INSTITUTE OF MOLECULAR AND TRANSLATIONAL MEDICINE

Faculty of Medicine and Dentistry
Palacký University Olomouc

Metabolické (molekulární) profilování zelených a pražených kávových zrn s využitím LC-MS

Richard Masař[1], Jan Macháň[1], Lukáš Najdekr[1]

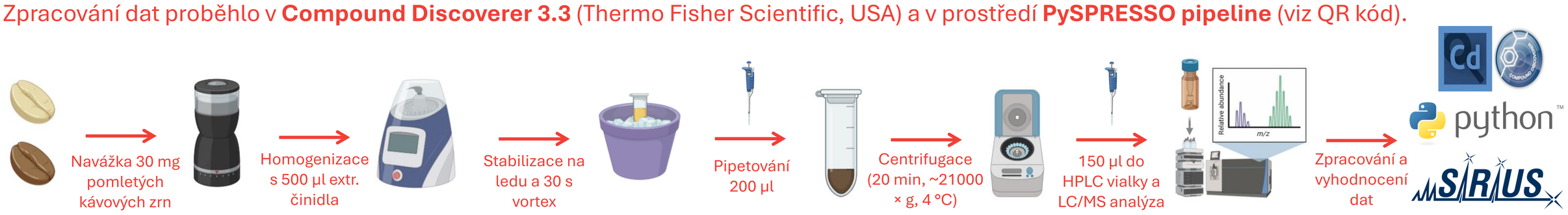
[1] Ústav molekulární a translační medicíny; Hněvotínská 1333/5; Olomouc 779 00; Česká Republika

Úvod

Kávovník (*Coffea*) je důležitou ekonomickou rostlinou v zemích Afriky, Jižní a Střední Ameriky a jihovýchodní Asie. Nejoblíbenější odrůdou je ***Coffea arabica***, která za období říjen 2024 – duben 2025 představovala 63,9 % produkce. Zbylých 36,1 % připadlo na odrůdu ***Coffea canephora***, známou také jako **robusta**. **Káva** je konečný produkt připravený z pražených kávových zrn. Káva patří k jednomu z nejkonzumovanějších nápojů na světě díky příjemné chuti a jedinečným senzorickým vlastnostem. Během sklizně, zpracování po sklizni, pražení či extrakci dochází k produkci nebo rozkladu jednotlivých bioaktivních sloučenin, čímž dochází i k ovlivnění senzorických vlastností. V kávě je tak obsažena **směs sloučenin, jejíž konkrétní profil je závislý na odrůdě kávových zrn, zpracování po sklizni, zrání zrn a následném pražení**. Nejznámějšími bioaktivními sloučeninami v kávě jsou alkaloidy **kofein** a **trigonellin**, dále **fenolické kyseliny**, zejména **kyselina kávová** a další **chlorogenové kyseliny** (estery kyseliny kávové a chinové).

Metody

- **16 pražených kávových zrn + 6 nepražených (zelených) kávových zrn + 1 espresso analyzováno pomocí HILIC** (Accucore 150 mm × 2,1 mm, 2,6 µm) + **Orbitrap Elite** (Thermo Fisher Scientific, USA).
- Zpracování dat proběhlo v **Compound Discoverer 3.3** (Thermo Fisher Scientific, USA) a v prostředí **PySPRESSO pipeline** (viz QR kód).

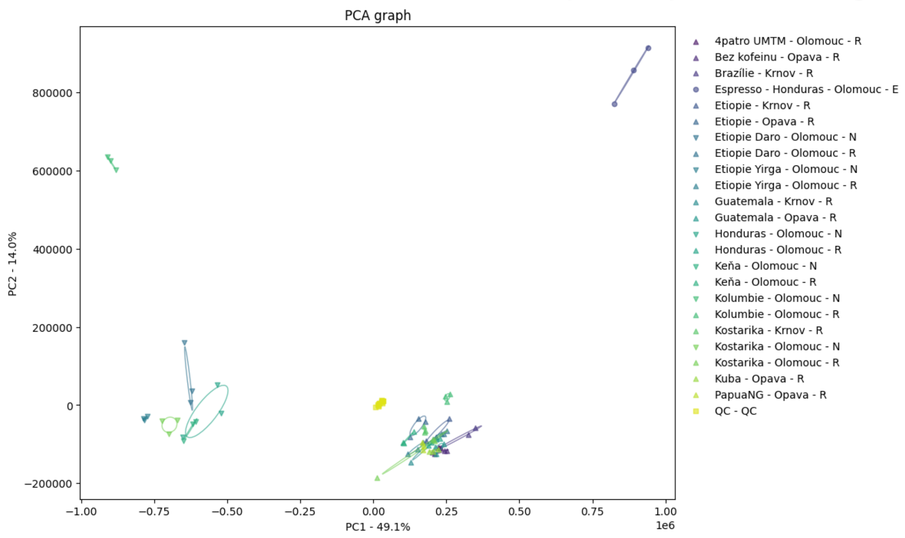


Výsledky

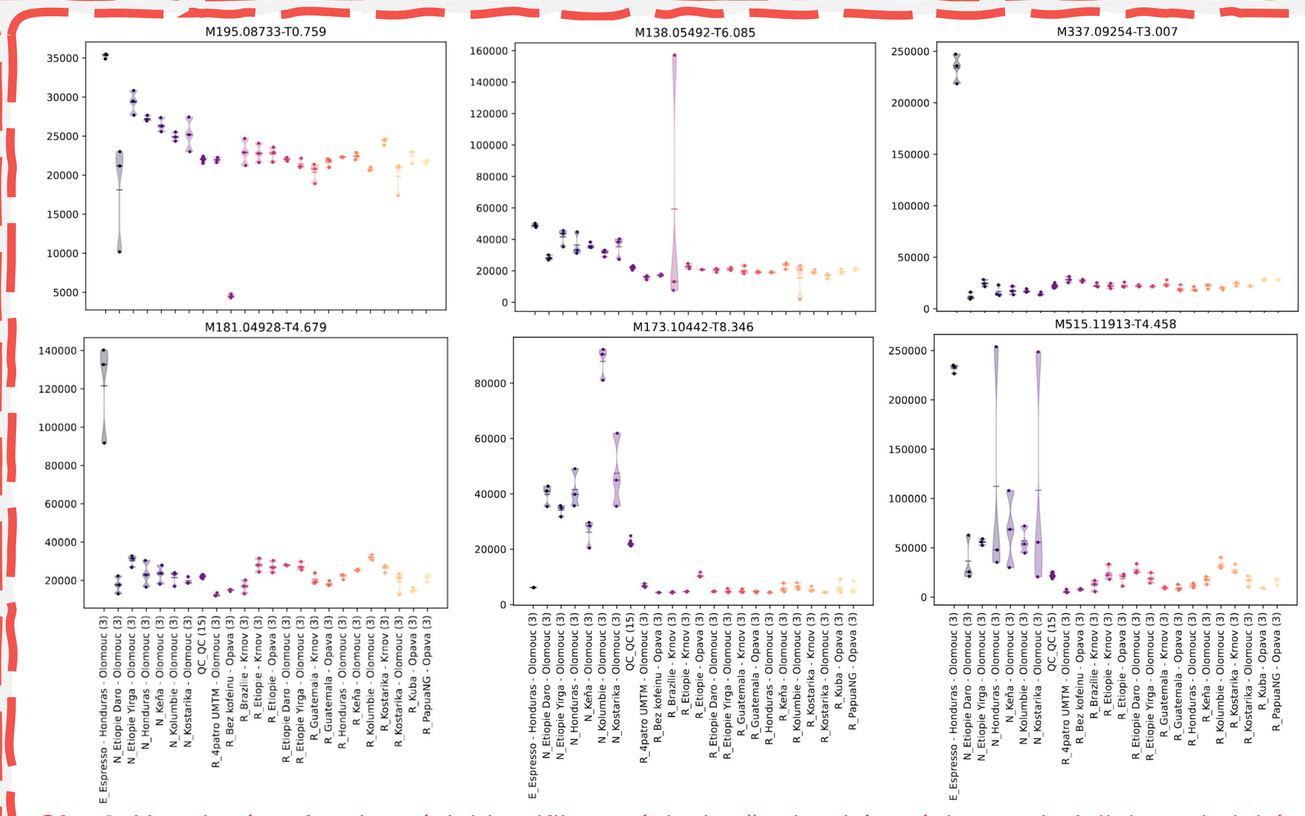
- **Anotace 1 977 v pozitivním** (POS), resp. **1 774 signálů** (definovaných *m/z* a RT) **v negativním módu** (NEG).
- Pomocí PCA (Obr. 1) byly skupiny vzorků odděleny od sebe (**PC1 + PC2 = ~ 63 %**)
- **Identifikace 37 diskriminujících sloučenin v POS a 39 v NEG.**
- **Relativní koncentrace jednotlivých metabolitů byly zobrazeny v houslových grafech** (Obr. 2).
- **Vulkanové grafy** znázorňující POS a NEG (Obr. 3) **shrnují rozdíly v abundanci anotovaných sloučenin mezi skupinami vzorků.**
- **Tab. 1:** Statistická specifikace základních sloučenin (Obr. 2) vyskytujících se v kávových zrnech.

Identifikátor	Identifikovaná sloučenina	log_2 fold change	p-hodnota
M195.08733-T0.759	Kofein	0,271	$9,41 \times 10^{-4}$
M138.05492-T6.085	Trigonelin	0,665	$1,13 \times 10^{-2}$
M181.04928-T4.679	Kyselina kávová	VIP skóre = 2,059	
M353.08757-T5.491	Kyselina chlorogenová	0,507	$1,21 \times 10^{-3}$
M147.02210-T6.351	Kyselina *p*-kumarová	3,104	$3,42 \times 10^{-18}$
M84.08064-T5.944	1-methylpyrrolinium	3,057	$3,32 \times 10^{-12}$
M173.10442-T8.346	L-arginin	3,047	$1,06 \times 10^{-19}$
M337.09254-T3.007	Kyselina p-kumaroylchinová	VIP skóre = 1,804	
*M515.11913-T4.458	*Kyselina 4,5-dikafeoylchinová	2,129	$4,46 \times 10^{-7}$

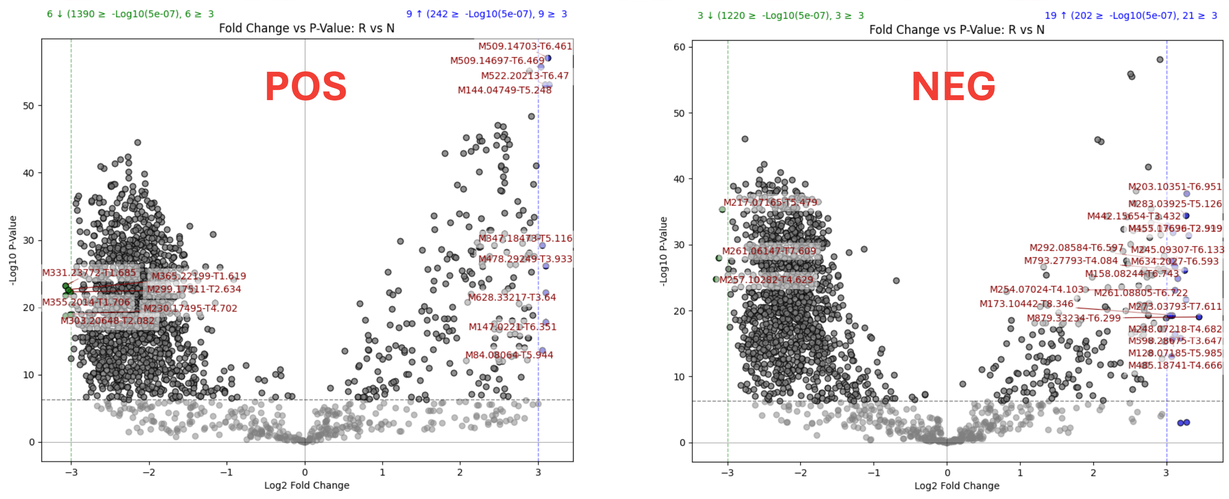
*Významný z PCA loadings



Obr. 1: Analýza hlavních komponent všech anotovaných sloučenin na základě typu a odrůdy kávových zrn, včetně vzorku espressa v pozitivním ionizačním módu.



Obr. 2: Houslové grafy vybraných identifikovaných sloučenin v kávových zrnech. Jejich statistická charakterizace je zobrazena v Tab. 1.



Obr. 3: Vulkánové grafy v POS a NEG. Mezní hodnoty: **Log_2 FC = 3 a p-hodnota = 5×10^{-7}.**

Závěr

Necíleným metabolomickým přístupem s využitím **HILIC/HRMS** a pomocí statistické analýzy se podařilo detailně charakterizovat molekulární profily kávových zrn a připraveného vzorku espressa. V rámci obou ionizačních módů **bylo anotováno více než 3 000 sloučenin**, přičemž **aminokyseliny, sacharidy, fenolické kyseliny** nebo **Maillardovy produkty** patří k **nejvíce diskriminujícím sloučeninám mezi praženými a zelenými zrny**. Konkrétně mezi známými sloučeninami, které nejvíce přispívají k separaci skupin vzorků, patří **kyselina kávová**, **kyselina *p*-kumarová, L-arginin** či **kyselina 4,5-dikafeoylchinová**. Zvolená strategie se osvědčila jako vhodný nástroj pro pokrytí širokého spektra sloučenin přítomných jak v kávových zrnech, tak i ve finálním kávovém nápoji.

Metabolomics Core Facility

Ústav molekulární a translační medicíny LF UPOL

richard.masar01@upol.cz

lukas.najdekr@upol.cz

Tato práce byla podpořena z projektů juniorského grantu **JG_2024_026** a interního grantu lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci **IGA LF_2025_006**

GitHub úložiště