

Příloha č. 2 k protokolu o zkouškách ML 4296/20

Záznamy dokumentující autentikaci vzorku 'třešňového oleje' pomocí metabolomického fingerprintingu ('chemické otisky')

Strategie zkoušení

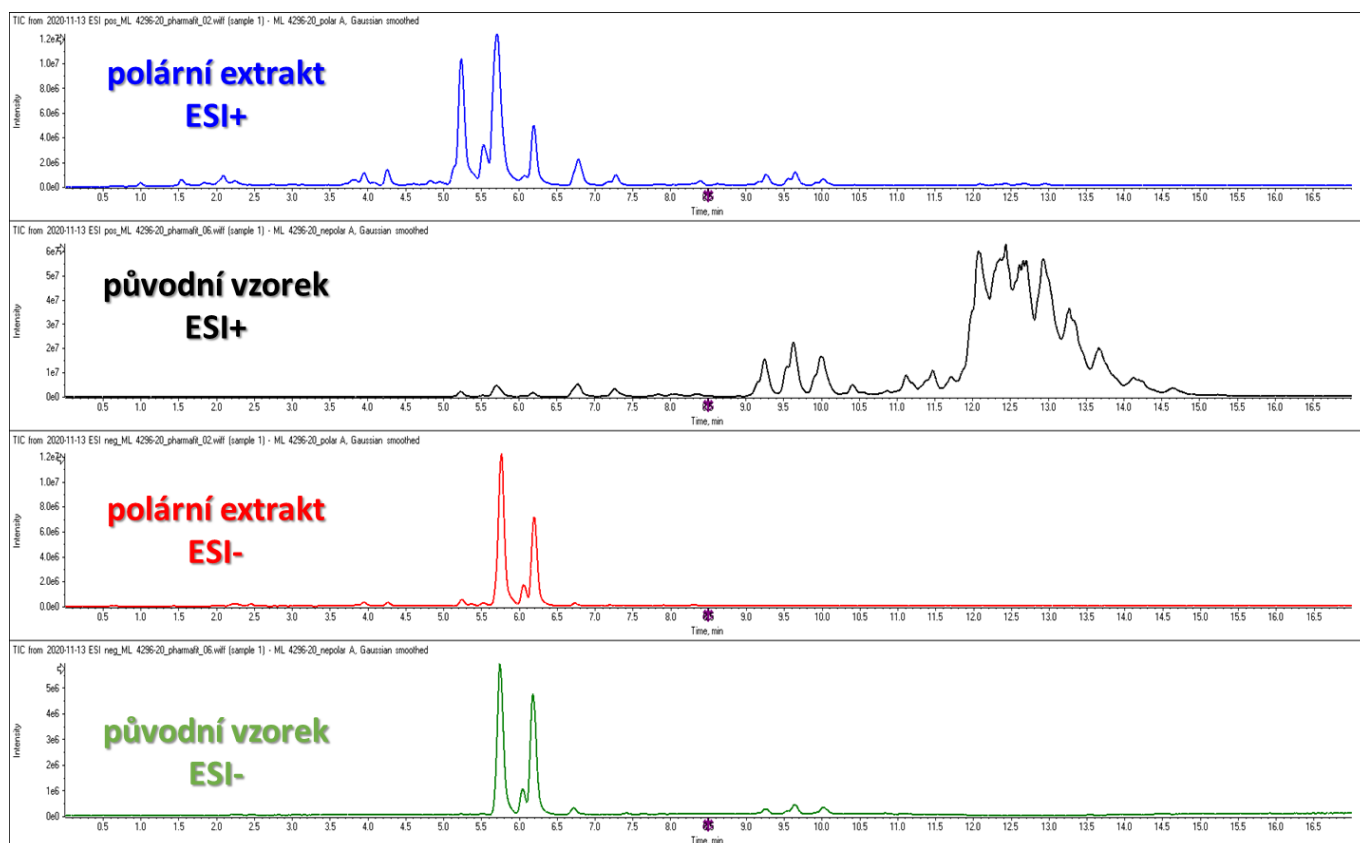
Pro účely potvrzení autenticity vzorku třešňového (*Prunus avium*) oleje (laboratorní kód ML 4296/20) byla zvolena strategie metabolomických 'fingerprintů', jde o necílový screening malých molekul – metabolitů obsažených ve zdrojové rostlině / jejích částech a přenesených do daného produktu, v tomto případě do vzorku prezentovaného jako třešňový olej. Analýza byla realizována pomocí techniky ultra-vysokoučinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (KM15, systém (C): U-HPLC-HRMS/MS). Při vyhodnocení získaného záznamu byly zohledněny informace o složení třešňového oleje nalezené v odborné literatuře¹⁻⁴.

Podmínky zkoušek

Vzorek byl před vlastní analýzou zpracován dvěma způsoby: i) extrahován směsí vody a methanolu ii) naředěn ethanolem. Složky metabolomu v takto upravených vzorcích byly separovány na chromatografické koloně s reverzní fází. Detekce jednotlivých sloučenin byla provedena za použití HRMS typu kvadrupól/analyzátor doby letu (TripleTOF 6600, SCIEX). Pro vyhodnocení dat byl použit software PeakView 2.0.

Výsledky zkoušek

Na **obrázku 1** jsou znázorněny metabolomické 'fingerprinty' polární frakce oleje (vodně-methanolickeho extraktu) a oleje naředěného ethanolem v pozitivním a negativním ionizačním módu. Ve vzorcích (ML 4296/20) byl na základě literatury¹⁻⁴ sledován profil triacylglycerolů, fytosterolů a tokoferolů. Sloučeniny, které byly ve vzorcích cíleně hledány, byly identifikovány na základě přesné hodnoty m/z jejich protonizovaného či deprotonizovaného molekulového iontu, izotopového profilu a přítomnosti charakteristických fragmentačních iontů (MS/MS spektrum). V případě všech skupin výše zmíněných metabolitů souhlasí jejich relativní zastoupení s informacemi nalezenými v odborné literatuře¹⁻⁴.



Obrázek 1: Chromatografické záznamy (metabolomické 'fingerprinty'). Modrá: MeOH:H₂O extrakt ML 4296/20, ESI+; černá: vzorek ML 4296/20 naředěný ethanolom, ESI+; červená: MeOH:H₂O extrakt ML 4296/20, ESI-; zelená: vzorek ML 4296/20 naředěný ethanolom, ESI-.

Interpretace výsledků zkoušek:

Vzorek ML 4296/20, který byl deklarován jako třešňový (*Prunus avium*) olej, se v rámci vyšetření dat získaných pomocí metabolomického 'fingerprintingu' (U-HPLC-HRMS/MS) shodoval v profilu triacylglycerolů, fytosterolů a tokoferolů s údaji nalezenými v odborné literatuře¹⁻⁴. Tyto výsledky indikují, že **výrobek s vysokou pravděpodobností odpovídá deklaraci 'třešňový olej'**.

Reference:

1. Aqil, Y., et al., *Prunus avium* kernel oil characterization: a comparative study of four varieties from Sefrou, Morocco. *Oilseeds and Fats Crops and Lipids*, 2020. **27**.
2. Comes, F., et al., *Fatty-acids and triacylglycerols of cherry seed oil*. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 1992. **69**(12): p. 1224-1227.
3. Gónaš, P., et al., *Composition of tocochromanols in kernels recovered from different sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars: RP-HPLC/FLD and RP-UPLC-ESI/MSn study*. *European Food Research and Technology*, 2015. **240**(3): p. 663-667.
4. Gónaš, P., et al., *Impact of Cultivar on Profile and Concentration of Lipophilic Bioactive Compounds in Kernel Oils Recovered from Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) by-Products*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2016. **71**(2): p. 158-164.

Konec přílohy