

ICS 67.120.30
X20

Q/SWHP

云南赛维汉普科技有限公司企业标准

Q/SWHP 001 S—2023

虾青素油

Astaxanthin Esters

(送审稿)

2023-07-01 发布

2023-08-01 实施

云南赛维汉普科技有限公司

发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由云南赛维汉普科技有限公司提出并归口。

本文件起草单位：云南赛维汉普科技有限公司。

本文件主要起草人：韩乃志，陈晓顺，谢晓玲，梁桂仙。

引 言

本文件按照《中华人民共和国标准化法》、《中华人民共和国食品安全法》的规定起草，作为企业组织生产、检验、贸易、仲裁的依据。

本文件规定的虾青素油的安全性指标按照GB 2762-2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》的规定制定，其中，铅限量严于食品安全国家标准，其它指标根据产品实际制定。

本文件的附录A为规范性附录（不公开）。

虾青素油

1 范围

本文件规定了虾青素油的术语和定义、技术要求、检验方法、检验规则和标签、包装、运输、贮存及保质期要求。

本文件适用于以人工培养的红球藻科红球藻属水生植物雨生红球藻 (*Haematococcus Pluvialis*) 为原料, 经提取精制后, 得到的虾青素油。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款, 其中, 注日期的引用文件, 仅该日期对应的版本适用于本文件; 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。

- GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定
- GB 5009.11 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
- GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
- GB 5009.15 食品安全国家标准 食品中镉的测定
- GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定
- GB 4789.2 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定
- GB 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验沙门氏菌检验
- GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验霉菌和酵母计数
- GB 4789.38 食品安全国家标准 食品微生物学检验大肠埃希氏菌计数
- GB 9685 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准
- GB 7718 食品安全国家标准 预包装食品标签通则
- GB 14881 食品安全国家标准 食品生产通用卫生规范
- GB/T 31520 红球藻中虾青素的测定 液相色谱法
- JJF 1070 定量包装商品净含量计量检验规则
- 《中华人民共和国药典(2020版)》第四部 0821重金属检查法
- 国家质量监督检验检疫总局第75号令[2005] 《定量包装商品计量监督管理办法》

3 术语和定义

虾青素油是指从雨生红球藻中提取纯化得到的主要有效成分为虾青素脂肪酸酯的油状混合物。

4 有效成分名称、结构式、分子式和相对分子质量

虾青素油 (Astaxanthin Esters) 中含有的有效成分是虾青素脂肪酸酯, 即 (3S,3'S) -3,3'-二羟基-β,β-胡萝卜素-4,4'-二酮的脂肪酸酯。(3S,3'S) -3,3'-二羟基-β,β-胡萝卜素-4,4'-二酮的结构式如下所示, 其分子式为C₄₀H₅₂O₄, 分子量为596.84。

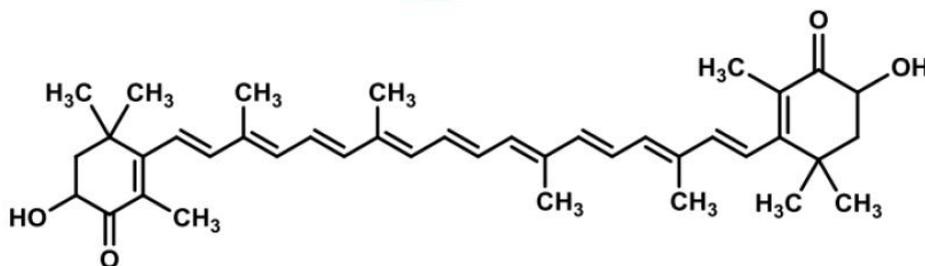


图1: (3S,3'S) -3,3'-二羟基-β,β-胡萝卜素-4,4'-二酮结构式

虾青素油主要有3S,3'S虾青素立体异构体以单酯、二酯和游离形式组成。游离虾青素是3和3'羟基位没有脂肪酸结合, 虾青素单酯有一个脂肪酸结合到3或3'羟基的位置, 虾青素二酯是3和3'羟基的位置各有一个脂肪酸结合。

5 技术要求

5.1 工艺要求

5.1.1 植物原料

雨生红球藻 (*Haematococcus Pluvialis*) 为人工养殖, 培养成熟后收获得到。

5.1.2 工艺过程

雨生红球藻通过超临界CO₂萃取或溶剂提取纯化后得到产品, 即为虾青素油。

5.2 产品要求

5.2.1 感官要求

应符合表1的要求。

表1: 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	深红色	取适量样品置于清洁、干燥的比色管中, 在自然光线下, 观察其色泽和状态, 并嗅其气味。
气味	藻类特殊气味	
状态	油状物	

5.2.2 理化要求

应符合表2的规定。

表2: 理化要求

项目	指标	检验方法

虾青素含量(%)	≥	5	附录 A 中 A.2
水分(%)	≤	0.5	GB 5009.3
重金属((以 Pb 计)mg/kg)	≤	10	《中华人民共和国药典(2020版)》第四部 0821重金属检查法
铅(以 Pb 计)mg/kg	≤	1.0	GB 5009.12
镉(以 Cd 计)mg/kg	≤	1.0	GB 5009.15
砷(以总 As 计)mg/kg	≤	2.0	GB 5009.11
汞(以总 Hg 计)mg/kg	≤	1.0	GB 5009.17

5.2.3 微生物要求

应符合表3的规定。

项目		指标	检验方法
细菌总数(cfu/g)	<	1000	GB 4789.2
霉菌及酵母菌数(cfu/g)	<	100	GB 4789.15
大肠埃希氏菌		不得检出	GB 4789.38
沙门氏菌		不得检出	GB 4789.4

5.2.4 其它污染物

其它污染物限量要求,依据不通用途,应符合我国相关法规的规定。对于出口产品,应符合出口目的国相关法规的规定。

5.2.5 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。

6 检验规则

6.1 组批

以同一原料,同一配方,同一生产线在同一生产日期加工的同一包装规格的产品为一批。

6.2 抽样

每批产品按生产批次及数量比例随机抽样,抽样数量应满足检验要求。

6.3 出厂检验

产品出厂前应进行检验，检验合格并附合格证方可出厂。出厂检验项目为：感官要求、净含量、水分、虾青素含量。

6.4 型式检验

6.4.1 正常生产情况下，型式检验每半年进行一次，有下列情况之一时亦应进行型式检验。

- a) 产品试制、正式投产时；
- b) 更换设备或停产一个月及以上再恢复生产时；
- c) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- d) 原料、工艺出现较大变化，可能影响产品质量时。

6.4.2 型式检验项目为本文件第 4 章规定的全部项目。

6.5 判定规则

6.5.1 如果检验项目全部合格，则该批产品判为合格；

6.5.2 如果有一项或一项以上指标不符合本文件时，从该批产品中加倍量取样对不符合项目进行复检，

6.5.3 以复检结果为准。复检结果仍有项目不符合时，则判定该批产品不合格。

7 包装、标签、运输、贮存

7.1 包装

包装材料应符合GB 9685食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准的要求。

7.2 标签

包装标签上应注明：产品名称、产品批号、产品规格、净含量、生产日期、保质期、生产厂名、厂址、产地。

标签内容清晰可见，标签应粘贴牢固。

7.3 运输

运输时必须轻装轻卸，不得与有毒、有害和易污染物品混装载运，严防雨淋暴晒。

7.4 贮存

产品应存放在干燥、通风、清洁的地方，堆码距墙壁和地面20 cm以上，并有垫隔物。避免与有毒、有害、易腐蚀、易污染等物品一起堆放。

7.5 保质期

在符合规定的储运条件和包装完整、未经开启封口的情况下，保质期为18个月。

附 录 A
(规范性附录)
检验方法

A.1 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 规定的三级水。实验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

A.2 虾青素含量测定

A.2.1 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.2.2 仪器和用具

A.2.2.1 分析天平,感量为0.01 mg。

A.2.2.2 超声波清洗仪。

A.2.2.3 高效液相色谱仪(附紫外检测器)。

A.2.2.4 0.45 μm微孔滤膜,有机相。

A.2.2.5 棕色容量瓶,100 mL。

A.2.2.6 离心机。

A.2.2.7 涡旋混合器。

A.2.2.8 恒温箱。

A.2.2.9 氮吹仪。

A.2.3 试剂和溶液

A.2.3.1 甲醇,色谱纯。

A.2.3.2 甲基叔丁基醚,色谱纯。

A.2.3.3 磷酸,优级纯。

A.2.3.4 三羟甲基氨基甲烷。

A.2.3.5 石油醚(60°C-90°C)。

A.2.3.6 丙酮。

A. 2. 3. 7 纯水，GB/T 6682规定的二级水。

A. 2. 3. 8 十水硫酸钠。

A. 2. 3. 9 无水硫酸钠。

A. 2. 3. 10 盐酸。

A. 2. 3. 11 内标：反式-β-阿朴-8'-胡萝卜醛（Trans-beta-apo-8'-carotenal）。

A. 2. 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. 2. 3. 13 胆固醇酯酶（Cholesterol esterase）。

A. 2. 3. 14 0.05 mol/L Tris-HCl（PH 7.0）缓冲液的配制：精确称取三羟甲基氨基甲烷0.606 g，用75 mL去离子水溶解，用1 mol/L 盐酸调pH 7.0，用水稀释至100 mL。

A. 2. 3. 15 胆固醇酯酶溶液的配制：精确称取胆固醇酯酶适量到25 mL容量瓶中，用0.05 mol/L Tris-HCl（PH 7.0）缓冲液溶解，配成浓度为4个酶活单位/mL的酶溶液，现用现配。

A. 2. 4 色谱条件及系统适用性

A. 2. 4. 1 色谱条件

- a) 色谱柱：AmethSep C30，4.6 mm×250 mm（5 μm）或同类型色谱柱。
- b) 流动相：A相：甲醇；B相：甲基叔丁基醚；C相：1%磷酸水。梯度条件见表 A1。

表 A1：梯度条件

时间（min）	A:甲醇（%）	B: 甲基叔丁基醚（%）	C: 1%磷酸水（%）
0	81	15	4
15	66	30	4
23	16	80	4
27	16	80	4
27.1	81	15	4
35	81	15	4

- c) 检测波长：474 nm
- d) 柱温：25°C
- e) 流速：1 mL/min
- f) 进样量：20 μL

A. 2. 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. 2. 5 操作方法

A. 2. 5. 1 内标溶液的制备

精确称取约9 mg内标到10 mL小烧杯，用丙酮溶解并转移到50 mL容量瓶中，丙酮定容，摇匀，即得。

A. 2. 5. 2 对照品储备溶液的制备

精密称取对照品约30 mg（精确至0.01 mg），到10 mL干燥小烧杯中，用丙酮溶解并转移到100 mL容量瓶中，丙酮定容，摇匀。

A. 2. 5. 3 对照品溶液的制备

精确吸取2.0 mL对照品储备液和1.0 mL内标溶液到10 mL玻璃具塞离心管中，再加入3.0 mL胆固醇酯酶溶液到离心管中，倒置混合均匀。将离心管置于37°C的恒温箱中反应45 min，每10 min轻轻地缓慢地倒置混合一次。反应后，往管中加入1 g十水硫酸钠，2 mL石油醚，涡旋混合30秒，然后置于离心机中在3000 rpm下离心3 min。新取一只10 mL玻璃离心管，加入1 g无水硫酸钠，然后用滴管吸取石油醚层，移入新的管中，注意不要吸取中间的乳化层。在室温条件下，用氮气吹干石油醚，加入3 mL丙酮，超声溶解，过滤，过滤的溶液即为对照品溶液。

A. 2. 5. 4 供试品储备溶液的制备

将供试品置于50-60°C水浴中避光保温30 min，每隔10 min摇一次。精密称取供试品约60 mg（精确至0.01 mg），到10 mL干燥小烧杯中，丙酮溶解并转移到100 mL容量瓶中，丙酮定容，摇匀。可根据供试品的含量适当调节称样量，如供试品含量为10%，则称样量为30 mg。

A. 2. 5. 5 供试品溶液的制备

精确吸取2.0 mL供试品储备液和1.0 mL内标溶液到10 mL玻璃具塞离心管中，再加入3.0 mL胆固醇酯酶溶液到离心管中，倒置混合均匀。将离心管置于37°C的恒温箱中反应45 min，每10 min轻轻地缓慢地倒置混合一次。反应后，往管中加入1 g十水硫酸钠，2 mL石油醚，涡旋混合30秒，然后置于离心机中在3000 rpm下离心3 min。新取一只10 mL玻璃离心管，加入1 g无水硫酸钠，然后用滴管吸取石油醚层，移入新的管中，注意不要吸取中间的乳化层。在室温条件下，用氮气吹干石油醚，加入3 mL丙酮，超声溶解，过滤，过滤的溶液即为供试品溶液。

A. 2. 5. 6 测定方法

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液 20 μ L，依次注入高效液相色谱仪，测定，计算含量。

A. 2. 6 结果计算

虾青素油中虾青素含量以游离虾青素的质量分数 w 计，数值以%表示，按公式（A.1）计算：

$$w = \frac{[1.3A_1(13\text{-cis}) + A_1(\text{all-trans}) + 1.1A_1(9\text{-cis})] / A_1(I.S.) \times m_1 \times P_1}{[1.3A_2(13\text{-cis}) + A_2(\text{all-trans}) + 1.1A_2(9\text{-cis})] / A_2(I.S.) \times m_2} \times 100\% \dots\dots(A.1)$$

式中：

W —供试品中虾青素的含量（以游离虾青素计），%；

m_1 —对照品的称样量，单位为毫克（mg）；

m_2 —供试品的称样量，单位为毫克（mg）；

P_1 —对照品中标识的总虾青素含量（以游离虾青素计），%；

1.3—13-顺式虾青素的相对响应因子；

1.1—9-顺式虾青素的相对响应因子；

A₁ (13-cis) —供试品溶液中 13 - 顺式虾青素的峰面积；

A₁ (all-trans) —供试品溶液中全反式虾青素的峰面积；

A₁ (9-cis) —供试品溶液中 9 - 顺式虾青素的峰面积；

A₁ (I.S.) —供试品溶液中内标的峰面积；

A₂ (13- cis) —对照品溶液中 13 - 顺式虾青素的峰面积；

A₂ (all - trans) —对照品溶液中全反式虾青素的峰面积；

A₂ (9- cis) —对照品溶液中 9 - 顺式虾青素的峰面积；

A₂ (I.S.) —对照品溶液中内标的峰面积。

注 1：虾青素对光、氧气极为敏感，因此所有操作都应在避光条件下进行。
