

DBS42

湖北省食品安全地方标准

DBS42/020—2026

食品安全地方标准

纳豆粉

2026-02-02 发布

2026-08-02 实施

湖北省卫生健康委员会

发布

前 言

本标准为首次发布。

起草单位：湖北省疾病预防控制中心、湖北真福医药有限公司、安琪酶制剂（宜昌）有限公司、湖北莱福特生物科技股份有限公司、湖北麦克森生物技术有限公司、武汉彼尔生物医药技术有限公司。

起草人：樊柏林、黎炎梅、曲敏、王业富、董艳山、袁媛、何瑜林、高丽、李涛、徐斌、陈飞、喻晨、李力、邓娟娟、田春妹。

食品安全地方标准

纳豆粉

1 范围

本标准规定了纳豆粉的术语和定义、技术要求、生产加工过程要求、净含量、标志和包装。

本标准适用于以大豆或大豆组分为原料，经枯草芽孢杆菌固态或液态发酵、分离或不分离、干燥、粉碎、混合、包装等工艺制成的食品原料纳豆粉。

2 术语和定义

2.1 纳豆粉

纳豆粉（固态发酵）

以大豆为原料，经枯草芽孢杆菌发酵、干燥、粉碎、包装等工艺加工制成的食品原料。

纳豆粉（液态发酵）

以食品级大豆组分（食用大豆粕、大豆粉、大豆蛋白、大豆酶解物、大豆分离蛋白等）为原料，经枯草芽孢杆菌发酵、分离、干燥（可添加必要的辅料）、混合、包装等工艺加工制成的食品原料。

2.2 纳豆激酶

由枯草芽孢杆菌产生的一种丝氨酸蛋白酶，又名枯草杆菌蛋白酶，酶活力单位根据检验方法分为FU/g或IU/g。

3 技术要求

3.1 原料要求

3.1.1 大豆

应符合 GB 1352 和 GB 2715 的规定。

3.1.2 大豆组分

食用大豆粕、大豆粉、大豆蛋白、大豆酶解物等原料，应符合GB/T 13382、GB/T 22493和GB/T 22492等规定。大豆分离蛋白应符合GB 20371的规定。

3.1.3 枯草芽孢杆菌

应是安全、无毒、无害和无其他杂菌的一种枯草芽孢杆菌的纯培养物。首次使用应提供国内外有菌种鉴定资质机构出具的生产菌种分类学资料。每五年内，应对生产菌株进行再次鉴定，提供有菌种鉴定资质机构出具的生产菌种分类学资料。

3.1.4 水

应符合GB 5749的规定。

3.1.5 其他原辅料

应符合GB 2761、GB 2762、GB 2763以及相应食品标准的规定。

3.2 感官要求

感官要求应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项 目	要 求	检验方法
色泽	浅黄色至黄褐色	取适量试样置于白色洁净瓷盘中，在自然光下观察色泽、性状和杂质，闻其气味，品其滋味。
气味、滋味	具有纳豆粉特有的气味、滋味，无异味	
性状	粉末状，无结块	
杂质	无正常视力可见外来杂质	

3.3 理化指标

理化指标应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项 目		指 标		检验方法
		固态发酵	液态发酵	
水分，g/100g	≤	7.0		GB 5009.3
灰分，g/100g	≤	6.0		GB 5009.4
铅（以 Pb 计），mg/kg	≤	0.3		GB 5009.12
黄曲霉毒素 B ₁ ，μg/kg	≤	5.0		GB 5009.22
纳豆激酶 ^a	FU/g ≥	2000	10000	附录 A 紫外分光光度计法
	IU/g ≥	5000	20000	附录 B 琼脂糖纤维蛋白平板法

^a 纳豆激酶采用附录 A 或附录 B 中任一方法检测，结果符合相应要求即视为合格。

3.4 微生物限量

微生物限量应符合表 3 的规定。

表 3 微生物限量

项 目	采样方案 ^a 及限量（若非指定，均以/25g 表示）				检验方法 ^a
	n	c	m	M	
大肠菌群，CFU/g	5	2	10 ²	10 ³	GB 4789.3
沙门氏菌，/25g	5	0	0	—	GB 4789.4
金黄色葡萄球菌，CFU/g	5	1	10 ²	10 ³	GB 4789.10

^a 样品的采样及处理按 GB 4789.1 执行。

3.5 食品添加剂

食品添加剂的使用应符合 GB 2760 中发酵豆制品的规定。

4 生产加工过程要求

食品生产应符合GB 14881的规定。

5 净含量

应符合定量包装商品净含量计量检测规则，检验方法按JJF 1070规定执行。

6 标志和包装

6.1 标志

食品应符合GB 7718和GB 28050的有关规定，包装储运图示标志应符合GB/T 191规定。

6.2 包装

内包装用塑料复合膜应符合GB/T 30768、GB 4806.7的规定，外包装用瓦楞纸箱应符合GB/T 6543的规定，其他食品包装材料或容器应符合相应食品安全标准及有关规定。

附录A

纳豆激酶测定方法—紫外分光光度法

A.1 范围

本方法适用于纳豆粉中纳豆激酶的测定。

本方法的检测浓度范围为 0.67~1.33 FU/mL。

A.2 原理

纳豆粉中的纳豆激酶与纤维蛋白发生反应，使纤维蛋白肽键水解。水解反应使溶液在紫外光 275 nm 处吸光度发生变化。用紫外分光光度计测定水解反应前后吸光度的变化，通过换算间接得出纳豆激酶的活力，单位用 FU 表示。一个活力单位（1 FU）是指在 275 nm 下，使吸光度值每增加 0.01 时消耗的酶量。

A.3 试剂配制

A.3.1 实验用水为一级水；

A.3.2 磷酸氢二钠（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ）：分析纯；

A.3.3 磷酸二氢钠（ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）：分析纯；

A.3.4 氯化钠（ NaCl ）：分析纯；

A.3.5 盐酸（ HCl ）：分析纯；

A.3.6 三氯乙酸（TCA）：分析纯；

A.3.7 纤维蛋白原：CAS：9001-32-5；

A.3.8 凝血酶：CAS：9002-04-4；

A.3.9 醋酸（ CH_3COOH ）：分析纯；

A.3.10 醋酸钠（ $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ）：分析纯；

A.3.11 Triton X-100：分析纯；

A.3.12 硫酸钙（ $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ）：分析纯；

A.3.13 0.01mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 6.8，含NaCl）

精密称取 3.58g磷酸氢二钠（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ），加水溶解并稀释定容至1.0 L，配成溶液A，精密称取0.78 g磷酸二氢钠（ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ），加水溶解并稀释定容至500 mL，配成溶液B，将溶液A和B混合，配成pH为7.5的磷酸缓冲溶液（约取A液84mL，B液16mL）；取上述pH值为7.5的磷酸缓冲溶液与0.9%的氯化钠溶液混合，混合比例约为1：17，配制成pH为6.8的磷酸缓冲液溶液。

A.3.14 0.2 mol/L三氯乙酸（TCA）溶液

精密称取32.68 g TCA，用适量纯水溶解并稀释至1000 mL即得。

A.3.15 0.96%纤维蛋白原溶液

移取10mL 磷酸缓冲液（0.01 mol/L）至锥形瓶中，加入96mg的纤维蛋白原。加冰超声使其完全溶解，防止起泡。

A.3.16 凝血酶溶液

用0.01mol/L磷酸盐缓冲液溶解凝血酶，配制成1000U/mL的溶液。将其分装在小管中，冷冻保存。使用前，用0.01mol/L磷酸盐缓冲液稀释50倍。

A.3.17 1mol/L醋酸溶液

精密称取60.1 g醋酸（ CH_3COOH ），用适量纯水溶解并稀释定容至1000 mL即得。

A.3.18 1mol/L醋酸盐缓冲液（pH 6.0）

精密称取129.6 g醋酸钠 ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)，用约500 mL纯水溶解，向其中加入1 mol/L醋酸溶液至pH=6.0后，用纯水稀释至1000 mL即得。

A. 3. 19 10% Triton X-100溶液

称取10 g Triton X-100，在加热条件下用适量纯水溶解，再补加纯水至100 mL即得。

A. 3. 20 稀释剂

精密称取0.334 g (终浓度2 mmol/L) $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和0.585 g (终浓度10 mmol/L) NaCl，用适量去纯水溶解，向其中加入1 mol/L醋酸盐缓冲液2.0 mL (pH 6.0) 以及10% Triton X-100溶液0.5 mL (最终浓度为0.005%) 后，用纯水稀释至1000 mL即得。

A. 4 仪器和设备

A. 4. 1 水浴锅

A. 4. 2 分析天平：量感 0.1mg

A. 4. 3 pH计

A. 4. 4 涡旋混合器

A. 4. 5 离心机，转速 $\geq 12000\text{r/min}$

A. 4. 6 10mL离心管

A. 4. 7 紫外可见分光光度计，配1cm石英比色皿

A. 5 测试

A. 5. 1 样品溶液制备

准确称取适量样品 (称样量根据不同样品中纳豆激酶的含量而定，大约保证样品溶液中纳豆激酶活性在0.67~1.33 FU/mL之间)，用稀释剂溶解，使最终反应液的校正吸光度 (ΔA) 在0.04~0.08之间。

A. 5. 2 测定

A. 5. 2. 1 样品管

A. 5. 2. 1. 1 取1.4mL 0.01mol/L磷酸盐缓冲液和0.4mL 0.96%纤维蛋白原于试管中，在 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴中预孵育5 min。

A. 5. 2. 1. 2 取出加入0.1 mL凝血酶溶液并均匀混合，至 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴中孵育10 min。

A. 5. 2. 1. 3 取出加入0.1 mL样品溶液，涡旋混合5 s，至 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴中孵育60 min。在分别达到孵育20 min和40 min时间点时，分别取出在涡旋混合器上再均匀混合5 s后，继续孵育。

A. 5. 2. 1. 4 至反应60 min时，加入2 mL 0.2 mol/L TCA终止反应液。将加过终止反应液的样品管继续混合均匀5 s后，于 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 继续孵育20 min，使终止反应完全。

A. 5. 2. 1. 5 取出样品液进高速离心机，在12000 rpm条件下离心10 min。

A. 5. 2. 1. 6 用移液管将上清液转移至比色皿中，在275nm处测量吸光度 (A)。

A. 5. 2. 2 样品空白管

A. 5. 2. 2. 1 与样品管 A.5.2.1.1 和 A.5.2.1.2 同样操作。

A. 5. 2. 2. 2 取出加入2mL 0.2 mol/L TCA 终止反应液，均匀混合5s。

A. 5. 2. 2. 3 加0.1 mL样品溶液，均匀混合5 s后，放入 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴中孵育20 min。

A. 5. 2. 2. 4 接 A.5.2.1.5 和 A.5.2.1.6 操作，得样品空白管吸光度 (A_0)。

A. 6 结果计算

样品中纳豆激酶酶活X (FU/g)按以下公式计算：

$$X = (A - A_0) / (0.01 \times 60 \times 0.1) \times D$$

式中：

A ——样品液吸光度；

A_0 ——空白管吸光度；

D ——样品稀释率， D =定容体积（mL）/称样量（g）；

计算结果表示到小数点后两位。

A.7 检测质量控制标准

在重复性条件下获得的独立测定结果的相对标准偏差不得超过20%。

A.8 分析步骤的关键控制点及说明

A.8.1 稀释剂可在室温下保存15天。过期重配。

A.8.2 样品溶液浑浊时需过滤，取滤液测试。

A.8.3 混合均匀操作需配合使用搅拌器。

A.8.4 要严格控制酶解反应时间。

A.8.5 酶对样品反应的影响较大。当实验更换了一批纤维蛋白原和凝血酶后，对同一样品，结果有所不同。

附录B

纳豆激酶测定方法——琼脂糖纤维蛋白平板法

B.1 范围

本方法适用于纳豆粉中纳豆激酶的测定。

B.2 原理

纳豆激酶同尿激酶一样具有纤溶活性，在含有凝血酶和纤维蛋白原琼脂糖平板的固体支架上，样品中的纳豆激酶和尿激酶标准系列同时发生溶纤反应，形成透明溶圈。以溶圈面积大小的对数为横坐标，浓度对数为纵坐标作回归曲线，得出相应的回归方程。根据回归方程计算样品中尿激酶活性大小。样品中的纳豆激酶酶活力以活性大小IU计。

B.3 试剂与试液

实验用水应符合GB/T 6682规定的一级水。

B.3.1 试剂

B.3.1.1 磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)：分析纯；

B.3.1.2 磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)：分析纯；

B.3.1.3 氯化钠 (NaCl)：分析纯；

B.3.1.4 琼脂糖；

B.3.1.5 纤维蛋白原（来源牛血）：CAS 9001-32-5；

B.3.1.6 凝血酶（来源牛血）：CAS 9002-04-4；

B.3.1.7 尿激酶标准品：应具有标准品或对照品证书；

B.3.2 试液配制

B.3.2.1 PBS缓冲液制备

0.01mol/L磷酸盐缓冲液 (pH 7.5)：称取磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 3.58 g，加双蒸水使溶解并稀释1000 mL为Ⅰ液；取磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0.78 g加双蒸水使溶解并稀释至500 mL为Ⅱ液；将两液混合，调节至pH值为7.5（Ⅰ液取约84 mL，Ⅱ液取约16 mL）；

0.9%氯化钠溶液：称取氯化钠9 g，定容至1 L，得到0.9%氯化钠溶液。

将0.01 mol/L磷酸盐缓冲液 (pH 7.5) 与0.9%氯化钠溶液 (1: 17) 混合，得到PBS缓冲液。

B.3.2.2 1.5%琼脂糖溶液

取琼脂糖1.5 g，加PBS缓冲液100 mL，加热溶解，50℃水浴保温。现配现用。

B.3.2.3 纤维蛋白原溶液

取纤维蛋白原适量，加PBS缓冲液制成1 mL中含有1.5 mg蛋白的纤维蛋白原溶液。注意：缓慢加入PBS缓冲液，防止产生气泡，加冰超声溶解。

纤维蛋白原缓慢加入PBS缓冲液中，37℃水浴溶解，可少量多次溶解。

B.3.2.4 凝血酶溶液

取凝血酶适量，加入0.9%氯化钠溶液制成每1 mL中含1-2U或1-2BP单位的溶液（根据不同试剂标签标识单位而定）。

B.3.2.5 尿激酶标准系列溶液的制备

取尿激酶标准品，按标示效价加入所需PBS缓冲液溶解，配制的尿激酶标准溶液为1000 IU/mL，按表B.1继续配制尿激酶标准系列溶液。

表B. 1尿激酶标准系列溶液配制

尿激酶对照系列溶液浓度 IU/mL	尿激酶对照溶液取样量 μ L	PBS 缓冲液取样量 μ L
1000	100	0
800	80	20
600	60	40
500	50	50
400	40	60
200	20	80
100	10	90
50	10	190
25	10	390

注：稀释后的各标准溶液管应采用涡旋震荡器混合均匀。

B. 4 仪器与设备

- B. 4. 1 游标卡尺
- B. 4. 2 恒温水浴锅
- B. 4. 3 超纯水仪
- B. 4. 4 恒温培养箱
- B. 4. 5 涡旋混合器
- B. 4. 6 电子分析天平
- B. 4. 7 可控电炉
- B. 4. 8 超声仪
- B. 4. 9 培养皿（内径14cm）
- B. 4. 10 打孔器（直径3mm）

B. 5 分析步骤

B. 5. 1 样品溶液的制备

取纳豆粉样品适量（正式检验前有预知大约含量），加适量PBS缓冲液溶解，样液浓度稀释至200～400 IU/mL左右。超声提取15 min后定容至容量瓶刻线。

B. 5. 2 纤维蛋白平板的制备

取B.3.2.3纤维蛋白原溶液39 mL置100 mL烧杯中，于50℃水浴加热5 min，边搅拌边加入B.3.2.2琼脂糖溶液39 mL和B.3.2.4凝血酶3.0 mL，立即混匀，快速倒入培养皿，室温水平放置1小时。

用纸画一同培养皿底部相同、直径为14cm的圆，在圆的中心画一直径为24mm的小圆，以此小圆的圆心为中心点，放上已制备好的平板。用打孔器的不锈钢小管，在纤维蛋白平板上垂直打孔。

所需打孔的数目为标准系列加样品（包括平行样）数目的和，孔与孔之间保持15mm的距离，以防溶圈交叉，影响测量的直径结果。

B.5.3 测定

B.5.3.1 尿激酶对照曲线点样

用移液器精密量取B.3.2.5.1表中不同浓度尿激酶对照溶液各10uL，分别垂直点在B.5.2制备的纤维蛋白平板孔中，并标记各点的浓度。

B.5.3.2 纳豆粉样品点样

根据预先估算样品的纳豆激酶大小（可参照以往的数据），称取样品适量于适当的容量瓶中，样品量的大小应使最终点样浓度在200~400IU/mL左右即可。用移液器精密量取样品溶液10uL点样，同时做1-2个平行样。尿激酶标准曲线系列和样品溶液同在一个纤维蛋白平板中点样，并准确标记样品号。点样完成后盖上平皿盖，置于37℃恒温箱中反应18小时。

B.5.3.3 溶圈测量

取出平板即可开始测量溶圈直径（注：平板取出后平板取出后溶圈反应仍在进行中，如测量时间拖延较长，将影响溶圈直径大小的判断。将平板放入5℃冰箱可协助溶圈反应暂时停止），计算溶圈面积 $=\pi R^2$ 。以溶圈面积对数为横坐标，浓度对数为纵坐标作回归曲线，得出相应的回归方程。根据回归方程计算样品中纳豆激酶酶活C。

B.6 计算

样品中纳豆激酶的活性 $X=C \times V/M$

其中：

X ：样品纳豆激酶，IU/g；

C ：通过回归方程计算的样品液中纳豆激酶，IU/mL；

V ：样品稀释总体积，mL；

M ：样品质量，g。

B.7 分析步骤的关键控制点及说明

B.7.1 实验前，所使用的平皿及其他器具应先在紫外灯下消毒30min。

B.7.2 PBS缓冲液及0.9%氯化钠溶液均需进行灭菌。

B.7.3 可将凝血酶先配制成20 U/mL或20 BP/mL溶液，分装于小离心管存放于-20℃冰箱中，使用前根据配制的纤维蛋白原的量进行稀释使用。

B.7.4 平板制备过程，平皿应水平放置在平整桌面上，倒平板时要防止产生气泡。

B.7.5 在样品制备时，可参照样品种中纳豆激酶大致含量，来直接推测称样量大小，目的是使最终点样浓度在200~400 IU/mL范围内即可。

B.7.6 纤维蛋白原溶液水浴时间及培养时间，要严格按标准进行控制。

B.7.7 如同时做多个平板来不及测量，可先放5℃冰箱，抑制溶圈的生长。