



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΜΣ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Εργαστήριο Βιοχημείας – Χημείας – Φυσικοχημείας Τροφίμων

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Λειτουργικές Ιδιότητες του Καφέ

ΚΑΛΑΜΑΡΙΔΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

A.M.: 20954

Τριμελής επιτροπή:

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Καλογερόπουλος Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής
ΜΕΛΗ: Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής
Καλιώρα Ανδριάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια

Αθήνα 2015

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	1
Abstract	3
Ευχαριστίες	4
Συντμήσεις	5
Κεφάλαιο 1 ^ο	
1.1 Ιστορία Καφέ	8
1.1.1 Εισαγωγή	
1.1.2 Προέλευση του Καφέ	10
1.1.3 Περιγραφή και Στοιχεία Καλλιέργειας	11
1.1.4 Παραγωγή & Παρασκευή Καφέ	13
1.1.5 Χημική Σύσταση του Καφέ	16
1.1.6. Επίδραση του Καφέ στην Υγεία	17
Κεφάλαιο 2 ^ο	
2.1 Προετοιμασία Δειγμάτων	29
2.1.1 Διαδικασία παραγωγής αφυδατωμένου καφέ	30
2.2 Προσδιορισμός πολυφαινολών	31
2.2.1 Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu	
2.3 Αντιοξειδωτικές δοκιμές	32
2.3.1 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινύλο-2-πικρυλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH•)	
2.4 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός απλών πολυφαινολών	34

2.5 Προσδιορισμός απλών πολυφαινολών με αέρια χρωματογραφία/ φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)	34
2.6 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων και στερολών σε ροφήματα καφέ	37
2.7 Παρασκευή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων	38
2.8 Παρασκευή τριμεθυλσυλilαιθέρων των φυτοστερολών	38
2.9 Προσδιορισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων με GC /FID	39
2.9.1 Προσδιορισμός φυτοστερολών με GC / MS	39
Κεφάλαιο 3 ^ο	
3.1 Λυοφιλίωση ροφημάτων καφέ	42
3.2 Προσδιορισμός πολυφαινολών (μέθοδος Folin- Ciocalteu)	43
3.3 Αντιοξειδωτικές μετρήσεις(Πίνακας.3.2 και 3.4 Αντιοξειδωτικές δοκιμές)	43
3.4 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός απλών πολυφαινολών (Πίνακας 3.4)	44
3.5 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων και στερολών σε ροφήματα καφέ (Πίνακας 3.5 και 3.6 Φυτοστερόλες)	46
Κεφάλαιο 4 ^ο	
4.1 Συζήτηση – Συμπέρασμα	50
Βιβλιογραφία	51

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καφές είναι ένα παγκόσμια διαδεδομένο ρόφημα, το οποίο παράγεται από καβουρδισμένα ή αλεσμένα σπέρματα καφεόδεντρου. Υπολογίζεται ότι η διαδικασία προετοιμασίας του ροφήματος επαναλαμβάνεται πάνω από 400 δισεκατομμύριες φορές τον χρόνο.

Η αναζωογονητική του δράση είναι ευρέως γνωστή, και οφείλεται κατά μεγάλο ποσοστό στην καφεΐνη. Ο καφές φημίζεται για τα ευεργετικά του οφέλη στην υγεία, εξ αιτίας των αντιοξειδωτικών του δράσεων που οφείλονται στην υψηλή περιεκτικότητα καφεΐνης, και πολυφαινολών, κυρίως χλωρογενικού οξέος. Στόχος αυτής της μελέτης είναι ο προσδιορισμός των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων και μερικών βιοδραστικών συστατικών –φυτοστερόλες, λιπαρά οξέα και φαινολικά συστατικά- σε αφεψήματα καφέ από τρεις διαδικασίες παρασκευής, (α) Ελληνικός που καταναλώνεται αργά ή γρήγορα (αργός & γρήγορος), (β) Γαλλικός (φίλτρου) και (γ) Στιγμιαίος καφές.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα δείγματα καφέ έχουν αντιοξειδωτική δράση και περιέχουν φαινολικά συστατικά και φυτοστερόλες σε συγκεντρώσεις μειούμενες κατά σειρά ελληνικός> γαλλικός > φίλτρου. Ως εκ τούτου αποτελεί ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό ρόφημα, το οποίο όταν καταναλώνεται με σύνεση, μπορεί να συμβάλει θετικά στην πρόληψη σοβαρών νοσημάτων.



ABSTRACT

Coffee is a globally popular drink, produced from roasted or ground coffee plant seeds. It is estimated that the beverage preparation process is repeated over 400 billion times a year.

The rejuvenating action is widely known, and due in large part to caffeine. The coffee is known for its beneficial health benefits, owing to the antioxidant action due to the high content of caffeine and polyphenols, particularly chlorogenic acid. The objective of this study is to determine the antioxidant properties and some bioactive ingredients -phytosterols, fatty acids and phenolic components; a coffee beverage by three preparation processes (a) Greek consumed sooner or later (slow and fast), (b) French (Filter) and (c) Instant coffee.

The results showed that all coffee samples have antioxidant and contain phenolic compounds and phytosterols at concentrations decreasing in order of Greek > French > filter. Therefore an important antioxidant drink, which when consumed wisely, can contribute positively to the prevention of serious diseases.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Νίκο Καλογερόπουλο για την υποστήριξη του και την καθοδήγηση του καθ' όλη την διάρκεια της συνεργασίας μας κατά το ακαδημαϊκό έτος 2012-2013.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια διδάκτορα Δήμητρα Κογιάννου η οποία με βοήθησε με την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας και ήταν πάντα πρόθυμη να με βοηθήσει με οτιδήποτε χρειαζόμουν.

Επιπλέον, ένα μεγάλο ευχαριστώ στα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου που ήταν πάντα στην διάθεσή μου, όποτε τους χρειάστηκα.

Πάνω απ όλα είμαι ευγνώμων στους γονείς μου Ηλία και Ελένη Καλαμαρίδη και τον αδερφό μου Αντώνη, για την αγάπη τους και την υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια, στηρίζοντας τις επιλογές μου. Αφιερώνω την πτυχιακή εργασία στην οικογένειά μου.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

GC- MS	Gas Chromatography- Mass Spectrometry
CHD	CoronaryHeartDisease
LDL	LowDensityLipoprotein
AD	Alzheimer Disease
PD	Parkinson Disease
DCM	Διχλωρομεθάνιο

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο: ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Η Ιστορία του Καφέ

1.1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα από τα πιο διαδεδομένα ροφήματα παγκοσμίως είναι ο καφές. Η γεύση, το άρωμα και η τόνωση που προκαλεί, έχουν καταστήσει την κατανάλωση καφέ σε μια σημαντική συνήθεια στην καθημερινότητα του ανθρώπου.

Η κατανάλωση καφέ σύμφωνα με στατιστικά δεδομένα του 2009, δείχνει την Φινλανδία να έρχεται πρώτη σε κατανάλωση με 12kg/έτος. Η Ελλάδα βρίσκεται στην 16^η θέση με 5,5kg/έτος.

Διάγραμμα 1. Κατανάλωση καφέ σε kg

Θέση	Χώρα	Κατανάλωση (kg/έτος)
1	 Φινλανδία	12,0 kg
2	 Νορβηγία	9,9 kg
3	 Ισλανδία	9,0 kg
4	 Δανία	8,7 kg
5	 Ολλανδία	8,4 kg
6	 Σουηδία	8,2 kg
7	 Ελβετία	7,9 kg
8	 Βέλγιο	6,8 kg
9	 Καναδάς	6,5 kg
10	 Γερμανία	6,4 kg
11	 Βοσνία-Ερζεγοβίνη	6,2 kg

Θέση	Χώρα	Κατανάλωση (kg/έτος)
12	 Αυστρία	6,1 kg
13	 Ιταλία	5,9 kg
14	 Σλοβενία	5,8 kg
15	 Βραζιλία	5,8 kg
16	 Ελλάδα	5,5 kg
17	 Γαλλία	5,4 kg
18	 Κροατία	5,1 kg
19	 Κύπρος	4,9 kg
20	 Λίβανος	4,8 kg

Πηγή: International Coffee Organization (1)

1.1.2 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΟΥ ΚΑΦΕ

Ο καφές είναι διαδεδομένος και είχε μεγάλη απήχηση από τα παλαιά χρόνια. Η καλλιέργεια και η κατανάλωσή του χρονολογείται από τον 15^ο αιώνα και η ιστορία του ξεκινάει από την Αιθιοπία. Υπεύθυνοι για την διάδοσή του ήταν σκλάβοι Σουδανικής καταγωγής, οι οποίοι κατά την μεταφορά τους στην Υεμένη και την Αραβία συνήθιζαν να μασάνε κόκκους καφέ. Τα πρώτα καφεκοπτεία εμφανίστηκαν στην Υεμένη και γρήγορα εξαπλώθηκαν σε ολόκληρη την Αραβία αποτελώντας τόπο συνεύρεσης καθώς εκεί πραγματοποιούνταν χοροί, γιορτές, αγώνες σκακιού αλλά και πολιτικές διαμάχες μεταξύ των πολιτών. Αυτός ήταν και ο κύριος λόγος που οι πολιτικές αρχές επέβαλαν ειδική φορολογία στην πώληση του καφέ, ώστε να σταματήσουν τέτοιου είδους συναντήσεις. Μέχρι τον 15^ο αιώνα ο καφές είχε διαδοθεί στην Περσία, Αίγυπτο, Συρία και Τουρκία (2). Με χιλιάδες προσκυνητές να επισκέπτονται την Μέκκα απ' όλο τον κόσμο, το *‘Κρασί των Αράβων’* όπως λεγόταν, άρχισε να διαδίδεται και εκτός της Αραβίας, με αποτέλεσμα οι Άραβες να προσπαθούν να περιορίσουν την εξαγωγή στον υπόλοιπο κόσμο, αλλά οι Ολλανδοί αποικιοκράτορες επεκράτησαν. Το 1612μ.Χ. οι Ολλανδοί αποικιοκράτες μετέφεραν φυτά καφέ στην Ινδία, την Ινδονησία και την Αμερικανική ήπειρο (3).

Ένα από τα λάφυρα των Πολωνών, Αυστριακών και Γερμανών μετά την νίκη τους στη Βιέννη το 1683 ήταν τα πολλά σακιά με καφέ που άφησε ο ηττημένος οθωμανικός στρατός. Η νίκη αυτή ήταν η αφορμή για τη διάδοση του καφέ στην Αυστρία, Πολωνία και Γερμανία καθώς τότε καθιερώθηκε και η προσθήκη ζάχαρης και γάλακτος στον καφέ (4).

Το 1706 οι Ολλανδοί μετέφεραν ένα δενδρύλλιο που είχαν στην Ιάβα στους Βοτανικούς κήπους του Άμστερνταμ, όπου το δένδρο ευδοκίμησε. Στη συνέχεια οι απόγονοι του στάλθηκαν στις αποικίες στο Σουρινάμ και στην Καραϊβική. Το 1714 ο δήμαρχος του Άμστερνταμ δώρισε ένα φυτό στον Βασιλιά Λουδοβίκο ΙΔ΄ της Γαλλίας, το οποίο το φύτεψε στο βασιλικό κήπο του Παρισιού. Ο αξιωματικός του Γαλλικού πολεμικού ναυτικού Γκαμπριέλ Ματιέ ντε Κλιέ, ανέλαβε προσωπικά να μεταφέρει ένα δένδρο στο κτήμα του στη Μαρτινίκα κατά την επιστροφή του το 1723 από την Γαλλία στην Καραϊβική. Κατά τη διάρκεια του ταξιδιού, ο αξιωματικός αντιμετώπισε πολλές δυσκολίες ώστε να καταφέρει να κρατήσει ζωντανό το φυτό μέχρι την επιστροφή του στο νησί (4). Η πρώτη σοδειά ήταν έτοιμη το 1726 και μέσα σε 50 χρόνια είχαν αναπτυχθεί περίπου 18 εκατομμύρια δενδρύλλια καφέ στην Μαρτινίκα (2).

Ο καφές στην Ελλάδα εμφανίστηκε κατά τη διάρκεια της Τουρκοκρατίας. Η Ελλάδα σαν τμήμα της Οθωμανικής Αυτοκρατορίας δοκιμάζει τον καφέ πριν από την υπόλοιπη Ευρώπη. Στην

Θεσσαλονίκη το 17^ο αιώνα υπάρχουν περίπου 300 καφεκοπτεία / καφεενία, όπου σύχναζαν Έλληνες και Τούρκοι (5).

1.1.3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Υπάρχουν δύο βασικά είδη καφέ που καλλιεργούνται παγκοσμίως: ο Αράμπικα (*Coffea Arabica*) και ο Ρομπούστα (*Coffea Robusta*)

Λόγω της διαφορετικής γεύσης των 2 ποικιλιών ο *Arabica* αποτελεί το 2/3 της παγκόσμιας παραγωγής καφέ και ο *Robusta* το 1/3 αντίστοιχα. Ο *Robusta* διαφέρει σημαντικά στην συγκέντρωση της καφεΐνης, που είναι κατά 30-40% υψηλότερη.



Εικόνα 1. Coffea Arabica



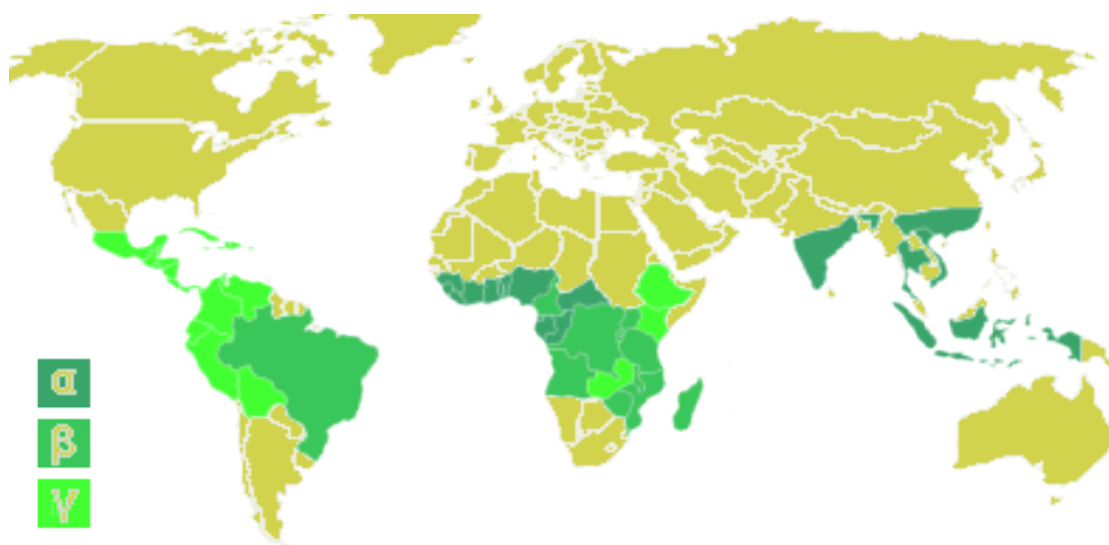
Εικόνα 2. Coffea Robusta

Επιστήμονες μελέτησαν για πρώτη φορά το 1737 το γένος *Arabica* (7). Από τις πρώτες και πιο γνωστές ποικιλίες του είναι η *Typico* και η *Bourbon* (από τα νησιά Bourbon) (8). Είναι ένας θάμνος- δέντρο με ύψος 2,5 – 4,5 m και έχει ωοειδείς καρπούς με άσπρα άνθη τα οποία μυρίζουν και μοιάζουν με γιασεμί. Όταν το δέντρο ωριμάσει, σε χρονικό διάστημα 7 έως 9 μηνών, οι καρποί του μοιάζουν με κόκκινα σταφύλια. Οι καρποί του φυτού είναι αρκετά ευάλωτοι σε ασθένειες λόγω τις συγκριτικά χαμηλής ποσότητας καφεΐνης που διαθέτει, 1% (9). Ο συγκεκριμένος τύπος καφέ μπορεί να αναπτυχθεί σε υποτροπικές περιοχές με υψόμετρο 549 – 1098m με πολλές βροχοπτώσεις και περιόδους ξηρασίας όπως Μεξικό, Τζαμάικα, Βραζιλία, Ζιμπάμπουε αλλά και σε περιοχές με υψόμετρο 1098 – 1921m, όπως Κένυα, Κολομβία, Αιθιοπία οι οποίες βρίσκονται στον Ισημερινό και οι συνεχείς βροχοπτώσεις προκαλούν αύξηση της καλλιέργειας (10).

Το γένος καφέ *Canephora* λέγεται και *Robusta* (εύρωστος) εξ αιτίας της δύναμης που έχει ο κορμός του (6). Μοιάζει πιο πολύ με θάμνο με ύψος 4,5 – 6,5m (11). Οι καρποί του φυτού έχουν

πιο στρογγυλό σχήμα, αλλά είναι μικρότεροι από αυτούς του *Arabica* ενώ μπορούν να ωριμάσουν σε χρονικό διάστημα 11 μηνών. Η ποικιλία αυτή είναι ανθεκτικότερη στις ασθένειες καθώς περιέχει σχεδόν διπλάσια ποσότητα καφεΐνης (η καφεΐνη μπορεί να παραλύσει και να σκοτώσει ορισμένα από τα έντομα που απειλούν το δέντρο). Ο *Robusta* αναπτύσσεται σε χαμηλότερο υψόμετρο, περίπου 915m, έχοντας γεωγραφικό πλάτος 10° βόρεια και νότια του Ισημερινού. Είναι αρκετά ανθεκτικός σε θερμότερα κλίματα από τον *Arabica*, όπως νοτιοανατολική Ασία, Αφρική και περιοχές της Βραζιλίας (10).

Εικόνα 3. Παγκόσμιος χάρτης καλλιέργειας καφέ.



α = καλλιέργεια *coffee Canephora (Robusta)*

β = καλλιέργεια *coffee Canephora (Robusta)* και *coffea Arabica*

γ = καλλιέργεια *coffea Arabica*

Πηγή: [Wikipedia.org/carte Coffea robusta arabica](http://Wikipedia.org/carte_Coffea_robusta_arabica)

Μετά από ένα χρονικό διάστημα 3 – 4 χρόνων από τη φύτευση οι καρποί αποκτούν ένα λαμπερό βαθυκόκκινο χρώμα, το οποίο σημαίνει ότι μπορεί να ξεκινήσει η συγκομιδή. Στις περισσότερες χώρες η συγκομιδή γίνεται με τα χέρια λόγω των ορεινών εδαφών και των ιδιαίτερων μορφολογικών χαρακτηριστικών των περιοχών καλλιέργειας όπου είναι αδύνατη η μηχανοποίηση της συγκομιδής. Όμως στη Βραζιλία, όπου οι περιοχές καλλιέργειας είναι σχετικά επίπεδες, η συγκομιδή γίνεται τόσο με την βοήθεια των μηχανημάτων όσο και χειρωνακτικά (11).

Η παγκόσμια παραγωγή το 2009 ήταν 7.358.897 τόνοι, και ήταν αυξανόμενη παρά την οικονομική ύφεση. Έτσι, το 2008-2009 η παραγωγή ήταν περίπου 130 εκατομμύρια σάκοι (1

σάκος = 60 κιλά) καφέ σε σύγκριση με την παραγωγή 127,2 εκατομμυρίων σάκων την περίοδο 2007-2008. (ICO 2009)(12).

1.1.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ & ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΚΑΦΕ

Αμέσως μετά την συγκομιδή του καφέ πρέπει να ξεκινήσει η επεξεργασία όσο το δυνατόν πιο γρήγορα για να αποφευχθεί η φθορά. Ανεξάρτητα την τοποθεσία και τις τοπικές πηγές, ο καφές επεξεργάζεται σε 1- 2 μέρες. Η βασική επεξεργασία χωρίζεται σε 2 μεθόδους, την υγρή και την ξηρά μέθοδο.

Στην υγρή μέθοδο, ο καρπός συλλέγεται πριν ξεραθεί. Απαιτείται η χρήση εξοπλισμού καθώς και μεγάλες ποσότητες νερού. Οι καρποί βυθίζονται σε νερό οπότε οι χαλασμένοι καρποί επιπλέουν στην επιφάνεια του νερού ενώ οι καλοί καταβυθίζονται. Μετά τον διαχωρισμό, οι σπόροι μεταφέρονται σε μεγάλες, γεμάτες με νερό δεξαμενές ζύμωσης. Ανάλογα με τις συνθήκες, όπως κατάσταση σπόρου, καιρικές συνθήκες και υψόμετρο, παραμένουν στις δεξαμενές για 12 – 48 ώρες. Ο σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι να αφαιρεθεί η βλέννα (παρέγχυμα) από το περίβλημα του σπόρου με τη χρήση φυσικών ενζύμων. Όταν η ζύμωση ολοκληρωθεί οι σπόροι έχουν μια τραχιά επιφάνεια. Στη συνέχεια οι σπόροι μεταφέρονται σε αντίστοιχες δεξαμενές με νερό για να ξεπλυθούν και να ετοιμαστούν για ξήρανση (13).

Η ξηρή μέθοδος είναι από τις πιο απλές και παλιές μεθόδους ξήρανσης. Αρχικά, μετά την συγκομιδή, ο σπόρος καθαρίζεται από βρωμιές και χώματα, απομακρύνοντας έτσι και τους χαλασμένους σπόρους. Στη συνέχεια τοποθετούνται σε μεγάλες εξωτερικές επιφάνειες για να αποξηραθούν με την έκθεση τους στον ήλιο. Η διαδικασία της ξήρανσης μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 4 εβδομάδες μέχρι ο σπόρος να αφυδατωθεί σε ποσοστό 12,5 % ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες (13). Η μέθοδος ξήρανσης έχει μεγάλη σημασία για την ποιότητα του καφέ, καθώς σπόροι οι οποίοι έχουν υποστεί υπέρμετρη ξήρανση γίνονται εύθραυστοι και καταστρέφονται εύκολα κατά τη διάρκεια του ξεφλουδίσματος, ενώ αν οι σπόροι δεν υποστούν επαρκή ξήρανση θα είναι ευάλωτοι σε βακτήρια και μύκητες. Με την ξηρή μέθοδο παράγεται το 90% του *Arabica* και όλη η ποσότητα του *Robusta* στην Βραζιλία (14).

Οι πράσινοι κόκκοι καφέ, προκύπτουν από τη διαδικασία της ξήρανσης. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του –άρωμα, γεύση, υφή, χρώμα- σχηματίζονται κατά την διαδικασία του ψήσιματος των κόκκων καφέ (15). Αυτή η διαδικασία πραγματοποιείται μέσα σε οριζόντια περιστρεφόμενα τύμπανα όπου ο καφές θερμαίνεται στους 180 – 250°C για 15 λεπτά. Όσο πιο υψηλή η θερμότητα τόσο πιο σκούρος, αρωματικός και γευστικός είναι ο καφές.

Για την απομάκρυνση του καφέ από τους πράσινους κόκκους του καφέ έχουν αναπτυχθεί διάφοροι μέθοδοι. Η διαδικασία πραγματοποιείται στο μη καβουρδισμένο (πράσινο) κόκκο και ξεκινάει με κατεργασία των κόκκων με ατμό και συνεχίζεται με το πλύσιμο των καρπών με ένα διαλύτη (οξικό αιθυλεστέρα ή διχλωρομεθάνιο – DCM ή διοξείδιο του άνθρακα) το οποίο βοηθάει στην γρηγορότερη απομάκρυνση της καφεΐνης. Όλη αυτή η διαδικασία πρέπει να επαναληφτεί 8 – 12 φορές ώστε η καφεΐνη να ικανοποιεί το διεθνές πρότυπο (97% απομάκρυνσης) ή τα πρότυπα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (99,9%) (16).

Τα είδη των ροφημάτων καφέ ποικίλουν καθώς μπορούν να παρασκευαστούν με διάφορους τρόπους.

- Ελληνικός καφές ή τούρκικος καφές (τουρκικά: *Türk kahvesi*) είναι είδος καφέ που παρασκευάζεται με ψήσιμο, σε μπρίκι, αλεσμένων σε λεπτή σκόνη καβουρντισμένων κόκκων καφέ και ο οποίος πίνεται περισσότερο από κάθε άλλο είδος καφέ σε πολλές περιοχές της ανατολικής Μεσογείου, της Μέσης Ανατολής, των Βαλκανίων και της Βόρειας Αφρικής.
- Καφές Φραπέ του οποίου η εφεύρεσή έγινε τυχαία το 1957 από τον Δημήτρη Βακόνδιο στην Θεσσαλονίκη. Τα συστατικά του φραπέ είναι στιγμιαίος καφές, νερό, ζάχαρη και προαιρετικά γάλα και παγάκια. Ο καφές φραπέ χαρακτηρίζεται "σκέτος", "μέτριος" ή "γλυκός" ως προς τις αναλογίες των βασικών συστατικών του. Κατασκευάζεται βάζοντας την επιθυμητή αναλογία καφέ και ζάχαρης σε ένα ψηλό ποτήρι ή σε σέικερ.
- Στιγμιαίος καφές σε σκόνη, είναι το προϊόν του καφέ το οποίο με λίγο ζεστό νερό διαλύεται τέλεια απελευθερώνοντας και όλο το άρωμα που περικλείει. Η εφαρμογή της λυοφιλίωσης (lyophilisation) για την παρασκευή της σκόνης στιγμιαίου καφέ συνετέλεσε στην βελτίωση της ποιότητας.
- Καφές φίλτρου ή «γαλλικός καφές».
- Καφές εσπρέσσο και τα επιμέρους είδη του εσπρέσσο λούνγκο, εσπρέσσο μακκιάτο, εσπρέσσο νορμάλε και εσπρέσσο φρέντο.

- Καφές καπουτσίνο και τα επιμέρους είδη του: καπουτσίνο κάραμελ κα καπουτσίνο λάττε.
- Καφές κοζίτο και τα επιμέρους είδη του: κοζίτο κάραμελ, κοζίτο αμαρέττο και κοζίτο τσόκο.
- Καφές φροζίτο και τα επιμέρους είδη του: φροζίτο εσπρέσο, φροζίτο σπέσιαλ και φροζίτο τσόκο.

1.1.5 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΚΑΦΕ

Ο καφές περιέχει μια μεγάλη ποικιλία χημικών ενώσεων όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λιπίδια. Οι πράσινοι κόκκοι καφέ υφίστανται θερμική κατεργασία που ονομάζεται φρύξη (καβούρδισμα), με την οποία αναπτύσσεται το ευχάριστο άρωμά τους. Φρύξη σε θερμοκρασίες από 100 μέχρι 200C⁰ και παραπάνω προκαλεί εκτεταμένες αλλαγές. Οι κόκκοι αυξάνουν σε όγκο (50-80 %) ενώ αλλάζει η δομή και το χρώμα τους. Το πράσινο αντικαθίσταται από ένα καφέ χρώμα, παρατηρείται μείωση του βάρους 11-20 % και αναπτύσσεται το χαρακτηριστικά άρωμα και η γεύση των κόκκων του καφέ. Το ειδικό βάρος μειώνεται από 1,126-1,272 σε 0,570-0,694, και έτσι οι καβουρδισμένοι κόκκοι του καφέ επιπλέουν στο νερό, ενώ οι πράσινοι καταβυθίζονται. Η φάση της αποικοδόμησης ξεκινά στους 180-200 C⁰, συμβαίνει σκάσιμο του κόκκου λόγω αύξησης του όγκου του, και απελευθέρωση αρώματος του καφέ. Ακολουθεί καραμελοποίηση και πλήρης φρύξη. Οι περισσότεροι πολυσακχαρίτες είναι αδιάλυτοι και κατά το καβούρδισμα ένα μέρος τους αποικοδομείται προς διαλυτά προϊόντα. Η σακχαρόζη αποικοδομείται.

Επίσης υπάρχουν τα διτερπένια καφεστόλη, καβεόλη και 16-O-μεθυλοκαφεστόλη. Η τελευταία είναι δείκτης του καφέ *Robusta* (υπάρχει μόνο σε αυτόν).

Τα χλωρογενικά οξέα είναι τα πιο διαδομένα οξέα του καφέ καθώς επίσης και οι πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούν μια μεγάλη κατηγορία αντιοξειδωτικών. Η σύνθεση των χλωρογενικών οξέων πραγματοποιείται μέσω μιας αντίδρασης εστεροποίησης *trans*-κινναμικών οξέων με ένα από τα υδροξύλια του κινικού οξέος. Η περιεκτικότητά τους μειώνεται με το καβούρδισμα.

Από τις αζωτούχες ενώσεις, η πιο γνωστή είναι η καφεΐνη (1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη), που έχει ελαφρώς πικρή γεύση. Η περιεκτικότητα σε καφεΐνη του ακατέργαστου καφέ *Arabica* είναι 0,9-1,4 % και του *Robusta* 1,5-2,6 %. Όμως, υπάρχουν ποικιλίες καφέ χωρίς καφεΐνη. Το επίπεδο

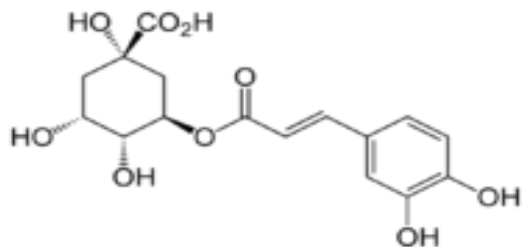
της καφεΐνης στους κόκκους μειώνεται μόνο ελάχιστα κατά το καβούρδισμα. Άλλο αλκαλοειδές της πουρίνης είναι η θεοβρωμίνη, που βρίσκεται σε επίπεδα 36-40mg/kg στον καφέ *Arabica* και 26-82mg/kg στον *Robusta*. Επίσης, η θεοφυλλίνη, σε επίπεδα 7-23 μg/kg στον *Arabica* και 86-344 μg/kg στον *Robusta*. Η τριγονελλίνη (N-μεθυλονικοτινικό οξύ) στον πράσινο καφέ βρίσκεται μέχρι 0,6 %, και κατά το καβούρδισμα αποικοδομείται περίπου το 50%, δίνοντας διάφορα προϊόντα αποικοδόμησής, μεταξύ των οποίων και το νικοτινικό οξύ.

Όπως σε όλα τα φυτά, το κάλιο κυριαρχεί στην τέφρα του καφέ, ακολουθούμενο από το ασβέστιο και το μαγνήσιο, και από τα ανιόντα ο φωσφόρος και το θείο. Στο διαλυτό κλάσμα του καβουρδισμένου καφέ υπάρχουν μελανοΐδινες (μεγαλομοριακές ενώσεις με σκούρο καφέ χρώμα), που προέρχονται από αντιδράσεις Maillard ή από την καραμελοποίηση. Στην πικρή γεύση του καβουρδισμένου καφέ συμβάλλουν και προϊόντα θερμικής υδρόλυσης υδατανθράκων και πρωτεϊνών. Το άρωμα του καβουρδισμένου καφέ έχει πολύπλοκη σύσταση. Στο άρωμα συνεισφέρουν πολλές ενώσεις.

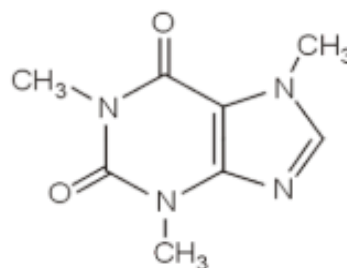
Επίσης, η γεύση του καφέ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το pH του αφεψηήματος που παρασκευάζεται. Καφέδες διαφορετικής προέλευσης δίνουν εκχυλίσματα με διαφορετικό pH,

όπως
περιοχή
pH 5,2
γεύση.

στην
4,9-5,2. Σε
έχει πικρή



Εικόνα 4. Απεικόνιση χλωρογενικού οξέος



Εικόνα 5. Απεικόνιση καφεΐνης

1.1.6. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΚΑΦΕ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Πολλοί πολιτισμοί έχουν σε πολύ υψηλή εκτίμηση τα καφεϊνούχα τρόφιμα και ποτά. Η καφεΐνη είναι ένα από τα καλύτερα μελετημένα συστατικά των τροφίμων και πολλές μελέτες έχουν καταδείξει τη θετική επίπτωσή της τόσο στην πρόληψη όσο και την αντιμετώπιση σοβαρών κλινικών καταστάσεων όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, η στεφανιαία νόσος, η χολολιθίαση κ.α. Άλλες μελέτες όμως έχουν αναφέρει και αρνητικά αποτελέσματα στον οργανισμό, όπως εμφάνιση υπερλιπιδαιμιών, ρευματοειδούς αρθρίτιδας, νεοπλασιών κ.α. Για τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και των καρδιαγγειακών νοσημάτων, υπάρχουν μερικές αντικρουόμενες μελέτες

Μεταβολισμός Καφεΐνης

Η καφεΐνη είναι ένα φυσικό αλκαλοειδές και είναι το κύριο συστατικό του καφέ. Είναι το πιο κοινό διεγερτικό, το οποίο επίσης προκαλεί εξάρτηση. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο τόσοι πολλοί άνθρωποι αισθάνονται ότι δεν μπορούν να λειτουργήσουν αν δεν καταναλώσουν το πρωί ένα φλιτζάνι καφέ. Η καφεΐνη επηρεάζει την έκκριση αδρεναλίνης και ως εκ τούτου ενεργεί ως διεγερτικό και αυξάνει το επίπεδο της ενέργειας. Ο καφές έχει μεγαλύτερη επίδραση στους ανθρώπους που μεταβολίζουν την καφεΐνη πιο αργά. Ο λόγος για αυτό είναι το γενετικό υλικό, το οποίο καθορίζει την δράση του ενζύμου CYP1A2 και είναι σημαντικό για το μεταβολισμό της καφεΐνης. Το προαναφερθέν ένζυμο δεν λειτουργεί ικανοποιητικά σε μερικούς ανθρώπους, για τους οποίους πρέπει να προσαρμοστεί η ημερήσια δόση του καφέ (18). Ο καφές έχει ισχυρότερη επίδραση στους ανθρώπους που έχουν τουλάχιστον μία παραλλαγή C του γονιδίου CYP1A2, από ό,τι οι άνθρωποι που έχουν δύο αντίγραφα ενός γονιδίου που υπάρχει στη μία παραλλαγή. Έρευνες έχουν δείξει ότι οι άνθρωποι που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες καφέ ενώ μεταβολίζουν την καφεΐνη αργά, είναι πολύ πιο ευαίσθητοι σε επιπλοκές που σχετίζονται με την υψηλή πίεση του αίματος και έχουν αυξημένο κίνδυνο καρδιακής προσβολής. Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα προηγούμενων ερευνών, άτομα τα οποία μεταβολίζουν αργά την καφεΐνη δεν πρέπει να πίνουν περισσότερο από ένα φλιτζάνι καφέ την ημέρα (18).

Η καφεΐνη περνά εύκολα μέσω των μεμβρανών του σώματος, και από την πρώτη γουλιά η καφεΐνη εισέρχεται στο αίμα μέσω του βλεννογόνου του στόματος, του λαιμού και του στομάχου. Χρειάζονται μόνο 45 λεπτά για να απορροφηθεί το 99% της καφεΐνης μέσω αυτών των μεμβρανών. Στους ανθρώπους ο χρόνος ημίσειας ζωής για την καφεΐνη είναι περίπου 4-6 ώρες κατά μέσο όρο, γεγονός που εξηγεί γιατί ο μέσος όρος ενεργειακών ποτών ή το αποτέλεσμα του καφέ διαρκεί περίπου 4-6 ώρες. Η ηλικία, διάφορες παθήσεις και η

αλληλεπίδραση με λαμβανόμενα φάρμακα μπορούν να επηρεάσουν το χρόνο ημιζωής της καφεΐνης.

Μόλις η καφεΐνη εισέλθει στο σώμα, μεταβολίζεται από το ήπαρ προς θεοφυλλίνη, θεοβρωμίνη και παραξανθίνη. Από το ήπαρ, οι μεταβολίτες της καφεΐνης ταξιδεύουν σε όλο το σώμα, επηρεάζοντας διάφορες λειτουργίες.

Η καφεΐνη στον εγκέφαλο

Η καφεΐνη είναι παρόμοια με το μόριο της αδενοσίνης. Έτσι, τα μόρια της καφεΐνης μπορούν να προσδένονται στους υποδοχείς αδενοσίνης σε κύτταρα του εγκεφάλου και να μπλοκάρουν τη σύνδεση της αδενοσίνης. Η αδενοσίνη παίζει ένα ρόλο στον κύκλο ύπνου-εγρήγορσης. Όταν η αδενοσίνη συνδέεται με αρκετούς υποδοχείς, σηματοδοτεί τον εγκέφαλο ότι είναι ώρα για ξεκούραση ή για ύπνο. Η καφεΐνη δεν αντικαθιστά την ανάγκη του ατόμου για τον ύπνο, αλλά την καλύπτει ως υπνηλία, συμπτώματα που η αδενοσίνη δεν μπορεί πλέον να παράγει. Αυτό επίσης αλληλεπιδρά με το σύστημα της ντοπαμίνης στον εγκέφαλο, η οποία είναι νευροδιαβιβαστής. Όταν η αδενοσίνη είναι αποκλεισμένη από την καφεΐνη, το σύστημα της ντοπαμίνης λειτουργεί πιο αποτελεσματικά.

Επιπλέον τα αυξημένα επίπεδα αδενοσίνης στο αίμα προκαλούν τα επινεφρίδια να απελευθερώσουν αδρεναλίνη. Αυτή η ορμόνη διέγερσης προσθέτει περαιτέρω τα αισθήματα της εγρήγορσης και της ενέργειας.

Άλλες επιδράσεις των μεταβολιτών της καφεΐνης

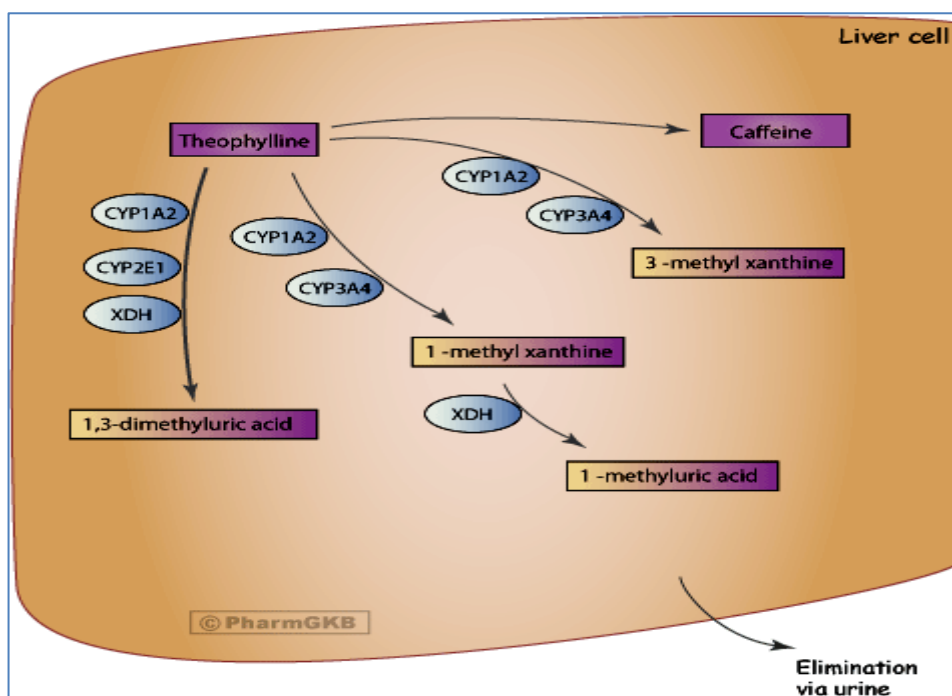
Η θεοφυλλίνη χαλαρώνει τους λείους μύες του παχέος εντέρου και αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο μετά την κατανάλωση καφεΐνης ένα άτομο αισθάνεται συχνά την ανάγκη να χρησιμοποιήσει την τουαλέτα

Η θεοβρωμίνη αυξάνει την ποσότητα οξυγόνου και θρεπτικών ουσιών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τον εγκέφαλο και τους μυς.

Απομάκρυνση της καφεΐνης από το σώμα

Οι μεταβολίτες της καφεΐνης συγκρατούνται από τα νεφρά και απομακρύνονται από το σώμα με τα ούρα. Η καφεΐνη έχει δείχθει ότι έχει διουρητική επίδραση η οποία προκαλεί ουσιαστικά το

σώμα να απελευθερώσει περισσότερο νερό στα ούρα. Ωστόσο, νέες έρευνες δείχνουν ότι αυτό ισχύει μόνο για άτομα που δεν έχουν δημιουργήσει ανοχή στο μόριο της καφεΐνης. Όταν η καφεΐνη απομακρυνθεί από το σώμα ή έχει χρησιμοποιηθεί από τα κύτταρα του σώματος, αυξάνονται τα επίπεδα αδενosίνης καθώς τα επίπεδα ντοπαμίνης καταστέλλονται. Αυτό προκαλεί το αίσθημα της κόπωσης. Η παρατεταμένη χρήση της καφεΐνης προκαλεί επίσης συμπτώματα στέρησης (19).



Εικόνα 6. Μεταβολισμός Καφεΐνης

Πηγή: TheophyllinePathway, Pharmacokinetics

Καρδιαγγειακά Νοσήματα

Η πλειοψηφία των μελετών έχουν δείξει ότι δεν υπάρχει αρνητική επίδραση της κατανάλωσης καφέ/καφεΐνης σε σχέση με την εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων. Δεν υπάρχει καμία συσχέτιση της καφεΐνης με την εμφάνιση αρρυθμιών, κολπικής μαρμαρυγής και καρδιακής μεταβλητότητας, η οποία να δείχνει ότι οι πληθυσμοί που έχουν αυτά τα συμπτώματα πρέπει να απέχουν από την κατανάλωση καφέ.

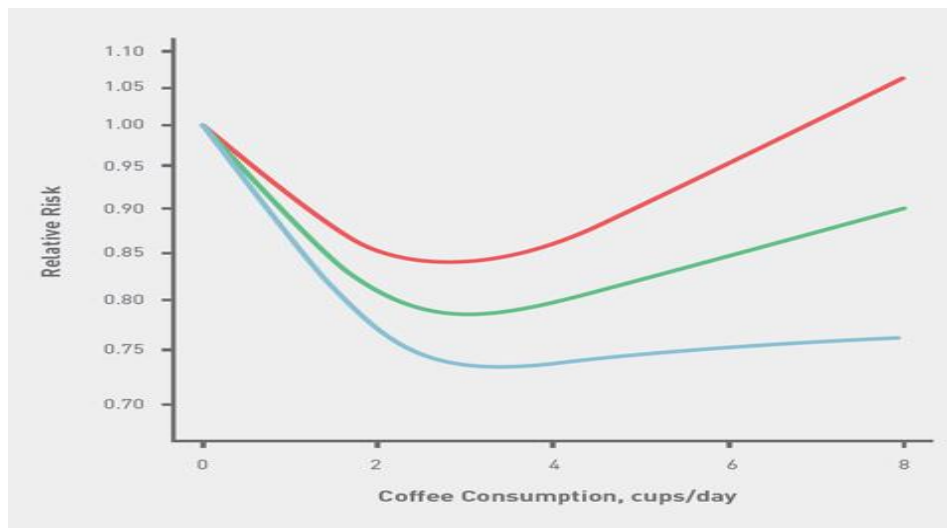
Η μέτρια κατανάλωση καφέ σχετίζεται αντιστρόφως με τον κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας, με τη μεγαλύτερη αρνητική συσχέτιση να έχει παρατηρηθεί για κατανάλωση 4 μερίδων ανά ημέρα.

Ευτυχώς η μακροχρόνια κατανάλωση καφέ δεν σχετίζεται με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, καθώς είναι πιο χαμηλές οι πιθανότητες εμφάνισης στο γυναικείο πληθυσμό. Σημαντική έρευνα έχει επίσης αφιερωθεί στην διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ κατανάλωσης καφέ και βασικών παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, όπως η υπέρταση (υψηλή αρτηριακή πίεση) και τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης.

- Πίεση αίματος (υπέρταση): Η επίδραση του καφέ έχει μικρή επίδραση στην πίεση του αίματος και δε εξαρτάται απόλυτα από την περιεχόμενη καφεΐνη, αλλά σε άλλους παράγοντες οι οποίοι φαίνεται να έχουν αντίθετη επίδραση στην αύξηση πίεσης.
- Χοληστερόλη: Οι μελέτες, κυρίως στις Σκανδιναβικές χώρες, έχουν δείξει ότι ο καφές μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα ολικής και LDL-χοληστερόλης (κακή χοληστερόλη), γνωστών παραγόντων κινδύνου για τις καρδιακές παθήσεις. Αυτή η επίδραση φαίνεται να περιορίζεται στον βρασμένο, όχι φιλτραρισμένο καφέ (ο φιλτραρισμένος, ο διηθημένος ή ο στιγμιαίος καφές δεν αυξάνουν τη χοληστερόλη αίματος) και να μη συνδέεται με την καφεΐνη. Αυτή η επίδραση φαίνεται να προκαλείται από κάποια συστατικά του καφέ, κυρίως διτερπένια, που υπάρχουν σε υψηλότερες ποσότητες σε κάποιες ποικιλίες καφέ, αλλά αφαιρούνται με το φιλτράρισμα. Τα αποτελέσματα στα επίπεδα χοληστερόλης είναι παροδικά και μειώνονται μετά την κατανάλωση.

Στον γενικό πληθυσμό, είναι αποδεκτή η ημερήσια μέτρια κατανάλωση περίπου 400mg καφεΐνης, η οποία ισοδυναμεί με 5 φλιτζάνια καφέ/ημέρα, αν ακολουθείται ένας υγιεινός τρόπος ζωής (20). Χαμηλότερα επίπεδα κατανάλωσης ισχύουν για τις έγκυες γυναίκες, 200mg καφεΐνης/ημέρα (21).

Εικόνα 7. Σχετικός κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε συνάρτηση με την



κατανάλωση καφέ.

Πηγή: (Crippaetal 2014)

Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου II

Επιστημονικά δεδομένα δηλώνουν ότι η μέτρια κατανάλωση καφέ μειώνει στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης σακχαρώδους διαβήτη II (ΣΔ II). Η συσχέτιση αυτή είναι καλά τεκμηριωμένη σε διάφορους πληθυσμούς και δείχνει ότι μια συνεπής δόση οφείλεται στην εμφάνιση χαμηλότερου κινδύνου καθώς η κατανάλωση αυξάνεται. Σε μια 4ετή μελέτη που έγινε τον Ιούλιο του 2014 στο Χάρβαρντ, βρέθηκε ότι κάθε επιπλέον φλιτζάνι καφέ για καταναλώσεις 6 – 8 φλιτζανιών/ημέρα (κανονικά ή ντεκαφεϊνέ) προκαλούσε 11% μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη II. Αντιστρόφως, τα άτομα που μείωσαν τον καφέ τους κάτω από 1 φλιτζάνι καφέ/ημέρα, αύξησαν κατά 17% την πιθανότητα εμφάνισης διαβήτη II. Δεν είναι ξεκάθαρο γιατί ο καφές έχει ένα τέτοιο αντίκτυπο στην ανάπτυξη του σακχαρώδους διαβήτη II. Η καφεΐνη δεν μπορεί να είναι υπεύθυνη, γιατί έχειδειχθεί ότι μπορεί να μειώσει τα επίπεδα γλυκόζης και ινσουλίνης, αφού ανάλογες μελέτες που έγιναν για ντεκαφεϊνέ ροφήματα και τσάι έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα.

Σε μια έρευνα του 2004, βρέθηκε ότι μια δόση καφέ πριν από το γεύμα είχε ως αποτέλεσμα την υψηλή μετατόπιση γλυκόζης αίματος σε άτομα με ΣΔ II και μείωση της ινσουλινοαντίστασης.

Έτσι, ο καφές μπορεί να είναι ευεργετικός για τα άτομα τα οποία δεν παρουσιάζουν ΣΔ II, αλλά ίσως να είναι λίγο επικίνδυνος για τα άτομα με ΣΔ II. Υπάρχουν πολλά και διάφορα συστατικά του καφέ πέραν της καφεΐνης, τα οποία μπορεί να είναι υπεύθυνα για την προστατευτική δράση στην μελέτη του 2014. Επίσης τα άτομα που πίνουν μακροπρόθεσμα καφεϊνούχα ροφήματα μπορεί να εμφανίσουν μια αλλαγή στην ευαισθησία της γλυκόζης και της ινσουλίνης (22).

Άλλες Παθολογικές Καταστάσεις

Πολλές και διάφορες μελέτες έχουν γίνει γύρω από την κατανάλωση καφέ και την επίδραση του σε διάφορες μορφές του καρκίνου.

Τρέχουσα μελέτη υποδηλώνει ότι η κατανάλωση μέτριας ποσότητας καφέ (3 φλιτζάνια/ημέρα) δεν συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Δεν υπάρχει καμία σχέση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του οισοφάγου, στομάχου, παγκρέατος, νεφρού, προστάτη, μαστού, ωοθηκών ή καρκίνων του δέρματος.

Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν επίσης ότι η κατανάλωση καφέ μπορεί να σχετίζεται με ένα μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου της στοματικής κοιλότητας/φάρυγγα, του ήπατος, του ενδομητρίου, του εγκεφάλου, του παχέος εντέρου και του ορθού. Παρ όλα αυτά, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για τη διευκρίνιση των υπευθύνων ενώσεων.

Έχει αποδειχθεί μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου της ουροδόχου κύστης και του πνεύμονα. Ωστόσο, και στις δύο περιπτώσεις η υπολειπόμενη συγχυτική δράση, που συνδέεται κυρίως με το κάπνισμα και την κατανάλωση αλκοόλ παραμένει και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να επιβεβαιωθεί η συσχέτιση(23).

Η πλειονότητα των επιδημιολογικών μελετών υποδεικνύουν ότι η δια βίου τακτική κατανάλωση καφέ/καφεΐνης μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου του Αλτσχάϊμερ (Alzheimer Disease, AD) ιδιαίτερα στους ηλικιωμένους. Ο καφές/καφεΐνη φαίνεται να είναι ιδιαίτερα επωφελής πριν από την εμφάνιση της νόσου.

Σε μια άλλη μελέτη, εξετάστηκαν μετά από 21 χρόνια παρακολούθησης 1.409 άτομα ηλικίας 65-79ετών. Η κατανάλωση καφέ στη μέση ηλικία μείωσε (κατά 65%) τον κίνδυνο της AD και της άνοιας στους ηλικιωμένους, με το χαμηλότερο κίνδυνο να βρίσκεται σε άτομα που έπιναν 3-5 φλιτζάνια / ημέρα (24).

Έχουν μελετηθεί επίσης και άλλα συστατικά του καφέ, εκτός από την καφεΐνη, τα οποία μπορεί να εμπλέκονται στην ευεργετική επίδραση ενάντια στον κίνδυνο AD. Αρκετές μελέτες σε ζώα έδειξαν ότι η τριγονελλίνη μπορεί να έχει νευροπροστατευτικές ιδιότητες και να βελτιώνει τη διατήρηση της μνήμης. Επίσης οι φαινολικές ενώσεις, οι οποίες είναι αντιοξειδωτικά που βρίσκονται στον καφέ, όταν χορηγήθηκαν σε ποντίκια μέσω του πόσιμου νερού, βρέθηκε ότι προστατεύουν έναντι των γνωσιακών ελλειμμάτων (κυρίως την χωρική μνήμη και την μνήμη εργασίας) ενώ προάγουν την καταστολή της φλεγμονής και την πρόληψη της απώλειας ακετυλοχολίνης από τον εγκεφαλικό φλοιό, παράγοντες που χαρακτηρίζουν την ασθένεια.

Γενικά υπάρχει αυξανόμενος αριθμός πειραματικών μελετών και σε ανθρώπους, που προτείνουν μια δυνητικά προστατευτική επίδραση της καφεΐνης - και ενδεχομένως και άλλων ενώσεων του καφέ όπως αντι-οξειδωτικά ή αντι-φλεγμονώδεις παράγοντες - στην ανάπτυξη της AD. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με στόχο τον προσδιορισμό των διαφόρων ενώσεων του καφέ που φαίνεται να είναι ενεργές κατά της νόσου, καθώς και τον μηχανισμό δράσης τους, προκειμένου να καταλήξουμε σε οποιαδήποτε συμπεράσματα (25-28).

Μια άλλη ασθένεια, η νόσος του Πάρκινσον (PD) είναι μια νευροεκφυλιστική διαταραχή. Η ηλικία έναρξης του PD είναι συνήθως πάνω από 60, αλλά εκτιμάται ότι ένας στους δέκα ανθρώπους διαγιγνώσκεται πριν την ηλικία των 50 ετών, με ελαφρώς περισσότερους άνδρες από τις γυναίκες (29). Σήμερα δεν υπάρχει διαθέσιμη θεραπεία είτε για την πρόληψη είτε για τη επιβράδυνση της απώλειας νευρώνων και της συνακόλουθης μείωση της ντοπαμίνης στον μεσεγκέφαλο.

Διάφορες πειραματικές και επιδημιολογικές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στον τρόπο ζωής, τους διατροφικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης και της κατανάλωσης καφέ.

Ένας μεγάλος αριθμός επιδημιολογικών μελετών αναφέρει μια αντίστροφη, δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του καφέ/καφεΐνης και του κινδύνου εμφάνισης PD. Η κατανάλωση καφέ φαίνεται να μειώνει ή να καθυστερεί την ανάπτυξη της PD και η καφεΐνη είναι πολύ πιθανό ο αιτιώδης παράγοντας. Στις γυναίκες όμως, η αλληλεπίδραση μεταξύ της καφεΐνης και της ορμονικής θεραπείας εξακολουθεί να χρειάζεται περαιτέρω διευκρίνιση.

Δύο μετα-αναλύσεις, που συμπεριέλαβαν τα δεδομένα 20 και 26 αντίστοιχα μελετών, ανέφεραν ότι ο παγκόσμιος κίνδυνος ανάπτυξης PD μειώθηκε κατά 31% (σχετικός κίνδυνος 0,69) (30) και 25% (σχετικός κίνδυνος 0,75) (31) σε άτομα που καταναλώνουν καφέ σε σύγκριση με αυτούς που δεν πίνουν καφέ. Μερικές από τις επιμέρους μελέτες διαπίστωσαν πολύ ισχυρή μείωση του κινδύνου -έως και 80%- με την κατανάλωση πάνω από 4 φλιτζάνια καφέ/ημέρα. Στη δεύτερη μετα-ανάλυση διαπιστώθηκε ότι ο συνολικός κίνδυνος εμφάνισης PD μειώθηκε κατά 24-32% ανά 300 mg αύξησης της πρόσληψης καφεΐνης (δηλαδή περίπου με κάθε 3 φλιτζάνια καφέ). Τα στοιχεία αυτά επιβεβαιώνουν μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της πρόσληψης καφεΐνης και του κινδύνου PD (30-31).

Μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 77.713 γυναίκες, οι οποίες ήταν υπό παρακολούθηση για 18 χρόνια, ανέφερε ότι σε γυναίκες που δεν ελάμβαναν ορμόνες μετά την εμμηνόπαυση, ο καφές ασκούσε προστασία έναντι PD όπως στους άνδρες. Σε γυναίκες που ελάμβαναν οιστρογόνα, ο κίνδυνος για τη νόσο Πάρκινσον ήταν παρόμοιος με τους άνδρες που κατανάλωναν χαμηλή ποσότητα καφέ, αλλά υπήρξε μια σημαντική αύξηση έως τέσσερις φορές σε γυναίκες που έπιναν 6 ή περισσότερα φλιτζάνια καφέ/ημέρα σε σύγκριση με άντρες που δεν έπιναν καφέ(32).

Μια ανασκόπηση με 304.980 συμμετέχοντες στα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας των ΗΠΑ έδειξε ότι η υψηλότερη πρόσληψη καφεΐνης συσχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο PD σε άνδρες και γυναίκες. Οι συγγραφείς πραγματοποίησαν μια μετα-ανάλυση προοπτικών μελετών και επιβεβαίωσαν ότι η πρόσληψη καφεΐνης συσχετίστηκε αντίστροφα με τον κίνδυνο PD σε άνδρες και γυναίκες και πρότεινε ότι δεν υπήρχε καμία διαφορά μεταξύ των φύλων στη σχέση μεταξύ της καφεΐνης και νόσου του Parkinson(33).

Επιπλέον, μια προοπτική μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2012 επιβεβαίωσε τα προηγούμενα ευρήματα που δείχνουν μια προστατευτική επίδραση της καφεΐνης στον κίνδυνο PD, με την ελαφρυντική επιρροή της θεραπείας ορμονικής υποκατάστασης σε γυναίκες. Η κατανάλωση καφέ χωρίς καφεΐνη δεν συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο της νόσου Parkinson (34).

Άσκηση – Αθλητισμός

Η κατανάλωση καφέ στο αθλητισμό συνδέεται με την κατανάλωση της καφεΐνης παρά στον ίδιο τον καφέ (35). Υπάρχουν ενδεικτικά στοιχεία, ότι η καφεΐνη έχει εργογόνο δράση, που σημαίνει ότι μπορεί να βελτιώσει την απόδοση στον αθλητισμό. Στα αερόβια αγωνίσματα, δηλαδή αγωνίσματα διάρκειας μεγαλύτερης των 5 λεπτών και μέσης έντασης όπως τρέξιμο, ποδηλασία κτλ, έρευνες έδειξαν ότι η κατανάλωση καφεΐνης βελτιώνει την ατομική απόδοση, καθώς βοηθάει στην μείωση του μυϊκού πόνου. Σε μια έρευνα του 2013, δείχθηκε ότι η ενίσχυση της επίδρασης της καφεΐνης έναντι του καφέ, συμπεριλαμβάνοντας την κατανάλωση της καφεΐνης στον καφέ (5mg/kg σωματικού βάρους) και ως συμπλήρωμα (5mg/kg σωματικού βάρους) μία ώρα πριν την άσκηση, αυξάνει την αντοχή στην άσκηση (36). Το 2009 μια ερευνητική εργασία για τις επιπτώσεις της καφεΐνης στον μυϊκό πόνο κατά τη διάρκεια 30 λεπτών ποδηλασίας σε υψηλή ένταση, έδειξε ότι η χρήση καφεΐνης (5mg/kg σωματικού βάρους) προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της αναφερόμενης έντασης του μυϊκού πόνου και η επίδραση ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα των ατόμων οι οποίοι συνήθως καταναλώνουν χαμηλή ποσότητα καφεΐνης (37).

Στην αναερόβια άσκηση, δηλαδή σε σύντομης διάρκειας, λιγότερο από 5 λεπτά, και έντονης δραστηριότητας ασκήσεις, η καφεΐνη έχει εξίσου εργογόνο δράση (38).

Η έρευνα έχει δείξει ότι, υπό ορισμένες προϋποθέσεις, η καφεΐνη μπορεί να οφελεί σε ορισμένες μικρής διάρκειας και υψηλής έντασης ασκήσεις. Σε ανασκόπηση του 2009 για τις επιδράσεις της καφεΐνης στην απόδοση της αναερόβιας άσκησης βρέθηκε ότι μεταξύ 29 μελετών, 17 έδειξαν σημαντικά οφέλη της καφεΐνης (39). Μια περαιτέρω μελέτη ανέφερε μια δοκιμασία με δύο διαφορετικές δόσεις καφεΐνης (2 και 5 mg/kg σωματικού βάρους) σε ενεργούς συμμετέχοντες. Η κατανάλωση της υψηλότερης δόσης καφεΐνης οδήγησε σε βελτίωση έκτασης γόνατου και κάμψης. Αυτή η επίδραση εξαφανίστηκε στον δεύτερο αγώνα γεγονός που σημαίνει ότι τα οφέλη της καφεΐνης ήταν μόνο βραχυπρόθεσμα(40) .

Η ισορροπία των ηλεκτρολυτών είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό θέμα μεταξύ των αθλητών, όπου η αφυδάτωση αποτελεί πάντα παράγοντα ανησυχίας, δεδομένου ότι σχετίζεται με μειωμένη απόδοση. Μια περιεκτική ανασκόπηση (41) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ημερήσια πρόσληψη 300mg καφεΐνης (ποσότητα που υπάρχει σε περίπου 3 φλιτζάνια καφέ) προκαλεί μόνο μία ήπια, μικρής διάρκειας διουρητική δράση, παρόμοια με εκείνη του νερού, χωρίς σημαντική επίδραση στη συνολική ισορροπία των υγρών. Οι συγγραφείς δήλωσαν ότι δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι η καφεΐνη είναι επιζήμια κατά τη διάρκεια της άσκησης σε ζεστά κλίματα. Η μελέτη επιβεβαίωσε

επίσης ότι οι υποδείξεις για αποφυγή καφεϊνούχων ποτών πριν και κατά τη διάρκεια της άσκησης είναι αβάσιμες.

Μια άλλη μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2014, δεν διαπίστωσε σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις των επιπέδων υδάτωσης μεταξύ εκείνων που έπιναν καφέ ή εκείνων που έπιναν νερό, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι αθλητές που κατανάλωναν καφέ με μέτρο είχαν παρόμοιες ιδιότητες ενυδάτωσης με αυτούς που κατανάλωναν νερό (42).

Επιπλέον, το 2004 η Διεθνής Ολυμπιακή Επιτροπή (ΔΟΕ), ενέκρινε την επίσημη κατάργηση της καφεΐνης από τον κατάλογο των απαγορευμένων ουσιών, δηλώνοντας ότι οι ισχυρισμοί ότι η ήπια και η μικρής διάρκειας διουρητική δράση της καφεΐνης μπορεί να βλάψει τη σωματική απόδοση, είναι αβάσιμοι.

Η καφεΐνη μπορεί να αυξήσει την παραγωγή της αδρεναλίνης κατά τη διάρκεια της άσκησης, η οποία διεγείρει την παραγωγή ενέργειας και βελτιώνει τη ροή του αίματος στους μυς και την καρδιά (43).

Υπερβολική Κατανάλωση Καφεΐνης

Η κατανάλωση 1000-1500mg ανά ημέρα συνδυάζεται με μια κατάσταση γνωστή ως καφεϊνισμός (45). Ο καφεϊνισμός συνδυάζει συνήθως εξάρτηση καφεΐνης με ένα ευρύ φάσμα δυσάρεστων συμπτωμάτων όπως νευρικότητα, ευερεθιστότητα, ανησυχία, αϋπνία, πονοκεφάλους και αίσθημα παλμών μετά τη χρήση καφεΐνης (46).

Η υπερβολική δόση καφεΐνης μπορεί να οδηγήσει σε μια κατάσταση υπερδιέγερσης του κεντρικού νευρικού συστήματος η οποία ονομάζεται *δηλητηρίαση καφεΐνης* (DSM-IV 305.90). Αυτό το σύνδρομο εμφανίζεται συνήθως μόνο μετά από την πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων καφεΐνης, πολύ πάνω από τα ποσά που υπάρχουν σε τυπικά καφεϊνούχα ποτά και δισκία καφεΐνης (π.χ. περισσότερο από 400-500mg κάθε φορά). Τα συμπτώματα της *δηλητηρίασης καφεΐνης* είναι συγκρίσιμα με τα συμπτώματα της υπερβολικής δόσης άλλων διεγερτικών ουσιών: μπορεί να περιλαμβάνουν ανησυχία, νευρικότητα, άγχος, ενθουσιασμό, αϋπνία, έξαψη του προσώπου, αυξημένη ούρηση, γαστρεντερικές διαταραχές, μυϊκές συσπάσεις, συνεχή ροή της σκέψης και του λόγου, ευερεθιστότητα, ακανόνιστους παλμούς ή ταχυπαλμία, ψυχοκινητική διέγερση (47). Στις περιπτώσεις των κατά πολύ υπερβολικών δόσεων τα συμπτώματα είναι, μανία, κατάθλιψη, λάθη στη κρίση, αποπροσανατολισμός, άρση αναστολών, ψευδαισθήσεις,

παραισθήσεις, ή μπορεί να προκύψει ψύχωση, και ραβδομυόλυση (καταστροφή των σκελετικών μυϊκών ιστών) (48). Η υπερδοσολογία μπορεί να οδηγήσει και στο θάνατο (49). Η ανεκτικότητα της καφεΐνης στον άνθρωπο εξαρτάται από την ατομική ευαισθησία, αλλά εκτιμάται ότι είναι 150-200 mg ανά χιλιόγραμμο μάζας σώματος (75-100 φλιτζάνια καφέ για 70 κιλό ενήλικα) (50). Ένας αριθμός θανάτων έχει προκληθεί από λήψη υπερβολικής δόσης σε μορφή σκόνης σε συμπληρώματα καφεΐνης, των οποίων η εκτιμώμενη θανατηφόρα ποσότητα είναι μικρότερη από μια κουταλιά της σούπας (51). Η θανατηφόρος δόση είναι χαμηλότερη σε άτομα των οποίων η ικανότητα να μεταβολίζουν την καφεΐνη είναι διαταραγμένη και οφείλεται σε γενετικούς λόγους ή σε χρόνια ηπατική νόσο (52).

Η θεραπεία της ήπιας δηλητηρίασης από καφεΐνη κατευθύνεται προς την ανακούφιση των συμπτωμάτων, ενώ αντιθέτως η σοβαρή δηλητηρίαση μπορεί να απαιτήσει περιτοναϊκή κάθαρση, αιμοκάθαρση, αιμοδιήθηση (47).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Καφές

Μελετήθηκαν τρία είδη καφέ, ο Ελληνικός, ο Γαλλικός (fc) και ο Στιγμαιαίος (inst). Ο ελληνικός καφές ερευνήθηκε βάσει των τρόπων με τους οποίους καταναλώνεται, δηλαδή, αργά (A) – καταναλώνεται αργά- και γρήγορα (F) –καταναλώνεται γρήγορα (fast). Για τις αναλύσεις του Ελληνικού καφέ χρησιμοποιήθηκε καφές Λουμίδη Παπαγάλος Παραδοσιακός, του οποίου τα συστατικά είναι *washed Arabica*, *unwashed Arabica* και *Robusta*.

2.1 Προετοιμασία Δειγμάτων

ΕΛΛΗΝΙΚΟΣ ΚΑΦΕΣ

Παρασκευάστηκαν εις διπλούν καφέδες με δύο κουταλάκια καφέ (4,358 gr το ένα) και 140 ml νερό. Μετά το βράσιμο κάθε διπλού καφέ, χωρίσθηκε σε δύο ποτήρια ζέσεως των 100ml.

FAST (ΓΡΗΓΟΡΟΣ). Καφές που πίνεται σχετικά βιαστικά. Κάθε πέντε λεπτά στο fast συλλεγόταν μία δόση (γουλιά) από κάθε ποτήρι με απόχυση έως ότου τελειώσει το υγρό και μείνει μόνο το κατακάθι. Συνολικά 6 δόσεις.

SLOW (ΑΡΓΟΣ). Καφές που πίνεται σχετικά αργά. Κάθε δέκα λεπτά στο αργό συλλεγόταν μία δόση (γουλιά) από κάθε ποτήρι με απόχυση έως ότου τελειώσει το υγρό και μείνει μόνο το κατακάθι. Συνολικά 6 δόσεις.

Παρασκευάστηκαν τρία δείγματα fast και τρία slow. Δηλαδή συνολικά δεκαοχτώ καφέδες.

ΓΑΛΛΙΚΟΣ ΚΑΦΕΣ

Η ίδια πορεία ακολουθήθηκε για την προετοιμασία του Γαλλικού (φίλτρου) καφέ. Ετοιμάστηκαν με τη βοήθεια καφετιέρας δεκαπέντε ροφήματα καφέ φίλτρου, που ανά 5 ενοποιήθηκαν προς 3 δείγματα (Fc I, Fc II, Fc III). Για κάθε καφέ φίλτρου χρησιμοποιήθηκε μία κουταλιά Γαλλικού καφέ, (6.686 g) σε 300 mL νερού και έπειτα ακολουθείται η ίδια διαδικασία για όλα τα δείγματα. Η ποικιλία του καφέ φίλτρου που χρησιμοποιήθηκε ήταν 100% Arabica.

ΣΤΙΓΜΙΑΙΟΣ ΚΑΦΕΣ

Για τον Στιγμαίο καφέ, παρασκευάστηκαν δεκαπέντε ροφήματα που ανά 5 ενοποιήθηκαν προς 3 δείγματα (Inst I, Inst II, Inst III). Για κάθε στιγμαίο καφέ διαλύθηκε μία κουταλιά στιγμαίου

καφέ, δηλαδή 3.0008 g, σε 250 mL νερού και αναμίχθηκε μέχρι να διαλυθεί πλήρως. Έπειτα ακολουθείται η ίδια διαδικασία για όλα τα δείγματα.

2.1.1 Διαδικασία αφυδάτωσης των ροφημάτων καφέ

Διαλύτες-Όργανα

Καταψύκτης (-40°C)

Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων

Συσκευή λυοφιλίωσης

Ογκομετρικός κύλινδρος 250mL

Ποτήρια ζέσεως 100mL

Γυάλινο σκεύος βρασμού

Εστία βρασμού

Μεταλλικό νερό

Parafilm

Φιαλίδια με βιδωτό πώμα καλυμμένο με Teflon, όγκου 10mL

Αναλυτική Πορεία

Η διαδικασία παρασκευής και αφυδάτωσης των ροφημάτων ήταν παρόμοια για όλα τα είδη καφέ. Τα ροφήματα μεταφέρθηκαν σε ποτήρια ζέσεως γνωστού βάρους, τα οποία καλύφθηκαν με παραφίλμ και ψύχθηκαν για 24h στους -40°C. Τα ροφήματα στη συνέχεια αφυδατώθηκαν με λυοφιλίωση επί 4 ημέρες (96h). Για την έκφραση των αποτελεσμάτων διορθωμένων ως προς τα διαλυμένα άλατα του εμφιαλωμένου νερού, έγινε λυοφιλίωση ίσου όγκου νερού εις τριπλούν.

Η διαδικασία ολοκληρώθηκε με παραλαβή του στερεού υπολείμματος, το οποίο αφού ζυγιάστηκε, τοποθετήθηκε σε φιαλίδια Falcon με βιδωτό πώμα. Το πώμα στεγανοποιήθηκε με πάραφιλμ και αποθηκεύθηκαν σε βαθειά ψύξη (-40°C) υπό συνθήκες σκότους.

2.2 Προσδιορισμός πολυφαινολών

2.2.1 Προσδιορισμός του συνολικού φαινολικού περιεχομένου με την μέθοδο Folin-Ciocalteu

Αντιδραστήρια-Όργανα

Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (FC, 2N)

Κορεσμένο διάλυμα Na₂CO₃ (20% w/v)

MeOH αναλυτικής καθαρότητας

Απιονισμένο νερό

Αναδευτήρας Vortex

Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης

Αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών

Φιαλίδια erpendorf, χωρητικότητας 1,5mL

Αυτόματες πιπέττες (10-1000μL), tips

Κυψελίδες

Γαλλικό οξύ (Gallicacid, GA)

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται σε οξειδοαναγωγική αντίδραση με την οποία προσδιορίζεται το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο χωρίς διάκριση μεταξύ μονομερών, διμερών και πολυμερών φαινολικών συστατικών. Το FC είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικά και φωσφοβολφραμικά ετεροπολυμερή οξέα. Οξειδώνει τα φαινολικά ιόντα με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση, της οποίας δεν είναι γνωστή η στοιχειομετρία:



Το προϊόν είναι σύμπλοκο μολυβδαινίου-βολφραμίου (Mo-W) χαρακτηριστικής μπλε χρώσης που απορροφά στο ορατό (750nm). Η αλκαλικότητα ρυθμίζεται με κορεσμένο διάλυμα Na₂CO₃ (20% w/v) που αφενός δε διαταράσσει την σταθερότητα του FC και του προϊόντος της αντίδρασης, αφετέρου αποτελεί προϋπόθεση παρουσίας των φαινολικών ιόντων.

Αναλυτική Πορεία

Σε ένα φιαλίδιο erpendorf τοποθετούνται 790μL απιονισμένου νερού και έπειτα 10μL δείγματος αφυδατωμένου ροφήματος καφέ που είχε αναδιαλυθεί σε νερό στην αναλογία που υπήρχε στο αρχικό ρόφημα καφέ. Για την παρασκευή του τυφλού δείγματος χρησιμοποιήθηκαν 10μL απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια, προστίθενται 50μL αντιδραστηρίου FC. Ακολουθεί ανάδευση, ενώ μετά το πέρας 1min προστίθενται επίσης 150μL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 (20% w/v). Το μίγμα ανακινείται εκ νέου και φυλάσσεται σε σκοτεινό μέρος, για 120min, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το προϊόν της αντίδρασης φωτομετρείται στα 750nm ως προς το λευκό δείγμα, ενώ κατασκευάζεται και πρότυπη καμπύλη αναφοράς με γαλλικό οξύ. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg ισοδύναμα γαλλικού οξέος.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Παρασκευάζονται διαλύματα γαλλικού οξέος (GA) συγκεντρώσεων 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800mg/L. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $\psi=f(x)$, όπου x η ποσότητα του GA σε mg/L και ψ η απορρόφηση στα 750nm.

2.3 Αντιοξειδωτικές δοκιμές

2.3.1 Εκτίμηση αντιοξειδωτικής ικανότητας βασιζόμενη στη δέσμευση της 1,1-διφαινύλο-2-πικρυλο-υδράζυλο ελεύθερης ρίζας (DPPH•)

Αντιδραστήρια-Όργανα

Διάλυμα DPPH• σε MeOH (3,9mg σε 100 mL)

MeOH

Φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης

Λουτρό υπερήχων

Αναδευτήρας Vortex

Φιαλίδια erpendorf, χωρητικότητας 1,5mL

Κυψελίδες χαλαζία

Αυτόματες πιπέττες (10-1000μL), tips

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH[•]. Η δέσμευση αυτής της σταθερής ελεύθερης ρίζας έχει ως αποτέλεσμα το διάλυμα να αποχρωματίζεται. Η ελάττωση της απορρόφησης μετράται στα 515nm.

Αναλυτική Πορεία

Σε φιαλίδια eppendorf προστίθενται 25 μ L δείγματος αφυδατωμένου ροφήματος καφέ που είχε αναδιαλυθεί σε νερό στην αναλογία που υπήρχε στο αρχικό ρόφημα καφέ, ή απιονισμένου νερού για το λευκό προσδιορισμό και 975 μ L DPPH[•]. Ακολουθεί ανάδευση και αφήνονται σε σκοτεινό μέρος για 30min. Η απορρόφηση μετράται σε t=0min και t=30min στα 515nm. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ισοδύναμα Trolox μέσω της πρότυπης καμπύλης.

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης αναφοράς

Παρασκευάζονται διαλύματα Trolox συγκεντρώσεων 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,2, 1,4, 1,6mM. Ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $\psi=f(x)$, όπου x η ποσότητα του Trolox σε mM και ψ η % ΔA_{515} , όπου $\% \Delta A_{515} = [(A_{515}^0 - A_{515}^{30}) / A_{515}^0] \times 100$

2.4 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός απλών φαινολών

Αντιδραστήρια

- Σιλυλιωτικό μέσο: BSTFA: Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (Aldrich)
- Εσωτερικό πρότυπο, Internal Standard (IS): 3-(4-Υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη (Aldrich)

Όργανα

- Πιπέτες Eppendorf 1000 μL και 100 μL
- Φυγοκεντρικός εξατμιστήρας κενού (SpeedVac)
- Συσκευή Αέριας Χρωματογραφίας συζευγμένη με ανιχνευτή μάζας (GC/MS)
- Υδατόλουτρο

Προετοιμασία δειγμάτων

Ζυγίζεται με ακρίβεια περίπου 1mg από το κάθε αφυδατωμένο δείγμα ροφήματος καφέ σε φιαλίδια vials. Ακολουθούν:

1. προσθήκη 50 μL εσωτερικού προτύπου (3-(4-Υδροξυφαινυλο)-1-προπανόλη) και συμπύκνωση σε SpeedVac μέχρι ξηρού
2. παραγωγοποίηση των δειγμάτων με προσθήκη 250 μL σιλυλιωτικού μέσου (BSTFA) και θέρμανση σε υδατόλουτρο στους 70°C για 20 λεπτά.

2.5 Προσδιορισμός απλών φαινολών με αέρια χρωματογραφία/ φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)

Ο αέριος χρωματογράφος ήταν ένα σύστημα της Agilent (Wallbronn, Germany) HPseries 6890 N εφοδιασμένος με ανιχνευτή HP 5973 MS (EI, ηλεκτρονικού ιονισμού 70 eV), εισαγωγή split- splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7683. Για την ανάλυση, 1 μL σιλυλιωμένου δείγματος εισάγεται στον εισαγωγέα θερμοκρασίας 220 °C με λόγο σχάσης (split ratio)

δείγματος προς φέρον αέριο 1:10. Η γραμμή μεταφοράς του δείγματος στον ανιχνευτή μάζας τέθηκε στους 280 °C. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό ήταν HP-5MS (Agilent) 30 m x 0.2mm x 0.25μm και το φέρον αέριο ήταν He υψηλής καθαρότητας, με ροή 0,7mL/min. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό ήταν: αρχική θερμοκρασία 70 °C επί 5min, άνοδος θερμοκρασίας στους 130 °C με ρυθμό 15 °C/min, άνοδος στους 160 °C με ρυθμό 4 °C/min παραμονή επί 15min και τελικά άνοδος στους 300 °C όπου παραμένει επί 15min.

Κάθε δείγμα αναλύθηκε με τον ανιχνευτή μάζας σε SIM Mode. Στη μέθοδο αυτή, που χρησιμοποιήθηκε για προσδιορισμό 27 απλών πολυφαινολών και 2 τερπενικών οξέων, γίνεται καταγραφή επιλεγμένων ιόντων-θραυσμάτων (selective ion monitoring –SIM- GC/MS) χαρακτηριστικών των προς προσδιορισμό συστατικών, τα οποία έχουν βρεθεί από μέτρηση σιλυλιωμένων παραγώγων προτύπων ουσιών.

Ο ποιοτικός προσδιορισμός (ανίχνευση) των συστατικών βασίζεται στην παρουσία στο χρωματογράφημα τριών χαρακτηριστικών για κάθε συστατικό ιόντων, σε χρόνο κατακράτησης (RT) $\pm$ 0.05 min του αναμενόμενου χρόνου κατακράτησης των συστατικών στα πρότυπα διαλύματα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός βασίζεται σε ένα από τα τρία ιόντα που ορίζεται ως ιόν στόχος (target ion), ενώ επιβεβαιώνεται από τους λόγους της έντασης απόκρισης των άλλων 2 ιόντων (qualifier ions) προς την ένταση απόκρισης του ιόντος στόχου στο δείγμα.

Στον Πίνακα 1 φαίνονται οι χρόνοι κατακράτησης και τα χαρακτηριστικά ιόντα που επελέγησαν για τον προσδιορισμό του κάθε συστατικού με τη μέθοδο SIMGC/MS.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός έγινε με τη μέθοδο εσωτερικού προτύπου. Ως τέτοιο επελέγη η 3-(4-υδροξυ-φαινυλο)-1-προπανόλη. Μια σειρά προτύπων διαλυμάτων – μιγμάτων των συστατικών που προσδιορίζονται – οδήγησε στην κατασκευή καμπυλών αναφοράς για κάθε συστατικό σε περιοχή συγκεντρώσεων από 80 –3500 ng/mL. Οι καμπύλες αναφοράς ήταν γραμμικές με συντελεστές γραμμικής συσχέτισης $R^2 > 0.996$ για όλες τις ουσίες που προσδιορίστηκαν.

Πίνακας 1. Χρόνοι κατακράτησης και τα χαρακτηριστικά ιόντα που επελέγησαν

A/A	Ένωση	RT (min)	Target Ion (m/z)	Qualifiers (m/z)
1	Βανιλίνη	17,56	194	209
2	Κινναμικό οξύ	17,70	205	220
3	Τυροσόλη	18,52	179	267, 282
4	p- υδροξυβενζοϊκό οξύ	20,32	267	223, 193
5	p- υδροξυφαινυλοξικό οξύ	20,77	252	296, 281
6	Φλωρετικό οξύ	26,73	192	310
7	Βαννιλικόοξύ	27,07	297	267, 312
8	Ομοβανιλικό οξύ	27,05	326	267, 311
9	ο- Κουμαρικό οξύ	30,27	293	308, 147
10	Πρωτοκατεχικό οξύ	31,49	193	355, 370
11	3-4 διυδροξυφαινυλοξικό οξύ	32,28	384	267, 179
12	Συριγκικό οξύ	35,06	327	342, 312
13	p- Κουμαρικό οξύ	35,96	308	293, 219
14	Γαλλικό οξύ	37,00	281	458, 443
15	Φερουλικό οξύ	38,92	338	323, 308
16	Καφεϊκό οξύ	39,62	396	219, 381
17	Σιναπικό οξύ	40,89	368	353, 338
18	Ρεσβερατρολη	45,02	444	445, 443
19	Χρυσίνη	45,54	383	384
20	Επικατεχίνη	46,40	368	355, 474

21	Ναριγκενίνη	46,51	473	296
22	Κατεχίνη	46,80	368	355, 474
23	Γενιστεΐνη	46,90	473	
24	Καμφερόλη	48,35	559	560
25	Χλωρογενικό οξύ	48,92	345	307, 324
26	Κερκετίνη	49,67	647	559, 575
27	Μυρισετίνη	50,42	735	647, 575
28	Ολεανολικό οξύ	56,47	203	320, 482
29	Ουρσολικό οξύ	58,33	203	320, 482

2.6 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων και στερολών σε ροφήματα καφέ

2.6.1 Προετοιμασία δειγμάτων

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Εξάνιο, BHT, BSTFA, υδροξείδιο του καλίου, μεθανόλη, χλωριούχο νάτριο, $\text{BF}_3\text{:MeOH}$, πρότυπες ουσίες: μίγμα 37 μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων (Supelco), β -σιτοστερόλη, 5 α -χολεστάνιο
- Σιφόνια σταθερού όγκου
- Φυγοκεντρικός εξατμιστήρας κενού, *SpeedVac*
- Ζυγός ακριβείας
- Φυγόκεντρος
- Vortex
- Λουτρό υπερήχων (sonicator)

- Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (GC/FID)
- Αέριος χρωματογράφος συζευγμένος με ανιχνευτή μάζας (GC/MS)

Αφυδατωμένο ρόφημα καφέ (0,5 g) ζυγίστηκε με ακρίβεια σε σωλήνες με βιδωτό πώμα καλυμένο εσωτερικά με Teflon, και εκχυλίστηκε με εξάνιο (2×5 mL) που περιείχε BHT (100μg/mL). Μετά την παραλαβή και εξάτμιση του διαλύτη, έγινε σαπωνοποίηση των λιπαρών με προσθήκη υδροξειδίου του καλίου σε μεθανόλη (2 mL, 0.5 M) και θέρμανση στους 95 °C επί 20 min.

2.7 Παρασκευή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων

Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων με προσθήκη 1,5mL BF_3/MeOH και θέρμανση στους 95 °C επί 3 min. Ακολούθησε προσθήκη 4mL κορεσμένου διαλύματος χλωριούχου νατρίου και 2 mL εξανίου, ισχυρή ανάδευση και φυγοκέντρωση στις 3000 rpm για 5 min. Η υπερκείμενη οργανική στοιβάδα παραλήφθηκε και διαμοιράσθηκε σε δύο φιαλίδια αεριοχρωματογραφίας. Το πρώτο σφραγίσθηκε και αποθηκεύθηκε σε βαθιά ψύξη (−20 °C), έως ότου αναλυθεί για λιπαρά οξέα με GC.

2.8 Παρασκευή τριμεθυλσιλυλαιθέρων των φυτοστερολών

Στο δεύτερο φιαλίδιο προστέθηκε εσωτερικό πρότυπο 5-α-χολεστάνιο και αφού εξατμίσθηκαν οι διαλύτες σε SpeedVac, προστέθηκαν 250 μLBSTFA τα φιαλίδια σφραγίσθηκαν και τα δείγματα σιλυλιώθηκαν στους 70°C επί 20 min. Τα σιλυλιωμένα δείγματα φυλάχθηκαν σε βαθιά ψύξη (−20 °C), μέχρι να προσδιορισθούν οι φυτοστερόλες τους με GC/MS.

2.9Προσδιορισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων με GC /FID

Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε αεριοχρωματογράφος HP6890 της Agilent (Hewlett Packard) εφοδιασμένος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Flame Ionization Detector, FID), ανιχνευτή μάζας MS 6890 (Mass Selective Detector, MSD) και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7673.

Ο διαχωρισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων έγινε σε τριχοειδή στήλη BPX70 (SGE, Melbourne, Australia) (50% PH phenylmethylpolysiloxane), μήκους 60m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 mm και πάχους εσωτερικής επικάλυψης 0,25μm. Χρησιμοποιήθηκε ήλιο ως φέρον αέριο με ροή 0.8 mL/min ενώ η θερμοκρασία του εισαγωγέα του δείγματος και του ανιχνευτή ήταν 230°και 290° C αντίστοιχα. Για την ανάλυση γινόταν εισαγωγή -με ένεση- 1μL δείγματος στο χρωματογράφο με διαχωρισμό ροής (split mode) δείγματος προς φέρον αέριο 1:20. Έτσι τελικά το 1/20 του 1μL εισαγόταν στην στήλη. Η θερμοκρασία του φούρνου του χρωματογράφου ακολούθησε το πρόγραμμα: αρχική θερμοκρασία 130 °C, αύξηση με ρυθμό 3 °C/min έως τους 250 °C όπου και παρέμεινε σταθερή επί 15 λεπτά.

Για την ταυτοποίηση των κορυφών, οι χρόνοι κατακράτησης των λιπαρών οξέων καταγράφηκαν αρχικά με ανάλυση πολυπροτύπου 37 μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων της Sigma (Sigma L9405, StLouis, MO, USA) με χρήση του ανιχνευτή μάζας και με τη βοήθεια των βιβλιοθηκών (NIST και WILEY) του ανιχνευτή μάζας. Στη συνέχεια έγινε χρήση του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και τα πρότυπα παρεμβάλλονταν σε τακτά διαστήματα, ώστε αφενός μεν να καταγράφονται τυχόν μικρές μεταβολές στους χρόνους κατακράτησης των συστατικών και αφ ετέρου για υπολογισμό των συντελεστών απόκρισης (response factors, RF) των διαφόρων λιπαρών οξέων, ώστε να διορθώνονται τα εμβαδά των αντιστοίχων χρωματογραφικών κορυφών. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως % του συνόλου των λιπαρών οξέων.

2.9.1Προσδιορισμός φυτοστερολών με GC / MS

Αντιδραστήρια

BSTFA

Πρότυπες ουσίες: β-σιτοστερόλη, στιγμαστερόλη, καμπεστερόλη,

Αναλυτική πορεία

Πριν την ανάλυση το περιεχόμενο του φιαλιδίου εξατμίσθηκε μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου και παραγωγοποιήθηκε με προσθήκη 250 μ L BSTFA στους 70 °C για 20 min. Ο αέριος χρωματογράφος ήταν ένα σύστημα της Agilent (Wallbronn, Germany) HP series 6890 N εφοδιασμένος με ανιχνευτή HP 5973 MS (EI, ηλεκτρονικού ιονισμού 70 eV), εισαγωγέα split-splitless και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7683. Για την ανάλυση 1 μ L σιλυλιωμένου δείγματος εισάγεται στον αεριοχρωματογράφο (splitless mode). Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό ήταν HP-5MS (Agilent) 30 m x 0.2mm x 0.25 μ m και το φέρον αέριο ήταν He υψηλής καθαρότητας, με ροή 1 mL/min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και της γραμμής μεταφοράς του δείγματος στον ανιχνευτή μάζας ρυθμίσθηκαν στους 250°C και 300°C αντίστοιχα. Η θερμοκρασία φούρνου ήταν αρχικά 210°C, αυξήθηκε στους 300°C με ρυθμό 5,5 °C/min και παρέμεινε στους 300°C επί 15 min. Η ταυτοποίηση των φυτοστερολών έγινε βάσει των χρόνων κατακράτησης, και με τη χρήση των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών φασμάτων μάζας Wiley και NIST 2005, των φασμάτων μάζας προτύπων ουσιών και βιβλιογραφικών δεδομένων. Η ποσοτικοποίηση έγινε με χρήση 5-α-χολεστανίου ως εσωτερικού προτύπου και καμπύλες αναφοράς που κατασκευάσθηκαν με πρότυπα διαλύματα β-σιτοστερόλης που περιείχαν την ίδια ποσότητα εσωτερικού προτύπου με τα προς ανάλυση δείγματα. Η ποσοτικοποίηση της καμπεστερόλης, στιγμαστερόλης και Δ7-αβεναστερόλης βασίσθηκε στην καμπύλη αναφοράς της β-σιτοστερόλης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Λυοφιλίωση ροφημάτων καφέ

Στον πίνακα 3.1 δίνονται οι τιμές του στερεού υπολείμματος μετά την λυοφιλίωση των ροφημάτων καφέ. Παρατηρούμε ότι το στερεό υπόλειμμα των ροφημάτων μειωνόταν με τη σειρά: Ελληνικός γρήγορης κατανάλωσης (γρήγορος) > Ελληνικός αργής κατανάλωσης (αργός) > Στιγμαίος > Φίλτρου. Οι τιμές αυτές χρησίμευσαν για την παρασκευή υδατικών διαλυμάτων καφέ ίδιας συγκέντρωσης με των αρχικών ροφημάτων, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τις διάφορες αναλύσεις.

Πίνακας 3.1 Στερεό υπόλειμμα (mg/mL) από τη λυοφιλίωση ροφημάτων καφέ

Είδος ροφήματος	N	Μ. όρος	Τυπική απόκλιση
Ελληνικός «γρήγορος» 1	6	20.48	2.67
Ελληνικός «γρήγορος» 2	6	20.30	0.24
Ελληνικός «γρήγορος» 3	6	19.07	4.51
Ελληνικός «αργός» 1	6	18.61	5.61
Ελληνικός «αργός» 2	6	18.88	2.74
Ελληνικός «αργός» 3	6	18.61	2.75
Φίλτρου 1	5	8.15	0.05
Φίλτρου 2	5	8.08	0.22
Φίλτρου 3	5	8.02	0.55
Στιγμαίος 1	5	10.87	0.50
Στιγμαίος 2	5	11.97	1.24
Στιγμαίος 3	5	10.12	0.38

3.2 Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο (μέθοδος Folin- Ciocalteu)

Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο που περιέχουν 100 mL ροφήματος καφέ κυμαίνεται κατά μέσο όρο 70,2 έως 257,4 mg ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος (CAE) με τις ψηλότερες συγκεντρώσεις στον Ελληνικό αργής κατανάλωσης («αργός») και γρήγορης κατανάλωσης («γρήγορος») (Πίνακας 3.2). Τα ροφήματα κατατάσσονται με την ακόλουθη σειρά:

Ελληνικός «αργός» $\approx$ Ελληνικός «γρήγορος» > Φίλτρου > Στιγμιαίος

Πίνακας 3.2 Συνολικό φαινολικό περιεχόμενο των ροφημάτων καφέ, εκφρασμένο σε mg ισοδυνάμων καφεϊκού οξέος (CAE) /100 mL. Μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση, από 6 αναλύσεις.

Είδος καφέ	mg CAE/100mL
Ελληνικός «γρήγορος»	253,6 $\pm$ 6,1
Ελληνικός «αργός»	257,4 $\pm$ 10,2
Φίλτρου	70,2 $\pm$ 6,4
Στιγμιαίος	71,57 $\pm$ 6,7

3.3. Αντιοξειδωτική δράση των ροφημάτων καφέ

Εξετάσθηκε η ικανότητα των ροφημάτων καφέ να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH[•] και να ανάγουν τα ιόντα Fe³⁺ σε Fe²⁺ (FRAP). Ο Ελληνικός καφές γρήγορης κατανάλωσης παρουσίασε τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δράση (86,7 mgTE/100mL και 1,3 mg AAE/100mL αντίστοιχα) ακολουθούμενος από τον Ελληνικό καφέ αργής κατανάλωσης (80,0 mgTE/100mL και 0,4 mgAAE/100mL αντίστοιχα), ενώ ο καφές φίλτρου και ο στιγμιαίος παρουσιάζουν τη χαμηλότερη μικρότερη αντιοξειδωτική δράση, τόσο ως προς την ικανότητά τους να δεσμεύουν την ελεύθερη ρίζα DPPH[•] όσο και ως προς την αναγωγική τους δύναμη (Πίνακας 3.2).

Πίνακας 3.3 Αντιοξειδωτική ικανότητα των ροφημάτων καφέ. Μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση, από 6 αναλύσεις.

Είδος καφέ	mg TE/ 100mL	mg AAE/100mL
------------	--------------	--------------

Ελληνικός «γρήγορος»	86,7 ± 6,6	1,3 ± 0,1
Ελληνικός «αργός»	80,0 ± 2,3	0,4 ± 0,03
Φίλτρου	2,2 ± 4,6	0,3 ± 0,01
Στιγμιαίος	2,6 ± 2,0	0,3 ± 0,02

3.4 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός απλών πολυφαινολών

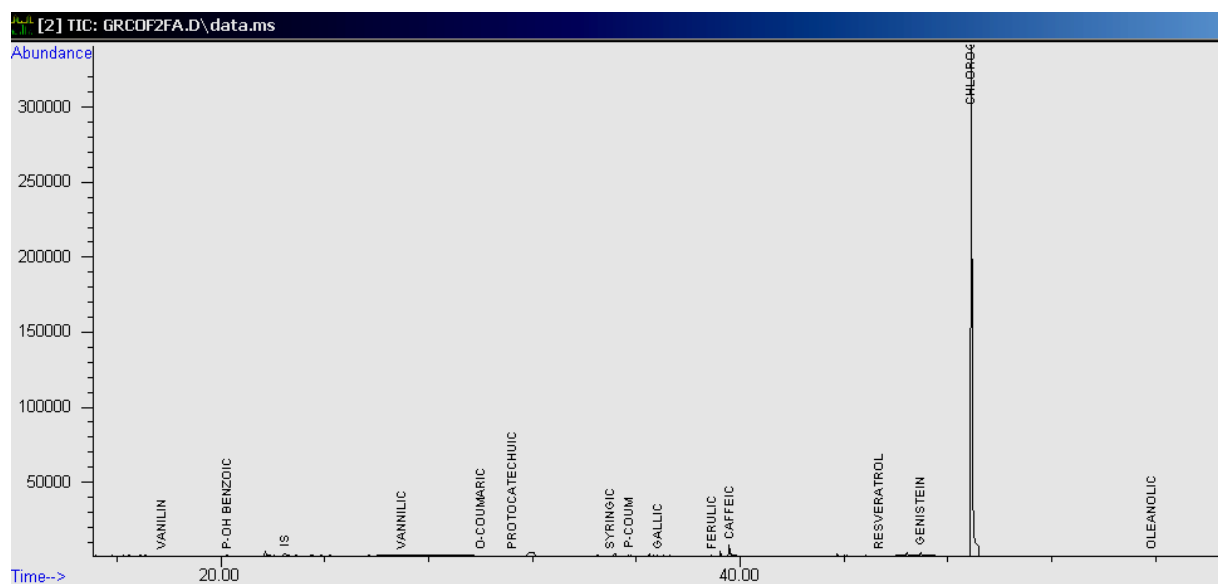
Στον Πίνακα 3.4. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα προσδιορισμού απλών φαινολών και τερπενικών οξέων στα ροφήματα καφέ, ενώ στο Σχήμα 3.1 δίνεται ένα αεριοχρωματογράφημα των φαινολικών ενώσεων σε δείγμα Ελληνικού καφέ. Συνολικά ποσοτικοποιήθηκαν 16 φαινολικές ενώσεις και 2 τερπενικά οξέα. Σε όλα τα δείγματα κυριαρχεί το χλωρογενικό οξύ αποτελώντας περισσότερο από το 90% των ολικών φαινολών, ενώ το άθροισμα των απλών φαινολών ακολουθεί την ίδια κατανομή με αυτή του συνολικού φαινολικού περιεχομένου κατά Folin Ciocalteu (Πιν. 3.2)

Πίνακας 3.4. Απλές φαινόλες και τερπενικά οξέα (mg/L) στα ροφήματα καφέ της παρούσας εργασίας. Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση, από 6 αναλύσεις.

mg/L Ροφήματος	Καφές φίλτρου		Στιγμιαίος καφές		Ελληνικός «γρήγορος»		Ελληνικός «αργός»	
	M Όρος	SD	M Όρος	SD	M Όρος	SD	M Όρος	SD
Βανιλίνη	0,078	0,014	0,071	0,009	0,111	0,041	0,109	0,016
Κινναμωμικό οξύ	0,094	0,036	0,099	0,048	0,196	0,084	0,203	0,065
Τυροσόλη	0,007	0,006	0,010	0,004	0,011	0,005	0,008	0,001
p-OH-βενζοϊκό οξύ	0,145	0,068	0,155	0,056	0,282	0,139	0,228	0,052
Βαννιλικό οξύ	0,073	0,004	0,055	0,014	0,127	0,047	0,093	0,014
Πρωτοκατεχικό οξύ	0,064	0,044	0,090	0,040	0,149	0,060	0,119	0,027
Συριγγικό οξύ	0,010	0,003	0,075	0,073	0,131	0,183	0,049	0,022
p-Κουμαρικό οξύ	0,054	0,031	0,277	0,120	0,264	0,273	0,091	0,060
Φερουλικό οξύ	0,159	0,101	0,400	0,223	0,717	0,812	0,276	0,134
Καφεϊκό οξύ	0,622	0,394	0,603	0,290	2,388	0,953	2,196	0,868
Σιναπικό οξύ	0,017	0,028	0,016	0,012	0,052	0,043	0,032	0,014
Χρυσίνη	0,180	0,231	0,152	0,079	0,356	0,169	0,517	0,280
Ναριγκενίνη	0,152	0,220	0,232	0,163	0,713	1,116	0,169	0,122

Καμφορόλη	0,009	0,012	0,026	0,032	0,068	0,102	0,017	0,012
Χλωρογενικό οξύ	144,2	39,38	18,56	10,08	1698,0	517,3	1502,4	419,1
Κερκετίνη	0,207	0,030	0,255	0,142	0,610	0,206	0,457	0,044
<u>ΤΕΡΠΗΝΙΚΑ</u>								
<u>ΟΞΕΑ</u>								
Ολεανολικό οξύ	0,021	0,043	0,080	0,062	0,522	0,898	0,222	0,331
Ουρσολικό οξύ	0,000	0,000	0,157	0,147	0,528	0,861	0,221	0,189
<u>ΑΘΡΟΙΣΜΑΤΑ</u>								
Απλές φαινόλες	146,1	39,4	21,1	11,0	1704,2	520,5	1506,9	420,2
Τερπενικά οξέα	0,0	0,0	0,2	0,2	1,0	1,7	0,4	0,5

Σχήμα 3.1 Αεριοχρωματογράφημα GC-MS απλών φαινολών σε ρόφημα Ελληνικού καφέ



3.5 Προσδιορισμός λιπαρών οξέων και στερολών σε ροφήματα καφέ

Τα αποτελέσματα προσδιορισμού λιπαρών οξέων στ λιπίδια των ροφημάτων καφέ δίνονται στον Πίνακα 3.5 ενώ ένα τυπικό αεριοχρωματογράφημα λιπαρών οξέων σε ρόφημα Ελληνικού καφέ δίνεται στο Σχήμα 3.2.

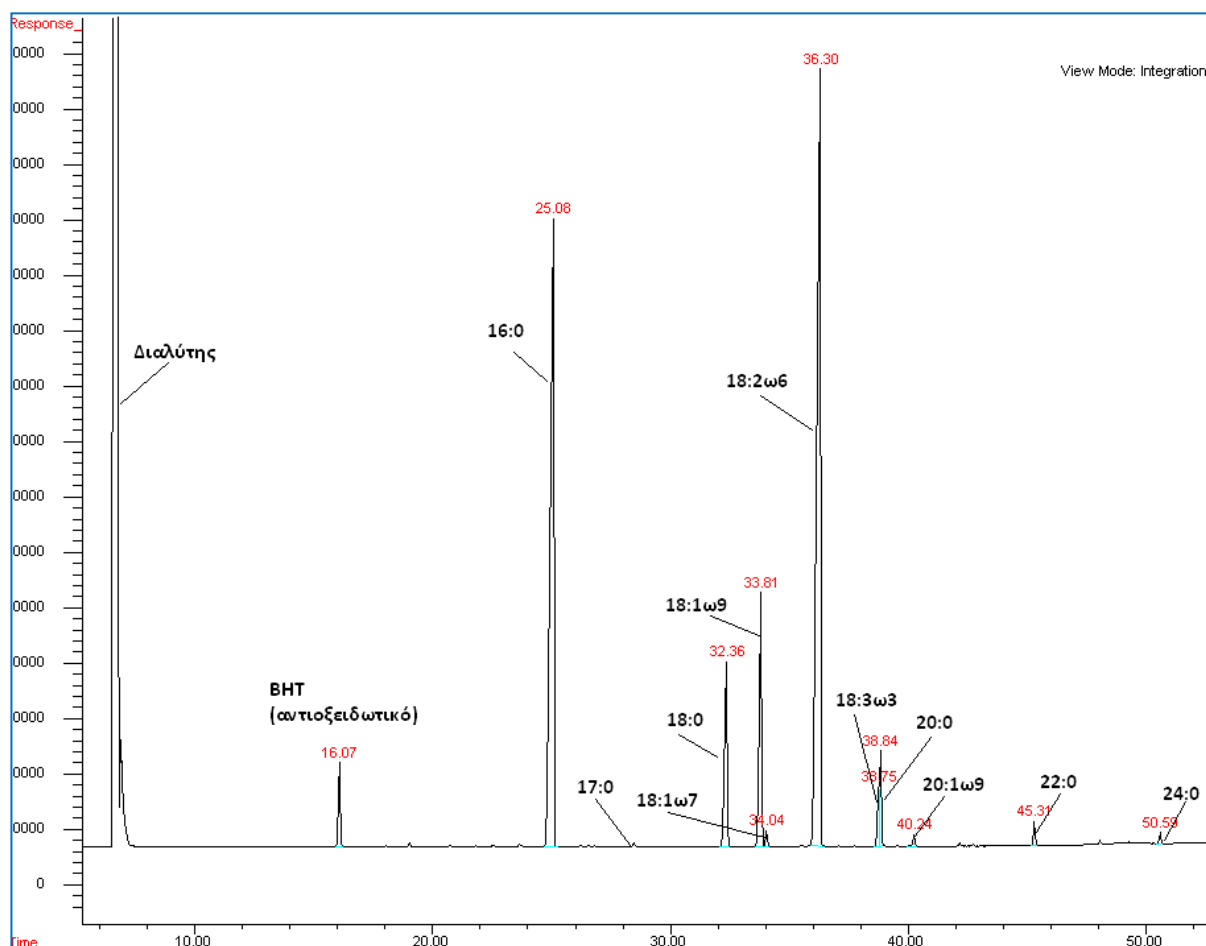
Πίνακας 3.5 Λιπαρά οξέα (% ολικών λιπαρών οξέων) στα λιπίδια ροφημάτων καφέ.

Λιπαρά οξέα	Ελληνικός «γρήγορος»	Ελληνικός «αργός»	Φίλτρου	Στιγμιαίος
14:0	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.18 ± 0.00	1.13 ± 0.59
14:1	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.66 ± 0.11
15:0	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.39 ± 0.08	0.49 ± 0.15
15:1	0.04 ± 0.00	0.06 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.55 ± 0.12
16:0	33.31 ± 0.04	33.37 ± 0.08	29.41 ± 2.68	24.63 ± 3.56
16:1	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.77 ± 0.18	1.21 ± 0.56
17:0	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.0	0.20 ± 0.00	-
18:0	7.30 ± 0.03	7.32 ± 0.01	6.77 ± 0.53	5.69 ± 0.53
18:1 t	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.26 ± 0.00
18:1 ω9	9.08 ± 0.26	8.95 ± 0.10	23.12 ± 9.25	33.04 ± 10.56
18:1 ω7	3.28 ± 4.92	0.43 ± 0.00	1.12 ± 0.31	1.30 ± 0.09
18:2 ωt	0.07 ± 0.00	0.05 ± 0.02	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.24
18:2 ω6	43.91 ± 0.10	43.96 ± 0.11	28.90 ± 7.29	24.77 ± 5.03
18:3 ω6	0.02 ± 0.0	0.01 ± 0.01	0.45 ± 0.28	0.21 ± 0.07
18:3 ω3	1.55 ± 0.00	1.59 ± 0.03	2.63 ± 0.31	2.24 ± 0.26
20:0	2.32 ± 0.03	2.31 ± 0.06	-	-
20:1 ω	0.33 ± 0.00	0.32 ± 0.01	0.67 ± 0.26	0.45 ± 0.11
21:0	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.00	1.24 ± 0.00	0.71 ± 0.00
20:2 ω6	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.85 ± 0.00	-
20:3 ω6	-	-	-	-
22:0	0.55 ± 0.01	0.56 ± 0.00	0.43 ± 0.08	0.33 ± 0.09
22:1 ω9	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.55 ± 0.04	-
20:5 ω3	-	0.01 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.41 ± 0.18
23:0	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.00	-	-
22:2 ω6	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.46 ± 0.04	-
24:0	0.21 ± 0.00	0.21 ± 0.00	0.21 ± 0.00	-
24:1 ω9	-	-	-	-
SFA	44.13 ± 0.10	44.20 ± 0.06	38.36 ± 3.19	32.51 ± 4.73
MUFA	9.47 ± 0.20	9.37 ± 0.11	25.44 ± 8.94	35.54 ± 9.82
PUFA	45.54 ± 0.09	45.61 ± 0.10	32.57 ± 7.60	27.22 ± 5.35
trans	0.03 ± 0.04	0.07 ± 0.02	0.20 ± 0.34	0.51 ± 0.21
ω6/ω3	28.35 ± 0.10	27.77 ± 0.61	11.29 ± 1.40	11.09 ± 0.90
UI	102.16 ± 0.12	102.29 ± 0.12	94.00 ± 7.89	93.10 ± 2.17

SFA=κορεσμένα λιπαρά οξέα, MUFA= μονοακόρεστα λιπαρά οξέα,

PUFA= πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, $\omega 6/\omega 3$ = λόγοι $\omega 6$ προς $\omega 3$ λιπαρών οξέων, UI= δείκτης ακορεστότητας (unsaturation index)

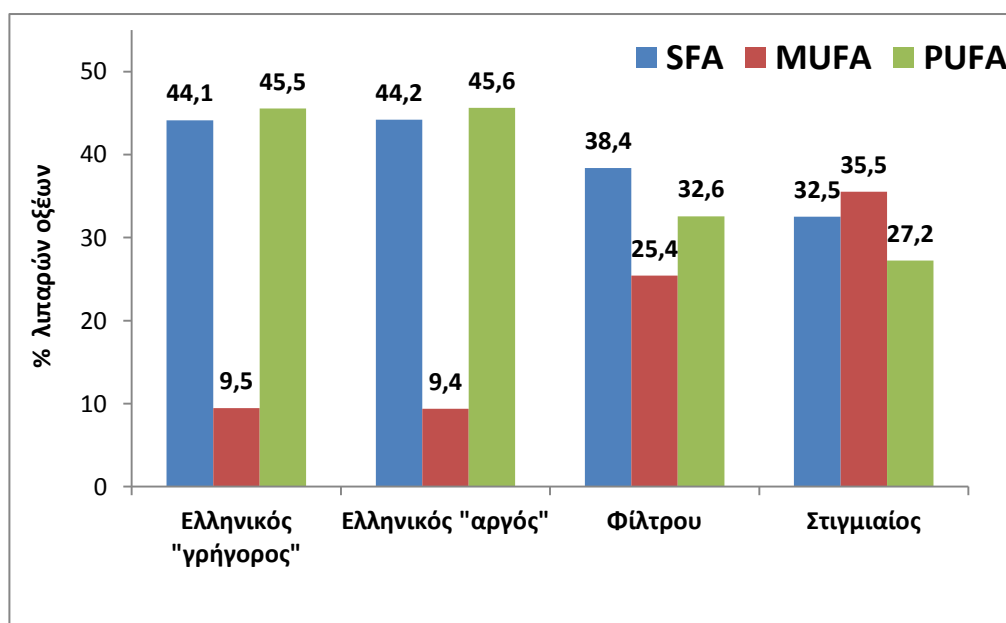
Σχήμα 3.2 Αεριοχρωματογράφημα GC-FID λιπαρών οξέων σε ρόφημα Ελληνικού καφέ.



Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 3.5, στα δείγματα Ελληνικού καφέ τα κορεσμένα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα κυριαρχούν με παρόμοια ποσοστά, ενώ τα μονοακόρεστα είναι <10%.

Αντίθετα στα δείγματα φίλτρου και στιγμιαίου τα μονοακόρεστα είναι σημαντικά αυξημένα (25 και 35% αντίστοιχα) με επακόλουθη μείωση των κορεσμένων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (Σχήμα 3.3). Οι διαφοροποιήσεις αυτές οφείλονται προφανώς στις ποικιλίες καφέ που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία των εμπορικών δειγμάτων καφέ τα ροφήματα των οποίων αναλύθηκαν.

Σχήμα 3.3 Κύριες τάξεις λιπαρών οξέων στα λιπίδια των ροφημάτων καφέ SFA=κορεσμένα,



MUFA=μονοακόρεστα, PUFA=πολυακόρεστα λιπαρά οξέα

Τα αποτελέσματα προσδιορισμού φυτοστερολών στα ροφήματα καφέ παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.6, από τον οποίο είναι φανερό ότι ο ελληνικός καφές γρήγορης και αργής κατανάλωσης, έχουν σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση φυτοστερολών σε σύγκριση με τον καφέ φίλτρου και το στιγμιαίο καφέ. Σε όλα τα δείγματα υπερτερεί η β-σιτοστερόλη, ακολουθούμενη από την στιγμαστερόλη και την καμπεστερόλη.

Πίνακας 3.6 Φυτοστερόλες (μg/100mL) σε ροφήματα καφέ

Δείγμα	Καμπεστερόλη	Στιγμαστερόλη	β-σιτοστερόλη
Ελληνικός «γρήγορος»	103,4 ± 9,5	83,5 ± 8,4	334,2 ± 34,7
Ελληνικός «αργός»	95,8 ± 3,2	76,4 ± 3,7	307,3 ± 15,8
Φίλτρου	0,61 ± 0,07	0,66 ± 0,09	2,5 ± 0,5
Στιγμιαίος	0,53 ± 0,12	0,44 ± 0,13	3,1 ± 0,8

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι θετικές επιδράσεις του καφέ στην ανθρώπινη υγεία αποδίδονται στην παρουσία βιοδραστικών ενώσεων με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση και ικανότητα δέσμευσης ελευθέρων ριζών, ιδιαίτερα των πολυφαινόλων, ανάμεσα στις οποίες κυριαρχεί το χλωρογενικό οξύ, ακολουθούμενο από το καφεϊκό, το φερουλικό, το π-κουμαρικό οξύ κ.α. (54).

Τα χλωρογενικά οξέα αποτελούν το 6 % έως 10% του ξηρού βάρους του καφέ, και απαντώνται σε τρεις κύριες ομάδες: i) καφεοϋλοκινικά οξέα (CQAs), με πιο άφθονο το 5-O-καφεοϋλοκινικό οξύ ii) τα φερουλοϋλοκινικά οξέα και iii) καφεοϋλοκινικά οξέα συζευγμένα με τυροσίνη, θρυπτοφάνη ή φαινυλαλανίνη (54).

Από τον **πίνακα 3.4**, παρατηρούμε ότι ο ελληνικός καφές γρήγορης κατανάλωσης περιέχει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χλωρογενικό οξύ σε σύγκριση με τους υπόλοιπους καφέδες, και σε δεύτερη θέση βρίσκεται ο ελληνικός αργής κατανάλωσης, ενώ την τελευταία θέση σε περιεκτικότητα, καταλαμβάνει ο καφές φίλτρου.

Στη συνέχεια από τον **πίνακα 3.6** σημειώνεται ότι ο ελληνικός καφές γρήγορης και αργής κατανάλωσης, περιέχουν σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις στερολών σε σύγκριση με τον καφέ φίλτρου και το στιγμιαίο καφέ. Η β-σιτοστερόλη έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση σε όλα τα δείγματα.

Γενικά, ο καφές αποτελεί μια αξιόλογη πηγή αντιοξειδωτικών το περιεχόμενο των οποίων είναι συγκρίσιμο με το αντίστοιχο ενώσεων που βρίσκονται στο τσάι και το κρασί. Ωστόσο, η περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και αντιοξειδωτικά των καφέδων εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη μέθοδο παρασκευής.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. «Current Worldwide Annual Coffee Consumption per capita».
2. <http://newpartisan.squarespace.com/home/suave-molecules-of-mocha-coffee-chemistry-and-civilization.html>
3. <http://wol.jw.org/el/wol/d/r11/lp-g/102006087#h=3>
4. Allen, Stewart Lee (1999). *The Devil's Cup: Coffee, the Driving Force in History*.
5. <http://www.coffeeresearch.org/agriculture/varietals.htm>
6. <http://www.veg-world.com/articles/growing-coffee.htm>
7. <http://www.coffeeresearch.org/agriculture/environment.htm>
8. <http://www.ncausa.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=69>
9. <http://www.ncausa.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=69>
10. "Field Processing". *International Coffee Organization*. Retrieved 2007-12-25.
11. Onakpoya, I; Terry, R; Ernst, E (2011). "The use of green coffee extract as a weight loss supplement: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials."
12. Emden, Lorenzo. (2014) "Decaffeination 101: Four Ways to Decaffeinate Coffee". *CoffeeConfidential*.
13. <http://www.chem.uoi.gr/sites/default/files/mathimata>
14. <http://www.geneplanet.com/genetic-analysis/list-of-analyses/caffeine-metabolism.html>
15. <http://www.caffeineinformer.com/caffeine-metabolism>
16. <http://coffeeandhealth.org/topic-overview/cardiovascular-2/>
17. <http://www.marchofdimes.org/pregnancy/caffeine-in-pregnancy.aspx>
18. <http://www.healthline.com/health/coffee-s-effect-diabetes>
19. <http://coffeeandhealth.org/topic-overview/cancer/>
20. Eskelinen M.H. et al. (2009) Midlife coffee and tea drinking and the risk of late-life dementia: a population-based CAIDE study. *J Alzheimers Dis*, 16:85-91.
21. Tohda C. et al. (2005) Search for natural products related to regeneration of the neuronal network. *Neurosignals*, 14:34-45
22. Tohda C. et al. (1999) Trigonelline-induced neurite outgrowth in human neuroblastoma SK-N-SH cells. *Biol Pharm Bul*, 22:679-82.
23. Kim H.S. et al. (2004) Inhibitory effects of long-term administration of ferulic acid on microglial activation induced by intracerebroventricular injection of beta-amyloid peptide (1-42) in mice. *Biol Pharm Bull*, 27:120-1.
24. Cho J.Y. et al. (2005) Inhibitory effects of long-term administration of ferulic acid on astrocyte activation induced by intracerebroventricular injection of beta-amyloid peptide (1-42) in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29:901-7.
25. European Parkinson's Disease Association (2011) 'Life with Parkinson's' Available at: <http://www.epda.eu.com/welcome/>
26. Hernan M.A. et al. (2002) A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 52:276-84.
27. Costa J. et al. (2010) Caffeine exposure and the risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Alzheimers Dis*, 20 Suppl 1:S221-38.
28. Ascherio A. et al. (2003) Caffeine, postmenopausal estrogen, and risk of Parkinson's disease. *Neurology*, 60:790-5.

29. Palacios N. et al. (2010) Polymorphisms of caffeine metabolism and estrogen receptor genes and risk of Parkinson's disease in men and women. *Parkinsonism RelatDisord*, 16:370-5.
30. Postuma R.B. et al. (2012), Caffeine for treatment of Parkinson disease: A randomized controlled trial. *Neurology*, 79(7): 651–658.
31. Burke L.M. (2008) Caffeine and sports performance. *ApplPhysiolNutrMetab*. 33(6):1319-34. doi: 10.1139/H08-130.
32. Hodgson A.B. et al. (2013) The metabolic and performance effects of caffeine compared to coffee during endurance exercise. *PLoS One*. 8(4):e59561.
33. Gliottoni R.C. et al. (2009) Effect of Caffeine on Quadricep Pain During Acute Cycling Exercises in Low Versus High Caffeine Consumers. *J. Sport Nutrition Exercise Metabolism*, 19, 150-161.
34. Astorino T.A. et al. (2011) Effect of caffeine intake on pain perception during high-intensity exercise, *Int J Sport NutrExercMetab*, 21(1):27-32
35. Astorino T.A. et al. (2009) Efficacy of Acute Caffeine Ingestion for short-term high-intensity exercise performance: A Systematic Review. *StrengthandConditioningResearch* nsca.jscr.org
36. Astorino T.A. et al. (2010) Effect of Two Doses of Caffeine on Muscular Function during Isokinetic Exercise *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2010, DOI: 10.1249/MSS.0b013e3181e3a11d
37. Armstrong L.E. (2002). Caffeine, body fluid-electrolyte balance, and exercise performance. *Int J Sport Nutr and ExercMeta.b*, 12, 205-222.
38. Killer S. C. et al. (2014) No Evidence of Dehydration with Moderate Daily Coffee Intake: A Counterbalanced Cross-Over Study in a Free-Living Population. *PLoS ONE*,9(1): e84154.
39. Goldstein E.R. et al. (2010) Position Stand: caffeine and performance, *J. International Society of Sports Nutrition* www.jissn.com/content/7/1/5
40. European Food Safety Authority (2015) Scientific Opinion on the Safety of Caffeine. EFSA, Palma, Italy.
41. Winston AP, Hardwick E, Jaber N (2005). "Neuropsychiatric effects of caffeine". *Advances in Psychiatric Treatment*.
42. Iancu I, Olmer A, Strous RD (2007). "Caffeinism: History, clinical features, diagnosis, and treatment". In Smith BD, Gupta U, Gupta BS. *Caffeine and Activation Theory: Effects on Health and Behavior*.
43. "Caffeine (Systemic)" (2009) MedlinePlus.
44. "Caffeine overdose". (2009) MedlinePlus.
45. "FDA Consumer Advice on Powdered Pure Caffeine" (2014).
46. Peters JM (1967). "Factors Affecting Caffeine Toxicity: A Review of the Literature". *The Journal of Clinical Pharmacology and the Journal of New Drugs*
47. Murray Carpenter. "Caffeine powder poses deadly risks". *NewYorkTimes* (2015).
48. Rodopoulos N, Wisén O, Norman A (May 1995). "Caffeine metabolism in patients with chronic liver disease". *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*
49. Column: DB-5MS capillary column (J&W Scientific, Folsom, CA, USA).
50. Cämmerer&Kroh, 2006; Parras,Martinez-Tome, Jimenez, &Murcia,2007