

纳豆菌抗菌肽 APNT-6 对凡纳滨对虾的低温保鲜效果

王东¹, 孙力军^{1*}, 王雅玲^{1*}, 刘唤明¹,
徐德峰¹, 邓楚津¹, 杜焕妍¹, 励建荣^{2,3}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524025;

2. 浙江工商大学食品与生物工程学院, 浙江省食品安全重点实验室, 浙江 杭州 310035;

3. 渤海大学辽宁省食品安全重点实验室, 辽宁 锦州 121013)

摘要: 为了解决因凡纳滨对虾货架期短而滥用化学保鲜剂等问题, 实验通过微生物发酵, 柱状色谱纯化得到一种新型生物保鲜剂——纳豆菌抗菌肽 APNT-6, 采用牛津杯法测定了其对于凡纳滨对虾腐败菌的抑菌效果, 并用浸保鲜剂方式将抗菌肽应用于凡纳滨对虾保鲜, 通过测定对照组和保鲜剂组在(4±1) °C贮藏过程中的 pH、挥发性盐基氮(TVB-N)、细菌总数、感官评分等鲜度指标的变化规律, 评价了抗菌肽对凡纳滨对虾在(4±1) °C贮藏条件下保鲜效果。结果表明, 纳豆菌抗菌肽 APNT-6 对凡纳滨对虾中 *Pseudomonas*、*Shewanella* 等 8 株腐败菌有良好的抑菌效果, 经 0.5 mg/mL 抗菌肽保鲜剂处理后, 保鲜剂组在(4±1) °C贮藏过程中 pH、挥发性盐基氮(TVB-N)和细菌总数增加缓慢, 货架期延长了 2~3 d。

关键词: 凡纳滨对虾; 抗菌肽; 腐败菌; 货架期

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

芽孢杆菌抗菌肽是以枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、淀粉液化芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、纳豆菌(*Bacillus natto*) 等为代表的芽孢杆菌产生的一系列脂肽类物质, 通常有 surfactin、iturin、fengycin、subtilin 和 sublancin 等^[1-2]。本研究小组从中国传统发酵食品——纳豆中分离到一株具有广谱抗菌活性的纳豆芽孢杆菌 NT-6 菌株, 经质谱分析技术(ESI/MS/CID)分析鉴定, 证明抗菌物质为抗菌肽, 主要有 fengycin、surfactin 和 iturin 3 组抗菌活性同系物组成(命名为 APNT-6), 同时通过小鼠口服急性毒性实验, 发现其 LD₅₀ 大于 5 000 mg/kg 小鼠体质量, 说明纳豆菌抗菌肽 APNT-6 具有较高的食用安全性^[3]。

新鲜的对虾具有较高的水分和蛋白质含量, 极易在捕捞、运输、加工及贮藏过程中受细菌侵袭而腐败变质, 传统的物理、化学保鲜方法由于其使

用范围、操作技术等限制和安全性问题, 很难推广^[4]。低温保藏技术是对虾常规保鲜方法, 对延长货架期起到了一定作用, 但仍然较短(4 °C贮藏一般为 2~3 d), 不利于长距离运输。为了延长保鲜期, 在低温保鲜的基础上仍需辅以保鲜剂。因此, 开发安全、高效和低成本生物保鲜剂已是大势所趋, 而微生物保鲜剂由于其高效和应用成本低的特点成为研究的热点。目前, 研究最多, 应用最广的微生物保鲜剂主要是乳链球菌肽(Nisin), 但 Nisin 只能用于酸性条件下革兰氏阳性菌^[5]。水产品多为中性或偏碱性条件, 冷藏中 *Pseudomonas*、*Shewanella* 等特定腐败菌多为革兰氏阴性菌^[6], 这就大大限制了 Nisin 在水产品保鲜中的应用。芽孢杆菌抗菌肽富含系列抗菌活性成分, 对 pH 有较强适应性, 克服了 Nisin 抗菌谱和 pH 范围窄的局限性, 为水产品保鲜提供了新思路。

收稿日期: 2011-12-25 修回日期: 2012-03-16

资助项目: 国家自然科学基金项目(30972287;31171634); 广东海大引进人才基金(1012068); 湛江科技计划(2011D02); “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD29B06)

通讯作者: 孙力军, E-mail: dfsun01@126.com; 王雅玲, E-mail: wangylchina@163.com

本研究以凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)为研究对象,利用纳豆菌抗菌肽 APNT-6 作为保鲜剂,探讨其对凡纳滨对虾腐败菌的抑菌效果,研究了对照组与保鲜剂组对虾在(4±1) °C 贮藏过程中品质变化,以期水产行业开发新型生物保鲜剂提供新的途径。

1 材料与方 法

1.1 菌种

纳豆芽孢杆菌 NT-6, *Pseudomonas*、*Shewanella* 等腐败菌分离株为广东海洋大学食品科技学院水产品安全实验室保藏。

1.2 发酵法制备抗菌肽

纳豆菌发酵培养 以 LB 培养基(蛋白胨 10.0 g, 酵母膏 5.0 g, NaCl 5.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH=7.0)作为纳豆芽孢杆菌 NT-6 的种子培养基,培养 18~24 h,按 5%接入发酵培养基(葡萄糖 20.0 g, L-谷氨酸钠 5.0 g, MgSO₄ 0.5 g, KCl 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g, FeSO₄ 0.15 mg, MnSO₄ 5.0 mg, CuSO₄ 0.16 mg, 蒸馏水 1 000 mL, pH=7.0)中,装液量 100 mL/500 mL 三角瓶,在 30 °C, 160 r/min, 振荡培养 36 h。

抗菌肽提取和纯化 发酵液 4 °C 下 10 000 r/min 离心 10 min 除去菌体,得到的上清液用 3 mol/L 的 HCl 调 pH 至 2.0, 4 °C 静置过夜;次日,4 °C 下 10 000 r/min 离心 20 min 得到沉淀,用 90% 乙醇溶解,搅拌均匀,再用 3 mol/L NaOH 调 pH 至 7.0, 室温下放置 5 h,然后在 4 °C 10 000 r/min 下离心 10 min 得提取液,冷冻干燥即为粗提物^[7]。

取一定量粗提物溶解于去离子水中,用大孔树脂 X-5 柱色谱纯化^[8],工艺参数为上样浓度 15.0 mg/mL、上样速率 1 mL/min、洗脱速率 2 mL/min、洗脱剂用量 2.0 BV。将有抗菌活性的洗脱峰冷冻干燥后,称取不同质量的固体粉末配成一定浓度的抗菌肽保鲜剂。

1.3 抗菌肽对凡纳滨对虾的保鲜效果评价

对虾分组保鲜 选取鲜活、完整、颜色鲜亮、大小均一的凡纳滨对虾,体质量(10±0.5) g,购于湛江东风市场,加氧保活条件下运送至实验室,剔除死亡损伤个体,剩余样品浸入冰水(1:2, w/v)中冻死后用蒸馏水洗净并沥干,随机分为对照组和保鲜剂组,配制一定浓度的抗菌肽保鲜剂,使用时按照 1:1(w/v)的比例,即将 1 kg 凡纳滨对虾置

于 1 L 保鲜剂中,3 min 后取出,沥水 2~3 min,分别装入保鲜袋中,将保鲜袋放在保鲜盒内,最后将保鲜盒放在 4 °C 冰箱中进行保存。每天每组取样 3 只,每组样品平行测定 3 次,分别于 0、1、2、3、4、5、6、7 d 取样测定一次。

抗菌肽对凡纳滨对虾腐败菌分离株的抑制效应 将抗菌肽用无菌蒸馏水配制成 3 个不同浓度的保鲜剂(0.25、0.5 和 1.0 mg/mL),以从腐败凡纳滨对虾中分离到的 8 株细菌(5 株革兰氏阴性菌,3 株革兰氏阳性菌)为指示菌(表 1),同时部分参照 Nisin 的抑菌活性检测方法^[9],将保鲜剂用 0.22 μm 细菌滤器过滤,采用牛津杯平板扩散法(单层营养琼脂,15 mL),在营养琼脂中混入 0.2 mL 菌浓度为 1×10⁶ CFU/mL 的指示菌,取滤液 200 μL 加入牛津杯中,30 °C 培养 24 h,用游标卡尺测其抑菌圈的直径,以抑菌圈的直径评价抗菌肽的抑菌效果及不同浓度保鲜剂的差异性。

抗菌肽对凡纳滨对虾常规鲜度指标的影响 按照上述采样方法,分别测定目标样本中的 pH(取 5 g 肌肉加入 45 mL 蒸馏水进行匀浆,离心后取上清液,以 pH 计测定)、挥发性盐基氮(TVB-N)(参考 SC/T 3032—2007)、细菌总数(参考 GB 4789.2—2010)、感官评分(评定标准见表 2,由具有评定经验的感官评定人员 5 名,分别对样品的气味、外观和肉质组织 3 个方面进行感官评分,然后将此 3 项的分值相加,作为综合感官评定,总分值 9 分以下表明样品已不可食用^[10])等常规鲜度评价指标。

1.4 数据处理与分析

采用 Origin 7.5 绘图,应用 JMP 7.0 统计处理软件进行统计分析,结果以平均值±标准差(mean±SD)表示,组间分析采用 Tukey HSD 法比较,以 P<0.01 为极显著,P<0.05 为显著,P>0.05 为不显著。

2 结果

2.1 抗菌肽对凡纳滨对虾腐败菌分离株的抑制效应

纳豆菌抗菌肽 APNT-6 对凡纳滨对虾中 *Pseudomonas*、*Shewanella* 等 8 株腐败菌分离株都有很好的抑菌效果,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌均表现抑菌作用,抑菌谱广,而且随着抗菌肽浓度的递增,抑菌圈直径逐渐增大,其抑菌效果也逐

渐增强(表 1 和图 1)。通过比较每株菌 3 个不同浓度保鲜剂组间差异性, 发现 0.25 mg/mL 的保鲜剂相对于 0.5、1.0 mg/mL 的保鲜剂差异显著 ($P < 0.05$),

而 0.5 和 1.0 mg/mL 两组间无差异性($P > 0.05$), 由此推断抗菌肽作为凡纳滨对虾保鲜剂的最佳使用浓度为 0.5 mg/mL。

表 1 抗菌肽对不同腐败菌的抑菌效果

Tab. 1 Inhibition effects of antimicrobial peptide on different spoilage organisms isolated from *L. vannamei*

细菌名称 generic name of bacterium	抑菌圈直径/mm diameter of antibiotic circle		
	0.25 mg/mL	0.5 mg/mL	1.0 mg/mL
<i>Pseudomonas</i>	13.76±0.24 ^b	15.47±0.23 ^a	16.41±0.25 ^a
<i>Shewanella</i>	21.61±0.62 ^b	24.99±0.69 ^a	26.07±0.41 ^a
<i>Aeromonas</i>	14.12±0.34 ^b	16.34±0.28 ^a	17.14±0.51 ^a
<i>Chryseobacterium</i>	13.74±0.77 ^b	15.59±0.38 ^a	16.53±0.41 ^a
<i>Morganella</i>	25.32±0.23 ^b	27.05±0.56 ^a	28.10±0.37 ^a
<i>Carnobacterium</i>	22.44±0.44 ^b	25.56±0.33 ^a	25.77±0.67 ^a
<i>Lysinibacillus</i>	20.96±0.51 ^b	23.30±0.28 ^a	24.52±0.42 ^a
<i>Kurthia</i>	16.50±0.57 ^b	19.61±0.32 ^a	20.52±0.63 ^a

注: 表中同一列的不同字母表示差异显著($\alpha = 0.05$)。

Notes: different letters indicate significant differences between treatments according to the Tukey HSD test ($\alpha = 0.05$).

表 2 凡纳滨对虾感官评定标准^[10]

Tab. 2 Grading standard for prawn sensory assessment

分数 score	气味 odor	外观 appearance	肉质组织 texture
6	海草味, 典型的种类特征气味	虾体完整, 虾头与虾体连接紧密, 头部、躯干、尾部具有特征色泽	肌肉有弹性, 肉与壳连接紧密
5	轻微的种类特征气味	虾头与虾体仍然结合, 头部、躯干、尾部的特征色泽有所褪变;	肌肉略有弹性, 不变色, 肉与壳连接稍松弛
4	轻微氨味	虾头松弛, 头部轻微黑变, 躯体和尾部出现黑点, 特征色泽退色	肌肉弹性较差, 肉与壳连接较松弛
3	尿素味, 轻微的腥臭味	虾头从虾体轻微脱落, 头部黑变, 躯干和尾部明显变色	肌肉弹性差, 肉与壳连接松弛
2	氨味, 很强的硫化氢味	虾头基本从虾体脱落, 头部几乎完全黑变, 躯干与尾部变黑	肌肉组织松软, 肉质发黄
1	强烈的硫化氢味, 尿素味, 强烈的氨味	虾头完全从虾体脱落, 头部完全黑变, 躯干与尾部严重变黑	壳易剥离, 肌肉糊状

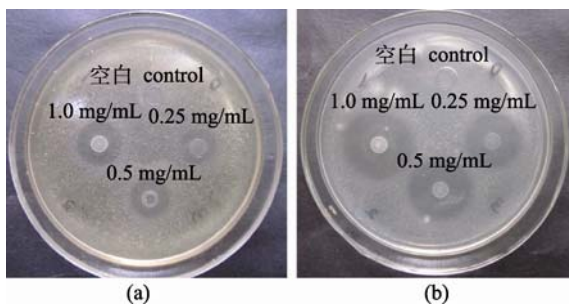


图 1 抗菌肽的抑菌效果

(a) 抗菌肽对假单胞菌的抑菌效果; (b) 抗菌肽对希瓦氏菌的抑菌效果。

Fig. 1 Inhibition effect of antimicrobial peptide

(a) *Pseudomonas*; (b) *Shewanella*.

2.2 抗菌肽对凡纳滨对虾中 pH 的影响

由凡纳滨对虾经抗菌肽保鲜剂处理后在(4±1) °C贮藏过程中 pH 变化情况(图 2)可知, 对照组与保鲜剂

组都随贮藏时间的延长, 在 pH 有略微下降之后开始逐渐上升, 从第 2 天开始, 保鲜剂组经抗菌肽保鲜剂处理后的 pH 始终显著小于对照组($P < 0.05$)。

2.3 抗菌肽对凡纳滨对虾中 TVB-N 值的控制效应

凡纳滨对虾经抗菌肽保鲜剂处理后, 在(4±1) °C 贮藏过程中 TVB-N 变化情况(图 3)说明, 对照组与保鲜剂组都随贮藏时间的延长, TVB-N 值逐渐增加, 从第 2 天开始, 保鲜剂组经抗菌肽保鲜剂处理后的 TVB-N 值始终显著小于对照组($P < 0.05$), 按照 DB 33/451—2003 海捕虾质量要求规定(海虾一级、二级、三级鲜度的 TVB-N 值上限分别为 15、20、30 mg / 100 g, 当 TVB-N 值超过规定的三级鲜度时, GB 2733—2005 规定为不可食用)判断, 对照组和保鲜剂组分别在第 2 天和第 3 天超过或接近一级鲜度, 而分别在第 3 天和第 6 天接近三级鲜度, 达到可被

食用的上限。表明抗菌肽可以抑制微生物生长, 减缓蛋白质分解产生氨以及胺类等碱性含氮物质。

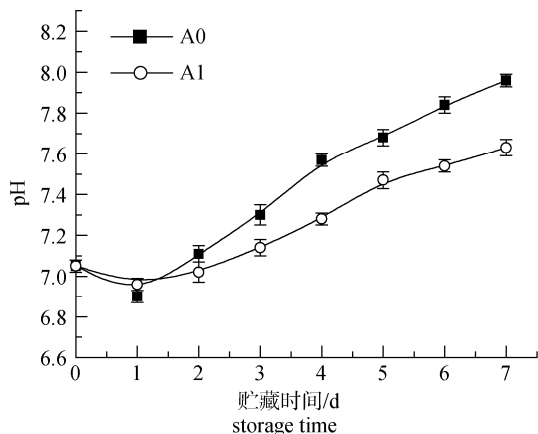


图 2 凡纳滨对虾在(4±1)°C 贮藏过程中 pH 变化 A0. 对照组; A1. 保鲜剂组。

Fig. 2 Changes in pH of *L. vannamei* during refrigerated storage at (4±1) °C

A0.control sample; A1. fresh-keeping agent sample.

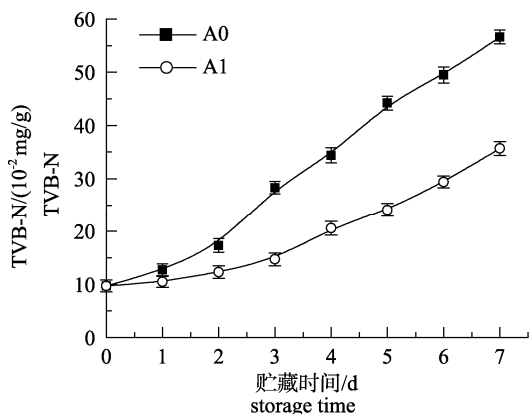


图 3 凡纳滨对虾在(4±1)°C 贮藏过程中 TVB-N 变化 A0. 对照组; A1. 保鲜剂组。

Fig.3 Changes in TVB-N of *L. vannamei* during refrigerated storage at (4±1) °C

A0.control sample; A1.fresh-keeping agent sample.

2.4 抗菌肽对凡纳滨对虾中细菌总数的影响

凡纳滨对虾经抗菌肽保鲜剂处理后,在(4±1) °C 贮藏过程中细菌总数变化情况(图 4)表明, 对照组与保鲜剂组都随贮藏时间的延长, 细菌总数逐渐增加, 而从第 2 天开始, 保鲜剂组细菌总数始终显著小于对照组($P < 0.05$), 在冷藏过程中, 未经处理的对照组, 第 2 天已达到二级鲜度, 第 3 天接近货架期终点, 而保鲜剂组前 3 天仍为一级鲜度, 第 6 天

才接近货架期终点(参考 GB 4789.2—2010, 海虾细菌总数(CFU/g)≤10⁵ 为一级鲜度, ≤5×10⁵ 为二级鲜度, 细菌总数达到 10⁶ 时, 断定为货架期终点), 货架期提高了近 1 倍, 抗菌肽对凡纳滨对虾中细菌总数与 TVB-N 的影响规律基本一致。

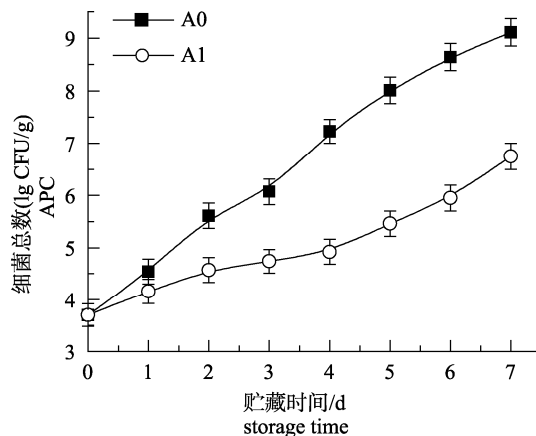


图 4 凡纳滨对虾在(4±1)°C 贮藏过程中细菌总数变化

A0. 对照组; A1. 保鲜剂组。

Fig.4 Changes in APC of *L. vannamei* during refrigerated storage at (4±1) °C

A0.control sample; A1. fresh-keeping agent sample.

2.5 抗菌肽处理后的凡纳滨对虾感官评分变化规律

凡纳滨对虾经抗菌肽保鲜剂处理后, 在(4±1)°C 贮藏过程中感官品质变化情况(图 5)表明, 对照组和保鲜剂组气味(图 5-a)、肉质组织(图 5-c)的评分均随贮藏时间的延长而降低, 从第 1 天开始, 对照组的气味和肉质组织的评分显著低于试验组($P < 0.05$), 而在外观(图 5-b)评分上, 对照组与试验组无显著性差异($P > 0.05$), 这是因为抗菌肽对凡纳滨对虾防黑变无明显效果, 黑变严重影响了对虾的外观品质。

总的感官评分(图 5-d)与气味和肉质组织评分的变化规律基本一致, 都是随贮藏时间的延长而降低。一般认为, 总的感官评分不低于 9.0 分仍在可接受的范围内, 对照组贮藏至第 3 天时, 由于气味和肉质组织的评分下降明显, 总的感官评分已接近不可接受的界限。试验组贮藏至第 5 天时, 总的感官评分才接近 9.0 分, 表明抗菌肽的处理延缓了对虾的腐败进程, 延长了货架期。

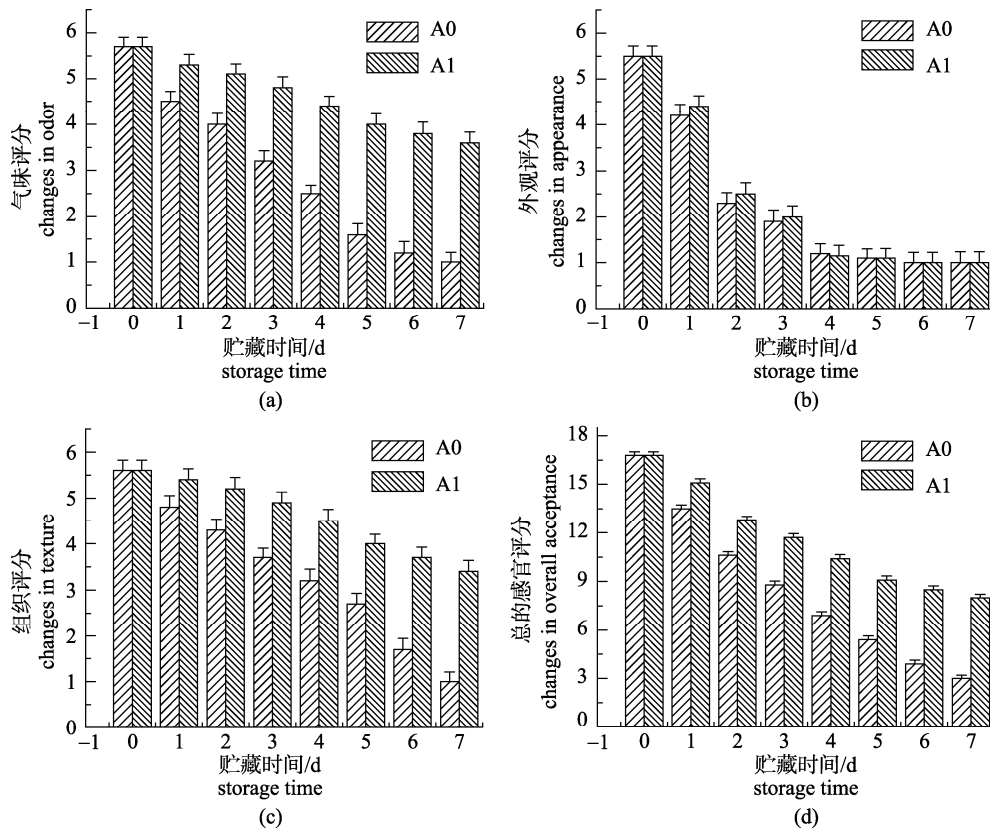


图 5 凡纳滨对虾贮藏过程中感官评分

(a) 气味; (b) 外观; (c) 肉质组织; (d) 总的感官评分。A0. 对照组, A1. 保鲜剂组。

Fig. 5 Changes of sensory score in *L. vannamei* during refrigerated storage

(a) odor; (b) appearance; (c) texture; (d) overall acceptance. A0. control sample; A1. fresh-keeping agent sample.

3 讨论

Dalgaard^[11]在 20 世纪 90 年代中期提出了特定腐败菌 SSO(specific spoilage organism)的概念, 明确了在大多数情况下, 水产品所含微生物中只有部分参与腐败过程, 有研究表明, 在冷藏过程中, 革兰氏阴性菌 *Pseudomonas* 和 *Shewanella* 是对虾的特定腐败菌^[6]。因此, 本研究前期从对虾中分离出包括特定腐败菌 *Pseudomonas* 和 *Shewanella* 在内的 8 株腐败菌, 通过牛津杯平板扩散实验, 发现纳豆菌抗菌肽 APNT-6 对上述腐败菌分离株有很好的抑菌效果, 但不同菌株间具有差别。这一结果与曹荣^[12]用壳聚糖作用于对虾腐败过程中的优势菌 *Pseudomonas*、*Shewanella* 和 *Aeromonas* 的抑菌效果较为一致。抗菌肽对不同腐败菌株产生不同抑菌效应的机理仍有待研究。通过测定贮藏过程中凡纳滨对虾腐败变质的常规指标, 发现与对照组相比, 抗菌肽组能明显抑制细菌的增长, 减缓 pH、TVB-N 的增加幅度, 可将(4±1) °C 贮藏条件下的

凡纳滨对虾货架期延长 2~3 d。这表明, 纳豆菌抗菌肽 APNT-6 与壳聚糖和 ε-聚赖氨酸在对虾低温保鲜上效果相当^[13-14]。上述结果说明, 纳豆菌抗菌肽 APNT-6 对对虾腐特定败菌具有很好的抑制作用, 同时, 保鲜实验也证实其具有良好的保鲜效果, 因此, 纳豆菌抗菌肽具有作为水产品保鲜剂的应用潜力。但是, 由于对虾体内多酚氧化酶(PPO)的作用, 严重影响了对虾的外观品质, 而纳豆菌抗菌肽 APNT-6 在防黑变效果方面并不理想, 因此单一使用抗菌肽保鲜剂仍存在不足, 需要防黑变剂的配合。因此, 在今后的研究中期望通过和其它保鲜剂的复合作用提高对凡纳滨对虾整体保鲜效果, 为水产行业开发新型生物保鲜剂提供一条新的路径。

参考文献:

[1] 孙力军. 植物内生菌 *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2 的分离筛选及其抗菌物质的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
 [2] 曹小红, 廖振宇, 王春林, 等. *Bacillus natto* TK-1 产脂肽的纯化、抑菌活性及其表面活性剂特性[J]. 中国

- 生物工程杂志, 2008, 28(1): 44-48.
- [3] 孙力军, 王雅玲. 一种新型抗菌肽水产生物保鲜剂 APNT-6 的开发和应用[C]//中国食品科学技术学会第六届年会暨第五届东西方食品业高层论坛论文摘要集, 2009.
- [4] 熊涛, 乐易林. 生物保鲜技术的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(2): 111-114.
- [5] Luciana J A, Angela F J, Priscila G M, *et al.* Nisin biotechnological production and application: a review [J]. Trends in Food Science and Technology, 2009, 20: 146-154.
- [6] Gram L, Huss H H. Fresh and processed fish and shellfish[M]//Lurid B M, Baird-Parker T C, Gould G W. The microbiological safety and quality of food. Gaithersburg Maryland, USA: Aspen Publishers Inc, 2000: 472-506.
- [7] Cooper D G, Macdonald C R, Duff S J B, *et al.* Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation additions[J]. Applied Environment Microbiology, 1981, 42(3): 408-412.
- [8] Wang Y, Lu Z X, Bie X M, *et al.* Separation and extraction of antimicrobial lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2 with macroporous resin[J]. European Food Research and Technology, 2010, 231(2): 189-196.
- [9] 伊守亮, 肖林, 顾振华, 等. 管碟法测定 Nisin 效价[J]. 无锡轻工业大学学报, 2004, 23(4): 41-45.
- [10] 曹荣, 薛长湖, 徐丽敏. 复合保鲜剂在对虾保鲜及防黑变中的应用[J]. 农业工程学报, 2009, 25(8): 294-298.
- [11] Dalgaard P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish[J]. International Journal of Food Microbiology, 1995, 26: 319-333.
- [12] 曹荣. 对虾生物保鲜与其熟制品保藏技术的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [13] 徐丽敏, 薛长湖, 李兆杰, 等. 水溶性壳聚糖对南美白对虾品质及腐败菌相变化的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29(6): 107-110.
- [14] 侯伟峰, 谢晶, 林永艳. ϵ -聚赖氨酸在南美白对虾保鲜上的应用[J]. 湖南农业科学, 2011 (5): 127-130, 143.

Effect of antimicrobial peptide APNT-6 produced by *Bacillus natto* on fresh-keeping of *Litopenaeus vannamei* at low temperature

WANG Dong¹, SUN Li-jun^{1*}, WANG Ya-ling^{1*}, LIU Huan-ming¹,
XU De-feng¹, DENG Chu-jin¹, DU Huan-yan¹, LI Jian-rong^{2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China; 2. Key Laboratory for Food Safety of Zhejiang Province, College of Food Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China; 3. Key Laboratory for Food Safety of Liaoning Province, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

Abstract: A new biological preservative—antimicrobial peptide APNT-6 produced by *Bacillus natto* NT-6 and purified by column chromatography will be applied in the fresh-keeping of *Litopenaeus vannamei*. *Bacillus* antimicrobial peptides are a series of lipopeptides substances produced by represented *Bacillus* strains of *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* and *B. natto*, which include surfactin, iturin, fengycin, subtilin and so on. Numerous studies show that *Bacillus* antimicrobial peptides have a startling range of antimicrobial activities that can include action against most Gram-negative and Gram-positive bacteria, fungi, enveloped viruses, and eukaryotic parasites. Recently, our research group isolated a highly antibiotic activity and largely antimicrobial spectrum strain—*B. natto* NT-6 from the Chinese traditional food—lobster sauce. According to the mass spectrometry (ESI /MS /CID) analysis, we know the mainly antimicrobial substances produced by this strain is *Bacillus* antimicrobial peptides, mainly including surfactin, fengycin, and iturin (called after APNT-6). Through oral acute toxicity in mice we found that its LD₅₀ greater than 5000 mg/kg body weight, indicating that antimicrobial peptide APNT-6 has high food safety. In this paper, the antibacterial activities of antimicrobial peptide on spoilage organisms were determined by Oxford cup assay. Then the quality changes of *L. vannamei* during storage at (4±1) °C were investigated, including the pH, total volatile basic nitrogen (TVB-N), aerobic plate count (APC) and sensory assessment. The results showed that antimicrobial peptide APNT-6 can effectively inhibit 8 strains of spoilage organisms isolated from *L. vannamei*. During storage at (4±1) °C, with the extension of storage time, the gradually increasing values of pH, TVB-N and APC of *L. vannamei* were observed during the 7 days storage. However, incubated 0.5 mg/mL antimicrobial peptide can effectively slow down the value increasing, which extends the shelf-life of *L. vannamei* by 2-3 days.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; antimicrobial peptide; spoilage organisms; shelf-life

Corresponding author: SUN Li-jun. E-mail: dfsun01@126.com

WANG Ya-ling. E-mail: wangylchina@163.com