

【原著論文(一般論文)】

湿塩漬法によるラックスハム製造過程における肉組織への細菌類侵入

矢島 絢介¹, 鈴木 崇広², 長谷川 靖洋², 前田 尚之², 岩崎 智仁², 山口 昭弘²

¹ 大山春雪さぶーる株式会社 早来工場, 北海道勇払郡安平町, 059-1433

² 酪農学園大学 食と健康学類 北海道江別市, 069-8501

要 約

食肉表面に細菌を接種し、静置したところ細菌が食肉表面に留まらず、肉組織の内部に侵入することが以前から報告されており、表面のみ殺菌することでは不十分であることが指摘されている。しかし、食肉を加工し食肉製品とする段階では細菌がどのような挙動を示すのかは明らかにされていない。そこで本研究では、日本で日常的な食品となった生ハムに代表されるラックスハムをモデルとし、製法として一般的な湿塩漬法の過程で菌体がどのような挙動を示すのかを明らかにすることを目的とした。食塩 15% (w/w)、亜硝酸ナトリウム 0.05% (w/w)、アスコルビン酸ナトリウム 0.1% (w/w)、スターター 1% (w/w) の調味液で原料豚肉を 7 日間、5°C 以下の環境で塩漬した。塩漬肉を 3 層に分けて培養したところ、一般生菌数は肉表面から深さ 2 cm 以遠の深さで 556 ± 776 (Mean \pm SD) CFU/g の菌数が計測され、肉の表面に向けて菌数が多くなることが確認された。検出されたコロニーの DNA 塩基配列解析を行ったところ、添加したスターター菌に含まれるグラム陽性球菌である *Mammaliicoccus vitulinus*, *Staphylococcus carnosus* などが同定された。グラム染色により、肉の表面から深さ 1 cm までの試料において、グラム陽性球菌が筋線維間の空隙に留まっていることが観察された。この結果から、湿塩漬時に肉組織内に調味液成分が浸透することによって筋線維間の空隙を侵入路として、菌体が食肉内部に侵入することが示唆された。

食肉の科学 65(1), 31-37, 2024

キーワード：微生物汚染, 非加熱食肉製品, ラックスハム

1. 緒 言

日本では 2011 年 4 月、牛肉の生食を行うユッケを原因食品とした腸管出血性大腸菌 (O111 など) による食中毒が発生し、死者 5 名を発生させる事態となった。以来、牛肉の生食には表面から 1 cm の深さまで 60°C で 2 分間以上の加熱処理を実施することに加えて、肉を端から 1 cm ほどトリミングにより除去しなければならないと規定された¹⁾。一方で、細菌類は食肉の内部に侵入するという報告があり²⁾、肉表面を対象としたトリミングや加熱処理だけでは食品安全上の危害を取り除くことができない可能性が示唆されている。家禽肉を用いた先行研究の中で、*Pseudomonas putida*, *P. fragi*, *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* が筋肉隔壁に沿って組織内部へ侵入することが報告されている³⁾。最近の研究事例で、鶏胸肉を用いて *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* による細菌類の侵入について、筋線維の方向がその移動に影響し

ていることを報告しており⁴⁾、組織学的な見地からも侵入機構の解明が進んでいる。表面付着、もしくは表面に近い深さに分布する菌類について、洗浄時に強い圧力をかけて除去する先行研究もあるが、過度な高圧により組織内に菌体が入り込む可能性も報告されており⁵⁾、工業的に制御することは難しいものと思われる。

類似した先行研究では未加工の原料肉に対して菌液を播種した後の侵入について分析したものが多く、加工過程が菌類の侵入への影響について検討した研究事例は少ない。日本で流通する食肉製品の非加熱喫食する代表的な食品として生ハムがあげられる。1982 年 5 月に非加熱食肉製品の規格基準が告示されて以来、多くが農林規格上のラックスハムに分類される⁶⁾。ラックスハムはその質感や味わいから、日本では約 30 年間にわたって消費量が増加し続けている⁷⁾。ラックスハムは塩漬により水分活性を低下させることで一定期間の保存が可能になり、非加熱喫食が可能となっている。先行研究では、

ラックスハムの製造においては原料肉を塩漬、冷燻、乾燥と工程が進むにつれて、水分活性が低下し一般生菌数が減少すると報告されている⁸⁾。しかし、*S. aureus* を肉の表面と内部に接種後、8%の食塩と0.02%の亜硝酸塩で65日間塩漬し、塩漬肉の水分活性が0.90に低下したもので表面、内部ともに生菌数減少が見られなかったとも報告されており⁹⁾、低い水分活性でも生育可能で耐塩性のある菌類による汚染が生じた場合、菌種によっては品質を損なう可能性がある。以上のことから、加工過程で菌類を肉内部に侵入させてしまうことは、品質に影響を与える可能性があり、病原性の高い菌類の場合は安全性に関わる可能性がある。

ラックスハムの塩漬方法には乾塩漬法および湿塩漬法の2通りがあるが、本研究では湿塩漬法に着目した。湿塩漬法の過程では、高塩濃度の調味液中に食肉を漬け込みすることにより、細胞外の浸透圧を上昇させて、細胞内の水分を出すことで保存性を向上させる。調味液中の材料が肉中に浸透して塩漬工程が進行するが、この過程で調味液中に菌類が混入していれば、混入した菌類がどのような挙動を示すのか検討した先行研究は殆どない。一般に漬け込み期間は数日間から数週間に及び、肉中に浸透するリスクは高いと考えられる。また、衝撃波を与えるなど、物理的な負荷を与えた場合の菌類の侵入を評価した先行研究は報告されているものの¹⁰⁾、物理的な負荷を与えずに調味液に漬け込み静置する加工条件における菌類の侵入について調査した事例は殆どない。

本研究では、最終製品の品質・安全性に影響を及ぼす、肉内部への細菌類の侵入を評価するため、食肉製品用のスターターカルチャーを使用し塩漬肉を作製した。出来上がった塩漬肉の標準寒天培地を用いた平板培養法による生菌数の測定、分離したコロニーの同定およびグラム染色法を用いた菌類の染色により肉内部への侵入について確認することを目的とした。

2. 実験方法

2-1. 試料

(1) 豚肉

日本国内で製造し市場に流通するラックスハムの多くが海外原料を使用している。本実験では、と畜後、3ヵ月以上凍結保管したデンマーク産豚ロース肉の中でも、脂肪の交雑が少ないものを原料として使用した。使用したロース肉のpHは5.58であった。大分割時に第4肋骨から第5肋骨の間をカットしたロース肉を用意し、尻側から450～600gの重量に

切り分けたものを用意した。

(2) 菌液

本試験にて使用する菌液調製は、食肉製品製造粉末状スターター (Auracarn CX1, AURAPA Würzungen GmbH, Germany) を選択しておこなった。このスターターの特徴は低温に強く耐塩性があるため試料を腐敗させる可能性が低い。菌液はスターター粉末を滅菌水で希釈して菌数が $10^{10} \sim 10^{12}$ CFU/gとなるよう調製したものをを用いた。

(3) 塩漬

分割肉片について Table 1 に示した2種類の調味液に、肉重量の同量となるようにしてステンレス製のボウル内で塩漬した。調味液の配合に使用した成分については、食塩 (株式会社日本海水)、亜硝酸ナトリウム、L-アスコルビン酸ナトリウム (関東化学株式会社) はそれぞれ特級試薬を使用した。分割肉片については凍結したまま塩漬期間は開始日を含まず7日間として、冷蔵庫内温度は4.5°Cに設定し、食品衛生法の非加熱食肉製品の製造基準である肉の中心温度が5°C以下となるようにした。なお、使用前の調味液については5回調製し、スターター添加区的一般生菌数は $10^7 \sim 10^8$ CFU/mLであり、スターター非添加区ではいずれもコロニー不検出であった。

(4) 塩漬肉の分割

塩漬が完了した塩漬肉について、肉の表面から1cmまでの部分塩漬肉、表面から1～2cmの部分塩漬肉、表面から2cm以上深部にある塩漬肉の中心部の3つに切り分けた。なお、切り分ける前に塩漬肉を70%エタノールに3分間浸漬し、1%次亜塩素酸ナトリウムに3分間浸漬、その後、滅菌水で1分間浸漬を3回繰り返す殺菌処置を実施した。処理前後の塩漬肉の表面について、フキトレール (株式会社セントラル科学貿易) を用いて拭き取りし、拭き取り液は標準寒天培地 (Merck KGaA) で培養した。また、凍結解凍の繰り返しが筋線維間の空隙の大きさに影響を与えると報告されていることため¹¹⁾、試料の凍結は輸入時と塩漬終了時の2回に統一した。

Table 1. Chemical composition of various brine solutions.

Content (%)	With starter	Without starter
Water	83.85	84.85
Salt	15.00	15.00
Sodium L-ascorbate	0.10	0.10
NaNO ₂	0.05	0.05
Starter	1.00	0.00

2-2. 塩漬肉の分析

(1) 水分活性と塩分濃度の測定

水分活性は、フードカッターで塩漬肉を細切りし、脂肪やスジを除去した赤肉のみを測定セル内に詰め、露点法を原理とした水分活性測定器 (AquaLab 4TE, METER Group, Inc.) を使用した。なお、測定器のチャンバー内は 25°C に設定した。塩分濃度は、電量滴定法を原理とした SAT-500 (東亜ディーケー株式会社) を用いて測定した。

(2) 生菌数の測定

生菌数は、10 倍段階希釈した試料液について標準寒天培地を用いて混釈し、寒天が固まった後に 35°C で 48 時間培養した。コロニーカウンターにて形成したコロニー数を計測し、希釈倍率に乗じて一般生菌数とした。

(3) 塩漬肉内部から検出された菌種の DNA 塩基配列解析

標準寒天培地に形成した 1 試料につき 5 個のコロニーについて滅菌綿棒 (川本産業株式会社) を用いて採取し、200 μ L Triton-Tris EDTA (pH8.0) 溶液に溶解し 10 分間煮沸した後、15,000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、上清液を回収した。得られた上清液を DNA テンプレートとし、16S rDNA に対するシーケンズ解析用プライマー¹²⁾ (株式会社ファスマック) を用いて PCR 増幅を行った。PCR 反応液は、注射水 (大塚製薬株式会社) 14.1 μ L, $\times 10$ Ex Taq Buffer 2 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 1.6 μ L, ExTaq 0.1 μ L (以上、タカラバイオ株式会社), 50 μ mol/L Primer Mix (Forward+Reverse, 株式会社ファスマック) 0.2 μ L を混合し、DNA 溶液を加え全量で 20 μ L とした。サーマルサイクラー (MiniAmp, Thermo Fisher Scientific Corporation) は初期熱変性を 94°C で 30 秒間、アニーリングを 55°C で 30 秒間、伸長反応を 72°C で 30 秒間、サイクル数を 30 とした。

PCR 増幅バンドをアガロースゲル電気泳動にて確認し、増幅強度に基づき注射水で希釈した PCR 産物 10 μ L に対応する 1.61 pmol/ μ L Forward または Reverse プライマー 4 μ L を 8 連チューブに入れ、株

式会社ファスマックへ塩基配列解析を依頼した。得られた塩基配列データについて、National Center for Biotechnology Information (NCBI) データベースの BLAST により相同性検索を行い菌種同定した。なお、一致率 97% 以上で同種であると判断した。

(4) 塩漬肉のグラム染色

塩漬肉について、切り出した試料を液体窒素下で凍結し、-24°C に設定したクリオスタット (Leica CM 3050, ライカマイクロシステムズ株式会社) 内にセットし、30 分間放置した後、厚さ 10 μ m の凍結切片を作製しスライドガラスに接着させた。ハッカー変法によるグラム染色法は、スライドガラスを軽く水洗した後、クリスタル・バイオレット液 (武藤化学株式会社) にて 20 秒染色し、軽く水洗した。ルゴール液 (武藤化学株式会社) にて 20 秒染色し、ろ紙で余分な洗浄液を吸い取り、アセトン (和光純薬株式会社) で分別した。水洗し、ろ紙で余分な水分を吸い取った後、サフラニン液 (武藤化学株式会社) で 20 秒染色、水洗して、マルチマウントで封入した。その後、光学顕微鏡 (ECLIPSE Ci, 株式会社ニコンソリューションズ) にて筋線維横断面を観察した。

(5) 統計処理

統計解析は、グラフ解析ソフト KaleidaGraph ver. 5.0.4 (Synergy Software, USA) を使用して行なった。スターター添加の有無による各グループ内での塩分、水分活性、ならびに一般生菌数の差異を、Tukey's HSD test により確認した。なお、全てのデータは平均値 \pm 標準偏差で示し、有意水準は 5% 未満とした。

3. 結果

3-1. 塩漬終了後の殺菌処理

塩漬工程後の表面の殺菌前後で、肉表面を拭き取ると、5 回実施して $10^3 \sim 10^6$ CFU/cm² の生菌数の減少が確認された (図表はなし)。表面拭き取りによる生菌数の最大が 1.3×10^3 CFU/cm² であった。

3-2. 水分活性・塩分濃度の測定

水分活性および塩分濃度の測定結果は Table 2 に

Table 2 Evaluation of cured pork meat.

	With starter			Without starter		
	Within 1cm from surface	1cm to 2cm from surface	Center at least 2cm from surface	Within 1cm from surface	1cm to 2cm from surface	Center at least 2cm from surface
Salinity (%)	5.89 \pm 0.47a	4.99 \pm 0.67b	3.62 \pm 0.37c	6.43 \pm 0.43x	5.66 \pm 0.69x	4.18 \pm 0.72y
Water activity	0.946 \pm 0.004a	0.948 \pm 0.005a	0.959 \pm 0.004b	0.945 \pm 0.004x	0.946 \pm 0.007x	0.952 \pm 0.007x

The measurements using same samples repeated five times.

The values show the mean \pm standard deviation.

Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between each sample within the same group.

示した。最も調味液の成分が到達しづらいと思われる、表面から2 cmの深さの部分塩漬肉におけるスターター添加区の塩分と水分活性は3.62 ± 0.37%, 0.959 ± 0.004であり、スターター非添加区の塩分と水分活性は4.18 ± 0.72%, 0.952 ± 0.007となった。これらより、肉の中心部に調味液成分が達しており、双方の試験区ともに塩漬が正常に実施されたものと判断した。

3-3. 生菌数の測定

塩漬肉の生菌数の測定結果について Fig. 1 に示した。スターター添加区では、肉の表面から1 cmまでの部分塩漬肉の生菌数が最も多く、5回の試験で

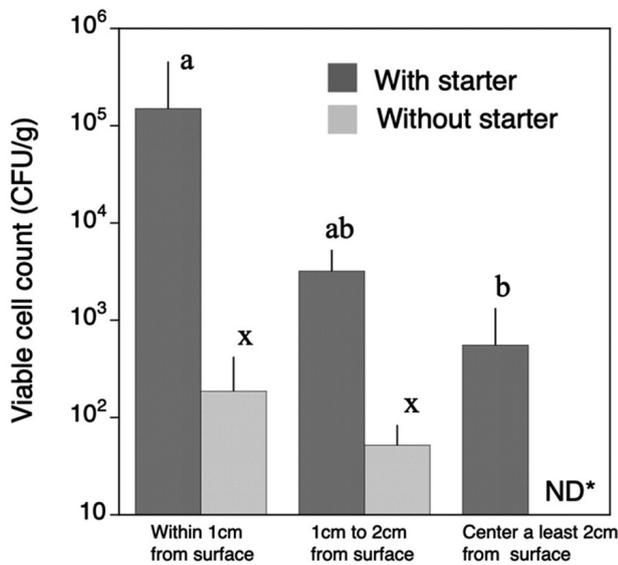


Fig. 1. Viable cell count of cured pork meat.

The number of samples used for the measurement was five (n=5). Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) for each sample. *All samples at center at least 2 cm of without starter did not form any colony.

の生菌数の最大は 7.0×10^5 CFU/g を示した。また、表面から2 cmの深さの部分塩漬肉の生菌数が3種の試料の中で最も少なくなり、5回の試験で生菌数の最大は 1.8×10^3 CFU/g を示した。一方、非スターター添加区での表面から1 cmの部分塩漬肉の生菌数は最大で 5.2×10^2 CFU/g であり、表面から2 cmの深さの部分塩漬肉の生菌数は5回とも検出されなかった。

3-4. 塩漬肉内部から検出された菌種のDNA塩基配列解析

本試験で使用したスターター菌を標準寒天培地で培養したコロニー、およびスターター添加区の表面から2 cmの深さの部分塩漬肉から検出されたコロニーについて、それぞれDNA塩基配列解析に供した結果を Table 3 に示した。スターター添加区では検出されたコロニーが *M.vitulinus* および *S.carnosus* であると同定され、これらはスターター菌に含まれる菌種と同じであると確認された。塩漬肉からは *Humibacter sp.*, *Kocuria rhizophila* が確認されたが、これらは原料豚肉由来の菌体が塩漬肉内部に取り込まれ、検出されたものと推察された。なお、非スターター添加区についても塩漬肉内部を培養したものの、コロニー形成が認められなかった。

3-5. 塩漬肉のグラム・ハッカー染色

スターター添加区について、肉の表面から1 cmの深さにおける部分塩漬肉でグラム染色した結果を Fig. 2 に示した。筋線維間の空隙にグラム陽性球菌の存在が確認された。観察された球菌はスターターに含まれる *M.vitulinus*, もしくは *S.carnosus* であるものと推定された。なお、筋線維上に同形のグラム陽性菌は確認されなかったため、塩漬終了後の殺菌処理で残存した生菌を凍結切片作製時に混入させた可能性は極めて低いと判断した。

Table 3. Species identification of isolated colonies.

Origin of colony	Code	Scientific name	Max score	Percent identity	Accession number
Starter	1.	<i>Mammaliococcus vitulinus</i>	1269	100%	CP051882.1
	2.	<i>M. vitulinus</i>	1264	99.71%	CP051882.1
	3.	<i>M. vitulinus</i>	1262	99.85%	CP051882.1
	4.	<i>Staphylococcus carnosus</i>	1258	99.57%	CP015537.1
	5.	<i>M. vitulinus</i>	1262	99.43%	CP051882.1
With starter / Center at least 2cm from surface	1.	<i>M. vitulinus</i>	1266	99.85%	CP051882.1
	2.	<i>Humibacter sp.</i>	1260	99.57%	CP031192.1
	3.	<i>S. carnosus</i>	1258	99.57%	CP015537.1
	4.	<i>Kocuria rhizophila</i>	1258	99.28%	MG062895.2
	5.	<i>M. vitulinus</i>	1243	98.99%	CP051882.1

4. 考 察

スターター添加区では、表面から2 cmの深さの試料から *M.vitulinus* や *S.carnosus* の存在を確認した。これらは使用したスターターを培養したコロニーから分離されているので、スターターに由来するものと考えられる。Fig. 2に示したグラム染色像において肉の表面から深さ1 cmの深さの部分塩漬肉で観察されたグラム陽性球菌も同様にスターター由来だと推察した。これらの結果は調味液に含まれる菌類が湿塩漬の過程で肉中に侵入することを示唆している。菌体は筋線維間の空隙における局在を確認しており、好気性細菌が筋線維間の空隙に侵入し、移動は空隙内の液体が関係すると報告されていることから¹³⁾、塩漬に使用する調味液が輸送体の役割を担い、調味液成分が肉中に浸透すると同時に菌体が肉組織内に侵入し、組織内の水の移動に伴って菌体が筋線維間の空隙を経由して移動すると考察した。なお、表面から2 cmの深さの部分塩漬肉については生菌数が少ないために観察されなかった。

鶏肉を使用した先行研究で接種したサルモネラ属菌が筋周膜付近に付着し、生理食塩水ですぐと付着細菌は除去されると報告されている¹⁴⁾。これはコラーゲンネットワークに付着したサルモネラ属菌は塩濃度変化によりその付着性が変化するためと考察されている。一方、本研究ではFig. 1のように表

面からすべての深さの部分塩漬肉で生菌数が確認されたため、本研究の結果では先行研究にあった肉組織内に侵入した菌体は膜組織に付着して局在するよりも筋線維間の空隙に浮遊して局在する方が多いと推察された。

長期熟成を伴うパルマハムでは、表面汚染菌が塩漬中に肉の組織内に侵入し、一時的に $10^6 \log \text{CFU/g}$ に達するものの、長期熟成中に水分の減少と拮抗することで生菌数は大幅に減少すると報告されている¹⁵⁾。日本で工業的に製造されているラックスハムの多くは、塩漬期間が30日以内の短い期間で製造されることが多い。湿塩漬法にて製造したものは、乾塩漬法にて製造したものと比較すると水分含量が多いとされていることから¹⁶⁾、長時間の乾燥による水分の減少を伴わないラックスハムは、肉組織内に侵入した菌類は最終製品中にも残存するものと考えられる。特に原料肉では表面に菌体が付着していることが多い。表面付着菌の肉組織中への侵入については、調味液が豊富にある湿塩漬法では菌体の移動性が大きく異なることが予想され、湿塩漬法における衛生管理の要点になるものと予想している。

日本のラックスハム製造にあつては、その多くが海外産の原料豚肉を使用している。さらに、保存性や寄生虫リスクを制御するために冷凍した原料豚肉を使用することが大半である。*Serratia marcescens*

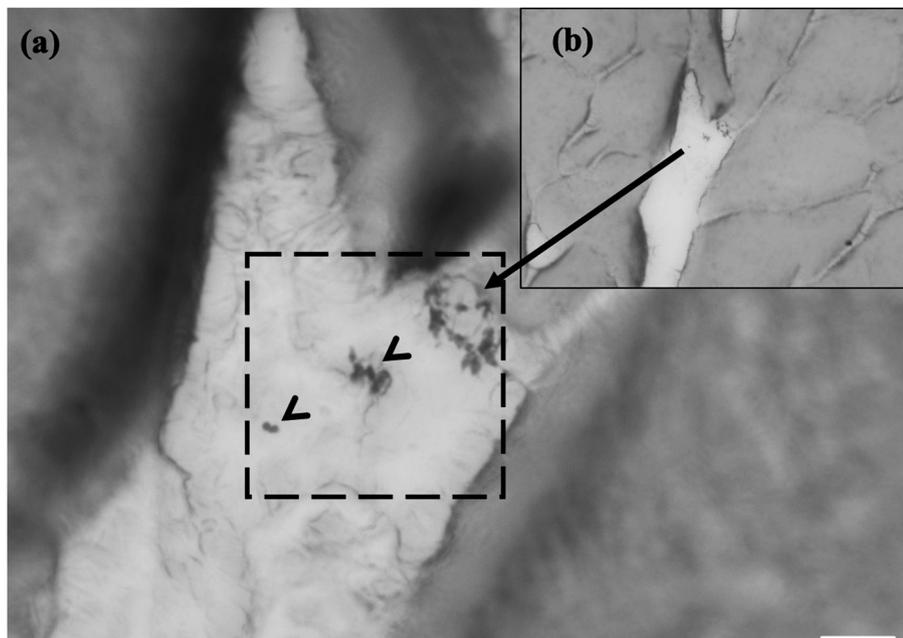


Fig. 2. Gram staining of the bacteria penetrated within 1cm from the surface of cured meat. The image was observed at high magnification (a), and observed at low magnification (b). Scale bar shows 10 μm . Arrowheads indicate bacteria observed in the gaps between muscle fibers.

を使った先行研究では、一度凍結し融解した豚肉と牛肉のミンチ肉では、凍結と解凍を経ない肉と比較して、より広範な侵入が確認され、凍結と解凍の際に生じた微細な空隙が影響している可能性があるとして報告されている¹⁷⁾。すなわち、凍結原料肉を使用する場合は、より菌類の侵入を受けやすいと考えられる。菌体の肉組織中への侵入は、水分活性を低下させるために塩漬期間がとりわけ短いラックスハムなど非加熱食肉製品にとって、配慮されるべき危害要因であろう。

一般に水分活性を低下させると生菌数も少なくなるが、エンテロトキシン産生ブドウ球菌は水分活性の低下による影響を受けずに菌数を維持するなど¹⁸⁾、水分活性の低下だけでは制御できない菌種もある。先行研究では、塩分濃度 8%、液温 0 °C でも塩漬期間 14 日の一般生菌数が 10^5 log CFU/g で、塩漬期間が 21 日目でも 10^6 log CFU/g の菌数が確認されており、耐塩性菌が優勢である報告もある¹⁹⁾。湿塩漬法によるラックスハムの製造では、食品衛生法により塩分濃度が 15% 以上とするよう規定されているものの、塩漬が進むにつれて原料肉からの脱水が進むことにより、調味液の塩分濃度は低下することが避けられず、調味液の塩濃度が 10% 以下の濃度となることが起こり得る。そのため、肉組織内部への侵入を防ぐ管理が重要であり、加工時の原料豚肉の衛生状態や使用する調味液の衛生状態を良好にする必要があると考えられる。また、枝肉では表面拭き取りによる評価が実施されており²⁰⁾、菌体の肉内部への侵入が浅い枝肉では汚染を評価することはできるものの、塩漬が完了した加工肉では肉組織内部に侵入した細菌類を捉えることが難しいため、塩漬肉全体を採取したものを試料として評価することが適切であると推察された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、貴重なご助言をいただきました北海道立工業技術センターの小西靖之博士、塩原愛理氏に心より感謝を申し上げます。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長, 平成 23 年 9 月 12 日, 食安発 0912 第 7 号 (2011)
- 2) Gill, C.O., Penney, N., *Appl. environ. microbiol*, **33**, 1284-1286 (1977)
- 3) Gupta, L. K., Nagamohini, Y., *World J. Microbiol Biotechnol*, **8**, 212-213 (1992)

- 4) Shimamura, Y., Shinke, M., Hiraishi, M., Tsuchiya, Y., Egawa, M., Ohashi, N., Masuda, S., *J. Food Prot*, **83**, 928-934 (2020)
- 5) Alejandro, G. DE. Z., Maynard, E. A., Robert, T. M Eugene, L. I., *J. Food Prot*, **54**, 256-258 (1991)
- 6) 新村裕, *日本コールドチェーン研究誌*, **9**, 76-80 (1983)
- 7) M, Matsuishi., *Meat Sci*, **192**, 108919 (2022)
- 8) 中島英夫, 山中洋之, 鮫島隆, 秋山茂, 鈴木昭, *食衛誌*, **30**, 27-31 (1989)
- 9) Tamotsu, S., Ryoji, Y., Shiro, T., Kunihiro, S., Genji, S., *Jpn. J. Vet. Sci*, **47**, 443-452 (1985)
- 10) Lorca, T. A., Pierson, M. D., Claus, J. R., Eifert, J. D., Marcy, J. E., Sumner, S. S., *J. Food Prot*, **65**, 616-620 (2002)
- 11) Tippala, T, Koomrg., N, Kayan, A., *Ani Biosci*, **34**, 1375-1381 (2021)
- 12) 厚生労働大臣, 平成 23 年 3 月 24 日, 厚生労働省告示第 65 号, 2029-2031 (2011)
- 13) Shirai, H., Ashim, K, D., Oshita, S., *J. Food Eng*, **196**, 197-207 (2017)
- 14) C, J, Thomas., T, A, McMeekin., *Appl. environ. Microbiol*, **42**, 130-134 (1981)
- 15) Chizzolini, R., Rosa, P., Novelli, E., *Microbiologia*, **9**, 26-34 (1993)
- 16) 安藤四郎, 中井康博, 池田敏雄, 田邊亮一, 北田徳蔵, 森地敏樹, 矢野信禮, *畜産試験場研究報告*, **48**, 53-59 (1988)
- 17) Sikes, A, R., B, Maxcy., *J. Food Sci*, **45**, 293-296 (1980)
- 18) 松岡昭善, 古川徳, 山中良但, *日豚会誌*, **43**, 180-183 (2006)
- 19) 山中洋之, 秋元政信, 金井聡, 鮫島隆, 有原圭三, 伊藤良, *日食科工会誌*, **48**, 835-839 (2001)
- 20) 成松浩志, 小林貴廣, 世古庄太, 三上賢一, 大隅滋, 後藤祐司, 木元正一, *日食微生物誌*, **18**, 21-25 (2001)

Bacterial invasion into meat tissue in Lux Ham production by the wet salting process

Kensuke YAJIMA¹, Takahiro SUZUKI², Yasuhiro HASEGAWA², Naoyuki MAEDA²,
Tomohito IWASAKI², Akihiro YAMAGUCHI²

¹ Hayakita Factory, DAISEN SAVEUR SS INC., Hokkaido, Japan.

² Department of Food Science and Human Wellness, Rakuno Gakuen University, Hokkaido, Japan.

ABSTRACT

It has long been reported that bacteria inoculated on the meat surface do not remain on the it but invade the interior of the meat tissue when it is inoculated and left to stand, indicating that surface sterilization alone is insufficient. However, it has not been clarified how bacteria behave when processing meat into meat products. In this study, Lux Ham, typical cured ham that has become an everyday food in Japan, was used as a model to clarify how bacteria behave during the wet salting process, which is a common production method. The pork was marinated in a seasoning solution containing 15% (w/w) salt, 0.05% (w/w) sodium nitrite, 0.1% (w/w) sodium ascorbate, and 1% (w/w) starter bacteria for 7 days at $\leq 5^{\circ}\text{C}$. When the salted meat was cultured in three layers, a total viable bacterial count of 556 ± 776 (mean \pm standard deviation) colony-forming units/g was measured at a depth of ≥ 2 cm from the meat surface, indicating that the bacterial count increased toward the meat surface. DNA sequencing of the detected colonies identified Gram-positive cocci, such as *Mammaliicoccus vitulinus* and *Staphylococcus carnosus*, in the added starter bacteria. Gram staining showed that Gram-positive cocci were found in the pores between the muscle fibers in samples from the meat surface to a depth of 1 cm, suggesting that bacteria enter the meat through the gaps between the muscle fibers as the seasoning solution penetrates the meat tissue during the wet salting process. These results suggested that bacteria penetrate inside the meat tissue with the seasoning solution.

Japanese Journal of Meat Science and Technology **65** (1), 31-37, 2024

Key words: Microbial contamination, Unheated meat products, Lux Ham