

ANIMAL

# Curing of meat batter by indirect treatment of atmospheric pressure cold plasma

Kyung Jo<sup>1</sup>, Juri Lee<sup>1</sup>, Yubong Lim<sup>2</sup>, Jaejun Hwang<sup>2</sup>, Samooel Jung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Animal and Dairy Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

<sup>2</sup>Plasmapp Co., Ltd., Daejeon 34127, Korea

\*Corresponding author: samooel@cnu.ac.kr

## Abstract

Nitrite is an essential additive for cured meat product. Plasma is ionized gas and reactive nitrogen species in plasma can be infused into meat batter and subsequently generate nitrites by reaction with water molecules after plasma treatment. However, the increase of nitrite in meat batter is limited with direct treatment of atmospheric pressure cold plasma because of the increase of meat batter temperature. Therefore, this study investigated the influence of indirect treatment of atmospheric pressure cold plasma on the physicochemical properties of meat batter. Meat batter was indirectly treated with plasma at 1.5 kW for 60 min. The pH of meat batter decreased while the temperature increased with plasma treatment time. The total aerobic bacterial count of meat batter was not affected by plasma treatment. The nitrite content of meat batter was increased to 377.68 mg/kg after 60 min of plasma treatment. The residual nitrite content of cooked meat batter also increased with plasma treatment time. The CIE a\* - value of cooked meat batter increased. As plasma treatment time increased, lipid oxidation tended to increase and protein oxidation significantly increased. According to these results, the indirect treatment of atmospheric pressure cold plasma can be used as a new curing method for replacing synthetic nitrite salts.

**Keywords:** atmospheric pressure plasma, nitrite, curing, meat batter



 OPEN ACCESS

**Citation:** Jo K, Lee J, Lim Y, Hwang J, Samooel Jung. 2018. Curing of meat batter by indirect treatment of atmospheric pressure cold plasma. Korean Journal of Agricultural Science 45:94-104.

**DOI:** <https://doi.org/10.7744/kjoas.20170069>

**Editor:** Woo Kyun Kim, University of Georgia, USA

**Received:** October 23, 2017

**Revised:** November 20, 2017

**Accepted:** November 29, 2017

**Copyright:** © 2018 Korean Journal of Agricultural Science.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## Introduction

식육은 양질의 단백질뿐만 아니라 지방, 비타민 및 미네랄을 함유하고 있는 영양적인 식품이며, 식육의 관능적 특성, 저장성 및 편의성 증진 등의 목적을 위해 가공된 식육가공식품의 소비량이 점차 증가하고 있다(Lee et al., 2015; Kim et al., 2016). 염지(curing)는 소금 및 아질산염을 포함한 다양한 첨가물을 이용하여 식육 및 식육가공식품의 관능적 특성 및 보존성을 증진시키는 공정이다(Sindelar et al., 2007). 염지식육가공식품(cured meat product)에 필수적으로 이용되는 아질산염(nitrite)은 염지 육색 및 풍미를 발현시키고, 지질산패를 억제하며, 병원성 미생물 특히 *Clostridium botulinum* 제어에 효과적인 것으로 보고되고 있다(Sindelar and Milkowski, 2012, Lee et al., 2018). 일반적으로 염지식육가공식품 제조를 위해 아질산나트륨(NaNO<sub>2</sub>)이나 아질산칼륨(KNO<sub>2</sub>) 형태의 합성 아질산염이 사용되고 있으며, 셀러리 분말과 같이 셀러리 내에

존재하는 질산이온을 아질산 이온으로 환원시켜 제조된 천연 아질산 첨가물 또한 이용되고 있다(Sebranek and Bacus, 2007). 그러나 합성 첨가물에 대한 소비자의 부정적인 인식 증가로 인해 합성 아질산염 이용에 대한 재고가 필요할 뿐만 아니라, 천연 아질산 첨가물 이용의 경우도 천연물 자체의 풍미로 인해 염지식육가공식품의 관능적 품질 저하 문제가 보고되고 있다(Krause et al., 2011; Jung et al., 2015).

최근 염지식육가공식품 제조 시 합성 또는 천연 아질산 첨가물의 이용을 대체하기 위한 방법으로 대기압 저온 플라즈마(atmospheric pressure cold plasma) 기술의 이용 가능성이 제시되었다(Jung et al., 2017a; Jung et al., 2017b; Lee et al., 2018). 플라즈마는 물질의 제 4의 상태로 여겨지는 이온화된 기체로 공간에 상대적 전위차를 주어 분자를 가속시킴에 따라 양이온과 전자로 분리되어 있는 상태를 말한다(Nehra et al., 2008). 플라즈마는 발생되는 조건에 따라 다양하게 구분되는데 대기압 저온 플라즈마는 대기압 상태에서 발생되며 기체의 온도가 실온 정도인 플라즈마를 말한다(Jung et al., 2017b). 기존 연구에 따르면 수용액에 플라즈마 처리시 플라즈마 내 활성질소종(Reactive nitrogen species, RNS)들이 물 분자와 반응하여 아질산 이온이 생성됨이 보고되었다(Oehmigen et al., 2010; Jung et al., 2015; Jung et al., 2017b). 또한 대기압 저온 플라즈마를 수용액이 아닌 식육 균질물에 처리한 결과 플라즈마 처리시간 증가와 함께 식육 균질물 내 아질산 이온의 함량이 증가함이 확인되었으며, 플라즈마 처리된 식육 균질물로 제조된 햄의 품질이 아질산나트륨을 첨가하여 제조된 햄과 비교하여 차이가 없음이 확인되었다(Jung et al., 2017a; Lee et al., 2018). 하지만 Jung et al. (2017a)에 따르면 식육 균질물의 플라즈마를 60분간 처리한 결과 식육 균질물의 온도가 0.2°C에서 20.0°C까지 증가하였으며, Lee et al. (2018)의 연구에서도 식육 균질물의 온도가 플라즈마 처리 60분 후 1.0°C에서 19.4°C로 증가하는 것이 확인되었다. 일반적으로 식육 가공품 제조 공정 중 식육 균질물의 온도 증가는 지질 산패 및 미생물 증식을 촉진할 수 있어 10 - 13°C로 권장된다(Pegg and Boles, 2014). 따라서 식육과 같이 열이 민감한 식품의 플라즈마 처리시 온도 증가의 해결 방안이 요구되고 있다(Pegg and Boles, 2014; Jung et al., 2017a; Lee et al., 2018).

플라즈마 처리된 식품의 온도 증가를 억제하기 위한 방법으로 플라즈마 발생을 위한 전력을 낮춰 플라즈마의 온도를 저하시키는 방법이 있다(Ayan et al., 2009). 하지만 플라즈마 발생 전력이 낮을 때, 플라즈마 생성량이 감소하는 문제점이 보고되고 있다(Wang et al., 2011). Fröhling et al. (2012)에 따르면 열에 민감한 식품의 플라즈마 처리 방안으로 플라즈마 간접 처리 방식을 제시하고 있다. 플라즈마 직접처리 방식은 플라즈마 방전 소스(plasma discharge source)에 식품을 직접적으로 노출시키는 방식이지만, 플라즈마 간접처리 방식은 이와 달리 플라즈마 방전 소스에서 발생된 플라즈마를 이동관을 통해 플라즈마 처리 대상 식품에 처리하는 방식으로 이동 중 플라즈마의 온도가 감소함에 따라 식품의 온도에 미치는 영향이 미비하다(Fröhling et al., 2012).

따라서 본 연구는 플라즈마 간접 처리가 식육 균질물의 특성에 미치는 영향을 평가하기 위해 수행되었으며, 플라즈마 처리 시간에 따른 식육 균질물의 온도, pH, 아질산 이온 함량 및 총 호기성 미생물 수와 식육 균질물의 가열 후 육색, 잔류 아질산 이온 함량, 지질 및 단백질 산패도를 측정하였다.

## Materials and Method

### 식육균질물제조 및 대기압 저온 플라즈마 간접 처리

식육 균질물 제조에 사용된 분쇄 돈육 후지와 등지방은 현지 시장에서 구입 하였다. 돈육(2.6 kg), 지방(0.4 kg), 물(0.2 kg), 소금(2%), 인산염(0.3%), 난백분(0.3%), 설탕(1%), 및 L-아스코르브산나트륨(0.05%)을 food mixer를 이용 혼합하면서 플라즈마를 처리하였다. 본 연구에 이용된 플라즈마 간접 처리 시스템은 전원 공급부(power supply), 플라즈마 발생부(plasma source chamber), 및 식육 균질물 혼합부(food mixer)로 구성되었다(Fig. 1). 플라즈마 소스는 dielectric-barrier discharge를 이용하였으며, electrode 및 ground case 냉각을 위한 냉각관을 구성하여

플라즈마 발생 중 수돗물을 순환 시켜 플라즈마 소스를 냉각시켰다. 플라즈마 소스를 저주파의 파워서플라이에 연결하여 1.5 kw에서 대기상의 공기를 이용하여 플라즈마를 발생시켰으며, 생성된 플라즈마는 순환펌프(circulation pump)에 연결된 플라즈마 공급관을 통해 식육균질물에 처리하였다. 식육균질물 3.2 kg을 혼합하면서 플라즈마 처리하였으며, 플라즈마 처리 중 15분 간격으로 식육 균질물의 각기 다른 3 지점에서 시료를 채취하여 분석에 이용하였다. 식육 균질물의 플라즈마 처리는 총 3번 수행하였다.

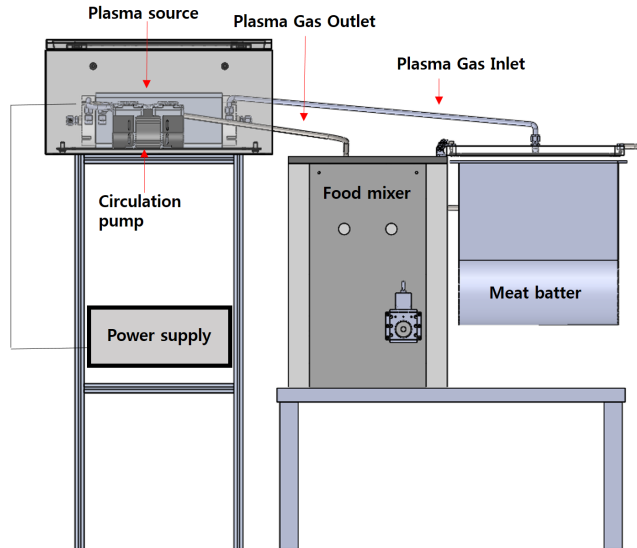


Fig. 1. Atmospheric pressure cold plasma indirect treatment system.

## 온도

식육 균질물의 온도는 Cable probe (thermocouple type K)를 믹서 바닥에 고정 후 디지털 온도계(YF-160A, Koang Yee Enterprise Co., Ltd., Taipei, Taiwan)에 연결하여 플라즈마를 처리하는 동안 15분 간격으로 측정하였다.

## pH

식육 균질물 1 g을 증류수 9 mL과 혼합하여 균질하였다(T25 basic, IKA GmbH & Co. KG, Germany). 균질액은 Whatman No.4 여과지(Whatman, Maidstone, England)를 이용해 여과한 후 pH측정기(SevenEasy, Mettler-Toledo Inti Inc., Schwerzenbach, Switzerland)를 이용해 여과액의 pH를 측정하였다.

## 아질산이온 함량

식육 균질물의 아질산이온 함량 측정은 AOAC method 973.31 (AOAC, 1990)에 따라 측정하였다. 200 mL 메스 플라스크(volumetric flask)에 채취한 시료(10 g)와 온수(80°C) 150 mL을 충분히 섞어 넣는다. 그 후 0.5 M의 수산화 나트륨용액 10 mL과 120 g/L의 황산아연용액 10 mL 넣고 섞어 80°C의 shaking water bath에서 20분간 가열했다. 10분간 냉각 후 100 g/L의 초산암모늄(100 mL/L 암모니아수로 pH를 9.0으로 조정)을 20 mL 넣고 증류수를 넣어 200 mL로 하였다. 용액을 혼합한 후 Whatman No.4 여과지(Whatman, Maidstone, England)를 이용해 여과시켰다. 여과액 20 mL를 25 mL 메스플라스크에 넣고 염산: 물(1 : 1) 용액에 녹인 30 mmol/L 설파닐아미드용액 1 mL과 5 mmol/L 나프틸에틸렌디아민용액 1 mL을 첨가한 후 증류수를 넣어 25 mL로 하였다. 발색을 위해 혼합액을 20분간 방치한 후 분광 광도계(DU@530, Beckman Instruments Inc., CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 미생물 분석

식육 균질물의 미생물 분석을 위해 시료를 플라즈마를 처리하는 동안 15분 간격으로 채취하였으며, 식육 균질물의 총 호기성균수(Total aerobic bacteria count)를 측정하였다. 시료(10 g)와 멸균한 생리 식염수(90 mL)를 stomacher (BagMixer® 400, Interscience Ind., Saint-Nom-la-Bretche, France)를 이용하여 혼합하였다. 멸균 식염수를 사용하여 10배 희석법으로 단계적으로 희석하였다. 각 희석액(0.1 mL)을 solid plate count agar (Difco Laboratories, Detroit, MI)배지에 분주 후 도말하여 37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 미생물 수는 log CFU/g으로 나타내었다.

## 육색

육색 측정을 위한 시료는 플라즈마 처리 15분마다 채취하였다. 시료 30 g을 80°C의 water bath에서 30분간 익힌 후 10분간 냉각하였다. 조리한 식육 균질물의 육색은 색도계(CM\_3500d, Minolta, Japan)를 사용하여 명도(L\*), 적색도(a\*) 및 황색도(b\*)를 측정했다. 시료 표면을 2회 반복하여 측정 후 평균값을 사용하였다.

## 지질 산패도

지질 산패도는 Jung et al. (2016)의 방법에 따라 malondialdehyde를 측정하였다. 시료(3 g)에 증류수 6 mL과 7.2%의 2, 6-di-tert-butyl-4-methylphenol 50µL을 첨가하여 균질기(T25 basic, IKA GmbH & Co. KG, Germany)를 이용하여 균질했다. 균질물 500 µL과 6 M NaOH 200 µL을 마이크로 튜브에 담고 60°C의 water bath에서 45분 가열하고 실온에서 냉각시켰다. 1 mL의 acetonitrile을 첨가한 후 13,000 × g로 10분간 원심분리하여 상층액 1 mL를 0.2 µm PVDF 주사기 필터(Whatman)에 통과시킨 후 여과액을 바이알에 수집하였다. MDA는 Atlantis T3 C18 RP column (4.6 × 250 mm, 5 µm particles)을 사용하여 HPLC (ACME 9000; Younglin Instruments Inc., Daejeon, Korea)로 분석하였으며, 30 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>를 이용해 pH 6.2로 조정)을 이동상으로 사용하였다. 시료 50 µL에 1.2 mL/min의 유속으로 이동상을 주입하였고, 컬럼의 온도는 35°C를 유지하고 UV/VIS 파장은 254 nm을 사용했다. Malondialdehyde의 표준 물질로는 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane solution (3.2 mM)을 사용하였고 malondialdehyde 농도는 mg MDA/kg으로 표시하였다.

## 단백질 산패도

단백질 산패도는 Armenteros et al. (2016)의 방법에 따라 dinitrophenylhydrazine (DNPH)를 이용한 유도체화를 통해 총 카보닐 함량을 측정하였다. 시료(1 g)에 20 mM sodium phosphate buffer에 녹인 0.6 M NaCl (pH 6.5)를 10 mL 넣어 혼합한 후 균질기(T25 basic, IKA GmbH & Co. KG, Germany)를 이용하여 균질했다. 균질물을 각 0.2 mL씩 2 mL 튜브에 담은 후 차가운 10% TCA를 1 mL 넣은 후 10분간 10,000 × g로 원심분리 하였다. 두 개의 침전물 중 하나는 단백질 농도 측정을 위해 2 M HCL 1 mL을 첨가하였으며, 다른 하나는 카보닐 함량 측정을 위해 0.2% 2, 4-DNPH를 1 mL 첨가하였다. 두 개의 시료를 모두 실온에 1시간 두었고 이후 10% TCA를 1 mL 첨가하였다. 카보닐 함량 측정을 위한 시료는 남은 DNPH 제거를 위해 1 : 1 비율의 에탄올 : 에틸아세테이트 1 mL로 두 번 세척하였다. 이후 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.5)에 녹인 6 M guanidine hydrochloric acid를 1.5 mL 첨가하여 용해시키고 혼합 후 5분간 원심분리 하였다. 단백질 농도는 소 혈청 알부민을 기준으로 하여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였고, 카보닐 함량은 단백질 hydrazones 측정을 위해 370 nm에서 21.0 nM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>의 흡광도 계수를 이용하여 단백질의 nmol carbonyls mg<sup>-1</sup>로 나타냈다.

## 통계분석

본 연구는 3반복으로 수행되었으며 분석 결과를 완전 임의 배치법(randomized complete block design, batch as a block) 하에 일반선형모형(general linear model)을 이용하여 통계분석 하였다. 통계 분석의 주효과는 플라즈마 처리시간으로 설정하였다. 분석 결과는 평균값(least-square mean) 및 평균값의 표준오차(standard error of the least-square means)로 나타내었으며, 주효과에 대한 유의성은 검정은 Tukey의 다중검정법을 이용하였다( $p < 0.05$ ). 통계 분석은 SAS 프로그램(version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 사용하였다.

## Results and Discussion

### 식육 균질물의 온도 및 pH 변화

플라즈마 간접 처리 중 식육 균질물의 온도는 플라즈마 처리 시간이 증가할수록 유의적으로 증가하여, 플라즈마 처리 60분 후 식육 균질물의 온도가 2.10°C에서 20.0°C로 증가하였다(Table 1). 이는 플라즈마 발생 시 전자와 분자의 비탄성 충돌로 인해 가스 온도가 증가하고 식육 균질물의 온도 보다 높은 온도의 가스가 식육 균질물에 흡수됨에 따른 결과이다(Van Durme et al., 2008). Jung et al. (2017a)에 따르면 플라즈마 직접처리 방식을 통해 식육 균질물을 60분간 처리시 식육 균질물의 온도가 20.0°C까지 증가함을 보고하였다. 본 연구에서 플라즈마 간접 처리 방식을 이용하였음에도 식육 균질물의 온도가 기존 연구와 동일하게 증가하였는데 이는 플라즈마 발생 전력 차이에 따른 결과로 생각된다. 본 연구에서 3 kg의 식육 균질물에 플라즈마 간접 처리 시 플라즈마 발생 전력은 1500 W 였다. 하지만 Jung et al. (2017a)의 연구에서 3 kg의 식육 균질물을 플라즈마 직접 처리 시 플라즈마 발생 전력은 600 W로 본 연구의 1500 W 보다 낮았다. Ayan et al. (2009)에 따르면 플라즈마 발생 전력이 증가할수록 플라즈마의 온도가 증가한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 높은 플라즈마 발생 전력을 이용하였음에도 식육 균질물의 온도 증가가 Jung et al. (2017a)의 결과와 동일 한 것은 플라즈마 간접 처리를 통해 식육 균질물의 온도 증가가 플라즈마 직접 처리와 비교하여 억제된 결과라고 할 수 있다.

**Table 1.** Temperature, pH, and total aerobic bacteria of meat batter after indirect treatment of atmospheric pressure plasma.

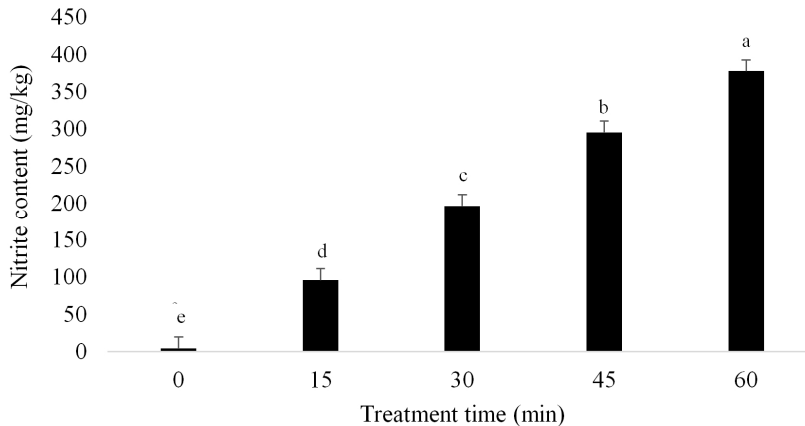
Time (min)	Temperature (°C)	pH	Total aerobic bacteria (log CFU/g)
0	2.10c	6.11a	3.42
15	6.67c	6.06a	3.38
30	13.43b	6.00b	3.35
45	17.67ab	5.92c	3.42
60	20.00a	5.84d	3.41
SEM*	1.08	0.014	0.037

a - d: Different letters within the same column represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

\*Standard error of the least square mean ( $n = 15$ ).

플라즈마 처리 전 식육 균질물의 pH는 6.11이었으며, 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 식육 균질물의 pH가 유의적으로 감소하여 플라즈마 처리 60분후 5.84까지 감소함이 나타났다(Table 1). Jung et al. (2017a)은 식육 균질물에 플라즈마를 처리하였을 때 처리 시간에 따라 pH가 감소함을 보고하였다. 이는 플라즈마를 처리 후 플라즈마 내 활성질소종들이 물 분자와 반응하여 아질산(nitrous acid,  $\text{HNO}_2$ )과 질산(nitric acid,  $\text{HNO}_3$ )을 생성하며 아질산과 질산이 이온화 됨에 따라 수소이온이 생성되기 때문이다(Jung et al., 2015). Lee et al. (2018)은 인산염이 첨가된 식육 균질물에 플라즈마 처리 시 인산염의 버퍼링 효과로 인해 식육 균질물의 pH 변하지 않음을 확인하였다. 하지

만 본 연구에서 식육 균질물에 인산염이 포함되어 있음에도 pH가 감소한 이유는 높은 전력(1500 W)을 통해 플라즈마가 다량 생산됨에 따라 식육 균질물 내 아질산 이온 생성량이 Lee et al. (2018)의 연구보다 높음에 따른 결과로 생각된다(Fig. 2).



a - e: Different letters represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 2.** Nitrite content of meat batter after indirect treatment of atmospheric pressure plasma.

### 식육 균질물 내 아질산 이온 함량 변화

아질산 이온 생성을 위한 플라즈마 내 주요 물질은 활성질소종( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ , 및  $\text{N}_2\text{O}_5$ )으로 활성질소종들이 물 분자와 반응하여 아질산 이온이 생성된다(Jung et al., 2017b; Oehmigen et al., 2010). 본 연구에서 플라즈마 처리 시간 증가와 함께 식육 균질물 내 아질산 이온 함량이 유의적으로 증가함이 확인 되었으며, 플라즈마 처리 60 분 후 식육 균질물 내 아질산 이온 함량은 377.68 mg/kg으로 나타났다(Fig. 2). 본 결과는 기존의 연구결과와 일치하는 결과로 Jung et al. (2017a) 및 Lee et al. (2018)의 연구에서도 플라즈마 처리시간 증가와 함께 식육 균질물 내 아질산 이온 함량이 유의적으로 증가함이 확인되었다. Jung et al. (2017a) 및 Lee et al. (2018)에 따르면 플라즈마 30분 처리 후 식육 균질물 내 아질산 이온 함량이 각각 65.96 mg/kg 및 42.42 mg/kg 라고 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 플라즈마 처리 30분 후 식육 균질물 내 아질산 이온 함량이 196.54 mg/kg으로 기존 연구와 비교하여 아질산 이온이 약 2.98배 및 4.63배 높게 생성되었다. Wang et al. (2011)은 플라즈마 방출 전력이 높을 때 플라즈마 발생량이 증가한다고 보고하였다. 따라서 Jung et al. (2017a) 및 Lee et al. (2018)의 연구에서 플라즈마 발생 전력이 600 W 였으나, 본 연구의 경우 1500 W에서 플라즈마가 발생됨에 따라 활성질소종을 포함한 플라즈마 발생량이 많아 아질산 이온이 더 높게 생성된 것으로 생각된다.

염지식육가공식품 제조 시 아질산염 최소 첨가량은 규정하고 있지 않지만, 각 국가별 최대 첨가량을 규정하고 있다. 우리나라의 경우 염지식육가공식품 내 아질산 이온 잔존량을 70 mg/kg으로 규정하고 있으며, 미국의 경우 분쇄 육제품의 경우 아질산나트륨 첨가량을 156 mg/kg 미만으로 규정하고 있다(KFDA, 1999; Sebranek, 2009). 염지식육가공식품 내 아질산 이온의 기능을 고려하였을 때 2 - 14 ppm의 아질산 이온 함량으로 염지 육색의 발현이 가능하며, 최소 40 - 50 ppm의 아질산염을 첨가하여야 효과적인 염지 풍미 발현과 함께 지질 산패가 억제되는 것으로 보고되고 있다(Sebranek and Bacus, 2007). 하지만 *Clostridium botulinum* 제어를 통한 안전성 확보를 위해서는 첨가 허용량 수준으로 아질산염을 이용할 것을 권고하고 있다(Sebranek and Bacus, 2007; Sebranek, 2009). 따라서 플라즈마 기술을 염지 방법으로 이용하기 위해서는 플라즈마 처리를 통해 첨가 허용량 수준까지의 아질산 이온 생성이 요구된다. 하지만 Jung et al. (2017a) 및 Lee et al. (2018)의 연구에서 플라즈마 처리에 따른 식육 균질물의

도 증가에 기준을 두어 식육 균질물의 온도가 10°C를 넘어가는 시간을 적정 플라즈마 처리 시간으로 함에 따라 최대 아질산 이온 생성량이 각각 65.96 mg/kg 및 42.42 mg/kg으로 아질산염 첨가 허용량과 비교하여 매우 낮은 수준이었다. 하지만 본 연구의 결과 플라즈마 처리 15분 후 식육 균질물의 온도 및 아질산 이온 함량이 6.67°C 및 96.07 mg/kg으로 기존 연구들과 비교하여 짧은 처리시간 및 식육 균질물의 낮은 온도증가와 함께 더 많은 아질산 이온 생성이 가능함이 확인되었다.

## 총 호기성균

플라즈마 특히 대기압 저온 플라즈마는 비가열 살균 방법으로 알려져 있다. 플라즈마 내에는 다양한 활성산소종들이 존재하는데 플라즈마 처리시 활성산소종들이 미생물의 세포벽을 붕괴시키거나 미생물 세포벽을 통해 흡수된 후 DNA를 포함한 단백질을 변성시켜 미생물을 사멸시키는 것으로 보고되고 있다(Moisan et al., 2001). 기존 연구에 따르면 계육, 우육, 돈육 및 식육가공식품에 플라즈마 처리시 다양한 병원성 미생물을 불활성화 시킴이 보고되고 있다(Jung et al., 2017b; Misra et al., 2011). 그러나 본 연구에서 플라즈마 처리 시간에 따른 총 호기성 미생물 수에 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 1). 본 연구의 결과는 기존 연구의 결과와 동일하였는데, Jung et al. (2017a)과 Lee et al. (2018)의 연구에서도 식육 균질물에서 플라즈마 처리를 통한 총 호기성균 수의 감소는 나타나지 않았다. 플라즈마 처리를 통한 항균 활성은 플라즈마의 전력, 방전 가스의 조성, 방전 층과 미생물간의 거리 및 노출 시간에 따라 달라지게 된다(Afshari and Hosseini, 2013). 플라즈마 내 주요 항균활성 물질은 활성 산소종이며, 활성산소종들의 활성 주기는 2.7  $\mu$ s이하로 보고되고 있다(Attri et al. 2015). Jung et al. (2017a)에 따르면 식육 균질물과 플라즈마 방전부의 거리가 20 cm 이상이기 때문에 플라즈마 처리가 항균효과를 보이지 못하였다고 보고하였다. 본 연구에서는 플라즈마를 간접 처리함에 따라 플라즈마가 식육 균질물에 흡수 전 일부 활성산소종들이 소멸되었을 뿐만 아니라 식육균질물을 혼합하면서 플라즈마를 처리함에 따라 활성산소종에 대한 미생물의 노출 시간이 부족하였기 때문으로 생각된다.

## 육색

플라즈마 처리된 식육 균질물의 가열 후 육색을 측정한 결과 명도(L\*)는 플라즈마 처리 시간에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Table 2). 하지만 적색도(a\*)는 플라즈마를 처리하지 않은 식육 균질물과 비교하여 플라즈마 처리 시 유의적으로 증가하였으며, 플라즈마 처리 시간에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이는 플라즈마 처리를 통해 식육 균질물 내에 아질산 이온이 생성되어 염지 육색이 발현되었기 때문이며, 기존의 연구에서도 플라즈마 처리된 식육 균질물의 가열 시 염지 육색이 발현되어 적색도가 증가함이 보고되었다(Jung et al., 2017a). 식육균질물 내 아질산 이온(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)은 단계적 반응을 통해 아질산(HNO<sub>2</sub>)이 되며, 아질산은 삼산화 이질소

**Table 2.** Color of cooked meat batter after indirect treatment of atmospheric pressure plasma.

Time (min)	L* value	a* value	b* value
0	67.85	1.62b	13.66ab
15	67.97	7.57a	11.06d
30	67.79	7.57a	11.98cd
45	67.62	7.62a	12.74bc
60	67.21	7.55a	14.85a
SEM*	0.494	0.356	0.331

a - d: Different letters within the same column represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

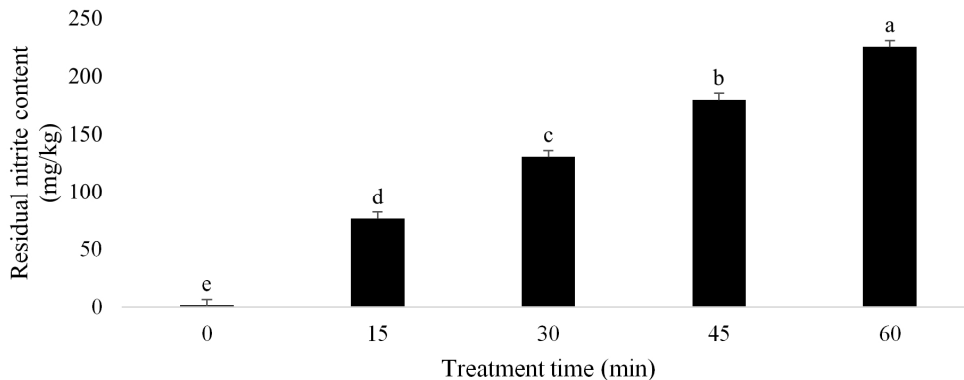
\*Standard error of the least square mean ( $n = 15$ ).

( $N_2O_3$ ) 생성 또는 oxymyoglobin ( $Fe^{2+}$ )의 metmyoglobin ( $Fe^{3+}$ )으로 산화 반응을 거쳐 최종적으로 일산화질소(NO)을 생성하게 되고, 일산화질소가 myoglobin에 결합됨에 따라 가열 후 nitrosylhemochrome 생성을 통해 염지 육색인 분홍빛을 나타내게 된다(Sebranek, 2009). 황색도( $b^*$ )는 플라즈마 처리 15분부터 60분까지 처리 시간이 증가함에 따라 증가하였고, 플라즈마 처리 60분에서 14.85로 가장 높게 나타났다. 그러나 플라즈마를 처리하지 않은 군과 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다.

### 잔류 아질산염 함량

식육가공식품 제조 시 첨가된 아질산염은 일부분 일산화질소로 전변되어 마이오글로빈, sulphhydryl group, 지질 및 단백질과 결합하여 염지 육색 및 풍미 발현, 지질 및 단백질 산패 억제 등의 기능을 한다(Ferreira et al., 2008). 일산화질소로의 아질산 이온의 전변은 식육 균질물의 pH, 가공 조건, 저장 시간 및 가열 온도 등에 영향을 받으며, 일부 아질산 이온은 일산화 질소로 전변되지 않고 식육가공식품 내에 잔류하여 식육가공식품의 저장 중 미생물 증식을 억제하는 기능을 한다(Sen and Baddoo, 1997).

플라즈마 처리된 식육균질물의 가열 후 잔류 아질산 이온 함량을 측정한 결과 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 이는 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 식육균질물 내 생성된 아질산 이온이 증가함에 따른 결과로 생각된다. 기존 연구에 따르면 식육가공식품 제조에 첨가된 아질산염의 함량이 증가함에 따라 잔류 아질산 이온 함량이 증가함이 보고되었다(Horsch et al., 2014).



a - e: Different letters represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 3.** Residual nitrite content of cooked meat batter after indirect treatment of atmospheric pressure plasma.

### 지질 산패도 및 단백질 산패도

플라즈마 처리된 식육 균질물의 가열 후 지질 산패도를 측정한 결과 지질 산패에 의해 생성되는 물질인 malondialdehyde의 함량이 플라즈마 처리시간 증가에 따른 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났지만 플라즈마 처리 45분 후부터 증가하는 경향을 보였다( $p = 0.09$ , Table 3). 단백질 산패 생성물인 carbonyl 함량 측정결과 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 carbonyl 함량이 유의적으로 증가하여 플라즈마 처리가 식육 균질물의 단백질을 산패 시키는 것으로 나타났다. 플라즈마 내에 존재하는 활성산소종은 플라즈마의 미생물 제어 효과의 주요 물질이지만 식육의 지질 및 단백질 산패를 일으키는 물질로 보고되고 있다(Falowo et al., 2014; Jung et al., 2017b). Jayasena et al. (2015)과 Kim et al. (2011)은 돈육, 우육 및 베이컨에 플라즈마 처리 후 지방 산패가 증가하였다고 보고하였다. 하지만 Jung et al. (2017a)과 Lee et al. (2018)에 따르면 플라즈마 처리가 식육 균질물 및 플라즈마 처리된 식육 균질물로 제조된 햄의 지질 및 단백질 산패에 미치는 영향이 없다고 보고하여 본 연구의 결과와는 상반되었다. 이



는 기존 연구의 결과 식품의 지질 산패가 플라즈마 처리 시간 및 플라즈마 전력 증가에 비례함이 확인되었는데 (Rød et al., 2012), 본 연구의 경우 높은 플라즈마 전력으로 인해 지질 산패가 증가하는 경향과 단백질 산패의 증가 결과가 나타난 것으로 생각된다. 지질 산패 및 단백질 산패는 식육의 변색 및 산패취를 발생시킬 뿐만 아니라 산패 생성물이 건강해 해로운 작용을 할 수 있음에 따라 식육의 관능적 및 영양적 품질 저하를 일으킨다(Falowo et al., 2014). 하지만 본 연구에서 플라즈마 처리 45분 후부터 지질 산패의 증가 경향이 나타나고 플라즈마 처리 60분 하였을 때 단백질 산패가 유의적으로 증가하였는데, 아질산 이온 생성량을 고려하였을 때 최대 플라즈마 처리시간이 30분 미만으로 플라즈마 처리에 따른 지질 및 단백질 산패의 문제가 없을 것으로 생각된다.

**Table 3.** Malondialdehyde and carbonyl content of cooked meat batter after indirect treatment of atmospheric pressure plasma.

Time (min)	Malondialdehyde content (mg/kg)	Carbonyl content (nmol/mg)
0	0.55	0.59b
15	0.54	0.65b
30	0.55	0.74ab
45	0.63	0.75ab
60	0.71	0.87a
SEM*	0.048	0.044

a, b: Different letters within the same column represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

\*Standard error of the least square mean. (n = 15).

## Conclusion

대기압 저온 플라즈마를 식육 균질물에 간접 처리한 결과 식육 균질물에 낮은 온도 증가와 함께 효과적으로 아질산 이온이 생성됨이 확인되었다. 또한 식육 균질물의 가열 후 염지 육색이 발현됨을 확인하였다. 따라서 본 연구의 결과 대기압 저온 플라즈마 간접처리 방법은 합성 아질산염을 대체할 수 있는 염지 기술로서 식육가공식품 산업에 이용이 가능할 것으로 생각된다.

## Acknowledgements

본 연구는 농림식품기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업(115014-03-2-HD020)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

## References

- Afshari R, Hosseini H. 2013. Non-thermal plasma as a new food preservation method, Its present and future prospect. *Journal of Paramedical Sciences* 5:116-120.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1990. Nitrites in cured meats Official Method 973.31 Official methods of analysis (15th ed.). Arlington, VA, USA.
- Armenteros M, Morcuende D, Ventanas J, Estevez M. 2016. The application of natural antioxidants via brine injection protects Iberian cooked hams against lipid and protein oxidation. *Meat Science* 116:253-259.
- Attri P, Kim YH, Park DH, Park JH, Hong YJ, Uhm HS, Kim KN, Fridman A, Choi EH. 2015. Generation mechanism of hydroxyl radical species and its lifetime prediction during the plasma-initiated ultraviolet (UV) photolysis. *Scientific*

reports 5:9332.

- Ayan H, Fridman G, Staack D, Gutsol AF, Vasilets VN, Fridman AA, Friedman G. 2009. Heating effect of dielectric barrier discharges for direct medical treatment. *IEEE Transactions on Plasma Science* 37:113-120.
- Falowo AB, Fayemi PO, Muchenje V. 2014. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International* 64:171-181.
- Ferreira, IMPLVO, Silva S. 2008. Quantification of residual nitrite and nitrate in ham by reverse-phase high performance liquid chromatography/diode array detector. *Talanta* 74:1598-1602.
- Fröhling A, Durek J, Schnabel U, Ehlbeck J, Bolling J, Schlüter O. 2012. Indirect plasma treatment of fresh pork: Decontamination efficiency and effects on quality attributes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 16:381-390.
- Horsch AM, Sebranek JG, Dickson JS, Niebuhr SE, Larson EM, Lavieri NA, Ruther BL, Wilson LA. 2014. The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. *Meat Science* 96:400-407.
- Jayasena DD, Kim HJ, Yong HI, Park S, Kim K, Choe W, Jo C. 2015. Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. *Food Microbiology* 46:51-57.
- Jung S, Kim HJ, Park S, Yong HI, Choe JH, Jeon HJ, Choe W, Jo C. 2015. The use of atmospheric pressure plasma-treated water as a source of nitrite for emulsion-type sausage. *Meat Science* 108:132-137.
- Jung S, Lee CW, Lee J, Yong HI, Yum SJ, Jeong HG, Jo C. 2017b. Increase in nitrite content and functionality of ethanolic extracts of *Perilla frutescens* following treatment with atmospheric pressure plasma. *Food Chemistry* 237:191-197.
- Jung S, Lee J, Lim Y, Choe W, Yong HI, Jo C. 2017a. Direct infusion of nitrite into meat batter by atmospheric pressure plasma treatment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 39:113-118.
- Jung S, Nam KC, Jo C. 2016. Detection of malondialdehyde in processed meat products without interference from the ingredients. *Food Chemistry* 209:90-94.
- KFDA (Korean Food and Drug Administration). 1999. Official Book for Food. p 200. Seoul, Korea.
- Kim B, Yun H, Jung S, Jung Y, Jung H, Choe W, Jo C. 2011. Effect of atmospheric pressure plasma on inactivation of pathogens inoculated onto bacon using two different gas compositions. *Food Microbiology* 28:9-13.
- Kim SH, Kim HJ, Lee HJ, Yong HI, Jo C, Nam KC, Jung S. 2016. The effect of aging on the quality of Semimembranosus muscle from Hanwoo. *Korean Journal of Agricultural Science* 43:61-71.
- Krause BL, Sebranek JG, Rust RE, Mendonca A. 2011. Incubation of curing brines for the production of ready-to-eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. *Meat Science* 89:507-513.
- Lee HL, Koo B, Choi S, Sung SH, Park JH, Lee CW, Jo C, Jung S. 2015. Quality property of the smoked breast meat produced with fresh and frozen-thawed duck meat. *CNU Journal of Agricultural Science* 42:131-139.
- Lee J, Jo K, Lim Y, Jeon HJ, Choe JH, Jo C, Jung S. 2018. The use of atmospheric pressure plasma as a curing process for canned ground ham. *Food Chemistry* 240:430-436.
- Misra NN, Tiwari BK, Raghavarao KSMS, Cullen PJ. 2011. Nonthermal plasma inactivation of food-borne pathogens. *Food Engineering Reviews* 3:159-170.
- Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia LH. 2001. Low-temperature sterilization using gas plasmas: A review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics* 226:1-21.
- Nehra V, Ashok K, Dwivedi HK. 2008. Atmospheric non-thermal plasma sources. *International Journal of Engineering* 2:53-68.

- Oehmigen K, Hähnel M, Brandenburg R, Wilke C, Weltmann KD, Von Woedtke T. 2010. The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids. *Plasma Processes and Polymers* 71:250-257.
- Pegg RB, Boles JA. 2014. Production procedures. pp. 442-452. In *Encyclopedia of Meat Sciences* no.1, edited by M. Dikeman, C. Devine. Elsevier, NY, USA.
- Rød SK, Hansen F, Leipold F, Knøchel S. 2012. Cold atmospheric pressure plasma treatment of ready-to-eat meat: Inactivation of *Listeria innocua* and changes in product quality. *Food Microbiology* 30:233-238.
- Sebranek JG, Bacus JN. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: What are the issues? *Meat Science* 77:136-147.
- Sebranek JG. 2009. Basic curing ingredients. pp. 1-23. In *Ingredients in meat products*. Springer. NY, USA.
- Sen NP, Baddoo PA. 1997. Trends in the levels of residual nitrite in Canadian cured meat products over the past 25 years. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:4714-4718.
- Sindelar JJ, Cordray JC, Sebranek JG, Love JA, Ahn DU. 2007. Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science* 72:388-395.
- Sindelar JJ, Milkowski AL. 2012. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide* 26:259-266.
- Van Durme J, Dewulf J, Leys C, Van Langenhove H. 2008. Combining non-thermal plasma with heterogeneous catalysis in waste gas treatment: A review. *Applied Catalysis B: Environmental* 78:324-333.
- Wang X, Yang Q, Yao C, Zhang X, Sun C. 2011. Dielectric barrier discharge characteristics of multineedle-to-cylinder configuration. *Energies* 4:2133-2150.