

Q/LBR

云南龙布瑞生物科技有限公司企业标准

Q/LBR 0001 S—2023

代替 Q/LBR 0001 S—2022

雨生红球藻制品

云南省食品安全企业标准备案章
备案号: 53030262S-2023
备案日期: 2023年07月03日

云南
备
案
章

2023-07-03 发布

2023-07-05 实施

云南龙布瑞生物科技有限公司 发布

前 言

我公司生产的雨生红球藻制品（雨生红球藻虾青素油）是以雨生红球藻粉为主要原料，经过破壁、超临界CO₂萃取（或溶剂提取）、纯化和浓缩制成的虾青素油脂，再加入或不加入植物油脂（红花籽油、橄榄油等）进行稀释制成；雨生红球藻制品（雨生红球藻虾青素微囊粉）是以雨生红球藻虾青素油添加或不添加食品辅料及食品添加剂，经过乳化、喷雾干燥等工艺制成。根据《中华人民共和国标准化法》和《中华人民共和国食品安全法》的规定，特制订本标准，作为企业组织生产、检验、贸易和仲裁的依据。

本标准的安全性指标按照GB 2762-2022《食品安全国家标准 食品中污染物的限量》、GB 19643-2016《食品安全国家标准 藻类及其制品》的规定制定，其中铅指标严于食品安全国家标准，其他指标根据产品实际制定。

本标准由云南龙布瑞生物科技有限公司提出、起草并解释。

本标准主要起草人：周全勇、梁文伟、何丽亚、李红伟

雨生红球藻制品

1 范围

本标准规定了雨生红球藻制品的产品分类、技术要求、检验规则、标签、标志、包装、运输、贮存。

本标准适用于以雨生红球藻粉为主要原料，经过破壁、超临界CO₂萃取（或溶剂提取）、纯化和浓缩制成的虾青素油脂，再加入或不加入植物油脂（红花籽油、橄榄油等）进行稀释制成的雨生红球藻虾青素油；以雨生红球藻虾青素油添加或不添加食品辅料及食品添加剂经过乳化、喷雾干燥等工艺制成的雨生红球藻虾青素微囊粉。

2 规范性引用文件

本标准所列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

3 产品分类与命名

根据工艺不同，产品分为：雨生红球藻虾青素油、雨生红球藻虾青素微囊粉。

3.1.1 雨生红球藻虾青素油：

以雨生红球藻粉为主要原料，经过破壁、超临界CO₂萃取（或溶剂提取）、纯化和浓缩形成虾青素油脂，再加入或不加入植物油脂（红花籽油、橄榄油等）进行稀释制成的雨生红球藻虾青素油。

3.1.2 雨生红球藻虾青素微囊粉：

以雨生红球藻粉为主要原料，经过破壁、超临界CO₂萃取（或溶剂提取）、纯化和浓缩形成虾青素油脂，添加或不添加食品辅料及食品添加剂经过乳化、喷雾干燥等工艺制成的雨生红球藻虾青素微囊粉。

4 技术要求

4.1 原辅料要求

4.1.1 雨生红球藻：应符合《中华人民共和国卫生部公告》2010年第17号中雨生红球藻的规定。

4.1.2 橄榄油：应符合GB/T 23347的规定。

4.1.3 红花籽油：应符合GB/T 22465的规定。

4.1.4 生产加工用水：应符合GB 5749的规定。

4.1.5 其他原辅料：应符合相应的食品标准及有关规定，不得使用非食品原料和辅料。

4.2 感官要求

应符合表1的规定。

表 1 感官要求

项 目	雨生红球藻虾青素油	雨生红球藻虾青素微囊粉	检验方法
	指 标		
组织状态	油状液体	粉末或颗粒	取适量样品放入干净的白瓷盘中，置于自然光线下观察色泽及杂质，嗅其气味，尝其滋味
色泽	红色或暗红色		
气味和滋味	具有相应产品固有的正常气味和滋味		
杂质	无肉眼可见外来杂质		

4.3 理化指标

应符合表2的规定。

表 2 理化指标

项 目	雨生红球藻虾青素油	雨生红球藻虾青素微囊粉	检验方法
制法	雨生红球藻粉经破壁、超临界 CO ₂ 萃取 (压力 60~70MPa、温度 55℃、时间 120min、CO ₂ 流体流速 700L/h) 或溶剂提取 (压力 0.05~0.06MPa、温度 80℃、时间 60min)、纯化和浓缩制成。	雨生红球藻虾青素油经过高压乳化均质 (压力: 100~120Mpa、温度: 90℃、转速 10000rpm)、喷雾干燥 (进风温度: 200±5℃、出风温度: 80±5℃、喷头转速 18000r/min) 工艺制成	/
总虾青素含量 (以全反式虾青素计) g/100g $\geq$	2.0	0.2	附录 A 规定
全反式虾青素含量, g/100g $\geq$	1.0	0.1	附录 A 规定
水分, (%) $\leq$	6.0	8.0	GB 5009.3
灰分, (%) $\leq$	5.0	7.0	GB 5009.4

4.4 污染物限量

应符合GB 2762的规定; 严于食品安全国家标准的指标应符合表3的规定。

表 3 污染物限量

项 目	指 标	检验方法
铅 (以 Pb 计), mg/kg $\leq$	0.8	GB 5009.12

4.5 微生物限量

4.5.1 致病菌限量应符合 GB 29921 的规定。

4.5.2 即食藻类制品微生物限量应符合 GB 19643 的规定。

4.6 净含量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的规定，并按JJF 1070规定的方法测定。

4.7 食品添加剂

4.7.1 食品添加剂的质量应符合相应的食品安全国家标准和有关规定。

4.7.2 食品添加剂的使用应符合 GB 2760 的规定。

4.8 生产加工过程的卫生要求

应符合GB 14881的规定。

5 检验规则

5.1 组批

以同一品种的原料、同一生产日期、同一生产线、同一工艺所生产的同一规格产品为一批。

5.2 抽样

从每批次产品中随机抽样，雨生红球藻虾青素油取300g作为检验样品，平均分为两份，一份检验，一份留样备检。雨生红球藻虾青素微囊粉取500g作为检验样品，平均分为两份，一份检验，一份留样备检。

5.3 出厂检验

每批产品出厂前须经本厂质量检验部门检验合格，签发合格证后方可出厂，出厂检验项目按照有关规定执行。

5.4 型式检验

型式检验半年进行一次，其项目为本标准规定的全部项目，有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

- a) 产品定型投产时；
- b) 停产半年以上重新恢复生产时；
- c) 原辅料产地、供应商发生改变或更新主要生产设备时；
- d) 检验结果与上次型式检验结果差异较大时和质检部门认为有必要时；
- e) 国家质量监督管理部门提出型式检验要求时。

5.5 判定规则

检验结果中，微生物限量指标有一项不合格，则判定该批产品不合格；其余项目若有任一项不合格，可对留样复检，以复检结果为准。

6 标签、标志、包装、运输、贮存

6.1 标签、标志

6.1.1 标签、标识应符合 GB 7718、GB 28050 的规定。

6.1.2 外包装图示标志应符合 GB/T 191 要求。标签应标明不适宜人群、每日最大食用限量等。

6.2 包装

包装材料和包装容器应符合相应食品安全标准及有关规定。封口严密，包装牢固。

6.3 运输

运输工具应清洁、卫生、无异味、无污染。运输过程中应防止挤压、防雨、防潮、防晒，卸装时应轻搬、轻放。运输时严禁与有毒、有害、有异味、有腐蚀性、易污染的货物混装混运。

6.4 贮存

原料、辅料、半成品、成品应分开放置，应贮存在清洁、卫生、阴凉、干燥、通风、无异味的库房内。产品堆放应离墙离地，禁止与有毒、有害、有异味、有腐蚀性、易污染的物品混贮、混放。

附录 A (规范性附录)

总虾青素含量的测定、全反式虾青素含量的测定

A.1 范围

本文件适用于使用高效液相色谱仪对雨生红球藻制品中虾青素含量的测定。

A.2 一般规定

本标准所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和GB/T 6682规定的一级水。实验中所用溶液在未注明用何种试剂配制时，均指水溶液。

A.3 虾青素含量检测

A.3.1 方法提要

虾青素油主要含有虾青素单酯、虾青素二酯和游离虾青素。虾青素酯经胆固醇酯酶酶解后，都转化成游离虾青素。虾青素含量以游离虾青素计。

A.3.2 仪器和用具

A.3.2.1 分析天平，感量为 0.01mg。

A.3.2.2 超声波清洗仪。

A.3.2.3 高效液相色谱仪（附紫外检测器）。

A.3.2.4 抽滤装置及 0.45 μ m 微孔滤膜，有机相。

A.3.2.5 真空泵（抽滤用）。

A.3.2.6 冷冻离心机。

A.3.2.7 涡旋振荡器。

A.3.2.8 恒温水浴锅（或恒温箱）。

A.3.2.9 氮吹仪。

A.3.2.10 分散破壁机。

A.3.2.11 棕色容量瓶（100ml，50ml，10ml）。

A.3.2.12 烧杯（100ml，50ml）。

A.3.2.13 注射器。

A.3.3 试剂和溶液

A.3.3.1 甲醇，色谱纯。

A.3.3.2 叔丁基甲基醚，色谱纯。

A.3.3.3 丙酮，色谱纯。

A.3.3.4 磷酸，优级纯。

A.3.3.5 三羟甲基氨基甲烷。

A.3.3.6 石油醚（60-90℃）。

A.3.3.7 超纯水，GB/T6682 规定的一级水

A.3.3.8 十水硫酸钠。

A.3.3.9 无水硫酸钠

A.3.3.10 盐酸

A.3.3.11 内标：反式- β -阿朴-8'-胡萝卜醛（Trans-beta-apo-8'-carotenal）。

A.3.3.12 对照品：USP Astaxanthin Esters from Haematococcus pluvialis RS（注：该对照品是雨生红球藻来源的虾青素酯混合物，含有 13-顺式虾青素、全反式虾青素和 9-顺式虾青素的脂肪酸酯，标示的总虾青素含量以酶解后游离虾青素计约 10%）。

A.3.3.13 胆固醇酯酶（Cholesterol esterase），Wako Pure Chemicals。

A.3.3.14 0.05mol/L Tris-HCl（PH7.0）缓冲溶液的配制：精确称取三羟甲基氨基甲烷0.606g，用75ml 超纯水溶解，用1mol/L盐酸调节pH=7.0，用水稀释至100ml。

A.3.3.15 胆固醇酯酶溶液的配制：精确称取胆固醇酯酶适量到25ml容量瓶中，用0.05mol/L Tris-HCl（PH=7.0）缓冲溶液溶解，配成浓度为4个酶活单位/ml的酶溶液，现配现用。

A.3.4 色谱条件及系统适用性

A.3.4.1 色谱条件

a) 色谱柱：C30 色谱柱，250mm×4.6mm，5 μ m；

b) 柱温：25℃

c) 检测波长：474nm

d) 进样量：20 微升

e) 流速：1.0ml/min

f) 流动相：梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%	D/%
0	4	81	15
15	4	66	30
23	4	16	80
27	4	16	80
30	4	81	15
35	4	81	15
注：A 相为 1%磷酸水溶液，B 相为甲醇，D 相为叔丁基甲基醚			

A.3.4.2 系统适用性

系统适用性溶液为对照品溶液。对照品溶液的色谱图与使用的对照品所附的参考谱图相似：13-顺式虾青素与全反式虾青素的分离度不小于2.0。

A.3.5 操作方法

A.3.5.1 内标溶液的制备：

配置 100 μ g/ml USP 胡萝卜醛储备溶液，溶剂用丙酮，放于-20℃储存，有效期 1 个月。从升温至常温的母液中吸取 1ml，稀释到 25ml，待用。

A.3.5.2 对照品储备溶液的制备：

称取 100mg 的 USP 虾青素酯 RS 到 250ml 容量瓶中，加入 30ml 的内酮，震荡完全溶解，并定容至刻度，放于 20℃储存，有效期 1 个月。从升温至常温的标准储备溶液中吸取 5ml，稀释到 25ml，待用。

A.3.5.3 对照品溶液：

分别量取2.0ml的对照品储备溶液和1.0ml的内标溶液置于玻璃离心管中，加入3.0ml胆固醇酯酶溶液后，倒置轻摇混匀，把离心管放在37℃水浴锅中反应45min，每10min倒置轻摇一次。45min后，加入1g十水硫酸钠和2ml石油醚，充分摇动30s，放置在3000r/min的离心机中离心分离3min，仔细移取石油醚层到10ml的含有1g无水硫酸钠的离心管中干燥，加石油醚分多次提取，直到原液无色，移液小心避免散落，在常温下减压或通惰性气体挥干石油醚，加入3ml丙酮超声提取，过滤，滤液就是待测对照品溶液。

A.3.5.4 样品溶液：

A.3.5.4.1 样品储备液制备：

a) 雨生红球藻虾青素微囊粉（或雨生红球藻粉）

精确称取 100-200mg 雨生红球藻虾青素微囊粉 (或 50-60mg 雨生红球藻粉), 放于事先准备好的装有 5mL 钢珠的分撒杯中, 再盖上一层钢柱至 10mL 处, 并加入丙酮至刚好淹没钢珠, 在 5000-6000Hz 频率下分散震荡 10min 后, 用不锈钢滤网滤除钢珠, 并用丙酮洗脱提取液进入 50ml 棕色容量瓶中, 反复多次洗脱至洗脱液无色透明状, 定容摇匀, 倒出 8mL 溶液至离心管中, 4000r/min 离心 3min 后, 取出, 取上清液 1ml 放入适宜 25mL 棕色容量瓶中, 定容摇匀备用。

b) 虾青素油

精确称取 20-30mg 虾青素油, 放于 50ml 棕色容量瓶中, 用丙酮定容摇匀, 量取上 1ml 放入 25ml 棕色容量瓶中, 定容摇匀备用。

A.3.5.4.2 样品溶液制备:

分别量取 2.0ml 的样品储备溶液和 1.0ml 的内标液置于玻璃离心管中, 加入 3.0ml 胆固醇酯酶溶液后, 倒置轻摇混匀, 把离心管放在 37℃ 水浴锅中反应 45min, 每 10min 倒置轻摇一次。45min 后, 加入 1g 无水硫酸钠和 2ml 石油醚, 充分摇动 30s, 放置在 4000r/min 的离心机中离心分离 3min, 仔细移取石油醚层到 10ml 的含有 1g 无水硫酸钠的离心管中干燥, 加石油醚分多次提取, 至到原液无色, 移液小心避免散落, 在常温下减压或通惰性气体挥干石油醚, 加入 3ml 丙酮超声提取, 过滤, 滤液就是样品溶液。

A.3.5.5 注入液相色谱仪:

分别把对照品溶液和样品溶液注入 HPLC, 记录色谱图, 通过对照品溶液的雨生红球藻虾青素酯色谱峰和胡萝卜醛色谱峰, 识别出两物质的出峰位置【注意——出峰保留时间分别大约在 13-顺虾青素 (9min)、反式虾青素 (10min)、9-顺虾青素 (14min)、胡萝卜醛 (17min)】。

A.3.5.6 计算

A.3.5.6.1 总虾青素含量

对于标准溶液和样品溶液, 分别计算总虾青素峰响应值与内标物峰响应值之比:

$$R (\text{总虾青素峰响应值/内标峰响应值}) = (F_1 P_{13\text{cis}} + P_{\text{trans}} + F_2 P_{9\text{cis}}) / P_{1s}$$

F_1 -----13-顺式虾青素相对于全反式虾青素的响应因子 (1.3)

$P_{13\text{-cis}}$ -----13-顺式虾青素的峰面积

P_{trans} -----全反式虾青素的峰面积

F_2 -----9-顺式虾青素相对于全反式虾青素的响应因子 (1.1)

$P_{9\text{-cis}}$ -----9-顺式虾青素的峰面积

P_{1s} -----胡萝卜醛的峰面积

计算总虾青素在样品中的百分含量:

$$w_1\% = \{ [(R_U / R_S) \times M_S \times P_S] / M_U \} \times 100\%$$

$w_1\%$ -----样品中总虾青素的含量

R_U -----从样品溶液中可以得到总虾青素与内标物峰响应值之比

R_S -----从标准溶液中可以得到总虾青素与内标物峰响应值之比

P_S -----标准品的纯度

M_S -----标准品的质量 (mg)

M_U -----样品的质量 (mg)

A.3.5.6.2

计算全反式虾青素含量:

分别计算标准试液和样品试液全反式虾青素峰面积与内标物峰面积的比值 R

$$R = P_{trans} / P_{ls}$$

P_{trans} -----反式虾青素的峰面积

P_{ls} -----胡萝卜醛的峰面积

计算全反式虾青素在样品中的百分含量

$$w_2\% = \{ [(R_U / R_S) \times M_S \times P_S] / M_U \} \times 100\%$$

$w_2\%$ -----样品中全反式虾青素的含量

R_U -----从样品溶液中可以得到全反式虾青素与内标物峰响应值之比

R_S -----从标准溶液中可以得到全反式虾青素与内标物峰响应值之比

P_S -----标准品的纯度

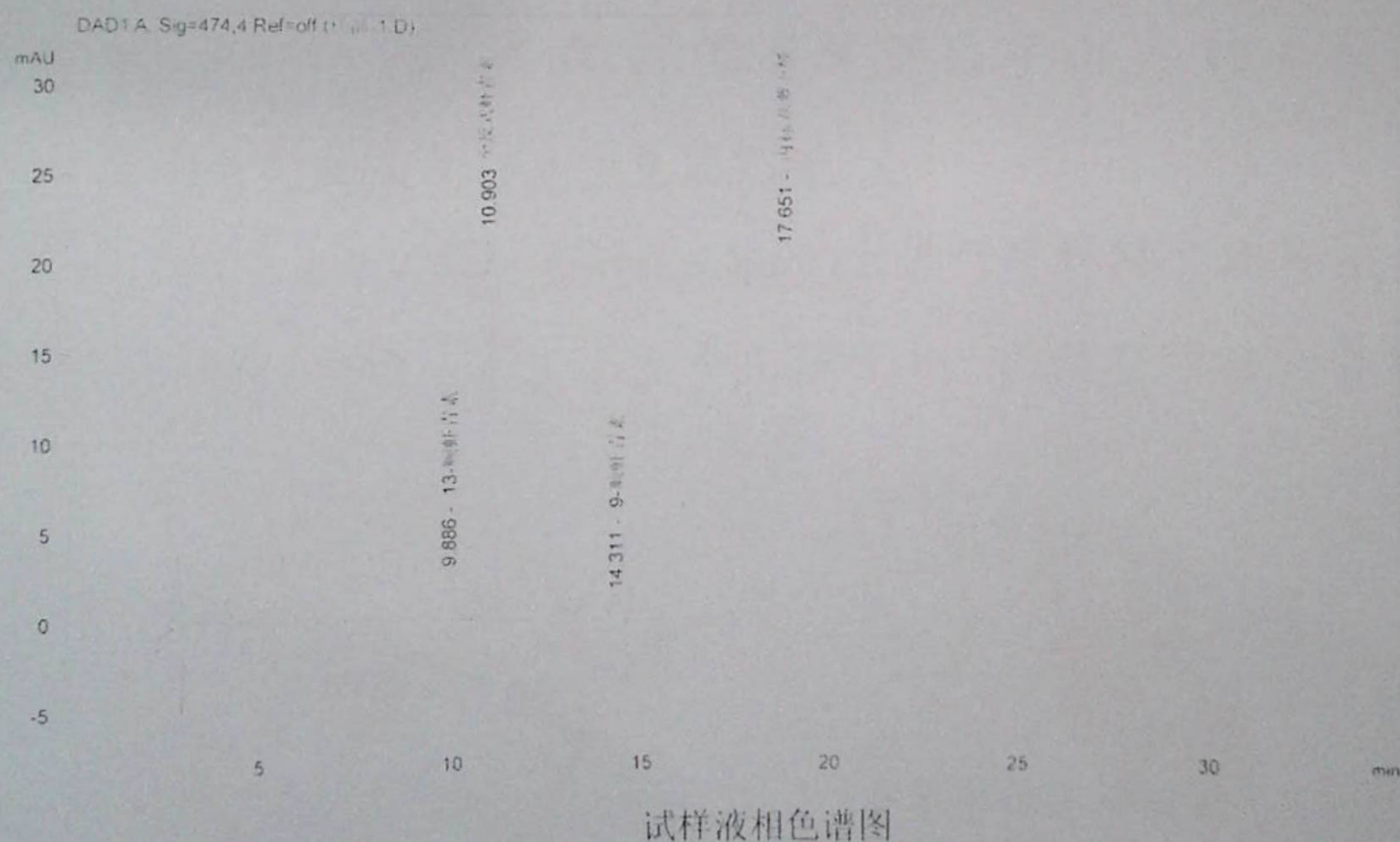
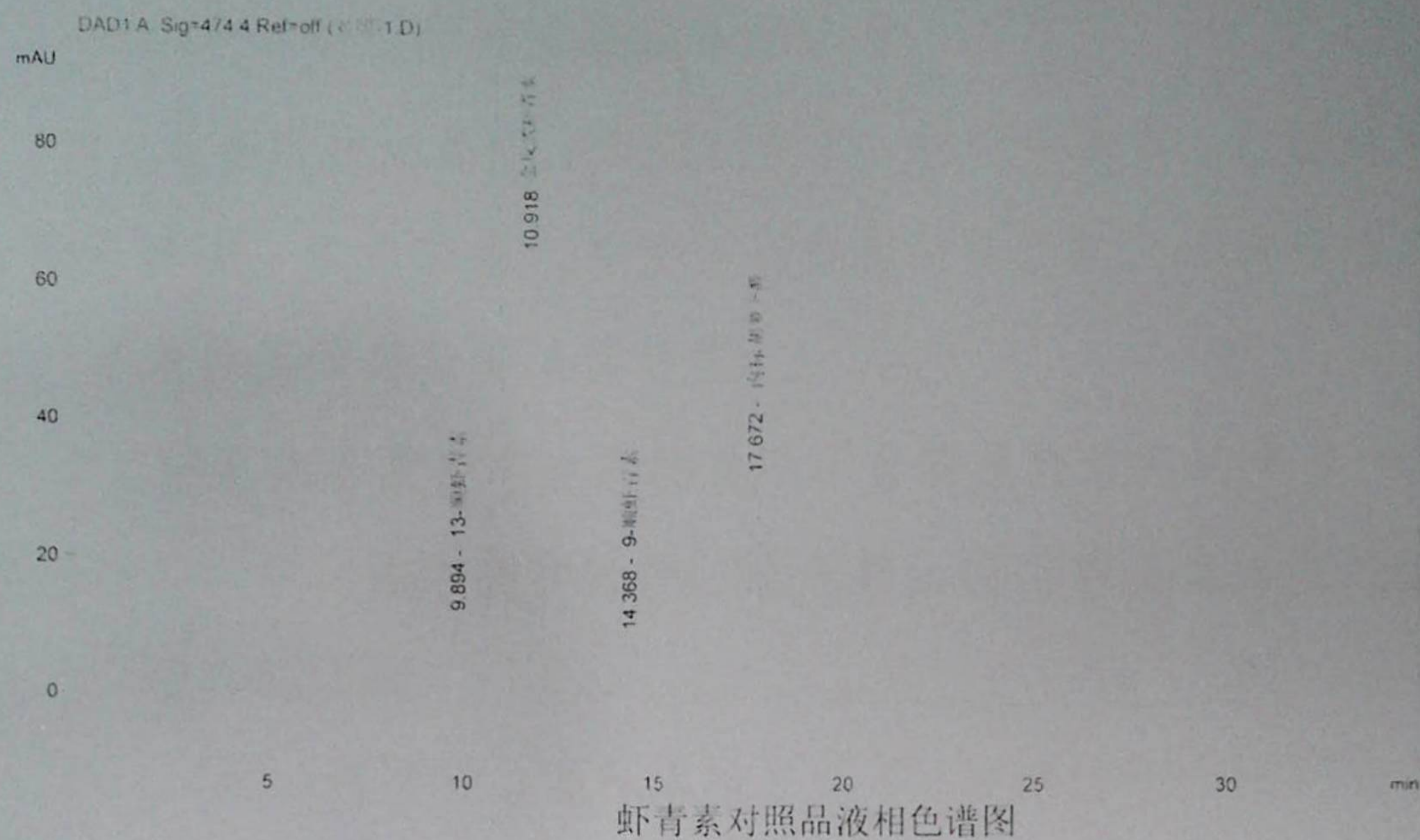
M_S -----标准品的质量 (mg)

M_U -----样品的质量 (mg)

A.3.5.7 允许差

重复性条件下, 两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。

A.3.6 图谱





备案单位承诺书

本食品安全企业标准备案单位承诺：

一、本备案登记表中所填写的内容、所附的资料（包括研究和检验数据）均为真实，并符合《食品安全法》。如有不实之处，本单位愿承担全部法律责任。

二、按照本备案标准生产的食品不含有未经许可的食品（包括原料）、食品添加剂和法律、法规禁止使用的食品（包括原料）、食品添加剂。

三、本单位将按照备案标准组织生产，并保证所生产的食品符合《食品安全法》。

四、本单位于 2023 年 06 月 02 日至 2023 年 06 月 14 日在云南龙布瑞生物科技有限公司官方网站 (<https://www.loongberry.cn/index.html>) 上进行了标准文本和编制说明备案前公示（不少于 5 个工作日），广泛征求社会各方意见。

云南龙布瑞生物科技有限公司

备案单位（盖章）

2023 年 06 月 14 日

备案单位主要负责人（签字）

2023 年 06 月 14 日