

# 식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드 (민원인 안내서)

2025. 7.





## 지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

**명칭**

**식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드(민원인 안내서)**

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

<b>등록대상 여부</b>	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____ )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
<b>지침서 · 안내서 구분</b>	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시 · 훈령 · 예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
<b>기타 확인 사항</b>	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
<b>상기 사항에 대하여 확인하였음.</b>		
<b>2025년 7월 25일</b>		
<b>담당자(연구관, 주무관)                      황 인(부서장)</b>		<b>성준현, 최수정                      정형욱</b>

식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정[별지 제3호서식]

이 안내서는 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」(식품의약품안전처 고시 제2024-13호, 2024.2.21.)에 따라 새로운 식품원료 안전성 평가에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품 안전처의 입장을 기술한 것입니다.

이 안내서는 새로운 식품원료의 안전성을 평가하는데 도움을 주기 위함이며 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로, 본문의 기술방식(‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다.

이 안내서는 2025년 7월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용, 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있습니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 식품의약품안전처의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 신소재식품과에 문의하시기 바랍니다.

**전화번호:** 043-719-2352, 2356, 2357

**이메일:** novelfood@korea.kr

## 제·개정 이력

### 식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드(민원인 안내서)

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	-	2010. 11. 1.	제정
2	-	2016. 12. 28.	개정
3	안내서-0119-01	2017. 5. 31.	「새로운 식품원료의 안전성 평가 해설서 (민원인 안내서)」 등록
4	안내서-0119-02	2025. 7. 25.	단계별 평가 방법 구체화 등

# CONTENTS

## 식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드(민원인 안내서)

### I. 서론 ..... 7

1. 배경 ..... 8
2. 안전성 평가 개요 ..... 9

### II. 적용 및 활용 ..... 11

1. 적용범위 ..... 12
2. 가이드 구성 및 활용 ..... 14

### III. 새로운 식품원료 안전성 평가 ..... 15

1. 기원 ..... 16
2. 제조과정 중 사용물질 ..... 22
3. 원료의 특성 ..... 25
4. 안전성 정보 ..... 31
5. 알레르기성 ..... 32
6. 미생물 원료의 안전성 ..... 33
7. 독성 ..... 39
8. 섭취량 평가 ..... 46



Ministry of Food and Drug Safety  
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

IV.	자주 묻는 질문 .....	51
-----	----------------	----

V.	참고문헌 .....	55
----	------------	----

VI.	부록 .....	59
-----	----------	----



식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드

---

(민원인 안내서)



---

Ministry of Food and Drug Safety  
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

# 1. 서론

---

1. 배경
2. 안전성 평가 개요

# I. 서론

## 1 배경

식품은 「식품위생법」 제2조에서 ‘식품이란 모든 음식물(의약으로 섭취하는 것은 제외한다)을 말한다’로 정의하고 있으며, 사람의 생명 유지를 위해 영양과 에너지를 공급하는 등의 역할을 하는 모든 종류의 음식물을 말합니다. 따라서, 식품의 제조·가공에 사용되는 식품원료는 인체에 해를 끼치지 않아야 하며, 필요한 영양소를 공급할 수 있어야 하고, 사람이 섭취·소화할 수 있어야 합니다. 또한, 우리나라의 식품관련 법규에 적합해야 합니다. 식품의약품안전처에서는 섭취 경험 등 안전성이 확인된 식품원료를 고시하고, 고시된 식품원료만 식품의 제조·가공 등에 사용할 수 있도록 관리하고 있습니다.

최근에는 식품 산업이 혁신을 거듭함에 따라 전통적인 식품원료뿐만 아니라 이전에는 식품으로 사용되지 않았던 소재가 새로운 식품원료로 개발되고 있습니다. 이러한 새로운 식품원료는 영양성, 기호성, 효율성 등 여러 측면에서 긍정적 기여를 기대할 수 있지만, 안전성이 충분히 입증되지 않을 경우 소비자에게 잠재적 위험을 초래할 수 있습니다. 따라서, 고시되지 않은 새로운 식품원료는 반드시 사용 전에 안전성 평가가 이루어져야 하며, 식품의약품안전처장이 제출자료를 검토하여 인정하는 제도를 별도로 운영하고 있습니다.

식품원료의 한시적 기준 및 규격 인정을 위한 안전성 평가는 새로운 식품원료가 인체에 미칠 수 있는 영향을 과학적, 객관적으로 입증하는 과정이며, 해당 식품원료의 안전성을 확인함으로써 소비자가 안심하고 섭취할 수 있도록 하는 데 그 목적이 있습니다. 특히, 영양학적 특성, 유해물질, 독성, 예상 섭취량 등이 중요한 평가 요소로 고려되나, 평가 항목은 이에 국한되지는 않습니다.

본 가이드는 새로운 식품원료의 안전성 평가를 체계적이고 일관되게 수행할 수 있도록 지원하기 위해 작성되었습니다. 이를 통해 관련 업계, 연구기관 그리고 규제당국이 신뢰할 수 있는 평가 방법론을 공유하고, 안전성이 입증된 식품원료만이 사용될 수 있도록 하는 것을 목표로 합니다. 또한, 본 가이드는 새로운 식품원료의 개발 및 상용화를 고려하는 기업들이 고려해야 할 평가 항목 및 방법을 구체적으로 제시함으로써, 불확실성을 줄이고 소비자 안전을 최우선으로 하는 식품안전관리 체계를 확립하는 데 기여할 수 있을 것으로 기대됩니다.

## 2 안전성 평가 개요

한시적 기준 및 규격 인정 신청을 위한 새로운 식품원료의 안전성 평가는 '신청원료가 식품으로서 섭취에 안전하다'는 가설이 '참'임을 신뢰할 수 있는 데이터 등 제출자료를 통해 입증하는 과정입니다.

어떠한 가설이 '참'임은 연역적 또는 귀납적 방법을 통해 입증할 수 있습니다. 연역적 방법은 '모든 사람은 죽는다 → 철수는 사람이다 → 따라서 철수도 죽는다'와 같은 논리체계를 말하며, 귀납적 방법은 '까마귀 1은 검다 → 까마귀 2도 검다 → 까마귀 3도 검다 …… → 따라서 모든 까마귀는 검다'와 같은 논리체계를 말합니다. 새로운 식품원료의 안전성 입증은 후자의 귀납적 접근 방법을 이용하여 현재의 과학 수준에서 다양한 자료들의 축적을 통해 가설이 '참'임을 입증하게 되며, 특히 다음 네 가지 사항이 고려되어야 합니다.

첫째, '신청원료가 식품으로서 섭취에 안전하다'는 가설이 '참'임을 입증할 수 있는 다각적인 자료가 제시되어야 합니다. 새로운 식품원료의 안전성을 입증할 수 있는 자료로는 안전한 기원에서 유래한 원재료, 외국에서 식품으로 인정되었거나 유통·사용되고 있는 사례, 위생적인 제조방법, 사용물질의 안전성, 유해물질의 부재, 기존 식품과의 영양학적 동등성, 부작용이 관찰되지 않은 독성시험 및 섭취량 평가 결과 등이 제시될 수 있으며, 제시된 자료가 많을수록 가설이 '참'일 확률이 높아집니다. 현행 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」에서는 새로운 식품원료의 안전성 입증에 위해 필요한 최소한의 입증 항목들을 제시하고 있으며, 반드시 제시된 항목에만 국한되는 것은 아닙니다.

둘째, 제시된 각 자료들은 상호 모순되지 않고 연계됨으로써, 신청원료의 안전성에 대한 포괄적인 설명이 가능해야 합니다. 예를 들어, 원재료에서 우려되는 곰팡이독소 등 위험요인은 안전성 관련 보고 여부, 제조과정에서의 위생적 관리에 관한 자료, 신청원료 중 해당 유해물질의 부재 확인 자료 등이 상호 연계하여 설명될 때, 그 안전성이 명확히 입증될 수 있습니다.

셋째, 제시된 자료가 의약품이나 식품첨가물 또는 건강기능식품이 아닌 명확히 일반식품으로서의 안전성을 뒷받침할 수 있는 자료일 때 새로운 식품원료의 안전성 입증에 유용합니다. 새로운 식품원료는 전 연령대를 대상으로 한 건강 위험 분석에 근거하고 있으며, 오직 그러한 근거에 따라서만 결론을 도출하므로, 국내·외에서 약용식품, 식품첨가물 또는 dietary supplement로 인정되거나, 국제 학술논문에서 약리효과 또는 기능성 소재로 연구된 사례를 제시하는 것은 신청원료가 일반식품으로서 안전하다는 입증자료로는 충분하지 않다고 할 수 있습니다.

넷째, 신청원료가 식품으로서 안전하지 않다는 반증 사례가 있는지 반드시 확인해야 합니다, 유해한 성분이 함유되어 인체 위해 우려가 있거나, 섭취 부작용에 대한 보고가 있는 경우에는 새로운 식품원료로서의 안전성은 입증되기 어렵습니다.

상기와 같은 입증을 통해 해당 신청원료가 기존에 섭취 경험이 있는 유사한 식품원료만큼 안전한지, 구성성분 등이 인체 건강에 위해를 초래하지 않는지, 기존 식품을 대체하는 경우 신청원료와 기존 식품을 비교하였을 때 영양학적 불균형을 초래하지 않는지 여부 등에 대한 모든 불확실성을 해소할 수 있게 됩니다.

자국 내에서 섭취 경험이 없는 새로운 식품원료는 우리나라 식품의약품안전처의 ‘한시적 기준 및 규격’과 마찬가지로 미국 FDA에서는 GRAS(Generally Recognized as Safe), 유럽연합 EFSA나 호주·뉴질랜드 FSANZ 등에서는 Novel Food 제도를 통해 검토되고 있으며, 국가별로 사용하는 용어나 행정적 절차에는 다소 차이가 있을 수 있으나, 안전성 평가 항목 및 방법에 있어서는 크게 다르지 않습니다. 그 이유는 새로운 식품원료의 안전성 평가는 현재의 과학 수준에서 제기될 수 있는 모든 불확실성의 해소를 목표로 하기 때문입니다.

## II. 적용 및 활용

---

1. 적용범위
2. 가이드라인 구성 및 활용

## II. 적용 및 활용

### 1 적용범위

#### 가. 적용 대상

본 가이드의 적용범위는 「식품위생법」 제7조제1항에 따라 기준 및 규격이 고시\*되지 않은 식품원료로서, 「식품위생법 시행규칙」 제5조제1항 및 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」(식약처고시 제2024-13호, 2024.2.21.) 제2조제1호에서 정하는 다음 각호에 해당하는 경우입니다. 다만, 세포배양 기술을 이용하여 얻은 식품원료(세포배양식품원료)는 별도의 가이드\*\*를 따르되, 필요한 경우 본 가이드를 참고할 수 있습니다.

- 1) 국내에서 새로이 원료로 사용하려는 농산물·축산물·수산물 및 미생물 등
- 2) 농산물·축산물·수산물·미생물 등으로부터 추출·농축·분리·배양 등의 방법으로 얻은 것으로서 식품으로 사용하려는 원료
- 3) 세포·미생물 배양 등 새로운 기술을 이용하여 얻은 것으로서 식품으로 사용하려는 원료

\* 「식품위생법」 제7조제1항에 따라 기준 및 규격이 고시된 원료 확인 방법

- 식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) : 법령·자료 > 법령정보 > 고시·훈령·예규 > 고시전문 > 「식품의 기준 및 규격」[별표 1] “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록 / [별표 2] “식품에 제한적으로 사용할 수 있는 원료”의 목록 / [별표 3] “한시적 기준·규격에서 전환된 원료”의 목록 참고(학명 또는 특성, 사용부위 및 사용조건 등까지 확인)

\*\* 세포배양식품원료에 대한 별도의 가이드 확인 방법

- 식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) : 법령·자료 > 법령정보 > 민원인안내서 > 「세포배양식품원료 한시적 기준 및 규격 제출자료 작성 가이드(민원인 안내서)」
- 식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) : 법령·자료 > 자료실 > 안내서/지침 > 「세포배양식품원료 안전성 평가 고려사항」

## 나. 적용 제외 대상

다음 각 호에 해당하는 경우에는 본 가이드를 적용하여 새로운 식품원료로서 검토되기 어렵습니다.

### 1) 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」에서 정하는 반려 사유

- 가) 한시적 기준 및 규격 검토 대상 품목이 아니거나, 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」에서 정하는 제반 사항에 적합하지 아니한 때
- 나) 안전성 및 건전성 등이 미확인 또는 결여되어 인체 위해가 우려되는 때
- 다) 「식품첨가물의 기준 및 규격」 상 규격이 정하여진 특성의 첨가물과 유사하여 그 품질 등을 저하시킬 우려가 있을 때
- 라) 제조방법이 비위생적이거나 불합리한 때 등

### 2) 기타

- 가) 식욕억제, 성기능 강화 등 특정 용도로 사용되어 오·남용의 우려 등 사회적 파장이 예상되는 원료
- 나) 원재료를 추출·분리·정제 등의 방법을 통해 특정 성분만 분리한 단일물질로 원재료의 특성이 없어진 원료
- 다) 광물질(돌, 모래 등)과 이로부터 분리, 추출, 농축 등의 방법으로 얻어진 물질
- 라) 합성품, 한약(생약) 및 의약품의 용도로 사용되는 원료
- 마) 기타 기능성을 표방하거나 첨가물의 목적으로 사용하는 등 일반 식품원료로서 적합하지 않다고 판단되는 경우

## 2 가이드 구성 및 활용

### 가. 구성

본 가이드는 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」(식약처고시 제2024-13호, 2024.2.21.) 제3조 관련 [별표1] '식품원료 제출자료의 범위 및 작성요령'에 명시된 '제출자료의 내용 및 요건' 중 안전성 평가와 관련하여 일부 주요 항목에 대한 세부 내용을 설명한 것입니다. 본 가이드는 기원, 제조과정 중 사용물질, 원료의 특성, 안전성 정보, 알레르기성 정보, 미생물 원료의 안전성, 독성, 섭취량 평가 등의 항목을 다루고 있습니다. 신청원료의 특성에 따라 안전성 입증에 필요한 위험요소가 다를 수 있으므로, 안전성 평가 항목이 반드시 본 가이드에 기술된 항목에만 국한되는 것은 아닙니다.

### 나. 활용

새로운 식품원료의 한시적 기준 및 규격 인정은 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」(식약처고시 제2024-13호, 2024.2.21.)에 따라 신청자가 제출한 제출자료를 기반으로 검토됩니다. 따라서 신청자는 일차적으로 상기 고시에 따라 빠짐없이 제출자료를 준비해야 하며, 제출자료에 작성에 관한 상세한 내용은 별도의 「식품원료 한시적 기준 및 규격 제출자료 작성 가이드(민원인 안내서)」\*를 참고할 수 있습니다. 다만, 제출자료는 신청원료의 안전성 입증 목적이므로 해당 신청원료의 안전성을 과학적이고 객관적으로 입증할 필요가 있으며, 본 가이드는 주요 안전성 평가 항목에 대한 이해를 제고함으로써 보다 명확한 제출자료 작성에 도움을 줄 수 있습니다.

\* 제출자료 작성에 대한 가이드 확인 방법

- 식품의약품안전처 대표 누리집([www.mfds.go.kr](http://www.mfds.go.kr)) : 법령·자료 > 법령정보 > 민원인안내서 > 「식품원료 한시적 기준 및 규격 제출자료 작성 가이드(민원인 안내서)」

### Ⅲ. 새로운 식품원료 안전성 평가

---

1. 기원
2. 제조과정 중 사용물질
3. 원료의 특성
4. 안전성 정보
5. 알레르기성
6. 미생물 원료의 안전성
7. 독성
8. 섭취량 평가

## III. 새로운 식품원료 안전성 평가

### 1 기원

'기원'은 신청원료의 정체성(identity)을 객관적으로 입증하는 것으로, 신청원료 자체의 정체성뿐만 아니라, 원재료의 출처 및 필요시 유사 원료와의 구별 방법 등도 포함됩니다. 신청원료의 정체성 입증이 선행되어야만, 안전성 평가 대상을 명확히 할 수 있고, 잠재적 위험요인의 확인은 물론 기타 안전성 입증자료의 타당성을 검증할 수 있으므로, '기원'은 새로운 식품원료 안전성 평가에 있어 가장 중요한 첫 단계입니다.

#### 가. 학명

학명은 생물학에서 생물의 분류군(taxa) 및 종에 붙이는 분류학적인 이름입니다. 일반적으로 학계에 보고된 이름 중 하나가 정해진 원칙에 따라 정명(correct name)으로 정해지고, 나머지 이름은 이명(synonym name)으로 통용됩니다.

학명은 기본적으로 속명(generic name)과 종명(specific name)을 조합한 두 단계의 표기방법인 이명법(binominal nomenclature)을 이용합니다. 다만, 동물의 경우 아종명까지 표기하는 삼명법(trinominal nomenclature)을 이용하며, 미생물의 경우 strain명까지 확인합니다. 학명은 학계의 연구에 따라 변경되는 경우도 있으므로, 반드시 최신 자료를 검색하여 변경 이력을 확인할 필요가 있습니다.

#### 나. 분류체계

일반적인 생물학적 분류는 계(kingdom) - 문(phylum / division) - 강(class) - 목(order) - 과(family) - 속(genus) - 종(species)의 체계를 따르며, 경우에 따라 아종(subspecies) 및 품종(breed) 등 더 세밀하게 구분하기도 합니다. 생물학 등 연구 문헌이나 공신력 있는 데이터베이스 등을 통해 해당 신청원료 또는 원재료가 생물학적 분류체계 중 차지하는 위치를 명확히 제시합니다.

#### 다. 형태학적 특징

신청원료 또는 원재료의 형태학적 특징을 사진과 그 형태에 대한 상세한 기술을 통해 설명합니다. 식물 원료의 경우 부위별로, 곤충 원료의 경우 성장 단계별로, 미생물·미세조류·

버섯류(자실체 또는 균사체) 등의 경우에는 광학 현미경을 통한 동정 자료 등을 통해 명확히 제시합니다. 신청원료 또는 원재료의 형태학적 특징은 연구 문헌이나 공신력 있는 데이터베이스 등에서 제시된 해당 학명의 형태학적 특징과의 비교 또는 유사 원료의 형태학적 특징과의 비교를 통해 입증될 수 있습니다.

## 라. 사용부위

신청원료의 원재료가 식물성인 경우 사용 부위가 잎, 줄기, 꽃 또는 뿌리 등 어느 부위인지, 곤충 또는 곤충에서 유래한 경우 사용 부위와 함께 사용 시점이 유충, 약충 또는 성충 등 어느 단계인지, 버섯류 또는 버섯류에서 유래한 경우 균사체 또는 자실체 여부 등 신청원료 또는 원재료의 사용 부위 또는 단계를 명확히 제시합니다. 또한, 신청원료의 사용부위 등은 제조공정 단계에서 원재료의 선별·가공·입고 기록 등 객관적인 자료를 통해 입증될 수 있습니다.

## 마. 출처

신청원료 또는 원재료의 출처를 명확히 제시합니다. 식물 원료의 경우 분포 및 재배지, 곤충 원료의 경우 사육 시설, 미생물·균사체 등의 경우 균주의 취득, 미세조류의 경우 분포 및 채취 장소에 관한 정보 등을 제시합니다. 또한, 제시된 출처는 신청원료 또는 원재료가 운반되어 실제 제조·가공에 사용되었다는 객관적인 증빙을 통해 입증될 수 있습니다.

## 바. 분자생물학적 동정

분자생물학적 동정 방법은 생물 종의 유전자(DNA) 염기서열 정보를 바탕으로 해당 종 여부를 판별할 수 있는 방법으로, 미생물, 조류, 버섯류(자실체 또는 균사체) 등의 종 확인(경우에 따라 strain 수준까지) 뿐만 아니라, 신청원료가 균주은행에 기탁된 균주로부터 대량 배양 등을 통해 생산된 것일 경우 기탁 균주의 출처를 입증하는 데 매우 유용합니다. 또한, 형태학적 특징만으로는 유사 종과의 구분이 어려운 식물의 구별에도 이용될 수 있습니다. 일반적으로 분자생물학적 동정 방법은 DNA 바코드 분석 또는 전장유전체 분석 등이 알려져 있습니다.

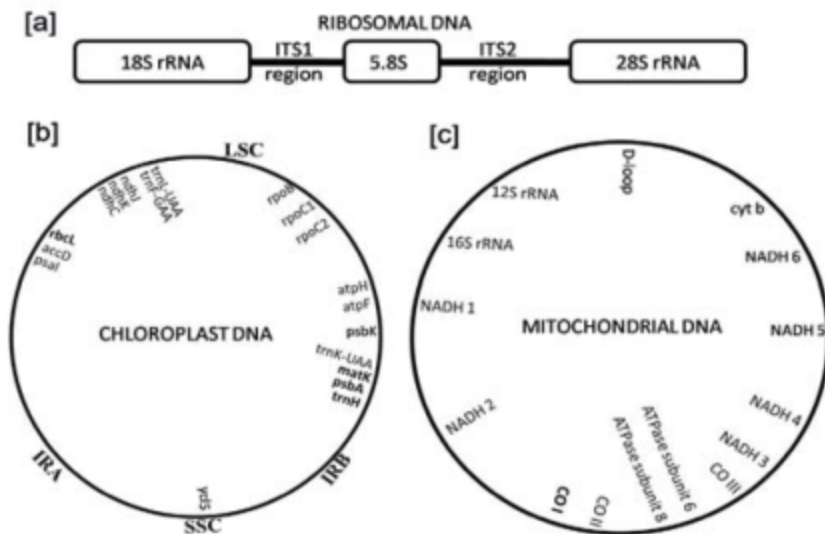
### 1) DNA 바코드 분석

DNA 바코드 분석은 생물 종의 DNA 염기서열 중 특정 생물 종만이 가지는 고유의 염기서열 부위(DNA 바코드)를 확인함으로써 해당 종 여부를 판별하는 방법입니다. 일반적으로 종 판별에 이용되는 DNA 바코드로는 미토콘드리아 영역의 COI(Cytochrome c Oxidase I), CytB(Cytochrome b), 16S rRNA(ribosomal RNA) 등, 핵 영역의 ITS(Internal Transcribed Spacer) 등, 엽록체 영역의 matK(maturase K)와 rbcL(ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit) 등이 있습니다. 생물 종별로 종 판별에 적합한 DNA 바코드가 다르므로, 관련 문헌 등을 참고하여 목적하는 종 판별에 적합한 DNA 바코드를 선정하는 것이 중요합니다. 참고로,

분류학적 거리가 가까워 한 가지 DNA 바코드로는 명확한 종 판별이 어려운 경우, 필요에 따라 2개 이상의 DNA 바코드를 조합하여 분석할 수도 있습니다.

**【표 1】 생물별로 종 판별에 이용되는 DNA 바코드**

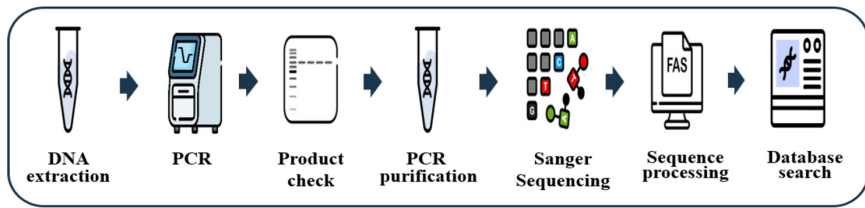
	DNA 바코드
동물	COI, Cytb, 16S rRNA
식물	ITS, matK, rbcL
박테리아	16S rRNA
곰팡이	ITS
버섯	ITS, 28S rRNA



「Next Generation Sequencing 기반 유전자 검사의 이해(심화용)」(식품의약품안전평가원, 2020)

**【그림 1】 DNA 바코드로 이용되는 유전자 영역**

DNA 바코드 분석은 시료로부터 추출한 DNA를 적절한 프라이머를 이용하여 해당 종 고유의 바코드 부분만을 증폭시킨 후, 생어 시퀀싱(Sanger sequencing) 방법 등을 통해 약 400~700 bp 정도의 염기서열 정보를 확보하고 이를 NCBI GenBank 및 BOLD 등 데이터베이스에 등록된 염기서열과 비교하는 과정을 거칩니다.



- Universal primer sets
  - *CoI* (cytochrome oxidase subunit I)
  - *Cytb* (cytochrome b)
  - *16S rRNA* (16S ribosomal RNA)
  - ITS (internal transcribed spacer)
  - matK (maturase K)

- Species identification criteria
  - BLASTN
    - Query coverage > 98 %
    - Identity ≥ 99 %
  - BOLD
    - Similarity > 99 %

【그림 2】 DNA 바코드 분석 개요 예시

DNA 바코드 분석을 통한 종 판별은 신청원료와 동일 종 및 유사 종, 그리고 유전적으로 상이한 다른 종(out group)에 대한 염기서열 정보를 바탕으로 계통도를 작성함으로써 보다 명확하게 제시될 수 있으며, 이를 통해 종 판별뿐만 아니라, 신청원료가 어느 그룹(clade)에 묶이는지와, 다른 종과의 유전적 거리 또한 확인할 수 있습니다.

The screenshot shows the NCBI BLAST search results for the query 'Shrimp sample COI gene'. The interface includes sections for 'Enter Query Sequence', 'Choose Search Set', and 'Program Selection'. The results section shows a list of sequences with columns for 'Accession', 'Length', 'Score', 'E-value', and 'Query coverage'. A phylogenetic tree is displayed on the right side of the results, showing the relationship between the query sequence and the database hits.

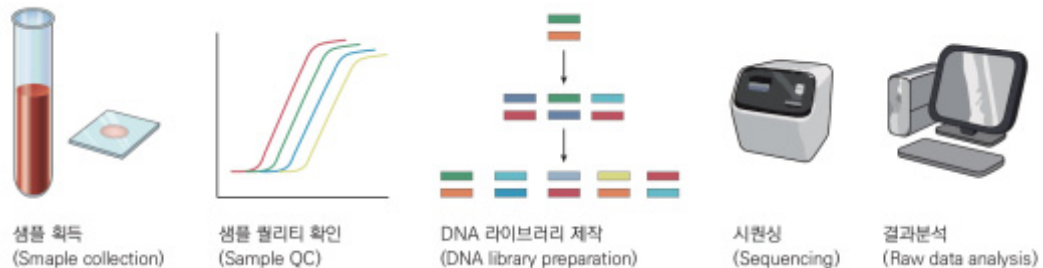
【그림 3】 *Penaeus monodon*의 COI 염기서열 BLAST 분석 예시

III 새로운 식품원료 안전성 평가

## 2) 전장유전체 분석(Whole Genome Sequencing, WGS)

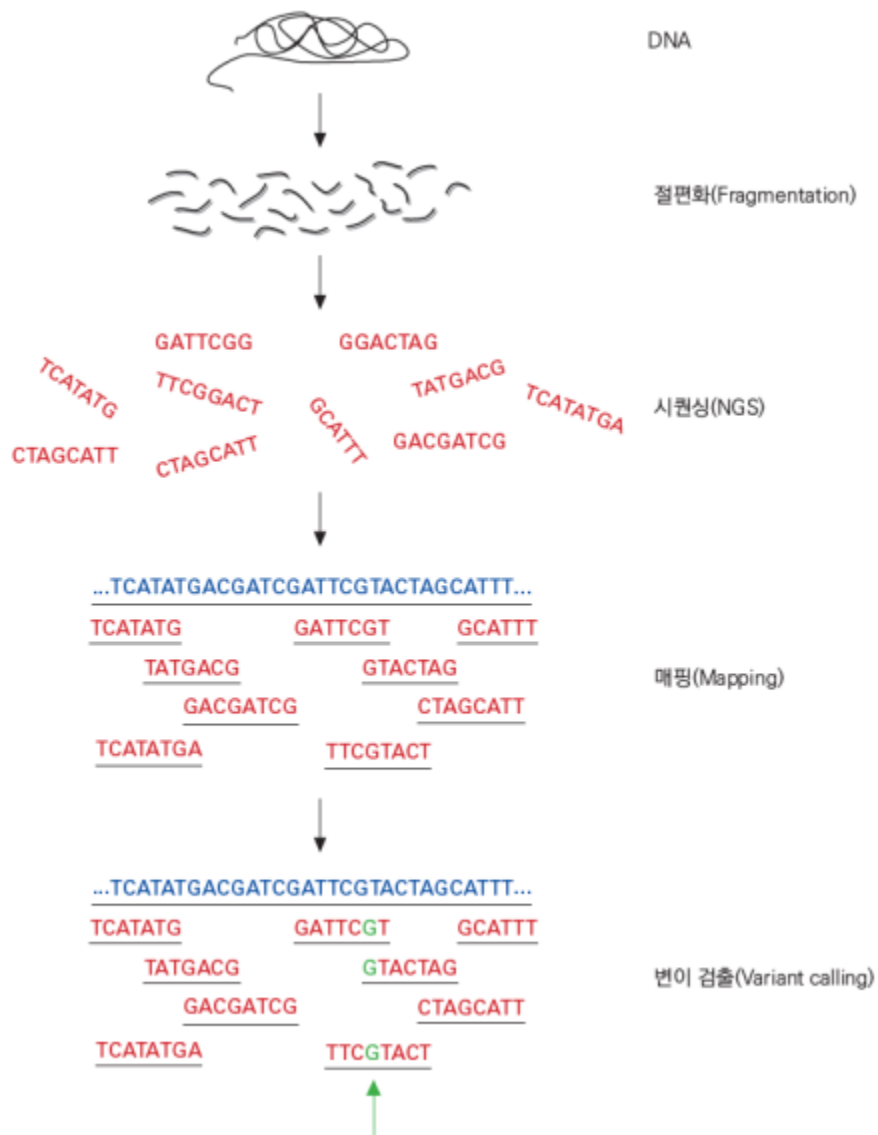
전장유전체 분석은 1 Kb 이하의 단일 염기서열을 분석하는 DNA 바코드 분석과는 달리, 생물 개체의 염기서열 전체를 분석하여 종을 판별할 수 있는 방법입니다. 일반적으로 전장유전체 분석에는 차세대 염기서열 분석(Next Generation Sequencing, NGS)이 이용됩니다. NGS는 염기서열 전체를 150~1,500 bp 정도의 염기서열 조각으로 절편화(fragmentation)하고, 시퀀싱을 통해 염기서열을 읽고 매핑(mapping)한 후, 참조염기서열을 바탕으로(혹은 참조염기서열 없이(*de novo assembly*)) 분석합니다. 참조염기서열은 샘플과 동일하거나 유사한 종의 염기서열로, NCBI GeneBank와 같은 데이터베이스를 통해 얻을 수 있습니다.

NGS 데이터의 신뢰도를 평가할 수 있는 대표적인 질(quality) 지표로는 시퀀싱 깊이(depth of coverage), 수평적 깊이(horizontal coverage) 등이 있습니다. 시퀀싱 깊이는 특정한 위치에 시퀀싱 리드가 몇 개가 분석되었는지에 대한 지표이며, 수평적 깊이는 특정 기준을 만족하는 부위가 전체 타겟 부위에 얼마나 되는지에 대한 지표입니다. NGS에 대한 보다 구체적인 평가 방법은 「Next Generation Sequencing 기반 유전자 검사의 이해(심화용)」(식품의약품안전평가원, 2020)를 참고할 수 있습니다. 참고로 전장유전체 분석 결과를 통해 얻은 염기서열 정보를 바탕으로 유전체 염기서열 평균 유사도(Average Nucleotide Identity, ANI) 분석을 통해 종을 판별하는 시도들도 알려져 있습니다.



「Next Generation Sequencing 기반 유전자 검사의 이해(심화용)」(식품의약품안전평가원, 2020)

**【그림 4】 차세대 염기서열 분석 진행 과정 예시**



「Next Generation Sequencing 기반 유전자 검사의 이해(심화용)」(식품의약품안전평가원, 2020)

**【그림 5】 차세대 염기서열 분석의 개념**

## 2

## 제조과정 중 사용물질

제조과정 중 사용물질의 안전성 평가는 제조방법에 대한 상세한 기술로부터 출발합니다. 식물성 원료의 경우 원재료의 채취 또는 재배 방법, 곤충 원료의 경우 사육 환경 및 방법, 미생물 원료의 경우 균주의 보관 또는 균주은행 구축 방법을 포함하여 모든 제조과정에서 사용된 물질이 명확히 제시되고, 각각에 대한 안전성이 검토되어야 합니다. 사용물질의 안전성은 사용물질 각각에 대해 「식품의 기준 및 규격」, 「식품첨가물의 기준 및 규격」 등 관련 규정 적합 여부, 최종 제품 중 잔류 여부, 국내·외 식품안전 규제 기관의 평가 자료 등을 검토하여 입증할 수 있습니다.

### 가. 관련 규정 적합 여부

「식품의 기준 및 규격」과 「식품첨가물의 기준 및 규격」은 식품위생법 제7조제1항에 따라 식품의약품안전처장이 고시한 식품 및 식품첨가물에 대한 기준 및 규격이며, 제조과정에 사용된 용매, 효소 등은 이들 규정에 적합해야 합니다. 기준 및 규격 적합 여부는 해당 사용물질에 대한 시험성적서, 식품등의 수입신고 필증, 표시사항 등을 통해 입증할 수 있습니다. 참고로, 「식품의 기준 및 규격」과 「식품첨가물의 기준 및 규격」에서 정하고 있는 기준 및 규격 중 사용물질의 안전성 평가에 참고할 수 있는 주요 내용은 다음과 같습니다.

#### 1) 「식품의 기준 및 규격」

\* 제2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격 1. 식품원료 기준 및 2. 제조·가공기준 중 발체

- 가) 식품용수는 「먹는물관리법」의 먹는물 수질기준에 적합한 것이거나, 「해양심층수의 개발 및 관리에 관한 법률」의 기준·규격에 적합한 원수, 농축수, 미네랄탈염수, 미네랄농축수이어야 합니다.
- 나) 인위적으로 유전자를 재조합하거나 유전자를 구성하는 핵산을 세포 또는 세포 내 소기관으로 직접 주입하는 기술, 분류학에 따른 과(科)의 범위를 넘는 세포융합기술 등 생명공학기술을 활용하여 재배·육성된 농·축·수산물 등을 원료 등으로 사용하고자 할 경우는 「식품위생법」 제18조에 의한 ‘유전자변형식품등의 안전성 심사 등에 관한 규정’에 따라 안전성 심사 결과 적합한 것이어야 합니다.
- 다) 식용곤충은 「곤충산업의 육성 및 지원에 관한 법률」의 식용 곤충 사육기준에 적합한 것이어야 합니다.

라) 다음의 어느 하나에 해당하는 것은 식품의 제조·가공 또는 조리 시 식품원료로 사용하여서는 아니됩니다.

- (1) 식용을 목적으로 채취, 취급, 가공, 제조 또는 관리되지 아니한 것
- (2) 식품원료로서 안전성 및 건전성이 입증되지 아니한 것
- (3) 기타 식품의약품안전처장이 식용으로 부적절하다고 인정한 것

마) '식품에 사용할 수 있는 원료'의 목록은 「식품의 기준 및 규격」 [별표 1]과 같습니다.

바) 식품의 제조, 가공, 조리, 보존 및 유통 중에는 동물용의약품을 사용할 수 없습니다.

사) 기구 및 용기·포장류는 「기구 및 용기·포장의 기준 및 규격」에 적합한 것이어야 합니다.

## 2) 「식품첨가물의 기준 및 규격」

\* Ⅱ. 식품첨가물 및 혼합제제류 2. 일반사용기준 및 Ⅲ. 기구등의 살균소독제 2. 일반사용기준 중 발취

가) 식품 중에 첨가되는 식품첨가물의 양은 물리적, 영양학적 또는 기타 기술적 효과를 달성하는데 필요한 최소량으로 사용하여야 합니다.

나) 식품첨가물은 식품 제조·가공 과정 중 결함이 있는 원재료나 비위생적인 제조방법을 은폐하기 위하여 사용되어서는 아니됩니다.

다) 식품 중에 첨가되는 영양강화제는 식품의 영양학적 품질을 유지하거나 개선 시키는데 사용되어야 하며, 영양소의 과잉 섭취 또는 불균형한 섭취를 유발해서는 아니됩니다.

라) 식용을 목적으로 하는 미생물 등의 배양에 사용하는 식품첨가물은 「식품첨가물의 기준 및 규격」에서 정하고 있는 품목 또는 국제식품규격위원회(Codex Alimentarius Commission(CAC))에서 미생물 영양원으로 등재된 것으로 최종 식품에 잔류하여서는 아니 됩니다. 다만, 불가피하게 잔류할 경우에는 품목별 사용기준에 적합하여야 합니다.

마) 「식품첨가물의 기준 및 규격」에서 품목별로 정하여진 주 용도 이외에 국제적으로 다른 용도로서 기술적 효과가 입증되어 사용의 정당성이 인정되는 경우, 해당 용도로 사용할 수 있습니다.

바) 기구등의 살균·소독제는 기구등의 살균·소독 목적으로 개별품목에서 정해진 사용기준에 적합하게 사용하여야 하고, 사용한 살균·소독제 용액은 식품과 접촉하기 전에 자연건조, 열풍건조 등의 방법으로 제거하여야 합니다.

## 나. 사용물질의 잔류 여부

신청원료의 제조과정에서 사용된 사용물질의 잔류 여부 또는 식품첨가물의 사용 기준 적합 여부 등 확인을 위해 사용물질에 대한 분석결과를 확인할 필요가 있습니다. 분석자료는 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」 제6조제3항제1호에 따른 식품의약품안전처장이 지정한 식품 전문 시험·검사기관 또는 같은 법 제8조에 따른 국외시험검사기관의 시험성적서 등을 통해 확인할 수 있으며, 시험방법은 「식품의 기준 및 규격」, 「식품첨가물의 기준 및 규격」, 국제식품규격위원회(CAC) 규정, AOAC 방법 등 국내·외에서 공인된 방법을 사용하여야 합니다. 공인된 방법이 없거나 더 타당하다고 인정되는 시험방법이 있는 경우 해당 시험방법을 사용할 수 있으나, 이 경우에는 밸리데이션 등을 통해 검출한계, 직선성, 정확성, 정밀성 등을 확인해야 합니다.

참고로, 사용물질이 최종제품에서 제거되거나 잔류하지 않음을 입증하기 위해 공인된 시험방법을 사용하지 아니하였을 경우에는 해당 시험방법의 정량한계를 제시하고 그것이 공인된 시험방법의 정량한계 이하임을 확인할 필요가 있습니다.

공인된 식품등 시험검사기관은 식품의약품안전처 대표 누리집([www.mfds.go.kr](http://www.mfds.go.kr) → 정책정보 → 시험검사기관 → 시험검사기관 지정현황)에서 확인할 수 있습니다.

## 다. 국내·외 식품안전 규제기관 등의 평가자료

제조과정 중 사용물질의 안전성 입증을 위해 해당 물질에 대한 미국 FDA, 유럽 EFSA, 캐나다 Health Canada, 호주·뉴질랜드 FSANZ 등 외국 규제기관의 기준·규격 또는 평가 자료 등을 활용할 수 있습니다.

원료의 특성은 신청원료를 구성하거나 신청원료에 함유되어 있는 성분 및 함량, 제조과정에 사용된 물질 또는 부산물의 잔류 여부, 비의도적 오염물질 등의 잔류 여부 등을 통해 확인될 수 있습니다. 원료의 특성을 명확히 입증하기 위해서는 첫째로 원료의 특성이 드러나도록 시험 항목을 적절히 선정하고, 둘째로 각 항목들에 대해 식품의약품안전처장이 지정한 시험·검사기관에서 공인되거나 검증된 시험방법으로 분석하며, 셋째로 분석결과가 일반적인 식품원료와 비교하여 안전한 수준인지와, 신청원료의 목적 또는 영양학적 측면 등을 종합적으로 검토해야 합니다.

## 가. 시험항목

### 1) 일반성분 및 영양성분

#### 가) 일반성분

일반성분은 탄수화물, 조지방, 조단백질, 열량, 수분, 회분 등을 말하며, 일반성분의 구성 및 함량을 통해 신청원료의 식품으로서의 기본적인 특성을 확인할 수 있습니다. 또한, 신청원료의 특성을 고려하여 보다 명확한 확인을 위해 아미노산, 지방산, 비타민, 무기질 등 영양성분의 구성 및 함량이 제시될 필요가 있습니다.

#### 나) 아미노산

아미노산은 생체 내에서 합성 불가능하여 식이를 통해 공급이 필요한 9종의 필수아미노산과 체내 합성이 용이한 5종의 비필수아미노산, 합성이 가능하더라도 특정 생리 상태에서 대사적 요구를 충족시키지 못 할 경우 식이를 통해 공급이 필요한 7종의 조건적 필수아미노산으로 분류되며, 이를 참고하여 신청원료의 특성에 따라 분석 대상 아미노산을 선정할 수 있습니다.

**【표 2】 필수/비필수아미노산 및 조건적 필수아미노산**

필수아미노산	비필수아미노산	조건적 필수아미노산	조건적 필수아미노산 전구체
메티오닌	알라닌	아르기닌	글루타민/글루탐산, 아스파르트산
류신	아스파르트산	시스테인	메티오닌, 세린
이소류신	아스파라긴	티로신	글루탐산/암모니아
발린	글루탐산	글루타민	세린, 콜린
라이신	세린	글라이신	글루탐산
페닐알라닌		프롤린	페닐알라닌
히스티딘		타우린	
트레오닌			
트립토판			

「2020 한국인 영양소 섭취기준」, 보건복지부

#### 다) 지방산

지방산은 화학구조(이중결합 유무, 이중결합 위치 및 개수 등)에 따라 포화지방산(saturated fatty acid), 단일불포화지방산(monounsaturated fatty acid), 오메가-6와 오메가-3 다가불포화 지방산(polyunsaturated fatty acid), 트랜스지방산(trans fatty acid)으로 나눌 수 있으며, 체내에서 합성되지 않는 필수지방산에는 오메가-6 지방산인 리놀레산(linoleic acid; 18:2n-6)과 오메가 3 지방산인 알파-리놀렌산(alpha-linolenic acid; 18:3n-3), EPA, DHA 등이 있습니다. 지방산 조성은 식품마다 매우 다양하므로, 분석 대상 지방산은 신청원료와 유사한 식품의 지방산 조성과 비교가 가능하도록 관련 문헌 등을 참고하여 선정하는 것이 원료의 특성을 명확히 입증하는 데 있어 유리합니다.

#### 라) 비타민 및 무기질

비타민은 지용성 비타민과 수용성 비타민으로 나눌 수 있으며, 무기질은 다량무기질과 미량무기질로 나눌 수 있습니다. 권장섭취량 및 필요섭취량 등 영양소 섭취기준이 설정된 비타민과 무기질을 참고하여 신청원료의 특성에 따라 분석대상 항목을 선정할 수 있으며, 분석결과를 문헌에 보고된 유사 원료와 비교함으로써 신청원료의 특성을 보다 명확히 입증할 수 있습니다.

또한, 일반성분 및 영양성분 분석결과를 신청원료의 섭취량 평가 자료를 활용하여 분석함으로써 신청원료가 기존 식품을 대체하는 경우 신청원료와 기존 식품을 비교하였을 때 영양학적 불균형을 초래하지 않는지 확인할 수 있습니다.

**【표 3】 섭취기준 설정 비타민 및 무기질**

비타민 섭취기준					무기질 섭취기준						
구분	평균	권장	충분	상한	구분	평균	권장	충분	상한		
지용성 비타민	비타민 A	○	○		○	다량 무기질	칼슘	○	○		○
	비타민 D			○	○		인	○	○		○
	비타민 E			○	○		나트륨			○	
	비타민 K			○			염소			○	
수용성 비타민	비타민 C	○	○		○	미량 무기질	칼륨			○	
	티아민	○	○				마그네슘	○	○		○
	리보플라빈	○	○				철	○	○		○
	니아신	○	○		○		아연	○	○		○
	비타민 B6	○	○		○		구리	○	○		○
	엽산	○	○		○		불소			○	○
	비타민 B12	○	○				망간			○	○
판토텐산			○		요오드	○	○		○		
비오틴			○		셀레늄	○	○		○		
					몰리브덴	○	○		○		
					크롬			○			

「2020 한국인 영양소 섭취기준」, 보건복지부

## 2) 주요성분

주요성분은 일반성분 및 영양성분 이외에 해당 신청원료의 특징을 나타내는 성분으로, 원료의 기원, 제조방법 등을 고려하여 선정할 수 있습니다. 또한, 국내·외 식품규제기관 등의 검토사례, 관련 연구보고서 또는 성분분석 프로파일 등을 통해 해당 성분을 주요성분으로 선정한 근거가 제시될 필요가 있습니다.

## 3) 유해물질 등

유해물질은 중금속, 잔류농약, 곰팡이독소, 미생물 등이며, 신청원료의 기원, 제조방법, 사용물질 등을 고려하여 잠재적 위험요인에 대한 추가적인 확인이 필요할 수 있습니다. 유해물질의 시험항목은 「식품의 기준 및 규격」을 참고할 수 있으며, 신청원료의 특성에 따라 국내·외 규제기관 등의 검토사례 또는 관련 연구보고서 등을 참고하여 잠재적 위험요인이 누락되지 않도록 선정되어야 합니다.

### 가) 중금속

중금속은 농산물의 경우 토양 등 재배 환경, 수산물의 경우 서식 환경, 축산물의 경우 사육 환경, 가공 원료의 경우 시설 환경 등으로부터 오염될 수 있는 잠재적 위험요인이며, 「식품의 기준 및 규격」 제2. 식품일반에 대한 공통 기준 및 규격 3. 5) 오염물질과 제5 식품별 기준 및

규격에서는 납, 카드뮴, 비소, 수은 등에 대한 규격을 설정하고 있으므로, 신청원료에 대한 시험 항목 선정 및 분석결과 검토에 참고할 수 있습니다.

#### 나) 잔류농약

식물성 원료의 경우 농약 잔류 여부가 검토되어야 하며, 시험 항목은 신청원료 또는 해당 원재료 재배 시 사용된 농약을 포함하여 「식품의 기준 및 규격」 [별표 4] 농산물의 농약 잔류허용기준을 참고하여 선정할 수 있습니다. 다만, 국내 식품위생검사기관의 검사 범위를 고려하여 「수입식품등 신고 및 검사에 관한 규정」(식품의약품안전처 고시) 제13조(정밀검사 등의 검사항목 등)에 대하여 우선 적용할 수 있습니다. 분석결과는 「식품의 기준 및 규격」 제2. 식품일반에 대한 공통 기준 및 규격 3. 7) 농약 잔류 허용 기준을 참고하여 검토할 수 있습니다.

#### 다) 곰팡이독소

곰팡이독소(mycotoxin)는 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로, 옥수수과 곡류 등 식물성 원료나 우유류에서 주로 발생합니다. 곰팡이독소는 주로 아스페르길루스(*Aspergillus*) 속, 푸사리움(*Fusarium*) 속, 페니실리엄(*Penicillium*) 속 곰팡이에서 만들어지며, 식품에서 발견될 수 있는 곰팡이독소 중 중요한 종류로는 아플라톡신, 오크라톡신, 푸모니신, 데옥시니발레놀 및 제랄레논 등이 있습니다. 따라서, 신청원료 또는 원재료에 곰팡이독소가 축적/전이될 가능성이 있는 경우 곰팡이독소 잔류 여부를 확인해야 하며, 시험 항목 및 결과는 「식품의 기준 및 규격」 제2. 식품일반에 대한 공통기준 및 규격 3. 5) 오염물질을 참고하여 검토할 수 있습니다.

#### 라) 미생물

미생물 검사는 신청원료의 기원 또는 제조가공 과정에서의 생물학적 오염 여부를 확인하기 위해 반드시 필요합니다. 미생물 시험 항목은 위생 지표균으로 세균수와 대장균군 시험을 기본으로 하며, 신청원료 또는 원재료에 따라 필요시 식중독균 등에 대한 확인이 필요할 수 있습니다. 세균수는 35±1℃의 온도 조건에서 호기적으로 성장하는 살아있는 생균수를 산출하는 방법이며, 대장균군은 그람음성으로 아포를 만들지 않는 무아포성 간균으로 유당을 분해하여 가스를 발생하는 모든 호기성 또는 선택적(facultative) 혐기성 세균을 말합니다. 미생물 시험 결과를 「식품의 기준 및 규격」의 유사 원료와 비교하기 위해서는 5개 시료를 검사하는 것을 권장합니다. 신청원료의 기원, 제조방법 또는 해외의 검토 사례 등에 따라 병원성 식중독균의 검사가 필요할 수 있으며, 시험 항목 등은 「식품의 기준 및 규격」 제2. 식품일반에 대한 공통 기준 및 규격 3. 4) 위생지표균 및 식중독균을 참고할 수 있습니다.

#### 마) 기타 유해물질 등

시험을 통한 확인은 (가)~(라)에 국한되지는 않습니다. 원재료의 특성에 따라 동물용의약품 잔류 여부, 산가, 과산화물가 등의 분석이 필요할 수 있습니다. 예를 들어, 신청원료의

제조방법에 따라 핵산을 이용한 추출 과정이 있는 경우 잔류용매, 신청원료가 유지일 경우 벤조피렌 및 산가 등 항목의 추가적인 확인이 필요할 수 있습니다. 모든 분석 결과는 「식품의 기준 및 규격」 제2. 식품일반에 대한 공통 기준 및 규격, 제5, 식품별 기준 및 규격 또는 외국의 평가사례 등을 참고하여 검토할 수 있습니다.

#### 바) 이물

식품원료는 비위생적인 이물이나, 인체에 위해를 끼치는 단단하거나 날카로운 이물을 함유하여서는 아니됩니다. 특히, 신청원료의 제조과정에서 분쇄 등의 공정이 포함되었다면 금속성 이물 여부를 시험을 통해 반드시 확인해야 합니다. 현행 「식품의 기준 및 규격」에서는 금속성 이물로서 섯가루를 「식품의 기준 및 규격」 제8.1.2.1.마. 금속성이물(섯가루)에 따라 시험하였을 때 식품 중 10.0 mg/kg 이상 검출되어서는 아니되며, 또한 금속이물은 2 mm 이상인 금속성 이물이 검출되어서는 아니되도록 규정하고 있습니다. 금속성 이물은 분쇄 이후 과정에서 자석봉 사용 등을 통해 저감화할 수 있습니다.

#### 사) 알칼로이드

알칼로이드는 천연에 존재하는 질소를 함유한 알칼리성 유기물로 주로 식물에서 발견됩니다. 식물에 따라 다양한 알칼로이드가 존재하며, 토마토, 고추, 가지, 감자 등에 존재하는 알칼로이드처럼 일상적으로 섭취하는 식품에 존재하기도 하지만, 특성에 따라 동물에 강한 생리작용을 일으켜 생약 성분으로 이용되거나 독성을 일으키는 알칼로이드도 있습니다.

신청원료가 식물성 원료인 경우 알칼로이드 성분 함유에 관한 연구·보고 사례, 알칼로이드 시험 결과 등 알칼로이드 성분 함유 여부를 확인하여야 합니다. 알칼로이드 성분 함유 여부는 Dragendorff, Wagner 또는 Mayer 등 시약을 이용한 정성시험을 통해서도 확인할 수 있으며, 알칼로이드 성분이 확인된 경우 추가 시험 또는 문헌검색 등을 통해 안전성을 검토할 필요가 있습니다.

## 나. 샘플링 및 시험방법

성상, 구성성분, 주요성분, 유해물질, 독성시험 및 기타 분석에 사용되는 신청원료는 각각 다른 배치에서 취해진 3 배치(batch) 이상의 시료가 대표성 있게 오염이 없도록 채취되어 시험·검사기관으로 운반되어야 하며, 배치별로 동일한 시료가 일관되게 분석되어야 합니다.

가.에 언급된 모든 시험 항목은 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」 제6조제3항제1호에 따른 식품의약품안전처장이 지정한 식품 전문 시험·검사기관 또는 같은 법 제8조에 따른 국외시험검사기관의 시험성적서 등을 통해 확인할 수 있으며, 시험방법은 「식품의 기준 및 규격」, 「식품첨가물의 기준 및 규격」, 국제식품규격위원회(CAC) 규정, AOAC 방법 등 국내·외에서 공인된 방법을 이용하여야 합니다. 공인된 방법이 없거나 더 타당하다고 인정되는 시험방법이 있는 경우 해당 시험법을 사용할 수 있으나, 이 경우에는 밸리데이션 등을 통해 검출한계, 직선성, 정확성, 정밀성 등을 확인해야 합니다.

참고로, 공인된 식품등 시험검사기관은 식품의약품안전처 대표 누리집 ([www.mfds.go.kr](http://www.mfds.go.kr) → 정책정보 → 시험검사기관 → 시험검사기관 지정현황)에서 확인할 수 있습니다.

## 다. 자체품질관리규격

신청원료의 특성을 파악하고 식품의 안전 관리를 위해 자체 품질관리규격(범위, 최대/최소값 등)을 설정하고 설정 근거를 제시합니다. 자체 품질관리규격은 아래의 항목들을 검토하여 신청원료의 품질이 일정하게 유지되도록 원료의 특성에 따라 적절히 설정할 수 있습니다.

- 1) 구성성분(탄수화물, 지방, 단백질, 수분, 회분 등)
- 2) 주요성분
- 3) 유해물질(중금속, 미생물, 병원성균, 불순물 등)
- 4) 원재료 및 제조방법을 고려하여 추가적으로 설정할 필요가 있는 항목(잔류용매, 곰팡이독소, 벤조피렌, 산가, 카페인 등)

## 4

## 안전성 정보

안전성 정보 검색은 신청원료 또는 원재료의 인체 부정적 영향 보고 여부 또는 신청원료에 함유된 특정 성분의 독성 유무 등을 체계적인 문헌검색을 통해 확인하는 과정으로, 신청원료가 식품으로서 안전하지 않다는 반증 사례가 있는지 확인하는 과정을 포함합니다. 따라서, 문헌검색의 신뢰성을 높이려면 공신력 있는 출처와 적절한 검색어(key word)의 사용이 중요합니다. 공신력 있는 출처로는 국제적으로 통용되는 독성정보 데이터베이스, 국내·외 학술지(과학기술논문인용색인, Science Citation Index (Expanded)) 뿐만 아니라, 국내·외 정부 보고서 또는 국제기구 보고서 등을 이용할 수 있습니다. 참고로, 국내·외 정부 기관은 식품의약품안전처, 농림축산식품부 등 우리나라 정부 기관과 미국 FDA, 유럽연합 EFSA, 캐나다 Health Canada 등 외국의 정부 기관을 말하며, 국제기구로는 WHO, FAO, 국제식품규격위원회(CAC) 등이 있습니다. 문헌검색에 사용하는 검색어는 신청원료 또는 원재료의 학명(이명 포함)을 포함하여 주요 성분명, 안전성(safety), 독성(toxicity), 부작용(adverse effect) 등 안전성 정보가 누락되지 않도록 하고, 불필요하거나 혼동을 주는 검색어를 제외하여 최적의 정보가 검색되도록 선정하여야 합니다. 안전성 정보 검색을 통해 신청원료 또는 원재료의 인체 부정적 영향 보고 또는 신청원료에 함유된 특정 성분의 독성 등이 확인된 경우, 추가적인 안전성 입증에 필요할 수 있습니다.

\* 신청원료가 잣송이추출물일 경우, 검색어 예시 : Korean pine cone, Pinus koraiensis, dehydroabietic acid, safety, toxicity, adverse effect 등

## 참고 1 주요 안전성 정보 검색 출처 예시

- **Pubmed**      <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>
- **NLM Technical bulletin(Toxnet)**  
[https://www.nlm.nih.gov/pubs/techbull/nd19/nd19\\_toxnet\\_new\\_locations.html](https://www.nlm.nih.gov/pubs/techbull/nd19/nd19_toxnet_new_locations.html)
- **Natural Medicine Comprehensive Database**      <http://www.naturaldatabase.com>
- **WHO Monographs**      <https://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js2200e/>
- **RTECS(Registry of Toxic Effects of Chemical Substances- U.S. NIOSH)**  
<http://www.cdc.gov/niosh/>
- **American Botanical Council**      <https://www.herbalgram.org>
- **Tox-Info**      <https://www.nifds.go.kr/toxinfo/index.do>
- **한국학술문헌정보센터(KISS)**      <https://kiss.kstudy.com>

## 5

## 알레르기성

신청원료 또는 원재료의 알레르기성은 일반적으로 다음과 같은 단계적 접근을 통해 확인할 수 있습니다.

가. 일차적으로는 체계적인 문헌검색 또는 알려진 알레르기 유발 식품과의 계통학적 관계에 대한 검토를 통해 확인할 수 있습니다.

나. 문헌검색만으로는 알레르기성 판단이 어렵거나 알레르기성이 의심되는 경우에는 신청원료와 이미 알려져 있는 알레르겐의 아미노산 서열에 대해 FASTA 또는 BLASTP 등 다양한 알고리즘 분석을 통해 신청원료의 80개 이상의 아미노산 부분에서 이미 알려져 있는 알레르겐의 아미노산 서열과 35% 이상의 상동성을 가지는지 여부 등 구조적 유사성을 확인하여 알레르기성을 판단할 수 있습니다. 또한, 연속하는 동일한 아미노산 서열 분석을 실시하여, 이미 알려져 있는 알레르겐의 아미노산 서열과 일치하는 연속된 8개 이상의 아미노산 서열이 존재하는지 여부 등 직선 에피토프(epitope)를 나타낼 가능성이 있는 서열을 확인하여 알레르기성을 판단할 수 있습니다. 이때, 분석에 사용한 DB 종류(버전, 연도), 검색조건(조건을 설정한 근거) 등이 반드시 제시되어야 합니다.

다. 신청원료와 이미 알려져 있는 알레르겐과의 아미노산 서열 상동성이 확인되는 등 교차 알레르기 가능성이 있는 경우, 교차 반응을 일으킬 수 있는 구조를 가진 알레르겐에 대해 특이적으로 반응하는 사람의 특정 IgE 혈청을 이용한 ELISA 분석 등 적절한 면역 분석을 통해 신청원료의 알레르기성을 확인할 수 있습니다.

라. 가.~다.를 통해 신청원료의 알레르기성이 의심되는 경우, 피부단자 테스트 등의 추가적인 시험이 필요할 수 있습니다.

### 참고 2 주요 알레르기성 정보 검색 출처 예시

- Allergenonline(FARRP DB) <https://www.allergenonline.org>
- WHO/IUIS Allergen Nomenclature <https://allergen.org>
- COMPARE <https://comparedatabase.org>
- Allermatch <https://www.allermatch.org>
- Allergome <https://www.allergome.org>
- The AllFam <https://www.meduniwien.ac.at/allfam>
- The Structural Database of Allergenic Proteins(SDAP) <https://fermi.utmb.edu>

기원, 제조방법, 독성, 섭취량 등 기본적인 공통 항목 이외에도 미생물을 이용한 식품원료는 보다 세심한 안전성 평가가 필요하며, 살아있는 미생물을 섭취하는 생균제 유형, 미생물을 사균화하여 섭취하는 사균체 유형, 그리고 미생물이 생산한 대사산물 등을 이용하는 발효 대사(추출)물 유형 등 이용하는 유형에 따라 안전성 평가 방법이 달라질 수 있습니다. 미생물을 이용한 식품원료는 기본적으로 항생제 내성, 용혈 활성, 독소 생성, 대사적 특성, 항균 활성 등에 대한 안전성이 평가되어야 하며, 사균체의 경우 최종산물 내 생균 부재, 발효 대사(추출)물의 경우 최종산물 내 제조에 사용된 원료 균주의 부재 등이 추가로 평가되어야 합니다. 다음은 미생물의 항목별 안전성 평가 개요를 서술한 것으로, 보다 구체적인 평가 방법은 「건강기능식품 기능성 원료 프로바이오틱스 안전성 평가 가이드(민원인 안내서)」(식품의약품안전평가원, 2022)를 참고할 수 있습니다.

### 가. 항생제 내성

미생물의 항생제 내성은 미생물이 특정 항생제에 의해 죽거나 성장이 억제되지 않는 현상을 의미합니다. 항생제 내성은 크게 내재성 내성(intrinsic resistance)과 획득성 내성(acquired resistance)으로 구분됩니다. 내재성 내성은 미생물이 본래부터 가지고 있는 내성(같은 종에 동일하게 존재하는 내재적 특징)을 의미하며, 특정 항생제에 대해 자연적으로 저항성을 가지는 경우입니다. 반면, 획득성 내성은 미생물이 원래는 항생제에 민감했으나, 돌연변이 또는 외부로부터 내성 유전자를 획득함으로써 내성을 갖게 되는 경우입니다. 내재성 내성은 미생물의 본질적인 특성으로 질병에 대한 항생제 선택 시 초기 고려사항이 될 수 있으나, 획득성 내성은 환경적 요인에 의해 후천적으로 발생하는 것으로 안전성 평가에 있어 중요한 요소가 됩니다.

항생제 내성은 항생제별로 미생물의 번식을 억제하는 최소농도(최소억제농도, Minimum Inhibitory Concentration, MIC)값을 비교함으로써 1차로 스크리닝할 수 있습니다. 미생물의 MIC 평가 방법으로는 미국 CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute)의 Agar dilution assay, Broth microdilution assay, 미국 CDC(Centers for Disease Control and Prevention)가 추천하는 Antibiotic strip(E-TEST®) 등이 있습니다. 또한, EFSA에서는 균주에 따라 MIC cut-off value를 제시하고 있으며, MIC cut-off value가 정해져 있지 않은 균주라면, Gram 양성균에 대해서는 *Corynebacterium*의 cut-off value를, Gram 음성균에 대해서는 *Enterobacteriaceae*의 cut-off value를 참고할 수 있습니다. 스크리닝에서 해당 균주의 MIC 값이 cut-off value를 초과한 경우에는 항생제 내성이 있는 것으로 판단하고, 추가로 Horizontal Gene Transfer database(HGTTree DB), conjugation, transduction, mobile element 등의 방법을 이용하여 해당 내성이 내재성인지 또는 획득성인지 여부를 판단합니다. 획득성이 의심되는

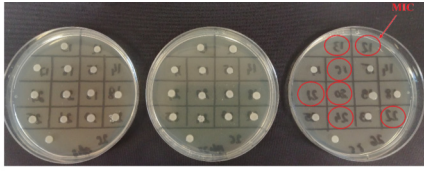
경우에는 추가로 생물정보학(Bioinformatics) 기반 방법 등을 통해 구체적인 전파경로를 파악할 수 있습니다.

**【표 4】 EFSA 가이드라인 기준 항생제 MIC cut-off value 기준**

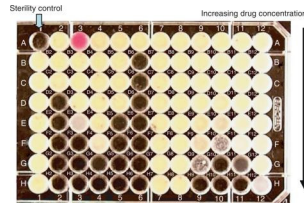
Microbiological cut- off values (mg/L)	Ampicillin	Vancomycin	Gentamicin	Kanamycin	Streptomycin	Erythromycin	Clindamycin	Tetracycline	Chloramphenicol	Tylosine	Ciprofloxacin	Colistin	Fosfomycin
<i>Lactobacillus</i> obligate homofermentative <sup>(a)</sup>	2	2	16	16	16	1	4	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> group	1	2	16	64	16	1	4	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus</i> obligate heterofermentative <sup>(b)</sup>	2	n.r.	16	64	64	1	4	8 <sup>(c)</sup>	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus reuteri</i>	2	n.r.	8	64	64	1	4	32	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus</i> facultative heterofermentative <sup>(d)</sup>	4	n.r.	16	64	64	1	4	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus plantarum/pentosus</i>	23	n.r.	16	64	n.r.	1	4	32	8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	4	n.r.	16	64	32	1	4	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactobacillus casei/paracasei</i>	4	n.r.	32	64	64	1	4	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Bifidobacterium</i>	2	2	64	n.r.	128	1	1	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Pediococcus</i>	4	n.r.	16	64	64	1	1	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Leuconostoc</i>	2	n.r.	16	16	64	1	1	8	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Lactococcus lactis</i>	2	4	32	64	62	1	1	4	8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Streptococcus thermophilus</i>	2	4	32	n.r.	64	2	2	4	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Bacillus</i>		4	4	8	8	4	4	8	8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Propionibacterium</i>	2	4	64	64	64	0.5	0.25	2	2	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Enterococcus faecium</i>	2	4	32	1,024	128	4	4	4	16	4	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Corynebacterium</i> and Other Gram positive	1	4	4	16	8	1	4	2	4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
<i>Enterobacteriaceae</i>	8	n.r.	2	8	16	n.r.	n.r.	8	n.r.	n.r.	0.06	2	8

n.r. not required.

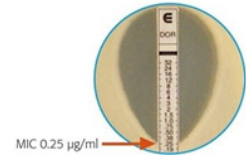
<sup>(a)</sup> including *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, <sup>(b)</sup> including *L. fermentum*, <sup>(c)</sup> for *L. buchneri* the cut-off for tetracycline is 128, <sup>(d)</sup> including the homofermentive species *L. salivarius*



Agar dilution assay



Broth microdilution assay

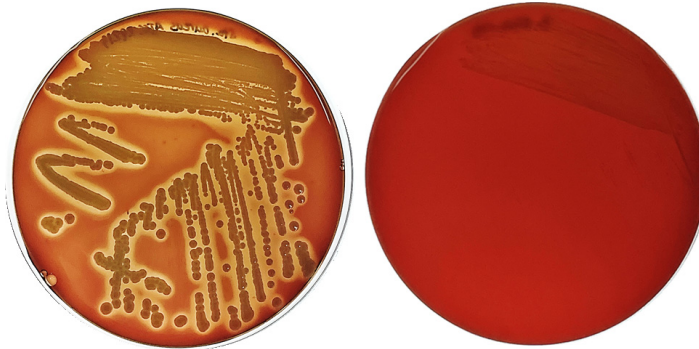


E- TEST

**【그림 6】 항생제 내성 평가를 위한 MIC 평가 예시**

## 나. 용혈 활성

미생물의 용혈 활성(hemolytic activity)은 미생물이 적혈구를 파괴하거나 손상시키는 능력을 의미합니다. 용혈 활성은 미생물이 생존하고 성장하기 위해 특정한 독소나 효소를 분비함으로써 나타나며, 미생물의 안전성을 평가하는 중요한 지표로 이용됩니다. 혈액 한천 배지에 미생물을 접종하고 배양하면, 병원성 미생물의 경우는 미생물이 생산하는 용혈 독소에 의해 적혈구가 파괴되면서 배지 주변에 투명한 영역(용혈환, hemolysis zone)이 형성되며, 이러한 용혈 활성이 확인되는 경우 해당 미생물의 안전성은 입증되기 어렵습니다.



용혈 활성을 가지는 병원균

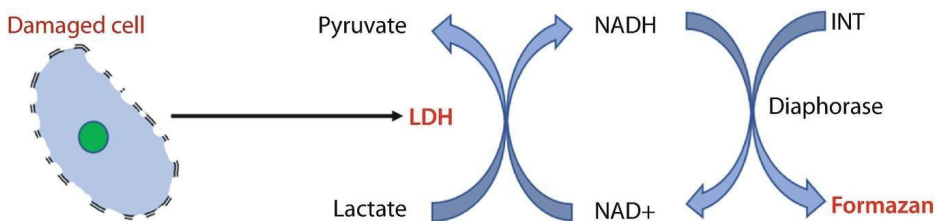
용혈 활성을 가지지 않는 원료

**【그림 7】 혈액한천 배지에서의 용혈 활성 평가 결과 예시**

## 다. 독소 생성

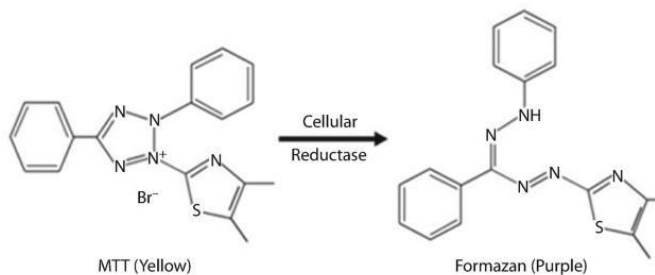
미생물이 독소를 생성할 경우 섭취 시 인체 위해우려가 있으므로, 미생물의 독소 생성 여부는 미생물의 안전성을 평가하는 중요한 평가 항목이 될 수 있습니다.

일반적으로 미생물의 독소 생성을 확인하는 방법으로는 LDH(Lactate dehydrogenase) assay가 알려져 있습니다. LDH assay는 세포를 기반으로 한 *in-vitro* 시험을 통해 독소 생성 여부를 판단하는 방법으로, 미생물이 대사 과정에서 생성한 독소에 의해 세포가 파괴되면서 파괴된 세포로부터 나오는 LDH를 측정함으로써, 독소 생성 여부를 판단하는 원리입니다.



【그림 8】 LDH assay 시험 원리

미생물의 독소 생성을 확인하는 또 다른 방법으로는 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay가 알려져 있습니다. MTT assay도 LDH assay와 마찬가지로 세포를 기반으로 한 *in-vitro* 시험이며, MTT가 세포 안으로 들어가 미토콘드리아의 reductase에 의해 Formazan으로 전환될 때의 색깔 변화로부터 해당 미생물의 독소 생성 여부를 판단하는 원리입니다.



【그림 9】 MTT assay 시험 원리

최근에는 미생물의 전장유전체 분석 결과로부터 적절한 데이터베이스(Virulence Finder, ToxFinder, PathogenFinder 등)를 활용하여 독소 생성 유전자 존재 여부를 확인하는 방법도 알려지고 있습니다.

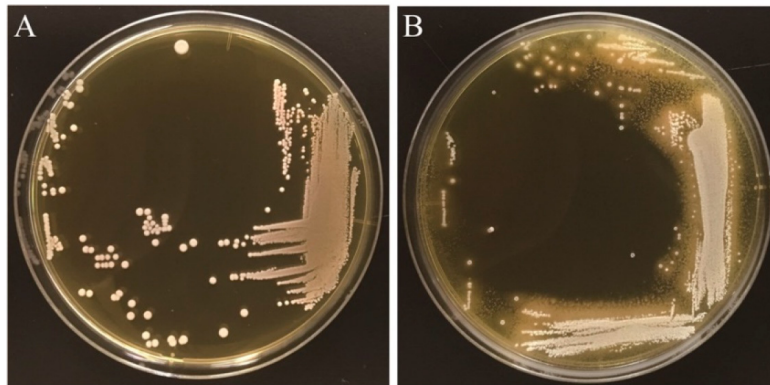
## 라. 대사적 특성

### 1) D- Lactate 시험

인체의 경우 L-lactic acid는 대사가 가능하나 이성질체인 D-lactic acid는 대사가 불가능합니다. 그러나, 일부 미생물은 L-lactate를 D-lactate로 변환하는 효소인 DL-lactate racemase를 가지고 있으며, 이러한 효소의 활성이 강한 미생물은 신생아나 어린이가 그리고 선천성 단장 증후군(short bowel syndrome) 환자에게 D-lactate를 축적시켜 산독증(acidosis)을 유발할 수 있습니다. 따라서, 미생물의 D-Lactate 시험은 미생물 안전성 평가의 중요한 요소가 되며, 미생물이 생산하는 D-lactate를 측정하여 racemase 효소 여부를 추정함으로써 안전성을 평가할 수 있습니다.

### 2) Bile salt deconjugation 시험

Bile salt(담즙염)은 간에서 생성된 담즙산(Bile acid)이 아미노산 등과 결합한 형태로, 주로 담낭에 저장되었다가 십이지장으로 분비되어 지방 소화와 콜레스테롤 대사에 관여하는 물질입니다. 일부 미생물에 존재하는 bile salt hydrolase(담즙염 가수분해 효소, BSH)는 bile salt를 가수분해하여 bile acid와 아미노산 등으로 분해하는 deconjugation 과정을 유도합니다. 따라서, bile salt hydrolase의 활성이 지나치게 높아지면 지방 흡수가 저해될 수 있으며, 반대로 활성이 너무 낮으면 콜레스테롤 대사에 부정적 영향을 줄 수도 있으므로, Bile salt deconjugation 시험을 통해 bile salt hydrolase 효소 여부를 추정함으로써 안전성을 평가할 수 있습니다.



MRS agar

TDCA가 첨가된 MRS agar

\* BSH activity가 있는 균주의 경우 콜로니 주변에 불투명한 하얀색 콜로니 형성

**[그림 10] Bile salt deconjugation test 결과 예시**

## 마. 항균 활성

항균 활성은 미생물이 항생제 저항성 등을 유발할 수 있는 항균 물질(antimicrobial product)을 생산하는지 여부를 확인하는 평가 항목입니다.

EFSA, FAO/WHO(JECFA) 가이드라인에 따라 원료 균주 배양 상층액이 참조균주의 생장을 억제하는지 여부로 평가할 수 있으며, 이때 참조균주란 넓은 범위의 항균 물질에 의해 생장이 억제되는 것으로 알려진 균주로, EFSA는 *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Ent. faecalis* ATCC 29212, *B. subtilis* ATCC 6633을 참조균주로 제시하고 있습니다. 참조균주의 성장 억제가 관찰되는 경우 양성으로 판정하고 성장 억제 물질을 식별해야 하며, 항균물질 생성이 확인된 경우 신청원료에 포함되지 않음이 입증될 필요가 있습니다.

## 바. 최종산물 내 생균/원료 균주 DNA 부재 확인

미생물의 사균체 또는 대사(추출)물의 경우 최종 산물 내 생균 또는 사균의 부재를 확인해야 하며, 배양 기반 방법 또는 원료 균주의 DNA를 PCR을 통해 확인하는 방법이 있습니다. 다만, 살아있으나 스트레스에 의해 성장 속도가 느려진 균이 있을 수 있으므로 복구가 가능한 긴 배양 시간이 필요합니다. 보다 엄밀한 검증을 위해 최소 3개의 독립적인 배치(batch)에서 얻은 batch당 최소 3개의 샘플을 사용하고, 최소 10 g(mL)에서 얻은 샘플 중 최소 1 g(mL)을 분석하는 것을 권장합니다(DNA 검출의 경우 최소 1 g의 샘플에서 추출한 DNA로 분석) .

### 1) 최종산물 내 생균 부재 확인

샘플과 양성 대조군, 음성 대조군을 준비한 뒤 균주가 자랄 수 있는 적절한 배지에 도말하고, 스트레스를 받은 세포가 복구될 수 있도록 일반적인 해당 균주의 배양 시간보다 2배 이상의 시간을 배양한 후 확인합니다. 이때 배양 과정에 문제가 없었다는 것을 증명하는 양성 대조군(샘플에 생균을 10~1,000 CFU/plate 해당량을 첨가)이 반드시 함께 실험될 필요가 있습니다.

### 2) 최종산물 내 원료 균주 DNA 부재 확인

원료 균주의 DNA 중 1 kb를 초과하지 않는 fragment를 증폭하도록 프라이머를 설계하고, 샘플, 균주 특성에 Cell lysis, DNA 추출 과정 등을 거친 뒤 PCR 증폭으로 DNA 검출 여부를 확인합니다. 이때 PCR 양성 대조군, 샘플 추출 양성 대조군, LOD를 확인하기 위한 대조군, 음성 대조군이 포함되어야 합니다.

## 7

## 독성

독성시험은 신청원료에 대하여 단회투여독성시험, 90일 반복투여독성시험, 유전독성시험(복귀 돌연변이시험, 염색체이상시험, 소핵시험)을 기본으로 검토하고, 필요시 생식독성시험, 항원성시험, 면역독성시험, 발암성시험을 추가로 검토할 수 있습니다.

독성시험은 신청원료로 우수실험실운영규정(GLP)에 따라 운영된 기관에서 실시하고, 경제협력 개발기구(OECD)에서 정하고 있는 독성시험방법(OECD Test Guideline)에 따르거나 이에 준하여 시험해야 합니다.

【표 5】 분야별 OECD 독성시험방법

분야	TG No	독성시험법
반복	408	Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents
	407	Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents
	109	Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents
단회	420	Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure
	423	Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method
	425	Acute Oral Toxicity - Up-and-Down Procedure
만성/ 발암	451	Carcinogenic Studies
	452	Chronic Toxicity Studies
	453	Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies
생식 · 발생	414	Prenatal Developmental Toxicity Study
	416	Two-Generation Reproduction Toxicity
	421	Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test
	422	Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test
	426	Developmental Neurotoxicity Study
	443	Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study
유전	471	Bacterial Reverse Mutation Test
	473	In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test
	474	Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test
	475	Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test
	476	In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and xprt genes
	478	Rodent Dominant Lethal Test
	483	Mammalian Spermatogonial Chromosomal Aberration Test
	485	Genetic Toxicology : Mouse Heritable Translocation Assay
	486	Unscheduled DNA Synthesis(UDS) Test with Mammalian Liver Cells in vivo
	487	In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test
	488	Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assay
	489	In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay
490	In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Thymidine Kinase Gene	

## 가. 단회투여독성시험(설치류)

단회투여독성시험이란 ‘시험물질을 실험동물에 24시간 이내에 단회 혹은 수회 투여하여 단기간 내에 나타나는 독성을 평가하는 시험’을 말하며, 단회투여독성시험을 흔히 ‘급성독성시험’(acute toxicity study)라고 부르기도 합니다. 기존의 단회투여독성시험 또는 급성독성시험은 반수치사량(LD<sub>50</sub>, Lethal Dose 50%)을 구하기 위해 3개 용량군 이상으로 다수의 동물에 투여하는 방법을 주로 사용하였으나, 현재 OECD에서는 기존의 단회투여독성시험(급성독성시험)인 TG401을 폐기하고 대신 단회투여 독성시험법으로 고정용량법(TG420), 독성등급법(TG423) 및 용량고저법(TG425)을 제시하고 있으며, 세부 평가 항목은 아래와 같습니다.

**【표 6】 단회투여독성시험의 절차 및 주요 평가 항목**

구분	평가 항목		세부 내용
투여 전 평가항목	필수	일반증상 관찰	상세한 일반증상 최소 1회 관찰
		체중 측정	평균 체중 ±20% 이내
관찰기간 중 평가 항목	필수	체중 측정	투여 시작 일을 포함하여 일정한 간격을 두고 주 1회 이상 측정
		사망시간 (용량고저법의 경우 실시)	윤리적인 이유로 안락사한 동물의 사망 시간은 가능한 정확하게 기록
		독성 징후 발현 및 소멸 시각 (용량고저법의 경우 실시)	독성 징후의 발현 시작 시간 및 소멸 시간을 개체별로 체계적으로 기록
		폐사·행동·외형 등 임상 증상 관찰	투여 후 30분 이내 최소 1회 투여 후 처음 4시간은 특히 세심하게 관찰. 이후 매일 1회 이상 14일간 관찰  [세부항목] 폐사(death), 피부(skin), 피모(fur), 안구(eyes), 점막(mucous membranes), 호흡계(respiratory system), 순환계(circulatory system), 자율(autonomic) 및 중추신경계(central nervous system), 신체 운동(somatomotor activity), 행동 유형(behavior pattern), 진전(tremor), 경련(convulsion), 유연(salivation), 설사(diarrhea), 기면(lethargy), 수면(sleep) 및 혼수상태(coma)
부검 및 육안 검사	폐사 또는 빈사 동물 발견 시 실시 (용량고저법의 경우 모든 동물의 내·외부 장기 이상 등 확인)		
부검일 평가 항목	필수	체중 측정	부검 전 체중 측정
		부검 및 육안검사	모든 동물의 내·외부 장기 이상 등 확인
	필요시	조직병리 검사	동물의 장기에서 육안 병변이 관찰된 경우
종료 후 평가 항목	필수	LD <sub>50</sub>	최대 우도법 이용

단회투여독성시험을 실시한 후 그 결과를 보고할 때에는 시험물질에 대한 정보(부형제 포함), 실험동물 및 시험조건에 대한 정보, 개별 평가 항목에 대한 결과, 결과에 대한 고찰 그리고 최종 결론이 반드시 포함되어야 하며, 세부 사항은 아래와 같습니다.

**【표 7】 단회투여독성시험 결과 보고 사항**

구분	세부 사항
시험 물질	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 물리적 특성, 순도 및 필요에 따라 물리화학적 특성(이성질체 포함)</li> <li>- CAS 번호를 포함한 시험물질정보</li> </ul>
부형제	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 물 이외의 경우는 부형제 선택의 타당성(필요에 따라)</li> </ul>
실험동물	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 사용한 종 및 계통</li> <li>- 동물의 미생물학적 상태(알고 있는 경우)</li> <li>- 마리수, 주령 및 성별(수컷을 선택한 경우 근거 포함)</li> <li>- 동물의 공급원, 사육 환경, 사료 등</li> </ul>
시험환경	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 시험물질 제형에 대한 세부사항(물리적 형태의 세부사항 포함)</li> <li>- 시험물질 투여 세부사항(투여 용량 및 투여 시간 포함)</li> <li>- 사료, 음수의 세부사항(사료의 종류/공급원 및 음수 공급원 포함)</li> <li>- 투여개시용량 설정 근거(용량고저법의 경우 개시용량 결정, 공비 및 추적 투여량(follow-up dose)의 근거 포함)</li> </ul>
결과	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 각 동물의 반응 자료(생사를 포함하고, 독성증상이 나타난 동물, 관찰된 영향의 성질, 정도 및 지속성 및 투여용량을 기재한 표)</li> <li>- 체중 및 체중 변화량 표</li> <li>- 투여일 및 이후 주별 및 폐사 또는 안락사 시 개체별 체중</li> <li>- 계획 부검 전에 폐사한 경우, 그 날짜 및 시간</li> <li>- 각 동물의 독성 징후의 발현 경과 및 가역성</li> <li>- 각 동물의 부검 결과 및 필요에 따라 조직병리학적 소견</li> <li>- LD<sub>50</sub> 및 통계처리 방법(용량고저법의 경우)</li> </ul>
고찰 및 해석	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 결론을 내리게 된 근거 및 사유 등</li> </ul>
결론	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 카테고리 분류 등</li> <li>- LD<sub>50</sub> 등(용량고저법의 경우)</li> </ul>

## 나. 90일 반복투여독성시험(설치류)

반복투여독성시험이란 ‘시험물질을 실험동물에 반복투여하여 중장기간 내에 나타나는 독성을 질적, 양적으로 검사하는 시험’을 말합니다. 반복투여독성시험은 투여기간에 따라 크게 ‘아급성독성시험’, ‘아만성독성시험’과 ‘만성독성시험’으로 구분할 수 있습니다. 다만, 1년 이상의 투여기간을 가지는 만성독성시험은 발암성시험과 함께 별도의 시험으로 분류하는 것이 일반적이므로 보통 반복투여독성시험이라 하면 28일(1개월)부터 1년 미만의 투여기간을 의미합니다. 현행 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」에서는 90일 반복투여독성시험을 규정하고 있으며, 세부 평가 항목은 아래와 같습니다. 공신력있는 기관에서 수행한 90일 반복투여독성시험을 통해 도출된 최대무독성량(NOAEL)은 새로운 식품원료의 안전성 평가에 중요한 요소가 됩니다.

**[표 8] 90일 반복투여독성시험의 평가 항목**

구분	평가 항목	세부 내용	
투여 전 평가항목	필수	일반증상 관찰	상세한 일반증상 최소 1회 관찰
		체중 측정	평균 체중 ±20% 이내
		안 검사	대조군 및 최고용량은 반드시 포함하여 실시
투여기간 중 평가항목	필수	체중 측정	투여 시작 일을 포함하여 일정한 간격을 두고 주 1회 이상 측정
		사료 섭취량 측정 (필요시 음수 포함)	일정한 간격을 두고 주 1회 이상 측정 (음수 섭취량은 시험물질을 음수를 통해 투여하는 경우 반드시 측정)
		폐사·행동·외형 등 임상 증상 관찰	이상적 임상 증상은 일정한 시간에 매일 1회 이상 관찰 (단, 폐사 여부는 오전, 오후 2회 관찰)하고 상세한 임상 증상은 주 1회 관찰  [세부항목] 폐사(death), 유병 징후(signs of disease), 피부(skin), 털(fur), 안구(eye), 점막(mucous membrane), 분비(secretion), 자율신경 변화(autonomic activity), 걸음걸이(gait), 자세(posture) 등
		안 검사	투여 종료 시 실시하되, 대조군 및 최고용량군은 반드시 포함하여 실시
		부검 및 육안검사, 조직 병리 검사	폐사 또는 빈사 동물 발견 시 실시
	가능한 경우	감각, 악력 및 운동능력 등 평가	투여 11주 이후 실시하며, 감각(예: 청각, 시각 등), 악력, 운동능력 등 평가
필요시	요검사	투여 마지막 주(13주)에 실시  [세부항목] 성상(appearance), 뇨량(volume), 삼투압(osmolality), pH, 비중(gravity), 단백질(protein), 당(glucose), 혈구(blood cell) 등	

구분	평가 항목	세부 내용	
<b>부검일 평가항목</b>	<b>필수</b>	체중 측정	부검 전 체중 측정
		성주기 검사	암컷 동물의 질내 도말을 통해 성주기 확인
		혈액 채취	혈액학·혈액생화학·호르몬 검사용 혈액 채취
		부검 및 육안 검사	모든 동물의 내·외부 장기 이상 등 확인
		장기 적출 및 무게 측정	장기의 변화를 확인하기 위한 무게 측정 <b>[세부항목]</b> 간(liver), 신장(kidney), 부신(adrenal), 고환(testis), 부고환(epididymis), 전립선(샘) (prostate) 및 응고선(샘)(coagulating gland)이 포함된 정낭(seminal vesicle), 자궁(uterus), 난소(ovary), 흉선(가슴샘) (thymus), 비장(spleen), 뇌(brain), 심장(heart), 뇌하수체(pituitary gland), 갑상선(샘) (thyroid) 등
	<b>필요시</b>	정자 수 및 운동성 검사	무게 측정이 완료된 한쪽 부고환을 이용
	<b>필수</b>	혈액학 검사	혈액 내 혈구세포 등의 변화 확인 <b>[세부항목]</b> 적혈구용적률(hematocrit), 혈액소 농도(hemoglobin concentration), 적혈구(erythrocyte) 수, 망상적혈구(reticulocyte) 수, 총 백혈구(leukocyte) 수 및 감별 백혈구(differential leukocyte) 수, 혈소판(platelet) 수, 혈액응고(blood clotting) 시간 및 능력 등
		혈액 생화학 검사	혈액 내 신장 및 간 기능 지표 등 확인 <b>[세부항목]</b> 나트륨(sodium), 칼륨(potassium), 당(glucose), 총 콜레스테롤(total cholesterol), 고밀도지질단백질(HDL), 저밀도지질단백질(LDL), 요소(urea), 혈액요소질소(blood urea nitrogen), 크레아티닌(creatinine), 총 단백질(protein), 알부민(albumin), 간기능 효소[알라닌아미노기전이효소(ALT), 아스파르타아미노기전이효소(AST), 알칼리성인산염분해효소(ALP), 감마글루타미드트랜스펩티다아제(gamma glutamyl transpeptidase), 소비톨탈수소효소(sorbitol dehydrogenase) 등 2종 이상], 그 외 필요에 따라 담즙산(bile acid), 빌리루빈(bilirubin), 칼슘(calcium), 인(phosphorus), 트리글리세라이드(triglyceride), 메트헤모글로빈(methemoglobin), 콜린에스테라아제(cholinesterase) 등 추가
		갑상선(샘) 호르몬 검사	혈액 내 내분비계 호르몬의 변화 확인 <b>[세부항목]</b> 트리아이오도티로닌(T <sub>3</sub> ), 티록신(T <sub>4</sub> ), 갑상선(샘) 자극호르몬(TSH)
		조직병리 검사	조직의 병리학적 변화 확인 <b>[세부항목]</b> 뇌(brain), 척수(spinal cord), 뇌하수체(pituitary), 갑상선(샘) (thyroid), 부갑상선(샘) (parathyroid), 흉선(가슴샘) (thymus), 식도(esophagus), 타액선(침샘)(salivary gland), 위(stomach), 소장(small intestine), 대장(large intestine), 간(liver), 췌장(pancreas), 신장(kidney), 부신(adrenal), 비장(spleen), 심장(heart), 기관지(trachea) 및 폐(lung), 대동맥(aorta), 자궁(uterus), 난소(ovary), 자궁경부(cervix), 질(vagina), 고환(testis), 부고환(epididymis), 전립선(샘) (prostate), 정낭(seminal vesicle), 응고선(샘) (coagulation, gland), 방광(urinary bladder), 유선(젖샘) (mammary gland), 쓸개(gall bladder), 림프절(lymph node), 말초신경(peripheral nerve), 골격근(skeletal muscle), 뼈(bone) 및 골수(bone marrow), 피부(skin), 안구(eye) 등
<b>필요시</b>		성호르몬 검사	혈액 내 생식기계 호르몬의 변화 확인 <b>[세부항목]</b> 테스토스테론(testosterone), 에스트라다이올(estradiol), 난포자극 호르몬(FSH), 황체형성호르몬(LH) 등
	정자형태 검사	정자 세포의 정상/비정상 형태 확인	

90일 반복투여독성시험을 실시한 후 그 결과를 보고할 때는 시험물질에 대한 정보(부형제 포함), 실험동물 및 시험조건에 대한 정보, 개별 평가 항목에 대한 결과, 결과에 대한 고찰 그리고 최종 결론이 반드시 포함되어야 하며, 세부 사항은 아래와 같습니다.

**【표 9】 90일 반복투여독성시험 결과 보고 사항**

구분	세부 내용
시험 물질	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 시험물질의 고유정보 : IUPAC 혹은 CAS 명, CAS 번호, SMILES 혹은 InChI 코드, 구조식 등</li> <li>- 시험물질의 출처, 로트번호, 사용기한(가능한 경우)</li> <li>- 시험물질의 안정성(가능한 경우)</li> <li>- 시험물질의 물리적 특성 및 생리화학적 성질</li> <li>- 시험물질의 순도</li> <li>- [단일성분의 경우] 성상, 용해도, 추가적인 물리화학적 성질</li> <li>- [복합성분, UVCBs, 혼합물의 경우] 각 구성 성분의 고유정보, 양 및 물리화학적 성질</li> </ul>
부형제	- 만약 물이 아닌 부형제를 선택한 경우 해당 사유
실험동물	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 사용한 종 및 계통</li> <li>- 마리수, 주령 및 성별</li> <li>- 동물의 공급원, 사육 환경, 사료 등</li> <li>- 시험 시작 시의 동물의 체중</li> <li>- 랫드가 아닌 동물 종을 선택한 경우 해당 사유</li> </ul>
시험조건	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 투여용량 설정 근거</li> <li>- 시험물질의 조제법/사료 조제법(feeding 투여하는 경우), 조제 농도, 조제물 안정성 및 균질성</li> <li>- 시험물질 투여에 대한 세부 사항</li> <li>- 사료/음수를 통한 투여(feeding 투여)의 경우, 실제 동물 투여 용량(mg/kg b.w./day) 및 환산계수(가능한 경우)</li> </ul>
결과	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 체중 및 체중 변화량</li> <li>- 사료 섭취량, 음수 섭취량(해당되는 경우)</li> <li>- 독성 징후를 포함한 성별, 용량별 독성 반응 자료</li> <li>- 임상증상의 특징, 정도, 지속기간(가역성 여부)</li> <li>- 안 검사 결과</li> <li>- 혈액학 검사 결과 및 관련 참고치</li> <li>- 혈액생화학 검사 결과 및 관련 참고치</li> <li>- 갑상선(샘) 호르몬(T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH) 검사 결과</li> <li>- 호르몬 측정 방법(측정법 종류, 공급자, 절차 등)</li> <li>- 부검 시 체중, 장기 무게 및 체중 대비 장기 무게 비율</li> <li>- 부검 및 육안검사 결과</li> <li>- 부검 시 성주기 검사 결과</li> <li>- 모든 조직병리 검사 결과의 세부 설명</li> <li>- 적절한 통계처리 결과</li> <li>- 빈사 동물의 안락사 처리 사유</li> <li>- 감각, 악력 및 운동능력 검사 결과(가능한 경우)</li> <li>- 폐사 동물의 폐사 원인(가능한 경우)</li> <li>- 부고환 미부의 정자 수, 정자 운동성 및 정자 형태(선택사항)</li> <li>- 다른 호르몬(예: 성호르몬) 검사 결과(선택사항)</li> <li>- 흡수(예: ADME, TK) 자료(해당하는 경우)</li> </ul>
고찰 및 해석	- 결론을 내리게 된 근거 및 사유 등
결론	- 주요 독성 영향 / 표적 장기 / 최대무독성량(NOEL) 등

## 다. 유전독성시험

유전독성시험이란 시험물질이 유전물질(DNA) 또는 유전물질의 담체인 염색체에 미치는 상해성을 나타내는 성질(Genetic toxicity)을 검사하는 시험입니다. 유전독성시험은 시험계와 평가 항목에 따라 여러 가지 방법이 있으나, 「의약품등의 독성시험기준」(식품의약품안전처 고시)에 설명된 시험법들이 현재 우리나라에서 식품 및 의약품 등의 유전독성 평가에 적용되는 대표적인 시험법입니다. 유전독성시험은 시험관 내(*in vitro*)와 생체 내(*in vivo*) 시험으로 구분할 수 있으며, 지표에 따라서는 유전자 돌연변이(gene mutation)를 지표로 하는 것, 염색체이상(chromosomal aberration)을 지표로 하는 것, DNA에 대한 상해성 또는 그 수복성(DNA damage or repair)을 지표로 하는 것 등으로 분류할 수 있습니다. 유전독성 시험은 단일 시험만으로는 제한적일 수 있으므로 아래와 같이 몇 가지 표준시험법의 조합으로 수행되어야 하며, 이들 표준시험법은 *in vitro* 및 *in vivo* 시험법을 포함하여 상호 보완적입니다.

**【표 10】 유전독성시험 표준조합**

	표준조합 1	표준조합 2
1	박테리아를 이용한 복귀돌연변이시험	박테리아를 이용한 복귀돌연변이시험
2	포유류 배양세포를 이용한 다음 어느 하나의 시험 ① 체외 염색체이상시험 ② 체외 소핵시험 ③ 체외 마우스 림포마 TK 시험	설치류 조혈세포를 이용한 체내 소핵시험
3	설치류 조혈세포를 이용한 다음 어느 하나의 시험 ① 체내 소핵시험 ② 체내 염색체이상시험	체내 코멧시험

## 라. 기타 독성시험

가.~다.의 시험결과 등에 따라, 추가적으로 생식·발생독성, 항원성, 면역독성, 발암성에 대한 확인이 필요할 수 있습니다.

\* OECD Guideline No. 478, 483, 484, 485 / No. 424, 426 / No. 451 등 참고

## 8

## 섭취량 평가

‘섭취량 평가’는 제안된 사용대상식품 및 사용량을 통해 우리나라 전체 인구 또는 섭취 인구가 신청원료를 얼마나 많이 섭취하게 될 것인가를 추정하고, 이를 인체독성참고치와 비교함으로써 안전성을 평가는 과정입니다. ‘섭취량 평가’는 객관적이고 과학적인 데이터를 기반으로 수행되어야 합니다. 따라서, 신청원료의 섭취량은 공신력 있는 데이터베이스를 활용한 통계적 분석을 통해 추정되어야 하며, 평가에는 과학적으로 산출되거나 공신력 있는 기관에서 제시하는 인체독성참고치(Health based Guidance Value, HbGV)가 이용될 필요가 있습니다. 신청원료의 안전성 평가를 위한 섭취량 평가 방법은 본 가이드에서 제시한 방법에 한정되는 것은 아니며, 더 타당하다고 인정되는 평가 방법이 있는 경우 근거자료 제시와 함께 해당 방법을 사용할 수 있습니다.

### 가. 섭취량 추정

#### 1) 사용대상식품 및 사용량 제시

섭취량 추정의 첫 단계로 신청원료의 사용대상 식품 및 사용량을 제시합니다. 사용대상식품은 「식품의 기준 및 규격」에 명시되어 있는 식품의 유형(소분류)\*으로 제시하고, 사용량은 사용대상식품 최종 100 g(mL) 당 신청원료의 최대 사용량 형태로 제시합니다.

\* 예) 캔디류 100 g 당 ‘○○잎 주정 추출물’ 180 mg 이하 사용

\* 음료베이스, 기타가공품 등 사용대상식품이 구체적이지 않거나 객관적인 섭취량 평가가 제한적인 일부 식품유형은 지양

#### 2) 사용대상식품을 통한 신청원료의 섭취량 추정

##### 가) 데이터베이스 선택

섭취량은 우리나라 국민의 식품 소비 데이터를 기반으로 추정하며, 국민건강영양조사는 이와 관련하여 우리나라에서 가장 포괄적인 공신력 있는 데이터입니다. 국민건강영양조사는 1995년 제정된 「국민건강증진법」 제16조에 근거하여 시행하는 전국 규모의 건강 및 영양조사입니다. 제1기(1998)부터 제3기(2005)까지 3년 주기로 실시되어 왔으며, 이후 연중 조사체계로 개편되어 제4기(2007-2009)부터 현재(제9기, 2022-2023)까지 매년 실시되고 있습니다.

국민건강영양조사는 건강설문조사, 검진조사, 영양조사 등을 통해 조사자료를 수집하고 있습니다. 이 중 섭취량 평가에 사용되는 데이터베이스는 검진조사와 영양조사입니다. 검진조사 데이터베이스에서는 연령, 성별, 나이, 체중 등의 데이터를 이용할 수 있으며, 영양조사

데이터베이스에서는 조사 1일 전 식품섭취내용(24시간 회상법) 데이터를 이용할 수 있습니다.

일반적으로 주요 식품군의 소비량은 단기간에 극적으로 변하지 않으나 일부 식품군 또는 식품군 내의 특정 제품의 소비량은 크게 변할 수 있으므로, 소비 현실을 최대한 반영하기 위해서는 가장 최신의 데이터베이스를 사용해야 합니다. 또한, 기본적으로 최근 3개년의 데이터베이스를 사용하되, 3개년 데이터만으로는 섭취 인구가 부족하여 섭취량 평가가 제한적일 경우에는 3개년 이상의 데이터를 활용하여 분석할 필요가 있습니다.

#### 나) 사용대상식품 식품코드 선정

현재, 「식품의 기준 및 규격」에 명시되어 있는 식품의 유형과 국민건강 영양조사 데이터베이스의 식품코드가 연계되어 있지 않으므로, 정확한 섭취량 평가를 위해서는 「식품의 기준 및 규격」의 정의에 맞게 식품코드를 잘 선정하여야 합니다. 이때, 특정 식품유형에 분류될 수 있는 식품코드는 누락없이 모두 선정하여 제시하여야 합니다. 필요에 따라 실제 유통되는 제품의 표시사항(식품의 유형)을 확인할 수 있습니다.

또한, 영양조사 데이터베이스 특성상 연도별·기수별 식품코드가 달라질 수 있으므로, 통합한 연도별로 식품코드가 다를 경우 해당 연도의 식품코드를 사용대상식품 별로 각각 분류하여 제시합니다.

#### 다) 사용대상식품의 일일추정섭취량 산출(g/day)

국민건강영양조사 데이터베이스를 활용하여 사용대상식품 섭취자 및 전체 대상자(영양조사 참여자)의 성별·연령대별 일일평균섭취량과 극단섭취량(95<sup>th</sup>)을 산출합니다. 참고로, 우리나라 전체 인구의 섭취량에는 해당 사용대상 식품을 섭취한 사람과 섭취하지 않은 사람이 모두 포함되므로, 섭취한 사람만의 섭취량보다는 작은 값이 산출되는 것이 일반적입니다.

섭취량 평가는 보수적으로 수행되어야 하므로 사용대상식품이 여러 개인 경우에는 식품별로 각각 섭취량을 산출해야 하는 것은 물론이고, 사용대상식품을 모두 섭취하였을 때의 섭취량도 산출해야 합니다. 사용대상식품을 모두 섭취하였을 때의 섭취량은 제안한 사용대상식품을 1개 이상이라도 섭취한 섭취자를 모두 포함하여 산출합니다.

#### 라) 사용대상식품을 통한 신청원료 일일추정섭취량 산출(g/day)

다)의 값을 활용하여 사용대상식품 섭취자 및 전체 대상자(영양조사 참여자)의 성별·연령대별 사용대상식품을 통한 일일평균섭취량과 극단섭취량(95<sup>th</sup>)을 산출합니다. 이때 사용대상식품 100 g(mL) 당 제안된 사용량을 적용하여 신청원료의 예상 섭취량을 산출합니다. 사용대상식품이

여러개인 경우 사용대상식품 별로 제안된 사용량을 각각 적용하여 산출하며, 사용대상식품을 모두 섭취하였을 때의 섭취량도 동일하게 산출합니다.

마) 신청원료의 체중당 일일추정섭취량 산출(mg/kg b.w./day)

사용대상식품 섭취자 및 전체 대상자(영양조사 참여자)의 체중을 성별·연령대별로 산출합니다. 사용대상식품이 여러 개인 경우에는 식품별로 각각의 섭취자의 체중을 산출하며, 사용대상식품을 모두 섭취하였을 때의 섭취자의 체중은 제안한 사용대상식품을 1개 이상이라도 섭취한 섭취자들의 체중을 산출합니다.

사용대상식품별로 해당 식품 섭취자 및 전체 조사 대상자의 체중 및 (라)의 신청원료 일일추정섭취량을 반영하여 체중당 일일추정섭취량을 계산합니다.

\* 예) 체중 당 일일추정섭취량 계산

체중 당 일일추정섭취량(mg/kg b.w./day)

$$= \frac{\text{사용대상식품 일일평균/극단섭취량(g/day)} \times \text{사용대상식품 중 신청원료 사용량(mg/g)}}{\text{체중(kg b.w.)}}$$

## 나. 인체독성참고치(인체노출허용량, Health based Guidance Value, HbGV) 선정

인체독성참고치는 신청원료를 평생동안 매일 섭취하여도 건강에 유해한 영향이 없을 것으로 판단되는 노출허용수준으로, 인체역학자료 또는 독성시험자료 등 과학적으로 타당한 연구 자료로부터 산출된 값입니다. 인체독성참고치는 연구 자료에서 확인된 독성시작값(최대무독성량 (NOAEL) 등에 불확실성계수를 적용하여 산출합니다. 불확실성계수는 연구 자료의 용량-반응 평가에 대한 불확실성을 고려하여 인체에 적용할 때 충분한 안전역을 확보하기 위한 목적으로 사용되는 계수입니다. 일반적으로 독성시험자료를 이용하여 인체독성참고치를 설정하는 경우에는 동물과 사람 종 간의 감수성 차이에 대한 10과 사람 내 민감군 사이의 감수성 차이에 대한 10을 적용합니다. 또한, 연구 자료의 시험설계, 방법, 연구 결과의 한계 등에 대한 불확실성을 고려하여 추가적인 계수를 적용할 수도 있습니다. 인체독성참고치는 식품의약품안전 평가원 또는 국외 공신력 있는 기관에서 평가한 값을 사용할 수 있습니다.

\* 예) 마우스를 이용한 동물독성시험자료에서 보고한 NOAEL 2,500(mg/kg b.w./day)로부터 인체독성 참고치 계산

$$\text{인체독성참고치 (mg/kg b.w./day)} = \frac{\text{NOAEL(2,500 mg/kg b.w./day)}}{\text{중 간 불확실성(10)} \times \text{중 내 불확실성(10)}} = 25 \text{ mg/kg b.w./day}$$

\* 인체독성참고치 : 위해요소의 특징에 따라, 의도적 사용물질(식품첨가물 등)의 경우 일일섭취허용량(Acceptable Daily Intake, ADI), 비의도적 오염물질(중금속 등)의 경우 일일섭취한계량(Tolerable Daily Intake, TDI) 등 표기하는 명칭이 다르며, 식품의 섭취량 평가에 참고로 이용

## 다. 섭취량 평가

가.의 마)에서 산출한 섭취량 추정치를 나.에서 선정한 인체독성참고치로 나눈 백분율을 제시함으로써 신청원료의 안전성을 추정합니다. 이러한 작업은 평균 섭취량 및 극단 섭취량 각각에 대하여 해당 인구 전 연령 구간에서 수행되어야 합니다. 제시된 백분율이 낮을수록 제안된 신청원료의 사용대상 식품 및 사용량은 안전한 것으로 평가할 수 있습니다. 만일, 섭취량 추정치가 인체독성참고치를 상회하여 백분율이 100%를 초과하는 경우나, 기타 자료의 불확실성으로 인해 보수적인 접근이 필요한 경우에는 사용대상식품 또는 사용량을 조정할 필요가 있습니다.



식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드

(민원인 안내서)



Ministry of Food and Drug Safety  
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

## **IV. 자주 묻는 질문**

## Q1 | '한시적 기준 및 규격'에서 '한시적'이라는 말은 언제까지의 기간을 의미하는 것인가요?

- ☞ 식품위생법 제7조제1항에 따라 기준 및 규격이 고시되지 않은 식품원료에 대해 식약처장은 같은법 제7조제2항에 따라 인정받으려는 자가 제출한 자료를 검토하여 기준 및 규격이 고시될 때까지 인정할 수 있습니다.
- ☞ 따라서, 식품원료의 '한시적 기준 및 규격'에서 '한시적'이란 말은 '한시적 기준 및 규격'을 인정받은 시점으로부터 해당 식품원료가 「식품의 기준 및 규격」에 식품에 사용할 수 있는 원료로 등재되기 전까지의 기간을 말합니다.

## Q2 | 「대한민국약외한약(생약) 규격집」에 수재된 생약을 식품원료의 '한시적 기준 및 규격'으로 인정 신청할 수 있는지요?

- ☞ 「식품위생법」 제2조제1호에 따르면 식품이란 모든 음식물(의약품으로 섭취하는 것은 제외한다)을 말하므로, 해당 원료가 「대한민국약외한약(생약) 규격집」에 수재된 의약품이라면 식품원료의 한시적 기준 및 규격 인정 대상으로 적합하지 않습니다.

\* 인정 제외 대상 예시 : 멸구슬나무껍질(고련피), 석류 열매 껍질(석류피), 호황련, 누에똥(잠분), 자작나무 껍질(화피)

## Q3 | 의약품 성분의 경우도 식품원료의 '한시적 기준 및 규격'으로 인정 신청할 수 있는지요?

- ☞ 「식품위생법」 제2조제1호에 따르면 식품이란 모든 음식물(의약품으로 섭취하는 것은 제외한다)을 말하므로, 해당 원료가 「대한약전」에 수재되거나 의약품으로 허가되어 있는 원료라면 식품원료의 한시적 기준 및 규격 인정 대상으로 적합하지 않습니다.

\* 인정 제외 대상 예시 : 예키네시아

## Q4 | 농·축·수산물로부터 분리 정제한 단일 성분도 식품원료의 '한시적 기준 및 규격'으로 인정 신청할 수 있는지요?

- ☞ 농·축·수산물로부터 기능성을 목적으로 분리 정제한 단일 성분은 식품원료의 '한시적 기준 및 규격' 인정 대상으로 적합하지 않습니다.

\* 인정 제외 대상 예시 : 지아잔틴, 레스베라스트롤

## Q5 | 식품원료의 한시적 기준 및 규격 인정 현황은 어디서 확인할 수 있나요?

- ☞ 식품원료의 한시적 기준 및 규격 인정 현황은 식품안전정보포털 식품안전나라(foodsafetykorea.go.kr - 전문정보 - 식품원료 한시적 인정 - 인정현황)에서 확인하실 수 있습니다.

## Q6 | 식품의 기준 및 규격[별표 3] 중 알롤로오스(C000500)의 한시적 기준 및 규격 인정 시 미생물은 무엇인가요?

- ☞ 「식품등의 한시적 기준 및 규격 인정 기준」에 따라 인정된 알롤로오스의 제조 미생물은 *Corynebacterium glutamicum*(FIS002), *Corynebacterium glutamicum*(SYG321-C), *Corynebacterium glutamicum*(DS0001-1)과 「식품의 기준 및 규격」 [별표 3]에 등재된 *Microbacterium foliorum* SYG27B- MF입니다.



식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드

---

(민원인 안내서)



Ministry of Food and Drug Safety

---

National Institute of Food and Drug Safety Evaluation

## **V. 참고문헌**

1. 식품의약품안전처, 「식품의 기준 및 규격」(식약처 고시 제2024-71호, 2024.11.14.)
2. 식품의약품안전처, 「식품첨가물의 기준 및 규격」(식약처 고시 제2024-56호, 2024.10.2.)
3. 식품의약품안전처, 「식품등의 한시적 기준 및 규격」(식약처 고시 제2024-13호, 2024.2.21.)
4. Purty, R. S., & Chatterjee, S. DNA Barcoding: An effective technique in molecular taxonomy. Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering. 2016
5. 식품의약품안전평가원, Next Generation Sequencing 기반 유전자 검사의 이해(심화용). 2020
6. 식품의약품안전평가원, NGS 기반 유전자 검사의 유의성 검증 해설서(NGS 기반 HLA 검사용 알고리즘/소프트웨어의 성능평가 및 검증기준) (민원인안내서). 2022
7. EFSA, Guidance on the scientific requirements for an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283. 2024
8. EFSA, Guidance on the scientific requirements for a notification and application for authorisation of traditional foods from third countries in the context of Regulation (EU) 2015/2283. 2024
9. EFSA, Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms. 2018
10. FSANZ, APPLICATION HANDBOOK. 2024
11. SFA, Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods and Novel Food Ingredients. 2023
12. 식품의약품안전평가원, 건강기능식품 기능성 원료 인정을 위한 제출자료 작성 가이드(민원인 안내서). 2024
13. 식품의약품안전처, 건강기능식품 성상 작성 안내서(민원인 안내서). 2020
14. 식품의약품안전평가원, 건강기능식품 기능성 원료 프로바이오틱스 안전성 평가 가이드(민원인 안내서). 2022
15. 식품의약품안전평가원, 의약품등의 독성시험기준 해설서(민원인 안내서). 2022
16. FDA, Guidance for industry: Estimating Dietary Intake of Substances in Food. 2006
17. 보건복지부, 2020 한국인 영양소 섭취기준 활용. 2022

18. 식품의약품안전평가원, 인체적용제품 위해성평가 공통지침서(공무원 지침서). 2023
19. 질병관리본부. 국민건강영양조사 원시자료 분석지침서(SAS). 2019
20. 질병관리청. 국민건강영양조사 원시자료 이용지침서 제9기 1·2차년도(2022-2023). 2024



## VI. 부록

새로운 식품원료의 안전성 평가에 도움이 될 수 있는 더 많은 정보는 다음의 사이트를 방문하여 확인할 수 있습니다.

### 1. 「식품의 기준 및 규격」

식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) → 법령/자료 → 법령정보 → 고시훈령 예규 → 고시전문 → 식품의 기준 및 규격

### 2. 「식품첨가물의 기준 및 규격」

식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) → 법령/자료 → 법령정보 → 고시훈령 예규 → 고시전문 → 식품첨가물의 기준 및 규격

### 3. 「수입식품등 신고 및 검사에 관한 규정」 [별표 5] 정밀검사 대상 잔류농약 검사항목

식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) → 법령/자료 → 법령정보 → 고시훈령 예규 → 고시전문 → 수입식품 등 신고 및 검사에 관한 규정

### 4. 국내 식품전문 시험·검사기관 지정 현황

식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) → 정책정보 → 시험검사기관 → 시험검사기관 지정현황 → 식품(식품전문, 자가품질위탁검사), 축산물, 위생용품 시험·검사기관 지정 현황

### 5. 국외 시험·검사기관 지정 현황

식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) → 정책정보 → 시험검사기관 → 시험검사기관 지정현황 → 국외시험검사기관 지정 현황

### 6. 국내 GLP 기관 현황

식품의약품안전처 대표 누리집(www.mfds.go.kr) → 알림 → 공고 → 비임상시험기관 지정 현황

### 7. 미국 FDA GRAS 인정 현황

<https://www.hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices>

### 8. 유럽 EFSA novel food 인정 현황

[https://food.ec.europa.eu/food-safety/novel-food/authorisations/union-list-novel-foods\\_en](https://food.ec.europa.eu/food-safety/novel-food/authorisations/union-list-novel-foods_en)

## 식품원료 한시적 기준 및 규격 안전성 평가 가이드(민원인 안내서)

---

발행인	식품의약품안전처 식품의약품안전평가원장 강석연
편집위원장	식품위해평가부장 오금순
편집위원	정형욱, 성준현, 김동규, 성현이, 최수정, 신지은, 신민기, 문명희, 김채영, 여영빈, 하지영, 김건희, 최진, 주한솔
발행일	2025년 7월
발행처	식품위해평가부 신소재식품과
문의처	043-719-2352, 2356, 2357

---