

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240124003

基于培养和宏基因组评价西瓜的保存方式

武雅文¹, 王焕英¹, 洪文杰¹, 杨 斌¹, 方 穹¹, 王玉霞¹,
张 力¹, 高雯雯¹, 戴乐薇², 车 阳^{1*}

[1. 浙江省微生物技术与生物信息研究重点实验室, 浙江天科高新技术发展有限公司, 杭州 310012;
2. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053]

摘 要: **目的** 基于培养和宏基因组评价日常西瓜的保存方式。**方法** 以市售纯品 8424 西瓜为实验材料, 利用洁净菜刀处理样本, 部分样本表面覆盖保鲜膜, 分别置于室温(26℃)与冰箱(4℃)中, 放置时长选择 2、7 和 24 h 几个不同时间点, 测定西瓜表面菌落总数, 用无菌棉签收集西瓜表面微生物进行宏基因组测序, 分析不同保存方式下西瓜表面的菌落总数和微生物物种组成。**结果** 不同保存方式的西瓜表面菌落总数测定结果表明, 随着保存时间的延长, 菌落总数增加; 低温能够有效抑制菌落总数生长, 覆盖保鲜膜的样本表面菌落总数在保存 7 h 后显著增加, 切除西瓜表面 1 cm 能够显著降低菌落总数; 宏基因组测序分析结果表明, 切开的西瓜表面有条件致病菌检出, 并且存在假单胞菌属(*Pseudomonas*)、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)以及欧文氏菌属(*Erwinia*)等多种较常见腐败菌。**结论** 切开后西瓜尽快放入冰箱可延长保存时间, 24 h 内食用并在食用前切除表面 1 cm 可降低致病风险。

关键词: 菌落总数; 宏基因组测序; 西瓜保存

Evaluation of watermelon preservation methods based on culture method and metagenomic sequencing

WU Ya-Wen¹, WANG Huan-Ying¹, HONG Wen-Jie¹, YANG Bin¹, FANG Qiong¹,
WANG Yu-Xia¹, ZHANG Li¹, GAO Wen-Wen¹, DAI Le-Wei², CHE Yang^{1*}

(1. Key Lab of Zhejiang Provincial Microorganism Information Science Study, Zhejiang Tianke High Technology Development Co., Ltd., Hangzhou 310012, China; 2. School of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: **Objective** To evaluate of daily watermelon preservation methods based on culture method and metagenomic sequencing. **Methods** The commercially available pure 8424 watermelon was used as the experimental material. The samples were processed with a clean household knife. Some samples were covered with cling film on the surface. They were placed at room temperature (26℃) and in the refrigerator (4℃) for different durations of 2, 7, and 24 h. The total number of colonies on the surface of the watermelon was measured. Sterile cotton swabs were used to collect surface microorganisms of the watermelon for metagenomic sequencing, and the total number of colonies and microbial species composition on the watermelon surface under different preservation methods were analyzed. **Results** The results of the total number of colonies on the watermelon surface under

*通信作者: 车阳, 助理研究员, 主要研究方向为微生物分子生物学。E-mail: cy0643@tkgeneclub.com

*Corresponding author: CHE Yang, Assistant Professor, Zhejiang Tianke High Technology Development Co., Ltd., No.9, Huganggu Shan Road, Xihu District, Hangzhou 310012, China. E-mail: cy0643@tkgeneclub.com

different preservation methods indicated that the colony count increased with the prolongation of storage time. Low temperature effectively inhibited the growth of microbial colonies. The total number of colonies on the surface of the samples covered with cling film significantly increased after 7 hours of storage, and removing 1 cm from the surface of the watermelon significantly reduced the colony count. The results of metagenomic sequencing analysis showed the presence of potentially pathogenic bacteria on the cut surface of the watermelon, including *Pseudomonas*, *Exiguobacterium*, and *Erwinia*, which were common spoilage bacteria. **Conclusion** Placing the cut watermelon in the refrigerator as soon as possible can prolong its storage time. Consuming the watermelon within 24 hours and removing 1 cm from the surface before consumption can reduce the risk of pathogenic contamination.

KEY WORDS: total number of colonies; metagenomic sequencing; watermelon preservation

0 引言

西瓜(*Citrullus lanatus*)是日常生活中常见的水果,夏天由于食用过夜西瓜导致食物中毒引发重症感染的事件时有发生^[1-2],不同的保存方式会影响果蔬的保鲜时长^[3-4],但关于切开的西瓜如何科学保存的研究鲜有报道。

夏天较高的温度,以及西瓜中富含的果糖和水分,为细菌繁殖提供了有利条件^[5]。会导致食物中毒的病原微生物主要包括金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、致病性大肠埃希氏菌(pathogenic *Escherichia coli*)、沙门氏菌(*Salmonella* spp.)、副溶血性弧菌(*Vibrio Parahemolyticus*)等,食用受到细菌或细菌毒素污染的食物后,会导致恶心、呕吐、腹泻、腹痛、体温升高和呼吸困难等症状^[6-7],对身体健康造成威胁。

传统的微生物鉴定依赖于分离培养、生化实验和血清学鉴定,检测周期长而且准确率低^[8],随着高通量测序技术的发展,实现了无需培养即可对样本中微生物进行检测^[9-10],其中以 16S rDNA/ITS 扩增子测序和宏基因组测序最为常见,相比扩增子测序,宏基因组测序技术在微生物种水平的识别度上更高,且对低丰度物种的检测有更高的分辨率^[11-12]。本研究选取市售西瓜作为实验对象,用平板计数法结合宏基因组测序技术,分析不同保存方式对西瓜表面微生物的影响,以期在日常西瓜保存提供科学依据,并为延缓西瓜果切变质速度、减少食源性疾病发生提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

纯品 8424 西瓜购买自杭州水果超市,选取形状重量(4 kg 左右)接近、无机械损伤和病虫害的西瓜运回实验室备用;实验用菜刀来自于家庭日用。

大豆酪蛋白琼脂培养基(trypticase soy agar medium, TSA)(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司);环境 DNA 提取试剂盒(DNeasy PowerSoil Pro Kit, 德国 QIAGEN 公司);TD-503 转座酶建库试剂盒、DNA 纯化磁珠(VAHTS

DNA Clean Beads)(南京诺唯赞科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

AL104 电子天平[精度 0.0001 g, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];LRH-250 生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);Qubit 2.0 荧光定量仪(美国 Invitrogen 公司);HulaMixerTM 样品混匀器(美国 Life Technologies 公司);Legend Micro 17R 微量离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);MM400 混合型研磨仪(德国 Retsch 公司);Novaseq 6000 测序仪(美国 Illumina 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 菌落总数测定

利用洁净菜刀处理样本,处理好的样本分别置于室温(26℃)与冰箱(4℃),放置时长选择 2、7 和 24 h,样本放置的时间、温度以及是否覆盖保鲜膜的详细处理条件尽量贴近生活,详情见表 1,利用无菌棉签在西瓜切面擦拭取样,并使用无菌刀片切下西瓜表面 1 cm 的果肉 25 g,作为细菌培养待检测样本。参考 GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》和《中国药典 2020 版 通则 1105》,对不同样本进行菌落总数分析,样本分别稀释 10 倍、100 倍、1000 倍涂布在平板上以 35℃ 进行培养,每个稀释梯度做 2 个平板,观察 3 d,选择菌落在 30~300 个稀释级的平板,点计所有菌落数,计算出最终数据(CFU/g)。

1.3.2 宏基因组测序

为尽量避免西瓜基因组污染,利用无菌棉签在西瓜切面擦拭取样,作为宏基因组待测样本。每次取样擦拭次数和面积尽量接近(约 10 cm²)。利用环境 DNA 提取试剂盒对剪下棉的签头进行 DNA 提取。

使用转座酶建库试剂盒构建文库,用 DNA 纯化磁珠将片段化的 DNA 进行分选和纯化。利用 Qubit 2.0 荧光定量仪对文库定量,最后采用 Novaseq 6000 测序仪测序,得到双端读长为 150 bp 的测序片段。

1.4 宏基因组测序数据处理

采用 SOAPnuke (Version 1.5.0)对原始数据进行质量评估,利用 SOAPaligner/soap2 (Version 2.21)过滤低质量数据,

表 1 西瓜样本处理条件汇总

Table 1 Summary of watermelon sample processing conditions			
序号	样本名称	处理条件	
		放置条件	是否覆盖保鲜膜
1	2h-S	26℃下放置 2 h	否
2	2h-S-M	26℃下放置 2 h	是
3	7h-S-1	26℃下放置 7 h	否
4	7h-S-2		
5	7h-S-M-1	26℃下放置 7 h	是
6	7h-S-M-2		
7	2hS-5hB	26℃下放置 2 h 后冰箱 4℃下放置 5 h	否
8	2h-S-5hB-M	26℃下放置 2 h 后冰箱 4℃下放置 5 h	是
9	7h-B-M	4℃下放置 7 h	是
10	7h-S-1cm	26℃下放置 7 h 后切除 表面 1 cm	否
11	24h-B-M-1	4℃下放置 24 h	是
12	24h-B-M-2		

注：样本名称中 h 表示小时；S 表示室温 26℃；M 表示覆盖保鲜膜；B 表示冰箱 4℃；1cm 表示采样前切除 1 cm。

通过 SoapAligner 比对(identity≥90%)去除西瓜基因组(参考基因组: GCA_018142915.1)污染, 最终得到高质量有效数据。使用 MEGAHIT (Version 1.1.2)对各样本的有效序列进行拼接组装, 采用 MetaGeneMark (Version 3.26)对最佳拼接结果进行开放阅读框(open reading frame, ORF)预测, 并过滤掉长度小于 100 nt 的信息, 将长度≥500 bp 的基因序列翻译成氨基酸序列。采用 CD-HIT (Version 4.6)对基因预测结果进行去冗, 获得非冗余的基因集, 以 identity 95%、coverage 90%进行聚类, 选取最长的序列为代表性序列, 并利用 SOAPaligner/soap2 将各样本序列比对到非冗余基因集序列上, 计算得到基因在各样本中比对上的 reads 数目, 过滤掉在各个样本中支持 reads 数据≤2 的基因。将获得的基因翻译成蛋白序列与美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)的非冗余蛋白序列数据库(non-redundant protein sequence database, NR)中的细菌、真菌、古菌和病毒子库进行比对获得物种注释信息, 选取 evalue≤1e-5 且 identify≥60 的比对结果进行后续分析。

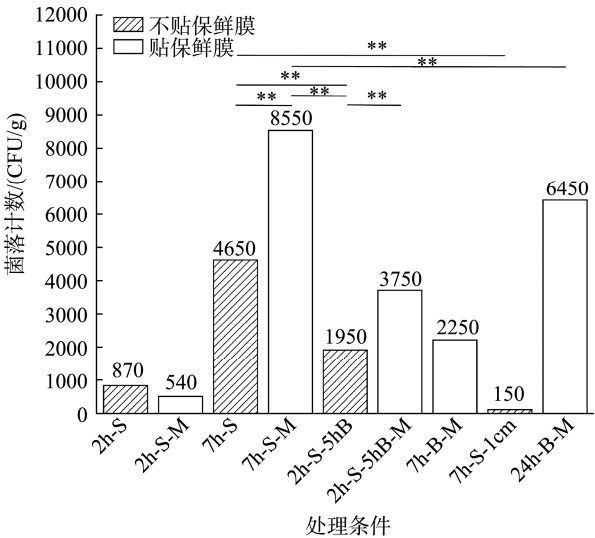
2 结果与分析

2.1 不同保存方式对西瓜果切表面菌落数量影响

Fisher 检验分析不同保存方式的菌落总数差异, 从图 1 可知, 26℃放置 2 h 的两个样本 2h-S、2h-S-M, 对应的菌落总数分别为 870 CFU/g 和 540 CFU/g, 覆盖保鲜膜的 2h-S-M 样本相较于 2h-S 的菌落总数并不显著, 这可能是由于放置时间较短, 是否覆盖保鲜膜对菌落总数影响不显

著。26℃放置 7 h, 覆盖保鲜膜的样本 7h-S-M (8550 CFU/g)相较于未覆盖保鲜膜的样本 7h-S (4650 CFU/g)菌落总数显著增加($P<0.05$); 26℃放置 2 h 后 4℃放置 5 h 的两个样本 2h-S-5hB、2h-S-5hB-M, 覆盖保鲜膜的样本 2h-S-5hB-M (3750 CFU/g)相较于未覆盖保鲜膜样本 2h-S-5hB (1950 CFU/g)的菌落总数显著增加($P<0.05$); 综上所述, 覆盖保鲜膜的样本菌落总数在保存 7 h 后, 相较于未覆盖保鲜膜的样本显著增加, 这可能是保鲜膜为细菌提供了一定的空间与湿度, 加速了细菌的滋长^[13], 不排除是保鲜膜携带细菌导致的样本污染。

通过 Fisher 检验分析放置时间相同的样本: 26℃放置 7 h (7h-S、7h-S-M)、26℃放置 2 h 后放入 4℃5 h (2h-S-5hB、2h-S-5hB-M)、4℃放置 7 h (7h-B-M), 其中 2h-S-5hB (1950 CFU/g)相较于 7h-S (4650 CFU/g)、2h-S-5hB-M (3750 CFU/g)相较于 7h-S-M (8550 CFU/g)以及 7h-S (4650 CFU/g)相较于 7h-S-M (8550 CFU/g)菌落总数均显著降低($P<0.05$); 在 26℃放置 7 h 的样本 7h-S-M 菌落总数为 8550 CFU/g, 显著高于冰箱中放置 24 h 的 24h-B-M 样本(6450 CFU/g) ($P<0.05$); 可见低温能够有效抑制西瓜表面微生物的生长, 切开的西瓜应及时存入冰箱以延长保存时间。在 26℃放置 7 h, 切除西瓜表面 1 cm 的样本 7h-S-1cm 相较于 7h-S 样本 (4650 CFU/g)的菌落总数显著下降至 150 CFU/g ($P<0.05$), 表明食用前切除表面 1 cm 能有效减少微生物摄入, 降低西瓜食源性食物中毒风险。



注: **表示具有显著性差异($P<0.05$)。

图1 不同保存方式西瓜的菌落总数统计(CFU/g)

Fig.1 Statistics on the total number of colonies of watermelon under different preservation methods (CFU/g)

2.2 西瓜表面微生物的宏基因组测序分析

2.2.1 不同保存方式西瓜表面微生物菌落结构分析

对 6 个样本(7h-S-1、7h-S-2 为 7h-S 组; 7h-S-M-1、7h-S-M-2 为 7h-S-M 组; 24h-B-M-1、24h-B-M-2 为 24h-B-M

组)进行宏基因组测序, 去除西瓜基因组污染后, 共产生 20.61 Gb 高质量测序数据, 预测到 23042 条 ORF, 将非冗余的基因集比对到 NR 数据库进行物种注释, 获得门水平平均注释率为 94.03%, 属水平注释率在 51.04%~58.69%之间; 共注释到 290 个种(表 2), 分别为细菌 286 种、真菌 3 种、病毒 1 种。

细菌检出较多的是变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和放线菌门(*Actinobacteria*); 被检出的真菌分别是子囊菌门(*Ascomycota*)的 *Botryotinia squamosa* 和舞茸(*Grifola frondosa*), 以及担子菌门(*Basidiomycota*)的隐球菌(*Cryptococcus* spp.); 唯一被检出的病毒是葡萄球菌噬菌体(*Staphylococcus phage*)。由于真菌和病毒的相对丰度含量极低(<0.01%), 因此未进一步讨论。

表 2 西瓜表面微生物菌群结构		
Table 2 Structure of microbial flora on the surface of watermelon		
分类	门水平	种数
细菌	变形菌门 (<i>Proteobacteria</i>)	195
细菌	厚壁菌门 (<i>Firmicutes</i>)	64
细菌	放线菌门 (<i>Actinobacteria</i>)	20
细菌	拟杆菌门 (<i>Bacteroidetes</i>)	5
细菌	衣原体门 (<i>Chlamydiae</i>)	2
真菌	子囊菌门 (<i>Ascomycota</i>)	2
真菌	担子菌门 (<i>Basidiomycota</i>)	1
病毒	-	1

注: -表示无此项。

3 组样本中注释到的假单胞菌属(*Pseudomonas*)在

7h-S 样本中相对丰度占比为 25.46%, 在 7h-S-M、24h-B-M 样本中分别为 23.37%、24.68%, 是相对丰度最高的细菌属, 其次为微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、欧文氏菌属(*Erwinia*), 这两个物种对应的 3 组样本平均相对丰度分别为 8.83%、5.35%(表 3)。这 3 个属均为食品中常见菌, 假单胞菌、微小杆菌属、欧文氏菌属都是造成新鲜水果、蔬菜、肉类等食物腐败的重要微生物, 这些属中部分成员是条件致病菌^[14-19]。根据分组对不同物种的相对丰度进行两两差异分析, 未发现显著差异, 表明不同的保存方式在实验时间内暂未对表面微生物相对丰度造成较大影响。

2.2.2 不同保存方式西瓜表面致病微生物物种分布情况

将注释到的 290 个微生物与人间传染病病原微生物名录进行对照^[20], 共对应到 15 个物种, 其中平均相对丰度排名前 10 的物种见表 4, 检出的微生物安全等级皆为第三类, 即这些微生物能够引起人类或动物疾病, 但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害, 传播风险有限, 实验室感染后很少引起严重疾病, 并且针对这些疾病具备有效治疗和预防措施。例如鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)是一种条件致病菌, 在 3 组样本 7h-S、7h-S-M 和 24h-B-M 中的平均相对丰度分别为 0.82%、0.85%和 0.89%, 该菌在免疫功能低下的人群中发病率很高^[21], 存在于所有类型的分泌物中, 如伤口、唾液、尿液和血液; 该菌毒性较低, 但仍能在患有发热性中性粒细胞减少症的患者和接受器官移植的患者中引起感染^[22]。检出的金黄色葡萄球菌通常不会对健康皮肤造成感染, 但若进入血液或组织内部, 这些菌可能会导致菌血症、感染性心内膜炎、皮肤和软组织感染等各种器官的炎症感染^[23-24]。阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)会引起伤口、呼吸道和尿路感染, 也可导致超广谱 β -内酰胺酶菌血症(extended-spectrum β -lactamase producing bacteria, ESBL)^[25-26]。

表 3 平均相对丰度前 10 的属水平微生物				
Table 3 Top 10 genus-level microorganisms in average relative abundance				
序号	注释物种	7h-S 平均相对丰度/%	7h-S-M 平均相对丰度/%	24h-B-M 平均相对丰度/%
1	假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)	25.46±0.56	23.37±1.30	24.68±0.01
2	微小杆菌属(<i>Exiguobacterium</i>)	9.16±0.11	8.54±0.37	8.78±0.17
3	欧文氏菌属(<i>Erwinia</i>)	5.22±0.03	4.83±0.08	6.00±0.36
4	葡萄球菌属(<i>Staphylococcus</i>)	5.34±0.02	4.94±0.25	5.41±0.20
5	不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)	3.69±0.13	3.51±0.24	3.93±0.08
6	肠杆菌属(<i>Enterobacter</i>)	3.45±0.09	3.52±0.45	3.51±0.04
7	芽胞杆菌属(<i>Bacillus</i>)	2.44±0.07	2.36±0.16	2.42±0.10
8	克罗诺杆菌属(<i>Cronobacter</i>)	0.49±0.01	0.41±0.06	0.56±0.03
9	泛生菌属(<i>Pantoea</i>)	0.37±0.01	0.54±0.18	0.37±0.02
10	克雷伯菌属(<i>Klebsiella</i>)	0.33±0.01	0.38±0.07	0.32±0.00

2.2.3 不同保存方式西瓜表面腐败菌分析

通常细菌、霉菌、酵母都能引起食物腐败, 由细菌引起的食物腐败最为常见。引起腐败的细菌包括各种需氧性芽孢杆菌和厌氧性梭状芽孢杆菌, 由于它们能产生芽孢, 对热的抵抗力特别强, 是一些加热后罐藏食品的主要腐败菌; 非芽孢杆菌, 如大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)、变形杆菌(*Proteus spp.*)和液化链球菌(*Streptococcus liquefacient*)等, 不产生芽孢,

热抵抗力弱, 是新鲜食品、冷藏食品的常见腐败菌^[27-28]。依据 OLUWADARA 等^[29]以及 CLIVE 等^[15]的研究, 筛选出腐败菌共 128 种, 其中注释到平均相对丰度前 10 的物种如表 5。这些物种中, 除了之前提到的假单胞菌属、微小杆菌属以及欧文氏菌属这 3 种常见腐败相关细菌之外, 巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)检出较多, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)容易导致烘焙产品^[30]、冷冻乳制品^[31]以及蔬菜水果的腐败。

表 4 平均相对丰度前 10 的病原微生物
Table 4 Top 10 pathogenic microorganisms in mean relative abundance

序号	注释物种	生物安全等级	7h-S 平均相对丰度 /%	7h-S-M 平均相对丰度 /%	24h-B-M 平均相对丰度 /%
1	鲍氏不动杆菌(<i>Acinetobacter baumannii</i>)	第三类	0.82±0.03	0.85±0.09	0.89±0.06
2	金黄色葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>)	第三类	0.94±0.01	0.73±0.06	0.76±0.04
3	阴沟肠杆菌(<i>Enterobacter cloacae</i>)	第三类	0.30±0.03	0.32±0.05	0.27±0.01
4	肠杆菌属(<i>Enterobacter spp.</i>)	第三类	0.48±0.02	0.49±0.06	0.51±0.03
5	肺炎链球菌(<i>Streptococcus pneumoniae</i>)	第三类	0.06±0.00	0.10±0.02	0.07±0.01
6	肺炎克雷伯菌(<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	第三类	0.15±0.01	0.19±0.04	0.16±0.00
7	铜绿假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	第三类	0.17±0.00	0.18±0.01	0.18±0.01
8	宋内志贺氏菌(<i>Shigella sonnei</i>)	第三类	0.07±0.01	0.09±0.02	0.08±0.02
9	幽门螺杆菌(<i>Helicobacter pylori</i>)	第三类	0.01±0.00	0.01±0.00	0.01±0.00
10	表皮葡萄球菌(<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	第三类	0.00±0.00	0.02±0.01	0.00±0.00

表 5 平均相对丰度前 10 的腐败菌
Table 5 Top 10 spoilage bacteria in average relative abundance

序号	注释物种	7h-S 平均相对丰度 /%	7h-S-M 平均相对丰度 /%	24h-B-M 平均相对丰度 /%
1	赫罗纳欧文氏菌(<i>Erwinia gerundensis</i>)	5.14±0.04	4.72±0.06	5.92±0.35
2	耐氧化微小杆菌(<i>Exiguobacterium oxidotolerans</i>)	1.40±0.02	1.07±0.13	1.48±0.15
3	巨大芽孢杆菌(<i>Bacillus megaterium</i>)	1.02±0.03	0.96±0.01	1.08±0.09
4	假单胞菌属(<i>Pseudomonas sp. B10</i>)	0.54±0.01	0.41±0.04	0.58±0.02
5	阴沟肠杆菌(<i>Enterobacter cloacae</i>)	0.30±0.03	0.32±0.05	0.27±0.01
6	铜绿假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	0.17±0.00	0.18±0.01	0.18±0.01
7	假单胞菌属(<i>Pseudomonas sp. RW10S1</i>)	0.18±0.00	0.15±0.01	0.20±0.02
8	微小杆菌属(<i>Exiguobacterium sp. RIT341</i>)	0.16±0.00	0.20±0.06	0.14±0.01
9	微小杆菌属(<i>Exiguobacterium sp. S17</i>)	0.16±0.00	0.12±0.01	0.18±0.02
10	微小杆菌属(<i>Exiguobacterium sp. Leaf196</i>)	0.05±0.01	0.14±0.07	0.06±0.01

3 讨论与结论

本研究利用平板计数法对不同保存方式西瓜表面菌落总数进行统计分析, 结果显示菌落总数在 150~8550 CFU/g 之间。分析表明, 西瓜在室温或冰箱中保存一段时间后, 菌落总数均会持续增长, 低温能够有效抑制西瓜表面微生物的生长, 覆盖保鲜膜的西瓜样本菌落总数在 7 h 后显著增加, 切除西瓜表面 1 cm 能够显著降低菌落总数。目前, 还没有专门为果切制定的国家标准, 因此无法判断本研究中

测定的菌落总数是否超标。参考 GB 2759—2015《食品安全国家标准 冷冻饮品和制作料》的规定, 样本的菌落总数在 $2.5\times10^4\sim10\times10^4$ CFU/g 之间, 而结果表明在冰箱中保存 24 h, 西瓜表面菌落总数只有 6450 CFU/g, 远远低于这个标准。虽然从本研究的检测结果来看, 覆盖保鲜膜的西瓜样本细菌繁殖更快, 但考虑到冰箱中还会存放其他物品, 未覆盖保鲜膜容易交叉污染, 还会导致西瓜水分流失或吸收冰箱中的食物异味^[32], 因此建议覆盖保鲜膜后再存放。

宏基因组测序分析表明, 切开的西瓜表面有条件致

病菌检出; 国家标准对于食品中的沙门氏菌、单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)、大肠埃希氏菌 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7)、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌 5 种致病菌限度有规定。西瓜表面致病微生物的宏基因组检测结果中, 包含金黄色葡萄球菌和大肠埃希氏菌, 其中致病性大肠埃希氏菌由于分类比较困难^[33], 宏基因组测序中检出的大肠埃希氏菌是否为致泻大肠埃希氏菌无法确定; 参考 GB 31607—2021《食品安全国家标准散装即食食品中致病菌限量》规定, 金黄色葡萄球菌限量为 1000 CFU/g(mL), 而西瓜存放冰箱 7 h 后切除表面 1 cm 后只有 150 CFU/g 的菌落总量, 远远低于此标准。样本中物种相对丰度排名靠前的 3 个属分别为假单胞菌属、微小杆杆菌属及欧文氏菌属, 是蔬果中较为常见的腐败菌物种, 对西瓜的新鲜度有较大影响, 因此切开的西瓜建议尽快食用。

综上所述, 为探究不同保存方式对西瓜表面微生物的影响, 本研究用两种方法对各种保存方式下西瓜表面微生物进行检测, 结果表明切开后西瓜尽快放入冰箱可延长保存时间, 24 h 内食用并在食用前切除表面 1 cm 可降低致病风险。由于本研究仅代表部分家庭的菜刀对西瓜表面微生物的影响, 存在一定局限性, 后续将对日常食谱差异较大的多个家庭来源的菜刀进行研究, 为日常西瓜保存提供更详细的理论依据。

参考文献

- [1] 河南疾控. 一家三口吃西瓜中毒, 全部进医院[EB/OL]. [2023-08-05]. <https://mp.weixin.qq.com/s/VZXi8sXPYyVznol5zCR9A> [2023-12-20]. Henan provincial center for disease control and prevention. A family of three was poisoned by watermelon and all went to the hospital [EB/OL]. [2023-08-05]. <https://mp.weixin.qq.com/s/VZXi8sXPYyVznol5zCR9A>. [2023-12-20].
- [2] 广东疾控. 一块冰西瓜, 差点要了命! 隔夜西瓜这么放很危险![EB/OL]. [2020-06-14]. https://mp.weixin.qq.com/s/VcDLXLfzW4zuoCQP0kXa_g [2023-12-23]. Guangdong provincial center for disease control and prevention. A piece of iced watermelon, almost dying. It's dangerous to put watermelon like this overnight [EB/OL]. [2020-06-14]. https://mp.weixin.qq.com/s/VcDLXLfzW4zuoCQP0kXa_g [2023-12-23].
- [3] 孙敏敏, 郑淑芳, 王清, 等. 蓄冷箱包装在模拟冷链运输中对甜玉米品质的影响[J/OL]. 食品工业科技. [2023-11-29]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023070113> SUN MM, ZHENG SF, WANG Q, et al. Effects of cold storage insulation packaging box on the quality of sweet corn in simulated cold Chain transportation [J/OL]. Sci Technol Food Ind. [2023-11-29]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023070113>
- [4] 陆一菲, 张慧娟, 王思文, 等. 不同气调包装对薄荷贮藏品质的影响及薄荷保鲜呼吸速率模型的建立[J]. 食品工业科技, 2024, 45(9): 1–15. LU YF, ZHANG HJ, WANG SW, et al. Effects of different air conditioning packages on storage quality of mint and establishment of respiration rate model of mint preservation [J]. Sci Technol Food Ind, 2024, 45(9): 1–15.
- [5] 周德庆. 微生物学教程[M]. 第四版. 北京: 高等教育出版社, 2020: 82–100. ZHOU DQ. Microbiology [M]. Fourth Edition. Beijing: Higher Education Press, 2020: 82–100.
- [6] 陈红机. 细菌性食物中毒的微生物学检验探究[J]. 工业微生物, 2023, 53(4): 24–26. CHENG HJ. Research on microbiological examination of bacterial food poisoning [J]. Ind Microbiol, 2023, 53(4): 24–26.
- [7] 王艳. 65 例细菌性食物中毒患者的病原微生物检验结果分析[J]. 食品安全导刊, 2023, (21): 42–44. WANG Y. Analysis of pathogenic microorganism test results in 65 cases of bacterial food poisoning [J]. China Food Saf Magaz, 2023, (21): 42–44.
- [8] 蔡亚洁, 乌日娜, 周津羽, 等. 乳制品中有害微生物检测新技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(1): 41–47. CAI YJ, WU RN, ZHOU JY, et al. Research progress in new technologies for detecting harmful microorganisms in dairy products [J]. J Food Saf Qual, 2024, 15(1): 41–47.
- [9] JEE EK, ANTONIO C, MOHAMED H. SeSaMe: Metagenome sequence classification of *Arbuscular mycorrhizal* fungi-associated microorganisms [J]. Genom Proteom Bioinf, 2020, 18(5): 601–612.
- [10] LEONARD S, HAYLEY C, NILAY P. Future potential of metagenomics in microbiology laboratories [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2021, 21(12): 1273–1285.
- [11] ILARIA L, VALERIO F, FRANCESCA P, et al. Quantitative assessment of shotgun metagenomics and 16S rDNA amplicon sequencing in the study of human gut microbiome [J]. Omics, 2018, 22(4): 248–254.
- [12] DURAZZI F, SALA C, CASTELLANI G, et al. Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota [J]. Sci Rep-Uk, 2021, 11(1): 3030.
- [13] 李慧. 西瓜盖保鲜膜细菌会更多[J]. 医药与保健, 2013, (6): 62. LI H. Watermelon cover with plastic wrap will have more bacteria [J]. Med Health Care, 2013, (6): 62.
- [14] ANTONIO R, ESTEBAN P, CATARINA TF, et al. Foodborne pathogens and antibiotic resistance: Food spoilage by *Pseudomonas* spp.—An overview [M]. USA: John Wiley & Sons Inc, 2016.
- [15] CLIVE DWB. Food spoilage microorganisms [M]. England: Woodhead publishing limited, 2006.
- [16] HU A, GAO C, LU Z, et al. Detection of *Exiguobacterium* spp. and *E. acetylicum* on fresh-cut leafy vegetables by a multiplex PCR assay [J]. J Microbiol Meth, 2020, 180(4): 106100.
- [17] INDU P, RAVINDARANATH S. Inter-species competition of surface bacterial flora of pomegranate and their role in spoilage [J]. World J Microb Biot, 2023, 1: 1–9.
- [18] MARGARET B, THOMAS RH, HONG Z, et al. Microbiological spoilage of fruits and vegetables [J]. Food Microbiol Food Saf, 2009, 1: 135–183.
- [19] NIDHI G, COLIN H, PAUL R, et al. The prevalence and control of bacillus and related spore-forming bacteria in the dairy industry [J]. Front Microbiol, 2015, 6: 1418.
- [20] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 人间传染的病原微生物名录[EB/OL]. [2023-08-18]. <http://www.nhc.gov.cn/qjjys/s7948/202308/2f91aa8e7b10400f8f37e92bca451cdd.shtml> [2024-01-18]. National health commission of the people's republic of China. List of

- pathogenic microorganisms transmitted from person to human [EB/OL]. [2023-08-18]. <http://www.nhc.gov.cn/qjjys/s7948/202308/2f91aa8e7b10400f8f37e92bca451cdd.shtml> [2024-01-18].
- [21] MONTEFOUR K, FRIEDEN J, HURST S, *et al.* *Acinetobacter baumannii*: An emerging multidrug-resistant pathogen in critical care [J]. Crit Care Nurse, 2008, 28: 15–25.
- [22] AZEVEDO F, DUTRA V, NAKAZATO L, *et al.* Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in two hospitals in Central Brazil: The role of ST730 and ST162 in clinical outcomes [J]. J Med Microbiol, 2019, 68(1): 31–40.
- [23] TRACEY AT, CHANDRASHEKHAR GU. *Staphylococcus aureus* infections [M]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2023, 1: 4.
- [24] TONG SY, DAVIS JS, EICHENBERGER E, *et al.* *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3): 60–61.
- [25] DERAFFSHI R, BAZARGANI A, GHAPANCHI J, *et al.* Isolation and identification of nonoral pathogenic bacteria in the oral cavity of patients with removable dentures [J]. J Int Soc Prev Commu, 2017, 7(4): 197–201.
- [26] LEE CC, LEE NY, YAN JJ, *et al.* Bacteremia due to extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae*: Role of carbapenem therapy [J]. Antimicrob Agent, 2010, 54(9): 3551–3556.
- [27] 佚名. 能引起食物腐败的微生物有哪些?[J]. 农业工程技术, 2015, (11): 1. ANONYMOUS. What are the microorganisms that can cause food spoilage? [J]. Agric Eng Technol, 2015, (11): 1.
- [28] 王龔, 林威, 俞根荣, 等. 植物精油在食品防霉保质中应用的研究进展[J]. 核农学报, 2021, 35(5): 1170–1177. WANG Y, LING W, YU GR, *et al.* Advance in anti-fungus application of plant essential oil in food preservation [J]. J Nucl Agric Sci, 2021, 35(5): 1170–1177.
- [29] OLUWADARA A, OLUMID A, MARIYANA S, *et al.* Microbial spoilage of vegetables, fruits and cereals [J]. Appl Food Res, 2022, 2(1): 1–13.
- [30] JACKIE MT, CHRISTINE ERD, WILL MW. Spoilage of bread by bacillus [J]. Int Biod Biodegrad, 1993, 32: 55–66.
- [31] NIDHI G, COLIN H, PAUL RR, *et al.* The prevalence and control of *Bacillus* and related spore-forming bacteria in the dairy industry [J]. Front Microbiol, 2015, 6: 1418.
- [32] SARA T. Food storage mistakes that are costing you money [EB/OL]. [2021-07-26]. <https://www.allrecipes.com/article/food-storage-mistakes/> [2024-01-20].
- [33] KUMAR N, RAGUPATHI D, PRABAA D, *et al.* Accurate differentiation of *Escherichia coli* and *Shigella* serogroups: Challenges and strategies [J]. New Microb New Inf, 2018, 21: 58–62.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)

作者简介

武雅文, 中级工程师, 主要研究方向为微生物分子生物学。
E-mail: wyw2087@tkgeneclub.com

车 阳, 助理研究员, 主要研究方向为微生物分子生物学。
E-mail: cy0643@tkgeneclub.com