

Q/WSZK

文山康现代农业发展有限公司企业标准

Q/WSZK 0002S—2020

虾青素油



2020 - 01 - 10 发布

2020-02 - 08 实施

文山康现代农业发展有限公司 发布

前 言

我公司生产的虾青素油，是以雨生红球藻为原料，经破壁、萃取、浓缩、调配或不调配、包装而成。根据《中华人民共和国标准化法》《中华人民共和国食品安全法》的规定，特制订本企业标准，作为组织生产、检验、贸易和质量仲裁的依据。

本标准安全性指标按照GB 2762《食品安全国家标准 食品中污染物限量》、GB19643《食品安全国家标准，藻类及其制品》制定，其中铅限量严于食品安全国家标准，其余指标根据产品实际制定。

本标准的附录A、附录B为规范性附录。

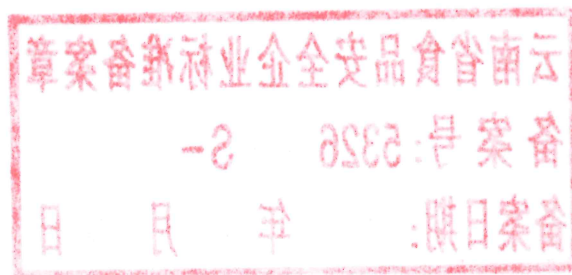
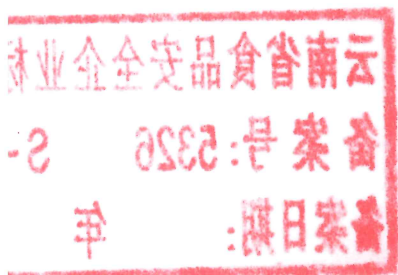
本标准按 GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写》的规定编写。

本标准由文山康现代农业发展有限公司提出、起草并解释。

本标准起草单位：文山康现代农业发展有限公司。

本标准主要起草人：邱权昌、李林、黄帮磊。

本标准为首次发布。



虾青素油

1 范围

本标准规定了虾青素油的定义及技术要求、检验规则和标志、包装、运输、贮存要求。
本标准适用于以雨生红球藻为原料，经破壁、萃取、浓缩、调配或不调配、包装而成的虾青素油。

2 规范性引用文件

本标准中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 技术要求

3.1 原辅料要求

- 3.1.1 雨生红球藻：应符合相应的食品安全标准和有关规定。
- 3.1.2 食品添加剂：天然维生素 E 应符合 GB 19191 的规定。
- 3.1.3 其他原辅料：应符合相应食品安全标准和要求，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	深红色	取 5g 样品置于洁净容器中，在自然光下目视、鼻嗅、口尝。
外观	粘稠状液体	
气味	特有藻腥味，无焦臭、酸败及其他异味	
杂质	无肉眼可见外来杂质	

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
总虾青素含量（以全反式虾青素计），%	≥ 2.0	按附录 A 规定
全反式虾青素含量，%	≥ 1.0	按附录 B 规定
水分及挥发物，(g/100g)	≤ 6.0	GB 5009.236

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的要求。

表3

项目	指标	检验方法
铅(以 Pb 计), (mg/kg)	≤ 0.8	GB 5009.12

3.5 微生物限量

3.5.1 微生物限量应符合 GB 19643 的规定。

3.5.2 致病菌限量应符合 GB 29921 的规定。

3.6 净含量

应符合《定量包装商品计量监督管理办法》的要求，按JJF 1070规定的方法检验。

3.7 食品添加剂

食品添加剂的使用应符合 GB 2760 加工藻类的规定。

3.8 生产加工过程中的卫生要求

应符合GB 14881的规定。

4 检验规则

4.1 组批

在同一个生产加工周期内，生产的同一规格产品为一个组批。

4.2 抽样

在同批产品中，随机抽取不少于包装数量20%的样品，样品质量不少于100g，分成两份，一份检验，一份留样备查。

4.3 出厂检验

每批次产品应经公司质量检验部门检验合格，并附产品检验合格证后方可出厂。出厂检验项目为：感官要求、虾青素、水分及挥发物、菌落总数、大肠菌群、净含量。

4.4 型式检验

型式检验每半年检验一次。检验项目为本标准规定的全部项目。有下列情况之一时，应进行型式检验：

- a) 产品批量投入生产时；
- b) 原料、配方、工艺有较大改变，可能影响产品质量时；
- c) 产品停产半年以上，恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 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，微生物指标中有任何一项指标不合格，则判定为不合格产品；其余指标有不合格项目时，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 销售的包装标志应符合 GB 7718 和 GB 28050 的规定，并标注不适宜人群和每日最大食用量。

5.1.2 不适宜人群：婴幼儿。

5.1.3 每日最大食用量：12mg/天。

5.1.4 包装储运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

5.2 包装

包装材料应符合相应的食品安全标准和相应规定。封口应严密，包装牢固。

5.3 运输

运输工具应清洁、干燥，运输时严格防雨、防潮、防晒并保持清洁卫生，不得与其他有毒、有害、易污染的物品混运。装运时应轻拿轻放、防止重压。

5.4 贮存

产品应存放于避光、干燥的专用仓库中，并有防尘、防蝇、防虫、防鼠设施。产品离地、离墙堆放，不得与其他有毒、有害、易污染的物品混储。

附 录 A
(规范性附录)
总虾青素含量测定方法

A.1 范围

本文件适用于对雨生红球藻中总虾青素含量检测。

A.2 内容

A.2.1 概述

本方法将虾青素油试样中的总类胡萝卜素用丙酮提取，将所得到的总色素的溶液用紫外分光光度法测定其特定波长下的吸光度，从而计算虾青素的含量。

A.2.2 设备和材料

紫外分光光度计、50ml容量瓶、10ml离心管、移液枪、丙酮（分析纯）。

A.2.3 操作步骤

注：类胡萝卜素对光照、高温及氧气较为敏感。因此所有操作应在低温及弱光条件下进行。

A.2.3.1 试样制备

取约50mg的虾青素油样品放入100ml容量瓶中，记录该重量。用丙酮定容至100ml。

A.2.3.2 试样含量测定

用丙酮作为空白对照，在478nm处用紫外分光光度计读取上述溶液的吸光度。如果该吸光值大于1.25那么需要对该溶液进行适量稀释。使其吸光值介于0.4-0.8之间为宜。

A.2.3.3 总虾青素含量计算

总胡萝卜素 (mg) = $Abs_{478} \times 1000 \times \text{稀释倍数} / 2200$

总虾青素含量 (%) = 总胡萝卜素 (mg) / 样品重量 (mg) × 80%

2200 = E (1%/1 cm) = 1% (g/ml) 的标准虾青素丙酮溶液在478nm下1cm光通径条件下的质量消光系数。

80% = 总虾青素在雨生红球藻总胡萝卜素中所占比例。

附 录 B
(规范性附录)
全反式虾青素含量测定方法 (HPLC 法)

B.1 范围

本文件适用于使用HPLC对雨生红球藻粉中全反式虾青素含量测定。

B.2 内容

B.2.1 设备和材料

高效液相色谱、离心机、50ml及100ml容量瓶、10ml具塞离心管、移液管、胆固醇酯酶Cholesterol Esterase (Wako 033-11223, 23units per mg)、石油醚、去离子水、正己烷(色谱纯)、丙酮(分析纯)、1%磷酸溶液、虾青素标准制剂(Wako 013-18661)、HCl(分析纯)、三氯甲烷、0.05M Tris-HCl buffer pH 7.0(低温保存)、水硫酸钠、37℃水浴锅、氮气、通风橱。

B.2.2 操作步骤

注：类胡萝卜素对光照、高温及氧气较为敏感。因此所有操作应在低温及弱光条件下进行。

B.2.2.1 胆固醇酯酶制备

注：胆固醇酯酶必须保存在零下20℃的环境中，酶活性会在制备及转移过程中降低，应尽量减少此类操作。

建议一次配制较多的酶制备溶液，并将制备液分装冰冻保存以备以后使用。使用0.05M Tris-HCl buffer pH 7.0溶液配制酶溶液，该酶制备液浓度应达到4units/ml。如果所购买的酶制剂含有500units 那么使用125ml 0.05M Tris-HCl buffer pH 7.0溶液溶解混合均匀后分装至1-2ml小玻璃瓶内零下20℃保存即可。(0.05M Tris-HCl buffer pH 7.0溶液的配制：称取1.2114g Tris溶于200ml去离子水中。使用 0.05mol/L的HCl调节pH值至7.0)

B.2.2.2 试样制备

称取约50mg的虾青素油样品放入100ml容量瓶中，记录该重量。用丙酮定容至100ml。(雨生红球藻丙酮提取样)。

用丙酮作为空白对照，在478nm处用紫外分光光度计读取上述溶液的吸光度。使用丙酮调整该溶液浓度使之吸光度介于0.4-0.8之间。用移液管准确量取1.0ml雨生红球藻丙酮提取样于10ml具塞离心管中，加入2ml丙酮及2ml 0.05M Tris-HCl buffer pH 7.0溶液后加盖混匀，于37℃水浴锅中保温2min后取出。加入1ml胆固醇酯酶配制液震荡混匀后，于37℃水浴锅中保温反应45min(期间震荡数次)。酶解后取出加入0.5g水硫酸钠及2.0ml石油醚加盖剧烈震荡数秒。于离心机中3500rpm离心3min。取出后溶液出现明显分层，色素被转移至上层石油醚中。用移液管小心地将石油醚层转移至干净的离心管中。再加入2ml石油醚至原离心管中，加盖剧烈震荡后离心。收集上层石油醚重复多次直至所有色素全部转移至新离心管中。在低温避光环境中使用氮气将该试管中的石油醚吹干。用1.0ml流动相溶解试管内的色素后，储存溶液备用(试样)。

B.2.2.3 虾青素标准样品制备

称量约3mg虾青素标准制剂于100ml容量瓶中，使用10ml三氯甲烷将标准品完全溶解(必要时可以使用热水浴)。用正己烷定容至刻度。此为标准储备液。

分别使用移液管转移标准储备液5ml、10ml、15ml及20ml于100ml容量瓶中，加入4ml三氯甲烷，用正己烷定容至刻度。这些溶液的虾青素浓度将分别约为1.5ug/ml、3 ug/ml、4.5 ug/ml及6ug/ml。在完成上述标准液配制后，使用紫外分光光度计在478nm处分别测定各溶液的吸光度。使用以下公式计算溶液虾青素的含量：

$$\text{虾青素含量 (ug/ml)} = \frac{\text{吸光度 (Abs478)} \times 10000}{2100}$$

2100=E(1%/1 cm)=1%(g/ml)的标准虾青素正己烷溶液在478nm下1cm光途径条件下的质量消光系数。

注：该过程适用于新购买的以及使用时间超过6个月的色谱柱。特别的如果色谱峰出现拖尾，峰宽扩大、背景值增大等现象，必须进行下述操作。

使用1%的磷酸溶液作为流动相以0.5ml/min的流量清洗硅胶色谱柱及系统各管路系统1-2个小时。再使用测试用流动相在0.5-1.0ml/min的流速平衡色谱柱3-4个小时。

B. 2. 2. 4 测定条件

流动相流速：1.2ml/min

柱温：室温

流动相：正己烷/丙酮(82:18 v/v)

进样量：50ul

色谱柱：Luna 3u silica column Size 150×4.60mm 3micron (Phenomenex P/No. 00F-4162-E0)

检测限量：0.1 ppm

保留时间：如表B.1所示(随溶液条件及其他测定条件变化略有不同)

表B.1 保留时间

物质	保留时间 (min)
Beta 胡萝卜素	1.4
角黄素	3.1
Di-cis 虾青素	6.4
全反式虾青素	6.7
9 顺虾青素	7.7
13 顺虾青素	8.2
叶黄素	10.5

B. 2. 2. 5 HPLC标准曲线确定及样品含量测定

在标准虾青素溶液配制完成后立即取各浓度的标准样50ul注入HPLC系统中。以上述条件测定样品记录各通过色谱柱的峰面积。通过峰面积及紫外分光光度计测定的标准样浓度，可以得出虾青素浓度对应各峰面积的斜率值(RF)如下：

$$RF = \frac{P(trans) + 1.2P(9-cis) + 1.6P(13-cis) + P(di-cis)}{C}$$

公式中P(trans), 1.2P(9 - cis),1.6P(13 - cis), P(di - cis)分别为全反式虾青素, 9顺虾青素, 13顺虾青素及Di-cis虾青素测定的峰面积。C为根据紫外分光光度计计算的标准样虾青素浓度。系数1.2及1.6为9顺及13顺式虾青素特定的吸光率系数。因为这两种异构体的在478nm处的吸光度要低于全反式虾青素的吸光度, 故通过该系数进行修正。在得到相应的RF值之后, 取试样50ul用相同的方法注入HPLC系统中测定, 样品中特定保留时间下的峰面积, 通过RF值计算样品中所含虾青素含量。

图A.1 典型全反式虾青素色谱

