



**НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «СИБТЕСТ»
Испытательный центр «Сибирь-тест»**

634004, г. Томск, пр. Ленина, 43а

Тел, факс (3822) 553-855

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ИЦ «Сибирь-тест»

 Н.М.Мордвинова

ОТЧЕТ

«12» октября 2017 г.

г. Томск

**о результатах проведенных исследований в рамках договора № 58/17-т от 03.05.2017г
по теме «Инжиниринговые услуги по химическим и микробиологическим
испытаниям исследуемых образцов в аккредитованных лабораториях на наличие
проявляемых или определенных свойств»**

Испытания проводили с целью проверки наличия в составе объектов испытаний, указанных в Техническом задании (Приложение №1 к договору № 58/17-т от 03.05.2017г), таких компонентов и микрокомпонентов, которые подтверждают заявленные определенные свойства, также указанные в Техническом задании. (Приложение №1 к договору № 58/17-т от 03.05.2017г) данных объектов.

1. Наименование заказчика: Краевое государственное автономное учреждение «Красноярский региональный инновационно-технологический бизнес-инкубатор» (КГАУ «КРИТБИ»); ИНН 2466230370, адрес: 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 75.

2. Объекты испытаний и экспертизы, заявленные свойства и подтверждающие данные свойства действующие компоненты объектов испытаний:

Таблица 1

Бактерицидные спреи на основе кедровых и пихтовых экстрактов и пихтовые и кедровые экстракты с добавками

№ п/п	Наименование объекта испытаний	Заявляемые свойства объекта испытаний	Действующие компоненты, подтверждающие заявленные свойства
1	2	3	4
1	Бактерицидные спреи AirFit (2 вида: кедр и кедр+пихта)	Бактерицидные; Фунгицидные; Противовирусные; Антиоксидантные	Моно- и сесквитерпены; линалоол, азароны (α- и β-терпены); борнилацетат; кариофиллен.
	Бактерицидный спрей AirFit на основе эфирных масел кедра, пихты и экстракта корня аира болотного	Бактерицидные; Фунгицидные; Противовирусные; Антиоксидантные Противопаразитарные	Моно- и сесквитерпены; линалоол, азароны (α- и β-терпены); борнилацетат; кариофиллен.

1	2	3	4
2	Пихтовый экстракт душицы AirForest	Противовоспалительные Бактерицидные Седативные Дерматологические	Терпеновые углеводороды эфирного масла пихты, дубильные вещества, тимол, карвакрол, геранилацетат
3	Пихтовый экстракт шалфея AirForest	Противовоспалительные Бактерицидные Фунгицидные	Терпеновые углеводороды эфирного масла пихты, флавоноиды, парадифе- нол, алкалоиды, дубильные вещества
4	Пихтовый экстракт бадана AirForest	Противовоспалительные Бактерицидные Дерматологические Спазмолитические	Терпеновые углеводороды эфирного масла пихты, дубильные вещества, гликозид, арбутин, фитонциды, сахара, медь, железо, марганец
5	Пихтовый экстракт зверобоя AirForest	Регенерирующие Седативные	Терпеновые углеводороды эфирного масла пихты, дубильные вещества (танин), каротин
6	Кедровый экстракт чабреца AirForest	Спазмолитические Дизенфицирующие Бактерицидные Противовирусные Муколитические	Терпеновые углеводороды эфирного масла кедра, тимол, органические кислоты, дубильные вещества, флавоноиды
7	Кедровый экстракт дягиля AirForest	Противовоспалительные Бактерицидные Седативные Обезболивающие (купи- рование болевого синдрома)	Терпеновые углеводороды эфирного масла кедра, дубильные вещества, фитостерины, сахара, каротин, воск, органические кислоты
8	Кедровый экстракт тысячелистника AirForest	Противовоспалительные Ранозаживляющие Обезболивающие (купи- рование болевого синдрома)	Терпеновые углеводороды эфирного масла кедра, алкалоид ахилеин, флаво- ноиды (флавоновые гликозиды, апиге- нин, лутеолин), амины (холин, стахид- рин), сложные эфиры, кариофиллен
9	Кедровый экстракт донника AirForest	Седативные Противовоспалительные Дерматологические	Терпеновые углеводороды эфирного масла кедра, гликозиды, мелилтон, цимарин, дубильные, производные пурина, холина, флавоноиды, аскорбиновая кислота, токоферол, каротин, сахара.

Таблица 2

Пищевые добавки (не являющиеся специализированной пищевой продукцией)

№ п/п	Наименование объекта испытаний	Заявляемые свойства объекта испытаний	Действующие компоненты, подтверждающие заявленные свойства
1	2	3	4
1	Флавонокс LATTA	Антиоксидантные Иммуномодулирующие Спазмолитические Радиопротекторные Антисклеротические Противоэзвенные	Витамины: С, В, А, Е, Д, К, Р, РР, бета- каротин; йод, антоцианы, флавоны, флавононы (полифенолы, полипрено- лы), соли марганца, железа, селен, натрий, кальций

1	2	3	4
2	Флавонол LATTA	Антиоксидантные Иммуномодулирующие Сосудорасширяющие	Витамины: С, В, А, Е, Д, К, Р, РР, бета-каротин; йод, антоцианы, флавоны, флавононы (полифенолы, полипренолы), ниацин, соли марганца, железа, селен, натрий, кальций
3	Кедровый микс, обогащенный йодом LATTA	Антиоксидантные Иммуномодулирующие Седативные Антицеллюлитные	Витамины: С, В, А, Е, Д, К, Р, РР, бета-каротин; йод, соли марганца, железа, селен, натрий, кальций
4	Кедровый микс, обогащенный терпеноидами LATTA	Антиоксидантные Иммуномодулирующие Антигистоминные	Витамины: С, В, А, Е, Д, К, Р, РР, бета-каротин; йод, терпеноиды, соли марганца, железа, селен, натрий, кальций
5	Кедровый микс, обогащенный природным витамином С LATTA	Антиоксидантные Иммуномодулирующие Противовоспалительные Противоаллергические	Витамины: С, В, А, Е, Д, К, Р, РР, бета-каротин; йод, соли марганца, железа, селен, натрий, кальций
6	Кедровый микс, обогащенный антоцианами LATTA	Антиоксидантные Иммуномодулирующие Сосудорасширяющие Бактерицидные	Витамины: С, В, А, Е, Д, К, Р, РР, бета-каротин; йод, антоцианы, соли марганца, железа, селен, натрий, кальций

3. Организация –изготовитель продукции: Общество с ограниченной ответственностью «ЛАТТА_БИО» (ООО «ЛАТТА БИО»), адрес: 660017, Российская Федерация, Красноярский край, город Красноярск, улица Горького, дом 10, квартира 42

4. Дата начала исследований, испытаний: 01.06.2017г. **Дата окончания исследований, испытаний:** 01.10.2017г

5. Нормативно-техническая документация, применяемая при исследованиях, испытаниях, экспертизе и оформлении отчета:

1. Договор №58/17-т от 03.05.2017г с приложением 1 (Техническое задание).
2. ТУ 9150-001-21874080-2015 «Экстракты галеновые лекарственных трав Сибири».
3. СТО 21874080.001-2015 «Пищевые добавки торговой марки «ЛАТТА»
4. ГОСТ ISO 10869-2015 «Масло эфирное Сибирской пихты. Технические условия»
5. Технический регламент таможенного союза ТР ТС №021/2011 «О безопасности пищевой продукции»
6. Руководство Р 4.1.1672-2003 «Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище».
7. ГОСТ 32043-2012 «Премиксы. Методы определения витаминов А, Д, Е.»
8. ГОСТ Р 54635-2011 «Продукты пищевые функциональные. Методы определения витаминов»
9. ГОСТ Р 50929-96 «Премиксы. Методы определения витаминов»
10. ГОСТ 24556-89 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С»

11. ГОСТ 7047-55 «Витамины А, С, Д, В(1), В(2), РР. Отбор проб, методы определения витаминов и испытания качества витаминных препаратов».
12. ГОСТ Р 55312-2012 «Прополис. Метод определения флавоноидных соединений»
13. ГОСТ 7636-85 «Рыба, морские млекопитающие. Определение витамина А»
14. ГОСТ Р 54058-2010 «Продукты пищевые функциональные. Методы определения каротиноидов».
15. ГОСТ 32915-2014 «Молоко и молочная продукция. Определение жирнокислотного состава жировой фазы методом газо-жидкостной хроматографии».
16. ГОСТ 24027.2-80 «Сырье лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла».
17. ГОСТ 32709-2014 «Продукция соковая. Методы определения антоцианинов».
18. Рощин В.И., Докторская диссертация «Состав, строение и биологическая активность терпеноидов из древесной зелени хвойных растений», Санкт-Петербург, 1995г.
19. Н.А.Поляков и др. Биологическая активность эфирного масла древесной зелени сосны сибирской и его отдельных фракций с использованием тест-систем in vitro, Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, №12, 2013, стр. 4-8.
20. Н.В.Шаталина и др. Содержание некоторых биологически активных веществ в траве тысячелистника обыкновенного, Химия растительного сырья, 2002, №3, стр. 13-16
21. Composition, and antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of a full-grown *Pinus cembra* L. tree from the Calimani Mountains, C. Lungu Apetri, A, Spac, M. Brebu, C. Tuchilus and A. Miron, *J. Serb. Chem. Soc.* 78 (1) 27–37 (2013) UDC 633.94:665.52/.54:615.27/.28 JSCS–4393.
22. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of pine cones of *Pinus armandii* from the Southwest region of China X. Yang*, H. T. Zhao, J. Wang, Q. Meng, H. Zhang, L. Yao1, Y. C. Zhang, A. J. Dong, Y. Ma, Z. Y. Wang, D. C. Xu1 and Y. Ding, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(16), pp. 1668-1672, 18 August, 2010.
23. Terpene Composition of Essential Oils, G.M. Ayling, University of Tasmania, Hobart, December 1976, Монография.

6. Перечень методов испытаний, которые применяли для испытаний предоставленных образцов продукции.

Для определения органических компонентов применяли следующие методы:

- газожидкостная хроматография;
- высокоэффективная жидкостная хроматография;
- УФ-спектрофотометрия;
- рефрактометрия;
- перманганатометрическое титрование.

Для определения минерального состава применяли следующие методы:

- атомно-эмиссионная спектрометрия с ИСП;
- инверсионная вольтамперометрия;
- спектрофотометрия.

Для установления наличия бактерицидных свойств бактерицидных спреев «AirFit» применяли микробиологические исследования по влиянию летучих веществ спреев и экстрактов на рост бактерий.

7. Результаты исследований и испытаний образцов.

7.1 Бактерицидные спреи «AirFit» на основе кедровых и пихтовых эфирных масел и пихтовые и кедровые эфирные масла с добавками экстрактов дикорастущих растений «AirForest».

7.1.1 Исследование состава бактерицидных спреев «AirFit».

В состав бактерицидных спреев «AirFit» входит этиловый спирт и кедровые и пихтовые эфирные масла. Чтобы доказать заявленные в Таблице 1 свойства спреев, необходимо провести исследование состава кедровых и пихтовых эфирных масел, входящих в состав спреев. Заказчиком для подтверждения заявленных свойств спреев «AirFit» установлены действующие компоненты: моно- и сесквитерпены; линалоол, азароны (α - и β -терпены), борнилацетат, кариофиллен.

Установлено, что количество наименований терпенов и сесквитерпенов в компонентном составе эфирного масла сосны сибирской (кедра) должно быть не менее 160. Основные терпеновые соединения, содержащиеся в составе эфирного масла сосны сибирской (кедра) в количестве более 1%, это:

- альфа-пинен – (54-60)%;
- бета-фелландрен – (10-15)%;
- дельта-кадинен – (4,0-6,0)%;
- бета-пинен – 2,5-4,5)%;
- альфа-аморфен – 2-3)%;
- эпизонарен – (1-2)%;
- альфа-муурулен - (1-2)%.

Установлено, что количество наименований терпенов и сесквитерпенов в компонентном составе эфирного масла пихты сибирской должно быть не менее 70. В ГОСТ ISO10869-2015 даны основные терпеновые соединения и интервал содержания этих соединений, содержащиеся в составе эфирного масла сибирской пихты:

- сактен – (1,5-3,5)%;
- трициклен – (1,5-3,5)%;
- альфа-пинен – (10-22)%;
- камфен – (15-26)%;
- бета-пинен – (1,0-3,5)%;
- σ -3-Карен – (9-15)%;
- лимонен – (4-10)%;
- бета-фелландрен – (1,5- 5,0)%;
- борнилацетат – (20-35)%;
- бетта-кариофиллен – (0,5-2)%;
- изоборнил ацетат – до 0,1 %;
- борнеол – (1-3)%;
- альфа-гумулен – (0,3-0,9)%.

Таким образом, при установлении в представленных заказчиком образцах бактерицидных спреев «AirFit» наличия терпеновых соединений в количествах, попадающих в установленные интервалы, мы сможем достоверно доказать заявляемые свойства спреев.

Определение компонентов эфирных масел в образцах бактерицидных спреев «AirFit»

Методика определения:

Поскольку образцы спреев представляют собой растворы эфирных масел в спирте и содержат относительно небольшое количество эфирного масла, данные продукты подвергались хроматографическому определению без дополнительного разбавления.

Результаты определения приведены в таблице. 3:

Таблица 3.

Компонентный состав эфирных масел бактерицидных спреев, %

Компонент	Кедр	Пихта и кедр	Пихта, кедр, аир
α -пинен	67,7	47,2	48,9
трициклен	0,1	0,1	не обнаружен
камфен	1,5	18,6	16,6
δ -3-карен	0,7	0,8	0,6
β -пинен	1,2	8,1	7,0
лимонен	11,1	9,8	10,0
β -феландрен	12,4	8,8	9,9
борнеол	1,3	1,2	1,4
борнилацетат	0,4	2,4	2,5

Обнаруженные количества терпеновых соединений свидетельствуют о составе спреев «AirFit», который подтверждает такие заявленные биологические свойства, как бактерицидные, антиоксидантные, фунгицидные и другие биологические свойства.

7.1.2. Исследование бактерицидных свойств бактерицидных спреев «AirFit»

Исследования на бактерицидные свойства и стерильность спреев «AirFit» проводили в бактериологической лаборатории клиники Томского государственного медицинского университета.

Цель исследования: проверить бактерицидные свойства и стерильность спреев «AirFit»:

- Бактерицидный спрей на основе эфирного масла сосны сибирской кедровой (образец №1);
- Бактерицидный спрей на основе эфирного масла сосны сибирской кедровой и пихты сибирской (образец №2);
- Бактерицидный спрей на основе эфирного масла сосны сибирской кедровой, пихты сибирской и корня аира болотного (образец №3).

Материалы и методы:

Для изучения бактерицидных свойств спреев «AirFit» использовали разведение бактериальных культур следующих штаммов:

- *Staphylococcus aureus* ГКМП 12981 ATCC 25923;
- *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 12903 ATCC 27853;
- *Escherichia coli* NCTC 12241 ATCC 25922;
- *Candida albicans* NCPF 3255 ATCC 2091;
- *Streptococcus pyogenes* № 180;
- *Enterococcus faecalis* NCTC 12697 ATCC 29212.

Используя 0,5 стандарта мутности по Макфарланду, газонм распределяли разведение бактериальных культур вышеприведенных штаммов на средах мюллер-хинтон агар (BD, США) или мюллер-хинтон агар с кровью. После этого на поверхность чашки Петри наносили каплю спрея «AirFit».

Через 24 часа инкубации просматривали наличие зон задержки роста тестируемых микроорганизмов. Результаты приведены в таблице 4.

Результаты изучения бактерицидной активности

Штаммы бактерий	Номера образцов		
	1	2	3
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	+	+
<i>Streptococcus pneumonia</i>	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+

Примечание: «±» - частичное подавление роста; «-» - отсутствие зоны задержки роста; «+» - наличие зоны задержки роста.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Все образцы спреев «AirFit», представленные на испытания, стерильны.
2. Все образцы спреев «AirFit», представленные на испытания, обладают бактерицидной активностью в отношении всех тестируемых штаммов, поскольку все они подавляли их рост.

7.2 Исследование пихтовых и кедровых эфирных масел с добавками экстрактов дикорастущих растений «AirForest».

В состав кедровых и пихтовых масел с экстрактами дикорастущих трав «AirForest» входят: кедровые и пихтовые эфирные масла и экстракты дикорастущих растений. Чтобы доказать заявленные в Таблице 1 свойства кедровых и пихтовых эфирных масел с добавками экстрактов дикорастущих растений «AirForest», необходимо провести исследование состава кедровых и пихтовых эфирных масел с добавками дикорастущих трав. Заказчиком для подтверждения заявленных свойств «AirForest» различного состава в техническом задании установлены действующие компоненты. В состав продукции «AirForest» входят основные компоненты кедровых и пихтовых эфирных масел (терпеновые углеводороды) и компоненты, входящие в состав экстрактов дикорастущих растений и обуславливающие свойства продукции «AirForest» (флавоноиды, дубильные вещества, каротиноиды и т.д.).

7.2.1. Определение дубильных веществ (полифенолов).

Количественное определение дубильных веществ проводили на основе метода перманганатометрического титрования по ГОСТ 24027.2-80.

Навеску эфирного масла (2,0г) помещают в коническую колбу объемом 500 см³, приливают 250 см³ нагретой до кипения дистиллированной воды и нагревают с обратным холодильником на кипящей бане в течении 30 мин, периодически помешивая. Затем жидкость отстаивают, охлаждая до комнатной температуры. Около 100мл охлажденной жидкости декантируют в колбу объемом 200 – 250 см³ через ватный фильтр. Затем 25 мл фильтрата пипеткой переносят в коническую колбу объемом 750 см³, добавляют 500см³ воды, 25см³ индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании 0,1N раствором марганцовокислого калия до золотисто-желтого окрашивания, сравнивая его с окраской раствора контрольного испытания. Для контрольного раствора в колбу объемом 750 см³ приливают 525см³ дистиллированной воды, затем приливают 25 см³

индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании 0,1Н раствором марганцовокислого калия до золотисто-желтого окрашивания.

Массовую долю дубильных веществ (X) в % определяют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 25}, \text{ где}$$

V – объем 0,1Н раствора марганцовокислого калия, пошедшего на титрование пробы, см³;

V₁ – объем 0,1Н раствора марганцовокислого калия, пошедшего на титрование контрольного раствора, см³;

0,004157 – количество дубильных веществ в пересчете на танин, соответствующее 1 см³ 0,1Н раствора марганцовокислого калия, г;

m – масса навески пробы, г.

Количественные данные, полученные при определении массовой доли дубильных веществ в эфирных маслах с добавками экстрактов растений «AirForest», представлены в Таблице 5.

7.2.2 Определение каротиноидов.

Массовую долю общих каротиноидов в пересчете на бета-каротин в эфирных маслах с добавками экстрактов растений определяли спектрофотометрическим методом, взяв за основу ГОСТ Р 54058-2010.

5г продукта вносят количественно в пробирку для центрифугирования объемом 60-100мл, добавляют дистиллированной воды до 50 см³, тщательно перемешивают. Добавляют по 1 см³ раствора Карреза I и раствора Карреза II, перемешивают стеклянной палочкой и выдерживают при комнатной температуре 2 мин. Затем раствор центрифугируют в течении 5 мин, затем убирают надосадочную жидкость из пробирки и приливают к осадку 40 см³ ацетона. Тщательно перемешивают содержимое пробирки стеклянной палочкой в течении 3 мин, затем вновь центрифугируют в течении 5 мин., затем надосадочную жидкость количественно переносят в делительную воронку объемом 250см³.

Содержимое (осадок) пробирки последовательно промывают тремя порциями ацетона по 25см³ каждая, каждый раз проводя центрифугирование для разделения экстракта и осадка.

Фракции экстракта собирают в делительной воронке. Общий объем экстракта органической фазы в делительной воронке подвергают очистке петролейным эфиром, для чего в делительную воронку добавляют 50см³ петролейного эфира, тщательно перемешивают и оставляют в покое для формирования верхнего слоя органической фазы. Удаляют нижний водный слой, промывают верхнюю органическую фазу 50см³ дистиллированной водой, тщательно перемешивают встряхиванием, затем удаляют образовавшийся нижний водный слой. Верхнюю органическую фазу количественно переносят из делительной воронки в пробирку для центрифугирования, в которую добавляют 2г сернокислого натрия, пробирку тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Затем проводят центрифугирование для отделения петролейной фазы от осадка. После центрифугирования петролейную фазу количественно переносят в мерную колбу объемом 100 см³, затем промывают осадок в пробирке 30см³ петролейного эфира, и петролейную фазу вновь сливают в мерную колбу 100см³. После этого объем мерной колбы доводят до метки петролейным эфиром. Полученный петролейный экстракт используют для определения общих каротиноидов спектрофотометрическим методом (для измерения оптической плотности).

Оптическую плотность экстракта для количественного определения общих каротиноидов измеряют при 450 нм в кювете толщиной 1 см.

Количество общих каротиноидов X в мг/кг рассчитывают по формуле:

$$X = 4,00 \cdot A \cdot \frac{V}{m}, \text{ где}$$

4,00 – коэффициент пересчета оптической плотности;

A – оптическая плотность петролейного экстракта;

V – объем петролейного экстракта;

m – масса навески продукта.

Количественные данные, полученные при определении общих каротиноидов в эфирных маслах с добавками экстрактов растений «AirForest», представлены в Таблице 5.

7.2.3 Определение флавоноидов.

Таблица 5

№ п/п	Наименование продукта	Содержание компонента, %			
		белка	Дубильных Веществ (полифенолов)	антоцианов	каротиноидов, мг/кг
1	Пихтовый экстракт душицы «AirForest»	Менее 0,2	0,72	Не обнаружено	6,3
2	Пихтовый экстракт шалфея «AirForest»	Менее 0,2	0,63	Не обнаружено	0,9
3	Пихтовый экстракт корней бадана «AirForest»	Менее 0,2	0,69	Не обнаружено	2,0
4	Пихтовый экстракт зверобоя «AirFores»	Менее 0,2	0,75	Не обнаружено	7,6
5	Кедровый экстракт чабреца «AirForest»	Менее 0,2	0,35	Не обнаружено	0,5
6	Кедровый экстракт корней дягиля «AirForest»	Менее 0,2	0,41	Не обнаружено	0,3
7	Кедровый экстракт тысячелистника «AirForest»	Менее 0,2	0,39	Не обнаружено	0,2
8	Кедровый экстракт донника «AirForest»	Менее 0,2	0,33	Не обнаружено	0,6

7.2.4 Определение терпеновых компонентов эфирных масел в образцах пихтовых и кедровых эфирных масел с добавками экстрактов дикорастущих растений «AirForest».

Методика определения

1 мл образца экстракта помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили гексаном до метки, перемешивали.

Хроматографическую процедуру проводили согласно ГОСТ ISO 10869-2015.

Идентификацию компонентов проводили с использованием данных хроматограмм эфирных масел различных растений, опубликованных значений индексов удерживания компонентов. Результаты определения терпеновых соединений приведены в Таблице 6.

Таблица 6.

Компонентный состав эфирных масел галеновых экстрактов, %

Компонент	Дягиль	Зверобой	Бадан	Донник	Шалфей	Чабрец	Душица	Тысяче листник
сантен	-	3,3	-	0,1	3,4	-	0,1	-
трициклен	-	-	-	-	2,1	-	-	-
α -пинен	71,4	20,2	75,3	79,4	20,5	81,3	80,5	78,5
камфен	1,4	35,1	1,4	1,9	35,9	1,6	4,6	1,5
β -пинен	-	21,8	1,1	1,2	22,3	1,0	1,9	5,2
δ -3-карен	-	-	0,9	-	-	-	0,7	-
лимонен	13,0	8,3	10,1	8,1	8,5	7,4	7,3	9,0
β -феландрен	11,4	5,5	7,2	8,0	5,7	7,5	1,8	4,3
борнеол	1,1	0,9	0,4	0,9	1,3	0,9	-	-
борнилацетат	0,2	4,9	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,3
изоборнилацетат	0,2	-	0,2	0,1	0,1	0,1	1,1	0,9
гумулен	-	-	0,2	0,1	0,1	0,02	0,9	0,1
β -кариофиллен	-	-	0,1	0,1	0,04	0,1	0,7	0,2

Таким образом, на основании проведенных исследований состава пихтовых и кедровых эфирных масел с добавками экстрактов дикорастущих растений «AirForest» установлено:

1. Представленные образцы продукции «AirForest» содержат в своем составе кедровые и пихтовые эфирные масла и экстракты дикорастущих растений.
2. В составе продукции «AirForest» присутствуют группы таких компонентов, как терпеновые соединения, дубильные вещества, каротиноиды, которые могут обуславливать заявленные свойства данной продукции.

7.3 Исследование пищевых добавок (не являющихся специализированной пищевой продукцией) «ЛАТТА»

7.3.1 Определение водорастворимых витаминов в природных витаминно-минеральных комплексах (пищевых добавках, не являющихся специализированной пищевой продукцией) «ЛАТТА».

7.3.1.1 Методика определения

7.3.1.1.1 Пробоподготовка

Навеску содержимого пакета (1,35 г) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл воды бидистиллированной и помещают в ультразвуковую баню при 50 °С на 90 мин. Колбу остужают до комнатной температуры, прибавляют по 5 мл растворов Карреза (15 % калия ферроцианида и 30 % цинка сульфата) и помещают в темное место на 30 мин. Объем содержимого колбы доводят водой до метки, перемешивают, центрифугируют при 13,2 об/мин и хроматографируют.

7.3.1.1.2 Хроматографическая процедура

Хроматограф Милихром А-02, канал А: 0,01 М фосфатный буферный раствор с pH 3,4; канал Б: ацетонитрил. Скорость потока 100 мкл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Оптическая плотность регистрируется при 274 и 200 нм. Программа градиента:

Регенерация 6 мин при 2 % канала Б;

Время	% канал Б
-------	-----------

0	2
20	20
30	100
40	100

Витамины В₁, В₂, РР, В₅, В₆, В₉, В₁₂, С регистрируются при 274 нм, В₅ - при 200 нм.

В качестве стандартных образцов (СО) витаминов использовались вещества производства

На хроматограммах испытуемых растворов идентифицировались пики, соответствующие вышеперечисленным водорастворимым витаминам.

Содержание каждого витамина в 100 г комплекса рассчитывалось по формуле:

$$X = \frac{S * C_0 * 1000 * 50 * 100}{S_0 * 1350},$$

где S – площадь пика компонента на хроматограмме испытуемого раствора;

S₀ – площадь пика компонента на хроматограмме раствора СО;

C₀ – концентрация компонента в растворе СО;

Полученные результаты приведены в Таблице 7.

Таблица 7

Содержание водорастворимых витаминов в исследуемых препаратах (на 100 г)

	Флавонол	Флавонокс	обог. вит. С	обог. вит. йодом	обог. антоци- анами	обог. терпе- ноидами
В₁, мг	16,9	4,1	12,7	7,4	9,2	11,1
В₂, мг	0,05	0,01	0,03	0,04	0,05	0,04
В₅, мг	32,7	0,7	5,3	1,0	0,9	0,2
В₆, мг	2,6	11,5	3,5	2,4	4,3	не обнар.
В₉, мг	0,40	2,0	0,3	0,8	1,1	0,05
В₁₂, мкг	1,2	1,2	не обнар.	не обнар.	0,2	0,1
РР, мг	0,7	1,0	0,02	0,4	0,3	0,2
С, мг	0,2	0,1	0,8	0,2	0,2	0,2

7.3.2 Определение жирорастворимых витаминов в природных витаминно-минеральных комплексах «LATTA»

7.3.2.1 Методика определения

7.3.2.1.1. Пробоподготовка

Навеску содержимого пакета (1,35 г) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 20 мл 0,001 % раствора бутилокситолуола в спирте изопропиловом, колбу закрывают и помещают в ультразвуковую баню при 40 °С на 90 мин. Колбу остужают до комнатной температуры. Объем содержимого колбы доводят этим же раствором до метки, перемешивают, центрифугируют при 13,2 об/мин и хроматографируют.

7.3.2.1.2. Хроматографическая процедура

Хроматограф Милихром А-02, канал А: вода бидистиллированная; канал Б: ацетонитрил. Скорость потока 100 мкл/мин. Объем вводимой пробы 10 мкл. Оптическая плотность регистрируется при 264 и 284 нм. Программа градиента: Регенерация 6 мин при 80 % канала Б;

Время	% канал Б
0	80
10	100
25	100

В качестве стандартных образцов (СО) витаминов использовались вещества производства ООО НПАЦ «Эколан».

Поиск включал в себя витамины А (ретинол), D₃ (холекальциферол), Е (α-токоферол), К (филлохинон). Искомые компоненты не выявлены даже в следовых количествах.

7.3.3. Определение полиненасыщенных жирных кислот (витамина F) в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА»

7.3.3.1 Методика определения

7.3.3.1.1 Пробоподготовка

Навеску содержимого 2 пакетов (1,35 г) помещают в стеклянную пробирку, прибавляют 10 мл гексана, пробирку закрывают пленкой и помещают в ультразвуковую баню при 50 °С на 90 мин. 2 мл гексана декантируют, прибавляют 200 мкл раствора натрия метилата в метаноле и интенсивно встряхивают 2 мин. Отстаивают 5 мин, после чего хроматографируют по процедуре согласно ГОСТ 32915-2014.

Определяют массовые доли содержания жирных кислот согласно ГОСТ 32915-2014. Далее, принимая во внимание химическую структуру жира (на один глицериновый остаток приходится три остатка жирных кислот) и содержание жира в образце каждого витаминно-минерального комплекса, вычисляют содержание полиненасыщенных жирных кислот (витамина F) в каждом образце.

Результаты приведены в таблице 8:

Таблица 8

Наименование продукта	Содержание вит. F, %
1	2
Флавонол	2,6±0,1
Флавонокс	2,5±0,1
обог. вит. С	1,5±0,1
обог. йодом	1,7±0,1
обог. антоцианами	2,3±0,1
обог. терпеноидами	2,0±0,1

7.3.4. Определение массовой доли белка в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА».

Определение белка проводили по методике Руководства Р 4.1.1672-2003, глава 1, раздел 1 (с аппаратом Кьельдаля).

Результаты представлены в Таблице 9.

7.3.5. Определение массовой доли жира в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА».

Определение массовой доли жира проводили по методике Руководства Р 4.1.1672-2003, глава II, раздел 1 (гравиметрический метод).

Результаты представлены в Таблице 9.

7.3.6. Определение дубильных веществ (полифенолов) природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА».

Количественное определение дубильных веществ проводили с применением метода перманганатометрического титрования по ГОСТ 24027.2-80.

Навеску продукта (2,0г) помещают в коническую колбу объемом 500 см³, приливают 250 см³ нагретой до кипения дистиллированной воды и нагревают с обратным холодильником на кипящей бане в течении 30 мин, периодически помешивая. Затем жидкость отстаивают, охлаждая до комнатной температуры. Около 100 мл охлажденной жидкости декантируют в колбу объемом 200 – 250 см³ через ватный фильтр. Затем 25 мл фильтрата пипеткой переносят в коническую колбу объемом 750 см³, добавляют 500 см³ воды, 25 см³ индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании 0,1Н раствором марганцовокислого калия до золотисто-желтого окрашивания, сравнивая его с окраской раствора контрольного испытания. Для контрольного раствора в колбу объемом 750 см³ приливают 525 см³ дистиллированной воды, затем приливают 25 см³ индигосульфокислоты и титруют при постоянном перемешивании 0,1Н раствором марганцовокислого калия до золотисто-желтого окрашивания.

Массовую долю дубильных веществ (X) в % определяют по формуле:

$$X = \frac{(V - V_1) \cdot 0,004157 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 25}, \text{ где}$$

V – объем 0,1Н раствора марганцовокислого калия, пошедшего на титрование пробы, см³;

V₁ - объем 0,1Н раствора марганцовокислого калия, пошедшего на титрование контрольного раствора, см³;

0,004157 – количество дубильных веществ в пересчете на танин, соответствующее 1 см³ 0,1Н раствора марганцовокислого калия, г;

m – масса навески пробы, г.

Количественные данные, полученные при определении массовой доли дубильных веществ в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА», представлены в Таблице 9.

7.3.7. Определение каротиноидов природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА».

Массовую долю общих каротиноидов в пересчете на бета-каротин в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА» определяли спектрофотометрическим методом по ГОСТ Р 54058-2010.

5г продукта вносят количественно в пробирку для центрифугирования объемом 60-100 мл, добавляют дистиллированной воды до 50 см³, тщательно перемешивают. Добавляют по 1 см³ раствора Карреза I и раствора Карреза II, перемешивают стеклянной палочкой и выдерживают при комнатной температуре 2 мин. Затем раствор центрифугируют в течении 5 мин, затем убирают надосадочную жидкость из пробирки и приливают к осадку 40 см³ ацетона. Тщательно перемешивают содержимое пробирки стеклянной палочкой в течении 3 мин, затем вновь центрифугируют в течении 5 мин., затем надосадочную жидкость количественно переносят в делительную воронку объемом 250 см³. Содержимое (осадок) пробирки последовательно промывают тремя порциями ацетона по 25 см³ каждая, каждый раз проводя центрифугирование для разделения экстракта и осадка.

Фракции экстракта собирают в делительной воронке. Общий объем экстракта органической фазы в делительной воронке подвергают очистке петролейным эфиром, для чего в делительную воронку добавляют 50 см³ петролейного эфира, тщательно перемешивают и оставляют в покое для формирования верхнего слоя органической фазы. Удаляют нижний водный слой, промывают верхнюю органическую фазу 50 см³ дистиллированной водой, тщательно перемешивают встряхиванием, затем удаляют образовавшийся нижний водный слой. Верхнюю органическую фазу количественно переносят из делительной воронки в пробирку для центрифугирования, в которую

добавляют 2г сернокислого натрия, пробирку тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Затем проводят центрифугирование для отделения петролейной фазы от осадка. После центрифугирования петролейную фазу количественно переносят в мерную колбу объемом 100 см³, затем промывают осадок в пробирке 30см³ петролейного эфира и петролейную фазу вновь сливают в мерную колбу 100см³. После этого объем мерной колбы доводят до метки петролейным эфиром. Полученный петролейный экстракт используют для определения общих каротиноидов спектрофотометрическим методом (для измерения оптической плотности).

Оптическую плотность экстракта для количественного определения общих каротиноидов измеряют при 450 нм в кювете толщиной 1см.

Количество общих каротиноидов X в мг/кг рассчитывают по формуле:

$$X = 4,00 \cdot A \cdot \frac{V}{m}, \text{ где}$$

4,00 – коэффициент пересчета оптической плотности;

A – оптическая плотность петролейного экстракта;

V – объем петролейного экстракта;

m – масса навески продукта.

Количественные данные, полученные при определении общих каротиноидов в природных витаминно-минеральных комплексах «LATTA», представлены в Таблице 9.

7.3.8 Определение антоцианов в природных витаминно-минеральных комплексах «LATTA».

Методика разработана на основании спектрофотометрических методов ГОСТ 32709-2014 и Руководства Р 4.1.1672-2003 применительно к матрице природных витаминно-минеральных комплексов.

5,00г продукта взвешивают и переносят в коническую колбу вместимостью 100см³, добавляют 30см³ дистиллированной воды, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течении 30 мин. Надосадочную жидкость сливают в мерную колбу вместимостью 100 см³ так, чтобы частицы пробы не попали на фильтр.

Экстракцию антоцианов повторяют еще два раза в описанных условиях, прибавляя каждый раз к осадку по 30 см³ воды. Надосадочные порции жидкостей объединяют в мерной колбе объемом 100 см³, охлаждают до 20 °С, и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный экстракт центрифугируют. По 1 см³ осветленного экстракта помещают в две мерные колбы объемом 25 см³ и доводят до метки буферными растворами с pH =1,0 и pH=4,5. (Буферные растворы готовят по ГОСТ 32709, п.6.3.2).

Каждый раствор в мерных колбах перемешивают, выдерживают 15 мин при комнатной температуре и проводят измерение оптической плотности при длин волн 510нм и 700 нм. На основании данных измерений проводят вычисление массовой доли антоцианинов. Оптическая плотность суммы антоцианинов рассчитывается как разность оптических плотностей растворов при разных длинах волн и разных значениях pH по формуле:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=4,5} \quad (1)$$

Массовая доля суммы антоцианинов X в % в пересчете на цианидин-3-глюкозид рассчитывается по формуле:

$$X = \frac{A \cdot M \cdot V_1 \cdot V_2}{E \cdot l \cdot m \cdot V_3} \cdot 100$$

A – измеренная оптическая плотность по (1);

M – молекулярная масса цианидин-3-глюкозида, равная 449,2 г/моль;

V_1 – объем мерной колбы для разведения полученного экстракта (100см³);
 V_3 – объем аликвоты, (1см³);
 V_2 – Объем мерной колбы для разведения аликвоты буферными растворами (25 см³);
 E – молярный коэффициент экстинкции цианидин-3-глюкозида, равный 26900 (моль*см/дм³);
 L – длина оптического пути кюветы, 1см;
 m – масса навески пробы,мг.

Количественные данные, полученные при определении антоцианинов в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА», представлены в Таблице 9

7.3.9 Определение флавоноидов в пересчете на рутин в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА».

Определение флавоноидов в природных витаминно-минеральных комплексах «ЛАТТА» определяли по спектрофотометрической методике, разработанной на основе метода ГОСТ Р 55312-2012.

Подготовка пробы для анализа:

Навеску (10,000±0,001) продукта взвешивают в конической колбе вместимостью 10см³, добавляют (30,0±0,5)см³ 60%-ного этанола. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течении 30 мин, периодически встряхивая. Надосадочную жидкость фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 см³ так, чтобы твердые частицы продукта не попали в мерную колбу вместе с фильтратом. Экстракцию флавоноидов повторяют еще два раза при описанных выше условиях, каждый раз прибавляя к остатку в колбе по (30,0±0,5)см³ 60%-ного этанола. Фильтраты объединяют, охлаждают до (20±3)°C и доводят до метки колбы 60%-ного этанолом.

Построение калибровочного графика:

В две мерные колбы вместимостью 25 см³. дозатором вносят по 0,2 (0,4, 0,6, 0,8, 1,0 и 1,2) см³ рутина концентрацией 1 мг/см³. В одну колбу вносят 4 см³ 5%-ного раствора хлористого алюминия в 60%-ном этаноле (рабочий раствор). Обе колбы доводят до метки 60%-ным этанолом и перемешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность рабочего раствора относительно раствора сравнения (рутин без раствора хлористого алюминия) при 390 нм в кювет с толщиной оптического слоя 1 см. Таким образом измеряют оптические плотности еще пяти рабочих растворов с другими концентрациями рутина. При построении калибровочного графика по оси абсцисс откладывают количество рутина в мг, содержащееся в колбах объемом 25см³ рабочего раствора, а по оси ординат – максимальное значение оптической плотности рабочего раствора (каждая точка концентрации снимается 3 раза). Калибровочный график должен быть линейным и проходить через начало координат.

Проведение испытаний проб продукта:

В две мерные колбы вместимостью 25 см³ вносят (5,00±0,01)см³ экстракта из колбы объемом 100см³. В одну колбу вносят добавляют 4см³ 5%-ного раствора хлористого алюминия в 60%-ном этаноле (анализируемый раствор).

Обе колбы доводят до метки 60%-ным этанолом. Через 30 минут измеряю оптическую плотность анализируемого раствора относительно раствора сравнения (вторая колба объемом 25 см³ с экстрактом без хлористого алюминия) при 390 нм в кювет с толщиной оптического слоя 1 см.

Массовая доля флавоноидных соединений в пересчете на рутин X в % рассчитывается по формуле:

$$C \cdot 100$$

$$X = \frac{\text{-----}}{m \cdot 5} \cdot 100\%, \text{ где}$$

C – оптическая плотность по калибровочному графику, мг/25см³;
m - масса навески пробы, мг

Количественные данные, полученные при определении флавоноидов в пересчете на рутин в природных витаминно-минеральных комплексах «LATTA», представлены в Таблице 9

Таблица 9

№ п/п	Наименование продукта	Содержание компонента, %					
		жира	белка	полифе нолов	антоцианов	флавоно- идов	каротинои дов, мг/кг
1	Флавонокс	5,0	2,1	3,2	0,18	0,28	1,2
2	Флавонол	5,3	2,2	3,2	0,21	0,31	1,3
3	Кедровый микс, обогащенный иодом	3,4	2,3	3,4	0,19	0,19	1,5
4	Кедровый микс, обогащенный терпеноидами	4,0	2,3	3,5	-	0,19	1,5
5	Кедровый микс, обогащенный витамином С	3,0	2,4	3,2	-	0,22	6,0
6	Кедровый микс, обогащенный антоцианами	4,6	2,2	3,1	0,19	0,24	1,6

7.3.10. Исследование минерального состава природных витаминно-минеральных комплексах «LATTA».

Минеральный состав природных витаминно-минеральных комплексах «LATTA» анализировали методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индукционно-связанной плазмой на спектрометре ICAP 6300 Duo, Thermo Scientific, Великобритания, 2007 г.

Результаты анализа приведены в Таблице 10.

Таблица 10

Содержание элементов, мг/кг							
№ п/п	Элемент	Флавонокс	Флавонол	Кедровый микс с иодом	Кедровый микс с вит. С	Кедровый микс с антоцианами	Кедровый микс с терпеноидами
1	2	3	4	5	6	7	8
1	алюминий	24,5	15,5	14,2	7,1	12,4	9,1
2	бор	3,6	3,2	1,8	1,1	1,5	1,1
3	барий	2,3	1,9	1,8	0,3	1,6	-
4	кальций	255	198	170	315	130	38
5	медь	4,4	5,1	4,6	2,9	5,5	3,5
6	железо	27	23,5	19,8	11,2	21	12,5
7	калий	1950	1820	1410	1540	1520	1110

8	магний	730	715	620	490	620	540
9	марганец	67	49	41	19	30	22
10	натрий	12,6	4,6	3,8	2,8	4,7	3,0
11	никель	0,8	1,2	0,9	0,5	0,9	0,5
12	фосфор	1490	1480	1290	990	1380	1100
13	кремний	14,2	12,5	11,4	2,6	13,2	11,4
14	стронций	0,9	0,4	0,4	2,0	0,3	0,05
15	цинк	19,2	19,5	16,0	11,3	16,5	12,5
16*	иод	-	-	385	-	-	-
17*	селен	0,002	0,002	-	-	0,001	-
18*	мышьяк	-	-	-	-	-	-
19*	ртуть	-	-	-	-	-	-
20*	кадмий	-	-	-	-	-	-
21*	свинец	-	0,02	0,02	0,02	0,02	-

* Для определения этих элементов применяли метод инверсионной вольтамперометрии.

Заключение

На основании проведенных испытаний образцов установлено:

1. Все образцы, указанные в таблице 1, содержат в своем составе эфирные масла сосны сибирской (кедра) и пихты сибирской, а также в их составе определено наличие терпеновых углеводов, каротиноидов, дубильных веществ.
2. Все образцы, указанные в таблице 2, содержат растительные белки и жиры кедрового ореха, богатые ненасыщенными жирными кислотами, содержат значительные количества водорастворимых витаминов (B1, B2, B5, B6, B9, B12, PP), некоторое количество витамина C, а также такие классы соединений, как полифенолы, антоцианины, каротиноиды и флавоноиды. Данные продукты богаты ценными для организма минеральными солями железа, калия, кальция и другими микрокомпонентами. Продукты не содержат токсичных соединений и металлов.
3. Образцы продукции, указанные в Таблице 1, эфирные масла с экстрактами дикорастущих растений, и спреи на их основе обладают бактерицидными свойствами и содержат действующие компоненты, подтверждающие свойства данной продукции, установленные Заказчиком.

Технический Эксперт Росаккредитации

Н.М.Мордвинова

Приложения:

- протоколы испытаний образцов;
- фото, подтверждающие наличие зон задержки роста тестируемых микроорганизмов.