

Q/UPK

东源药业科技（昆明）有限公司企业标准

Q/UPK 0002 S—2023

库拉索芦荟凝胶浓缩汁 (食品工业用)

云南省食品安全企业标准备案章
备案号: 53010480 S- 2023
备案日期: 2023 年 11 月 02 日

2023-11-02 发布

2023-11-04 实施

东源药业科技（昆明）有限公司

发布

前 言

我公司生产的库拉索芦荟凝胶浓缩汁（食品工业用）是以库拉索芦荟凝胶为原料，经打浆、低温搅拌、高压灭菌、离心、浓缩、灌装等工艺制成。根据相关法律法规制定本标准，作为本企业组织生产、检验、贸易、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 食品中污染物限量》、GB 17325-2015《食品安全国家标准 食品工业用浓缩液（汁、浆）》制定，其中铅限量指标严于食品安全国家标准，其余指标根据产品实际制定。

本标准由东源药业科技（昆明）有限公司提出、起草并解释。

本标准主要起草人：李杰晶、李敏、和谐、和磊。

库拉索芦荟凝胶浓缩汁（食品工业用）

1 范围

本标准规定了库拉索芦荟凝胶浓缩汁（食品工业用）的技术要求、检验规则、标志、包装、运输、贮存。

本标准适用于以库拉索芦荟凝胶为原料，经打浆、低温搅拌、高压灭菌、离心、浓缩、灌装等工艺制成的库拉索芦荟凝胶浓缩汁（食品工业用）。

2 规范性引用文件

本标准中所引用的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 技术要求

3.1 原辅料要求

- 3.1.1 库拉索芦荟凝胶：应符合相应的食品标准及有关规定。
- 3.1.2 生产加工用水：应符合 GB 5749 的规定。
- 3.1.3 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。

3.2 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	淡黄色至琥珀色液体，可有微量沉淀。	取一定量混合均匀的被测样品置 50mL 无色透明烧杯中，在自然光下观察色泽，鉴别气味，品尝滋味，检查其有无异物
滋味、气味	无异味，无异臭。	
状 态	无正常视力可见外来异物。	

3.3 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
pH, (10%水溶液)	4.0-5.5	GB 5009.237
多糖, (10%水溶液), mg/kg	≥ 1000	QB/T 2489
O-乙酰基, (10%水溶液), mg/kg	≥ 200	QB/T 2489
芦荟苷, (10%水溶液), mg/kg	≤ 7	QB/T 2489

芦荟多糖聚丙烯酰胺凝胶电泳	在紫外灯照射下有绿色荧光特征条带，过碘酸雪夫氏染色后在可见光下呈现红色条带，考马斯亮蓝染色后在可见光下呈现蓝色条带。	附录 A
人结肠腺癌细胞（RKO）细胞凋亡率	样品组与空白对照组相比有显著性差异（ $P < 0.5$ ）	附录 B
ADPPH 自由基清除能力 $\geq$	30%	附录 C

3.4 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 $\leq$	0.24	GB 5009.12

3.5 农药残留限量

应符合GB 2763的规定。

3.6 微生物限量

3.6.1 微生物限量应符合 GB 17325 的规定。

3.6.2 致病菌限量应符合 GB 29921 中饮料的规定。

3.7 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。

3.8 食品添加剂

本产品禁止使用任何食品添加剂。

3.9 生产加工过程的卫生要求

应符合GB 14881的规定。

4 检验规则

4.1 组批

以同一工艺、同一原料所生产的同一规格产品为一批。

4.2 抽样

从同一批产品中随机抽取，抽样基数不得少于200个包装，抽样数量为18个包装，样品分成2份，1份用于检验，一份用于留样备查。

4.3 出厂检验

每批产品出厂前须由本厂检验部门或有资质的检验机构进行出厂检验,检验合格并出具合格证后方可出厂。出厂检验项目应按照有关规定执行。

4.4 型式检验

型式检验每半年进行一次,检验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) 产品的原料、配方、工艺、生产设备发生较大改变,可能影响产品质量时;
- b) 产品停产半年以上,重新恢复生产时;
- c) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时;
- d) 国家食品安全监管部门提出型式检验要求时。

4.5 判定规则

检验结果中,若微生物指标有任一项不合格时,则判定该批产品为不合格产品,不得复检;其余指标若有不合格项时,可用留样进行复检,以复检结果为准。

5 标志、包装、运输、贮存

5.1 标志

5.1.1 产品包装标签标识应符合 GB 7718、GB 28050 及有关规定。

5.1.2 外包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

5.2 包装

包装材料和容器应符合相应的食品安全标准及有关规定,封口严密,包装牢固。

5.3 运输

运输工具必须清洁、卫生、无异味、无污染;运输过程中必须防雨、防潮、防暴晒。严禁与有毒有害、有异味、易污染的物品混装、混运。

5.4 贮存

产品应贮存于清洁卫生、通风、防潮、防鼠、无异味的库房中,食品贮存时应留有一定间隙,隔墙离地,严禁与有毒有害、有异味、易污染的物品混存。

附录 A (规范性附录)

芦荟多糖聚丙烯酰胺凝胶电泳检测方法

A.1 方法提要

聚丙烯酰胺凝胶由丙烯酰胺和N,N-亚甲基双丙烯酰胺两种单体在催化剂的作用下发生交联聚合,形成三维网状结构,具有分子筛效应。

多糖分子在一定pH值的缓冲液体系中会解离带电,带电的多糖在电场的作用下会向一定的方向移动。在聚丙烯酰胺凝胶电泳中,多糖能够保持完整状态,并依据多糖的分子量大小、形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开,形成特征条带。

过碘酸雪夫氏染色(periodic acid-schiff stain,PAS染色):过碘酸是一种氧化剂,它能氧化多糖的乙二醇基使之变为二醛,醛与Schiff氏试剂结合,形成红色物质。

考马斯亮蓝是一种阴离子染料,当它与蛋白质通过疏水结合后变为蓝色。

库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)含有丰富的多糖和蛋白质,可被过碘酸雪夫氏和考马斯亮蓝染色。

A.2 试剂和材料

A.2.1 试剂

硼酸、乙二醇四乙酸二钠、冰醋酸、丙烯酰胺、N,N-亚甲基双丙烯酰胺、蔗糖、甘氨酸、过硫酸铵、三羟甲基氨基甲烷、N,N,N,N-四甲基乙二胺、过碘酸、Schiff试剂、考马斯亮蓝溶液

A.2.2 试剂配制

A.2.2.1 分离缓冲液(下槽电极液)

取硼酸6.18g、三羟甲基氨基甲烷12.3g、乙二醇四乙酸二钠3.72g,加水溶解成1000mL,用冰醋酸调节pH值为8.1-8.4。

A.2.2.2 上槽电极液

取甘氨酸93.84g、三羟甲基氨基甲烷24.24g,加水溶解成1000mL。

A.2.2.3 分离胶缓冲液

取丙烯酰胺2.6g、N,N-亚甲基双丙烯酰胺0.07g、蔗糖6g,用分离缓冲液溶解至40mL。

A.2.2.4 浓缩胶缓冲液

取丙烯酰胺1.5g、N,N-亚甲基双丙烯酰胺0.04g,用分离缓冲液溶解至40mL中,用冰醋酸调节pH值为6.2-6.4。

A.2.2.5 10%过硫酸铵溶液

称取0.1g过硫酸铵,加水溶解成1mL。

A.3 仪器和设备

A.3.1.1 pH计

A.3.1.2 振荡器

A.3.1.3 垂直电泳仪

A.3.1.4 分析天平

A.3.1.5 多糖凝胶成像仪

A.4 操作方法

A.4.1 样品预处理

A.4.1.1 过碘酸雪夫氏染色(periodic acid-schiff stain,PAS染色)

取库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)0.2mL于1.5mL离心管,加入0.2mL过碘酸氧化剂,混匀,室温放置15-20min,再加入0.2mL schiff 试剂,置于室温阴暗处浸染10~20min。

A.4.1.2 考马斯亮蓝染色

取库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)0.4mL于1.5mL离心管,加入0.1mL考马斯亮蓝溶液,混匀,室温放置15-20min。

A.4.2 制胶

A.4.2.1 分离胶

取分离胶缓冲液10mL, 10%过硫酸铵溶液56 μ L, N,N,N,N-四甲基乙二胺8.4 μ L,混匀后立即灌胶,灌至距短玻璃片1.5cm左右即可。灌胶后立即用滴管在胶的上层加满水。当分离胶凝固后,将水倒出,用吸水纸从一侧将水吸净。

A.4.2.2 浓缩胶

取浓缩胶缓冲液4mL, 10%过硫酸铵溶液40 μ L, N,N,N,N-四甲基乙二胺5 μ L,混匀后立即灌胶,直至灌满。立即插入样品槽模板(梳子)。待浓缩胶凝固后,在电泳槽内倒入上槽电极液和下槽电极液,上槽电极液要加至没过短玻璃片,然后小心拔出梳子。

A.4.2.3 点样

取15 μ L的库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)、过碘酸雪夫氏染色样品、考马斯亮蓝染色样品分别加至样品槽内。

A.4.2.4 电泳

打开电泳槽电源,将电压调节至70V,观察黄色条带移动约1.5cm时,将电压调节为120V,继续电泳。当黄色条带移至距凝胶板底部约1.5cm时,关闭电源。

A.4.2.5 观察结果

分别在多糖凝胶成像仪和可见光下观察电泳条带并拍照记录。

库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用): 库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)电泳后条带在多糖凝胶成像仪中呈现绿色荧光条带, 见图A.1。

过碘酸雪夫氏染色: 芦荟汁经过过碘酸雪夫氏染色后电泳, 在可见光下呈现红色条带, 见图A.1

考马斯亮蓝染色: 芦荟汁经过考马斯亮蓝染色后电泳, 在可见光下呈现蓝色条带, 见图A.1。

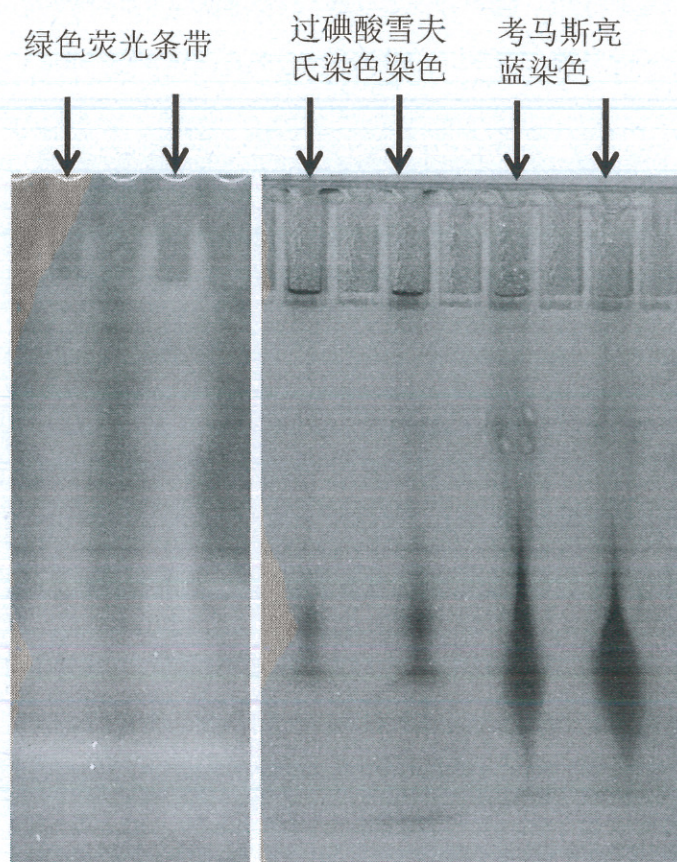


图 A. 1

附录 B (规范性附录)

人结肠腺癌细胞 (RKO) 细胞凋亡检测方法

B.1 方法提要

台盼蓝染色是利用正常的健康细胞能够排斥台盼蓝,而丧失细胞膜完整性的细胞可以被台盼蓝染色。台盼蓝染色检测的是细胞膜的完整性,通常认为细胞膜丧失完整性,即可认为细胞已经死亡。台盼蓝染色后,通过显微镜下直接计数或显微镜下计数,就可以对细胞存活率进行比较精确的定量。

B.2 试剂和材料

B.2.1 试剂

DMEM 培养基、小牛血清、0.25%胰蛋白酶、磷酸盐缓冲液 (pH7.4)、75%酒精、台盼蓝溶液、人结肠腺癌细胞 (RKO) 细胞

B.2.2 溶液配制

细胞培养基: 取DMEM培养基90mL、小牛血清10mL配制而成。

B.3 仪器和设备

B.3.1 二氧化碳培养箱

B.3.2 倒置显微镜

B.3.3 生物安全柜

B.4 操作方法

B.4.1 细胞铺板

将处于对数生长期的人结肠腺癌细胞 (RKO) RKO细胞以40%-60%的密度接种于12孔板,放入二氧化碳培养箱8h以上,待细胞完全贴壁生长。

B.4.2 加样培养

取库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用),用细胞培养基稀释10倍,备用。

取出12孔细胞培养板,用移液枪移去培养基,每孔加入上述含库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)的培养基1mL,以细胞培养基作为空白对照,放入二氧化碳培养箱培养6h。每个样品和空白对照分别做3个平行实验。

B.4.3 台盼蓝染色

移液器移去培养基,用适量的磷酸盐缓冲液清洗一次,然后每孔加入0.25%胰蛋白酶适量。待细胞被消化下来后,加入少量的细胞培养基终止消化。将细胞收集至1.5mL离心管中,2000r/min离心1分钟,弃上清。

根据细胞的数量用适量磷酸盐缓冲液重新悬起细胞。吸取100 μ L重悬的细胞到1.5mL离心管内，加入100 μ L台盼蓝染色液，轻轻混匀，染色3分钟（染色3分钟时间已经足够，但染色时间可以更长一些，但不宜超过10分钟）。

B. 4. 4 计数

吸取少量经过染色的细胞，用血细胞计数板计数。通常如果要比较精确地进行定量，每个细胞样品至少数100个细胞，数出蓝色细胞和细胞总数。

$$\text{细胞凋亡率} = \text{蓝色细胞数} / \text{细胞总数} \times 100\%$$

附录 C (规范性附录)

DPPH 自由基清除能力检测方法

C.1 方法提要

DPPH自由基是一种有氮中心的自由基，是抗氧化能力的重要指标之一。DPPH自由基的醇溶液呈紫色，在515 nm处有强吸收。当有抗氧化剂存在时，DPPH 自由基被清除，其溶液颜色变浅，在515 nm处的吸光度下降，在一定范围内其吸光度的变化与自由基被清除的程度成正比。

C.2 试剂和材料

C.2.1 试剂

无水乙醇、维生素C、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）

C.2.2 溶液配制

C.2.2.1 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）溶液

称取DPPH 5.0mg，适量无水乙醇溶解，再用无水乙醇定容至100mL，配置成50.0 μ g/mL的DPPH溶液。

C.2.2.2 维生素C标准溶液

称取维生素5.0mg，置于5mL容量瓶中，加水溶解，定容至刻度，临用现配。

C.3 仪器和设备

C.3.1 可见分光光度计

C.3.2 恒温水浴锅

C.3.3 台式离心机

C.3.4 振荡器

C.4 操作方法

C.4.1 样品预处理

吸取100 μ L库拉索芦荟凝胶浓缩汁(食品工业用)，加入900 μ L水，振荡混匀，室温 10000 rpm 离心10min，取上清，置冰上待测。

C.4.2 标准曲线的制备

将 1.0 mg/mL 的维生素 C 溶液用水配制成 0.3、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/mL 的维生素C溶液。分别取0.5mL不同浓度的维生素C溶液于1.5mL离心管中，加入0.5mL DPPH溶液，混

合均匀后，室温避光静置30min，在515nm处测定吸光度。用水作为空白对照，其它操作同上。绘制浓度-吸光度标准曲线。

C.4.3 样品DPPH 自由基清除能力测定

取样品液0.5mL样品溶液于1.5mL离心管中，加入0.5mL DPPH溶液，混合均匀后，室温避光静置30min，在515nm处测定吸光度。

空白管、阳性对照管、对照管和测定管的吸光值分别记为 A 空白、A 阳性对照、A 对照和 A 测定。

C.4.4 计算公式

C.4.4.1 阳性对照的自由基清除率计算公式

$$\text{DPPH 自由基清除率 } D\% = [(A_{\text{空白}} - A_{\text{阳性对照}}) \div A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

C.4.4.2 样本的自由基清除率计算公式：

$$\text{DPPH 自由基清除率 } D\% = [(A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})) \div A_{\text{空白}}] \times 100\%$$

章

日

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 10 月 10 日至 2023 年 10 月 17 日在东源药业科技（昆明）有限公司的官方微信公众号“昆明东源科技”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。

备案单位（盖章）



2023 年 10 月 18 日

备案单位主要负责人（签字）



2023 年 10 月 18 日