이용한 대장균군의 정성시험은 추정시험, 확정시험, 완전시험의 3단계로 나눈다.

아래의 제조법에 따른 시험용액 10 mL를 2배 농도의 유당배지(배지 2)에, 시험용액 1 mL 및 0.1 mL를 유당배지(배지 2)에 각각 3개 이상씩 가한다. 시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL을 각각 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다.

※ 시험용액의 제조

- 가. 미생물검사용 시료는 25 g(mL)을 대상으로 검사함을 원칙으로 한다. 다만 시료량이 적은 불가피한 경우 그 이하의 양으로 검사할 수도 있다.
- 나. 미생물 정성시험에서 5개 시료를 검사하는 경우, 5개 시료에서 25 g(mL)씩 채취하여 각각 검사한다. 다만, 시료에 직접 증균배지를 가하여 배양하는 경우는 5개 시료에서 25 g(mL)씩 채취하여 섞은(pooling) 125 g(mL)을 검사할 수 있다.
- 다. 채취한 검체는 희석액을 이용하여 필요에 따라 10배, 100배, 1,000배 등 단계별 희석용액을 만들어 사용할 수 있다. 다만, 제조된 시험용액과 단계별 희석액은 즉시 실험에 사용하여야 한다.
- 라. 희석액은 멸균생리식염수, 멸균인산완충액 등을 사용할 수 있다. 단, 별도의 시험용액 제조법이 제시되는 경우 그에 따른다.

- 마. 검체를 용기 포장한 대로 채취할 때에는 그 외부를 물로 씻고 자연 건조시킨 다음 마개 및 그 하부 5~10 cm의 부근까지 70% 알코올탈지면으로 닦고, 멸균한 기구로 개봉, 또는 개관하여 2차 오염을 방지하여야 한다.
- 바. 지방분이 많은 검체의 경우는 Tween 80과 같은 세균에 독성이 없는 계면활성제를 첨가할 수 있다.
- 사. 실험을 실시하기 직전에 잘 균질화 하고 검사검체에 따라 다음과 같이 시험용액을 제조한다.
- 1) 액상검체 : 채취된 검체를 강하게 진탕하여 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
 - 2) 반유동상검체 : 채취된 검체를 멸균 유리봉 또는 시약스푼 등으로 잘 혼합한 후 그 일정량(10~25 mL)을 멸균용기에 취해 9배 양의 희석액과 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
 - 3) 고체검체 : 채취된 검체의 일정량(10~25 g)을 멸균된 가위와 칼 등으로 잘게 자른 후 희석액을 가해 균질기를 이용해서 가능한 한 저온으로 균질화한다. 여기에 희석액을 가해서 일정량(100~250 mL)으로 한 것을 시험용액으로 한다.
 - 4) 고체표면검체 : 검체표면의 일정면적(보통 100 cm²)을 일정량(1~5 mL)의 희석액으로 적신 멸균거즈와 면봉 등으로 닦아내어 일정량(10~100 mL)의 희석액을 넣고 강하게 진탕하여 부착균의 현탁액을 조제하여 시험용액으로 한다.
 - 5) 분말상검체 : 검체를 멸균 유리봉과 멸균 시약스푼 등으로 잘 혼합한 후 그 일정량(10~25 g)을 멸균용기에 취해 9배 양의 희석액과 혼합한 것을 시험용액으로 한다.
 - 6) 버터와 아이스크림류 : 검체 일정량(10~25 g)을 멸균용기에 취해 40℃ 이하의 온탕에서 15분 내에 용해시킨 후 희석액을 가하여 100~250 mL로 한 것을 시험용액으로 한다.
 - 7) 캡슐제품류 : 캡슐을 포함하여 검체의 일정량(10~25 g)을 취한 후 9배 양의 희석액을 가해 균질기 등을 이용하여 균질화한 것을 시험용액으로 한다.
 - 8) 냉동식품류 : 냉동상태의 검체를 포장된 상태 그대로 40℃ 이하에서 될 수 있는대로 단시간에 녹여 용기, 포장의 표면을 70% 알코올솜으로 잘 닦은 후 상기 가.~사.의 방법으로 시험용액을 조제한다.
 - 9) 칼·도마 및 식기류 : 멸균한 탈지면에 희석액을 적셔, 검사하고자 하는 기구의 표면을 완전히 닦아낸 탈지면을 멸균용기에 넣고 적당량의 희석액과 혼합한 것을 시험용액으로 사용한다.

1) 추정시험

시험용액을 접종한 유당배지(배지 2)를 35~37 °C에서 24±2시간 배양한 후 발효관내에 가스가 발생하면 추정시험 양성이다.

24±2시간 내에 가스가 발생하지 아니하였을 때에 배양을 계속하여 48±3시간까지 관찰한다. 이 때까지 가스가 발생하지 않았을 때에는 추정시험 음성이고 가스발생이 있을 때에는 추정시험 양성이며 다음의 확정시험을 실시한다.

2) 확정시험

추정시험에서 가스 발생한 유당배지발효관으로부터 BGLB 배지(배지 3)에 접종하여 35~37 °C에서 24±2시간 동안 배양한 후 가스발생 여부를 확인하고 가스가 발생하지 아니하였을 때에는 배양을 계속하여 48±3시간까지 관찰한다.

가스발생을 보인 BGLB 배지(배지 3)로부터 Endo 한천배지(배지 5) 또는 EMB 한천배지(배지 6)에 분리 배양한다.

35~37 °C에서 24±2시간 배양 후 전형적인 집락이 발생되면 확정시험 양성으로 한다.

BGLB배지에서 35~37 °C로 48±3시간 동안 배양하였을 때 배지의 색이 갈색으로 되었을 때에는 반드시 완전시험을 실시한다.

3) 완전시험

확정시험의 Endo 한천배지(배지 5)나 EMB한천배지(배지 6)에서 전형적인 집락 1개 또는 비전형적인 집락 2개 이상을 보통한천배지(배지 8)에 접종하여 35~37 °C에서 24±2시간 동안 배양한다.

보통한천배지의 집락에 대하여 그람음성, 무아포성 간균이 증명되면 완전시험은 양성이며 대장균군 양성으로 판정한다.

나. BGLB 배지법

“유당배지법”에서 제시된 시험용액 1 mL와 0.1 mL를 2개씩 BGLB 배지(배지 3)에 가한다. 시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL을 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다. 대량의 시험용액을 가할 필요가 있을 때에는 대량의 배지를 넣은 발효관을 사용한다.

시험용액을 넣은 BGLB 배지(배지 3)를 35~37 °C에서 48±3시간 배양한 후 가스 발생을 인정하였을 때에는(배지를 흔들 때 거품 모양의 가스의

존재를 인정하였을 때에도) Endo 한천배지(배지 5) 또는 EMB 한천배지(배지 6)에 분리 배양한다. 이하의 조작은 가. 유당배지법의 확정시험 또는 완전 시험 때와 같이 행하여 대장균군의 유무를 확인한다.

다. 데스옥시콜레이트 유당한천 배지법

“유당배지법”에서 제시된 시험용액 1 mL와 10배 단계 희석액 1 mL씩을 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 취하고 약 43~45 °C로 유지한 데스옥시콜레이트 유당한천배지(배지 9) 또는 VRBA 평판배지(배지 96) 약 15 mL를 무균적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의 하면서 회전하여 검체와 배지를 잘 혼합한 후 응고 시킨다. 그리고 그 표면에 동일한 배지 또는 보통한천배지를 3~5 mL를 가하여 중첩시킨다. 시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL를 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다.

이것을 35~37 °C에서 24±2 시간 배양 한 후 전형적인 암적색의 집락을 인정하였을 때에는 1개 이상의 집락을, 의심스러운 집락일 경우에는 2개 이상을 Endo 한천배지(배지 5) 또는 EMB 한천배지(배지 6) 또는 MacConkey 배지(배지 30)에서 분리 배양한다.

이하의 조작은 가. 유당배지법의 확정시험 또는 완전시험 때와 같이 행하고 대장균군의 유무를 시험한다.

□ 정량시험

가. 최확수법

최확수란 이론상 가장 가능한 수치를 말하여 동일 희석배수의 시험용액을 배지에 접종하여 대장균군의 존재 여부를 시험하고 그 결과로부터 확률론적인 대장균군의 수치를 산출하여 이것을 최확수(MPN)로 표시하는 방법이다. 최확수는 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 각각 5개씩(별표 1) 또는 3개씩(별표 2) 발효관에 가하여 배양 후 얻은 결과에 의하여 검체 1 mL중 또는 1 g중에 존재하는 대장균군 수를 표시하는 것이다.

예로 검체 또는 희석검체의 각각의 발효관을 5개씩 사용하여 다음과 같은 결과를 얻었다면 최확수표에 의하여 시험검체 1 mL중의 MPN은 70으로 된다. 이 때 접종량이 1, 0.1, 0.01 mL일 때에는 70/10=7로 한다. 10, 1, 0.1 mL 일 때에는 70/100=0.7로 한다.

시험용액 접종량	0.1 mL	0.01 mL	0.001 mL	MPN
가스발생양성관수	5 개	2 개	1 개	70

시험용액 접종이 4단계 이상으로 행하여졌을 때에는 다음 표와 같이 취급한다.

예	가스발생 양성관수				유효숫자			
	1 mL	0.1 mL	0.01 mL	0.001 mL	1 mL	0.1 mL	0.01 mL	0.001 mL
I	5	5	2	0	-	5	2	0
II	5	4	3	0	5	4	3	-
III	0	1	0	0	0	1	0	-
IV	5	3	1	1	5	3	2	-

예 I, II : 5개 양성을 표시한 최소 접종량부터 시작한다.

예 III : 양성을 인정한 접종량을 중간으로 한다.

예 IV : 최소 유효 접종량 보다 1단계 적은 접종량에서 양성을 인정할 때에는 양성을 인정한 수를 최소 유효 접종량의 양성관 수에 더한다(0.001 mL 단계의 양성관의 수를 0.01단계의 양성관의 수에 더함)

1) 유당배지법

정성시험의 “유당배지법”에서 제시된 시험용액의 제조법에 따른 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 5개 또는 3개씩의 유당배지(배지 2)에 접종한다. 단, 10 mL를 접종할 때에는 2배 농도 유당 배지를 사용하고 0.1 mL 이하를 접종할 필요가 있을 때에는 10배 희석단계액을 각각 1 mL씩 사용한다.

시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액을 대조시험액으로 하여 시험 조작의 무균여부를 확인한다.

가스발생 발효관 각각에 대하여 추정, 확정, 완전시험을 행하고 대장균 균의 유무를 확인한 다음 최확수표로부터 검체 1 mL 또는 1 g중의 대장균군수를 구한다. 이때 시험용액을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생이 인정되거나 또 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스가 발생되지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 한다

2) BGLB배지법

정성시험의 “유당배지법”에서 제시된 시험용액의 제조법에 따른 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 5개 또는 3개씩 BGLB 배지(배지 3)에 각각 접종한다. 단, 10 mL를 접종할 때에는 2배 농도 BGLB 배지를 사용하고 0.1 mL 이하를 접종할 필요가 있을 때에는 10배 희석단계액을 각각 1 mL씩 사용한다.

시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액을 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다. 이때 시험용액을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생이 인정되거나 또 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스가 발생되지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 한다. 이하의 조작은 각 발효관에 대하여 BGLB 배지에 의한 정성시험법에 따라 하고 대장균군의 유무를 확인한 다음 최확수표로부터 검체 1 mL 또는 1 g중의 대장균군수를 산출한다.

나. 데스옥시콜레이트유당한천배지법

정성시험의 “유당배지법”에서 제시된 시험용액의 제조법에 따른 시험용액 1 mL와 각 10배 단계 희석액 1 mL에 대하여 이 배지에 의한 정성시험법과 같은 조작으로 35~37 °C에서 24±2시간 배양한 후 생성된 집락중 전형적인 집락 또는 의심스러운 집락에 대하여 정성시험 때와 같은 조작으로 대장균군의 유무를 결정한다. 시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL를 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인한다. 균수 산출은 4.5.1 일반세균수에 따라 한다.

※ 일반세균수

- 세균수의 기재보고

표준평판법에 있어서 검체 1 mL 중의 세균수를 기재 또는 보고할 경우에 그것이 어떤 제한된 것에서 발육한 집락을 측정 한 수치인 것을 명확히 하기 위하여 1평판에 있어서의 집락수는 상당 희석배수로 곱하고 그 수치가 표준평판법에 있어서 1 mL 중(1 g 중)의 세균수 몇 개라고 기재보고하며 동시에 배양온도를 기록한다. 숫자는 높은 단위로부터 3단계에서 반올림하여 유효숫자를 2단계로 끊어 이하를 0으로 한다.

① 15 - 300CFU/ plate인 경우

$$N = \frac{\sum C}{\{(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)\} \times (d)}$$

N= 식육 g 또는 mL 당 세균 집락수

∑C = 모든 평판에 계산된 집락수의 합

n1 = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판수

n2 = 두 번째 희석배수에서 계산된 평판수

d = 첫 번째 희석배수에서 계산된 평판의 희석배수

구 분	희 석 배 수		CFU/g(mL)
	1:100	1:1,000	
집 락 수	232	33	24,000
	244	28	

$$N = \frac{(232+244+33+28)}{\{(1 \times 2) + (0.1 \times 2)\} \times 10^{-2}}$$

$$= 537/0.022 = 24,409 = 24,000$$

② 15 CFU / plate 미만인 경우

구 분	희 석 배 수		CFU/g(mL)
	1:10	1:100	
집 락 수	14	2	120
	10	1	

$$N = \frac{(14+10)}{(1 \times 2) \times 10^{-1}} = 24/0.2 = 120$$

다. 건조필름법

정성시험의 “유당배지법”에서 제시된 시험용액의 제조법에 따른 시험용액 1 mL와 각 10배 단계 희석액 1 mL를 2매 이상씩 대장균균 건조필름배지 I(배지 54) 또는 대장균균 건조필름배지 II(배지 70)에 접종한 후, 35±1 °C에서 24±2시간 배양한다.

시험용액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL를 대조시험액으로 하여 시험 조작의 무균여부를 확인한다. 대장균균 건조필름배지 I에서는 붉은 집락 중 주위에 기포를 형성한 집락수를 계산하고, 대장균균 건조필름배지 II에서는 청색 및 청녹색의 집락수를 계산하여 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 대장균균 수를 산출한다.

균수 산출 및 기재보고는 ※ 일반세균수에 따라 한다.

라. 자동화된 최확수법(Automated MPN)

우유류, 유당분해우유, 가공유(무지유고형분 5.5%미만인 제품 제외), 발효유류, 가공치즈, 조제유류, 분유류, 건조저장육류, 식육추출가공품, 알가열제품 검사에 한한다.

□ 출 처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 9. 식품 중 유해물질 시험법
 - ▶ 9.8 패독소 ▶ 9.8.2 마비성 패독

□ 마비성 패독

가. 시험법 적용범위

패류, 피낭류, 패류 및 피낭류 통조림, 패류 및 피낭류 염장품, 패류 및 피낭류 건조가공품에 적용한다.

나. 분석원리

균질화한 검체를 0.1 N 염산으로 가온 추출한 뒤 상층액을 마우스 복강 내에 주사하여 그 치사시간으로부터 MU(Mouse Unit)*을 구한 후 이를 마비성 패독으로 환산한다.

- * MU(Mouse Unit): 체중이 20 g인 마우스를 15분에 사망에 이르게 하는 독량을 1 MU로 정의한다.

다. 장치

- 1) 정제용 칼럼 : 크로마토그래피용 활성탄(100 mesh) 50 mL를 안지름 20 mm의 유리칼럼에 충전하여 사용하거나 또는 이와 동등한 것을 사용할 수 있다.
- 2) pH 측정기 : 표준완충액 pH 4.0, pH 7.0, pH 10.0으로 표준화 시킨 것

라. 시약 및 시액

- 1) 물 : 2차 증류수 및 이와 동등한 것
- 2) 표준용액 : 삭시톡신 표준물질에 3.0 mM 염산을 가하여 1 µg/mL 농도가 되도록 조제한다.
- 3) 1% 초산 함유 20% 에탄올용액 : 1 L 메스플라스크에 에탄올 200 mL를 넣고 물 500 mL를 섞은 후 초산 10 mL를 넣고 표시선까지 물로 채운다.
- 4) 5 N 염산 : 물 50 mL에 염산 47.5 mL를 가하고 물을 가해 100 mL로 한다
- 5) 0.1 N 염산 : 5 N 염산을 물로 50배 용량으로 희석하거나 물 50 mL에 염산 0.95 mL를 가하고 물을 가해 100 mL로 한다.

- 6) 0.01 N 염산 : 0.1 N 염산을 물로 10배 용량으로 희석하거나 물 100 mL에 염산 0.475 mL을 가하고 물을 가해 500 mL로 한다.
- 7) 3 mM 염산 : 물 50 mL에 0.1 N 염산 3 mL를 가하고 물을 가해 100 mL로 한다.
- 8) 0.1 N 수산화나트륨용액 : 수산화나트륨 0.40 g을 물을 가하여 녹인후 100 mL로 한다.
- 9) 기타 시약 : 특급

마. 시험용액의 조제

1) 검체의 손질

가) 패류, 피낭류

패류 및 피낭류의 외부를 물로 깨끗이 씻고 10개체 이상 또는 껍질을 제거한 육이 200 g 이상이 되도록 손질 한다.(패류의 경우 패각을 열고 내부의 모래나 이물질을 제거하기 위해 물로 씻은 후 칼로 패육을 취한다.) 이때 가열하거나 약품을 사용해서는 아니 된다. 육 전량을 표준체(20 mesh)에 얹어 5분 동안 물을 뺀 후 균질기로 균질화한다.

나) 패류 및 피낭류 통조림

내용물 전량을 취해 균질화한다(대용량인 경우 표준체(20 mesh)에 얹어 2분간 고형물과 액체를 분리한 후 고형물과 액체의 중량을 측정하고 그 비율에 따라 200 g 이상을 취하여 균질화한다).

다) 패류 및 피낭류 염장품, 패류 및 피낭류 건조가공품

검체 일정량을 분말로 만들거나 가늘게 잘라 균질화한다.

2) 추출

가) 패류, 피낭류, 패류 및 피낭류 통조림

균질화한 검체 100 g을 비커에 달아 0.1 N 염산 100 mL를 가하고 교반하면서 5 N 염산이나 0.1 N 수산화나트륨용액으로 pH를 3.0으로 조정한다. 강염기성이 되면 독이 파괴되기 때문에 0.1 N 수산화나트륨용액으로 pH를 조정할 때에는 부분적인 파괴를 방지하기 위하여 격렬히 교반하면서 소량씩 적가한다. 혼합액을 5분간 끓이고 실온에서 식힌 후, pH가 3.0이 되도록 조정하고 물을 가하여 200 mL이 되게 한다. 비커에 옮긴 후 교반하고 상층부가 투명해질 때까지 정치하여 상층액을 시험용액으로 한다. 만약, 필요하면 원심분리(예: 1,200 G에서 5분간)하여 얻은 상층액을 시험용액으로 사용하여도 된다.

나) 패류 및 피낭류 염장품, 패류 및 피낭류 건조가공품

균질화한 검체 20 g을 비커에 달아 0.1 N 염산 100 mL를 가하여 패류의 추출방법에 따라 추출한다. 추출액 중 상층액 25 mL를 분취하여 pH 4.5~5.5로 조정된 다음 분당 3 mL 이하의 유속으로 정제용 유리 칼럼을 통과시킨다. 물 100 mL로 칼럼을 세척한 후 1% 초산함유 20% 에탄올용액 150 mL로 용출시킨다. 용출액을 감압 농축하고 잔류물을 0.01 N 염산 10 mL에 녹여 시험용액으로 한다.

바. 시험조작(마우스 시험)

1) 마우스

ICR계의 또는 ddy계 동일계통의 생후 4주된 19~21 g의 건강한 수컷을 사용한다. 시험에 사용한 마우스는 표 2를 이용하여 마우스체중에 대해 보정한다.

2) 시험

시험용액 1 mL을 2마리의 마우스 복강 내에 주사하고 주사 후부터 사망까지의 시간을 초단위로 기록한다. 사망 시에는 3마리 이상의 마우스를 취하여 복강 내에 주사하여 치사시간을 구한다. 다만, 마우스가 5분 이내에 사망한 경우 5~7분 정도에서 사망하도록 희석하여 치사시간을 구한다. 희석시에는 0.1 N 또는 0.01 N 염산으로 pH 2.0~4.0 되게 조정하여 사용한다.

사. 계산

1) CF(Conversion Factor) 산출

표준용액 10 mL에 3.0 mM 염산을 10, 15, 20, 25 및 30 mL을 각각 가하여 희석한 용액(이 액은 pH가 2.0~4.0이어야하며, 4.5를 넘어서는 안된다) 1 mL씩을 각각 3마리 마우스에 복강 내 주사하고 주사 후부터 사망까지의 시간을 초단위로 기록하여 치사시간이 5~7분 사이가 되는 용액의 농도를 선택한다. 선택된 농도에 첨가되는 3.0 mM 염산의 양을 1 mL씩 증감하여 세 농도의 희석표준용액을 제조한다(표준용액 10 mL에 3.0 mM 염산 25 mL로 희석한 액이 선택된 경우, 표준용액 10 mL에 3.0 mM 염산 24 mL, 25 mL 및 26 mL을 각각 가하여 제조한다) 이 세 농도의 희석표준용액 1 mL씩을 각각 10마리의 마우스 복강 내에 주사하여 치사시간을 구한다. 표 1에 의한 치사시간에 따른 MU와 표 2에 의한 마우스의 체중에 따른 MU를

곱한 보정된 MU들을 구하고, 이 보정된 MU들의 중앙값을 희석표준용액의 MU로 한다.

CF는 각 희석표준용액의 CF를 평균하여 구한다.

$$CF = \frac{\text{희석표준용액의 농도}(\mu\text{g/mL})}{\text{MU}}$$

2) CF를 이용한 마비성 패독 계산

시험용액 1 mL를 마우스에 주사하고 살아남은 것을 포함한 각 마우스의 치사시간으로부터 표 1에서 1 mL 당 MU를 구하고, 표 2에서 각 마우스 체중에 대한 MU를 보정한 후 중앙값을 구한다(중앙값을 구할 때 60분 이상 살아있는 마우스의 치사시간에 대한 MU는 0.875이하로 간주).

CF에 마우스체중을 보정한 1 mL당 MU의 중앙값을 곱하여 1 mL당 μg 의 마비성 패독으로 환산하고 다음 식에 의해 검체 중의 마비성 패독을 구한다.
마비성 패독(mg/kg) = CF × 치사시간 및 체중보정에 의한 MU × 최종 부피(mL) × 희석배수 / 검체량(g)

표 1. 마비성 패독의 치사시간-MU 환산표(Sommer 표)

치사시간 (분:초)	MU	치사시간 (분:초)	MU	치사시간 (분:초)	MU
1:00	100.0	4:00	2.500	5:25	1.770
1:10	66.20	4:05	2.440	5:26	1.764
1:15	38.30	4:10	2.380	5:27	1.758
1:20	26.40	4:15	2.320	5:28	1.752
1:25	20.70	4:20	2.260	5:29	1.746
1:30	16.50	4:25	2.210	5:30	1.740
1:35	13.90	4:30	2.160	5:31	1.735
1:40	11.90	4:35	2.120	5:32	1.730
1:45	10.40	4:40	2.080	5:33	1.725
1:50	9.330	4:45	2.040	5:34	1.720
1:55	8.420	4:50	2.000	5:35	1.715
		4:55	1.960	5:36	1.710
2:00	7.670			5:37	1.705
2:05	7.040	5:00	1.920	5:38	1.700
2:10	6.520	5:01	1.914	5:39	1.695
2:15	6.060	5:02	1.908	5:40	1.690
2:20	5.660	5:03	1.902	5:41	1.686
2:25	5.320	5:04	1.896	5:42	1.682
2:30	5.000	5:05	1.890	5:43	1.678
2:35	4.730	5:06	1.884	5:44	1.674
2:40	4.480	5:07	1.878	5:45	1.670
2:45	4.260	5:08	1.872	5:46	1.664
2:50	4.060	5:09	1.866	5:47	1.658
2:55	3.880	5:10	1.860	5:48	1.652
		5:11	1.854	5:49	1.646
3:00	3.700	5:12	1.848	5:50	1.640
3:05	3.570	5:13	1.842	5:51	1.636
3:10	3.430	5:14	1.836	5:52	1.632
3:15	3.310	5:15	1.830	5:53	1.628
3:20	3.190	5:16	1.824	5:54	1.624
3:25	3.080	5:17	1.818	5:55	1.620
3:30	2.980	5:18	1.812	5:56	1.616
3:35	2.880	5:19	1.806	5:57	1.612
3:40	2.790	5:20	1.800	5:58	1.608
3:45	2.710	5:21	1.794	5:59	1.604
3:50	2.630	5:22	1.788		
3:55	2.560	5:23	1.782	6:00	1.600
		5:24	1.776	6:01	1.596

치사시간 (분:초)	MU	치사시간 (분:초)	MU	치사시간 (분:초)	MU
6:02	1.592	6:39	1.450	11:00	1.075
6:03	1.588	6:40	1.447	11:30	1.060
6:04	1.584	6:41	1.443		
6:05	1.580	6:42	1.440	12:00	1.050
6:06	1.576	6:43	1.437		
6:07	1.572	6:44	1.433	13:00	1.030
6:08	1.568	6:45	1.430		
6:09	1.564	6:46	1.427	14:00	1.015
6:10	1.560	6:47	1.425		
6:11	1.556	6:48	1.422	15:00	1.000
6:12	1.552	6:49	1.419		
6:13	1.548	6:50	1.417	16:00	0.990
6:14	1.544	6:51	1.414		
6:15	1.540	6:52	1.411	17:00	0.980
6:16	1.536	6:53	1.409		
6:17	1.532	6:54	1.406	18:00	0.972
6:18	1.528	6:55	1.403		
6:19	1.524	6:56	1.401	19:00	0.965
6:20	1.520	6:57	1.398		
6:21	1.516	6:58	1.395	20:00	0.960
6:22	1.512	6:59	1.393		
6:23	1.508			21:00	0.954
6:24	1.504	7:00	1.390		
6:25	1.500	7:15	1.350	22:00	0.948
6:26	1.496	7:30	1.310		
6:27	1.492	7:45	1.280	23:00	0.942
6:28	1.488				
6:29	1.484	8:00	1.250	24:00	0.937
6:30	1.480	8:15	1.220		
6:31	1.477	8:30	1.200	25:00	0.934
6:32	1.473	8:45	1.180		
6:33	1.470			30:00	0.917
6:34	1.467	9:00	1.160		
6:35	1.463	9:30	1.130	40:00	0.898
6:36	1.460				
6:37	1.457	10:00	1.110	60:00	0.875
6:38	1.453	10:30	1.090		

표 2. 마우스체중-MU 보정표

마우스 체중(g)	MU	마우스 체중(g)	MU
10.00	0.500	19.10	0.973
11.00	0.560	19.20	0.976
12.00	0.620	19.30	0.979
13.00	0.675	19.40	0.982
14.00	0.730	19.50	0.985
14.50	0.760	19.60	0.988
15.00	0.785	19.70	0.991
15.50	0.810	19.80	0.994
16.00	0.840	19.90	0.997
16.50	0.860	20.00	1.000
17.00	0.880	20.10	1.003
17.10	0.885	20.20	1.006
17.20	0.890	20.30	1.009
17.30	0.895	20.40	1.012
17.40	0.900	20.50	1.015
17.50	0.905	20.60	1.018
17.60	0.910	20.70	1.021
17.70	0.915	20.80	1.024
17.80	0.920	20.90	1.027
17.90	0.925	21.00	1.030
18.00	0.930	21.10	1.032
18.10	0.934	21.20	1.034
18.20	0.938	21.30	1.036
18.30	0.942	21.40	1.038
18.40	0.946	21.50	1.040
18.50	0.950	21.60	1.042
18.60	0.954	21.70	1.044
18.70	0.958	21.80	1.046
18.80	0.962	21.90	1.048
18.90	0.966	22.00	1.050
19.00	0.970	23.00	1.070

주1) 마비성 패독이 함유된 재료를 조작시에는 고무장갑을 사용할 것

□ 출처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 9. 식품 중 유해물질 시험법
▶ 9.1 중금속 ▶ 9.1.6 수은(Hg)

□ 수은(Hg)

가. 시험법의 적용범위: 모든 식품에 적용한다.

나. 시험용액의 조제

1) 황산-질산환류법

시료(5~10 g)를 분해플라스크에 취하고, 물 10 mL 및 질산 20 mL를 넣어 혼합하여 잠시 방치한 다음 황산 20 mL를 천천히 넣는다.

환류냉각기를 연결하여 주의하면서 NO₂의 발생이 끝날 때까지 가열한다.

분해액이 담황색으로 투명하게 되지 않을 때에는 식힌 다음 질산 5 mL를 넣어 다시 가열한다.

필요하면 질산 5 mL의 추가를 되풀이 하여 분해액이 담황색으로 투명하게 되고 NO₂의 발생이 끝나면 식힌 다음 물 50 mL 및 10% 요소용액 10 mL를 넣어서 10분간 끓이고 식혀 과망간산칼륨 1 g을 넣고 10분간 때때로 흔들어 섞는다.

자홍색이 없어지면 다시 과망간산칼륨 1 g을 넣고 흔들어 섞는다.

이 조작을 자홍색이 남을 때까지 되풀이 하고 20분간 끓여 액의 자홍색이 없어지면 식힌 다음 과망간산칼륨 1 g을 넣고 다시 20분간 가열한다.

이 때 액의 자홍색이 없어지면 과망간산칼륨의 첨가 및 가열 조작을 다시 2회 되풀이 하고 식혀 용액이 무색투명하게 될 때까지 10% 과산화수소 용액을 주의하여 적가한다.

다만, 비색의 경우에는 과산화수소 대신 20% 염산히드록실아민용액을 이용한다. 식힌 다음 장치의 내부 및 연결부분을 황산(1→100) 20 mL로 씻고 플라스크에 합쳐 일정량으로 하여 시험용액으로 한다.

지방분이 많은 시료는 헥산 20 mL 씩으로 3회 추출하여 수용액을 시험용액으로 한다.

다. 측정

1) 원자흡광광도법에 의한 정량(환원기화법)

가) 분석원리

시험용액을 환원기화장치를 이용하여 흡광도를 측정한다.

나) 시약 및 시액

(가) 염화제일주석($\text{SnCl}_2(\text{II})$)용액 : 염화제일주석 100 g을 100 mL 염산에 녹여 물을 가하여 1,000 mL로 한다.

(나) 수은표준용액 : 염화제이수은 0.135 g을 10 % 질산 100 mL에 녹이고 물을 가하여 1,000 mL로 한다. 사용시 이 용액을 1 % 질산으로 1,000배 희석하여 표준용액으로 한다.

$$\text{수은표준용액 } 1 \text{ mL} = 0.1 \mu\text{L Hg}$$

다) 시험조작

시험용액 및 공시험용액, 염화제일주석용액을 시험용액병에 취하여 환원기화장치에 연결한 다음 다이어프램펌프(diaphragm pump)에 의해 공기를 흡수셀 중에 순환시켜 파장 253.7 nm에서 흡광도를 측정한다. 수은표준용액 0, 5, 10, 15, 20 mL에 물을 가해서 100 mL로 하여 시험용액과 같은 조작을 한 다음 각각의 흡광도를 측정하여 작성한 검량선으로부터 수은(Hg)의 함량을 구한다.

2) 원자흡광광도법에 의한 정량(금아말감법)

가) 분석원리

시료 중 수은을 금아말감으로 포집하여 냉원자흡광법으로 측정한다.

나) 장치

시료의 연소에서 금아말감에 의한 포집, 냉원자흡광법에 의한 측정까지를 자동화한 수은 측정장치를 쓴다.

다) 시약 및 시액

(가) 수은표준원액 : 염화제이수은 135.4 mg을 10 % 질산에 녹여 1,000 mL로 한다(어두운 곳에서 1~2개월까지 보존가능).

$$1 \text{ mL} = 100 \mu\text{g Hg}$$

(나) 수은표준용액 : 수은표준 원액을 10% 질산으로 희석하여 0~20 µg/mL로 한다(쓸 때에 만든다).

(다) 첨가제

- ① 산화알루미늄
- ② 수산화칼슘 + 탄산나트륨(1:1 혼합물)을 쓸 때에 950 °C에서 30 분간 활성화시킨다.

라) 시험조작

첨가제¹⁾ ㉠ 약 1g을 도가니에 고르게 펴고 고체 시료는 그 위에 세절 또는 균질화한 시료를 10~300 mg, 액체시료는 0.1~0.5 mL를 첨가제 ㉠에 완전히 스며들게 하고, 그 위에 첨가제 ㉠ 약 0.5g ㉡ 약 1g을 차례로 고르게 펴 층을 이루게 한다.

도가니를 연소부에 넣고 공기 또는 산소를 0.521 L/min를 통과하면서 300 °C에서 60초간 건조하고 850 °C에서 180초간 분해하여 수은을 유지시켜 포집관에 수은을 포집한다.

포집관을 약 700 °C로 가열하여 수은증기를 냉원자흡광분석장치에 보내고, 흡광도를 측정하여 A로 한다. 따로 도가니에 첨가제만을 취해 같은 조작을 되풀이하여 흡광도를 측정하여 Ab로 한다.

다음 수은표준용액을 써서 같은 조작을 되풀이하여 얻어진 흡광도에서 검량선을 작성하여 A-Ab 값을 검량선으로부터 시료 중의 수은량을 산출한다.

주1) 장비 사양에 따라 첨가제를 사용하지 않을 수 있으며, 장비 사용설명서를 참고한다.

□ 출처

- 식품공전 ▶ 제8. 일반시험법 ▶ 9. 식품 중 유해물질 시험법 ▶ 9.10 복어독

□ 복어독

가. 시험법 적용범위

복어와 복어 염장품 및 건조가공품 등에 적용한다.

나. 분석원리

껍질과 근육을 균질화한 후 검체 일정량을 비커에 취하여 0.1% 초산용액 또는 초산성 메탄올로 추출하여 수욕 중에서 교반 후 냉각하여 여과한다. 이 액을 마우스에 주입하여 치사시간으로부터 독량을 산출한다.

다. 시약 및 시액

- 1) 물 : 2차 증류수 및 이와 동등한 것
- 2) 초산성 메탄올(pH 3.0) : 초산 20 mL에 메탄올 900 mL을 가하여 초산으로 pH 3.0을 맞춘 후 1 L로 한다
- 3) 0.1% 초산용액 : 초산 0.1 mL에 물을 가하여 100 mL로 한다.
- 4) 기타시약 : 특급

라. 시험용액의 조제

1) 추출

가) 초산 추출법 (복어)

검체는 물과 직접 접촉해서는 아니 되며, 동결상태의 시료는 반동결 상태에서 껍질과 근육을 각각 별도로 분쇄기로 균질화한 후 10 g을 비커에 취하여 0.1% 초산용액 약 25 mL를 가한다.

끓는 수욕 중에서 교반하면서 10분간 가열 후 냉각한다.

원심관에 옮겨 원심분리(5,000 rpm, 5분)하여 추출액을 얻는다.

원심관 내의 잔류물을 0.1% 초산용액으로 세정하고 원심분리(5,000 rpm, 5분)하여 상등액을 추출액과 합한다.

이 액을 여과하고, 0.1% 초산용액으로 50 mL 되게 한 것을 각각의 시험용액으로 한다. 1 mL은 검체 0.2 g에 해당한다. 각각의 시험용액은 마우스 시험 전까지 냉장보관한다.

나) 초산성 메탄올 추출법 (복어 염장품 및 건조가공품 등)

껍질과 근육 각각 별도로 잘게 자르고, 분쇄기로 충분히 균질화한 후 검체 약 10 g과 초산성 메탄올 50 mL을 200 mL 등근바닥플라스크에 넣고 환류냉각장치를 부착시킨다.

이를 미리 70~75 °C로 예열된 전열기에서 10분간 가온하여 추출한다.

냉각 후 추출액을 다른 플라스크에 옮기고 초산성 메탄올 50 mL을 가하여 추출하는 과정을 두 번 반복하고 추출액은 모두 합한다.

잔류물을 초산성메탄올 10 mL로 세정하고 이액을 추출액과 합한 후 여과하여 감압 농축한다. 농축 한 것에 물 10 mL을 가하여 녹인 후, 분액깔때기에 옮기고 에틸에테르 10 mL을 넣어 흔들어 섞은 후 층을 분리하고 에테르 층은 버린다.

다시 물 층에 에틸에테르 10 mL을 넣는 과정을 반복한다. 물층을 40 °C 이상의 수욕상에서 감압하여 에테르를 제거한 후 물을 가해 20 mL 되게 한 것을 각각의 시험용액으로 한다. 1 mL는 검체 0.5 g에 해당한다. 각각의 시험용액은 마우스 시험 전까지 냉장보관 한다.

마. 시험조작 (마우스 시험)

1) 마우스

ICR계 또는 ddy계의 동일계통의 생후 4주된 19~21 g의 건강한 수컷을 사용한다. 시험에 사용한 마우스는 표 2를 이용하여 마우스 체중에 대해 보정한다.

2) 시험

시험용액 1 mL을 2마리의 마우스 복강 내에 주사하고 주사 후부터 사망까지의 시간을 초단위로 기록한다.

사망 시에는 3마리 이상의 마우스를 취하여 복강 내에 주사하여 반수치사시간(50 % lethal time, LT50)을 구한다. 다만, 마우스가 7분 이내에 사망한 경우 7~13분 정도에서 사망하도록 시험용액을 희석하고 마우스 복강 내에 주사하여 반수치사시간(50 % lethal time, LT50)을 구한다. 희석시에는 증류수를 사용한다.

바. 계산

살아남은 것을 포함한 마우스의 반수치사시간(50 % lethal time, LT50)으로부터 표 1에 의한 MU를 구한다. 만일 마우스가 19 g이하 혹은 21 g이상이면 표 2에서 각 마우스체중에 대한 MU를 보정한 후 중앙값을 구하여 다음 식에 의해 검체 1 g 당의 MU를 구한다.

$$\text{독력(MU/g)} = \text{치사시간 및 체중보정에 의한 MU} \times \text{희석배수} \times V / S$$

S : 검체의 채취량 (g)
V : 추출(1)법 50 (mL)
추출(2법) 20 (mL)

<표 1> 치사시간 - mouse 단위 환산법

치사시간 (분)	MU	치사시간 (분)	MU	치사시간 (분)	MU	치사시간 (분)	MU
4 : 00	5.62	5 : 45	3.07	9 : 30	1.77	15 : 30	1.28
4 : 05	5.40	5 : 50	3.01	9 : 45	1.74	16 : 00	1.26
4 : 10	5.19	5 : 55	2.95	10 : 00	1.70	16 : 30	1.24
4 : 15	5.00	6 : 00	2.89	10 : 15	1.67	17 : 00	1.23
4 : 20	4.82	6 : 10	2.79	10 : 30	1.64	17 : 30	1.21
4 : 25	4.66	6 : 20	2.70	10 : 45	1.61	18 : 00	1.19
4 : 30	4.50	6 : 30	2.61	11 : 00	1.58	18 : 30	1.18
4 : 35	4.36	6 : 40	2.53	11 : 15	1.56	19 : 00	1.17
4 : 40	4.23	6 : 50	2.46	11 : 30	1.53	19 : 30	1.15
4 : 45	4.10	7 : 00	2.39	11 : 45	1.51	20 : 00	1.14
4 : 50	3.99	7 : 10	2.33	12 : 00	1.49	20 : 30	1.13
4 : 55	3.88	7 : 20	2.27	12 : 15	1.47	21 : 00	1.12
5 : 00	3.77	7 : 30	2.22	12 : 30	1.45	21 : 30	1.11
5 : 05	3.68	7 : 40	2.17	12 : 45	1.43	22 : 00	1.10
5 : 10	3.58	7 : 50	2.12	13 : 00	1.42	22 : 30	1.09
5 : 15	3.50	8 : 00	2.08	13 : 15	1.40	23 : 00	1.08
5 : 20	3.42	8 : 15	2.01	13 : 30	1.38	23 : 30	1.08
5 : 25	3.34	8 : 30	1.96	13 : 45	1.36	24 : 00	1.07
5 : 30	3.26	8 : 45	1.91	14 : 00	1.34	24 : 30	1.06
5 : 35	3.19	9 : 00	1.86	14 : 30	1.33	25 : 00	1.05
5 : 40	3.13	9 : 15	1.81	15 : 00	1.30		

<표 2> Mouse 체중 - mouse 단위보정표

mouse체중(g)	MU	mouse체중(g)	MU	mouse체중(g)	MU
12.0	0.60	15.5	0.78	19.0	0.95
12.5	0.63	16.0	0.80	19.5	0.98
13.0	0.65	16.5	0.83	20.0	1.00
13.5	0.67	17.0	0.85	20.5	1.03
14.0	0.70	17.5	0.88	21.0	1.05
14.5	0.73	18.0	0.90	21.5	1.08
15.0	0.75	18.5	0.93	22.0	1.10