



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2022년 2월
교육학석사(영양교육)학위논문

시판 락토스프리 및 글루텐프리 식품의 함량분석

조선대학교 교육대학원

영양교육전공

이 승 연

시판 락토스프리 및 글루텐프리 식품의 함량분석

Analysis of Lactose Free and Gluten Free Foods in
South Korean Market

2022년 2월

조선대학교 교육대학원

영양교육전공

이 승 연

시판 락토스프리 및 글루텐프리 식품의 함량분석

지도교수 김 경 수

이 논문을 교육학석사(영양교육)학위 청구논문으로
제출함.

2021년 10월

조선대학교 교육대학원

영양교육전공

이 승 연

이승연의 교육학 석사학위 논문을 인준함.

위원장	조선대학교 교수	김 복 희 (인)
위 원	조선대학교 교수	이 재 준 (인)
위 원	조선대학교 교수	김 경 수 (인)

2021년 12월

조선대학교 교육대학원

목 차

ABSTRACT	V
제 1 장 서 론	1
제 1 절 락토스프리 식품	1
제 2 절 글루텐프리 식품	7
제 3 절 연구목적	17
제 2 장 재료 및 방법	18
제 1 절 락토스프리 식품 중 락토오스 분석	18
1. 시료 및 시약	18
2. 락토오스 분석방법	20
가. 락토오스 분석을 위한 전처리	20
나. 락토오스 분석을 위한 HPLC 조건	21
3. 유효성 검증(Method validation)	23
4. 락토오스의 정성 및 정량 분석	25
제 2 절 글루텐프리 식품 중 글루텐 분석	26
1. 시료 및 시약	26
2. 글루텐 분석 방법	29
가. Gluten Tox. Pro를 이용한 분석 방법	29
나. Agrastrip gluten G12를 이용한 분석 방법	31
다. Gliadin ELISA kit를 이용한 분석 방법	32

제 3 장 결과 및 고찰	34
제 1 절 락토스프리 식품 분석 결과	34
1. HPLC 분석 결과	34
2. 유효성 검증(Method validation) 결과	35
3. 정성 및 정량 분석 결과	37
제 2 절 글루텐프리 식품 분석 결과	40
1. Gluten Tox. Pro를 이용한 분석 결과	40
2. Agrastrip gluten G12를 이용한 분석 결과	41
3. Gliadin ELISA kit를 이용한 분석 결과	42
 제 4 장 요약	 44
 참고문헌	 46

표 목 차

Table 1. Korean standard quality for lactose free milk	4
Table 2. International standard for lactose free dairy products	4
Table 3. International standard for gluten free food	10
Table 4. Korean standard quality for gluten free food	12
Table 5. Range of gluten free food certification	12
Table 6. Sample of normal and lactose free milk	19
Table 7. HPLC-RID conditions for analysis of lactose	22
Table 8. Sample of gluten free food	27
Table 9. Sample details for gluten free analysis	30
Table 10. Validation result for lactose analysis	36
Table 11. Lactose content of Lactose free milk and normal milk	39
Table 12. Quantitative analysis of gluten free good using ELIZA kit	43

그림 목 차

Fig 1. Gluten free food market size by countrywise (Top 5 countries)	14
Fig 2. Schematic diagram of lactose analysis using HPLC-RID	20
Fig 3. Kit type used for gluten analysis	28
Fig 4. Schematic diagram of gluten kit analysis using Gluten Tox. Pro	30
Fig 5. Schematic diagram of gluten kit analysis using Agrastrip gluten G12	31
Fig 6. Schematic diagram of gluten kit analysis using Gliadin ELISA kit	33
Fig 7. HPLC chromatogram of lactose standard	34
Fig 8. Lactose calibration curve by HPLC-RID analysis	36
Fig 9. Chromatogram of lactose standard and sample	38
Fig 10. Gluten free food analysis using Gluten Tox. Pro kit	40
Fig 11. Gluten free food analysis using Agrastrip gluten G12 kit	41

ABSTRACT

Analysis of Lactose Free and Gluten Free Foods in South Korean Market

Lee, Seung Yeon

Advisor : Prof. Kim, Kyong Su, Ph.D.

Major in Nutrition Education

Graduate School of Education, Chosun University

The consumption of gluten free foods and lactose free food has significantly increased over the last 30 years. Lactose free food to prevent lactose intolerance, a disease that causes abdominal bloating, abdominal pain, and diarrhea due to the inability to digest lactose in milk. The gluten free food are treated gluten, an insoluble protein present in cereals. It is a food to prevent celiac disease, an allergic disease in which symptoms such as indigestion or abdominal pain appear because there is no enzyme.

For the lactose analysis, the commercially available lactose free milk (4 samples) and normal milk (10 samples) were purchased from the different markets. The lactose component was analyzed by HPLC-RID instrument. The lactose standard was used in this analysis. As a result of comparative analysis with the analyzed sample, lactose was confirmed at 11.90 minutes of retention time (RT). All analysis lactose free samples were showed the below detection limit. On the other hand, normal milk lactose was detected an average of 6.29%.

For the analysis of gluten free food, a total of 33 samples were collected from the Korea Food Research Institute, whereas the gluten containing food was

purchased from the market for comparison analysis. Two kits (GlutenTox. Pro and Agrastrip-Gluten G12) were used for qualitative analysis and one kit (Gliadin ELISA) was used for quantitative analysis. As a result of the gluten content was not detected in 33 gluten free food from the Korea Food Research Institute, whereas, gluten content was detected in gluten containing foods from the market. From Gliadin ELISA kit, all were found to be less than the limit of quantitation and the limit of quantification at this time was less than 5mg/kg.

Finally, in this study, a secured database was prepared through the analysis of distribution products between lactose free food and gluten free food. These results can be used as background data for preparing Korean Standard.

제 1 장 서 론

제 1절 락토스프리 식품

유당은 갈락토오스(galactose)와 포도당(glucose)이 결합한 이당류로 모든 포유동물의 유즙에 5% 정도 함유되어 있으며(Huh, 2018), 유당분해효소 락테이스(lactase)에 의해 가수분해 되어 에너지원이나 혈당으로 이용되고, 유아의 뇌조직 성분 및 당지질 합성에도 관여한다. 유당이 많이 함유되어 있는 식품 중 대표적으로 우유 및 유제품은 칼슘, 인산, 단백질, 칼륨 및 비타민 B₂ 등 다양한 영양소를 골고루 함유하여 특히 성장기 어린이들에게 영양학적으로 우수하다(Yoon, 2009). 유당은 소장에서 락테이스에 의해 분해, 흡수되어 우리 몸에서 이로운 작용을 할 수 있으나, 락테이스 결핍으로 유당의 흡수와 분해가 충분치 않으면 쉽게 소화되지 않아 불편함을 겪게 된다(Huh, 2018).

이런 상태를 유당불내증이라고 하며, 선천성질환으로 중증 가족성 유당불내증(Durand)형이 있고 유전성 유당분해효소 결손증(Alactasia, Holzel)형이 있다. 전 세계 75%의 인구가 유전적으로 유당을 소화해내는 데 어려움이 있으며(Yoon, 2009), 미국의 경우 코카서스인 15%. 멕시코계 미국인 53%, 아시아계 미국인 90%, 아메리카 원주민 62~100% 및 아프리카계 미국인 80% 정도가 유당불내증을 갖고 있는 것으로 보고되었다(Yoon, 2009). 유당분해효소가 결핍된 사람들이 우유를 마시게 되면 소화되지 못한 유당이 대장 내에 농도가 높아져 삼투압 현상으로 인해 수분이 빠져 수분과잉이 되고, 맹장 내의 미생물대에 의하여 발효되어 탄산가스를 발생시켜 장을 자극하게 되면서 불쾌감을 주게 된다. 유당불내증의 주요 증상으로는 유당을 섭취 후 경험하게 되는 복통, 설사, 방귀 및 고장 등과 같은 불쾌한 증상들을 말하며, 소장에서 대장까지 흡수되지 않은 유당이 삼투성 설사와 복통을 일으키거나, 대장 내 세균으로 인해 유당이 발효되면서 생성된 H₂, CH₄, CO₂ 등과 같은 가스에 의해 배가 부글부글하는 증상이 생기는 것이다(Moon et al., 1999). 유당분해를 하지 못하는 사람들의

유일한 치료 방법으로는 유당이 없는 음식을 섭취하는 것이다. 그러나 유당이 없는 음식을 평생 섭취하게 되면 영양 불균형을 초래하기도 한다. 이러한 증상을 가진 사람들을 위해 유당이 없는 유제품은 급속하게 주류화되고 있고 유당불내증을 가진 사람들을 위한 다양한 제품들로 개발, 판매되고 있는 실정이다(Chon et al., 2020).

2012년 우유 유통 매출액은 약 1조 8,095억 원으로 나타났으며, 비중으로는 할인점, 편의점, 체인슈퍼 순으로 고르게 분포된 판매 형태를 나타내고 있다. 유가공업체에서 생산된 우유는 직판, 대리점, vendor를 통해 소매처로 납품되고 있으며, 대형마트나 학교급식, 가정배달, 편의점 및 기타 할인점으로도 유통되고 있다. 식습관의 변화와 웰빙 트렌드의 확산으로 인해 저지방, 무지방, 락토스프리 제품의 성장세가 일반 흰우유 대비 높은 것으로 나타났으며, 향후 더 상승할 것으로 예상된다(aT한국농수산식품유통공사, 2013). 특히, 소비자들 중에 유당불내증에 대한 인식이 높아지면서 설탕 감소 또는 무첨가 제품에 대한 수요도 증가하게 되며 유당이 제거된 제품 산업이 주도적으로 성장할 것으로 예측된다. 우리나라의 우유 시장은 서울우유, 남양유업, 매일유업, 빙그레 4개 사가 전체 소매 시장의 약 80%를 차지하며, 서울우유가 36.2%로 1위를 차지하였다. 국내 락토스프리 우유 시장은 2017년 약 167억원으로 전년 대비 79% 증가하였으며, 매일유업에서 유통되는 ‘소화가 잘되는 우유’는 시장 점유율 97.7%로 압도적인 1위를 기록하였다(아시아투데이 2018). 또한 현재 유통되고 있는 락토스프리 우유제품으로 남양유업의 ‘맛있는 우유 GT’가 뒤를 이었다.

국내에서 유당이 제거된 락토스프리 제품은 식품위생법상 유당 분해우유의 규격(식약처 고시 제 2018-60)과 식품 등의 표시기준(식약처 고시 제 2018-58)에 규정하고 있어 최소한의 법적 기반만 마련되어 있는 실정이며, 업계의 활용측면이나 소비자의 이해에 있어 정보가 부족한 실정이다. 이에 맞서 농림부에서는 국민의 삶의 질을 높이고 시장의 활성화를 위해 락토스프리 한국산업표준(KS)안을 마련한 상태이다(농림축산식품부, 2018). 또한, 개발방향으로 락토스프리 유제품 표준 예고 고시(안)을 보면 유당(lactose)에 민감한 소비자의 식이편이를 위해 유제품 내

적정수준의 유당함량 기준 및 측정방법을 포함한 한국산업표준(KS)을 제정하여 보급하였다. 유당불내증 환자와 같이 유당 소화에 장애가 있는 사람들에게 유제품 선택의 도움을 주기 위해 최종 제품 내 유당 함량을 0.5% 이하로 제품에 규정 및 표시하도록 하였다(농림축산식품부, 2018)(Table 1). 또한 국외 국가별 표기 기준 및 규격이 설정되어 있다(Table 2).

Table 1. Korean standard quality for lactose free milk

항목	기준
성상	유백색 ~ 황색 액체로서 이미 및 이취가 없어야 한다.
유당(%)	0.5 이하

출처 : 산업표준심의회. 락토스프리 유제품 예정 고시 (2018년 10월 25일)

Table 2. International standard for lactose free dairy products

국가	기관	대상	규격
미국	FDA	유가공품	Lactose free : 불검출 Lactose reduced : 유의미한 감소
유럽	EFSA	유아용조유	Lactose free : $\leq 10\text{mg}/100 \text{ kcal}$ Low lactose content : $\leq 0.5\text{g}/100\text{g}$ 또는 100mL
	EC		
일본	CAA	특수용도식품	불검출
호주	FSANZ	특수용도식품	Lactose free : 불검출 Low Lactose : $\leq 2\text{g}/100\text{g}$
인도	BIS	특수용도식품	불검출

출처 : 산업표준심의회. 락토스프리 유제품 예정 고시 (2018년 10월 25일)

식품공전상 식품유형 분류에 따르면 유당분해우유는 ‘원유의 유당을 제거 또는 분해한 것으로 이에 무기질, 비타민을 강화하여 멸균 또는 살균 처리한 것을 말한다. 유당 함량은 1% 이하로 설정하였으며, 제품상의 표기는 ‘유당분해’, ‘락토스프리’, ‘소화가 잘되는’ 등으로 다양하다. 또한 조제분유 및 조제유에서 유당이 제거 또는 저하된 제품은 ‘특수용도식품’으로 분류되고, 알레르기가 있는 영·유아 등을 대상으로 유단백질을 가수분해함에 따라 유당에 제거 또는 저하된 경우 ‘유당의 함량을 조정된 문구가 사용되나, 식품공전상 특수용도식품의 유당에 대한 규격이 포함되어있지 않고, KS 품질 규격 기준에 명시되어 있다. 또한, 락토스프리 제품에 대해서 제품 상의 유당표기가 다양하다는 점에서 표기의 일치가 필요하며, 식약처에서 제안하는 ‘저’, ‘무’와 같은 용어사용과 구분이 되어야 한다. 또한 무유당 또는 원래 유당이 들어 있지 않은 제품에 대해 락토스프리 표기는 지양되어야 한다.

소비자들의 입맛과 취향이 다양해지면서 유당이 없는 유제품의 가능성과 그 이점(요구르트에 설탕첨가를 감소하거나 아이스크림의 모래화 방지) 등을 결합하면서 유제품의 영양적인 면을 인식하게 되면 유제품의 시장유통과 판매가 활발해질 것으로 예상된다(Chon et al., 2020). 유당이 없는 유제품은 신상품으로 변창할 수 있는 기회가 확대되고, 수익성이 높은 시장임을 국내 낙농업자들이 인지하고 있어야 한다. 따라서 여러 가지 조건들을 고려하여 경제적으로 저렴하면서 영양가 있고 유당이 없는 제품을 개발할 필요성이 요구된다. 유당을 함유하고 있는 원료를 제외하고, 제품의 허용가능한 색상 및 일관성, 제품의 라벨 및 안전표시, 제품의 영양품질 개선, 우유 공급원의 대체 선택 등으로 유당불내증이 있는 사람들이 더더욱 건강해 지도록 제품을 개발하는데 도움이 될 것으로 사료된다. 유제품 산업에 있어 유당이 없는 제품은 전통적인 유제품에 비해 소비자들을 끌어들일 수 있고, 이러한 제품들은 전체 유제품 시장을 확대할 수 있는 가능성을 제공할 것으로 보인다(Chon et al., 2020).

현재 락토스프리 제품에 대한 연구들로 Yang(2014)은 유당불내증의 완화작용으로 유산균과 같은 발효식품의 특유 풍미와 우수한 보존성에 대해 언급하였고, Kim(2013)은 유당불내증의 문제를 보완하기 위해 젓산 발효의 연구를 진행한 바 있다.

또한 유당 가수분해 효소인 β -galactosidase를 이용한 공정은 상업적으로 널리 쓰이며, 유당을 제거한 우유의 가공식품이나 유당분해효소결핍증(lactose intolerance)을 가지고 있는 사람들을 위하여 유당이 감소된 우유의 제조 등에 사용되고 있다(Kang, 2011). 또한 유제품의 유당을 정량화하기 위해 여러 가지 절차들이 보고되고 있지만, 공식적인 분석방법은 효소 분석법 및 크로마토그래피 법에 근거하고 있는 실정이다. 서로 다른 수준의 유당을 함유한 UHT 우유 샘플에서 유당없는 우유를 분석하기 위해 효소측정과 HPLC-RI법의 부적절성을 강조한 바 있으며(Chon et al., 2020), 포물레이트 인덕트를 이용한 LC-MS/MS 방법이 개발되어 높은 정밀도와 반복성으로 모든 우유의 유당 정량화가 가능하다(Chon et al., 2020).

제 2절 글루텐프리 식품

서구화로 인한 우리나라의 식생활은 쌀의 섭취량이 줄면서 상대적으로 밀의 섭취량이 증가하였다. 우리나라에서도 글루텐프리 식품의 섭취가 건강에 있어서 긍정적인 영향을 주는 식품으로 인식되어 있어, 향후 건강을 위해 글루텐프리 식품을 구매하는 소비자들이 많을 것으로 예상되고 있다(Chang, 2018).

글루텐이란 밀, 귀리, 보리 등에 함유되어 있는 글리아딘(gliadin)과 글루테닌(glutenin)이 결합되어 만들어지는 성분으로 물에 용해되지도 않고 풀어지지도 않는 성질을 가지고 있는 단백질의 일종으로(Biesiekierski, 2017), 소맥분 가공에 있어서 단백질 구조와 함께 물성 형성과 식감에 중요한 역할을 한다(Kang, 2010). 물과 밀가루를 혼합하면 글리아딘과 글루테닌이 결합해 글루텐을 형성하는데 글리아딘은 신장성과 점성을 지니고 글루테닌은 탄력성을 가진다. 하지만 글루텐 그 자체만으로도 소화가 잘 안되고 면역계, 피부, 체력, 관절, 치아 및 신경계를 비롯하여 기분과 행동까지 악영향을 받게 한다(Yoon, 2017).

셀리악병은 밀가루 단백질의 글루텐 성분이 소장 점막 세포에 염증을 일으키고 용모가 손상되면서 아토피 등의 피부질환과 흡수장애를 일으키는 것으로 알려져 있다(Lionetti et al, 2015). 셀리악병의 원인으로 곡물에 함유된 글루텐이 원인으로 밝혀지면서 글루텐을 제거한 글루텐프리 식품의 대해 연구가 확대되고 있다(Lee & Lim, 2013). 글루텐 알레르기의 하나인 셀리악병은 밀가루의 글루텐 성분중에서 글리아딘에 의해 나타나는 자가 면역성 질환으로 밀가루 음식을 섭취하고 난 후 소화장애를 호소하는 사람들이 상당수 많으며, 이는 잠재적인 셀리악병이나 글루텐 소화불능 장애를 보유하고 있는 사람들이 많다는 것을 의미한다. 또한 소화장애 외에도 주로 구토, 만성설사, 복부팽만 등의 염증반응을 일으킨다(Kang, 2010). 대부분 유전적인 요소가 크며, 어려서부터 이 질병에 걸린 사람이 밀 또는 보리를 통해 글루텐을 섭취하게 되면서 글루텐 알러지가 생기게 된다(Kang, 2010). 셀리악병의 발병 가능성 및 국내 소비자들의 건강과 다이어트에 좋다는 인식이 생기면서

국내에서도 글루텐프리 제품에 대해 관심이 증가되고 있으며, 지난 몇 년간 셀리아병 환자와 비셀리아 글루텐민감증(non-celiac gluten sensitivity, 이하 NCGS)의 인식이 증가하면서, 진단받는 인구 또한 증가하는 추세이다(한국농수산식품유통공사, 2016). 현재까지 국내에서 셀리아 환자수나 유병률에 대한 공식적인 자료는 발표된 바 없으나, 셀리아병은 유전적 인종 간의 차이로 북미지역 및 유럽이 아시아보다 발병률이 높다고 여겨져 왔고 최근에는 유적인 요소만이 아닌 민족 간의 이동과 밀의 소비증가로 인해 영향을 받는다는 연구결과가 발표되고 있다. Cummins and Roberts-Thomson(2009) 및 Cataldo and Montalto(2007) 논문에 의하면 쌀 위주 식단에서 밀 함유량이 많은 서구 식단으로 변화되면서 셀리아병의 발병 가능성이 높아질거라 제시하였고, 이에 따라 인도, 중국, 아시아 지역 및 국내에서의 발병률 또한 높아질 것으로 예상하였다.

식품은 과거에 단지 배고픔과 생존을 해결하는 수단이었지만, 현재는 개인의 건강증진과 더불어 정서적인 만족에도 중요한 요소로 자리하고 있다. 그 중 글루텐프리 식품은 글루텐이 신체에 민감하거나 글루텐을 분해하지 못하는 셀리아병 환자 및 특정 소비자를 대상으로 글루텐 성분이 없는 식품을 말한다(Jung et al, 2017). 글루텐프리 식품의 기준은 국가별로 약간의 차이가 있으나 일반적으로 제조과정에 있어 글루텐프리 전분을 사용하여 글루텐 성분 함량을 일정 수준 이하로 낮춘 식품으로 정의하고 있다(Jin & Kim, 2015). 글루텐프리 식품은 엽산, 비타민 B₁₂, 식이섬유소 칼슘, 마그네슘, 아연 등의 미량영양소가 부족하여, 포화지방산과 높은 칼로리, 다량의 단순당으로 glycemic index 증가 우려가 있다(Vici et al, 2016). 글루텐프리 제품이 영양학적 요소가 부족하다는 이러한 연구 결과들이 발표되면서 소비자들의 요구는 영양학적 균형이 잘 갖추어진 제품에 증가하는 추세이다. 또한 단점을 보완하기 위해서 현재 제조업체들은 영양학적 요소 및 제품의 품질에 중점을 두고 제품 개발을 진행하고 있다(Yoon et al, 2015). 또한, 글루텐프리 식품의 수요를 보면 글루텐 알러지 환자들의 요구에 의한 것뿐 아니라 건강한 사람들도 글루텐 섭취를 줄임으로써 감소, 우울증 예방 및 염증 감소 등 건강을 향상시킬 수 있다고 보고되고 있다(농림축산식품부, 2018).

Food and Agriculture Organization(FAO) 및 World Health Organization(WHO)에서는 글루텐프리 기준을 200ppm 이하로 설정하였으며, 글루텐프리 표기를 시행하는 미국, 유럽, 캐나다 및 한국의 경우, 표기 기준을 글루텐함량 ≤ 20 ppm으로 설정하였다(Lee & Lim, 2013). 글루텐프리 표기에 대해서는 라벨이나 크기, 위치 등에 규정이 없어 자유롭게 표기할 수 있으며, 대부분 국가들이 일부 인구에서 발생되고 있는 글루텐의 알레르기 반응 문제를 예방하고자 자발적인 글루텐프리 표기를 시행하고 있다. 미국 식품의약국(FDA)에서 2013년 8월부터 1년간 식품업체가 글루텐프리 표시제를 자발적으로 준수하도록 유예기간을 제공하고 2014년 8월부터 의무적으로 적용하는 글루텐프리 통합기준을 제시하였다. 글루텐 함량이 20ppm 이하일 때 글루텐프리 표기를 허용하고 판매자나 생산자는 ‘free of gluten’ ‘gluten free’, ‘no gluten’ ‘without gluten’으로 표시할 수 있다(Jin & Kim, 2015). 유럽의 EU 회원국은 일반적으로 EU의 라벨링 규정을 따르는 것으로 조사되고 있다(한국농수산식품유통공사, 2016). 호주는 3 ppm 이하로 엄격한 기준을 제시하고 있고, 우리나라의 경우, 미국과 캐나다와 같은 유사한 규정으로 시행되고 있다(Hahm et al, 2019)(Table 3).

Table 3. International standard for gluten free food

	한국	미국	캐나다	유럽	일본	호주
자율/의무여부	자발적	자발적	자발적	자발적	자발적	자발적
법령	식품위생법 제10, 11조 『식품 등의 표시기준』	FDA 21 CFR 101.91	FDR 24	Regulation 828/2014	쌀가루 제품의 보급을 위한 표시 지침	Standard 1.2.7, Schedule 1
시행일자	2011년 11월	2012년 8월	2012년 8월	2009년 1월	2017년 3월	2016년 3월
글루텐 포함 곡물	밀, 호밀, 보리, 귀리 및 이들의 교배종	밀, 호밀, 보리 및 이들의 교배종	밀, 호밀, 보리, 귀리 및 이들의 교배종	밀, 호밀, 보리 및 이들의 교배종	밀, 호밀, 귀리 및 이들의 교배종	밀, 호밀 등 글루텐 검출 곡식 및 귀리와 맥아 제품
글루텐 프리 표시기준	20 mg/kg 이하	20 mg/kg 이하	20 mg/kg 이하	20 mg/kg 이하	1 mg/kg	3 mg/kg 이하
기타	Low/Very Low Gluten에 대한 규정 없음	허용 한계치를 넘지 않는 모든 식품 대상	Low/Very Low Gluten에 대한 규정 없음	극저글루텐(Very Low Gluten) 표준을 100ppm 이하로 별도 규정	국제 기준보다 더 엄격한 기준을 사용하고 있음을 강조하기 위해 non-gluten 용어 사용	Low gluten 표준을 200 ppm 이하로 별도 규정
유의사항	미국의 경우 의도적으로 글루텐 포함 재료를 가공하여 함량을 감소시킨 경우에만 표기가 가능하나 유럽의 경우 글루텐이 들어있지 않으면 “글루텐프리” 표기 가능					

출처 : 산업표준심의회. 글루텐프리 유제품 예정 고시 (2018년 10월 25일)

글루텐프리 식품의 품질은 Table 4의 기준에 적합하여야 하며, 국내 표시
 기분으로는 글루텐 함량이 20mg/kg 이하인 제품은 무글루텐(Gluten-free)의 표시를 할
 수 있고, 공고된 국내표시 기준에는 미국의 경우와 같이 귀리를 글루텐 곡물에서
 제외하고 있다. 글루텐프리 인증 및 제외 범위는 국가별로 차이를 보이고 있다.
 가공식품의 경우 대부분이 인증대상으로 간주되나, 알코올과 유아용 식품은 글루텐
 표시를 제외하는 것이 일반적이다(Table 5). 글루텐 기준 함량 표시는 미국, 유럽,
 캐나다 및 대부분의 나라에서 20 mg/kg 이하로 정의하고 있으나 호주, 뉴질랜드의
 경우 보다 엄격한 기준인 글루텐이 검출이 되지 않는 경우(no detectable glueten
 present)에 한정하여 허용하고 있다. 우리나라의 경우, 특정 분석키트를 한정하기
 어려운 점을 고려하여 측정치(20mg/kg)의 95% 신뢰수준을 충족시킬 수 있는 5
 mg/kg 이하 수준을 고려할 수 있다(Table 3). 나라별 글루텐프리 기준의 가장 큰
 차이는 글루텐 포함 곡식에서 ‘귀리(Oats)’의 포함에 대한 여부인데, 귀리의 경우
 단백질 중 하나인 아베인(avein)과 프롤라민(prolamine)이 함유되어 있는데 avein의
 경우 글루텐과 비슷한 성질을 가지고 있으며, 셀리악병에 미치는 영향에 대해서는
 논란이 많으며 이에 대한 연구가 진행되고 있다(한국농수산물유통공사, 2016).

Table 4. Korean standard quality for gluten free food

항목	기준
성상	고유의 색택과 향미를 가지고 이미 및 이취가 없어야 한다
글루텐함량(mg/kg)	20 이하

출처 : 산업표준심의회. 글루텐프리 유제품 예정 고시 (2018년 10월 25일)

Table 5. Range of gluten free food certification

	미국	유럽연합
인증 대상	<ul style="list-style-type: none"> - 가공식품 - 식이보충제 등 표기 가능 	<ul style="list-style-type: none"> - 가공식품만 허용 - 포장된 식품, 음식점 판매 식품 또한 인증 범위에 포함
제외 대상	<ul style="list-style-type: none"> - 육류, 가금류 등은 인증 범위에서 제외 - 알코올 농도 > 7% 	<ul style="list-style-type: none"> - 신선 과일 및 채소 등의 인증 제외(건조 과일 과 같이 가공과정 거친 상품은 허용)

출처 : 산업표준심의회. 글루텐프리 유제품 예정 고시 (2018년 10월 25일)

세계 글루텐프리 식품 시장은 2015년도 기준으로 3,284백만 달러 규모의 시장으로, 연평균성장률(14년~19년)은 6.2%이었으며, 품목별로 인스턴트 음식 7.5%, , 파스타 3.7%, 베이커리 7.2% 및 유아식품 3.2%로 보고되었다(농림축산식품부, 2018). 주요 국가별 시장 규모는 28개국 중 미국이 2018년 기준, 52.6%로 비중이 가장 크게 나타났고, 이탈리아, 프랑스, 네덜란드 및 노르웨이 등이 성장률이 높은 것으로 보여지고 있다. 국가별 성장률과 규모가 차이는 있지만 글루텐프리 식품 시장의 성장추세는 지속적으로 유사하게 나타났다(Hahm et al, 2019). 국가 및 품목별 글루텐프리 시장의 연평균 성장은 보면 13.9%(2011~2024)로 2024년 기준, 124달러 성장이 예상되고 있다. 주요 요인으로는 지속적인 건강식 선호와 알레르기 질환 증가로 대형 체인망의 자체 브랜드들의 판매가 향후에는 성장세를 보일 것으로 사료된다. 반면에 보수적인 시장의 전망은 연평균 성장률 9.1%로 60.6억 달러의 성장이 예상되고 있다(Hahm et al, 2019)(Fig 1).

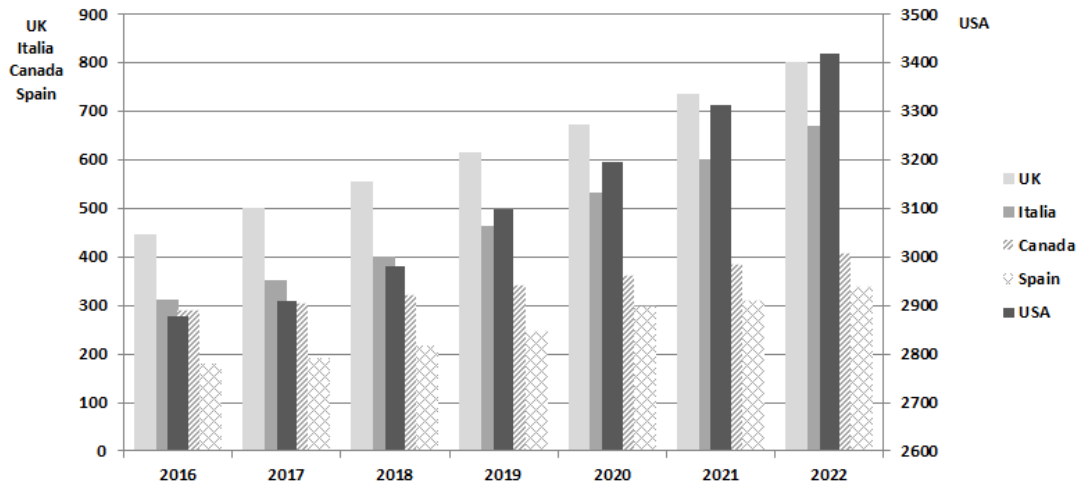


Fig 1. Gluten free food market size by countrywise (Top 5 countries)

1) Korea Forest Service (2018 Production of Florest Products)

1) Korea Forest Service (2018 Production of Florest Products)

글루텐프리 식품은 이미 미국시장에 많이 분포되어 있어 있으며, 글루텐프리 제품과 식단은 심장병 전문의인 William Davis 박사의 “Wheat Belly” 라는 책이 출간되면서부터 이슈가 되기 시작하였다(한국농수산물유통공사, 2016). 미국의 2015년 글루텐프리 시장은 약 116억 달러 규모로 2013년도 대비 약 136% 성장하였고, 전체식품 매출액에 대비해서 글루텐프리 식품 매출액 비율은 2013년 2.8%에서 2015년 6.5%로 증가하였다(농림축산식품부, 2018). 글루텐 알러지를 앓고 있는 환자는 전체 미국 인구의 0.5%~1%이고 인구 133명 당 1명에 불과하지만 미국 글루텐프리 시장은 2008~2012년간 연평균 복합성장률에서 28% 성장을 기록하고 있다(농림축산식품부, 2018).

캐나다에서는 글루텐프리 식품이 다소 건강한 식품으로 인지되고 있어 영양을 고려하는 소비자가 증가하고 있으며, 과거 캐나다에서는 글루텐프리 식품의 품목 중 즉석식품의 시장규모가 컸으나 2015년을 기점으로 베이커리 시장이 비중이 높아짐에 따라 향후 캐나다 전체 글루텐프리 식품 시장은 지속적으로 성장할 것으로 예상된다. 특히 쿠키류나 베이커리류에서 지속적인 확대가 될 것으로 예상된다(한국농수산물유통공사, 2016). 영국의 셀리악 협회 등 글루텐프리 전문가들에 의하면 영국인의 1%가 셀리악 환자인 것으로 추정되고, 건강과 웰빙에 대한 관심으로 특정 알레르기 기피 소비자들의 증가로 건강식품 시장이 성장하는 추세이며, 건강과 웰빙 트렌드가 지속될 것으로 보인다(Lionetti et al, 2015).

우리나라에서도 글루텐프리 식품의 섭취가 건강에 있어서 긍정적인 영향을 주는 식품으로 인식되고 있어, 향후 건강을 위해 글루텐프리 식품을 구매하는 소비자들이 많을 것으로 예상되고 있다(Chang, 2018). 리서치조사기관 Dadamonitor(2010)에서는 한국이 2014년 오세아니아 및 아시아 지역 전체에서 글루텐프리 식품 1인당 소비액이 가장 높을거라 예상하고 전 세계적으로 브라질과 더불어 큰 성장률을 보일거라 보고되고 있다(Jin & Kim, 2015). 우리나라는 관심도가 크게 성장하지는 않았지만, 부정적인 기사가 감소하고 제품 출시와 홍보활동이 활발히 진행되고 있다. 최근 5년간 글루텐프리에 관한 기사는 매우 긍정적이었으며, 주로 홍보 기사가 66.0%를 차지하는 것으로 나타났다. 긍정적인 기사에는 글루텐프리 제품 자체에 대한 관심과 소비자 건강습관, 원재료 관련설명이 포함되고 글루텐프리에 대한 주요 영양분 결핍과

부정적인 인식 및 높은 가격 등이 주요 기사내용으로 분석되었다. 부정적인 기사는 2014년 이후 지속적으로 감소되고 있고, 홍보성 기사의 비중이 급증함으로써 2018년에는 68.8%를 차지하였으며, 글루텐프리 시장의 다수업체의 제품들이 출시됨으로 인해 홍보가 증가한 것으로 사료된다(Hahm et al, 2019). 글루텐프리 식품 판매현황을 유통채널별로 살펴본 결과 일반유통매장을 통한 유통이 가장 많았고 현지 제조업체 인터뷰 결과에는 쌀을 활용한 글루텐프리 제품은 미국시장에 이미 출시되었다고 한다. 최근 국내에서 글루텐프리 식품에 대한 표시기준이 고시되었고, 글루텐프리 식품의 판매와 개발이 이루어지고 있지만 글루텐프리 제품의 판매량과 종류는 아직 미미한 수준이다(Jin & Kim, 2015).

농림축산부에서는 밀가루를 대체하기 위한 가공용 파우더를 개발하였고, 밀가루 대비 가격의 경쟁력을 확보할 수 있는 핵심 기술 개발과 글루텐프리 파우더의 물리화학적 특성을 활용한 한식제품 개발 등 글로벌 가공 식품을 개발하였다. 또한, 밀전분 내의 글루텐 저감화용 발효균주를 확보하고 이러한 특성을 이용한 글루텐 발효 제품을 개발하였으며, 곡류전분의 특성을 활용한 글루텐 정량 분석법 및 글루텐 프리형 피리믹스를 개발하였다.(농림축산식품부, 2018). 국내 글루텐프리 식품에 관한 연구로는 호화 쌀 가루 쿠키(Lee & Lim 2013), 쌀 가루의 입자크기를 달리한 글루텐프리 쌀식빵(Kang et al., 2014), 흑미 쌀가루를 연질미와 배합한 글루텐프리 쌀식빵(Choi et al., 2015), 및 음나무 잎 쌀 쿠키(Lee & Jin 2015), 전분을 첨가한 글루텐프리 쌀 파스타(Jung & Yoon 2017). 등 글루텐프리 식품에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다. 그 외에도 콩과식물을 이용한 글루텐프리 빵의 특성 분석(Minarro B et al., 2012), 글루텐프리 파스타의 특성 분석(Lucisano M et al., 2012), 냉동한 글루텐프리 시리얼의 엽산 함량 및 주요 성분분석(Yazynina E et al., 2008) 및 메밀가루를 이용한 글루텐프리 크래커의 품질평가(Sedej I et al., 2011) 등 글루텐프리 제품에 대한 다양한 연구가 수행되었다.

제 3절 연구 목적

락토스프리 우유는 저장 보관 또는 살균 방법 중에 단맛, 마이라드 반응, 가공 풍미, 단백질 분해, 텍스처 등에 영향을 받는다는 연구 결과가 보고 되었으나 주로 관능학적 품질의 연구가 대부분이며, 락토스프리 우유의 함유여부에 대한 연구는 드문 실정이다(Adhikari et al., 2010; Jansson et al., 2014; Nielsen et al., 2016).

현재 우리나라 식품공전상에 gluten 측정 방법은 등록되어 있지 않다. 이는 아직까지 gluten free 식품으로 인하여 사회적으로 문제가 되지 않기 때문이지만 향후 gluten 식품을 통하여 문제가 나타나게 될 경우를 위해서는 간단 분석법 및 다양한 연구가 필요한 실정이다(Kim et al., 2018).

따라서 본 연구에서는 시중에 유통되고 있는 락토스프리 및 글루텐프리 식품을 구입하여 lactose 및 gluten 함유 여부 확인을 위한 분석 및 데이터 확보를 목표로 하였다. 특이적으로 lactose와 gluten 섭취가 어려운 사람들에게 제품 선택시 도움을 주고자 하며, 본 연구 결과를 통하여 표준화 기준 마련을 위한 바탕자료로 활용함으로써 표준규격의 기준 보완자료로 사용에 도움이 되고자 한다.

제 2 장 재료 및 방법

제 1절 락토스프리 식품 중 락토오스 분석

1. 시료 및 시약

가. 시료

본 연구를 위해 사용된 락토스프리 식품은 현재 유통되고 있는 락토스프리 우유 4종 및 일반우유 10종을 대형마트 및 온라인을 통해 구입하여 시료로 사용하였다(Table 6).

나. 시약

본 연구에 사용한 증류수는 18.2 M Ω 수준으로 milli-Q ultrapure water purification system (Millipore Co., Massachusetts, USA)에 의해 얻은 정제된 물과 분석을 위해서 사용한 acetonitrile은 HPLC grade(Fisher Scientific, USA) 수준으로 구입하여 사용하였다. 락토스프리 분석을 위한 표준물질로 lactose(Sigma-aldrich, Darmstadt, Germany)를 구입하여 사용하였다.

Table 6. Sample of normal and lactose free milk

NO	시료코드	락토스프리 여부
1	NM-1	일반
2	NM-2	일반
3	NM-3	일반
4	NM-4	일반
5	NM-5	일반
6	NM-6	일반
7	NM-7	일반
8	NM-8	일반
9	NM-9	일반
10	NM-10	일반
11	LFM-1	락토스프리
12	LFM-2	락토스프리
13	LFM-3	락토스프리
14	LFM-4	락토스프리

2) NM: Normal Milk

3) LFM: Lactose Free Milk

2) NM: Normal Milk

3) LFM: Lactose Free Milk

2. 락토오스의 분석방법

가. 락토오스 분석을 위한 전처리

분석을 위해 락토스프리 우유 및 일반 우유의 전처리는 고시 예정인 KS규격에 맞게 진행하였다. 시료 5 g을 50 mL 부피플라스크에 정밀히 담고, 물 25 mL를 가하여 녹인 후, acetonitrile로 50 mL까지 정용하였으며, 이를 0.45 μm membran filter(Nylon, Whatman, Kent, UK)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

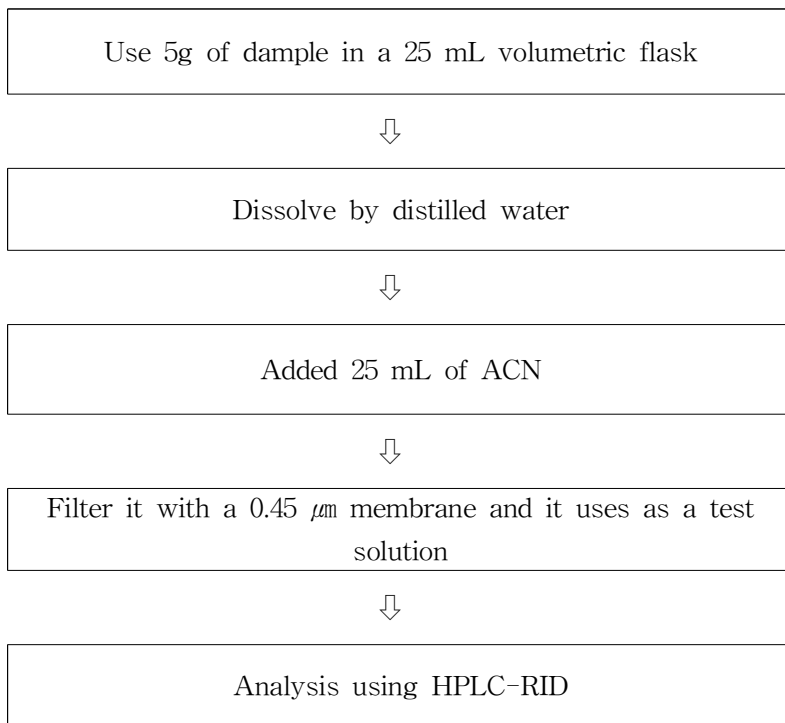


Fig 2. Schematic diagram of lactose analysis using HPLC-RID

나. 락토오스 분석을 위한 HPLC 조건

락토스프리 우유 및 일반 우유에 함유되어 있는 유당을 분석하기 위하여, HPLC 분석을 진행하였다. 기기는 Shimadzu사(Kyoto, Japan)의 communication bus module(CBM-20A), degassing unit(DGU-20A_{3R}), 2대의 pump(LC-20AD), autosampler(SIL-20A), column oven(CTO-20A) 및 refractive index detector(RID-10A)가 연결된 HPLC 시스템을 사용하였다.

시험용액은 column oven에 Asahipak NH2P-50(hodex, Japan) 컬럼을 장착하였고, cell temp는 40°C, flow rate는 0.8 mL/min, injection volume는 10 µL를 주입하였다. 이동상으로는 75% acetonitrile(B용매)를 이용하여, 용매조성이 변경되는 isocratic 방법을 사용하였으며, 조건으로 0.00 ~ 12.40분간 40%로 유지하고, 12.40 ~ 12.50분간 95%로 상승시킨 후, 12.50 ~ 17.00분간 95%로 유지하고 17.00 ~ 17.10분간 40%로 설정한 다음 17.10 ~ 25.00분간 40%로 유지시켜 다음 분석을 위한 기기 안정화를 시켰다(Table 7).

Table 7. HPLC-RID conditions for analysis of lactose

Instrument	LC-20A (Shimadzu, Japan)		
Detector	RID-10A detector (Shimadzu, Japan)		
Column	Asahipak NH2P-50 (4.6 mm I.D.× 250 mm L., 5 μm, Shodex, Tokyo, Japan)		
Cell temp	40℃		
Injection volume	10 μL		
Mobile program (isocratic)	- Mobile phase : H ₂ O / Acetonitrile = 25 / 75		
	- Flow condition		
	Time (min)	Flow rate (mL/min)	Mobile Phase % B
	0.0	0.8	40
	12.40	0.8	40
	12.50	0.8	95
	17.00	0.8	95
17.10	0.8	40	
25.00	0.8	40	

3. 유효성 검증(Method validation)

1) 직선성(Linearity)

표준물질인 lactose의 검량선을 작성하기 위해 표준용액을 구입하여 분석을 진행하였다. Lactose 표준용액을 섞어서 mix standard를 제조하였으며, 3회 반복 분석을 하였다. 표준물질의 area를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 검량선식을 구하였다.

2) 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

분석과정을 실시한 후 분석대상물질의 유무를 확인할 수 있는 최소 검출농도를 검출한계(Limit of detection, LOD)라고 말하며, 분석 대상물질을 합리적인 신뢰성을 가지고 정량적 측정 결과를 산출할 수 있는 농도를 정량한계(Limit of quantitation, LOQ)라고 한다. 본 실험에서는 표준용액의 최저 농도를 10회 반복 실험하고 표준편차를 계산한 후 3.3배를 곱하여 검출한계를 구하였고, 표준편차에 10배를 곱해준 후 검량선의 기울기로 나누어 정량한계 값으로 사용하였다.

3) 정밀성(Precision) 및 정확성(Accuracy)

일정 농도의 한 샘플을 7회 이상 분석하여 정밀성(Precision)을 상대표준편차 (relative standard deviation, RSD%)로 확인하였으며, 시료 전처리 시, 시료에 함유되어 있는 지표물질과 비슷한 농도의 표준물질을 첨가하여 추출 및 분석하여 정확성(Accuracy)을 구하였다. 외부 첨가법(spiking test)을 통해 최종 결과에서 첨가한 표준물질의 농도 회수율을 확인하였다.

4. 락토오스의 정성 및 정량 분석

락토오스 여부 확인을 위한 lactose의 정성 및 정량 분석을 위해, chromatogram 상에 retention time(RT)의 일치함을 확인하였다. 표준검량선 작성을 위해, lactose 표준용액을 acetomitrile에 용해시켜 100 mg/kg stock solution을 제조하였으며, 분석에 용이한 농도로 희석한 후, 검량선 작성에 사용하였다. 분석 결과의 농도가 calibration curve의 범위 내로 검출되는지 여부를 확인하고, 범위를 벗어나는 경우, 희석하여 정량이 가능하도록 하였다. 시험 용액 및 표준 용액을 각각 10 uL 씩 주입하여 얻은 피크의 넓이 또는 높이를 구하여 검량선을 작성한 후 시험 용액의 당질의 농도(uL/mL)를 구하고, 다음 식에 의해 검사시료 중 유당의 함량을 산출하였다.

$$\text{유당}(\%) = S \times \frac{a \times b}{\text{시료채취량}(g)} \times \frac{100}{1000}$$

- 4) S : 시험용액중의 당질의 농도(uL/mL)
- 5) a : 시험용액의 전량(mL)
- 6) b : 희석배수

-
- 4) S : 시험용액중의 당질의 농도(uL/mL)
 - 5) a : 시험용액의 전량(mL)
 - 6) b : 희석배수

제 2절 글루텐프리 식품 중 글루텐 분석

1. 시료 및 시약

가. 시료

본 연구를 위해 한국식품연구원에서 글루텐프리 식품 시료를 제공받아 이용하였다. 빵류 3건, 쌀가루 3건, 면류 11건, 카레류 6건, 시리얼류 2건, 과자류 1건, 믹스류 2건, 잼류 1건 및 즉석조리식품류 4건으로 총 33건의 시료를 사용하였으며(Table 8), 글루텐 프리 식품과 비교를 위해 시중에서 글루텐 함유 식품을 구입하였다.

나. 시약

글루텐 분석 시, 간편 분석법인 kit를 사용하여 시료 중의 글루텐 유무를 확인해 보았으며, 해당 kit는 총 3종으로 구매 시 같이 동봉되어있던 시약으로 분석을 진행하였다. GlutenTox.Pro에는 glutentox.pro stick, plastic pipette, disposable plastic spoons, extraction bottle, dilution bottle을 이용하였으며, Agrastrip-Gluten G12 kit에는 extraction buffer, dilution bufffer, strip을 이용하여 분석하였다. 마지막으로 Gliadin ELISA Kit에서는 ethanol(purity 70%, DAEJUNG, KOREA)과 kit와 같이 동봉된 diluent buffer, washing buffer, conjugate, chromogen, substrate, stock solution을 이용하였다(Fig 3).

다. 기기

해당 시료의 균질화를 위해 균질화기(주) 대성 아트론, 서울특별시, 한국)를 사용하였으며, Gliadin ELISA Kit에서의 원심분리를 위해 centrifuge(Combi R515, hanil, Korea)를 이용하였다.

Table 8. Sample of gluten free food

No.	시료 이름	시료 종류	No.	시료 이름	시료종류
1	GF-1	빵류	18	GF-18	카레류
2	GF-2	빵류	19	GF-19	카레류
3	GF-3	빵류	20	GF-20	카레류
4	GF-4	쌀가루류	21	GF-21	카레류
5	GF-5	쌀가루류	22	GF-22	카레류
6	GF-6	쌀가루류	23	GF-23	카레류
7	GF-7	면류	24	GF-24	시리얼류
8	GF-8	면류	25	GF-25	시리얼류
9	GF-9	면류	26	GF-26	과자류
10	GF-10	면류	27	GF-27	믹스류
11	GF-11	면류	28	GF-28	믹스류
12	GF-12	면류	29	GF-29	잼류
13	GF-13	면류	30	GF-30	조리식품류
14	GF-14	면류	31	GF-31	조리식품류
15	GF-15	면류	32	GF-32	조리식품류
16	GF-16	면류	33	GF-33	조리식품류
17	GF-17	면류			

7) GF: Gluten Free

7) GF: Gluten Free



GlutenTox-Pro



Agrastrip-Gluten G12



Gliadin ELISA

Fig 3. Kit type used for gluten analysis

2. 글루텐 분석방법

가. GlutenTox. Pro를 이용한 분석 방법

분석방법은 키트를 구매하였을 때 같이 동봉된 메뉴얼에 따라 진행하였다.

해당 시료는 분쇄기로 균질화하여 모든 실험의 시료로 냉동 보관하여 사용하였다. 균질화시킨 시료 2 g을 취해 extraction bottle에 넣어준 후 2분간 잘 흔들어 추출해준 뒤, 5분 동안 침전시켜주었으며, Dilution buffer 용액을 1~2방울 취해 시료가 담긴 bottle에 떨어뜨려 준 후 15초 정도 부드럽게 혼합시켜주었다. 그 후 cotton wool stick을 이용해 10분 정도 충분히 적셔준 후 결과를 도출하였다(Table 9, Fig 4).

Table 9. Sample details for gluten free analysis

Kind of food	Examples	Spoonful
Flours, Fine powders	Maize flour, rice flour, powdered milk, spices, etc.	2 spoon
Fine crumbs	Bread, cookies, cakes, snacks, etc.	2 spoon
Liquids	Milk, condensed milk, yogurt, soup, gravy, etc.	1 spoon

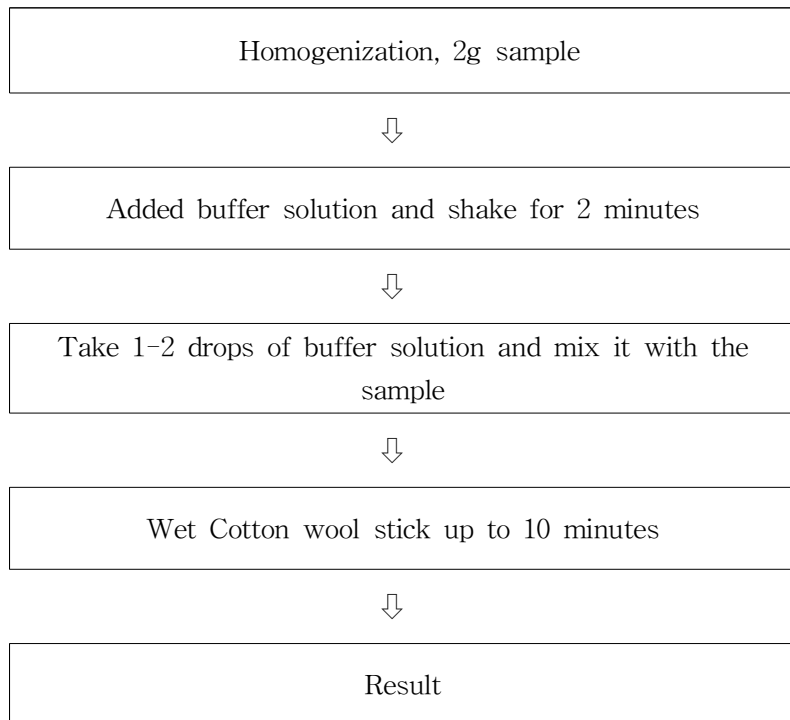


Fig 4. Schematic diagram of gluten kit analysis using Gluten Tox. Pro

나. Agrastrip gluten G12를 이용한 분석 방법

분석 조건은 키트를 구매하였을 때 같이 동봉된 메뉴얼에 따라 진행하였다.

균질화 된 시료를 extraction tube에 넣고 extraction buffer 용액을 채워 뚜껑을 닫은 다음 1분간 흔들어 주었다. Dilution tube에 3방울을 취해 혼합해 준 후 strip을 45 초정도 충분히 적셔주어 분석하였다(Fig 5).

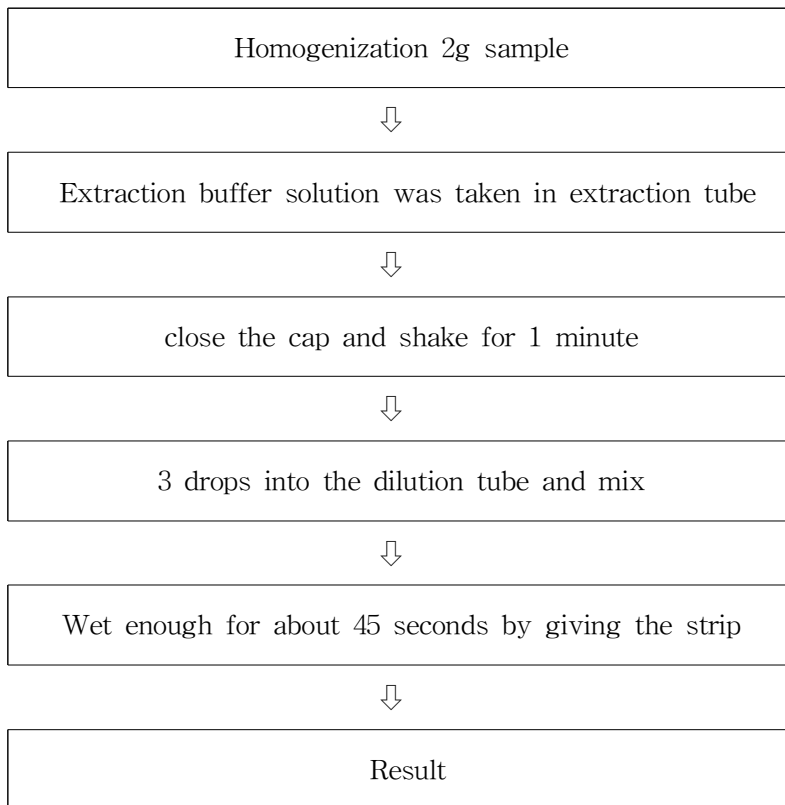


Fig 5. Schematic diagram of gluten kit analysis using Agrastrip gluten G12

다. Gliadin ELISA kit를 이용한 분석 방법

분석조건은 해당키트를 구매하였을 때 같이 동봉된 메뉴얼에 따라 진행하였다.

균질화시킨 시료 0.25 g과 80% ethanol 2.5 mL을 50°C 조건 하에서 40분간 추출을 하였다. 그 후 실온에서 식힌 뒤 80% ethanol 7.5 mL을 넣고 1시간 동안 진탕 추출해주었다. 그 다음 원심분리기를 이용해 12,000 rpm에서 10분 원심분리 후 상층액을 실험용액으로 사용하였다. 추출된 샘플 80 μ l와 diluent buffer 용액 920 μ l을 혼합하여 내장된 플레이트에 표준물질 및 희석된 샘플을 100 μ l씩 넣어준 후 30분 반응시켜주고 내용물을 washing buffer 용액 250 μ l로 3회 세척해주었다. 그 후 conjugate 용액 100 μ l씩 넣어준 후 30분 반응시켜주고 내용물을 모두 washing buffer 용액 250 μ l로 3회 세척해주었으며, chromogen 50 μ l와 substrate 50 μ l를 혼합하여 넣고 30분 반응 후 stock solution 100 μ l를 넣어 5분 안에 450 nm로 찍어서 결과를 확인하였다(Fig 6).

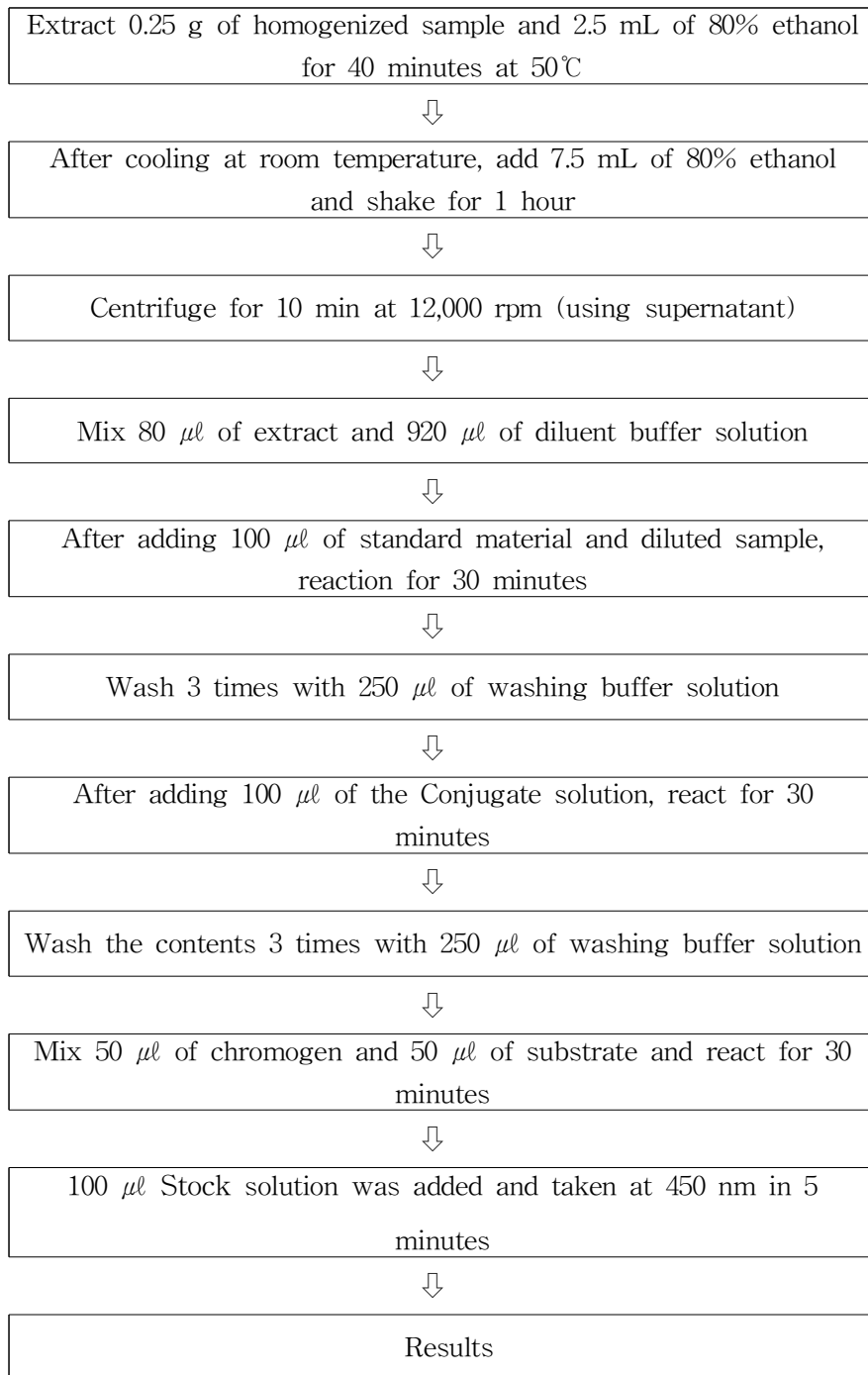


Fig 6. Schematic diagram of gluten kit analysis using Gliadin ELISA kit

제 3 장 결과 및 고찰

제 1절 락토스프리 식품 분석 결과

1. HPLC 분석 결과

가. HPLC를 이용한 지표물질 탐색

본 연구에서 사용한 시료인 락토스프리 우유 4건과 일반우유 10건을 대상으로 전처리과정을 통해 HPLC-RID를 이용하여 lactose의 분석하였다. 분석 조건으로 280-325 nm의 파장 범위에서 진행하였으며, lactose 표준물질과 비교하여 같은 retention time(RT)에 나오는지 확인하였다. 분석 결과, lactose는 RT 11.90분대에서 나왔으며 해당 chromatogram은 Fig. 7에 나타내었다.

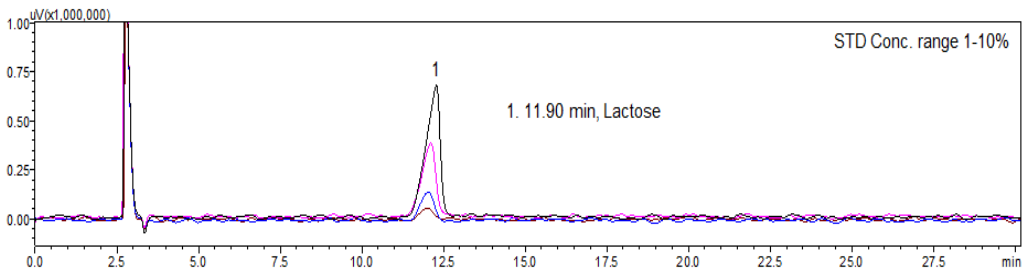


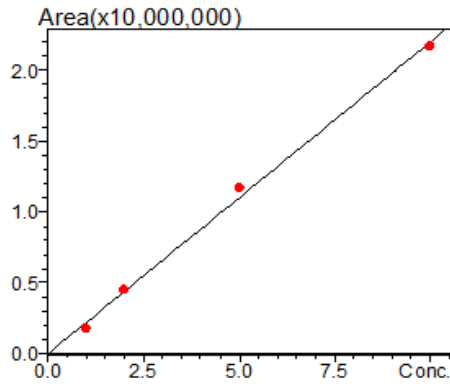
Fig 7. HPLC chromatogram of lactose standard

2. 유효성 검증(Method validation) 결과

직선성(linearity)을 확인하기 위해 lactose 표준물질로 mix standard를 제조하고 각각의 conc. 1, 2, 5, 및 10의 농도가 되도록 희석한 후 표준 검량선을 작성하였다. 선형 회귀분석을 통해 검량선의 상관계수(R^2)를 구하였고, 0.998 이상으로 우수한 직선성을 얻을 수 있었다(Fig 8, Table 10).

Lactose의 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)를 구하기 위해 표준용액의 최저농도를 10회 반복 실험하고 표준편차의 3.3배를 곱하여 검출한계를 구하였으며, 표준편차에 10배를 곱한 후 검량선의 기울기로 나누어 정량한계를 구하였을 때 결과는 각각 0.289% 및 0.966%으로 확인되었다(Table 10).

정밀성(precision)은 본 연구의 기기 조건으로 3회 반복 측정하여 동일한 값이 나오는지 확인하였으며, 상대표준편차(RSD%)로 확인하였을 때, 그 결과 0.83%로 확인되었다. 정확성(accuracy)은 외부 표준물질 첨가법은 표준물질이 검출되지 않은 시험용액에 표준물질을 첨가하여 분석하는 방법으로 이를 통해 회수율을 측정하였고, 그 결과 98.1%으로 만족할 만한 값을 얻었다. 본 연구의 적용된 분석방법에 대한 유효성 검증을 위하여 직선성(linearity), 검출한계(limit of detection, LOD), 정량한계(limit of quantification, LOQ), 정밀성(precision) 및 정확성(accuracy)을 분석하였으며, 모든 결과는 AOAC의 기준에 만족하는 값을 얻었다(Table 10).



STD	Conc.	Area
1	1	1,758,362
2	2	4,527,409
3	5	11,701,715
4	10	21,647,783
Linear equation		$y=2192671x+41797.92$
R^2		0.998

Fig 8. Lactose calibration curve by HPLC-RID analysis

Table 10. Validation result of lactose analysis

	Linearity	LOD ¹⁾ (%)	LOQ ²⁾ (%)	Accuracy (%)	RSD ³⁾ (%)
Lactose	0.998	0.289	0.966	98.1	0.83

8) LOD: Limit Of Detection

9) LOQ: limit Of Quantification

10) RSD: Relative Standard Deviation

8) LOD: Limit Of Detection

9) LOQ: limit Of Quantification

10) RSD: Relative Standard Deviation

3. 정성 및 정량 분석 결과

지표물질 분석 결과, lactose의 peak는 RT 11.90분대에서 검출되었으며, 총 시료 14건 중 4건을 제외한 10건에서 해당 peak가 확인되었다(Fig 9). 모든 락토스프리 우유에서는 lactose가 검출한계 미만으로 확인되었다.

KS규격을 토대로 전처리 시 시료무게와 희석배수를 고려하여 결과값을 산출하였으며, 락토스프리 우유의 유당 함량은 모두 검출한계 미만, 일반 우유의 평균 유당 함량은 6.56%의 결과로 나타났으며, 이 때 검출한계는 0.289%으로 확인되었다. 일반시판 우유는 대체로 락토스프리 우유와 비교했을 때 확연한 차이를 보였으며, 가장 높은 유당 함량은 9.73%이며, 가장 낮은 유당 함량은 검출한계 미만으로 확인하였다(Table 11).

최종적으로 한국산업표준(KS) 규격에 따르면 락토스프리 우유의 유당 함유 기준은 0.50% 이하이며, 본 실험에서의 락토스프리 우유 제품들은 기준에 모두 적합하였다.

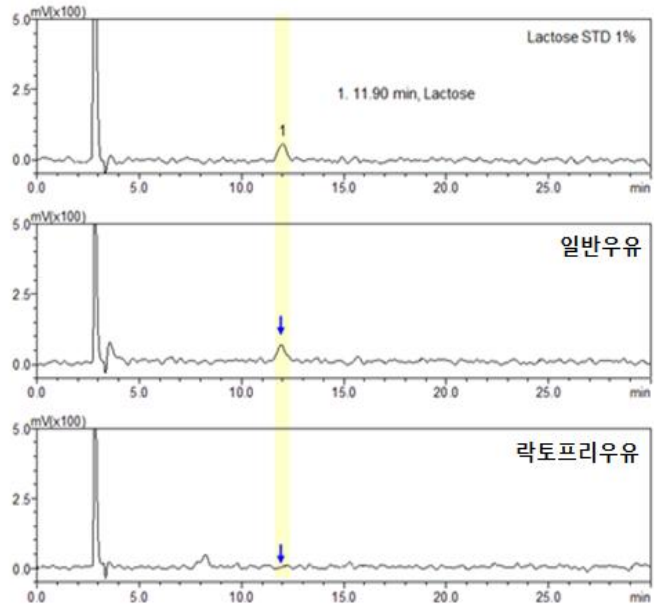


Fig 9. Chromatogram of lactose standard and sample

Table 11. Lactose content of Lactose free milk and normal milk

NO	시료명	락토프리 여부	유당(%)
1	NM-1	일반	3.58
2	NM-2	일반	9.73
3	NM-3	일반	9.20
4	NM-4	일반	6.58
5	NM-5	일반	3.47
6	NM-6	일반	6.98
7	NM-7	일반	5.57
8	NM-8	일반	9.83
9	NM-9	일반	5.43
10	NM-10	일반	8.26
11	LFM-1	락토프리	ND
12	LFM-2	락토프리	ND
13	LFM-3	락토프리	ND
14	LFM-4	락토프리	ND

11) ND = Not detected (0.289% 이하)

12) NM: Normal Milk

13) LFM: Lactose Free Milk

11) ND = Not detected (0.289% 이하)

12) NM: Normal Milk

13) LFM: Lactose Free Milk

제 2절 글루텐프리 식품 분석 결과

글루텐프리 식품의 분석으로 회사별 서로 다른 3종의 GlutenTox. Pro, Agrastrip-Gluten G12 kit 및 Gliadin ELISA kit를 사용하여 분석한 결과 시료 전부 정량한계 미만의 결과를 도출하였다. 이 때의 정량한계는 5 mg/kg 미만이었다.

1. Gluten Tox. Pro를 이용한 분석 결과

GlutenTox. Pro를 사용한 결과로 일반 글루텐이 함유된 식품과 반응 시 빨간 표식이 나타나야 하며, 글루텐프리 식품은 빨간 표식이 나타나지 않아야 한다. 본 실험 결과, 글루텐프리 제품에서는 모두 빨간 표식이 나타나지 않아 글루텐 함량이 없음을 확인하였고, 시중 유통 중인 글루텐 함유 제품(빵류, 면류, 시리얼류)에서는 모두 빨간 표식 줄이 나타나서 글루텐이 있음을 확인하였다(Fig 10).

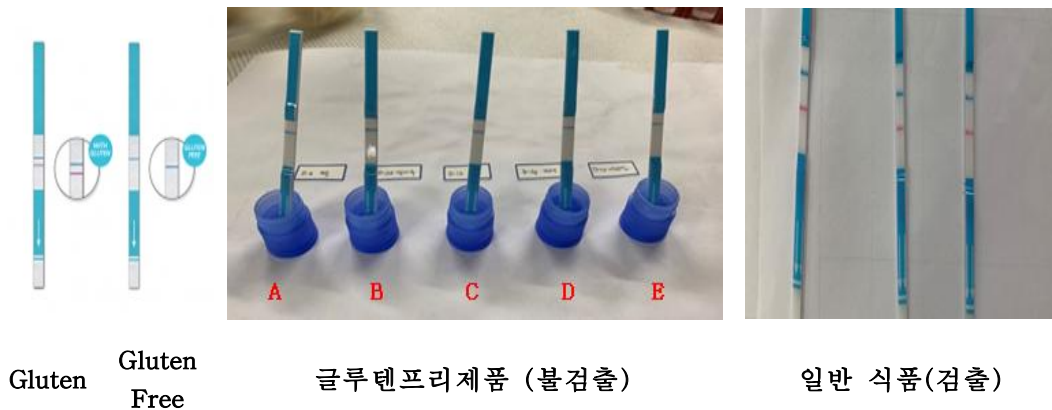


Fig 10. Gluten free food analysis using Gluten Tox. Pro kit

(A : 빵류 B : 쌀가루 C : 면류 D : 카레류 E : 시리얼류)

2. Agrastrip gluten G12를 이용한 분석 결과

Agrastrip-Gluten G12 kit의 결과는 키트 구매 시 같이 동봉된 매뉴얼에 적힌 반응에 따라 일반 글루텐이 함유된 식품은 빨간 표식이 나타나야 하며, 글루텐프리 식품은 빨간 표식이 나타나지 않아야 한다. 본 실험 결과, 글루텐프리 제품에서는 모두 빨간색 표식이 나타나지 않아 글루텐 함량이 불검출 되었음을 확인하였고, 시중 유통 중인 글루텐 함유 제품(빵류, 면류, 시리얼류)에서는 모두 빨간 표식이 나타나서 글루텐의 검출을 확인하였다(Fig 11).

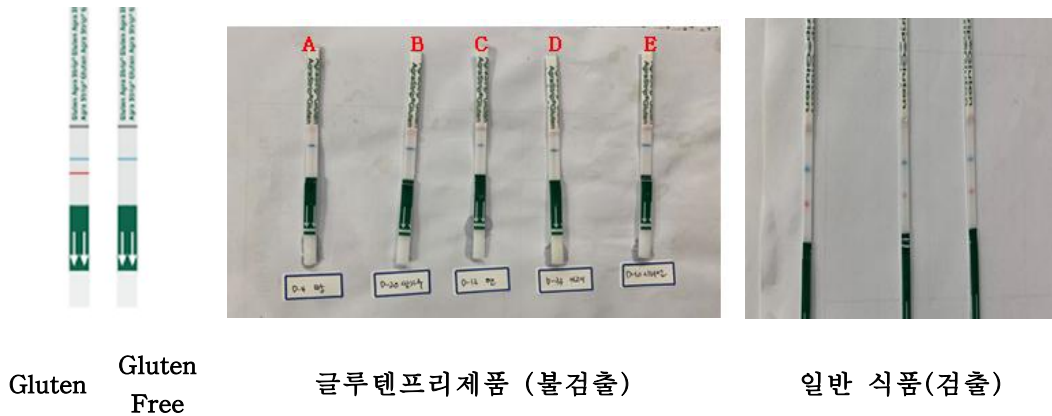


Fig 11. Gluten free food analysis using Agrastrip gluten G12 kit
 (A : 빵류 B : 쌀가루 C : 면류 D : 카레류 E : 시리얼류)

3. Gliadin ELISA kit를 이용한 분석 결과

Gliadin ELISA kit를 이용하여 글루텐프리 식품의 글루텐 분석 결과 모두 정량한계 미만으로 확인되었으며, 이 때의 정량한계는 5 mg/kg 미만이다. 글루텐프리 제품과 시중 유통 중인 글루텐 함유 제품(빵류, 면류, 시리얼류)을 비교한 결과, 글루텐프리 식품에는 모두 글루텐이 불검출 되었으나, 시중 유통되는 일반 제품에는 모두 검출되었다(Table 12).

Table 12. Quantitative analysis of gluten free good using ELIZA kit

No.	결과	No.	결과
GF-1	정량한계 미만 ¹⁾	GF-18	정량한계 미만
GF-2	정량한계 미만	GF-19	정량한계 미만
GF-3	정량한계 미만	GF-20	정량한계 미만
GF-4	정량한계 미만	GF-21	정량한계 미만
GF-5	정량한계 미만	GF-22	정량한계 미만
GF-6	정량한계 미만	GF-23	정량한계 미만
GF-7	정량한계 미만	GF-24	정량한계 미만
GF-8	정량한계 미만	GF-25	정량한계 미만
GF-9	정량한계 미만	GF-26	정량한계 미만
GF-10	정량한계 미만	GF-27	정량한계 미만
GF-11	정량한계 미만	GF-28	정량한계 미만
GF-12	정량한계 미만	GF-29	정량한계 미만
GF-13	정량한계 미만	GF-30	정량한계 미만
GF-14	정량한계 미만	GF-31	정량한계 미만
GF-15	정량한계 미만	GF-32	정량한계 미만
GF-16	정량한계 미만	GF-33	정량한계 미만
GF-17	정량한계 미만		

14) 정량한계 : 5mg/kg 미만

15) GF: Gluten Free

14) 정량한계 : 5mg/kg 미만

15) GF: Gluten Free

제 4 장 요약

건강한 식생활의 추구로 인해, 특정 질병으로 흡수를 못하거나 과민증을 유발할 수 있는 성분을 배제한 식품들이 증가하고 있다. 그 중 락토스프리 식품은 우유 속에 들어있는 lactose을 소화시키지 못해 복부팽만감, 복통, 설사 등을 유발하는 질환인 유당 불내증을 예방하기 위한 식품이다. 글루텐프리 식품은 곡류에 존재하는 불용성 단백질인 gluten을 처리하는 효소가 없어 소화불량이나 복통 등의 증상이 나타나는 알레르기 질환인 셀리악병을 사전에 방지하기 위한 식품이다.

따라서 본 연구에서는 시중에 유통되고 있는 락토스프리 및 글루텐프리 식품을 구입하여, lactose 및 gluten의 함유여부 확인을 위해 HPLC-RID 및 3종의 gluten kit를 이용하여 분석을 진행하였다.

락토스프리 분석을 위해 시중에 판매되고 있는 락토스프리 우유 4종 및 일반우유 10종을 구입하여 시료로 사용하였다. 본 연구의 적용된 분석방법에 대한 유효성 검증을 위하여 직선성(linearity), 검출한계(limit of detection, LOD), 정량한계(limit of quantification, LOQ), 정밀성(precision) 및 정확성(accuracy)을 시행하였다. HPLC-RID 기기를 통해 lactose 성분을 분석하였으며 Lactose 표준물질을 구입하여 시료와 비교 분석한 결과, lactose는 retention time(RT) 11.90분대에서 확인되었으며, 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)는 각각 0.289% 및 0.966%으로 나타났고, 정밀성 및 정확성은 각각 0.83% 및 98.1%의 값을 얻었다. 정량 분석을 위해 표준용액을 희석하여 검량선을 작성하였으며 시료무게와 희석배수를 고려하여 결과 값을 산출하였다. 그 결과 일반우유 10건에서 lactose peak가 확인되었으며 평균 6.29%가 검출되었다. 또한 4건의 락토스프리 우유에서는 검출한계 미만의 결과를 나타내었으며 한국산업표준(KS) 규격에 따르면 락토스프리 우유의 유당 함유 기준은 0.50% 이하로, 본 실험에서의 락토스프리 우유 제품들은 기준에 모두 적합하였다. 락토스프리 제품의 미량 분석을 위한 분석방법의 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

글루텐프리 식품 분석을 위해 한국식품연구원에서 시료 총 33건을 제공받았으며, 비교를 위해 글루텐이 함유된 식품을 구입하였다. 분석은 정성분석이 가능한 Gluten

Tox. Pro 및 Agrastrip-Gluten G12 kit와 정량분석이 가능한 Gliadin ELISA kit를 구입하였으며, 해당 제품 구매 시 같이 동봉된 매뉴얼에 따라 진행하였다. GlutenTox.Pro 및 Agrastrip-Gluten G12 kit 분석 결과, 글루텐프리 식품 총 33건 모두 불검출 되었으며, 비교를 위해 구매한 글루텐 함유 식품에서는 검출이 되었음을 확인하였다. Gliadin ELISA kit 분석 결과, 모두 정량한계 미만으로 확인되었으며, 이때의 정량한계는 5 mg/kg 미만이었다. 글루텐 kit는 특별한 장비 없이 사용할 수 있으며, 20분 이내에 결과를 얻을 수 있어 간편하다는 장점이 있으나 정확한 정량을 할 수 없다는 단점이 있다.

본 연구를 통해 락토스프리 식품 및 글루텐프리 식품의 유통 제품의 분석을 통한 데이터베이스를 확보하였으며, 식품 생산 및 관리하는데 가이드라인 개발에 도움이 될 수 있을 것이다. 소비자의 눈높이, 기술수준, 해외사례 등을 고려하여 정의하고, 표준화 기준 마련을 위한 바탕자료 및 기준 보완자료로써 활용될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 농림축산식품부. (2018) 락토프리, 글루텐프리 식품에 대한 표준지침 마련.
- 농림축산식품부. (2018). 가공식품 한국산업표준(KS) 제·개정 및 관능 품질 표준 개발.
- 아시아투데이. (2018) 매일유업 ‘소화가 잘되는 우유’, 락토프리 우유 시장에서 ‘압도적 1위’. <http://www.asiatoday.co.kr/view.php?key=20180225010014415>.
- 한국농수산식품유통공사. (2013). 가공식품 세분시장 현황.
- 한국농수산식품유통공사. (2016). 글루텐프리식품 해외시장조사.
- Adhikari, C., Dooley, L. M., Chambers, IV, E. and Bhumiratana, N. Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the united states. *J. Food Science and Technology*. 43(1):113-118, 2010.
- Biesiekierski, J. R. What is gluten?. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 32, 78-81, 2017.
- Cataldo, F., Montalto, G. Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(15), 2153, 2007.
- Chang, K. J. Effect of Tamarind Seed on the Quality of Dough and Bread in Gluten Free Rice Bread = Effect of Tamarind gum on Gluten-Free Rice Batter Properties and Bread Quality. *Nutrition Education Major*, 51-54, 2018.
- Choi, O. J., Jung, H. N., Shin, S. H., Kim, Y. D., Shim, J. H., Shim, K. H. (2015). Quality characteristics of gluten-free rice bread formulated with soft-type rice flour mixed with black-rice flour. *Korean Society of Community Living Science* 26:447-456, 2015.
- Chon, J. W., Seo, K. H., Jeong, D. K., Song, K. Y. Development of Lactose-Free Dairy Products Effective against Lactose Intolerance: Present and Future. *Journal of Dairy Science and Biotechnology*, 38(1), 1-18, 2020.
- Cummins, A. G., Roberts Thomson, I. C. Prevalence of celiac disease in the

Asia - Pacific region. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 24(8), 1347-1351, 2009.

Dadamonitor. *The Future of Gluten-Free : Consumer Insight and Product Opportunities*. <http://www.datamonitor.com/kc/consumer>, 2010

Hahm, S. W., Jeon, J. Y. & Park, J. M. Current Status and Prospect of Gluten-Free Foods. *Food Industry and Nutrition*, 24(2), 21-26, 2019

Huh, M. H. 유당불내증 (lactose intolerance) 문제없는 식물성 단백질 음료. *한국콩연구회소식*, 341, 3-5, 2018.

Jansson, T., Jensen, S., Eggers, N., Clausen, M. R., Larsen, L. B., Ray, C., Sundgren, A., Andersen, H. J. and Bertram, H. C. Volatile component profiles of conventional and lactose-hydrolyzed UHT milk—dynamic headspace gas chromatography—mass spectrometry study. *Journal Dairy Science. Technology*. 94:311-325, 2014.

Jin, H. J., Kim, C. S. Analysis for factors on buying decision making by female college and graduate students toward gluten-free food. *Korean Food Marketing Association*, 32(1), 1-29, 2015.

Jung, J. H., Yoon, H. H. Textural properties of gluten-free rice pasta prepared employing various starches. *korean journal of food and cookery science* 33:28-36.

Jung, K. Y., Song, K. Y., Oh, H. B., Shin, S. Y. & Kim, Y. S. (2017). Effects of Gum on Quality Characteristics of Gluten-free Noodles prepared with *Eragrostis tef* Flour. *korean journal of food and nutrition*. vol 30(5), 1025-1034, 2017.

Kang, B. C. Characteristics of Lactose Hydrolysis by Immobilized β -Galactosidase on Chitosan Bead. *Journal of life science*. 21(1) 127-133, 2011.

Kang, T. Y., Choi, E. H., Jo, H. Y., Yoon, M. R., Lee, J. S. & Ko, S. H. Effects of rice flour particle size on quality of gluten-free rice bread. *food engineering progress* 18:319-324, 2014.

Kang, M. S. *Manufacture and quality property of gluten free-cake based on rice flour*. Kyonggi University, 2010.

Kim, N. J., Yoon, K. Y. Qualities and Antioxidant Activity of Lactic Acid Fermented-Potato Juice. *journal of the korean society of food science and nutrition* 42(4), 542-549, 2013

Kim, M. S., Kim, J. S., Ryu, M. J., Kim, G. H. & Hwang, K. T. Quantitative measurement of gluten content in gluten-free foods. *The Korean Society of Food Preservation*, 25(2), 237-245, 2018.

Lee, E. J., Jin, S. Y. Antioxidant activity and quality characteristics of rice cookies added *Kalopanax pictus* leaf powder. *journal of the east asian society of dietary life* 25:672-680, 2015.

Lee, J. K., Lim, J. K. Effects of roasted soybean flour on textural properties of rice cookies. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 42(9), 1426-1432, 2013.

Lionetti, E., Gatti, S., Pulvirenti, A. & Catassi, C. Celiac disease from a global perspective. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 29(3), 365-379, 2015.

Lucisano, M., Cappa, C., Fongaro, L. & Mariotti, M. Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: evaluation of the cooking behaviour. *Journal of cereal science*, 56(3), 667-675, 2012.

Nielsen, S. D., Jansson, T., Le, T. T., Jensen, S., Eggers, N., Rauh, V., Sundekilde, U. K., Sorensen, J., Andersen, H. J., Bertram, H. C. and Larsen, L. B. Correlation between sensory properties and peptides derived from hydrolysed-lactose UHT milk during storage. *International Dairy Journal*. In press. 1-9, 2016.

Miñarro, B., Albanell, E., Aguilar, N., Guamis, B. & Capellas, M. Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *Journal of Cereal Science*, 56(2), 476-481, 2012.

Moon, S. H., Hwang, J. H., Chung, H. C., Song, I. S. & Kim, J. R., The Effect of Milk Intake on the Liquid - absorbing Ability and the Expression Patterns of Milk Gastrointestinal Symptoms in Patients with Lactose Absorption and

Inflammatory Bowel Disease. *korean journal of internal medicine* 56(5), 569-76, 1999.

Sedej, I., Sakač, M., Mandić, A., Mišan, A., Pestorić, M., Šimurina, O., Čanadanović-Brunet, J. Quality assessment of gluten-free crackers based on buckwheat flour. *LWT-Food Science and Technology*, 44(3), 694-699, 2011.

Vici, G., Belli, L., Biondi, M. & Polzonetti, V. Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clinical Nutrition*, 35(6), 1236-1241, 2016

Yang, H. S., Choi, Y. J., Oh, H. H., Moon, J. S., Jung, H. G., Kim, K. J., Choi, B. S., Lee, J. W. & Hu, C. G. Antioxidative Activity of Mushroom Water Extracts Fermented by Lactic Acid Bacteria. *journal of the korean society of food science and nutrition* 43(1), 80-85, 2014.

Yazynina, E., Johansson, M., Jägerstad, M. & Jastrebova, J. Low folate content in gluten-free cereal products and their main ingredients. *Food Chemistry*, 111(1), 236-242, 2008.

Yoon, H. R., Kim, J. M. & Shin, M. S. Quality and Storage Characteristics of Gluten-free Rice Pound Cakes with Different Ratios of Germinated Brown Rice Flour. *korean journal of food and cookery science. SCI*, 31(6), 781-790, 2015.

Yoon, J. Y. Studies on Identification, Purification and Characteristics of Gluten Degradable Enzyme Isolated from *Lactobacillus paracasei*. *Food Industry and Nutrition*, 22(1), 18-24, 2017.

Yoon, S. S. Review : Distribution, Lactose Malabsorption, and Alleviation Strategies of Lactose Intolerance. *korean journal of dairy science. Technology* 27(2), 55-62, 2009.