

Příloha k protokolu o zkouškách ML 746/21

Záznamy dokumentující autentikaci vzorku 'oleje z vlašských ořechů' pomocí metabolomického fingerprintingu ('chemické otisky')

Strategie zkoušení

Pro účely potvrzení autenticity vzorku oleje z vlašských ořechů (*Juglans regia* L.) (laboratorní kód ML 746/21) 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 olej z vlašských ořechů. Analýza byla realizována pomocí techniky ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (akreditovaná zkouška KM15, systém (C): U-HPLC-HRMS/MS). Při vyhodnocení získaného záznamu byly zohledněny informace o složení oleje z vlašských ořechů nalezené v odborné literatuře [1-4].

Podmínky zkoušek

Vzorek byl před vlastní analýzou zpracován dvěma způsoby: i) extrahován směsí vody a methanolu s cílem získat polární frakci vzorku ii) naředěn methyl tert-butyl etherem (MTBE) pro přímou analýzu. Složky metabolomu v takto upravených vzorcích byly separovány pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) na koloně s reverzní fází. Detekce jednotlivých sloučenin byla provedena za použití tandemové vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie (HRMS/MS) – instrument TripleTOF 6600, SCIEX. Pro vyhodnocení dat byl použit software PeakView 2.0.

Výsledek zkoušky

V záznamech vzorku (ML 746/21) byl na základě literatury sledován profil triacylglycerolů, fytosterolů a tokoferolů. Sloučeniny, které byly ve vzorcích cíleně hledány, byly identifikovány na základě přesné hodnoty m/z jejich protonizovaného/deprotonizovaného molekulového iontu či jiného aduktu, 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 literatuře [1-4]. Zároveň byly ve vzorku nalezeny fenolické látky charakteristické pro danou komoditu, např. p-hydroxybenzová kyselina, ferulová kyselina a chrysin [4].

Interpretace výsledků zkoušek:

Vzorek ML 746/21, který byl deklarován jako olej z vlašských ořechů, 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 literatuře a zároveň obsahoval fenolické látky charakteristické pro

danou komoditu [1-4]. Tyto výsledky indikují, že **výrobek s vysokou pravděpodobností odpovídá deklaraci 'olej z vlašských ořechů'**.

Reference:

1. G. Uzunova, et al., *Chemical Composition of Walnut Oil From Fruits on Different Years Old Branches*. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 2015. **21**(3): p. 494-497.
2. Gao, P., et al., *Comparative study of chemical compositions and antioxidant capacities of oils obtained from two species of walnut: Juglans regia and Juglans sigillata*. Food Chemistry, 2019. **279**: p. 279-287.
3. Cittadini, M.C., et al., *Evaluation of hazelnut and walnut oil chemical traits from conventional cultivars and native genetic resources in a non-traditional crop environment from Argentina*. European Food Research and Technology, 2020. **246**(4): p. 833-843.
4. Ni, Z.-J., et al., *Exploration of walnut components and their association with health effects*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2021: p. 1-17.

Konec přílohy