식품의약품안전처 공고 제2018 - 455호

「화장품 안전기준 등에 관한 규정」(식품의약품안전처 고시 제2017-114호, 2017. 12. 29.)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2018년 10월 23일

식품의약품안전처장

화장품 안전기준 등에 관한 규정 일부개정고시(안) 행정예고

1. 개정 이유

위해평가 결과 및 해외 규제동향을 고려하여 화장품에 사용할 수 없는 원료를 신규로 지정하거나 화장품 보존제 성분의 사용제한을 강화하고, 「화학물질의 등록 및 평가에 관한 법률」에 따른 금지물질을 화장품에 사용하는 것을 금지하여 화장품의 안전성을 확보하고 국민건강을 보호하려는 것임. 또한, 유통화장품 안전관리를 위한 메탄올 시험 및 미생물 한도 시험법을 개선하며, 일부 용어를 정비 또는 수정하기 위함.

2. 주요 내용

가. 자체 위해평가 결과 안전역이 확보되지 않은 ‘니트로메탄’, 자체 위해평가 결과 안전역이 확보되지 않고 유럽에서 사용을 금지한

향료성분 3종 등 및 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 제2조제9호 및 제27조에 따라 지정하고 있는 '금지물질'을 화장품에 사용 금지 원료에 추가(안 별표 1, 별표 2)

1) 현행 사용제한(한도 0.3%) 원료이나 자체위해평가 결과 안전역이 확보되지 않은 것으로 평가된 '니트로메탄'을 사용제한 원료 목록(별표 2)에서 삭제하고 사용금지 원료 목록(별표 1)에 추가함.

2) 자체 위해평가 결과 안전역이 확보되지 않은 것으로 평가되고 유럽에서 사용을 금지한(2019. 8. 시행) 향료성분인 '아트라놀', '클로로아트라놀', '하이드록시아이소헥실 3-사이클로헥센 카보스알데히드(HICC)'의 사용을 금지함.

3) 자체 안전성평가를 반영하여 '메칠렌글라이콜'의 사용을 금지함.

4) 「화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 제2조제9호 및 제27조에 따라 제조, 수입, 판매, 보관·저장, 운반 또는 사용을 금지하는 '금지물질'을 사용금지 원료 목록에 추가함.

나. 자체 위해평가 결과 충분한 안전역 확보를 위하여 화장품의 보존제 성분에 대해 사용제한 강화(안 별표 2)

1) 화장품의 보존제로 '4,4-디메칠-1,3-옥사졸리딘(디메칠옥사졸리딘)'의 사용한도를 0.1%에서 0.05%로 변경하고, 'p-클로로-m-크레졸'의 사용한도를 0.2%에서 0.04%로 변경하고, '클로로펜(2-벤질-4-클로로페놀)'의 사용한도를 0.2%에서 0.05%로 변경하며, '프로피오닉애씨드 및 그 염류'의 사용한도를 2%에서 0.9%로 변경함.

2) 화장품 원료(살균·보존제)로 ‘소듐라우로일사코시네이트’는 ‘아민류나 아마이드류를 함유하고 있는 제품’에는 사용금지함.

다. 유통화장품 안전관리 시험방법을 개선함(안 별표 4)

1) 사용금지 성분이지만 비의도적으로 유래할 수 있는 메탄올 시험법의 전처리를 개선하고, 검출시 확인시험으로 질량분석기법을 추가함.

2) 미생물 한도 시험법 중 제형의 특성을 고려한 검체 전처리법 개선하고, 배지 성능 및 시험법 적합성 시험법을 개선함.

라. 용어 정비(안 제4조, 별표 2)

화장품법 제8조의 ‘살균·보존제’가 ‘보존제’로 개정된 사항(개정일 2018. 3. 13. 시행일 2019. 3. 14.) 등을 반영하여 용어 정비

3. 의견 제출

「화장품 안전기준 등에 관한 규정」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2018년 12월 23일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 붙임의 양식에 따라 식품의약품안전처장(우편번호: 28159, 주소: 충북 청주시 오송읍 오송생명로2로 187 오송보건의료행정타운, 참조: 화장품정책과, 전화: 043-719-3405, 팩스: 043-719-3400, 전자우편: yeonhaehan@korea.kr)에게 제출하여 주시기 바랍니다.

가. 예고사항에 대한 항목별 의견(찬·반 여부와 그 이유)

나. 성명(단체의 경우 단체명과 그 대표자의 성명), 전화번호 및 주소

다. 기타 참고사항

식품의약품안전처 고시 제2018- 호

「화장품법」 제8조제1항, 제2항 및 제5항의 규정에 따른 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」(식품의약품안전처 고시 제2017-114호, 2017. 12. 29.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2018년 월 일

식품의약품안전처장

화장품 안전기준 등에 관한 규정 일부개정고시안

화장품 안전기준 등에 관한 규정 일부를 다음과 같이 개정한다.

제4조의 “살균·보존제”를 “보존제”로 한다.

별표 1 중 “2-니트로나프탈렌”과 “니트로벤젠” 사이에 “니트로메탄”을 추가하고 “메칠레소르신”과 “4,4′-메칠렌디아닐린”에 “메칠렌글라이콜”을 추가하고 “아크릴아마이드(다만, 폴리아크릴아마이드류에서 유래되었으며, 사용 후 씻어내지 않는 바디화장품에 0.1ppm, 기타 제품에 0.5ppm 이하인 경우에는 제외)”와 “Atropa belladonna L. 및 그 제제” 사이에 “아트라놀”를 추가하고 “클로로아세트알데히드”과 “6-(2-클로로에칠)-6-(2-메톡시에톡시)-2,5,7,10-테트라옥사-6-실라운데칸” 사이에 “클로로아트라놀”을 추가하고 “5-하이드록시-1,4-벤조디옥산 및 그 염류”와 “N1-(2-하이드록시에칠)-4-니트로-o-페닐렌디아민(에치씨엘로우 No. 5) 및 그 염류” 사이에

“하이드록시아이소헥실 3-사이클로헥센 카보스알데히드(HICC)”을 추가하고 마지막 란 “<삭 제>” 뒤에 “화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 제2조제9호 및 제27조에 따라 지정하고 있는 금지물질”를 추가한다.

별표 2 중 살균·보존제 성분 중 “4,4-디메칠-1,3-옥사졸리딘(디메칠옥사졸리딘)”의 사용한도란에 “0.1%”를 “0.05%”로 한다.

별표 2 중 살균·보존제 성분 중 “소듐라우로일사코시네이트”의 “사용 후 씻어내는 제품에 허용”을 “사용 후 씻어내는 제품에 허용(다만, 아민류나 아마이드류를 함유하고 있는 제품에는 사용금지)”로 한다.

별표 2 중 살균·보존제 성분 중 “p-클로로-m-크레졸”의 사용한도란에 “0.2%”를 “0.04%”로 한다.

별표 2 중 살균·보존제 성분 중 “클로로펜(2-벤질-4-클로로페놀)”의 사용한도란에 “0.2%”를 “0.05%”로 한다.

별표 2 중 살균·보존제 성분 중 “프로피오닉애씨드 및 그 염류”의 사용한도란에 “2%”를 “0.9%”로 한다.

별표 2 중 기타 성분 중 “니트로메탄”을 삭제한다.

별표 2 중 “살균·보존제”를 “보존제”로 한다.

별표 4 중 제8호(메탄올)를 다음과 같이 한다.

8. 메탄올

가) 푹신아황산법

검체 10 mL를 취해 포화염화나트륨용액 10 mL를 넣어 충분히 흔들어 섞고, 대한민국약전 알코올수측정법에 따라 증류하여 유액 12 mL를 얻는다. 이 유액이 백탁이 될 때까지 탄산칼륨을 넣어 분리한 알코올분에 정제수를 넣어 50 mL로 하여 검액으로 한다.

따로 0.1 % 메탄올 1.0 mL에 **에탄올**※ 0.25 mL를 넣고 정제수를 가해 5.0 mL로 하여 표준액으로 한다.

표준액 및 검액 5 mL를 가지고 「기능성화장품 기준 및 시험방법」(식품의약품안전처 고시) **IX. 일반시험법 IX-1.** 원료 "9. 메탄올 및 아세톤시험법" 중 메탄올항에 따라 시험한다.

나) 기체크로마토그래프법

1) 물휴지 외 제품

① 증류법 : 검체 약 10 mL를 정확하게 취해 증류플라스크에 넣고 물 10 mL, 염화나트륨 2 g, 실리콘유 1 방울 및 **에탄올**※ 10 mL를 넣어 초음파로 균질화한 후 증류하여 유액 15 mL를 얻는다.

이 액에 **에탄올**※을 넣어 50 mL로 한 후 여과하여 검액으로 한다.

따로 메탄올 1.0 mL를 정확하게 취해 에탄올을 넣어 정확하게 500 mL로 하고 이 액 1.25 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL를 정확하게 취해 에탄올※을 넣어 50 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다.

② 희석법 : 검체 약 10 mL를 정확하게 취해 **에탄올**※ 10 mL를 넣어 초음파로 균질화하고 에탄올*을 넣어 50 mL로 한 후 여과하여 검액으로 한다.

따로 메탄올 **1.0 mL**를 정확하게 취하여 **에탄올**※을 넣어 정확하게 **500 mL**로 하고 이 액 1.25 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL를 정확하게 취해 **에탄올***을 넣어 50 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다.

③ 기체크로마토그래프 분석 : 검체에 따라 증류법 또는 희석법을 선택하여 전처

리한 후 각각의 표준액과 검액을 가지고 아래 조작조건에 따라 시험한다.

<조작조건>

· 검출기 : 수소염이온화검출기(FID)

· 칼럼 : 안지름 약 0.32 mm, 길이 약 60 m인 용융실리카 모세관 내부에 기체크로마토그래프용 폴리에칠렌글리콜 왁스를 0.5 μm의 두께로 코팅한다.

· 칼럼 온도 : 50 ℃에서 5 분 동안 유지한 다음 150 ℃까지 매분 10 ℃씩 상승시킨 후 150 ℃에서 2 분 동안 유지한다.

· 검출기 온도 : 240 ℃

· 시료주입부 온도 : 200 ℃

· 운반기체 및 유량 : 질소 1.0 mL/분

※ 에탄올은 메탄올이 함유되지 않은것을 확인하고 사용한다.

2) 물휴지

검체 적당량을 압착하여 용액을 분리하고 이 액 약 3 mL를 정확하게 취해 검액으로 한다. 따로 메탄올 표준품 0.5 mL를 정확하게 취해 물을 넣어 정확하게 500 mL로 한다. 이 액 0.3 mL, 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 100 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다.

각각의 표준액과 검액을 가지고 기체크로마토그래프-헤드스페이스법으로 다음 조작조건에 따라 시험한다.

<조작조건>

· 기체크로마토그래프는 '1) 물휴지 외 제품' 조작조건과 동일하게 조작한다. 다만, 스플리트비는 1:10으로 한다.

· 헤드스페이스 장치

- 바이알 용량 : 20 mL

- 주입량(루프) : 1 mL

- 바이알 평형 온도 : 70 ℃

- 루프 온도 : 80 ℃

- 주입라인 온도 : 90 ℃

- 바이알 평형 시간 : 10 분

- 바이알 퍼지 시간 : 0.5 분

- 루프 채움 시간 : 0.5 분

- 루프 평형 시간 : 0.1 분

- 주입 시간 : 0.5 분

다) 기체크로마토그래프-질량분석기법

검체(물휴지는 검체 적당량을 압착하여 용액을 분리하여 사용) 약 1 mL을 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 메탄올 표준품 약 0.1 mL를 정확하게 취해 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액(1000 μL/L)으로 한다. 이 액 0.3 mL, 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다.

각각의 표준액과 검액 약 3 mL를 정확하게 취해 헤드스페이스용 바이알에 넣고 기체크로마토그래프-헤드스페이스법으로 다음 조작조건에 따라 시험한다. 필요하면 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

<조작조건>

· 검출기 : 질량분석기

- 인터페이스 온도 : 230 ℃

- 이온소스 온도 : 230 ℃

- 스캔범위 : 30～200 amu

- 질량분석기모드 : 선택이온모드 (31, 32)

· 헤드스페이스 장치

- 주입량(루프) : 1 mL

- 바이알 평형 온도 : 90 ℃

- 루프 온도 : 130 ℃

- 주입라인 온도 : 120 ℃

- 바이알 퍼지압력 : 20 psi

- 바이알 평형 시간 : 30 분

- 바이알 퍼지 시간 : 0.5 분

- 루프 채움 시간 : 0.3 분

- 루프 평형 시간 : 0.05 분

- 주입 시간 : 1 분

· 칼럼 : 안지름 약 0.32 mm, 길이 약 60 m인 용융실리카 모세관 내부에 기체크로마토그래프용 폴리에칠렌글리콜 왁스를 0.5 μm의 두께로 코팅한다.

· 칼럼 온도 : 50 ℃에서 10 분 동안 유지한 다음 230 ℃까지 매분 15 ℃씩 상승시킨 다음 230 ℃에서 3 분간 유지한다.

· 운반 기체 및 유량 : 헬륨, 1.5 mL/분

· 분리비(split ratio) : 약 1:10

별표 4 중 제11호(미생물 한도)를 다음과 같이 한다.

11. 미생물 한도

일반적으로 다음의 시험법을 사용한다. 다만, 본 시험법 외에도 미생물 검출을 위한 자동화 장비와 미생물 동정기기 및 키트 등을 사용할 수도 있다.

1) 검체의 전처리

검체조작은 무균조건하에서 실시하여야 하며, 검체는 충분하게 무작위로 선별하여 그 내용물을 혼합하고 검체 제형에 따라 다음의 각 방법으로 검체를 희석, 용해, 부유 또는 현탁시킨다. 아래에 기재한 어느 방법도 만족할 수 없을 때에는 적절한 다른 방법을 확립한다.

가) 액제·로션제 : 검체 1 mL(g)에 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지나 희석액 9 mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다.

나) 크림제·오일제 : 검체 1 mL(g)에 적당한 분산제 1mL를 넣어 균질화 시키고 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지나 희석액 8 mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다. **분산제만으로 균질화가 되지 않는 경우 검체에 적당량의 지용성 용매를 첨가하여 용해한 뒤 적당한 분산제 1 mL를 넣어 균질화 시킨다.**

다) 파우더 및 고형제 : 검체 1g에 적당한 분산제를 1mL를 넣고 충분히 균질화 시킨

후 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지 및 희석액 8mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다. 분산제만으로 균질화가 되지 않을 경우 **적당량의 지용성 용매를 첨가한 상태에서 멸균된 마쇄기를 이용하여 검체를 잘게 부수어 반죽 형태로 만든 뒤 적당한 분산제 1 mL를 넣어 균질화 시킨다. 추가적으로** 40℃에서 30분 동안 가온한 후 멸균한 유리구슬(5 mm: 5~7개, 3 mm: 10~15개)을 넣어 균질화 시킨다.

주1) 분산제는 멸균한 폴리소르베이트 80 등을 사용할 수 있으며, 미생물의 생육에 대하여 영향이 없는 것 또는 영향이 없는 농도이어야 한다.

주2) 검액 조제시 총 호기성 생균수 시험법의 **배지성능 및 시험법 적합성** 시험을 통하여 검증된 배지나 희석액 **및 중화제**를 사용할 수 있다.

주3) 지용성 용매는 멸균한 미네랄 오일 등을 사용할 수 있으며, 미생물의 생육에 대하여 영향이 없는 것이어야 한다. 첨가량은 대상 검체 특성에 맞게 설정하여야 하며, 미생물의 생육에 대하여 영향이 없어야 한다.

2) 총 호기성 생균수 시험법

총 호기성 생균수 시험법은 화장품 중 총 호기성 생균(세균 및 진균)수를 측정하는 시험방법이다.

가) 검액의 조제

1)항에 따라 검액을 조제한다.

나) 배지

총 호기성 세균수시험은 변형레틴한천배지 또는 대두카제인소화**한**천배지를 사용하고 진균수시험은 항생물질 첨가 포테이토 덱스트로즈 한천배지 또는 항생물질 첨가 사브로포도당한천배지를 사용한다. 위의 배지 이외에 **배지성능 및 시험법 적합성 시험**을 통하여 검증된 다른 미생물 검출용 배지도 사용할 수 있고, 세균의 혼입이 없다고 예상된 때나 세균의 혼입이 있어도 눈으로 판별이 가능하면 항생물질을 첨가하지 않을 수 있다.

변형레틴액체배지 (Modified letheen broth)

육제펩톤	20.0 g
카제인의 판크레아틴 소화물	5.0 g
효모엑스	2.0 g
육엑스	5.0 g
염화나트륨	5.0 g
폴리소르베이트 80	5.0 g
레시틴	0.7 g
아황산수소나트륨	0.1 g

정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 멸균후의 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다.

변형레틴한천배지(Modified letheen agar)

프로테오즈 펩톤	10.0 g
카제인의 판크레아틱소화물	10.0 g
효모엑스	2.0 g
육엑스	3.0 g
염화나트륨	5.0 g
포도당	1.0 g
폴리소르베이트 80	7.0 g
레시틴	1.0 g
아황산수소나트륨	0.1 g
한천	20.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 멸균후의 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다.

대두카제인소화한천배지(Tryptic soy agar)

카제인제 펩톤	15.0 g
대두제 펩톤	5.0 g
염화나트륨	5.0 g
한천	15.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 멸균후의 pH가 7.2 ± 0.1이 되도록 조정하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다.

항생물질첨가 포테이토덱스트로즈한천배지(Potato dextrose agar)

감자침출물	200.0 g
포도당	20.0 g
한천	15.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다. 사용하기 전에 1 L당 40 mg의 염산테트라사이클린을 멸균배지에 첨가하고 10 % 주석산 용액을 넣어 pH**를 5.6 ± 0.2 로 조정하거나, 세균 혼입의 문제가 있는 경우 3.5 ± 0.1로 조정할 수 있다. 200.0 g의 감자침출물 대신 4.0 g의 감자추출물이 사용될 수 있다.**

항생물질첨가사부로포도당한천배지(Sabouraud dextrose agar)

육제 또는 카제인제 펩톤	10.0 g
포도당	40.0 g
한천	15.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균한 다음의 pH가 5.6 ± 0.2이 되도록 조정한다. 쓸 때 배지 1000 mL당 벤질페니실린칼륨 0.10 g과 테트라사이클린 0.10 g을 멸균용액으로서 넣거나 배지 1000 mL당 클로람페니콜 50 mg을 넣는다.

다) 조작

(1) 세균수 시험 ㉮ **한천평판도말법** 직경 9 ~ 10 cm 페트리 접시내에 미리 굳힌 세균시험용 배지 표면에 전처리 검액 0.1 mL 이상 도말한다.

㉯ **한천평판희석법** 검액 1 mL를 같은 크기의 페트리접시에 넣고 그 위에 멸균 후 45 ℃로 식힌 15 mL의 세균시험용 배지를 넣어 잘 혼합한다.

검체당 최소 2개의 평판을 준비하고 30~35 ℃에서 적어도 48시간 배양하는데 이때 최대 균집락수를 갖는 평판을 사용하되 평판당 300개 이하의 균집락을 최대치로 하여 총 세균수를 측정한다.

(2) 진균수 시험 : '(1) 세균수 시험'에 따라 시험을 실시하되 배지는 진균수시험용 배지를 사용하여 배양온도 20~25 ℃에서 적어도 5일간 배양한 후 100 개 이하의 균집락이 나타나는 평판을 세어 총 진균수를 측정한다.

라) 배지성능 및 시험법 적합성시험

시판배지는 배치마다 시험하며, 조제한 배지는 조제한 배치마다 시험한다. 검체의 유·무하에서 총 호기성 생균수시험법에 따라 제조된 검액·대조액에 표 1.에 기재된 시험균주를 각각 100cfu 이하가 되도록 접종하여 규정된 총호기성생균수시험법에 따라 배양할 때 검액에서 회수한 균수가 대조액에서 회수한 균수의 1/2 이상이어야 한다. 검체 중 보존제 등의 항균활성으로 인해 증식이 저해되는 경우(검액에서 회수한 균수가 대조액에서 회수한 균수의 1/2 미만인 경우)에는 결과의 유효성을 확보하기 위하여 총 호기성 생균수 시험법을 변경해야 한다. 항균활성을 중화하기 위하여 희석 및 중화제(표2.)를 사용할 수 있다. 또한, 시험에 사용된 배지 및 희석액 또는 시험 조작상의 무균상태를 확인하기 위하여 완충식염펩톤수(pH 7.0)를 대조로 하여 총호기성 생균수시험을 실시할 때 미생물의 성장이 나타나서는 안 된다.

표 1. 총 호기성 생균수 배지성능시험용 균주 및 배양조건

시험균주		배양
Escherichia coli	ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP53.126, NBRC 3972 또는 KCTC 2571	호기배양 30 ~ 35 ℃ 48시간
Bacillus subtilis	ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62, NBRC 3134 또는 KCTC 1021	
Staphylococcus aureus	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NRRC 13276 또는 KCTC 3881	
Candida albicans	ATCC 10231, NCPF 3179, IP48.72, NBRC1594 또는 KCTC 7965	호기배양 20 ~ 25 ℃ 5일

표 2. 항균활성에 대한 중화제

화장품 중 미생물 발육저지물질	항균성을 중화시킬 수 있는 중화제
페놀 화합물 : 파라벤, 페녹시에탄올,페닐에탄올 등 아닐리드	레시틴, 폴리소르베이트 80, 지방알코올의 에틸렌 옥사이드축합물(condensate), 비이온성 계면활성제
4급 암모늄 화합물, 양이온성 계면활성제	레시틴, 사포닌, 폴리소르베이트 80, 도데실 황산나트륨, 지방 알코올의에틸렌 옥사이드 축합물
알데하이드, 포름알데히드-유리 제제	글리신, 히스티딘
산화(oxidizing) 화합물	치오황산나트륨
이소치아졸리논, 이미다졸	레시틴, 사포닌, 아민, 황산염, 메르캅탄, 아황산수소나트륨, 치오글리콜산나트륨
비구아니드	레시틴, 사포닌, 폴리소르베이트 80
금속염(Cu, Zn, Hg), 유기-수은 화합물	아황산수소나트륨, L-시스테인-SH 화합물(sulfhydryl compounds), 치오글리콜산

3) 특정세균시험법

가) 대장균 시험

(1) 검액의 조제 및 조작 : 검체 1 g 또는 1 mL을 유당액체배지를 사용하여 10 mL로 하여 30~35 ℃에서 24~72시간 배양한다. 배양액을 가볍게 흔든 다음 백금이 등으로 취하여 맥콘키한천배지위에 도말하고 30~35 ℃에서 18~24시간 배양한다. 주위에 적색의 침강선띠를 갖는 적갈색의 그람음성균의 집락이 검출되지 않으면 대장균 음성으로 판정한다. 위의 특정을 나타내는 집락이 검출되는 경우에는 에오신메칠렌블루한천배지에서 각각의 집락을 도말하고 30~35 ℃에서 18~24시간 배양한다. 에오신메칠렌블루한천배지에서 금속 광택을 나타내는 집락 또는 투과광선하에서 흑청색을 나타내는 집락이 검출되면 백금이등으로 취하여 발효시험관이 든 유당액체배지에 넣어 44.3~44.7 ℃의 항온수조 중에서 22~26시간 배양한다. 가스발생이 나타나는 경우에는 대장균 양성으로 의심하고 동정시험으로 확인한다.

(2) 배지

유당액체배지

육엑스	3.0 g
젤라틴의 판크레아틴 소화물	5.0 g
유당	5.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15~20 분간 고압증기멸균한다. 멸균 후의 pH가 6.9~7.1이 되도록 하고 가능한 한 빨리 식힌다.

에오신메칠렌블루한천배지(EMB한천배지)

젤라틴의 판크레아틴 소화물	10.0 g
인산일수소칼륨	2.0 g
유당	10.0 g
한천	15.0 g
에오신	0.4 g
메칠렌블루	0.065 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수 1 L에 녹여 121 ℃에서 15~20 분간 고압증기 멸균한다. 멸균 후의 pH가 6.9~7.3이 되도록 한다.

맥콘키한천배지

젤라틴의 판크레아틴 소화물	17.0 g
카제인의 판크레아틴 소화물	1.5 g
육제 펩톤	1.5 g
유당	10.0 g
데옥시콜레이트나트륨	1.5 g
염화나트륨	5.0 g
한천	13.5 g
뉴트럴렛	0.03 g
염화메칠로자닐린	1.0 mg
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수 1 L에 녹여 1분간 끓인 다음 121 ℃에서 15~20 분간 고압증기 멸균한다. 멸균 후의 pH가 6.9~7.3이 되도록 한다.

나) 녹농균시험

(1) 검액의 조제 및 조작 : 검체 1 g 또는 1 mL를 달아 카제인대두소화액체배지를 사용하여 10 mL로 하고 30~35 ℃에서 24~48시간 증균 배양한다. 증식이 나타나는 경우는 백금이 등으로 세트리미드한천배지 또는 엔에이씨한천배지에 도말하여 30~35 ℃에서 24~48시간 배양한다. 미생물의 증식이 관찰되지 않는 경우 녹농균 음성으로 판정한다. 그람음성간균으로 녹색 형광물질을 나타내는 집락을 확인하는 경우에는 증균배양액을 녹농균 한천배지 P 및 F에 도말하여 30~35 ℃에서 24~72시간 배양한다. 그람음성간균으로 플루오레세인 검출용 녹농균 한천배지 F의 집락을 자외선하에서 관찰하여 황색의 집락이 나타나고, 피오시아닌 검출용 녹농균 한천배지 P의 집락을 자외선하에서 관찰하여 청색의 집락이 검출되면 옥시다제시험을 실시한다. 옥시다제반응 양성인 경우 5~10초 이내에 보라색이 나타나고 10초 후에도 색의 변화가 없는 경우 녹농균 음성으로 판정한다. 옥시다제반응 양성인 경우에는 녹농균 양성으로 의심하고 동정시험으로 확인한다.

(2) 배지

카제인대두소화액체배지

카제인 판크레아틴 소화물	17.0 g
대두파파인소화물	3.0 g
염화나트륨	5.0 g
인산일수소칼륨	2.5 g
포도당일수화물	2.5 g

이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 멸균후의 pH가 7.3 ± 0.2가 되도록 조정하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다.

세트리미드한천배지(Cetrimide agar)

젤라틴제 펩톤	20.0 g
염화마그네슘	3.0 g
황산칼륨	10.0 g
세트리미드	0.3 g
글리세린	10.0 mL
한천	13.6 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹이고 글리세린을 넣어 1 L로 한다. 121 ℃에서 15분간 고압증기멸균하고 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다.

엔에이씨한천배지(NAC agar)

펩톤	20.0 g
인산수소이칼륨	0.3 g
황산마그네슘	0.2 g
세트리미드	0.2 g
날리딕산	15 mg
한천	15.0 g
정제수	1000 mL

최종 pH는 7.4 ± 0.2이며 멸균하지 않고 가온하여 녹인다.

플루오레세인 검출용 녹농균 한천배지 F (Pseudomonas agar F for detection of fluorescein)

카제인제 펩톤	10.0 g
육제 펩톤	10.0 g
인산일수소칼륨	1.5 g
황산마그네슘	1.5 g
글리세린	10.0 mL
한천	15.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹이고 글리세린을 넣어 1 L로 한다. 121 ℃에서 15분간 고압증기멸균하고 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다.

피오시아닌 검출용 녹농균 한천배지 P (Pseudomonas agar P for detection of pyocyanin)

젤라틴의 판크레아틴 소화물	20.0 g
염화마그네슘	1.4 g
황산칼륨	10.0 g
글리세린	10.0 mL
한천	15.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 정제수에 녹이고 글리세린을 넣어 1 L로 한다. 121 ℃에서 15분간 고압증기멸균하고 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다.

다) 황색포도상구균 시험

(1) 검액의 조제 및 조작 : 검체 1 g 또는 1 mL를 달아 카제인대두소화액체배지를 사용하여 10 mL로 하고 30~35 ℃에서 24~48시간 증균 배양한다. 증균배양액을 보겔존슨한천배지 또는 베어드파카한천배지에 이식하여 30~35 ℃에서 24시간 배양하여 균의 집락이 검정색이고 집락주위에 황색투명대가 형성되며 그람염색법에 따라 염색하여 검경한 결과 그람 양성균으로 나타나면 응고효소시험을 실시한다. 응고효소시험 음성인 경우 황색포도상구균 음성으로 판정하고, 양성인 경우에는 황색포도상구균 양성으로 의심하고 동정시험으로 확인한다.

(2) 배지

보겔존슨한천배지(Vogel-Johnson agar)

카제인의 판크레아틴 소화물	10.0 g
효모엑스	5.0 g
만니톨	10.0 g
인산일수소칼륨	5.0 g
염화리튬	5.0 g
글리신	10.0 g
페놀렛	25.0 mg
한천	16.0 g
정제수	1000 mL

이상을 달아 1분동안 가열하여 자주 흔들어 준다. 121 ℃에서 15분간 고압멸균하고 45~50 ℃로 냉각시킨다. 멸균 후 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정하고 멸균한 1 %(w/v) 텔루린산칼륨 20 mL를 넣는다.

베어드파카한천배지(Baird-Parker agar)

카제인제 펩톤	10.0 g
육엑스	5.0 g
효모엑스	1.0 g
염화리튬	5.0 g
글리신	12.0 g
피루브산나트륨	10.0 g
한천	20.0 g
정제수	950 mL

이상을 섞어 때때로 세게 흔들며 섞으면서 가열하고 1분간 끓인다. 121 ℃에서 15분간 고압멸균하고 45~50 ℃로 냉각시킨다. 멸균한 다음의 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다. 여기에 멸균한 아텔루산칼륨용액 1 %(w/v) 10 mL와 난황유탁액 50 mL를 넣고 가만히 섞은 다음 페트리접시에 붓는다. 난황유탁액은 난황 약 30 %, 생리식염액 약 70 %의 비율로 섞어 만든다.

라) 배지성능 및 시험법 적합성시험

검체의 유·무 하에서 각각 규정된 특정세균시험법에 따라 제조된 검액·대조액에 표 3.에 기재된 시험균주 100cfu를 개별적으로 접종하여 시험할 때 접종균 각각에 대하여 양성으로 나타나야 한다. 증식이 저해되는 경우 항균활성을 중화하기 위하여 희석 및 중화제(2)-라)항의 표2.)를 사용할 수 있다.

표 3. 특정세균 배지성능시험용 균주

Escherichia coli (대장균)	ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP53.126, NBRC 3972 또는 KCTC 2571
Pseudomonas aeruginosa (녹농균)	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275 또는 KCTC 2513
Staphylococcus aureus (황색포도상구균)	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NRRC 13276 또는 KCTC 3881

별표 4 중 Ⅰ. 일반화장품 13. pH 시험법 중 “Ⅵ. 일반시험법 Ⅵ-1. 원료의 “47. pH측정법”에 따라 시험한다.”를 “Ⅸ. 일반시험법 Ⅸ-1. 원료의 “47. pH측정법”에 따라 시험한다.”로 한다.

부칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시 후 6개월이 경과한 날부터 시행한다. 다만, 제4조의 개정규정 및 별표 2의 개정규정 중 ‘살균·보존제’를 ‘보존제’로 개정하는 사항은 2019년 3월 14일부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 고시 시행 후 화장품 제조업자 및 제조판매업자가 제조(위탁제조를 포함한다) 또는 수입(통관일을 기준으로 한다)한 화장품

부터 적용한다.

제3조(경과조치) 이 고시 시행 전에 종전 규정에 따라 제조 또는 수입된 화장품은 고시 시행일로부터 2년이 경과한 날까지만 판매하거나 판매의 목적으로 진열 또는 보관할 수 있다.

신·구조문 대비표

<table>
<tr><th>현 행</th><th>개 정 안</th></tr>
<tr><td>[별표 1] 사용할 수 없는 원료</td><td>[별표 1] 사용할 수 없는 원료</td></tr>
<tr><td>(신설)
(신설)
(신설)
(신설)
(신설)

(신설)</td><td>니트로메탄
메칠렌글라이콜
아트라놀
클로로아트라놀
하이드록시아이소헥실 3-사이클로헥센 카보스 알데히드(HICC)
화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률」 제2조제9호 및 제27조에 따라 지정하고 있는 금지물질</td></tr>
<tr><td>[별표 2] 사용상의 제한이 필요한 원료

* 살균·보존제 성분
<table>
<tr><th>원료명</th><th>사용한도</th><th>비 고</th></tr>
<tr><td>(생략)</td><td>(생략)</td><td>(생략)</td></tr>
<tr><td>4,4-디메칠-1,3-옥사졸리딘(디메칠옥사졸리딘)</td><td>0.1%
(다만, 제품의 pH는 6을 넘어야 함)</td><td></td></tr>
<tr><td>(생략)</td><td>(생략)</td><td>(생략)</td></tr>
<tr><td>소듐라우로일사코시네이트</td><td>사용 후 씻어내는 제품에 허용</td><td>기타 제품에는 사용금지</td></tr>
<tr><td>(생략)</td><td>(생략)</td><td>(생략)</td></tr>
<tr><td>p-클로로-m-크레졸</td><td>0.2%</td><td>점막에 사용되는 제품에는 사용금지</td></tr>
<tr><td>(생략)</td><td>(생략)</td><td>(생략)</td></tr>
<tr><td>클로로펜(2-벤질-4-</td><td>0.2%</td><td></td></tr>
</table></td><td>[별표 2] 사용상의 제한이 필요한 원료

* 보존제 성분
<table>
<tr><th>원료명</th><th>사용한도</th><th>비 고</th></tr>
<tr><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td></tr>
<tr><td>4,4-디메칠-1,3-옥사졸리딘(디메칠옥사졸리딘)</td><td>0.05%
(다만, 제품의 pH는 6을 넘어야 함)</td><td></td></tr>
<tr><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td></tr>
<tr><td>소듐라우로일사코시네이트</td><td>사용 후 씻어내는 제품에 허용(다만, 아민류나 아마이드류를 함유하고 있는 제품에는 사용금지)</td><td>기타 제품에는 사용금지</td></tr>
<tr><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td></tr>
<tr><td>p-클로로-m-크레졸</td><td>0.04%</td><td>점막에 사용되는 제품에는 사용금지</td></tr>
<tr><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td><td>(현행과 같음)</td></tr>
<tr><td>클로로펜(2-벤질-4-클</td><td>0.05%</td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

현 행	개 정 안

원료명	사용한도	비 고
클로로페놀)		
(생략)	(생략)	(생략)
프로피오닉애씨드 및 그 염류	프로피오닉애씨드로서 2%	
(생략)	(생략)	(생략)

*** 기타 성분**

원료명	사용한도	비 고
(생략)	(생략)	(생략)
니트로메탄	0.3%	
(생략)	(생략)	(생략)

[별표 4] 유통화장품 안전관리 시험방법

1. ~ 7. (생략)

8. 메탄올

가) 푹신아황산법 : 검체 10 mL를 취하여 포화염화나트륨용액 10 mL 넣어 충분히 흔들어 섞고, 대한민국 약전 알코올수측정법에 따라 증류하여 유액 12 mL를 얻는다. 이 유액이 백탁이 될 때까지 탄산칼륨을 넣어 분리한 알코올분에 정제수를 넣어 50 mL로 한 것을 검액으로 한다. 따로 0.1 % 메탄올 1.0 mL에 메탄올을 함유하지 않은 에탄올 0.25 mL를 넣고 정제수를 가해 5.0 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 메탄올 표준액 5 mL를 취하여 「기능성화장품 기준 및 시험방법」(식품의약품안전처 고시) Ⅵ. 일반시험법 Ⅵ-1. 원료의 "9. 메탄올 및 아세톤시험법" 중 메탄올항에 따라 시험한다.

원료명	사용한도	비 고
로로페놀)		
(현행과 같음)	(현행과 같음)	(현행과 같음)
프로피오닉애씨드 및 그 염류	프로피오닉애씨드로서 0.9%	
(현행과 같음)	(현행과 같음)	(현행과 같음)

*** 기타 성분**

원료명	사용한도	비 고
(현행과 같음)	(현행과 같음)	(현행과 같음)
<삭제>	<삭제>	
(현행과 같음)	(현행과 같음)	(현행과 같음)

[별표 4] 유통화장품 안전관리 시험방법

1. ~ 7. (현행과 같음)

8. 메탄올

가) 푹신아황산법 : 검체 10 mL를 취해 포화염화나트륨용액 10 mL를 넣어 충분히 흔들어 섞고, 대한민국약전 알코올수측정법에 따라 증류하여 유액 12 mL를 얻는다. 이 유액이 백탁이 될 때까지 탄산칼륨을 넣어 분리한 알코올분에 정제수를 넣어 50 mL로 하여 검액으로 한다.

따로 0.1 % 메탄올 1.0 mL에 **에탄올*** 0.25 mL를 넣고 정제수를 가해 5.0 mL로 하여 표준액으로 한다.

표준액 및 검액 5 mL를 가지고 「기능성화장품 기준 및 시험방법」(식품의약품안전처 고시) **Ⅸ. 일반시험법 Ⅸ-1.** 원료 "9. 메탄올 및 아세톤시험법" 중 메탄올항에 따라 시험한다.

현 행	개 정 안
나) 기체크로마토그래프법 1) 물휴지 외 제품 ① 증류법 : 검체 약 10 mL를 정확하게 취해 증류플라스크에 넣어 물 10 mL, 염화나트륨 2 g, 실리콘유 1 방울 및 메탄올을 함유하지 않은 에탄올 10 mL를 넣어 초음파로 균질화하고 증류하여 유액 15 mL를 얻는다. 이 액에 메탄올을 함유하지 않은 에탄올을 넣어 50 mL로 하여 여과한 것을 검액으로 한다. 따로 메탄올 2.0 mL를 정확하게 취하여 에탄올을 넣어 정확하게 1 L로 하고 이 액 1.25 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL 각각 정확하게 취하여 메탄올을 함유하지 않은 에탄올을 넣어 50 mL로 한 액을 각각의 표준액으로 한다. 각각의 표준액과 검액을 가지고 다음의 조작조건에 따라 시험한다.	나) 기체크로마토그래프법 1) 물휴지 외 제품 ① 증류법 : 검체 약 10 mL를 정확하게 취해 증류플라스크에 넣고 물 10 mL, 염화나트륨 2 g, 실리콘유 1 방울 및 **에탄올※** 10 mL를 넣어 초음파로 균질화한 후 증류하여 유액 15 mL를 얻는다. 이 액에 **에탄올※**을 넣어 50 mL로 한 후 여과하여 검액으로 한다. 따로 메탄올 **1.0 mL**를 정확하게 취해 에탄올을 넣어 정확하게 **500 mL**로 하고 이 액 1.25 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL를 정확하게 취해 **에탄올※**을 넣어 50 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다. **(삭제)**
② 희석법 : 검체 약 10 mL를 정확하게 취해 메탄올을 함유하지 않은 에탄올을 10 mL를 넣어 초음파로 균질화 하고 메탄올 함유하지 않은 에탄올을 넣어 50 mL로 한 후 여과한 것을 검액으로 한다. 따로 메탄올 2.0 mL를 정확하게 취하여 에탄올을 넣어 정확하게 1 L로 하고 이 액 1.25 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL 각각 정확하게 취하여 메탄올을 함유하지 않은 에탄올을 넣어 50 mL로 한 액을 각각의 표준액으로 한다. 각각의 표준액과 검액을 가지고 다음의 조작 조건에 따라 시험한다.	② 희석법 : 검체 약 10 mL를 정확하게 취해 **에탄올※** 10 mL를 넣어 초음파로 균질화하고 **에탄올※**을 넣어 50 mL로 한 후 여과하여 검액으로 한다. 따로 메탄올 **1.0 mL**를 정확하게 취하여 에탄올을 넣어 정확하게 **500 mL**로 하고 이 액 1.25 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL를 정확하게 취해 **에탄올※**을 넣어 50 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다. **(삭제)**
③ 검체의 유형에 따라 증류법 또는 희석법 어느 것을 선택할 수 있다.	③ **기체크로마토그래프 분석 : 검체에 따라 증류법 또는 희석법을 선택하여 전처리**

현 행	개 정 안
	한 후 각각의 표준액과 검액을 가지고 아래 조작조건에 따라 시험한다.
<조작조건> ・검출기 : 수소염이온화검출기(FID) ・칼 럼 : 안지름 0.32 mm, 길이 약 30 m인 관에 폴리에틸렌글리콜을 0.5 ㎛ 두께로 피복한다. 이와 동등한 것을 사용할 수 있다. ・칼럼온도 : 50 ℃에서 5 분 동안 유지한 다음 150 ℃까지 매분 10 ℃씩 상승시킨 다음 2 분 동안 이 온도를 유지한다. ・검출기 온도 : 240 ℃ ・시료주입부 온도 : 200 ℃ ・운반기체 및 유량 : 질소 1.0 mL/분	<조작조건> ・검출기 : 수소염이온화검출기(FID) **・칼럼 : 안지름 약 0.32 mm, 길이 약 60 m인 용융실리카 모세관 내부에 기체크로마토그래프용 폴리에칠렌글리콜 왁스를 0.5 μm의 두께로 코팅한다.** ・칼럼 온도 : 50 ℃에서 5 분 동안 유지한 0 다음 150 ℃까지 매분 10 ℃씩 상승시킨 **후 150 ℃에서 2 분 동안 유지한다.** ・검출기 온도 : 240 ℃ ・시료주입부 온도 : 200 ℃ ・운반기체 및 유량 : 질소 1.0 mL/분 **※ 에탄올은 메탄올이 함유되지 않은 것을 확인하고 사용한다.**
2) 물휴지 검체 약 3 mL를 정확하게 취해 검액으로 한다. 따로 메탄올 표준품 1.0 mL을 정확하게 취해 물을 넣어 정확하게 1.0 L로 하고 이 액 각각 0.3 mL, 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다. 각각의 검액과 표준액을 가지고 기체크로마토그래프-헤드스페이스법으로 다음 조작조건에 따라 시험한다.	2) 물휴지 **검체 적당량을 압착하여 용액을 분리하고 이 액 약 3 mL**를 정확하게 취해 검액으로 한다. 따로 메탄올 표준품 **0.5 mL**를 정확하게 취해 물을 넣어 정확하게 **500 mL**로 한다. 이 액 0.3 mL, 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 100 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다. **각각의 표준액과 검액을 가지고 기체크로마토그래프-헤드스페이스법으로 다음 조작조건에 따라 시험한다.**
(생략)	(생략)
다) <신설>	**다) 기체크로마토그래프-질량분석기법** **검체(물휴지는 검체 적당량을 압착하여 용**

현 행	개 정 안
	액을 분리하여 사용) 약 1 mL을 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 메탄올 표준품 약 0.1 mL를 정확하게 취해 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액 (1000 μL/L)으로 한다. 이 액 0.3 mL, 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 4 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 각각의 표준액으로 한다. 각각의 표준액과 검액 약 3 mL를 정확하게 취해 헤드스페이스용 바이알에 넣고 기체크로마토그래프-헤드스페이스법으로 다음 조작조건에 따라 시험한다. 필요하면 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다. <조작조건> · 검출기 : 질량분석기 - 인터페이스 온도 : 230 ℃ - 이온소스 온도 : 230 ℃ - 스캔범위 : 30~200 amu - 질량분석기모드 : 선택이온모드 (31, 32) · 헤드스페이스 장치 - 주입량(루프) : 1 mL - 바이알 평형 온도 : 90 ℃ - 루프 온도 : 130 ℃ - 주입라인 온도 : 120 ℃ - 바이알 퍼지압력 : 20 psi - 바이알 평형 시간 : 30 분 - 바이알 퍼지 시간 : 0.5 분 - 루프 채움 시간 : 0.3 분 - 루프 평형 시간 : 0.05 분 - 주입 시간 : 1 분 · 칼럼 : 안지름 약 0.32 mm, 길이 약 60

현 행	개 정 안
	m인 용융실리카 모세관 내부에 기체크로마토그래프용 폴리에칠렌글리콜 왁스를 0.5 μm의 두께로 코팅한다. · 칼럼 온도 : 50 ℃에서 10 분 동안 유지한 다음 230 ℃까지 매분 15 ℃씩 상승시킨 다음 230 ℃에서 3 분간 유지한다. · 운반 기체 및 유량 : 헬륨, 1.5 mL/분 · 분리비(split ratio) : 약 1:10
11. 미생물 한도	11. 미생물 한도
1) 검체의 전처리	1) 검체의 전처리
나) 크림제·오일제 : 검체 1 mL(g)에 적당한 분산제 1mL를 넣어 균질화 시키고 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지나 희석액 8 mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다.	나) 크림제·오일제 : 검체 1 mL(g)에 적당한 분산제 1mL를 넣어 균질화 시키고 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지나 희석액 8 mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다. 분산제만으로 균질화가 되지 않는 경우 검체에 적당량의 지용성 용매를 첨가하여 용해한 뒤 적당한 분산제 1 mL를 넣어 균질화 시킨다.
다) 파우더 및 고형제 : 검체 1g에 적당한 분산제를 1mL를 넣고 충분히 균질화 시킨 후 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지 및 희석액 8mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다. 분산제만으로 균질화가 되지 않을 경우 40℃에서 30분 동안 가온한 후 멸균한 유리구슬(5mm: 5~7개, 3mm: 10~15)을 넣어 균질화 시킨다.	다) 파우더 및 고형제 : 검체 1g에 적당한 분산제를 1mL를 넣고 충분히 균질화 시킨 후 변형레틴액체배지 또는 검증된 배지 및 희석액 8mL를 넣어 10배 희석액을 만들고 희석이 더 필요할 때에는 같은 희석액으로 조제한다. 분산제만으로 균질화가 되지 않을 경우 적당량의 지용성 용매를 첨가한 상태에서 멸균된 마쇄기를 이용하여 검체를 잘게 부수어 반죽 형태로 만든 뒤 적당한 분산제 1 mL를 넣어 균질화 시킨다. 추가적으로 40℃에서 30분 동안 가온한 후 멸균한 유리구슬(5 mm: 5~7개, 3 mm: 10~15개)을 넣어 균질화 시킨다.

현 행	개 정 안
주2) 검액 조제시 총 호기성 생균수 시험법의 배지의 적합성시험과 미생물 발육저지물질의 확인 시험을 통하여 검증된 배지나 희석액을 사용할 수 있다.	주2) 검액 조제시 총 호기성 생균수 시험법의 배지성능 및 시험법 적합성 시험을 통하여 검증된 배지나 희석액 및 중화제를 사용할 수 있다.
주3) <신설>	주3) 지용성 용매는 멸균한 미네랄 오일 등을 사용할 수 있으며, 미생물의 생육에 대하여 영향이 없는 것이어야 한다. 첨가량은 대상 검체 특성에 맞게 설정하여야 하며, 미생물의 생육에 대하여 영향이 없어야 한다.
2) 총 호기성 생균수 시험법 (생략)	**2) 총 호기성 생균수 시험법** (생략)
나) 배지 총 호기성 세균수시험은 변형레틴한천배지 또는 대두카제인소화안천배지를 사용하고 진균수시험은 항생물질 첨가 포테이토 덱스트로즈 한천배지 또는 항생물질 첨가 사브로포도당한천배지를 사용한다. 위의 배지 이외에 배지의 적합성 및 시험결과의 타당성 시험을 통하여 검증된 다른 미생물 검출용 배지도 사용할 수 있고, 세균의 혼입이 없다고 예상된 때나 세균의 혼입이 있어도 눈으로 판별이 가능하면 항생물질을 첨가하지 않을 수 있다.	나) 배지 총 호기성 세균수시험은 변형레틴한천배지 또는 대두카제인소화한천배지를 사용하고 진균수시험은 항생물질 첨가 포테이토 덱스트로즈 한천배지 또는 항생물질 첨가 사브로포도당한천배지를 사용한다. 위의 배지 이외에 배지성능 및 시험법 적합성 시험을 통하여 검증된 다른 미생물 검출용 배지도 사용할 수 있고, 세균의 혼입이 없다고 예상된 때나 세균의 혼입이 있어도 눈으로 판별이 가능하면 항생물질을 첨가하지 않을 수 있다.
항생물질첨가 포테이토덱스트로즈한천배지 (Potato dextrose agar) 감자침출물 200.0 g 포도당 20.0 g 한천 15.0 g 정제수 1000 mL 이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다. 사용하기 전에 1 L당 40 mg의 염산테트라사이클린을 멸균배지에 첨가하고 10 % 주석산용액을 넣어 pH가 3.5	**항생물질첨가 포테이토덱스트로즈한천배지 (Potato dextrose agar)** 감자침출물 200.0 g 포도당 20.0 g 한천 15.0 g 정제수 1000 mL 이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균 한다. 사용하기 전에 1 L당 40 mg의 염산테트라사이클린을 멸균배지에 첨가하고 10 % 주석산용액을 넣어 pH를 5.6 ±

현 행	개 정 안
± 0.1로 조정한다.	0.2 로 조정하거나, 세균 혼입의 문제가 있는 경우 3.5 ± 0.1로 조정할 수 있다. 200.0 g의 감자 침출물 대신 4.0 g의 감자추출물이 사용될 수 있다.
항생물질첨가사부로포도당한천배지(Sabouraud dextrose agar) 육제 또는 카제인제 펩톤 10.0 g 포도당 20.0 g 한천 15.0 g 정제수 1000 mL 이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균한 다음의 pH가 5.6 ± 0.2이 되도록 조정한다. 쓸 때 배지 1000 mL당 벤질페니실린칼륨 0.10 g과 테트라사이클린 0.10 g을 멸균용액으로서 넣거나 배지 1000 mL당 클로람페니콜 50 mg을 넣는다.	**항 생 물 질 첨 가 사 부 로 포 도 당 한 천 배 지 (Sabouraud dextrose agar)** 육제 또는 카제인제 펩톤 10.0 g 포도당 40.0 g 한천 15.0 g 정제수 1000 mL 이상을 달아 정제수에 녹여 1 L로 하고 121 ℃에서 15분간 고압멸균한 다음의 pH가 5.6 ± 0.2이 되도록 조정한다. 쓸 때 배지 1000 mL당 벤질페니실린칼륨 0.10 g과 테트라사이클린 0.10 g을 멸균용액으로서 넣거나 배지 1000 mL당 클로람페니콜 50 mg을 넣는다.
라) 배지성능시험, 마) 시험법 적합성시험	라) 배지성능 및 시험법 적합성시험
(생략)	시판배지는 배치마다 시험하며, 조제한 배지는 조제한 배치마다 시험한다. 검체의 유·무하에서 총 호기성 생균수시험법에 따라 제조된 검액·대조액에 표 1.에 기재된 시험균주를 각각 100cfu 이하가 되도록 접종하여 규정된 총호기성생균수시험법에 따라 배양할 때 검액에서 회수한 균수가 대조액에서 회수한 균수의 1/2 이상이어야 한다. 검체 중 보존제 등의 항균활성으로 인해 증식이 저해되는 경우(검액에서 회수한 균수가 대조액에서 회수한 균수의 1/2 미만인 경우)에는 결과의 유효성을 확보하기 위하여 총 호기성 생균수시험법을 변경해야 한다. 항균활성을 중화하기 위하여 희석 및 중화제(표 2.)를 사용할 수 있다. 또한, 시험에 사용된 배지 및 희석액 또는 시험 조작상의 무균상태를

현 행	개 정 안
	확인하기 위하여 완충식염펩톤수(pH 7.0)를 대조로 하여 총호기성 생균수시험을 실시할 때 미생물의 성장이 나타나서는 안 된다.
3) 특정세균시험법 (생략) 나) 녹농균시험 (2) 배지 **피오시아닌 검출용 녹농균 한천배지 P (Pseudomonas agar P for detection of pyocyanin)** 젤라틴의 판크레아틴 소화물 20.0 g 염화마그네슘 3.0 g 황산칼륨 10.0 g 글리세린 10.0 mL 한천 15.0 g 정제수 1000 mL 이상을 달아 정제수에 녹이고 글리세린을 넣어 1 L로 한다. 121 ℃에서 15분간 고압증기멸균하고 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다. 다) 황색포도상구균 시험 (2) 배지 **보겔존슨한천배지(Vogel-Johnson agar)** 카제인의 판크레아틴 소화물 10.0 g 효모엑스 5.0 g 만니톨 10.0 g 인산일수소칼륨 5.0 g 염화리튬 5.0 g 글리신 10.0 g 페놀렛 25.0 mg 한천 16.0 g 정제수 950 mL	**3) 특정세균시험법** (생략) 나) 녹농균시험 (2) 배지 **피오시아닌 검출용 녹농균 한천배지 P (Pseudomonas agar P for detection of pyocyanin)** 젤라틴의 판크레아틴 소화물 20.0 g 염화마그네슘 1.4 g 황산칼륨 10.0 g 글리세린 10.0 mL 한천 15.0 g 정제수 1000 mL 이상을 달아 정제수에 녹이고 글리세린을 넣어 1 L로 한다. 121 ℃에서 15분간 고압증기멸균하고 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다. 다) 황색포도상구균 시험 (2) 배지 **보겔존슨한천배지(Vogel-Johnson agar)** 카제인의 판크레아틴 소화물 10.0 g 효모엑스 5.0 g 만니톨 10.0 g 인산일수소칼륨 5.0 g 염화리튬 5.0 g 글리신 10.0 g 페놀렛 25.0 mg 한천 16.0 g 정제수 1000 mL

현 행	개 정 안
이상을 달아 1 분동안 가열하여 자주 흔들어 준다. 121 ℃에서 15 분간 고압멸균하고 45~50 ℃로 냉각시킨다. 멸균 후 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정하고 멸균한 1 %(w/v) 텔루린산칼륨 20 mL를 넣는다.	이상을 달아 1 분동안 가열하여 자주 흔들어 준다. 121 ℃에서 15 분간 고압멸균하고 45~50 ℃로 냉각시킨다. 멸균 후 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정하고 멸균한 1 %(w/v) 텔루린산칼륨 20 mL를 넣는다.
베어드파카한천배지(Baird-Parker agar) 카제인제 펩톤 10.0 g 육엑스 5.0 g 효모엑스 1.0 g 염화리튬 5.0 g 글리신 12.0 g 피루브산나트륨 10.0 g 한천 20.0 g 정제수 950 mL 이상을 섞어 때때로 세게 흔들며 섞으면서 가열하고 1분간 끓인다. 121 ℃에서 15 분간 고압멸균하고 45~50 ℃로 냉각시킨다. 멸균한 다음의 pH가 6.8 ± 0.2가 되도록 조정한다. 여기에 멸균한 아텔루산칼륨용액 1 %(w/v) 10 mL와 난황유탁액 50 mL를 넣고 가만히 섞은 다음 페트리접시에 붓는다. 난황유탁액은 난황 약 30 %, 생리식염액 약 70 %의 비율로 섞어 만든다.	**베어드파카한천배지(Baird-Parker agar)** 카제인제 펩톤 10.0 g 육엑스 5.0 g 효모엑스 1.0 g 염화리튬 5.0 g 글리신 12.0 g 피루브산나트륨 10.0 g 한천 20.0 g 정제수 950 mL 이상을 섞어 때때로 세게 흔들며 섞으면서 가열하고 1분간 끓인다. 121 ℃에서 15 분간 고압멸균하고 45~50 ℃로 냉각시킨다. 멸균한 다음의 pH가 7.2 ± 0.2가 되도록 조정한다. 여기에 멸균한 아텔루산칼륨용액 1 %(w/v) 10 mL와 난황유탁액 50 mL를 넣고 가만히 섞은 다음 페트리접시에 붓는다. 난황유탁액은 난황 약 30 %, 생리식염액 약 70 %의 비율로 섞어 만든다.
라) 배지성능 및 시험법 적합성시험 표3.에 따라 시험균주를 각 배지에 약 100cfu를 개별적으로 접종하여 규정된 조건에서 배양하였을 때 충분한 증식 및 적절한 특성이 확인되어야 한다. 또한 검액의 유·무 하에서 각각 특정세균시험법에 따라 시험할 때 접종균 각각에 대하여 양성으로 나타나야 한다. 증식이 저해되는 경우 2)-마)항에 따라 항균활성을 중화시킨다.	라) 배지성능 및 시험법 적합성시험 검체의 유·무 하에서 각각 규정된 특정세균시험법에 따라 제조된 검액·대조액에 표 3.에 기재된 시험균주 100cfu를 개별적으로 접종하여 시험할 때 접종균 각각에 대하여 양성으로 나타나야 한다. 증식이 저해되는 경우 항균활성을 중화하기 위하여 희석 및 중화제(2)-라)항의 표2.)를 사용할 수 있다.

현 행	개 정 안
13. pH 시험법 13. pH 시험법 검체 약 2 g 또는 2 mL를 취하여 100 mL 비이커에 넣고 물 30 mL를 넣어 수욕상에서 가온하여 지방분을 녹이고 흔들어 섞은 다음 냉장고에서 지방분을 응결시켜 여과한다. 이때 지방층과 물층이 분리되지 않을 때는 그대로 사용한다. 여액을 가지고 「기능성화장품 기준 및 시험방법」(식품의약품안전처 고시) Ⅵ. 일반시험법 Ⅵ-1. 원료의 “47. pH측정법”에 따라 시험한다. 다만, 성상에 따라 투명한 액상인 경우에는 그대로 측정한다.	13. pH 시험법 13. pH 시험법 ---------- Ⅸ. 일반시험법 Ⅸ-1. 원료의 ----------.