



Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Metrologická a zkušební laboratoř VŠCHT Praha

zkušební laboratoř . 1316.2 akreditovaná IA dle SN EN ISO/IEC 17025:2018



Adresa: VŠCHT Praha, Technická 1905/5, 166 28 Praha 6 (tel.: +420 602833424; +420 220443184; http://uapv.vscht.cz/mzl)

Protokol o zkouškách ML: 986/20

číslo tisku: 704/20

Zákazník: PharmaFit Czech s.r.o.

echova 656/24
75002 P erov
eská republika

Datum p íjmu vzork laborato ř: 20.2.2020
Objednávka: 14.02.2020/29.4.2020
Ozna ení vzork zákazníkem: 4b hrozno víno - olej

P edm t zkoušení - popis vzorku: hroznový olej
obal: láhev sklo barevná
stav: doru eno bez zjevného poškození
množství: 100 ml

Datum provedení zkoušek: 20.02.2020 - 30.04.2020
Místo provedení zkoušek: prostory MZL VŠCHT, Technická 1903/3, 166 28 Praha 6 - Dejvice
Zkušební metody: KM 15: HRMS

VÝSLEDKY ZKOUŠEK:

VÝŠET ENÍ UVEDENÉ V P ÍLOZE PROTOKOLU

Analyt	Výsledek*	Rozší ená nejistota	Jednotky	Zkušební metoda	Specifikace Poznámka
metabolomický profil	provedeno	-		KM 15	-

* pokud je p ed hodnotou znaménko "<" pak koncentrace je nižší nežli tato hodnota, tj. pod mezí stanovitelnosti (LOQ)

Uvedená rozší ená nejistota byla vypo tena s použitím koeficientem rozší ení $k=2$, což odpovídá hladině spolehlivosti p íbližn 95 %. P í vypo tu a uvád ní nejistot se postupuje podle dokumentu EA-4/16 a p íru ky Kvalimetrie 11 (EURACHEM CZ). Uvád né nejistoty nezahrnují nejistotu vzorkování. Pro posouzení shody s limitními hodnotami byly vzaty do úvahy nejistoty výsledk zkoušek podle Sm rnice ILAC-G8.

Bez písemného souhlasu Metrologické a zkušební laborato ře nelze Protokol o zkouškách kopírovat jinak než celý.

Výsledky zkoušek se týkají pouze uvedeného zkušební vzorku, jak byl laborato ří p íjat. Protokol o zkouškách nenahrazuje žádné jiné právní dokumenty. Laborato ř nenese odpov dnost za informace dodané zákazníkem, pokud mohou mít vliv na platnost výsledk .

P ílohy: p íloha . 1 (2 strany) je nedílnou sou ástí tohoto Protokolu.

Protokol o zkouškách vystaven v Praze dne: 30.4.2020

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc., vedoucí laborato ře

Konec protokolu

Příloha k protokolu o zkouškách ML 986/20

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

Strategie zkoušení

Pro účely potvrzení autenticity vzorku hroznového (*Vitis vinifera*) oleje (laboratorní kód ML 986/20) byla zvolena strategie metabolomických 'fingerprintů', jde o necílový screening malých molekul – metabolitů obsažených v dané rostlině / její části a přenesených do daného produktu, v tomto případě do vzorku prezentovaného jako hroznový olej. Analýza byla realizována pomocí techniky ultra-vysokoúčinné 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 hroznového oleje nalezené v odborné literatuře¹⁻³.

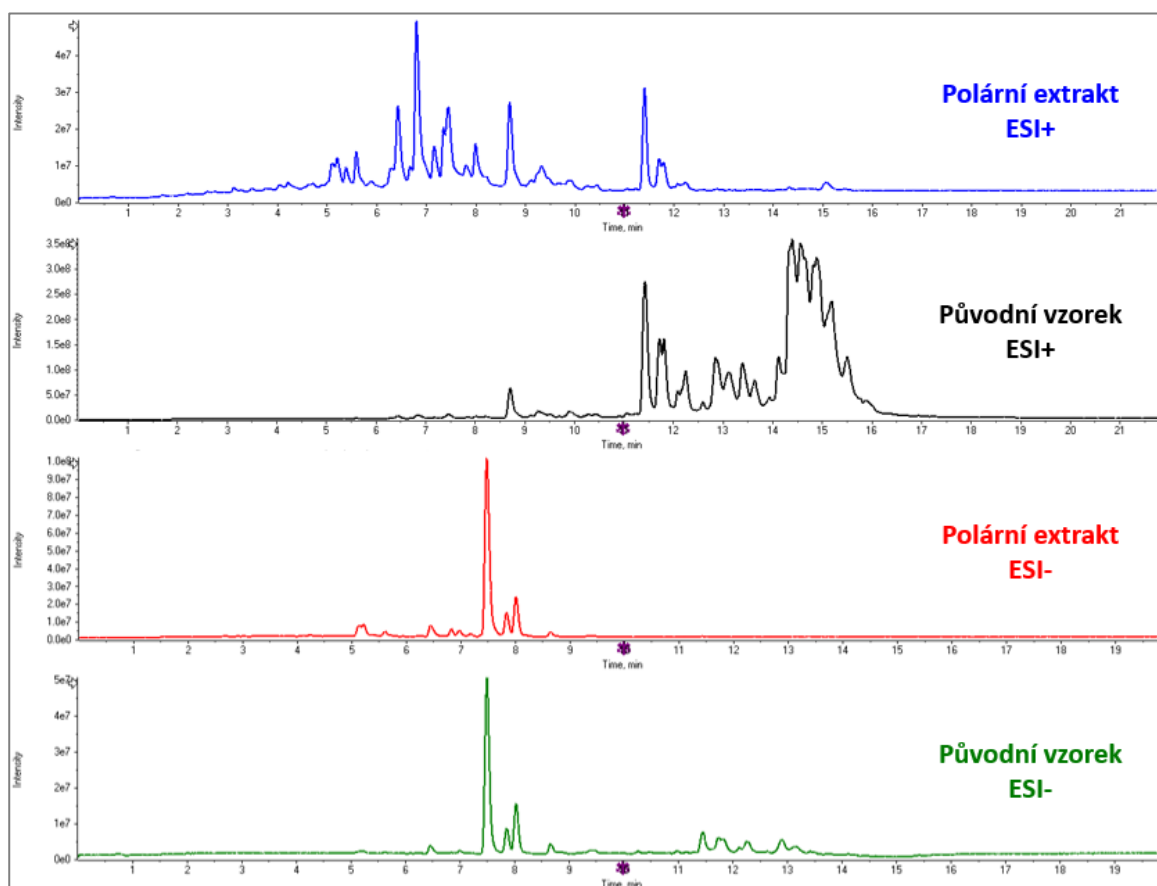
Podmínky zkoušek

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-methanolického extraktu) a oleje naředěného ethanolem v pozitivním a negativním ionizačním módu. Ve vzorcích (ML 986/20) byl na základě literatury¹⁻³ sledován profil triacylglycerolů, fytosterolů, tokoferolů a fenolických látek. Sloučeniny, které byly ve vzorcích cíleně hledány, byly identifikovány na základě přesné hodnoty m/z jejich molekulového iontu, izotopového profilu a přítomnosti charakteristických fragmentů (MS/MS spektrum). V případě triacylglycerolů a fytosterolů souhlasilo relativní zastoupení analytů s informacemi nalezenými v odborné literatuře. U tokoferolů byly pozorovány menší odchylky, které mohly být způsobené biologickou variabilitou komodity.

V polárním extraktu vzorku ML 986/20 se navíc nachází řada fenolických látek, jako například resveratrol, kvercetin, kaempferol, kumarová kyselina či naringenin, které vykazují antioxidační účinky.



Obrázek 1: Chromatografické záznamy (metabolické 'fingerprinty'). Modrá: MeOH:H₂O extrakt ML 986/20, ESI+; černá: vzorek ML 986/20 naředěný ethanolem, ESI+; červená: MeOH:H₂O extrakt ML 986/20, ESI-; zelená: vzorek ML 986/20 naředěný ethanolem, ESI-.

Interpretace výsledků zkoušek:

Vzorek ML 986/20, který byl deklarován jako hroznový (*Vitis vinifera*) olej, se v rámci vyšetření dat získaných pomocí metabolického 'fingerprintingu' (U-HPLC-HRMS/MS) shodoval s ohledem na biologickou variabilitu komodity v profilu triacylglycerolů, fytosterolů a tokoferolů s údaji nalezenými v odborné literatuře¹⁻³. Navíc olej obsahuje řadu fenolických látek s antioxidačními účinky. Tyto výsledky indikují, že **výrobek s vysokou pravděpodobností odpovídá deklaraci 'hroznový olej'**.

Reference:

1. Crews, C., et al., Quantitation of the Main Constituents of Some Authentic Grape-Seed Oils of Different Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006. 54(17): p. 6261-6265.
2. Pardo, J.E., et al., Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2009. 111(2): p. 188-193.
3. Bail, S., et al., Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 2008. 108(3): p. 1122-1132.