



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

ΘΕΜΑ:

**ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ
ΚΑΦΕΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΚΑΦΕ**

Σπουδάστρια:

ΑΛΥΣΑΝΔΡΑΤΟΥ ΕΛΕΝΗ

Επιβλέπων Καθηγητής:

ΦΑΡΜΑΚΗΣ ΛΑΜΠΡΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2010

Στους γονείς μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ πολύ τον καθηγητή και υπεύθυνο της πτυχιακής μου κ. Φαρμάκη Λάμπρο που μου εμπιστεύτηκε το θέμα αυτό και που η βοήθεια και καθοδήγησή του υπήρξε καταλυτική στην ολοκλήρωση της συγκεκριμένης εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου για την ηθική και οικονομική συμβολή και στήριξή τους στην ολοκλήρωση των σπουδών μου.

Τελειώνοντας, νιώθω την υποχρέωση να ευχαριστήσω όλους όσους πίστεψαν σε μένα και με ενέπνευσαν να συνεχίσω την αναζήτηση και κατανόηση της επιστημονικής γνώσης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....	4
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	
1. Βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	5
1.1. Μια σύντομη αναδρομή στην ιστορία του καφέ.....	5
1.2. Το δέντρο του καφέ.....	9
1.3. Κύριες ποικιλίες	12
1.4. Ταξινόμηση των κόκκων	14
1.5. Η γεύση του καφέ-Χαρακτηριστικά και ορολογία..	16
1.5.1. Η οξύτητα	16
1.5.2. Άρωμα	18
1.5.3. Σώμα	18
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	
2. Χημική σύσταση του καφέ.....	19
2.1. Εισαγωγή.....	19
2.2. Πρωτεΐνες.....	20
2.3. Υδατάνθρακες.....	20
2.4. Λιπίδια.....	21
2.5. Οξέα.....	21
2.6. Τρυγονελλίνη, Νικοτινικό Οξύ.....	21
2.7. Αρωματικές Ουσίες.....	22
2.8. Ιχνοστοιχεία.....	23
2.9. Άλλα συστατικά.....	23
2.10. Καφεΐνη.....	24
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	
3. Η καφεΐνη.....	28
3.1. Σύνθεση της καφεΐνης.....	28
3.2. Τεχνικές αποκαφεΐνωσης.....	29
3.2.1. Swiss Water	30
3.2.2. Παραδοσιακή-άμεση μέθοδος.....	31

3.2.3. Υπέρθερμου ατμού υπό υψηλή πίεση.....	32
3.2.4. Υγρού διοξειδίου του άνθρακα.....	32
3.2.5. Υψηλής πίεσης.....	34
3.2.6. Με χρήση οργανικών διαλυτών	35
3.2.7. Άλλες τεχνικές.....	36
3.3. Μεταβολισμός καφεΐνης.....	36
3.4. Φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες.....	38
3.5. Επίδραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα.....	38
3.6. Επίδραση στο καρδιομυϊκό σύστημα.....	40
3.7. Επίδραση στη νεφρική λειτουργία.....	42
3.8. Επίδραση στο αναπνευστικό σύστημα.....	42
3.9. Κατανάλωση καφέ και κακοήθεις νεοπλασίες.....	43
3.10. Επίδραση στο μυϊκό σύστημα.....	44
3.11. Επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα.....	44
3.12. Επίδραση στο μεταβολισμό.....	45
3.13. Επίδραση στη γονιμότητα και στην εγκυμοσύνη.....	46
3.14. Ασφάλεια και τοξικότητα.....	47
3.15.Θεραπευτικές χρήσεις.....	49
3.16. Βιοχημικοί μηχανισμοί στη δράση της καφεΐνης.....	49
3.17. Προσδιορισμός καφεΐνης.....	51

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4. Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού.....	53
4.1. Εισαγωγή.....	53
4.2. Νόμος Beer-Lambert.....	56
4.3. Μέτρηση της διαπερατότητας και της απορροφήσεως.....	58
4.4. Αρχή λειτουργίας φασματοφωτομετρίας υπεριώδους-ορατού (UV-VIS).....	61
4.5. Φάσματα απορροφήσεως υπεριώδους-ορατού.....	62
4.6. Αποκλίσεις από τον νόμο των Beer.....	63
4.7. Φωτομετρική ακρίβεια-Βέλτιστη περιοχή απορροφήσεως.....	65
4.8. Η πορεία της ποσοτικής φασματοφωτομετρικής ανάλυσης.....	67
4.9. Εφαρμογές της φασματοφωτομετρίας υπεριώδους-ορατού.....	73

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5. Προσδιορισμός καφεΐνης.....	74
5.1. Παρασκευή διαλύματος βασικού οξικού μολύβδου.....	74
5.2. Προσδιορισμός της % περιεκτικότητα σε καφεΐνη.....	74
5.2.1. Εξαγωγή των αλκαλοειδών.....	74
5.2.2. Διαχωρισμός της καφεΐνης από τα άλλα αλκαλοειδή.....	74
5.3. Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της καφεΐνης.....	75
5.3.1. Φάσμα υπεριώδους-ορατού της καφεΐνης.....	75
5.3.2. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης.....	76
5.3.3. Μέτρηση απορρόφησης της καφεΐνης.....	77
5.3.4. Υπολογισμός της ποσότητας της καφεΐνης.....	77
5.4. Στατιστικός έλεγχος πειραματικών αποτελεσμάτων	78
5.4.1. Ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA) ως προς την συγκέντρωση καφεΐνης διαφορετικών δειγμάτων καφέ “espresso” ..	78
5.4.2. Έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων.....	78
5.4.3. Έλεγχος της κανονικότητας της στήλης υπολειμμάτων.....	79
6. Συζήτηση – Συμπεράσματα.....	82
7. Βιβλιογραφία.....	83

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο καφές εξαπλώθηκε σε όλη την Ευρώπη, από την Αφρική. Η σύσταση του εξαρτάται από την ποικιλία, την περιοχή προέλευσης και τις κλιματολογικές συνθήκες (Belitz & Grosch, 1999). Δύο είναι οι κύριες ποικιλίες καφέ που κατακλύζουν την παγκόσμια αγορά, η Arabica και η Robusta.

Το βασικότερο συστατικό του καφέ είναι η καφεΐνη. Η καφεΐνη, η θεοβρωμίνη και η θεοφυλλίνη είναι τα τρία κυριότερα συστατικά του καφέ και ονομάζονται μεθυλοξανθίνες.

Η περιεκτικότητα της καφεΐνης στους κόκκους καφέ της ποικιλίας Arabica είναι 0.8-2.5% ενώ της ποικιλίας Robusta το ποσοστό μπορεί να φτάσει μέχρι και 4%(Lee, 1975).

Η καφεΐνη έχει αντιοξειδωτική ικανότητα και ραδιοπροστατευτική επίδραση στους ιστούς (Lee et al.,2000). Αντίθετα με το χλωρογενικό οξύ, η καφεΐνη ταχύτατα και αποτελεσματικά απορροφάτε από τον ανθρώπινο οργανισμό και μεταβολίζεται στο ήπαρ (Crews et al.,2001), και παράγονται διμεθυλοξανθίνες και μεθουλικό οξύ, τα οποία θεωρούνται αντιοξειδωτικά (Lee et al.,2000; Crews et al.,2001).

Μέχρι τα τέλη του 19^{ου} αιώνα όλες αυτές οι μεθυλοξανθίνες είχαν συντεθεί εργαστηριακά. Η φυσική και η συνθετική καφεΐνη έχουν πολλές χρήσεις αφού χρησιμοποιούνται ως γευστικοί παράγοντες στα τρόφιμα και τα ποτά, για την Παρασκευή φαρμακευτικών προϊόντων αλλά και ως ναρκωτικές ουσίες (Macrae et al., 1993).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΦΕ

1.1. Μια σύντομη αναδρομή στην ιστορία του καφέ

«Μια φορά και έναν καιρό, σε ένα μακρινό τόπο που ονομαζόταν Αιθιοπία – ή ίσως Αβησσυνία, εξάλλου μιλάμε για περισσότερα από χίλια χρόνια πριν – ζούσε ένας νέος βοσκός που ονομαζόταν Kaldi. Σύμφωνα με όλες τις ιστορίες και μαρτυρίες (και πιστέψτε με είναι αρκετές, μιας και η ιστορία έχει ειπωθεί πάρα πολλές φορές) ο Kaldi ήταν ένας αρκετά υπεύθυνος νεαρός, ο οποίος δεν έκανε ή έλεγε ανοησίες όπως οι υπόλοιποι συνομήλικοί του.



Κάθε απόγευμα ο Kaldi άφηνε ελεύθερα τα κατσίκια του για να βοσκήσουν μόνα τους, στον λόφο που ήταν δίπλα στο χωριό του και το απόγευμα αυτά επέστρεφαν στο σπίτι. Αυτό βεβαίως, απαιτούσε και την υπευθυνότητα των κατσικιών. Ήταν μεγάλη απόφαση το να αφήνει κάποιος ελεύθερα τα ζώα του και να περιμένει κάθε απόγευμα να γυρίσουν μόνα τους πίσω. Κάλλιστα θα μπορούσε να χαρακτηριστεί κοντό.

Ένα απόγευμα λοιπόν, τα κατσικάκια δεν επέστρεψαν σπίτι. Ο νεαρός της ιστορίας μας, χωρίς αμφιβολία αισθάνθηκε λίγο κοντός και βγήκε για να αναζητήσει τα ζώα του. Έψαχνε όλη νύχτα και τελικά τις πρώτες πρωινές ώρες τα βρήκε, να τρώνε τα φύλλα και τους καρπούς ενός μικρού δέντρου και να τριγυρνάνε συνεχώς γύρω του. Τόσο έντονη ήταν η υπερκινητικότητα τους, που νόμιζες ότι χόρευαν.



Σχεδόν αμέσως συνειδητοποίησε ότι θα πρέπει να φταίνε οι καρποί αυτού του δέντρου, για την συμπεριφορά των κατά τα άλλα υπεύθυνων ζώων του και ξεχνώντας τα όσα τον είχε συμβουλευσει η μητέρα του για τις άγνωστες σε αυτόν τροφές και την πιθανή επικινδυνότητα τους, ο Kaldi δοκίμασε μερικούς από τους μικρούς κόκκινους καρπούς του δέντρου. Μετά από λίγο, συνόδευε τα κατσίκια του στο χορό.



Την ίδια σχεδόν στιγμή, πάντα με τους μύθους, ένας ευγενής και μορφωμένος ιμάμης πέραγε από εκεί και ήταν μάρτυς της σκηνής. Βλέποντας τον χορό του Kaldi και των ζώων του, πήρε μερικούς από τους μαγικούς καρπούς και επέστρεψε σπίτι του γεμάτος περιέργεια για να τους μελετήσει. Στα πειράματα του λοιπόν, καβούρδισε και στην συνέχεια έβρασε τους καρπούς του δέντρου, δοκιμάζοντας μετά το παραγόμενο ρόφημα.



Μοιράστηκε με τους υπόλοιπους μοναχούς τα αποτελέσματα των ερευνών του και από εκείνο το σημείο και μετά, δεν κοιμόταν πια κανένας τους κατά την διάρκεια των προσευχών! Κάπως έτσι λοιπόν, διαδόθηκε η φήμη και το ρόφημα του καφέ από τόπο σε τόπο, δημιουργώντας έναν πιο ευχάριστο και 'ζύπνιο' κόσμο.

Τι έγινε όμως με τον Kaldi;



Πιθανώς αυτός και τα κατσικάκια του, χορεύουν ακόμη...»

Υπάρχουν πολλές παραλλαγές στην ιστορία του καφέ. Πολλοί ανθρωπολόγοι θεωρούν ότι η χρήση του ανάγεται στην παλαιολιθική εποχή. Η συστηματική καλλιέργεια του καφέ ξεκίνησε από την Αιθιοπία, απ' όπου διαδόθηκε στην Αραβία και σε άλλες ανατολικές χώρες κατά τον 4ο μ.Χ. αιώνα.

Πιστεύεται ότι οι Αιθίοπες ανακάλυψαν τις ιδιότητες του καφέ, διαπιστώνοντας ότι τα ζώα τους ανακτούσαν τη ζωνηράδα τους, όταν έτρωγαν καρπούς από τα δενδρύλλια του καφέ. Το αρωματικό αφέψημα του καφέ αξιοποίησαν μοναχοί και του απέδιδαν ακόμη και ιερές ιδιότητες, αφού τους βοηθούσε να μένουν άγρυπνοι κατά τις ολονύκτιες προσευχές τους.

Κατά τον μεσαιώνα δενδρύλλια καφέ καλλιεργούνται στην περιοχή της Ερυθράς Θάλασσας από 'Αραβες, οι οποίοι με κάθε τρόπο προσπαθούν να

διατηρήσουν το μονοπώλιο της καλλιέργειάς του και απαγόρευαν την εξαγωγή του φυτού. Ωστόσο, καρποί του φυτού μεταφέρθηκαν λαθραία σε περιοχές της Ινδίας, όπου ξεκίνησε και εκεί η καλλιέργειά του.

Το 1470 ο καφές φθάνει στη Μέκκα, όπου δημιουργούνται τα πρώτα καφενεία, παρά τις απαγορεύσεις στην κατανάλωσή του με το αιτιολογικό ότι όσοι έπιναν καφέ παραμελούσαν τα θρησκευτικά τους καθήκοντα. Το 1554 ο καφές φθάνει από τη Δαμασκό στην Κωνσταντινούπολη και ανοίγει εκεί το πρώτο καφενείο, όπου πλέον γίνεται ένα δημοφιλές ρόφημα. Εκεί, γνωρίζουν τον καφέ και οι ευρωπαίοι ταξιδιώτες προς την Ανατολή, γοητεύονται από τις ιδιότητές του και αρχίζει η διάδοσή του στις δυτικές ευρωπαϊκές χώρες ξεκινώντας από τη Βενετία. Και στις χώρες αυτές το νέο αυτό ρόφημα αντιμετωπίζεται αρχικά με καχυποψία και ως ποτό των "απίστων". Τελικά, το 1600 ο Πάπας Κλήμης VIII, ευχαριστημένος από το άρωμα και τη γεύση του, βαπτίζει τον καφέ "χριστιανικό" παρά τις προτροπές των συμβούλων του για το αντίθετο.

Το 1723 ένας Γάλλος αξιωματικός παράνομα μεταφέρει στη Μαρτινίκα δενδρύλλια καφέ από τον βοτανικό κήπο του Παρισιού. Από εκεί το 1727, ένας Πορτογάλος αξιωματικός μεταφέρει βλαστούς στη Βραζιλία, που επρόκειτο τελικά να γίνει η μεγαλύτερη καφεπαραγωγός χώρα του κόσμου.

Πίνακας 1: Η πορεία της ιστορίας του καφέ

ΕΤΟΣ (μ.Χ.)	ΓΕΓΟΝΟΣ
800	Η εμφάνιση του καφέ στην Κάφα της Αιθιοπίας
850	Αρχαιολογικά ευρήματα στα εμιράτα επιβεβαιώνουν την ύπαρξη καβουρντισμένου καφέ στη Μέση Ανατολή.
1100	Οι πρώτες φυτείες καφέ στην Αραβική Χερσόνησο.
1400	Ντοκουμέντα Αράβων φυσικών (Avicenna και Al-Rhases) κάνουν λόγο για τη θεραπευτική χρήση του καφέ.
1475	Το πρώτο καφέ ανοίγει στην Κων/πολη και το 1554 καθιερώνονται.
1592	Ο βοτανολόγος και φυσικός Prosperus Alpinius περιγράφει το φυτό και τη δημοφιλή χρήση του στην Αίγυπτο.
1615	Εισαγωγή και διάδοση στην Ευρώπη όχι μόνο ως φάρμακο αλλά και ως καταναλωτικό ρόφημα, μέσω του λιμανιού της Βενετίας.

1645	Το πρώτο café ανοίγει στη Βενετία.
1652	Το πρώτο café ανοίγει στο Λονδίνο.
1672	Το πρώτο café ανοίγει στο Παρίσι.
1683	Το πρώτο café ανοίγει στη Βιέννη.
1690	Το πρώτο café ανοίγει στη Αμβούργο.
1691	Οι Ολλανδοί εξάγουν φυτά καφέ από την Υεμένη στις αποικίες τους, στην Ινδονησία, Γκάνα, κ.λ.π.
1700	Το φυτό εξάγεται από τις Αραβικές χώρες στον υπόλοιπο κόσμο.
1723	Οι Γάλλοι εισάγουν το φυτό στις Αντίλλες.
1727	Οι Πορτογάλλοι εισάγουν το φυτό στη Βραζιλία.
1730	Οι Βρετανοί εισάγουν το φυτό στην Κεϋλάνη, Τζαμάικα, Κούβα και Κεντρική Αμερική.
1730	Οι Ισπανοί εισάγουν το φυτό στην Κολομβία.
1763	Η Βενετία έχει πάνω από 1500 καταστήματα καφέ.
1822	Δημιουργείται το πρωτότυπο της πρώτης μηχανής espresso στη Γαλλία.
1905	Η πρώτη εμπορική μηχανή espresso κατασκευάζεται στην Ιταλία.
1908	Η εφεύρεση της μηχανής ενστάλαξης (φίλτρου).
1933	Η πρώτη αυτόματη μηχανή espresso κατασκευάζεται στην Ιταλία.
1938	Η ανακάλυψη του στιγμιαίου καφέ από την Nestle (Ελβετία).
1995	Ο καφές είναι το δημοφιλέστερο ποτό στον κόσμο.

1.2. Το δέντρο του καφέ

Στο σύστημα ταξινόμησης του Λιναιού, η καφέα (coffea), είναι ένα δικοτυλήδονο φυτό το οποίο ανήκει στην οικογένεια των ρουβιϊδών (rubiaceae). Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει 4500 ποικιλίες από τις οποίες 60 ανήκουν στην ομάδα του καφέ. Από αυτές τις 60 ποικιλίες, μόνο 25 έχουν εμπορική σημασία για τους καρπούς τους και από αυτές οι ακόλουθες τέσσερις καταλαμβάνουν την κύρια μερίδα στην εμπορική κίνηση του καφέ: η *Coffea arabica*, η *Coffea canephora* (ή *robusta*), η *Coffea liberica* και η *Coffea excelsa*.



Εικόνα 1: Καφεόδεντρο ποικιλίας Arabica –Βραζιλία

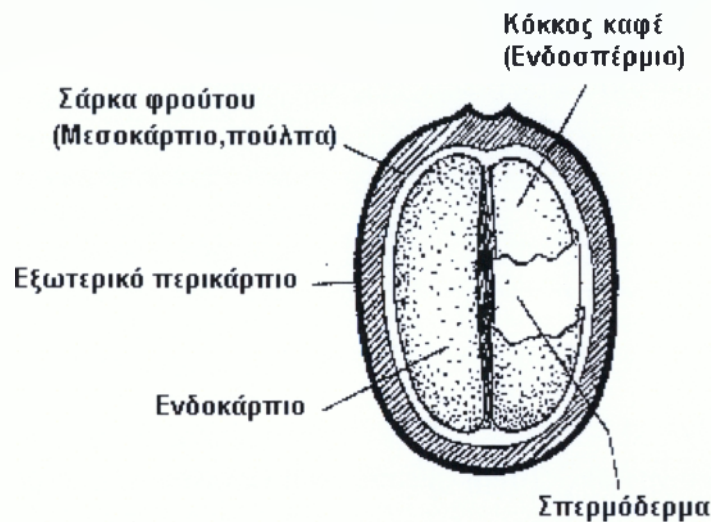
Η καφέα είναι αειθαλές φυτό, με διάρκεια ζωής 20 έως 40 χρόνια. Ευδοκίμει σε τροπικά ύψη (600-1200 m), σε ήπιες σταθερές θερμοκρασίες (15 – 25 °C), με βροχές και ηλιοφάνεια. Ανάλογα με το είδος μπορεί να φτάσει τα 3-12 μέτρα ύψος, αλλά συνήθως κλαδεύεται και διατηρείται σε ύψος 1,20 - 1,50 μέτρων ώστε να διευκολύνεται η συγκομιδή. Καρπίζει στα 4-5 χρόνια και καρποφορεί για 40 χρόνια αλλά η μέγιστη σοδειά επιτυγχάνεται μετά από 10 – 15 χρόνια. Ο αειθαλής αυτός θάμνος διαθέτει σαρκώδεις και κοντούς μίσχους και άνθη με ευωδιά γιασεμιού από τα οποία αναπτύσσονται σκληροί καρποί που έχουν την όψη κερασιού με διάμετρο περίπου 1,5cm. Ο αρχικά πράσινος καρπός του ωριμάζει σε 9-11 μήνες αποκτώντας κόκκινο χρώμα, μοιάζοντας σε όψη και μέγεθος με το κεράσι. Κάθε καρπός έχει δύο πυρήνες (κουκούτσια) που είναι ονομαζόμενοι κόκκοι (beans) του καφέ.



Εικόνα 2: Πράσινοι και κόκκινοι καρποί καφέας

Ο εξωτερικός φλοιός του καρπού του καφέ ονομάζεται *εξωκάρπιο*. Κάτω από αυτόν βρίσκεται το *μεσοκάρπιο*, ένα λεπτό στρώμα σάρκας, το οποίο διαδέχεται

εσωτερικά ένα λεπτότερο στρώμα που αποκαλείται *παρέγχυμα*. Το ζεύγος των κόκκων καφέ καλύπτεται από ένα περγαμνοειδή περίβλημα, το *ενδοκάρπιο*, κοινώς γνωστό ως περγαμνή. Μέσα στην περγαμνή συγκατοικούν δυο κόκκοι, καθένας εκ των οποίων περιβάλλεται ξεχωριστά από ένα στρώμα λεπτής, κτρινωπής μεμβράνης. Η βιολογική ονομασία αυτής της μεμβράνης είναι *σπερμόδερμα*, ωστόσο στο εμπόριο του καφέ έχει επικρατήσει ο όρος «*ασημένιος φλοιός*» (επόμενο σχήμα).



Σχήμα 1: Φυσιολογία του καρπού του καφέ (Belitz & Grosch, 1999)

Οι κόκκοι αρχικά δεν έχουν ούτε την οσμή ούτε τη γεύση του καφέ. Τα χαρακτηριστικά αυτά τα αποκτούν με το καβούρδισμα (roasting). Στη συνέχεια, οι καβουρδισμένοι κόκκοι υπόκεινται σε άλεσμα (grinding), που παρέχει τον γνωστό καφέ σε μορφή σκόνης.

Το καβούρδισμα αποτελεί το στάδιο που καθορίζει την ποιότητα του καφέ, απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και εμπειρία και θεωρείται κάτι σαν "τέχνη". Ένα δενδρύλλιο καφέας παράγει κατά μέσο όρο 2,5 κιλά καρπών τον χρόνο που δίνουν 500 gr άψητων (πράσινων) κόκκων, τα οποία αντιστοιχούν σε 400 gr καβουρδισμένου καφέ.

1.3. Κύριες ποικιλίες

Υπάρχουν δύο βασικές ποικιλίες καφέ που προορίζονται για την κατανάλωση, ο Robusta και ο Arabica. Από τις δύο βασικές ποικιλίες καφέας παράγονται περίπου ετησίως περίπου 7 εκατομμύρια τόνοι καφέ. Το 70% παράγεται από την arabica και το 30% από τη robusta (βλ. πίνακα 1).

Πίνακας 2: Παγκόσμια παραγωγή καφέ

70% ARABICA	30% ROBUSTA
30% Βραζιλία (φυσικοί)	10% Αφρική
20% Κεντρική Αμερική-Κολομβία-Περού- Εκουαδόρ (πλυμένοι)	20% Ινδονησία, Βιετνάμ.
10% Αφρική	
10% Ασία	

Η arabica έχει μια γεμάτη γεύση, ελαφρώς όξινη και συχνά παρουσιάζει «σοκολατοειδείς» αποχρώσεις. Το άρωμά της είναι έντονο και η κρέμα της έχει το χρώμα του φουντουκιού που τείνει στο κοκκινωπό με μια ευχάριστη νότα πικράδας. Η Arabica είναι πολύ ευαίσθητη στη ζέστη και την υγρασία: αναπτύσσεται σε απότομες βουνοπλαγιές με υψόμετρο από 900 έως 2000 μέτρα, όμως όσο μεγαλύτερο το υψόμετρο των καλλιεργειών τόσο καλύτερες θα είναι οι οργανοληπτικές ιδιότητες του ψημένου κόκκου. Ο κόκκος Arabica καφέ έχει σχήμα μακρόστενο, με μια αυλάκωση σχήματος S, χρώμα πράσινο (περισσότερο ή λιγότερο έντονο) με γαλάζιες αποχρώσεις: η ποσότητα καφεΐνης ποικίλει από 1,2% ως 1,7%. Παρέχει καφέ υψηλής ποιότητας, τον μόνο που δεν αναμιγνύεται με άλλες ποικιλίες.

Η robusta, όπως λέει και το όνομά της, αντέχει στο ζεστό κλίμα και στα παράσιτα. Διαδεδομένη στα τροπικά πεδινά, αναπτύσσεται σε υψόμετρο από 200 ως 600 μέτρα. Ο καφές από Robusta είναι πιο “ακανθώδης”, λιγότερο αρωματικός και πιο πικρός, και με μια καφετί κρέμα που τείνει στο γκρι. Ο κόκκος είναι πιο στρογγυλός, με ευθεία αυλάκωση, χρώμα πράσινο με γκρι αποχρώσεις. Το περιεχόμενο σε καφεΐνη είναι μεγαλύτερο ανάμεσα σε 1,6% και 3,2%.

Επειδή οι κόκκοι καφέ της arabica θεωρούνται ανώτερης ποιότητας, η robusta χρησιμοποιείται συνήθως για την παραγωγή καφέ χαμηλής ποιότητας και για χαρμάνια (blends) π.χ. για “καφέ φίλτρου”, όπως και για την παραγωγή στιγμιαίου

καφέ (instant coffee). Η περιεκτικότητα σε καφεΐνη των κόκκων της robusta είναι περίπου διπλάσια από εκείνη της arabica.

Το είδος που, κυρίως, καλλιεργείται στη Βραζιλία είναι καφές Arabica ενώ καλλιεργείται και λίγη Robusta (ποικιλία Conillon) καθώς και ελάχιστη Αραμπούστα (νέο υβρίδιο που προήλθε από τη διασταύρωση Robusta και Arabica). Οι ποικιλίες της Arabica που καλλιεργούνται στη χώρα είναι οι Bourbon, Typica (amarelo), Catuira, Mundo novo, Sumatra, Catuai & Maragogype, η οποία είναι μεταλλαγή της Typica. Από εκεί και πέρα μπαίνουμε σε ένα δαίδαλο ποιοτήτων που καθορίζονται από την πολιτεία και την περιοχή καλλιέργειας καθώς και από το λιμάνι εξαγωγής (Knox & Huffaker, 1997).

Μπορούμε να πάρουμε μια νέα ιδέα για την ταξινόμηση διαφόρων ποιοτήτων μελετώντας στο χάρτη τις τέσσερις κύριες καφεπαραγωγικές πολιτείες της χώρας.

Η πολιτεία του Sao Paulo, για παράδειγμα, χωρίζεται σε 12 περιοχές καλλιέργειας (Alta Mogiana, Boixa Mogiana, Alta Media & Baixa Paulista, Alta Sorocabana κτλ.), οι ποιότητες των οποίων αξιολογούνται, επίσης, σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά τους στο φλιτζάνι (μαλακοί, γλυκοί ή όξινοι καφέδες) αλλά και με βάση το μέγεθος των κόκκων στο κόσκινο και τη συμπεριφορά τους στο καβούρδισμα, ενώ η πολιτεία του Espirito Santo χωρίζεται στη 45% Βόρεια και στη Νότια περιφέρεια. Χαρακτηριστικό του καφέ της δεύτερης είναι η ιδιαίτερη γεύση του που οφείλεται στο ιώδιο που φέρνουν οι άνεμοι από τον Ατλαντικό Ωκεανό.

Κατατάξεις και ταξινομήσεις των διαφόρων ποιοτήτων καφέ γίνονται ακόμα και με βάση τον αριθμό καθαρότητας ενός φορτίου, το μέγεθος ή το χρώμα των κόκκων, τη σκληρότητα και το σχήμα τους, την επεξεργασία τους, τη χρονιά παραγωγής κτλ.

Οι ΗΠΑ, Ιταλία, Γερμανία, Σουηδία, Γαλλία, Ιαπωνία, Αργεντινή, Δανία και Ισπανία αποτελούν τους κυριότερους πελάτες των Βραζιλιάνικων εξαγωγών καφέ ενώ η ίδια η Βραζιλία είναι η δεύτερη χώρα παγκοσμίως σε κατανάλωση καφέ, στην εσωτερική αγορά της οποίας διατίθεται ετησίως γύρω στα 8.000.000 σακιά (Γεράρδης, 1998).

Η ποιοτική εκτίμηση του πράσινου καφέ βασίζεται σε δοκιμές του αρώματός του και της γεύσης του, αλλά και στο μέγεθος, το σχήμα, το χρώμα, τη σκληρότητα και το διαγώνιο μέρος του σπόρου. Μεγάλα μειονεκτήματα ή ατέλειες οφείλονται κυρίως σε δυσάρεστα μη αρωματισμένους καρπούς, οι οποίοι απομακρύνονται με χειρονακτική διαλογή. Ελαττωματικοί σπόροι είναι κυρίως, οι αγίνωτοι σπόροι

(χλωροί σπόροι), οι οποίοι κατά τη διάρκεια του καβουρδίσματος παραμένουν ασθενώς χρωματισμένοι, οι υπερζυμωμένοι σπόροι με την απουσία αρώματος λόγω της παρουσίας οξικού οξέος, διακετυλίου, βουτανόλης και ίσο-βουτανόλης, σπόροι καμένοι από το κρύο και σπασμένοι σπόροι, σπόροι που έχουν καταστραφεί από τα έντομα και τις βροχοπτώσεις, και σπόροι που είναι υπερβολικά ξηροί. Ακόμα και ένας ακατάλληλος σπόρος μπορεί να καταστρέψει το μείγμα καφέ. Άλλες ατέλειες είναι το μουχλιασμένο και μπαγιάτικο άρωμα από μη ικανοποιητικά ξηραμένους και μη γινωμένους σπόρους, και γεύσεις όπως αυτή του χώματος και του σανού. Οι ποικιλίες καφέ που ευδοκιμούν σε μεγάλα υψόμετρα είναι γενικά καλύτερης ποιότητας από αυτές των πεδιάδων και των χαμηλότερων υψομέτρων (Pendergrast, 1999).

1.4. Ταξινόμηση των κόκκων

Όταν τελειώσει η φάση εξαγωγής του σπόρου έχουμε πλέον φθάσει στον πράσινο καφέ ο οποίος πρέπει να περάσει από διαλογή, χειρωνακτικά ή μηχανικά, ώστε να απομακρυνθούν οι υπερβολικά ώριμοι κόκκοι ή εκείνοι που έχουν αρχίσει τη ζύμωση. Σ' αυτό το σημείο ο καφές κατατάσσεται σύμφωνα με διάφορα χαρακτηριστικά. Ο πράσινος καφές ταξινομείται σύμφωνα με τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- 1) Παραγωγός χώρα
- 2) Μέθοδος επεξεργασίας
- 3) Χρονιά συγκομιδής
- 4) Βοτανολογική ποικιλία
- 5) Αριθμός ελαττωμάτων και καθαρότητα
- 6) Σχήμα και μέγεθος των κόκκων
- 7) Χρώμα
- 8) Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (συνήθως αναφέρονται μόνο στους Βραζιλιάνικους καφέδες).

Για την ταξινόμηση των κόκκων του καφέ κατά μέγεθος, ακολουθείται η αγγλική μέθοδος η οποία τους κατατάσσει σε κατηγορίες από 10-20. Ο έλεγχος του μεγέθους των κόκκων γίνεται από ειδικά κόσκινα, τα οποία είναι τοποθετημένα το ένα πάνω στο άλλο. Οι πιο χοντροί κόκκοι παραμένουν στο επάνω κόσκινο που έχει και τη μεγαλύτερη διάμετρο και οι υπόλοιποι πέφτουν μέχρι να φτάσουν στο αντίστοιχο με το μέγεθος του κόσκινου που θα τους συγκρατήσει. Το N^ο10, ο

μικρότερος σε μέγεθος κόκκος, είναι περίπου 4 χιλιοστά, ενώ το N^o20 είναι 8 χιλιοστά. Σε εξαιρετικές περιπτώσεις βρίσκονται κόκκοι ακόμα μεγαλύτερου μεγέθους οι οποίοι ονομάζονται και γίγαντες. Πιστεύεται πως η σχέση μεγέθους κόκκου και ποιότητας είναι ανάλογη, εκτός από εξαιρετικές περιπτώσεις, όπως π.χ. του Blue Mountain της Τζαμάικα και της Μόκας. (Είναι ο πιο ακριβός καφές στον κόσμο. Η περιορισμένη παραγωγή του διοχετεύεται αποκλειστικά στην Ιαπωνία).

Πίνακας 3: Κατάταξη του καφέ βάσει μεγέθους

Μέγεθος κόσκινου	Κολομβία	Κένουα
17 και 18 mm	Supremo	AA
15 και 16 mm	Excelso	AB
14 και 15 mm	UGO	C
12 και ¾ mm	Caracolito	Pea Berry

Το μέγεθος που βρίσκει κανείς σήμερα στο εμπόριο είναι το κόσκινο 17/18 (6,75-7,20 χιλιοστά). Έμποροι, εισαγωγείς και καφεκόπτες λένε πως οι χοντροί κόκκοι αν δεν είναι μαζεμένοι σπυρί-σπυρί παρουσιάζουν πολλές πιθανότητες να έχουν προσβληθεί από σκουλήκι.

Μεγάλη σημασία έχει και η κατάταξη του καφέ ειδικά ως προς τα ελαττώματα, διότι ορισμένα από αυτά προσδίδουν στον καφέ πολύ κακή γεύση και άσχημο άρωμα.

Πίνακας 4: Κατάταξη του καφέ βάσει ελαττωμάτων

Κατηγορία	Πλήθος ελαττωμάτων σε 300 gr κόκκων
NY2	4-11
NY3	12-25
NY4	26-45
NY5	46-79
NY6	86-153
NY7	160-340
NY8	340-360
Δεν επιτρέπεται εξαγωγή	≥ 380

Ο αριθμός ελαττωμάτων και η καθαρότητα κανονικά υπολογίζονται μόνο για την Αραβική ποικιλία, και αυτός ο υπολογισμός εξετάζει τους ελαττωματικούς

κόκκους και την καθαρότητα σε δύο τρίτα της λίμπρας (σχεδόν 300 γραμμάρια). Το Νο1 αυτής της κλίμακας χαρακτηρίζει ένα άψογο δείγμα ενώ το Νο2/3 που είναι συνηθισμένο στην ελληνική αγορά περιλαμβάνει 5-10 καχεκτικούς κόκκους. Ενδεικτικά το Νο6 μπορεί να είναι ένα δείγμα στο οποίο συσσωρεύονται μέχρι και 95 κόκκοι με ελαττώματα, ενώ στο Νο12 θα βρεθούν γύρω στους 10 μαύρους και 12 μη αποφλοιωμένους (Γεράρδης, 1998).

Μερικοί καφέδες περνάνε από επεξεργασία γυαλίσματος, στην οποία αφαιρείται η επιδερμίδα του κόκκου. Με αυτόν τον τρόπο αποκτούν πιο όμορφη εμφάνιση και εξαφανίζεται το υποπροϊόν του καβουρδίσματος, οι φλούδες γνωστές ως chaff. Για πολλούς το γυάλισμα επιφέρει αισθητή υποβάθμιση της ποιότητας του καφέ διότι προκαλεί το ζέσταμα των κόκκων και φυσικοχημικές αλλοιώσεις.

1.5. Η γεύση του καφέ – Χαρακτηριστικά και ορολογία

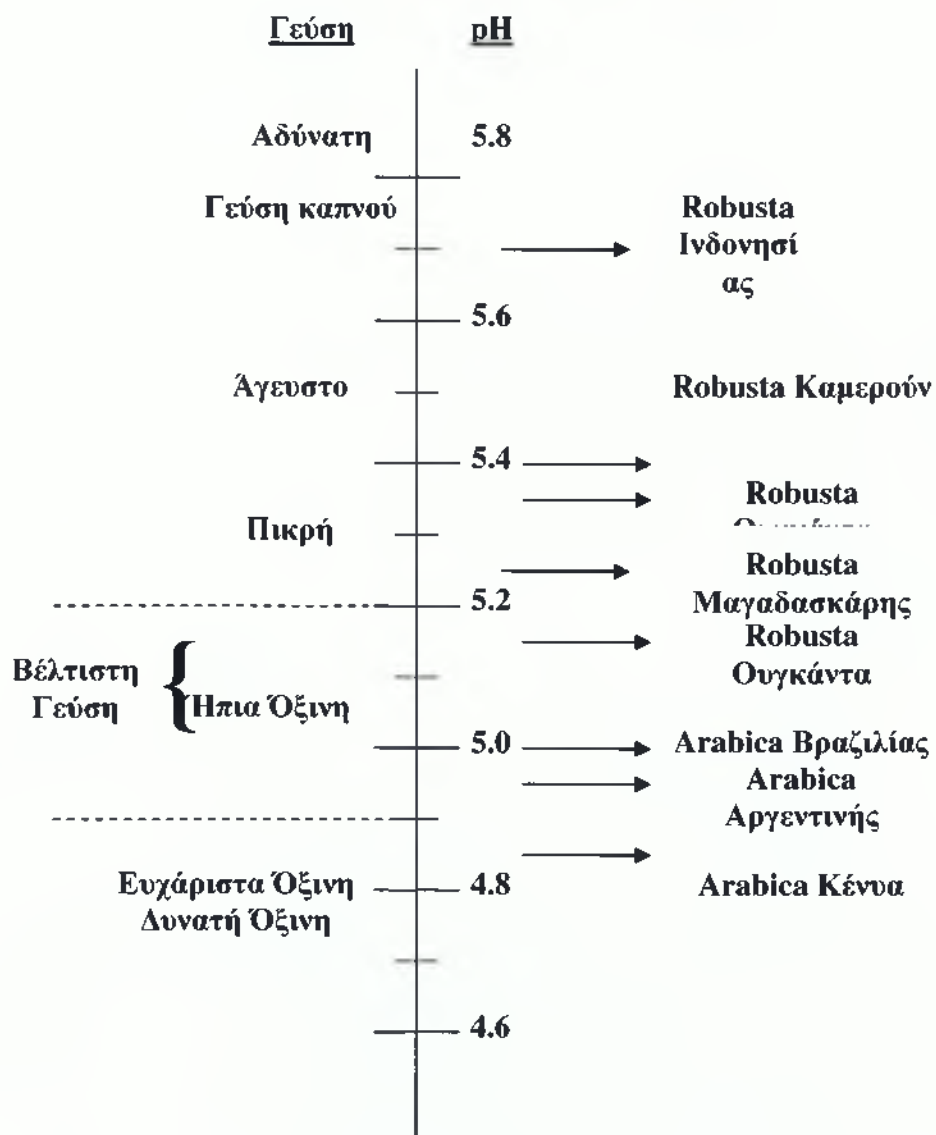
Η γεύση του καφέ, ή καλύτερα το γευστικό προφίλ του καφέ, είναι αποτέλεσμα του συνδυασμού διαφόρων παραγόντων όπως η οξύτητα, το άρωμα και το σώμα. Οι παράγοντες αυτοί διαμορφώνονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του καφέ.

1.5.1. Οξύτητα

Η οξύτητα του καφέ είναι ένα παρεξηγημένος από πολλούς όρος. Στην πραγματικότητα η οξύτητα είναι ένα από τα πιο πολύτιμα χαρακτηριστικά καφέδων ιδιαίτερα από την Κεντρική Αμερική (π χ Κόστα Ρίκα) και την Ανατολική Αφρική (π χ Κένυα). Έχει να κάνει με την καθαρή γεύση που αφήνει ένα καφές. Ακραία οξύτητα παράγει μια ξινή ανεπιθύμητη γεύση.

Η οξύτητα συνήθως προέρχεται από καφέδες που έχουν καλλιεργηθεί σε πολύ υψηλά υψόμετρα, σε ηφαιστειογενή εδάφη πλούσια σε θρεπτικά συστατικά. Επίσης η αίσθηση τη οξύτητας σε καφέδες επεξεργασμένους με τη πλυμένη μέθοδο είναι υψηλότερη από αυτή σε καφέδες ξηρής μεθόδου. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι η ξηρή μέθοδος, αυξάνει το σώμα του καφέ το οποίο και καλύπτει την αίσθηση της οξύτητας. Επίσης η οξύτητα εξαρτάται από το βαθμό καβουρδίσματος (πιο ανοιχτό χρώμα συνεπάγεται μεγαλύτερη οξύτητα), από τον τύπο του καβουρδίσματος, και τη μέθοδο παρασκευής του ροφήματος του καφέ. Τα οξέα που βρίσκουμε στο καβουρδισμένο καφέ ανήκουν σε τρεις ομάδες: αλειφατικά, χλωρογενικά, και αλικυκλικά καρβοξυλικά και φαινολικά οξέα.

Η οξύτητα για άλλους ανθρώπους είναι επιθυμητή και για άλλους δυσάρεστη και ανεπιθύμητη. Για παράδειγμα σε έναν εσπρέσο η μεγάλη οξύτητα είναι ανεπιθύμητη ενώ σε ένα γαλλικό μπορεί να είναι επιθυμητή. Το pH για 42.5 g/L ελαφρώς καβουρδισμένου καφέ πρέπει να είναι 4.9 – 5.2. Σε pH < 4.9 η γεύση του καφέ είναι ξινή, σε pH > 5.2 η γεύση είναι ξεθυμασμένη και πικρή. Καφέδες με διαφορετική προέλευση δίνουν εκχυλίσματα με διαφορετικές τιμές pH. Γενικά οι τιμές pH των ποικιλιών Robusta είναι υψηλότερες από αυτές των ποικιλιών Arabica (Knox K. and Huffaker J.S.). Η σχέση μεταξύ pH και γεύσης φαίνεται στο σχήμα που ακολουθεί :



Σχήμα 2: Σχέση μεταξύ γεύσης καβουρδισμένου καφέ και pH

1.5.2. Άρωμα

Οι αισθητήρες στη γλώσσα μας μπορούν να αντιληφθούν το αλμυρό, πικρό, ξινό και γλυκό. Όλα τα άλλα χαρακτηριστικά που συνθέτουν αυτό που λέμε γεύση προέρχονται από τη μύτη, και την αίσθηση της οσμής. Το άρωμα είναι συνεπώς το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό του «γκουρμέ» καφέ.

Το άρωμα γίνεται αντιληπτό από δυο μηχανισμούς. Είτε με αισθητήρες στη μύτη, είτε με έμμεσο τρόπο. Ο έμμεσος τρόπος είναι ο εξής: τα αρωματικά στοιχεία του καφέ πηγαίνουν μέσω της αναπνοής και του αέρα στη ρινική κοιλότητα και από εκεί στους αισθητήρες της οσμής.

Ο αριθμός των αρωματικών συστατικών του καφέ, που έχουν ανακαλυφθεί ως τώρα είναι πάνω από οχτακόσια. Καθώς οι μέθοδοι μέτρησης γίνονται πιο ακριβείς είναι σίγουρο ότι θα βρεθούν και άλλα στοιχεία. Κάποια από αυτά τα αρωματικά στοιχεία είναι πιο δυνατά από τα άλλα, δηλαδή ακόμα και σε μικρότερες συγκεντρώσεις γίνονται πιο εύκολα αντιληπτά σε σχέση με άλλα στοιχεία. Τα πιο δυνατά αρωματικά στοιχεία και αυτά που βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις είναι αυτά που συνθέτουν στο μεγαλύτερο βαθμό αυτό που λέμε άρωμα του καφέ (Ε.Κ. Βουδούρη και Μ.Γ. Κοντομηνά, «Εισαγωγή στη Χημεία των Τροφίμων»).

1.5.3. Σώμα

Το σώμα του καφέ είναι το βάρος του καφέ. Το σώμα μπορεί να είναι ελαφρύ (πχ κάποιοι Κολομβιανοί καφέδες), μέτριο (πχ Βραζιλιάνικοι καφέδες), ή βαρύγεμάτο (πχ ένας Σουμάτρα καφές). Το σώμα σχετίζεται με τα λιπαρά του καφέ. Η ρευστότητα του καφέ (λεπτόρευστος-παχύρευστος) εξαρτάται από πρωτεΐνες και ίνες στο ρόφημα του καφέ. Συνήθως καφέδες με μέτριο-σκούρο καβούρδισμα έχουν πιο γεμάτο σώμα από καφέδες με πιο ανοιχτό καβούρδισμα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΦΕ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο πράσινος καρπός του καφέ περιέχει κατά μέσο όρο : 9-12% νερό, 10-15% λιποειδή (το μεγαλύτερο μέρος των λιποειδών αποτελούν τα τριγλυκερίδια, ενώ επίσης απαντούν λιπαροί εστέρες τερπενικών σωμάτων, εστέρες φυτοστερόλης και κηροί), 10-15% πρωτείνες (τα κυριότερα αμινοξέα που απαντούν είναι ασπαρτικό οξύ, ασπαραγίνη, γλουταμινικό οξύ, αλανίνη, μεθειονίνη, θρεονίνη και γ-αμινοβουτυρικό οξύ) 60% υδατάνθρακες (από αυτούς περίπου 10% είναι άμυλο, 15% ημικυτταρίνη, 18% κυτταρίνη και 7% σακχαρόζη. Από τα απλά σάκχαρα απαντούν D-μαννόζη, L-αραβινόζη, D-γαλακτόζη και D -γλυκόζη), 4% τέφρα και 1-2 % καφεΐνη. Υπάρχουν επίσης και βιταμίνες, όπως η Β3 (ή νικοτινικό οξύ). Η καφεΐνη περιέχεται και σε άλλα αφεψήματα, σε πολύ μικρότερη όμως ποσότητα. Έτσι για παράδειγμα, ενώ ο καφές έχει 90 mg/150ml, το τσάι έχει μόλις 40 mg, η κόκα κόλα 16 mg και το κακάο 4 mg. Ο καφές ντεκαφεϊνέ βέβαια περιέχει μόνο 3 mg/150ml. Στην καφεΐνη οφείλει ουσιαστικά ο καφές τη δράση του στα διάφορα συστήματα του οργανισμού όπως θα δούμε στη συνέχεια.

Πίνακας 5: Χημική σύσταση ακαβουρδιστων και καβουρδισμένων κόκκων της ποικιλίας *Arabica* (Belitz & Grosch, 1999)

Τα κυριότερα χημικά συστατικά του καφέ - % περιεκτικότητα του ξηρού κόκκου

ARABICA	 Ωμός (πράσινος)	 Καβουρδισμένος
Καφεΐνη	0,9-1,2	0,9-1,2
Μεταλλικά στοιχεία	3-4,2	3,5-4,5
Πρωτείνες	11-13	13-15
Έλαια	12-18	14,5-20
Ολίσσακχαρίτες	6-8	0-3,5
Νερό	10-13	1,3

Πίνακας 6: Χημική σύσταση ακαβούρδιστων κόκκων και καβουρδισμένων κόκκων της ποικιλίας *robusta* (Belitz & Grosch, 1999)

Τα κυριότερα χημικά συστατικά του καφέ - % περιεκτικότητα του ξηρού κόκκου

ROBUSTA		
	Ωμός (πράσινος)	Καβουρδισμένος
Καφεΐνη	2,2	2,2
Μεταλλικά στοιχεία	4-4,5	4,6-5
Πρωτεΐνες	11-13	13-15
Έλαια	9-13	11-16
Ολισακχαρίτες	5-7	0-3,5
Νερό	10-13	1-3

2.2. Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες υπόκεινται εκτεταμένες αλλαγές κατά την θέρμανση, παρουσία υδρογονανθράκων. Παρατηρείται μια αλλαγή στη σύσταση των αμινοξέων μετά το καβούρδισμα. Από τα αμινοξέα καταστρέφεται η αργινίνη, η κυστίνη, η λυσίνη και η σερίνη ενώ αυξάνεται η ποσότητα της αλανίνης, του γλουταμινικού οξέος, της λευκίνης, της ισολευκίνης, της φαινυλαλανίνης, της προλίνης και της βαλίνης. Επίσης εμφανίζονται και ίχνη ελεύθερων αμινοξέων στον καβουρδισμένο καφέ (Belitz & Grosch, 1999, Lee, 1975).

2.3. Υδατάνθρακες

Οι περισσότεροι υδατάνθρακες που εμπεριέχονται στον ακαβούρδιστο καφέ, όπως κυτταρίνη και πολυσακχαρίτες είναι μη υδατοδιαλυτοί. Όμως κατά την διάρκεια του καβουρδίσματος καραμελοποιείται η σακχαρόζη και αποικοδομούνται οι πολυσακχαρίτες σε μικρότερα μόρια τα οποία είναι διαλυτά στο νερό (Belitz & Grosch, 1999).

2.4. Λιπίδια

Στα λιπίδια, ελαττώνεται η περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια από 81% περίπου σε 78,5%, ενώ αυξάνει το ασαπωνοποίητο κλάσμα κατά 2% περίπου (Belitz & Grosch, 1999).

2.5. Οξέα

Τα περισσότερα οξέα που περιέχονται στον καφέ ανήκουν στην κατηγορία των χλωρογενικών οξέων. Τα χλωρογενικά οξέα αποτελούν τις κύριες φαινολικές ουσίες που υπάρχουν στον κόκκο του καφέ και περιλαμβάνουν διάφορες ομάδες ενώσεων. Τα συγγενικά ισομερή του χλωρογενικού οξέος (σχηματίζονται από εστεροποίηση ενός μορίου κινικού οξέος με ένα έως τρία μόρια ενός συγκεκριμένου *trans*-υδροξυ-κινναμωμικού οξέος), όπως το καφεϊκό οξύ, το φερρουλικό οξύ και το κουμαρικό οξύ είναι τα πιο κοινά στον καφέ.

Η ολική σύσταση σε χλωρογενικά οξέα μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το είδος, την καλλιέργεια, το βαθμό ωρίμανσης, τις συνθήκες ανάπτυξης του φυτού του καφέ καθώς και το κλίμα. Γενικά, οι τιμές των ολικών χλωρογενικών οξέων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία, κυμαίνονται από 4-8.4% στον *coffea Arabica*, έως 7-14.4% στον *coffea canephora*.

Το καφεϊκό και το χλωρογενικό οξύ εμφανίζουν *in vitro* αντιοξειδωτική δράση αναστέλλοντας το σχηματισμό ενδογενών νιτροζαμινών. Επίσης μπλοκάρουν την αντίδραση των καρκινογόνων με το DNA του κυττάρου και με αυτόν τον τρόπο προστατεύουν το κύτταρο από μια ενδεχόμενη βλάβη.

Κατά την διάρκεια του μέτριου καβουρδίσματος αποικοδομείται περίπου το 30% του χλωρογενικού και του ισοχλωρογενικού οξέος ενώ κατά τη διάρκεια παρατεταμένου καβουρδίσματος το ποσοστό αποικοδόμησης μπορεί να φτάνει μέχρι και 70%. Επίσης παράγονται οξέα όπως είναι για παράδειγμα το μυρμηγκικό (Belitz & Grosch, 1999).

2.6. Τρυγονελλίνη, Νικοτινικό Οξύ

Η τρυγονελλίνη (N – μεθυλονικοτινικό οξύ) υπάρχει στον ακαβούρδιστο καφέ σε ποσοστό 0.6 % και το 50 % αυτού αποσυντίθεται κατά το καβούρδισμα. Τα προϊόντα της αποικοδόμησης περιλαμβάνουν νικοτινικό οξύ, πυριδίνη, 3-μέθυλο πυριδίνη, νικοτινικομεθυλεστέρα και μια σειρά άλλων ενώσεων (Belitz & Grosch, 1999).

2.7. Αρωματικές Ουσίες

Η γεύση και το άρωμα του καφέ οφείλονται σε πολλές δεκάδες ουσιών, οι οποίες χονδρικά κατανέμονται ως εξής: καρβονυλικές ενώσεις οι οποίες παράγονται κατά το καβούρδισμα από τη διάσπαση των υδατανθράκων (50 % αλδεΐδες, 20% κετόνες), 8% εστέρες, 7% ετεροκυκλικές ενώσεις, 2% διμεθυλοσουλφίδια, ενώ σε μικρότερες αναλογίες απαντούν φουράνιο, νιτρίλιο, αρωματικοί υδρογονάνθρακες, φαινόλες (παραλαμβάνονται από τη θερμική διάσπαση των χλωρογενικών οξέων) φουρφουράλη και αρκετές αλεικυκλικές ενώσεις.

Η ανάλυση του αρώματος του καφέ φαίνεται λεπτομερώς στον πίνακα που ακολουθεί:

Πίνακας 7: Ανάλυση του αρώματος του καφέ

Ένωση	Μοριακό βάρος	Ποσοστό	Σημείο βρασμού °C	Σχετική συνεισφορά στη γεύση
ακεταλδεΐδη	44	19,9	20.8	1
ακετόνη	58	18,7	56.2	2
διακετύλιο	86	7,5	88.0	1
n-βαλεριανή αλδεΐδη	86	7,3	103.0	2
2-μεθυλ-βουτυραλδεΐδη	86	6,8	92.0	2
3-μεθυλ-βουτυραλδεΐδη	86	5,0	92.5	2
μεθυλοφουράνιο	82	4,7	63.0	2
προπιονική αλδεΐδη	58	4,5	48.8	2
μεθυλομυρμηγκικός εστέρας	60	4,0	32.0	2
Διοξείδιο του άνθρακα	44	3,8	-78.0	-
φουράνιο	68	3,2	31.4	1
ισοβουτυραλδεΐδη	72	3,0	63.0	1
ισοπρένιο	68	3,0	33.0	2
μεθυλοαιθυλοκετόνη	72	2,3	79.6	2
C ₄ -C ₇ παραφίνες και ολεφίνες	-	2,0	-	2
ακετοξικός μεθυλεστέρας	74	1,7	57.0	2
διμεθυλοσουλφίδιο	62	1,0	37.3	1

η- βουτυραλδεΐδη	72	0,7	74.7	1
μυρμηγκικός αιθυλεστέρας	74	0,3	54.0	2
διθειάνθρακας	76	0,2	46.0	2
μεθυλική αλκοόλη	32	0,2	64.7	3
μεθυλομερκαπτάνη	48	0,1	6.0	1
θειοφαίνιο	84	0,1	84.1	-

* 1-μεγάλη, 2-μέτρια, 3-μικρή

(Πηγή: Zlatkis and Sivetz, 1960)

2.8. Ιχνοστοιχεία

Τα ιχνοστοιχεία που περιέχονται στον καφέ είναι το κάλιο (1.1 %), το ασβέστιο (0.2 %) και το μαγνήσιο (0.2 %). Πολλά άλλα στοιχεία υπάρχουν σε ποσότητες που δεν μπορούν να ανιχνευθούν (Belitz & Grosch, 1999).

2.9. Άλλα Συστατικά

Τα μελανοειδή, ενώσεις καφέ χρώματος, βρίσκονται στο διαλυτό μέρος του καβουρντισμένου καφέ. Παραλαμβάνονται από αντιδράσεις *Milard* ή καραμελοποίηση των υδρογονανθράκων και επηρεάζουν το χρώμα και το άρωμα του καφέ (Lopez-Galilea et al., 2006; Cammerer & Kroh, 2006). Παρόλο που οι δομές αυτών των ενώσεων δεν έχουν διευκρινιστεί ακόμα, θεωρούνται υπεύθυνες για την ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα και την ικανότητα δέσμευσης των μετάλλων που έχει το ρόφημα του καφέ (Borelli et al., 2006).

Άλλα αντιοξειδωτικά του καφέ θεωρούνται και οι τοκοφερόλες (α, β, γ) μαζί με τις τοκοτριενόλες (Gonzalez, 2001).

Στο περικάρπιο και στην σάρκα του σπόρου, οι κύριες φαινολικές ενώσεις είναι οι ταννίνες, οι οποίες εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Οι υδρολυόμενες ταννίνες βρίσκονται σε ποσοστό 0.8-2.8%. Μικρά ποσά συμπυκνωμένων ταννινών ανιχνεύονται στη σάρκα. Η επεξεργασία της σάρκας με αλκάλια και η αποθήκευση της αποξηραμένης σάρκας προκαλεί σημαντική μείωση στην σύσταση του καφέ σε ταννίνες (-39% ανά χρόνο) (Farah & Donangelo, 2006).

Άλλες φαινολικές ενώσεις στον καφέ είναι η κερκετίνη και η μυρικετίνη που ανήκουν στις φλαβονόλες, οι προανθοκυανιδίνες (όπως για παράδειγμα οι κυανιδίνες), οι πελαργονιδίνες, μια πεονιδίνη και οι λιγνάνες (Παπαγεωργίου, 2005).

Δευτερογενή προϊόντα από τη θερμόλυση των μειγμάτων των υδρογονανθράκων και των πρωτεϊνών πιθανότατα να συμμετέχουν στην δημιουργία της πικρής γεύσης στον καβουρδισμένο καφέ. Το παραπάνω έχει αποδειχθεί σε συστήματα μοντέλων μειγμάτων σακχάρων και αμινοξέων. Ιδιαίτερα έντονες πικρές γεύσεις παραλαμβάνονται με τη συνθέρμανση σακχαρόζης και προλίνης. Εκχύλισμα καβουρδισμένου καφέ διαχωρίστηκε από χρωματογραφία gel σε κλάσματα με γεύση καφέ. Αυτά τα κλάσματα περιέχουν υδρογονάνθρακες, αμινοξέα και τρυγονελίνη. (Belitz & Grosch, 1999).

2.10. Καφεΐνη

Το δραστικό συστατικό του καφέ στο οποίο οφείλονται οι ψυχοδιεγερτικές ιδιότητές του είναι η καφεΐνη (caffeine). Βρίσκεται σε πολλές φυτικές ουσίες της διατροφής, αφεψήματα και αναψυκτικά. Δρα ως ψυχοδιεγερτικό (psychoactive stimulant) φάρμακο και συγχρόνως διαθέτει ήπιες καρδιοτονωτικές και διουρητικές ιδιότητες.

Βρίσκεται σε μικρές ποσότητες στα φύλλα πολλών φυτών (σε περισσότερα από 60 διαφορετικά είδη) και φαίνεται πως ο βιολογικός ρόλος της είναι να δρα ως φυσικό εντομοκτόνο, αφού παραλύει και θανατώνει ορισμένα έντομα. Επίσης βρέθηκε ότι στα φυτά ενώνεται με γλωρογενικό οξύ, κουμαρικό, ισοευγενόλη, ινδολακετικό οξύ και ανθοκυανίνες.

Είναι μια λευκή κρυσταλλική ουσία με έντονη πικρή γεύση, που από χημική άποψη υπάγεται στα αλκαλοειδή της ξανθίνης (3,7-διυδρο-πουρινο-2,6-διόνη). Έχει μοριακό βάρος $M.B.=194,19$ και ονομάζεται επίσης 1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη αλλά και 1,3,7-τριμέθυλο-2,6-διοξοπουρίνη (Ashihara & Crozier, 2001).

Η καφεΐνη είναι άοσμη και έχει πικρή γεύση. Πρόκειται για λευκό κρυσταλλικό στερεό, με πυκνότητα $1,23 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ που διαλύεται σε υδατικούς και οργανικούς διαλύτες. Η διαλυτότητα της στο νερό αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας (1%w/v διαλύεται στους 15°C και 10%w/v στους 60°C) και με το σχηματισμό ενώσεων όπως βενζοϊκό, κιτρικό και σαλικυλικές ενώσεις. Το σημείο τήξης της καθαρής καφεΐνης είναι $234\text{-}239^\circ\text{C}$ και η εξάχνωσή της γίνεται στους 178°C υπό τη συνήθη ατμοσφαιρική πίεση (βλέπε παρακάτω πίνακα). Με την κρυσταλλοποίησή της στο νερό ανακτώνται κρύσταλλοι που περιέχουν 6,9% νερό (4 ή 5 μόρια νερού ανά μόριο καφεΐνης) (Macrae et al., 1993).

Πίνακας 8: Φυσικές σταθερές της καφεΐνης

Εμφάνιση	Λευκοί βελονοειδείς κρύσταλλοι, άοσμοι με έντονα πικρή γεύση
Μοριακός τύπος	$C_8H_{10}N_4O_2$
Σχετική Μοριακή Μάζα	194,19
Σημείο Τήξης	227-228°C (άνυδρη) 234-235°C (μονοένυδρη)
Σημείο βρασμού	178°C (εξάχνωση)
Πυκνότητα	1,23 g·cm ⁻³ (στερεό)
Διαλυτότητα στο H ₂ O (σε mg·mL ⁻¹)	22 (25°C), 180 (80°C), 670 (100°C)

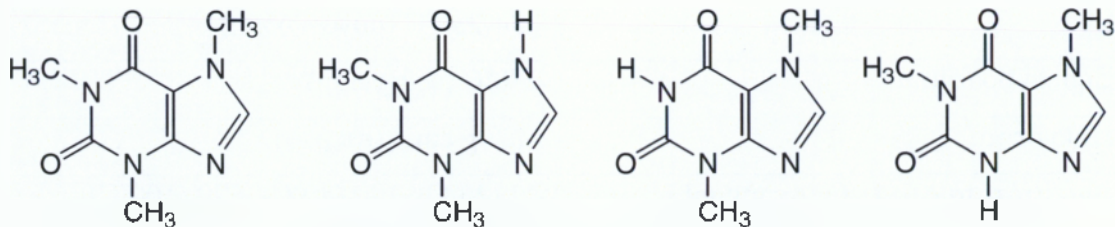
Είναι μια ασθενής βάση και ως βάση αντιδρά με οξέα για την εύκολη παραγωγή υδρολυμένων αλάτων, είναι σχετικά σταθερή σε αραιά διαλύματα οξέων και αλκαλίων, σχηματίζει ασταθή άλατα με οξέα και διασπάται σε ισχυρά διαλύματα καυστικού νατρίου.

Σε υδατικά διαλύματα δεν ιονίζεται σε φυσιολογικό pH και τέλος εκθέτει ένα φάσμα υπεριώδους απορρόφησης με μέγιστη τιμή τα 274nm και συντελεστή απορρόφησης 9700 σε υδατικό διάλυμα.

Η καφεΐνη απομονώθηκε από τον καφέ το 1819 από τον Γερμανό χημικό Friedrich Ferdinand Runge. Από φυτά που παρείχαν αφεψήματα με ανάλογες ψυχοδιεγερτικές ιδιότητες με εκείνες του καφέ, απομονώθηκαν ουσίες όπως η τείνη (theine) από το τσάι, η γουαρανίνη (guaranine) από τα guarana berries (καρποί γκουαράνα) και η ματεΐνη (mateine) από το yerba mate (τσάι "ματέ"). Παρ' όλο που είχε διαπιστωθεί μια διαφοροποίηση στη δραστηριότητα των ουσιών αυτών, όλες αυτές οι ουσίες αποδείχθηκε πως δεν ήταν παρά καφεΐνη και οι διαφορές οφείλονταν σε προσμίξεις άλλων παραγώγων ξανθίνης (Hui, 1992).

Η καφεΐνη, δηλαδή το 1,3,7-τριμεθυλιωμένο παράγωγο της ξανθίνης, συνοδεύεται και από μικρότερες ποσότητες άλλων μεθυλιωμένων παραγώγων της ξανθίνης, όπως είναι η θεοφυλλίνη (1,3-διμεθυλοξανθίνη). Η θεοφυλλίνη, η οποία βρίσκεται κυρίως στο τσάι, παρουσιάζει μυοχαλαρωτική δράση και είναι ένα κλασικό βρογχοδιασταλτικό φάρμακο, που χορηγείται σε μορφή σπρέι σε περιπτώσεις κρίσης άσθματος. Άλλο μεθυλιωμένο παράγωγο της ξανθίνης είναι η θεοβρωμίνη (3,7-διμεθυλοξανθίνη), η οποία δεν βρίσκεται στον καφέ, αλλά βρίσκεται σε αναλογία

περίπου 2% στο κακάο και στη σοκολάτα (Huck et al., 2005). Μέχρι τα τέλη του 19^{ου} αιώνα όλες αυτές οι μεθυλοξανθίνες (καφεΐνη, θεοφυλλίνη, θεοβρωμίνη) συντέθηκαν. Η παραξανθίνη (1,7-διμεθυλοξανθίνη) είναι το κυριότερο προϊόν μεταβολισμού της καφεΐνης στον ανθρώπινο οργανισμό, δεν βρίσκεται σε φυτά και έχει τις ίδιες φυσιολογικές ιδιότητες της καφεΐνης.



Σχήμα 3: Μεθυλοξανθίνες (James, 1991)

Πίνακας 9: Καφεΐνη και μεθυλιωμένα παράγωγα της ξανθίνης

Καφεΐνη	Θεοφυλλίνη	Θεοβρωμίνη	Παραξανθίνη
1,3,7- τριμεθυλοξανθίνη	1,3- διμεθυλοξανθίνη	3,7- διμεθυλοξανθίνη	1,7- διμεθυλοξανθίνη

Η φυσική και η συνθετική καφεΐνη έχουν πολλές χρήσεις αφού χρησιμοποιούνται ως γευστικοί παράγοντες στα τρόφιμα και τα ποτά, για την παρασκευή φαρμακευτικών προϊόντων αλλά και ως ναρκωτικές ουσίες (Macrae et al., 1993). Ο άνθρωπος χρησιμοποιεί το αφέψημα του καφέ γιατί η καφεΐνη ενισχύει το κεντρικό νευρικό σύστημα, καταπολεμά υπνηλία και κόπωση και ενισχύει την ικανότητα εγρήγορσης. Τα αφεψήματα και τα αναψυκτικά που περιέχουν καφεΐνη είναι τα πλέον δημοφιλή και η καφεΐνη είναι η πρώτη σε κατανάλωση ψυχοδιεγερτική ουσία σε όλο τον κόσμο.

Τα φύλλα τσαγιού είναι πλουσιότερη πηγή καφεΐνης σε σχέση με τους κόκκους του καφέ, αλλά επειδή χρησιμοποιούνται σε μικρότερη ποσότητα για την παρασκευή του αφεψήματος, ένα τυπικό σερβίρισμα τσαγιού περιέχει λιγότερη καφεΐνη από ένα αντίστοιχο σερβίρισμα καφέ.

Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (η FDA) θεωρεί ότι η καφεΐνη είναι ασφαλής και επιτρέπει την προσθήκη της σε προϊόντα διατροφής και αναψυκτικά (σε περιεκτικότητα 10-12 mg/100mL), χαρακτηρίζοντάς την ως "ουσία

πολλαπλών χρήσεων - γενικώς θεωρούμενη ως διατροφικά ασφαλής" (multiple purpose generally recognized as safe food substance)., (Barone & Roberts, 1996).

Η φυσική καφεΐνη μπορεί να αποκτηθεί με την επεξεργασία της αποκαφεΐνωσης και να ανακτηθεί σε καθαρή μορφή απομακρύνοντας από αυτήν το μεθύλιο της θεοβρωμίνης. Επίσης καθαρή καφεΐνη μπορεί να ανακτηθεί με τη χρήση κάποιων χημικών ενώσεων όπως διμεθυλοκαρβαμίνη και μαλονικό οξύ (Macrae et al., 1993).

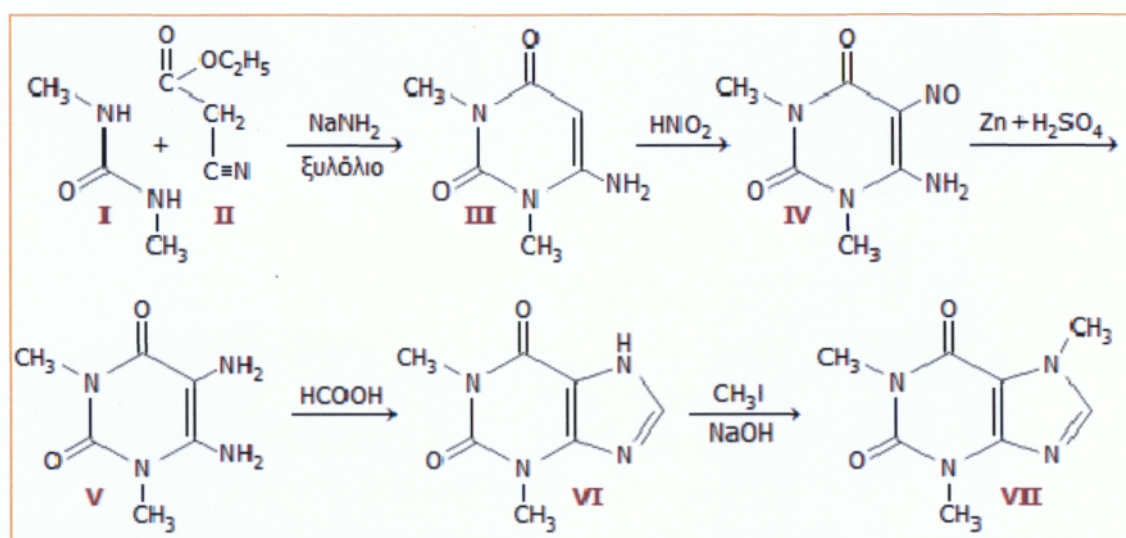
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Η καφεΐνη

3.1. Σύνθεση της καφεΐνης

Η πρώτη σύνθεση της καφεΐνης (όπως και της θεοβρωμίνης) πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Emil Fischer και τον συνεργάτη του Lorenz Ach το 1895, ξεκινώντας με συμπύκνωση της 1,3-διμεθυλουρίας με μηλονικό οξύ.

Λίγα χρόνια αργότερα (1900) ο Wilhelm Traube παρουσίασε ένα παρόμοιο αλλά απλούστερο (με λιγότερα βήματα) σχήμα σύνθεσης της καφεΐνης, το οποίο δίνεται συνοπτικά στο σχήμα που ακολουθεί :



Σχήμα 4: Σύνθεση της καφεΐνης

Η σύνθεση του Traube βασίζεται στη γενική μέθοδο σύνθεσης πουρινών και παραγώγων τους που ο ίδιος είχε αναπτύξει. Αρχικά πραγματοποιείται αντίδραση συμπύκνωσης της 1,3-διμεθυλουρίας (I) με κυανοξικό αιθυλεστέρα (II) παρουσία νατραμιδίου, η οποία παρέχει 4-αμινο-1,3-διμεθυλο-ουρακίλη (III). Το III αντιδρά με νιτρώδες οξύ παρέχοντας το νιτρωδοπαραγώγο (IV), που ανάγεται με ψευδάργυρο και θειικό οξύ (ή με θειούχο αμμώνιο) προς 1,3-διμεθυλο-4,5-διαμινο-ουρακίλη (V). Αντίδραση της ο-διαμινοένωσης με μυρμηκικό οξύ (το "στάδιο-κλειδί" της σύνθεσης πουρινών κατά Traube) οδηγεί στον σχηματισμό του πενταμελούς ιμιδαζολικού

δακτυλίου παρέχοντας θεοφυλλίνη (VI). Μεθυλίωση της θεοφυλλίνης με μεθυλοϊωδίδιο παρέχει καφεΐνη (VII).

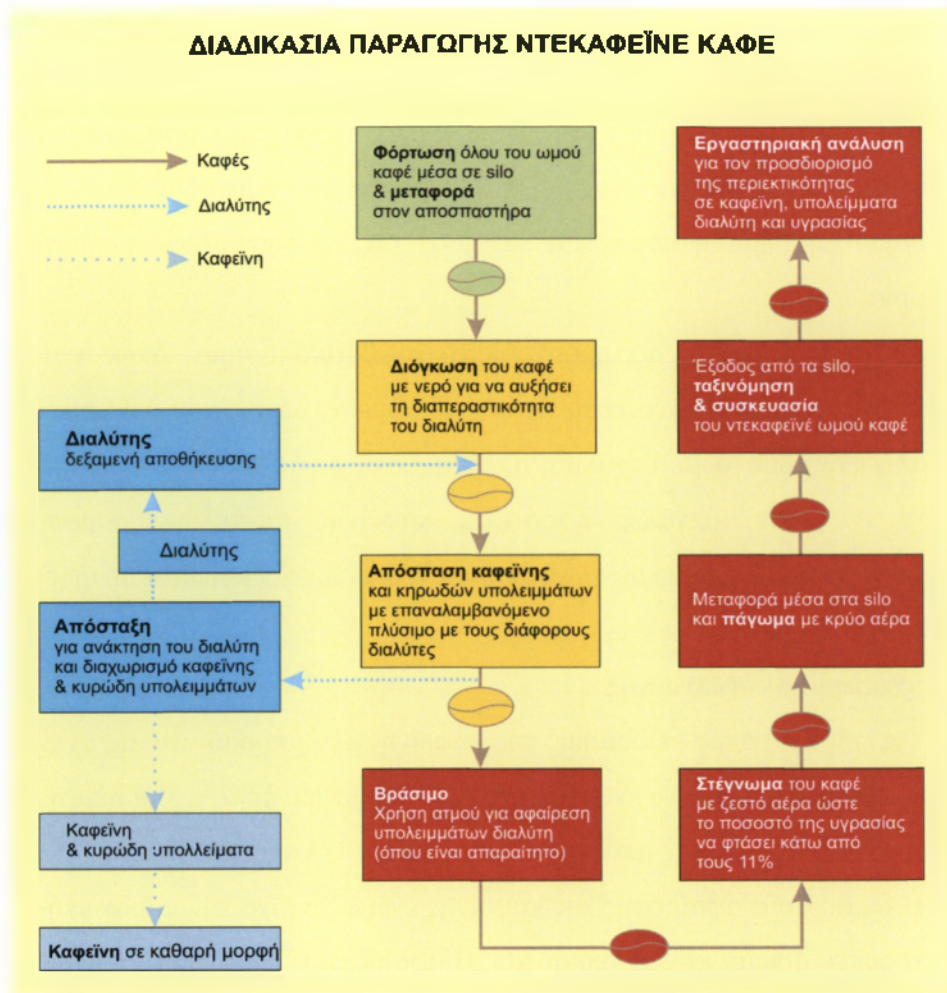
Το συνθετικό σχήμα κατά Traube έχει γενικότερη χρησιμότητα για την παρασκευή αλκυλιωμένων και άλλων παραγώγων της ξανθίνης. Έτσι, για παράδειγμα θεοβρωμίνη παράγεται εάν αντί για 1,2-διμεθυλουρία χρησιμοποιηθεί μεθουρία.

Είναι αυτονόητο ότι το προηγούμενο συνθετικό σχήμα, όπως και οι άλλες παραλλαγές του, έχουν μόνο ερευνητικό ενδιαφέρον, δεδομένου ότι καφεΐνη μπορεί να παραληφθεί εύκολα με εκχύλιση από καφεϊνούχα φυτά (καφέ ή -κυρίως- φύλλα τσαγιού). Άλλωστε, μεγάλες ποσότητες καφεΐνης αποτελούν παραπροϊόν της παρασκευής αποκαφεϊνωμένου καφέ (www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_caffeine).

3.2. Τεχνικές αποκαφεΐωσης

Τις φυσιολογικές επιδράσεις της καφεΐνης δεν μπορούν να τις ανεχθούν όλοι οι άνθρωποι και για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί πολλές διαδικασίες για την απομάκρυνση της καφεΐνης από τον καφέ (Betitz & Grosch, 1999).

Η διαδικασία αφαίρεσης της καφεΐνης έχει ως στόχο την παραγωγή ενός καφέ που διατηρεί το άρωμα και τη γεύση του. Η αφαίρεση της καφεΐνης πραγματοποιείται όσο οι κόκκοι ακόμη είναι πράσινοι (ωμοί), για αυτό δεν επιδρά σημαντικά στα αρώματα που αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια του καβουρδίσματος. Για την παραγωγή καφέ χωρίς καφεΐνη όλες οι μέθοδοι ακολουθούν τα παρακάτω βασικά στάδια: διόγκωση, απομάκρυνση καφεΐνης, ανάκτηση διαλύτη, αφαίρεση υγρασίας, πακετάρισμα, δοκιμή. Αυτό που διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών καφέ είναι η επιλογή του διαλύτη που χρησιμοποιείται στο δεύτερο στάδιο της διαδικασίας: νερό, αιθυλική ακετόνη, διοξείδιο του άνθρακα, διχλωρομεθάνιο και άλλοι.



Εικόνα 3: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της αποκαφεΐνωσης

Άλλοι διαλύτες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την απομάκρυνση της καφεΐνης από τους κόκκους του καφέ είναι το χλωροφόρμιο και το βενζόλιο. Ωστόσο λόγω της τοξικότητάς τους για εβδομήντα χρόνια χρησιμοποιήθηκε σχεδόν αποκλειστικά το διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2).

Για την αποκαφεΐνωση χρησιμοποιούνται και άλλοι διαλύτες. Η ένδειξη "all-natural" υποδηλώνει αποκαφεΐνωση με διαλύτη τον οξικό αιθυλεστέρα, επειδή η ουσία αυτή συναντάται ως φυσικό προϊόν στα φρούτα. Ακόμη και το νερό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αποκαφεΐνωση.

3.2.1. Swiss Water

Η διαδικασία Swiss Water είναι μια 100% φυσική διαδικασία αποβολής της καφεΐνης από τον καφέ που οδηγεί σε πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά την γεύση του αποκαφεϊνωμένου καφέ. Οι περισσότερες άλλες διαδικασίες

χρησιμοποιούν χημικούς διαλύτες, π.χ. χλωρομεθάνιο, για να αφαιρέσουν την καφεΐνη από τους κόκκους του καφέ. Αντιθέτως, η διαδικασία Swiss Water χρησιμοποιεί μόνο το νερό για την αφαίρεση της καφεΐνης, παράγοντας επεξεργασμένο αποκαφεϊνωμένο καφέ με την χρήση νερού.

Αναμφίβολα το νερό έχει πολύ καλή φήμη στην αγορά, ωστόσο η ποιότητα του τελικού προϊόντος είναι λιγότερο από εξαισία αναφορικά με τη φυσική του όψη και με τη γεύση του όταν τον πεις (το πολύ σκούρο χρώμα των κόκκων πριν καβουρδιστούν, δεν είναι αρκετά ελκυστικό στην αγορά).

Εάν ο ωμός καφές εμβαπτιστεί στο νερό η καφεΐνη που περιέχει μέσα απομακρύνεται, αλλά μαζί με αυτή απομακρύνονται και τα περισσότερα αρωματικά χαρακτηριστικά του καφέ. Για να ξεπεραστεί αυτό το μειονέκτημα γίνεται εμπλουτισμός του νερού με αρωματικές ουσίες. Πιο συγκεκριμένα βυθίζονται στο νερό κόκκοι καφέ. Το νερό με αυτή την διαδικασία εμπλουτίζεται με τα αρωματικά και γευστικά χαρακτηριστικά, αλλά και την καφεΐνη που περιέχουν οι κόκκοι. Εν συνεχεία οι κόκκοι του καφέ απορρίπτονται από το πλέον εμπλουτισμένο νερό και αφαιρείται από αυτό μόνο η καφεΐνη με τη χρήση ενός φίλτρου άνθρακα

Τέλος ακολουθεί η τεχνική της αποκαφεϊνώσης. Οι προς αποκαφεϊνώση κόκκοι του καφέ βυθίζονται στο γευστικά εμπλουτισμένο νερό και δεδομένου ότι η συγκέντρωση των γευστικών και αρωματικών ουσιών που εμπεριέχονται στους κόκκους του καφέ ισούται με την συγκέντρωση του εμπλουτισμένου νερού σε αυτές τις ουσίες, αφαιρείται μόνο η καφεΐνη, διατηρώντας τη γεύση των κόκκων άθικτη. Το νερό περνά έπειτα μέσω ενός φίλτρου άνθρακα που παγιδεύει την καφεΐνη. Έτσι τώρα το χωρίς καφεΐνη, εμπλουτισμένο γευστικά και αρωματικά νερό ανακυκλώνεται ώστε να αφαιρεθεί περισσότερη ποσότητα καφεΐνης από του κόκκους καφέ. Αυτή η διαδικασία συνεχίζεται για περίπου 8 ώρες, έως ότου οι κόκκοι να είναι κατά 99,9% απαλλαγμένοι από την καφεΐνη. Τέλος, οι απαλλαγμένοι από την καφεΐνη κόκκοι καφέ αφαιρούνται από το νερό. Στην συνέχεια ξηραίνονται, καθαρίζονται, γυαλίζονται και αφού τοποθετηθούν σε σάκους αποστέλλονται προς κατανάλωση (Knox & Huffaker, 1997).

3.2.2. Παραδοσιακή-άμεση μέθοδος

Στην τεχνική αυτή χρησιμοποιείται θερμό νερό για την διάνοιξη των πόρων και την διόγκωση των κόκκων του καφέ. Η διαδικασία αυτή καθιστά ευκολότερη την απομάκρυνση της καφεΐνης που εμπεριέχεται στους κόκκους του καφέ. Για την

απομάκρυνση της καφεΐνης χρησιμοποιούνται διαλύτες όπως χλωρομεθάνιο και οξικός αιθυλεστέρας. Οι οργανικοί αυτοί διαλύτες είναι αρκετά εκλεκτικοί στην απομάκρυνση της καφεΐνης, καθώς και των άλλων αλκαλοειδών που εμπεριέχονται στους κόκκους του καφέ (Senol & Aydın, 2005).

3.2.3. Υπέρθερμου ατμού υπό υψηλή πίεση

Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για την αποκαφεΐνωση ακαβούρδιστων κόκκων καφέ. Αρχικά υπέρθερμος ατμός υπό υψηλή πίεση διαπερνά τους κόκκους και τους διογκώνει. Εν συνεχεία οι διογκωμένοι κόκκοι εκχυλίζονται με διάφορους οργανικούς διαλύτες (διχλωρομεθάνιο, εστέρα ακετικού οξέος) υπό συνεχή ανάδευση με σκοπό την επιλεκτική απομάκρυνση της καφεΐνης. Οι αποκαφεϊνωμένοι κόκκοι συλλέγονται και ακολουθεί έγχυση ατμού, μέχρι το ποσοστό υγρασίας των κόκκων να φτάσει περίπου το 40 %. Τέλος ξηραίνονται υπό κενό ή με ρεύμα θερμού αέρα.

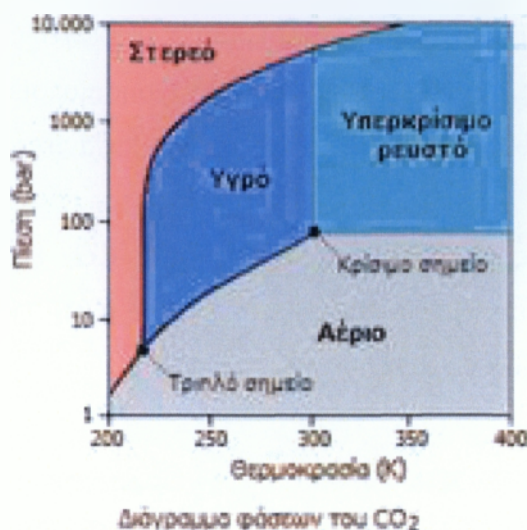
Αυτή είναι η πρώτη τεχνική που αναπτύχθηκε από τον *Roselius* στη Βρέμη της Γερμανίας το 1908 και η διαδικασία αυτή εφαρμόζεται ακόμα και σήμερα στην Ευρώπη (Knox & Huffaker, 1997).

3.2.4. Υγρού διοξειδίου του άνθρακα

Σε μια άλλη μέθοδο αποκαφεΐνωσης χρησιμοποιείται το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) σε "υπερκρίσιμη κατάσταση" (supercritical state) ως διαλύτης. Στην κατάσταση αυτή το CO_2 βρίσκεται σε μια ρευστή κατάσταση ενδιάμεση μεταξύ αερίου και υγρού.

Τα υπερκρίσιμα ρευστά αποτελούν μια κατάσταση της ύλης με ιδιότητες που αποτελούν συνδυασμό των ιδιοτήτων υγρών και αερίων. Συμπεριφέρονται ως εξαιρετικοί διαλύτες με διαλυτική ισχύ που εξαρτάται από την πίεση, κάτι που δεν ισχύει στους υγρούς διαλύτες. Συγχρόνως, λόγω του εξαιρετικά μικρού ιξώδους τους χαρακτηρίζονται από εξαιρετική ικανότητα διάχυσης (σαν να ήταν αέρια). Η ιδιότητα αυτή αυξάνει τη διεισδυτικότητά τους στους πόρους των εκχυλιζόμενων στερεών επιταχύνοντας σημαντικά τη διαδικασία της εκχύλισης. Ένα αέριο περιέρχεται σε υπερκρίσιμη κατάσταση σε θερμοκρασίες και πιέσεις μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες κρίσιμες τιμές που ορίζουν το κρίσιμο σημείο του διαγράμματος φάσεων. Έτσι, το CO_2 βρίσκεται σε κατάσταση υπερκρίσιμου ρευστού σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 31,1°C και πιέσεις μεγαλύτερες από 72,9 atm. Συγκριτικά, το

κρίσιμο σημείο του ύδατος ορίζεται από τη θερμοκρασία 374°C και την πίεση 218 atm.



Εικόνα 4: Διάγραμμα φάσεων του CO_2

Τα διακριτά στάδια της αποκαφεΐνωσης με υπερκρίσιμο CO_2 είναι τα εξής:

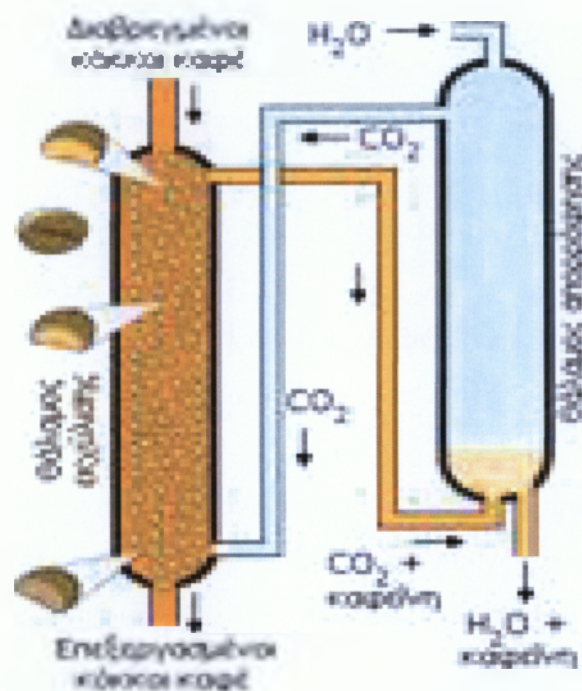
1. Διάβρεξη (soaking) των πράσινων κόκκων καφέ με νερό. Το μέγεθός τους διπλασιάζεται και στο εσωτερικό τους το νερό διαλύει την καφεΐνη.

2. Απομάκρυνση της καφεΐνης. Πραγματοποιείται στον θάλαμο εκχύλισης που μπορεί έχει ύψος 20 μέτρων και διάμετρο 3 μέτρων. Ο θάλαμος είναι γεμάτος με CO_2 θερμοκρασίας 93°C και πίεση 250 atm. Το υπερκρίσιμο CO_2 εισέρχεται στους κόκκους και παραλαμβάνει την καφεΐνη μαζί με αρκετό νερό. Ο θάλαμος τροφοδοτείται από το επάνω μέρος με κόκκους καφέ οι οποίοι προωθούνται σταδιακά προς τον πυθμένα σε ένα διάστημα πέντε ωρών. Για να γίνει η διαδικασία συνεχής, στο χαμηλότερο τμήμα του θαλάμου εισέρχεται φρέσκο CO_2 , οπότε η συγκέντρωση καφεΐνης στο εσωτερικό των κόκκων είναι πάντοτε μεγαλύτερη από εκείνη του περιβάλλοντος διαλύτη. Έτσι, η καφεΐνη διαχέεται πάντοτε από το εσωτερικό των κόκκων προς τα έξω.

3. Οι αποκαφεΐνωμένοι κόκκοι από τον πυθμένα του θαλάμου εκχύλισης απομακρύνονται, ξηραίνονται και ψήνονται.

4. Η ανάκτηση (recovery) της διαλυμένης καφεΐνης πραγματοποιείται στον θάλαμο απορρόφησης (absorption chamber). Με καταιονισμό με σταγονίδια ύδατος παραλαμβάνεται η καφεΐνη από το υπερκρίσιμο CO_2 . Το CO_2 εξέρχεται από τον θάλαμο απορρόφησης, καθαρίζεται και επαναχρησιμοποιείται. Η καφεΐνη του υδατικού εκχυλίσματος συχνά πωλείται σε βιομηχανίες αναψυκτικών και σε φαρμακοβιομηχανίες.

Η μέθοδος της εκχύλισης με υπερκρίσιμο CO_2 θεωρείται ως εξαιρετικά "οικολογική" και οι εφαρμογές του υπερκρίσιμου CO_2 ως εκχυλιστικού μέσου συνεχώς αυξάνονται (Gehrig & Schulmeyer, 1997).



Εικόνα 5: Συσκευή αποκαφεΐνωσης με υπερκρίσιμο CO_2

3.2.5. Υψηλής πίεσης

Υπερσυμπιεσμένα αέρια (π.χ. CO_2 , N_2O , προπάνιο και τολουόλιο) χρησιμοποιούνται ως διαλύτες για τον διαχωρισμό της καφεΐνης από μίγματα ουσιών. Το διοξείδιο του άνθρακα (κρίσιμη θερμοκρασία: 31 °C, κρίσιμη πίεση: 73.8 bar) έχει ειδική σημασία στην χημεία των τροφίμων γιατί είναι από τη φύση του ασφαλές και εύκολο στη χρήση. Η υψηλή πίεση των ατμών κάτω από κανονικές συνθήκες υπόσχεται ένα προϊόν απαλλαγμένο από υπολείμματα διαλύτη (Senol & Aydin, 2005) και υψηλής ποιότητας αφού εξαλείφεται όλη η ποσότητα της καφεΐνης χωρίς την υποβάθμιση των γευστικών και αρωματικών συστατικών του καφέ (Sebald et al., 1996).

3.2.6. Με χρήση οργανικών διαλυτών

Αρχικά όλες οι υδατοδιαλυτές ουσίες συμπεριλαμβανομένης και της καφεΐνης εκχυλίζονται από ακαβούρδιστους κόκκους καφέ με νερό. Εν συνεχεία η υδατική φάση συλλέγεται και εκχυλίζεται με έναν οργανικό διαλύτη (π.χ. διχλωροαιθάνιο, χλωροφόρμιο), με σκοπό την απομάκρυνση της καφεΐνης. Το αποκαφεϊνομένο υδατικό διάλυμα αναμιγνύεται με τους ακαβούρδιστους κόκκους του καφέ και εξατμίζεται με αυτούς μέχρι ξηρού (Belitz & Grosch, 1999). Μερικοί από τους συνηθέστερα χρησιμοποιούμενους οργανικούς διαλύτες είναι οι εξής :

1. Αιθυλική ακετόνη

Η αιθυλική ακετόνη είναι ένας ειδικός χημικός διαλύτης που χρησιμοποιείται στη διαδικασία παραγωγής καφέ χωρίς καφεΐνη, ο οποίος μπορεί να βρεθεί και στη φύση. Είναι μια ουσία η οποία συχνά βρίσκεται στο φρούτο και ως εκ τούτου αξιοσημείωτη. Δυστυχώς όμως έχει δυο σημαντικά μειονεκτήματα: υψηλή εκρηκτικότητα και δυνατή μυρωδιά φρούτου. Κατά συνέπεια τα κόστη παραγωγής είναι αρκετά υψηλά, όμως είναι συγκριτικά χαμηλότερα από αυτά των μεθόδων με το νερό ή το διοξείδιο του άνθρακα. Η αιθυλική ακετόνη έχει κατώτερη δύναμη διάλυσης συγκριτικά με το νερό και το διχλωρομεθάνιο, και αυτό διότι η ουσία αυτή αραιώνεται λιγότερο από τις άλλες. Σε αντίθεση, ο ντεκαφεϊνέ καφές χρησιμοποιώντας αιθυλική ακετόνη διατηρεί τη μυρωδιά του διαλύτη και αυτό τροποποιεί ελαφρώς τη γεύση του.

2. Διχλωρομεθάνιο

Το διχλωρομεθάνιο είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος διαλύτης. Είναι μια ουσία η οποία δρα ειδικά στην καφεΐνη και έχει υψηλή πτητικότητα (εξατμίζεται σε λιγότερο από 40 °C = 104 °F), κάνοντας το σχετικά εύκολο να αφαιρεθεί από τον καφέ χρησιμοποιώντας ατμό, χωρίς να αφήνει ίχνη που να μπορούν να αποκαλυφθούν στο καβουρδισμένο προϊόν. Σύμφωνα με τη γνώμη πολλών, η ποιότητα που επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας αυτό το διαλύτη είναι η καλύτερη αντί των άλλων μεθόδων και για τη φυσική όψη του ωμού καφέ όταν γίνεται ντεκαφεϊνέ αλλά και για τη γεύση του. Στην πραγματικότητα όλα τα χαρακτηριστικά του κανονικού καφέ διατηρούνται εκτός από κηρώδη υπολείμματα, τα οποία μειώνονται, κάνοντας τον καφέ ελαφρύτερο και ευκολοχώνευτο. Κατά τη δεκαετία του 1980 το CH_2Cl_2 χαρακτηρίστηκε ως πιθανό καρκινογόνο. Η Υπηρεσία Τροφίμων και

Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) συνέχισε να επιτρέπει τη χρήση του CH_2Cl_2 εφόσον τα υπολείμματά του στον επεξεργασμένο καφέ δεν θα ξεπερνούσαν τα 10 ppm. Έτσι, σήμερα το CH_2Cl_2 εξακολουθεί να χρησιμοποιείται για την αποκαφεΐνωση του καφέ, αφού ο διαλύτης αυτός ελάχιστα χαλάει τη γεύση του και το άρωμά του.

3.2.7. Άλλες τεχνικές

Άλλες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση του καφέ, εκτός από τις μεθόδους που προαναφέρθηκαν είναι η απομάκρυνση της καφεΐνης με ηλεκτροφόρηση, με χρήση μεμβρανών (Lugue-Perez et al., 1999) και με χρήση μικροκυμάτων. Επίσης διάφορες μικροβιολογικές και ενζυμικές μέθοδοι μελετήθηκαν για την απομάκρυνση της καφεΐνης (Gokulakrishnan et al., 2005).

3.3. Μεταβολισμός της καφεΐνης

Η καφεΐνη είναι ένα μεταβολικό τονωτικό και χρησιμοποιείται και φαρμακευτικά για να μειώσει τη φυσιολογική κούραση και να αποκαταστήσει τη διανοητική επαγρύπνηση όταν εμφανίζεται ή ασυνήθιστη αδυναμία ή υπνηλία, διεγείροντας το Κ.Ν.Σ.

Απορροφάται μέσω της γαστρεντερικής οδού ταχύτατα και πλήρως μέσα σε περίπου 45 λεπτά. Η μέγιστη συγκέντρωσή της στο πλάσμα του αίματος παρατηρείται σε 15 έως 120 λεπτά μετά την πρόσληψη. Η κινητική της καφεΐνης στο πλάσμα του αίματος επηρεάζεται από έναν αριθμό παραγόντων συμπεριλαμβάνοντας την συνολική δόση της καφεΐνης, την παρουσία φαγητού στο στομάχι και την χαμηλή τιμή του pH με τα οποία τροποποιείται η εκβολή γαστρικών υγρών. Η καφεΐνη εισχωρεί στο υγρό των ενδοκυτταρικών ιστών και βρίσκεται σε όλα τα υγρά του σώματος, νωτιαίο μυελό, σάλιο, χολή, σπέρμα, μητρικό γάλα και αίμα και το ποσοστό που δεσμεύεται στην πρωτεΐνη του πλάσματος του αίματος κυμαίνεται από 10-30%.

Μεταβολίζεται στο συκώτι σε τρεις αρχικούς μεταβολίτες :

- παραξανθίνη (84%)
- θεοβρομίνη (12%)
- θεοφυλλίνη (4%) από το ενζυμικό σύστημα κυτοχρωμάτων P450.

Η παραξανθίνη αυξάνει τη λιπόλυση, με την αύξηση των επιπέδων της γλυκερίνης και των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο πλάσμα του αίματος. Η

θεοβρομίνη διαστέλλει τα αγγεία του αίματος και αυξάνει τον όγκο των ούρων, είναι το κύριο αλκαλοειδές στο κακάο και επομένως στη σοκολάτα. Η θεοφυλλίνη χαλαρώνει τους μύες των βρόγχων και βοηθάει στη θεραπεία του άσθματος.

Κάθε ένας από αυτούς τους μεταβολίτες, μεταβολίζεται περαιτέρω και έπειτα εκκρίνεται στα ούρα.

Επιπλέον απομεθυλίωση και οξείδωση οδηγεί σε παράγωγα του ουρικού οξέος και της ουρακίλης. Στα ούρα ανιχνεύονται περίπου 12 μεταβολίτες της καφεΐνης και μόλις το 3% της προσληφθείσας ποσότητας αποβάλλεται αναλλοίωτη.

Η καφεΐνη διασχίζει εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό όπως το αλκοόλ, η νικοτίνη και τα αντικαταθλιπτικά χάπια, συμπεριφέρεται σαν ανταγωνιστής των υποδοχέων της αδενosίνης που βρίσκονται στον εγκέφαλο. Μέσω ενός άλλου μηχανισμού αυξάνει και τα επίπεδα της επινεφρίνης/αδρεναλίνης, καθώς και τα επίπεδα της σεροτονίνης προκαλώντας θετικές αλλαγές στη διάθεση.

Η ημιζωή της καφεΐνης, χρόνος που απαιτείται για να αποβάλλει το σώμα το μισό του συνολικού ποσού της καφεΐνης που καταναλώνεται, ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία, την λειτουργία του ήπατος, την εγκυμοσύνη, την φαρμακευτική αγωγή και το επίπεδο των ενζύμων στο συκώτι που απαιτούνται για το μεταβολισμό της καφεΐνης.

Στους υγιείς ενήλικες ο χρόνος που απαιτείται είναι περίπου 3-4 ώρες, στις γυναίκες που παίρνουν αντισυλληπτικά 5-10 ώρες, στις εγκύους 9-11 ώρες. Η εγκυμοσύνη επιβραδύνει το ρυθμό μεταβολισμού της καφεΐνης με αποτέλεσμα τα επίπεδά της να διατηρούνται σταθερά για αρκετό διάστημα. Σε άτομα με σοβαρά προβλήματα στο συκώτι μπορεί να φθάσει και τις 96 ώρες, ενώ σε ένα νεογέννητο φθάνει τις 30 ώρες. Η αποβολή της καφεΐνης είναι πολύ δύσκολη στα νεογνά εξαιτίας του μη ανεπτυγμένου ενζυμικά μεταβολικού ηπατικού συστήματος, έτσι ο χρόνος ημιζωής της καφεΐνης στο πλάσμα του αίματος των νεογνών είναι 65-103h.

Άλλοι παράγοντες όπως το κάπνισμα μειώνουν το χρόνο ημιζωής της καφεΐνης.

Καφεΐνη περιέχεται σε φαρμακευτικά σκευάσματα κατά του κρυολογήματος όπως και σε ανορεξιογόνα και απισχναντικά φάρμακα. Επίσης από μεταβολικές μελέτες, αναπτύχθηκε μια δοκιμή ανίχνευσης της καφεΐνης στην αναπνοή για την ανίχνευση της δυσλειτουργίας του ήπατος, χρησιμοποιώντας ως δείκτη την ποσότητα του CO₂ που σχηματίζεται (Macrae et al., 1993).

Στα περισσότερα άτομα τα ανεπιθύμητα συμπτώματα παρατηρούνται με κατανάλωση καφεΐνης άνω των 600mg/μέρα (=4 φλιτζάνια των 150mg).

Αμερικανικές έρευνες έδειξαν ότι πολύ υψηλές ποσότητες καφέ (άνω των 5 γραμμαρίων καφεΐνης, δηλαδή 75 φλιτζάνια), προκαλούν δηλητηρίαση, τον καφεΐνισμό, που μπορεί να οδηγήσει σε θανατηφόρο κώμα. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι μπορεί να παρατηρηθεί εθισμός στον καφέ, όχι λόγω καφεΐνης, αλλά από ένα άλλο συστατικό του, την μεθυλξανθίνη.

3.4. Φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες

Πολλά έχουν λεχθεί για την επίδραση του καφέ στην υγεία. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων των πολυάριθμων ερευνών που έχουν γίνει ως τώρα χρειάζεται μεγάλη προσοχή, γιατί υπάρχουν διαφορές από άνθρωπο σε άνθρωπο, ανάλογα με την ηλικία, την ημερήσια ποσότητα καφέ, τη σύγχρονη λήψη οινοπνευματωδών και τις συνήθειες, όπως το κάπνισμα. Τα ηλικιωμένα άτομα είναι πιο ευαίσθητα στη δράση της καφεΐνης, ειδικά όσον αφορά στον ύπνο. Αντίθετα τα παιδιά δεν φαίνονται πιο ευάλωτα από τους ενήλικους σε ελαφρές δόσεις καφέ.

Οι φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες της καφεΐνης εξαρτώνται όχι μόνο από την συνολική ποσότητα που καταναλώνει ο καθένας αλλά επίσης και τους μεταβολίτες. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα γνωστά στοιχεία για τις επιδράσεις της καφεΐνης προέρχονται μετά από πειράματα που έγιναν σε ζώα. Τα πειραματόζωα υπόκεινται σε μία περίοδο αποχής από καφεΐνη για να διασφαλιστεί η χαμηλή περιεκτικότητα σε καφεΐνη στο αίμα τους. Όμως οι περισσότεροι άνθρωποι καταναλώνουν καφεΐνη σε διαφορετικά διαστήματα καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας αλλά και κατά τη διάρκεια των ετών, επομένως είναι δύσκολο να ανακοινωθούν αποτελέσματα όσον αφορά την κατανάλωση της καφεΐνης (Macrae et al., 1993).

3.5. Επίδραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα

Η πιο γνωστή επίδραση του καφέ αφορά στο νευρικό σύστημα. Σε λογικές ποσότητες βελτιώνει τις πνευματικές ικανότητες γιατί προκαλεί εγρήγορση και μείωση της ανίας, διαύγεια του μυαλού ενώ άτομα τα οποία νιώθουν εξάντληση μπορούν να ανταπεξέλθουν καλύτερα στη δουλειά τους (Macrae et al., 1993). Μια αυξανόμενη δόση βρέθηκε ότι προκαλεί αϋπνία, μειώνει την συνολική ποσότητα του ύπνου και κλονίζει την ποιότητά του, με τα συνεχόμενα ξυπνήματα (Hui, 1992). Επίσης χρόνια υπερβολική πρόσληψη καφεΐνης προκαλεί πονοκέφαλο, νευρικότητα, εκνευρισμό, ανησυχία, οξυθυμία, μυκούς σπασμούς και τρεμούλιασμα.

Η καφεΐνη επενεργεί ως διεγερτικό του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) λόγω της ανταγωνιστικής δράσης της προς την αδενοσίνη. Η αδενοσίνη είναι φυσική ουσία που ενεργεί ως αγγελιαφόρος στη ρύθμιση της δραστηριότητας του εγκεφάλου και στον έλεγχο των καταστάσεων διέγερσης και ύπνου. Η καφεΐνη παρεμποδίζει τους συγκεκριμένους υποδοχείς της αδενοσίνης στο νευρικό ιστό και στον εγκέφαλο, δηλαδή προσδένεται στους υποδοχείς αδενοσίνης. Ωστόσο δεν επιβραδύνει τη δραστηριότητα των κυττάρων, με αποτέλεσμα αυτά να μην μπορούν να 'δουν' την αδενοσίνη διότι οι υποδοχείς έχουν καλυφθεί από την καφεΐνη. Έτσι αντί να επιβραδύνουν τη δραστηριότητά τους, τα νευρικά κύτταρα επιταχύνουν. Επίσης η καφεΐνη προκαλεί συστολή των αιμοφόρων αγγείων, μπλοκάροντας τη δράση της αδενοσίνης που τα διαστέλλει.

Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η πυροδότηση των νευρικών κυττάρων. Η υπόφυση αντιλαμβάνεται αυτή τη δραστηριότητα ως κατάσταση 'έκτακτης ανάγκης' και έτσι απελευθερώνει ορμόνες που υποχρεώνουν τα επινεφρίδια να παράγουν αδρεναλίνη (επινεφρίνη).

Η αδρεναλίνη έχει τις ακόλουθες επιπτώσεις στον οργανισμό:

- οι κόρες των οφθαλμών διαστέλλονται,
- οι βρόγχοι διαστέλλονται,
- οι σφυγμοί της καρδιάς αυξάνονται,
- τα επιφανειακά αγγεία συστέλλονται για να μειώσουν τη ροή στην επιφάνεια του δέρματος και να αυξηθεί η ροή προς τους μύς,
- η αρτηριακή πίεση του αίματος αυξάνεται,
- η ροή του αίματος προς το στομάχι μειώνεται,
- το ήπαρ απελευθερώνει γλυκόζη στο κυκλοφορικό σύστημα για περισσότερη ενέργεια και
- αυξάνεται η συσταλτικότητα των μυών.

Η δέσμευση των υποδοχέων της αδενοσίνης είναι επίσης υπεύθυνη για τη συστολή των αιμοφόρων αγγείων, αυτό ανακουφίζει την πίεση των ημικρανιών και των πονοκεφάλων και εξηγεί γιατί η καφεΐνη είναι συστατικό πολλών αναλγητικών χαπιών. Αναλγητικά που χορηγούνται ελεύθερα (χωρίς ιατρική συνταγή) συνήθως περιέχουν και μικρή ποσότητα καφεΐνης, που αυξάνει τη δραστηριότητά τους στην καταπολέμηση του πονοκεφάλου μέχρι και κατά 40% (Macrae et al., 1993).

3.6. Επίδραση στο καρδιομυϊκό σύστημα

Η κατανάλωση καφεϊνούχων ροφημάτων και κυρίως του καφέ σε κάθε μορφή του, έχει βρεθεί στο επίκεντρο του επιστημονικού ενδιαφέροντος ως προς το κατά πόσο συσχετίζεται με μεταβολές της σύστασης των λιπιδίων του αίματος, αυξημένη πίεση του αίματος, αρρυθμίες και άλλα καρδιαγγειακά προβλήματα. Οι έρευνες στρέφονται βασικά ως προς την επίδραση της καφεΐνης αλλά συχνά συνεξετάζεται και η επίδραση και άλλων δευτερευόντων συστατικών. Η μέτρια κατανάλωση καφέ είναι βέβαιο ότι δεν εμπλέκεται, αλλά οι ερευνητές δεν αποκλείουν προβλήματα σε περιπτώσεις υψηλής κατανάλωσης και ιδιαίτερα αν η κατανάλωση καφέ συνδυάζεται με κάπνισμα, έλλειψη άσκησης, κατανάλωση ζωικών κορεσμένων λιπών, αλατισμένων τροφών και με κατάχρηση αλκοολούχων ποτών. Πρόσφατες κλινικές έρευνες δεν κατέδειξαν αύξηση της πίεσης του αίματος για μέτρια κατανάλωση, αλλά αυτό μπορεί να συμβεί σε άτομα που δεν έχουν συνηθίσει τη μεγάλη κατανάλωση καφέ και ιδιαίτερα σε άτομα με προϋπάρχοντα προβλήματα υπέρτασης.

Ο καφές μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα στο αίμα της ολικής και της LDL-χοληστερόλης (της λεγόμενης "κακής χοληστερόλης", Low Density Lipoproteins) που είναι γνωστός παράγοντας κινδύνου για καρδιακές παθήσεις. Ο καφές που είναι φιλτραρισμένος ("καφές φίλτρου") δεν αυξάνει τη χοληστερόλη στο αίμα. Οι έρευνες έδειξαν ότι η αύξηση της LDL οφείλεται σε κάποια διτερπέρνια (καφεστόλη, καχεόλη), τα οποία είναι αυξημένα σε ορισμένες ποικιλίες καφέ, αλλά απομακρύνονται κατά το φιλτράρισμα.

Μια άλλη κλινική έρευνα που έγινε το 2002 από Ολλανδούς γιατρούς, έδειξε ότι η καφεΐνη αυξάνει στο αίμα την ομοκυστεΐνη. Η ομοκυστεΐνη είναι ένα αμινοξύ το οποίο υπάρχει φυσιολογικά στον οργανισμό. Τα υψηλά επίπεδα της συμβάλλουν στη στένωση των αρτηριών και έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακή νόσο.

Μέτρια κατανάλωση καφέ δεν συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο για στεφανιαία νόσο. Μια μεγάλη επιδημιολογική έρευνα (ΗΠΑ, 2006) δεν έδειξε αυξημένο κίνδυνο για υψηλή κατανάλωση καφέ, αλλά δύο πρόσφατες έρευνες (2007) δείχνουν ότι σε περιστασιακούς καταναλωτές καφέ μπορεί να αυξηθεί ο κίνδυνος, όπως και σε άτομα με "αργό μεταβολισμό" καφεΐνης. Στα άτομα αυτά, ένα φλιτζάνι καφέ μπορεί να αντιστοιχεί με τέσσερα φλιτζάνια για άτομα με κανονικό μεταβολισμό. Αντίθετα, μικρή ή μέτρια κατανάλωση βελτιώνει το πρόβλημα και μειώνει τον κίνδυνο λόγω των αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχει ο καφές.

Η καφεΐνη προκαλεί άμεση διέγερση του ιστού του μυοκαρδίου που οδηγεί στην αύξηση του ποσοστού και της ισχύος της συστολής. Αυτή η άμεση καρδιακή επίδραση μπορεί να σταματήσει με την δράση της πίεσης στην καρδιά. Αυτές οι δύο αντίθετες δράσεις μπορούν να εξηγήσουν γιατί η βραδυκαρδία, η ταχυκαρδία ή και τίποτα από τα παραπάνω, μπορεί να παρατηρηθούν με τη λήψη της ίδιας δόσης καφεΐνης (James, 1991).

Σε διάφορες κλινικές αναφορές δεν επιβεβαιώθηκε ότι η καφεΐνη επιφέρει αρρυθμία στους ανθρώπους μετά από ελεγχόμενες πειραματικές μελέτες, ενώ παρατηρήθηκε ότι αυξάνει την ροή του αίματος ως ένα μικρό βαθμό. Αυτή η επίδραση προκύπτει από την χαλάρωση των λείων μυών των αγγείων του αίματος. Είναι γνωστό πως η αδενosίνη και η διπυριδαμόλη αυξάνουν τον καρδιακό ρυθμό, πιθανά μέσω διέγερσης των τασεούποδοχέων του καρωτιδικού σώματος, η οποία παρουσιάζεται σε απάντηση πτώσης της πίεσης του αίματος, η τελευταία αποτελώντας συνέπεια της αγγειοδιασταλτικής επίδρασής τους. Η διπυριδαμόλη αυξάνει τα επίπεδα κυκλοφορούσας αδενosίνης αναστέλλοντας τη φωσφοδιεστεράση, ενεργοποιώντας την αδενυλ-κυκλάση και αποτρέποντας την επαναπρόσληψη της αδενosίνης από τα κύτταρα. Η αύξηση αυτή προκαλεί σχεδόν μέγιστη στεφανιαία αγγειοδιαστολή μέσω των στεφανιαίων A_2 υποδοχέων. Οι μεθυλοξανθίνες, όπως η καφεΐνη, είναι ενεργοί ανταγωνιστές της αδενosίνης και καταστέλλουν, εν μέρει, την αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων που προκαλείται από τις αδενosίνη και διπυριδαμόλη. Επίσης, η απελευθέρωση κατεχολαμινών, που προκαλεί η καφεΐνη, συμβάλλει παραπέρα στην αύξηση της αγγειοσυστολής, μέσω των α_2 υποδοχέων, πράγμα που συνολικά δημιουργεί μείωση της υπεραιμικής ροής του αίματος. Αυτό μπορεί να μειώσει την οδό για ισχαιμικά επεισόδια σε ασθενείς με στεφανιαία αγγειακή νόσο (Macrae et al., 1993).

Επίσης έχει αποδειχθεί ότι, η καφεΐνη χρησιμοποιείται για την υπόταση στην περίπτωση της απότομης ανακοπής της καρδιάς (Hui, 1992).

Επιδημιολογικές μελέτες προσπάθησαν να εγκαταστήσουν μία σχέση μεταξύ της λαμβάνουσας καφεΐνης και τα περιστατικά μυοκαρδιακών εμφραγμάτων, στην θνησιμότητα από την ισχαιμική καρδιακή νόσο ή τα εγκεφαλικά επεισόδια, πράγμα το οποίο απέτυχε γιατί δεν φάνηκε να παρουσιάζεται καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους (Macrae et al., 1993).

3.7. Επίδραση στη νεφρική λειτουργία

Η παροχή στον άνθρωπο μίας απλής δόσης καφεΐνης 4mg/kg αυξάνει την ουρική έκκριση σε νάτριο, κάλιο, χλωριούχα και ουρία. Ο μηχανισμός αυτός της ήπιας διούρησης οφείλεται στην αύξηση της ροής του αίματος στα νεφρά, ένα αυξανόμενο φιλτράρισμα που σκοπό έχει να μειώσει τα ιόντα νατρίου από το αίμα (Hui, 1992).

Ο καφές φαίνεται πως επιδρά θετικά στην ουρική αρθρίτιδα. Σύμφωνα με νέα έρευνα που διενεργήθηκε στον Καναδά, η κατανάλωση 4 ή περισσότερων φλιτζανιών καφέ την ημέρα φαίνεται να απομακρύνει τον κίνδυνο εμφάνισης ουρικής αρθρίτιδας. Η ουρική αρθρίτιδα είναι μια επίπονη ασθένεια των αρθρώσεων που προκαλείται από τη συσσώρευση ουρικού οξέος στο αίμα και τη δημιουργία κρυστάλλων ουρικού οξέος στις αρθρώσεις. Συνήθως πλήττει περισσότερο τους άντρες παρά τις γυναίκες.

Οι ερευνητές βρήκαν σημαντικά χαμηλότερες ποσότητες ουρικού οξέως στο αίμα όσων έπιναν μεγάλες ποσότητες καφέ. Από την έρευνα προκύπτει ότι υπάρχει κάποια ουσία στον καφέ, εκτός από την καφεΐνη, όπως για παράδειγμα ένα δυνατό αντιοξειδωτικό, το οποίο ενδεχομένως συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων του ουρικού οξέος (Macrae et al., 1993).

3.8. Επίδραση στο αναπνευστικό σύστημα

Στο αναπνευστικό επίπεδο έχει αποδειχθεί ότι ο καφές μειώνει τις κρίσεις άσματος χάρη στη βρογχοδιαστολή που προκαλεί η καφεΐνη.

Σε πειραματόζωα τα οποία ποτέ στη ζωή τους δεν είχαν λάβει καφεΐνη, μία δόση 4mg/kg αύξησε την μέση παραγόμενη αναπνοή. Αυτή η δράση της καφεΐνης στο αναπνευστικό σύστημα δεν οφείλεται, όπως βρέθηκε, στην χρόνια κατανάλωση καφέ. Αρκετοί μηχανισμοί έχουν προταθεί όπως, η αύξηση της πνευμονικής ροής του αίματος και η αυξανόμενη παροχή αέρα στους πνεύμονες από την χαλάρωση των βροχίδων και των κυψελών των λείων μυών, μια αύξηση στην ευαισθησία του αναπνευστικού κέντρου του CO₂, ερεθισμό της κεντρικής αναπνευστικής οδού, βελτίωση στην σκελετομυϊκή συστολή (Hui, 1992).

Σε μεγαλύτερες δόσεις 7mg/kg η καφεΐνη παραλαμβάνεται από τους μεταβολιτές του οξυγόνου και η κίνηση του αερίου κατά την διάρκεια άσκησης οδηγεί σε μια παροδική μείωση της ποσότητας του CO₂ στο σώμα (Macrae et al., 1993).

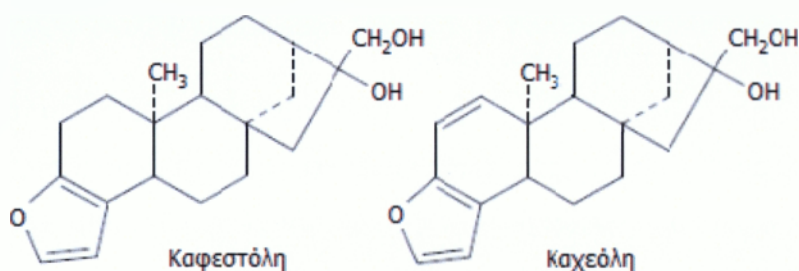
3.9. Κατανάλωση καφέ και κακοήθειες νεοπλασίες

Η συσχέτιση κατανάλωσης καφέ και της πιθανότητας ανάπτυξης καρκίνου είναι ένα "καυτό θέμα" και αντικείμενο πλήθους επιστημονικών μελετών. Η πρόσφατη επιστημονική βιβλιογραφία στα πιο σημαντικά ιατρικά και επιδημιολογικά περιοδικά δείχνει το τεράστιο επιστημονικό ενδιαφέρον που υπάρχει για τον καφέ ως τμήμα της διατροφής του ανθρώπου.

Είναι γεγονός ότι πολλά από τα συστατικά του καφέ αποδείχθηκαν καρκινογόνα και μεταλλαξιγόνα. Αυτό είναι κάτι ουσιαστικά αναμενόμενο, αφού από μόνο του το "καβούρδισμα" του καφέ είναι φυσικό να δημιουργεί καρκινογόνες ουσίες στο φριγμένο τμήμα του, όπως ακριβώς δημιουργούνται και σε όλες τις τηγανητές και ψημένες τροφές. Οι ουσίες αυτές βρίσκονται σε χαμηλές ποσότητες.

Τυπικές μεταλλαξιγόνες ουσίες του καφέ είναι η **μεθυλογλουξάλη** (CH₃COCHO) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (σε συνδυασμό με σίδηρο). Ο καφές και η καφεΐνη είναι μεταλλαξιγόνα σε βακτήρια και μύκητες, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι μεταλλαξιγόνα σε κύτταρα θηλαστικών, όπως αποδείχθηκε με την κοινή δοκιμασία Ames (Wikipedia: "Ames test").

Ωστόσο, ο καφές περιέχει και γνωστές αντικαρκινογόνες ουσίες, όπως η **καφεστόλη** (cafestol) και η **καχεόλη** (kahweol), που είναι διτερπένια με εξακριβωμένα αντικαρκινογόνα δράση σε πειραματόζωα (βλ. σχήμα).



Σχήμα 5: Απεικόνιση των μορίων της καφεστόλης και της κοχεόλης.

Ατυχώς, τα ίδια διτερπένια θεωρούνται υπεύθυνα για την αύξηση της LDL-χοληστερόλης. Ωστόσο νεότερα δεδομένα και περισσότερες και μακροχρόνιες έρευνες δεν επιβεβαίωσαν τον αυξημένο κίνδυνο για διάφορους τύπους κακοήθων νεοπλασιών, εκτός από την περίπτωση συνδυασμού με το κάπνισμα και με την κατανάλωση αλκοολούχων ποτών (Nehlig A, Debry G).

3.10. Επίδραση στο Μυϊκό σύστημα

Αποδείχθηκε μετά από έρευνες, ότι η καφεΐνη έχει μία βρογχική μυοχαλαρωτική επίδραση και ποιο συγκεκριμένα σκελετομυϊκή συσταλτικότητα. Σε ηλεκτρομυόγραμμα παρατηρήθηκε πως οι άνθρωποι μετά από κατάποση καφεΐνης 6mg/kg παρουσίασαν αύξηση τρέμουλου των χεριών και επέκταση των αντιβραχιόνων. Αυτή η επίδραση οφείλεται στη διεγερτική δράση του Κ.Ν.Σ. και όχι αυτής των μυϊκών ινών. Η κούραση των σκελετικών μυών μπορεί να αντιστραφεί με υψηλή συγκέντρωση καφεΐνης αποκτημένης μόνο *in vitro* και όχι *in vivo* (Macrae et al., 1993).

Πολυάριθμες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με αντικείμενο την επίδραση της κατανάλωσης καφεΐνης στις αθλητικές επιδόσεις. Οι περισσότερες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση καφεΐνης πριν την άσκηση φαίνεται να αυξάνει την απόδοση αντοχής κατά τη διάρκεια μέτριας αεροβικής άσκησης.

Ο κύριος υπεύθυνος μηχανισμός για την βελτίωση της απόδοσης, είναι η αυξανόμενη χρήση λίπους ως καύσιμο.

Επειδή η καφεΐνη επιδρά στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στον λιπώδη ιστό και στους σκελετικούς μυς οδηγηθήκαμε στην άποψη ότι επηρεάζει την αθλητική απόδοση. Οι πρώτες μελέτες για τη δράση της καφεΐνης στην αντοχή επικεντρώθηκαν στην ενεργοποίηση της λιπόλυσης στον λιπώδη ιστό με αποτέλεσμα την αυξημένη παροχή λιπών στους μυς, που αυξάνει την οξείδωση των λιπών και εξοικονομεί το μυϊκό γλυκογόνο ενώ αυξάνει την αντοχή.

Οι ερευνητές έδειξαν ότι η πρόσληψη καφεΐνης αυξάνει τα επίπεδα των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο αίμα, αυξάνει την οξείδωση των λιπών και εξοικονομεί το μυϊκό γλυκογόνο σε παρατεταμένη άσκηση (Spriet 1995). Πιθανολογείται επίσης ότι η καφεΐνη δρα και απευθείας στους μυς επηρεάζοντας τη δράση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου.

3.11. Επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα

Η καφεΐνη χαλαρώνει τους λείους μύες της χολής και του γαστρεντερικού συστήματος, ωστόσο υψηλές δόσεις μπορεί να προκαλέσουν μια αρχική σύσπαση η οποία επακολουθεί της χαλάρωσης. Η καφεΐνη φαίνεται να μην έχει καμία επίδραση χαμηλότερα στον οισοφάγο. Η αύξηση έκκρισης στο γαστρικό και στο πεπτικό σύστημα σχετίζεται γραμμικά με τα επίπεδα καφεΐνης που υπάρχουν στο πλάσμα του αίματος μετά τη λήψη ποσότητας 4 έως και πάνω από 8mg/kg. Παράδοξο είναι το

φαινόμενο ότι και ο πλήρης καφές και ο καφές χωρίς καφεΐνη διεγείρουν εντονότερα τη γαστρική έκκριση από ότι η ίδια η καφεΐνη.

Σχετικά με την παλινδρόμηση φαγητού και υγρών στον οισοφάγο, η δράση της καφεΐνης δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως και οι απόψεις δίστανται.

Σε έρευνα που έγινε στη Νορβηγία μελετήθηκε η διαιτητική πρόσληψη και οι καθημερινές συνήθειες ενός πληθυσμού που έπασχε από γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση και παρατηρήθηκε ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης καφέ και συμπτωμάτων που οφείλονται σε παλινδρόμηση. Συγκεκριμένα υπήρχε μείωση του κινδύνου της παλινδρόμησης κατά 40% μεταξύ ατόμων που κατανάλωναν περισσότερα από επτά φλιτζάνια καφέ την ημέρα σε σύγκριση με αυτούς που έπιναν λιγότερο από ένα φλιτζάνι καφέ την ημέρα (Nilsson et al, 2004).

Επιπλέον υπάρχει μια αντίληψη ότι ο καφές ελαττώνει τον τόνο του κατώτερου οισοφαγικού σφιγκτήρα αλλά οι πλείστες μελέτες αντιτίθενται στην άποψη αυτή και διαπιστώνουν ότι η καφεΐνη μπορεί να αυξήσει τον τόνο του σφιγκτήρα (Σκιαδάς και Σιμάτης, 1991).

Στον αντίποδα βρίσκονται έρευνες σαν των Nocon et al (2005) όπου μετρήθηκε η κατανάλωση καφέ και δεν βρέθηκε καμιά συσχέτιση μεταξύ της έξαρσης των συμπτωμάτων και της αυξημένης κατανάλωσης καφέ.

Στο λεπτό έντερο η καφεΐνη τροποποιεί την ανταλλαγή υγρών από μία καθαρή απορρόφηση σε μία καθαρή έκκριση νερού και νατρίου. Ο ρόλος της στην παθογένεση του πεπτικού έλκους και άλλων γαστρεντερικών ασθενειών παραμένει άγνωστος και δεν μπορεί να βρεθεί η σχέση μεταξύ τους από κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες (Singh et al., 1998).

3.12. Επίδραση στο μεταβολισμό

Η καφεΐνη αυξάνει τη θερμογένεση μέσω του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και της έκκρισης αδρεναλίνης. Η δράση της αυτή είναι συνεργική με αυτή της εφεδρίνης και για αυτό στη Δανία έχουν παρασκευαστεί φαρμακευτικά σκευάσματα που περιέχουν τις δύο ουσίες για την αγωγή της παχυσαρκίας.

Η δράση όμως αυτή της καφεΐνης στον βασικό μεταβολισμό παρατηρείται μόνον μεταγευματικά, δηλαδή τις 3 ώρες που ακολουθούν τη λήψη ικανής ποσότητας καφέ. Κατά τα άλλα ο καφές σε λογική ποσότητα δεν επηρεάζει τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και των λιπιδίων. Σε πολύ μεγάλες δόσεις μπορεί να

προκαλέσει υπεργλυκαιμία σε παχύσαρκα διαβητικά άτομα και ακόμη να αυξήσει σε μικρό βαθμό τη χοληστερίνη του αίματος.

Η αυξημένη χορήγηση καφεΐνης έχει ως αποτέλεσμα μια αύξηση 5-25% στο βασικό μεταβολικό ποσοστό. Ανενεργά πειραματόζωα έδειξαν να φέρουν μεγαλύτερη αύξηση στον ενεργειακό μεταβολισμό σε σχέση με τα ασκούμενα πειραματόζωα συμπεράσμα το οποίο δείχνει ότι με την άσκηση μειώνεται η θερμογενική αντίδραση της καφεΐνης (Westertep-Plantenga et al., 2006).

Αυτές οι τροποποιήσεις του ενεργειακού μεταβολισμού φαίνεται να σχετίζονται με τις σημαντικές αυξήσεις των ελεύθερων λιπαρών οξέων στον ορό του αίματος, ενώ τα ακόλουθα συμπεράσματα αναφέρθηκαν για τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα. Η λιπολυτική επίδραση εξηγείται γενικά με την παρεμπόδιση της φωσφοδιεστεράσης, την απελευθέρωση κατεχολαμίνης ή την ανταγωνιστική δράση της αδενοσίνης. Η αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και η οξείδωσή τους, ίσως να έχουν μια γλυκογόνο-φειδωλή επίδραση. Ωστόσο αυτή η επίδραση μπορεί να κατασταλεί με ταυτόχρονη λήψη τροφής υψηλή σε υδατάνθρακες (Singh et al., 1998).

Σε λογικές ποσότητες πάντα δεν φαίνεται να επιδρά στη γονιμότητα. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης πρέπει να μειώνεται η κατανάλωση καφέ, γιατί υπάρχουν στοιχεία που συνηγορούν σε αύξηση του κινδύνου αυτόματης αποβολής, που θα μπορούσε να οφείλεται σε συστατικό του καφέ, όπως το βενζοπυρένιο και το χλωρογενικό οξύ. Πάντως είναι αποδεδειγμένο ότι πολλά συστατικά μεταξύ των οποίων και η καφεΐνη διασχίζουν ελεύθερα τον πλακούντα και εισέρχονται στην κυκλοφορία του εμβρύου. Λογική ποσότητα καφέ (< 2 φλιτζάνια) δεν προκαλεί τερατογένεση, ούτε καθυστέρηση στην ανάπτυξη του εμβρύου. Δεν συμβαίνει το ίδιο και με την υπερβολική κατανάλωση, που αυξάνει συν τοις άλλοις και τον κίνδυνο άπνοιας μετά τον τοκετό, λόγω απότομης πτώσης του επιπέδου καφεΐνης στο αίμα του νεογέννητου.

3.13. Επίδραση στη γονιμότητα και στην εγκυμοσύνη

Σύμφωνα με έρευνες διαπιστώθηκε ότι η αυξημένη κατανάλωση καφεΐνης, μπορεί να μειώσει την ικανότητα της γυναίκας για σύλληψη, μέχρι και 27%, σε σύγκριση πάντα με τις γυναίκες που δεν καταναλώνουν καθόλου καφεΐνη. Η μέτρια κατανάλωση καφεΐνης μπορεί να μειώσει την πιθανότητα σύλληψης μέχρι και 10 %. Δεν έχει διαπιστωθεί ακόμη ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο η καφεΐνη συνδέεται

αρνητικά με την ικανότητα σύλληψης. Πιστεύεται ότι τα διεγερτικά συστατικά του καφέ, επηρεάζουν την ωορρηξία μέσω ορμονικών διαταραχών.

Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες των Sata et.al στην Ιαπωνία δείχνουν ότι μόνο οι γυναίκες που έχουν μια ιδιαίτερη γενετική σύνθεση (δηλ. κατέχοντας τα ομόζυγα αλληλόμορφα γονίδια CYP1A21F) διατρέχουν τον κίνδυνο μειωμένης γονιμότητας ακόμα και με μέτρια κατανάλωση καφεΐνης.

Αντιθέτως όλο και περισσότερες έρευνες, θέλουν την καφεΐνη ως παράγοντα γονιμότητας του άνδρα, μέσω της ενεργητικότητας που προκαλεί στο σπέρμα.

Οι γνώσεις για την θρεπτική κατάσταση της εγκύου που καταναλώνει μεγάλες ποσότητες καφεΐνης είναι περιορισμένες. Αποτελέσματα ερευνών αναφέρουν ότι οι γυναίκες που καταναλώναν περισσότερα από 300 mg ημερησίως κατά την κύηση, εκτός από χαμηλό βάρος γέννησης (σε σχέση με το ύψος τους) είχαν και χαμηλότερη μέση πρόσληψη ενέργειας, πρωτεΐνης, αλλά και μειωμένη απορρόφηση ανόργανων αλάτων και ιχνοστοιχείων όπως το μαγνήσιο, ο ψευδάργυρος, ο σίδηρος, το κάλιο, το ασβέστιο, βιταμίνης Α, βιταμίνες συμπλέγματος Β (θειαμίνη, ριβοφλαβίνη) και βιταμίνης C σε σύγκριση με γυναίκες που καταναλώναν λιγότερο από 300 mg καφεΐνης ημερησίως.

Η καφεΐνη έχει διουρητικές ιδιότητες, με αποτέλεσμα να χάνεται ένα σημαντικό ποσοστό νερού και ηλεκτρολυτών, που είναι απαραίτητα κατά τη διάρκεια της κύησης. Εμποδίζει την απορρόφηση ασβεστίου, του οποίου η απώλεια παρατηρείται στα ούρα και του σιδήρου. Ο χημικός μηχανισμός με τον οποίο εμποδίζεται η απορρόφηση σιδήρου δεν είναι σαφής (Riksen NP, Rongen GA, Smits P).

3.14. Ασφάλεια και τοξικότητα

Η καφεΐνη αποτελεί φάρμακο που είναι διαθέσιμο στο κοινό χωρίς να χρειάζεται ιατρική συνταγή. Μετά τη λήψη θεραπευτικών δόσεων των 50-200 mg επιδρά ως ανταγωνιστής του υποδοχέα της αδενosίνης. Αυτό οδηγεί σε μια φυσιολογική διέγερση και αποτελέσματα όπως η ελάττωση της κούρασης, η αύξηση της φυσιολογικής ικανότητας και η αύξηση της ικανότητας συγκέντρωσης.

Ένα κανονικό φλιτζάνι καφέ περιέχει κατά μέσο όρο 80 mg καφεΐνη και η κατανάλωση της ποσότητας αυτής αναλογεί σε συγκέντρωση στο πλάσμα έως και 2 mg/L. Η κατανάλωση μιας ταμπλέτας που περιέχει 200 mg καφεΐνη οδηγεί σε συγκέντρωση αυτής στο πλάσμα έως και 10 mg/L. Τιμές άνω των 15 mg/L μπορούν

να προκαλέσουν συμπτώματα τοξικότητας και άνω των 80 mg/L θεωρούνται να είναι θανατηφόρα μετά από πρόκληση κωματώδους κατάστασης.

Μετά από λήψη από του στόματος 1g καφεΐνης μπορεί να εμφανιστούν συμπτώματα τοξικότητας ενώ η λήψη άνω των 3g μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο. Η ταχεία θανατηφόρος δόση στους ενήλικες φαίνεται να είναι τα 5-10g. Η ποσότητα αυτή θα μπορούσε να περιέχεται σε 75 φλιτζάνια καφέ, 125 φλιτζάνια τσάι ή 200 αναψυκτικά τύπου κόλα.

Η υπερβολική δόση μπορεί να προκαλέσει τα παρακάτω συμπτώματα : διέγερση του αναπνευστικού κέντρου, ταχυκαρδία, αρρυθμία και τρόμο. Παρόλα αυτά οι θάνατοι που οφείλονται σε υπερβολική δόση καφεΐνης είναι σπάνιοι στη βιβλιογραφία.

Παρατηρήθηκε επίσης ότι, διαιρεμένες δόσεις καφεΐνης στους αρουραίους στην διάρκεια της ημέρας, ήταν λιγότερο τοξικές απ' ότι μία μονή δόση καφεΐνης και η μόνη επίδραση που παρατηρήθηκε σε αυτή την περίπτωση ήταν το μειωμένο βάρος του εμβρύου (Macrae et al., 1993).

Η λήψη καφεΐνης σε υψηλές συγκεντρώσεις έχει μία μεταλλαξιογόνο δράση στα βακτήρια και τους μύκητες, με αποτέλεσμα να προκαλείται χρωμοσωμική ζημιά *in vitro*. Παρόλα αυτά συμφωνήθηκε από τους επιστήμονες ότι η καφεΐνη δεν έχει μεταλλαξιογόνο δράση στα μεγαλύτερα ζώα. Μία επιδημιολογική μελέτη δεν παρουσίασε καμία χρωμοσωματική μετάλλαξη στα λεμφοκύτταρα των ανθρώπων που εκτέθηκαν σε καφεΐνη και άλλες μελέτες απέδειξαν μία αύξηση των μικροπυρηνικών κυττάρων στο αίμα και την απουσία μεταλλαξιογόνων ενώσεων στα ούρα τους (Hui, 1992).

Τέλος να αναφερθεί ότι στις μακροπρόθεσμες μελέτες, αποδέχθηκε ότι η καφεΐνη δεν παρουσιάζει καμία καρκινογόνο δράση στα τρωκτικά, τα ζώα και τους ανθρώπους, για αυτό και δεν έχει ταξινομηθεί ως καρκινογόνος ουσία από την Διεθνή Επιτροπή Αντικαρκινικού Αγώνα (IARC) (James, 1991).

Η διακοπή μιας χρόνιας λήψης συγκεκριμένης δόσης καφεΐνης σε ημερήσια βάση παράγει συμπτώματα στέρησης, όπως αυξημένο αίσθημα κόπωσης, υπνηλία, πονοκέφαλο και άλλες καταστάσεις της διάθεσης που έχουν ως βάση τη δυσφορία, που μπορούν να αναστραφούν με επαναχορήγηση καφεΐνης. Τα συμπτώματα αυτά φαίνεται να οφείλονται σε αλλαγές της ταχύτητας της εγκεφαλικής ροής αίματος και συγκεκριμένα αύξησή της στις μέσες εγκεφαλικές αρτηρίες.

Βέβαια, η εξάρτηση που δημιουργεί η καφεΐνη δεν μπορεί να συγκριθεί με την εξάρτηση που δημιουργούν οι συνήθεις εξαρτησιογόνες ουσίες μιας και δε συνοδεύεται από τα κοινωνικά φαινόμενα περιθωριοποίησης, εγκληματικότητας και βαθμιαίας ανικανότητας για εργασία, ούτε από τα έντονα στερητικά σύνδρομα που οι ουσίες αυτές παράγουν οδηγώντας τα εξαρτημένα άτομα στις αντικοινωνικές αυτές συμπεριφορές.

3.15. Θεραπευτικές χρήσεις

Η καφεΐνη αποτελεί συστατικό πολλών φαρμάκων, όπως τα αναλγητικά, στα οποία χρησιμοποιείται για να αυξήσει τη δράση καταστολής του πόνου, καθώς και σε σκευάσματα για το κρυολόγημα και τη γρίπη και σε βοηθήματα διατροφής. Επιπλέον η καφεΐνη μαζί με μια άλλη διμεθυλοξανθίνη, την θεοφυλλίνη, έχουν βρογχοδιασταλτικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της νεογνικής άπνοιας. Πιο συγκεκριμένα, για μωρά βάρους 2,5kg η δόση κυμαίνεται από 5-30mg/kg την ημέρα και τα επίπεδά της πρέπει να ελέγχονται προσεκτικά, ώστε να φτάσουν τα 10-20mg/kg στο πλάσμα του αίματος.

Λόγω της βρογχικής επίδρασής της στη χαλάρωση των μυών, η καφεΐνη χρησιμοποιείται για την θεραπεία χρόνιων πνευμονικών παθήσεων και την θεραπεία του άσθματος. Επίσης η χρήση της εφαρμόζεται και για την θεραπεία των παιδιών τα οποία έχουν μια ελάχιστη δυσλειτουργία του εγκεφάλου για να αυξηθεί η διάρκεια της ηλεκτροσπασμωδικής θεραπείας, για την αλλεργική ρινίτιδα και την έκτοπη δερματίτιδα.

Πρόσφατα η καφεΐνη χρησιμοποιήθηκε σε διαγνωστικό τεστ για την κακοήθη υπερδερμία και για την διάγνωση νευρολεπτικού κακοήθους συνδρόμου, μια περιπλοκή νευρολεπτικής θεραπείας (Macrae et al., 1993).

3.16. Βιοχημικοί μηχανισμοί στη δράση της καφεΐνης

Οι φυσιολογικές και οι φαρμακολογικές ιδιότητες της καφεΐνης δεν μπορούν να εξηγηθούν από έναν απλό βιοχημικό μηχανισμό. Οι μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί να δρα η καφεΐνη είναι η μετατόπιση του εξωκυττάριου ασβεστίου, η αύξηση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) και της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP) που προκαλούνται από την αναστολή της φωσφοδιεστεράσης και ο αποκλεισμός των υποδοχέων της αδενοσίνης.

Η πρώτη βιοχημική επίδραση που περιγράφηκε ήταν η παρεμπόδιση της φωσφοδιεστεράσης, που είναι ένα ένζυμο που καταλύει την διάσπαση της 3,5-φωσφορικής αδενοσίνης (AMP). Η καφεΐνη έδειξε ότι αυξάνει την συγκέντρωση της AMP στους ιστούς. Αυτή η διάσπαση εμφανίζεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις (της τάξεως των mM) και θα μπορούσε να είναι περιορισμένης σπουδαιότητας για τα φυσιολογικά επίπεδα της καφεΐνης που καταναλώνονται.

Ο δεύτερος μηχανισμός είναι η δυνατότητα μεταφοράς του ασβεστίου όπως προέκυψε μετά από πειράματα που έγιναν σε σκελετικούς μύες. Υψηλές συγκεντρώσεις καφεΐνης είναι απαραίτητες για την μείωση της ενδοκυτταρικής ιοντικής αποθήκευσης ασβεστίου.

Στο πλάσμα του αίματος τα αυξημένα επίπεδα των β-ενδορφινών, επινεφρίνης, κορτικοστερόνης, ρενίνης, αγγειοτεστίνης I και τα μειωμένα επίπεδα ανάπτυξης ορμονών, θυροξίνης, θειοδοθυρονίνης και θυροτροπίνης, σχετίζονται με τις υψηλές δόσεις καφεΐνης. Αυτοί οι μηχανισμοί, υπεύθυνοι για αυτές τις διάφορες επιδράσεις είναι άγνωστοι κατά ένα μεγάλο μέρος.

Ο ανταγωνισμός της βενζοδιαζαπίνης στο επίπεδο αποδοχής παρατηρήθηκε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις καφεΐνης (0,5-0,7mM) από ότι εκείνης που χρειάζεται για την διάσπαση της φωσφοδιεστεράσης.

Ο τρίτος μηχανισμός, ο ανταγωνισμός της ενδογενούς αδενοσίνης, είναι προς το παρόν ο πιο εύλογος τρόπος δράσης της. Υπάρχουν τέσσερις υποδοχείς αδενοσίνης, οι A_1 , A_{2a} , A_{2b} , A_3 . Ο A_3 επηρεάζεται ελάχιστα από τις μεθυλοξανθίνες. Ο A_{2b} χρειάζεται πολύ μεγάλες ποσότητες αδενοσίνης για να ενεργοποιηθεί, οπότε δεν μπορεί να ερμηνεύσει τις δράσεις της καφεΐνης. Οι A_1 και A_{2b} είναι οι πιο πιθανοί στόχοι της καφεΐνης και έχουν μερικώς αντίθετη δράση σε κυτταρικό επίπεδο αφού ο πρώτος αναστέλλει την αδενυλ-κυκλάση ενώ ο δεύτερος την ενεργοποιεί.

Ο αριθμός των A_1 υποδοχέων αδενοσίνης αυξάνει μετά από μακροχρόνια θεραπεία με καφεΐνη. Αυτό το αποτέλεσμα φαίνεται ότι οφείλεται σε μπλοκάρισμα ενός κατασταλτικού μηχανισμού ο οποίος ενεργοποιείται από την ενδογενή αδενοσίνη που δρα ως ανταγωνιστής. Σε καμιά περίπτωση δεν οφείλεται σε αλλαγές στο επίπεδο στο επίπεδο μεταγραφής γονιδίων. Τα παραπάνω δεν ισχύουν για τους A_2 υποδοχείς λόγω έλλειψης του κατασταλτικού μηχανισμού. Οι αλλαγές στους A_1 υποδοχείς θεωρούνται η αιτία ανοχής στην καφεΐνη. Η χρόνια κατανάλωση καφεΐνης βρέθηκε να συντελεί στη ρύθμιση αυτή και/ή στην ευαισθητοποίηση των υποδοχέων αδενοσίνης στα αιμοπετάλια πράγμα που την περίοδο που ανακαλύφθηκε ήταν η

μοναδική άμεση απόδειξη της επίδρασης της καφεΐνης με ενδογενείς μηχανισμούς αδενοσίνης στους ανθρώπους και υπονοούσε ότι η καφεΐνη, σε συγκεντρώσεις που εφαρμόζονται *in vivo*, δρα ως ανταγωνιστής των υποδοχέων αδενοσίνης.

Η ανταγωνιστική δράση της αδενοσίνης, φαίνεται να είναι ο μηχανισμός που εξηγεί τις περισσότερες δράσεις της καφεΐνης: τόνωση του Κ.Ν.Σ., εντερικός περισταλτισμός, αναπνοή, πίεση αίματος, λιπόλυση, απελευθέρωση κατεχολαμίνης και ρενίνης. Παρόλα αυτά, κάποιες επιδράσεις όπως ο οποιούχος ανταγωνισμός ή δράσεις οι οποίες είναι όμοιες με αυτές της αδενοσίνης, πρέπει να μετριαστούν από άλλους μηχανισμούς όπως η ενδυνάμωση από την καφεΐνη των ανασταλτικών της σύνθεσης προσταγλαδίνης (Macrae et al., 1993).

3.17. Προσδιορισμός Καφεΐνης

Η καφεΐνη προσδιορίζεται παραδοσιακά στα τρόφιμα φασματοσκοπικά από εκχύλισμα οργανικού διαλύτη, αφού καθαριστεί κατάλληλα περνώντας μέσα από χρωματογραφική στήλη. Τέτοιες μέθοδοι απομόνωσής της είναι κοπιαστικές αφού παρεμποδίζονται από άλλες ενώσεις που απορροφούν στο ίδιο μήκος υπεριώδους ακτινοβολίας. Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε εκτενέστερα η υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC), μια μέθοδο που μπορεί να δώσει ακριβή στοιχεία για τον προσδιορισμό της καφεΐνης στα τρόφιμα, αλλά και σε άλλα δείγματα ουσιών που την περιέχουν.

Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), χρησιμοποιείτε μια αντλία για να προωθεί μια κινητή φάση τον διαλύτη, με σταθερή ροή και πιέσεις που κυμαίνονται από 500 έως 5000 psi (40-400 atm). Η οφθαλμοφανής υπεροχή της HPLC ως προς την κλασική υγρή χρωματογραφία στήλης είναι ότι, τα δείγματα μπορούν να διαχωριστούν πολύ ταχύτερα. Επίσης, μη πτητικά δείγματα ή δείγματα που αποσυντίθενται εύκολα θερμικά και δεν μπορούν να αναλυθούν με την αέρια χρωματογραφία, μπορούν να διαχωριστούν με την HPLC γρήγορα και αποτελεσματικά.

Στην HPLC εισάγουμε το δείγμα με ένεση στην κινούμενη φάση, η οποία περνάει από μια στήλη πληρωμένη από τη στατική φάση. Όπως και στην αέρια χρωματογραφία, ο διαχωρισμός ενός μίγματος στα συστατικά του βασίζεται στους διαφορετικούς χρόνους ανάσχεσης (t_R) κάθε συστατικού μέσα στη στήλη. Αυτό εξαρτάται από την κατανομή των ουσιών μεταξύ της υγρής κινητής φάσης και της υγρής στατικής φάσης. Η στατική φάση είναι υγρό, συνδεδεμένο χημικά με στερεό

υπόστρωμα (συνήθως πυριτίας). Συστατικά του δείγματος που κατανέμονται ισχυρά στη στατική υγρή φάση έχουν μεγάλο χρόνο ανάσχεσης.

Αν η στατική φάση είναι πιο πολική από την κινητή φάση, αυτό το είδος της χρωματογραφίας κατανομής ονομάζεται χρωματογραφία κανονικής φάσης (normal phase chromatography). Αντίθετα, αν η κινητή φάση είναι πιο πολική από τη στατική, τότε η χρωματογραφία κατανομής ονομάζεται χρωματογραφία αντίστροφης φάσης (reverse phase chromatography), (Huck C.W., Guggenbichler W., Bonn G.K).

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ

4.1. Εισαγωγή

Η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (φως) με την ύλη (χημικές ενώσεις) και οι κβαντικές μεταβολές ενέργειας κατά την απορρόφηση ή εκπομπή ακτινοβολίας είναι το χαρακτηριστικό της φασματοσκοπίας.

Οι φασματοσκοπικές μέθοδοι είναι τεχνικές που μας επιτρέπουν να μετρήσουμε με ακρίβεια την ποσότητα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που απορροφάται ή εκπέμπεται από διάφορες χημικές ενώσεις σε μεγάλη ποικιλία περιοχών συχνοτήτων (ή μήκη κύματος) και τα φάσματα μας παρέχουν χρήσιμο πληροφοριακό υλικό για την πιστοποίηση της δομής τους.

Για να υπάρξει μηχανισμός αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και του χημικού μορίου πρέπει οι ηλεκτρονικές και πυρηνικές μεταβολές του (που συμβαίνουν ακατάπαυστα και έχουν μεγάλη ποικιλία) να προκαλέσουν κάποιο ηλεκτρικό ή μαγνητικό αποτέλεσμα που με τη σειρά του θα επιδράσει στα ηλεκτρικά και στα μαγνητικά πεδία της ακτινοβολίας.

Ο διαχωρισμός του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος σε περιοχές είναι σχετικά αυθαίρετος, αν και κάθε περιοχή χαρακτηρίζεται από ορισμένες μοριακές ή πυρηνικές ή ηλεκτρονικές αλλαγές που οδηγούν σε ενεργειακές μεταβολές (κβαντικές) στις καταστάσεις των χημικών μορίων. Οι περιοχές αυτές φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί :

Πίνακας 10: περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος

Περιοχή του φάσματος	Περιοχή συχνοτήτων	Ενέργεια φωτονίων
<u>Ραδιοκύματα</u>	0-300 <u>MHz</u>	0-10 ⁻⁵ <u>eV</u>
<u>Μικροκύματα</u>	300 <u>MHz</u> - 300 <u>GHz</u>	10 ⁻⁵ - 10 ⁻³ <u>eV</u>
<u>υπέρυθρη ακτινοβολία</u>	300 <u>GHz</u> - 400 <u>THz</u>	10 ⁻³ - 1,6 <u>eV</u>
<u>ορατή ακτινοβολία</u>	400-800 <u>THz</u>	1,6 - 3,2 <u>eV</u>
<u>υπεριώδης ακτινοβολία</u>	800 <u>THz</u> - 3 · 10 ¹⁷ <u>Hz</u>	3 <u>eV</u> - 2000 <u>eV</u>

<u>ακτίνες X</u>	$3 \cdot 10^{17} \text{ Hz} - 5 \cdot 10^{19} \text{ Hz}$	$1200 \text{ eV} - 2,4 \cdot 10^5 \text{ eV}$
<u>ακτίνες γ</u>	$5 \cdot 10^{19} \text{ Hz} - 3 \cdot 10^{22} \text{ Hz}$	$10^5 \text{ eV} - 10^7 \text{ eV}$
<u>Κοσμικές ακτίνες</u>	$3 \cdot 10^{22} \text{ Hz} -$	$10^7 \text{ eV} -$

Οι απορροφήσεις ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή υπεριώδους και ορατού τμήματος του φάσματος είναι αποτέλεσμα των ενεργειακών μεταβολών στην ηλεκτρονική δομή των μορίων. Στο είδος αυτό φασματοσκοπίας τα εξωτερικά ηλεκτρόνια είναι εκείνα, που με την ανύψωση ή πτώση από τη μια τροχιά στην άλλη, προκαλούν απορρόφηση ενέργειας, σε διακεκριμένες, κβαντωμένες ποσότητες. Οι αλλαγές της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας του μορίου μιας χημικής ένωσης προκαλούν μεταβολές της διπολικής ροπής του και ακριβώς αυτή η μεταβολή είναι υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση του χημικού μορίου και της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

Η περιοχή του υπεριώδους είναι μεταξύ 10 και 380 nm και η περιοχή του ορατού μεταξύ 380 και 780 nm.

Για την πλειοψηφία των οργανικών μορίων τα ηλεκτρόνια κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες: τα σ-ηλεκτρόνια, τα π-ηλεκτρόνια και τα n-ηλεκτρόνια ή μη δεσμικά (non-bonding) που δεν παίρνουν μέρος σε δεσμούς και συγκρατούνται ασθενέστερα ώστε να μπορούν να υποστούν μεταβάσεις. Τα σ-ηλεκτρόνια είναι πιο σταθερά, προσκολλημένα στους πυρήνες και απαιτούν μεγαλύτερη ενέργεια για να μεταβούν σε άλλα ενεργειακά επίπεδα, ενώ για τα π- και τα n-ηλεκτρόνια απαιτείται μικρότερη ενέργεια. Συνήθως, αλλά όχι πάντοτε, τα n-ηλεκτρόνια απαιτούν μικρότερη ενέργεια από τα π-ηλεκτρόνια.

Η ποσότητα ενέργειας που απαιτείται για τη διέγερση των ηλεκτρονίων ανταποκρίνεται στην εμφάνιση απορροφήσεων στην περιοχή UV (υπεριώδη) και VIS (ορατή). Οι κυριότερες διεγέρσεις ηλεκτρονίων που συμβαίνουν στα μόρια των οργανικών μορίων είναι:

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ (από ένα δεσμικό σ ηλεκτρόνιο σε ένα μη δεσμικό σ)

$\pi \rightarrow \pi^*$

$n \rightarrow \sigma^*$ και $n \rightarrow \pi^*$

Από τις παραπάνω διεγέρσεις, η πρώτη απαιτεί ενέργεια της οποίας το μήκος κύματος αντιστοιχεί στην άπω υπεριώδη περιοχή, η δεύτερη στη διαχωριστική γραμμή της άπω UV και κυρίως UV, ενώ $n \rightarrow \pi^*$ στην υπεριώδη και ορατή περιοχή.

Σημαντικές αλλαγές στα φάσματα UV-VIS προκαλούνται με την παρουσία δύο ή περισσότερων διπλών δεσμών στα οργανικά μόρια. Εάν οι δεσμοί είναι συζυγείς, δηλαδή εναλλασσόμενοι με απλούς, τότε οι μεταβάσεις $\pi \rightarrow \pi^*$ και $n \rightarrow \pi^*$ ενισχύονται σε μεγάλο βαθμό και οι απορροφήσεις τους παρουσιάζονται σε μεγαλύτερο μήκος κύματος. Η διαφορά είναι μεγαλύτερη όσο περισσότεροι συζυγείς δεσμοί υπάρχουν στην οργανική ένωση.

Η ύπαρξη συζυγιακών διπλών δεσμών σε μια οργανική ένωση έχει ως αποτέλεσμα μια ισχυρή μετάβαση $\pi \rightarrow \pi^*$, που μετακινεί την απορρόφηση στην κυρίως UV περιοχή. Για αυτό και η υπεριώδης φασματοσκοπία είναι εξαιρετικά χρήσιμη στη μελέτη τέτοιων συστημάτων (Gruenwedel D.W. and Whitaker, 1984).

Οι ηλεκτρονικές διεγέρσεις συνοδεύονται από διεγέρσεις δονήσεως και περιστροφής των μορίων και από διάφορες επιδράσεις των μορίων του διαλύτη. Για το λόγο αυτό, τα μοριακά φάσματα απορροφήσεως έχουν την μορφή ταινιών. Αντίθετα, τα ατομικά φάσματα απορροφήσεως είναι γραμμωτά (Κουιμτζής, 1982).

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος για τη λήψη φασμάτων UV-VIS είναι να παρασκευασθεί ένα διάλυμα ουσίας σε κατάλληλο διαλύτη που να μην απορροφά στην ίδια θέση με την ουσία που μελετάται. Η παρουσία όμως του διαλύτη επηρεάζει ελαφρώς τη θέση της μέγιστης απορρόφησης.

Συνήθως οι διαλύτες που δεν έχουν συζυγιακούς διπλούς δεσμούς είναι οι πιο κατάλληλοι. Οι πιο κοινοί διαλύτες είναι το νερό, 95% αιθανόλη και το κανονικό-εξάνιο που δεν απορροφούν στην περιοχή του υπεριώδους των περισσότερων οργανικών ενώσεων. Άλλοι διαλύτες που χρησιμοποιούνται συχνά είναι: το ακετονιτρίλιο, το χλωροφόρμιο, το κυκλοεξάνιο, η μεθανόλη, το ισοοκτάνιο, το 1,4-διοξάνιο και άλλοι.

Η διαφορά μεταξύ πολικών και μη πολικών διαλυτών είναι ότι οι πολικοί διαλύτες δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου με τη διαλυμένη ουσία και εξασθενίζουν τη λεπτή υφή του φάσματος, ενώ με τους μη πολικούς διαλύτες η λεπτή υφή παραμένει, όπως στο φάσμα της ουσίας σε αέρια κατάσταση.

Η απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας από τα διαλύματα των ανόργανων ενώσεων οφείλεται κυρίως σε διεγέρσεις μεταφοράς φορτίου. Αντίθετα η απορρόφηση της ορατής ακτινοβολίας οφείλεται σε διεγέρσεις των d και f ηλεκτρονίων των μεταβατικών στοιχείων.

Οι άχρωμες οργανικές ή ανόργανες ενώσεις, που δεν απορροφούν στην ορατή περιοχή του φάσματος, μπορούν να μετατραπούν σε έγχρωμες, με κατάλληλες χημικές αντιδράσεις, (π.χ. οξείδωση, σχηματισμός συμπλόκων ενώσεων κτλ.).

Οι ηλεκτρονικές διεγέρσεις συνοδεύονται από διεγέρσεις δονήσεως και περιστροφής των μορίων και από διάφορες επιδράσεις των μορίων τού διαλύτη. Για το λόγο αυτό, τα μοριακά φάσματα απορροφήσεως έχουν την μορφή ταινιών. Αντίθετα τα ατομικά φάσματα απορροφήσεως είναι γραμμωτά. (Κουιμτζής, 1982)

4.2. Νόμος των Lambert- Beer

Όταν μονοχρωματική ακτινοβολία διέρχεται από διάλυμα, που περιέχει την ουσία X, η οποία απορροφά, η ισχύς της ακτινοβολίας ελαττώνεται εκθετικά κατά μήκος της διαδρομής λόγω της απορρόφησης από την ουσία X. Η ελάττωση της ισχύος εξαρτάται από τη συγκέντρωση της ουσίας X και από την απόσταση που διένυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα. Επειδή η απορρόφηση μιας ακτινοβολίας συνοδεύεται και από ορισμένες ηλεκτρονικές διεγέρσεις, είναι επόμενο ότι το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και εκείνο το ποσοστό της που απορροφάται από ένα διάλυμα εξαρτώνται από τη φύση της διαλυμένης ουσίας, δηλαδή από ένα συντελεστή ϵ .

Έστω κυψελίδα πάχους l , στην οποία περιέχεται διάλυμα μιας ουσίας με συγκέντρωση C . Στο διάλυμα προσπίπτει κάθετα στα τοιχώματα της κυψελίδας παράλληλη μονοχρωματική δέσμη που έχει ένταση I_0 . Η δέσμη περνά μέσα από το διάλυμα και βγαίνει με ένταση I .

Η μαθηματική σχέση που συνδέει την ένταση της προσπίπτουσας δέσμης I_0 με την ένταση εκείνης που βγαίνει από το διάλυμα I , είναι γνωστή σαν νόμος των Lambert-Beer:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l C} \quad (1)$$

Αν λογαριθμίσουμε τη σχέση αυτή παίρνουμε τη σχέση,

$$-\log \frac{I}{I_0} = \epsilon l C \quad (2)$$

Ο λόγος I/I_0 ονομάζεται διαπερατότητα (transmittance) και συμβολίζεται με T .

Ο δεκαδικός λογάριθμος του αντίστροφου της διαπερατότητας ($-\log T$) ονομάζεται οπτική πυκνότητα (optical density) και συμβολίζεται με D , ή απορρόφηση (absorbance), οπότε συμβολίζεται με A . Στη διεθνή βιβλιογραφία επικράτησε τελικά ο όρος απορρόφηση. Έτσι η σχέση (2) υπάρχει και με τη μορφή,

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \epsilon l C \quad (3)$$

Από τη σχέση αυτή προκύπτει: α) η απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας για ορισμένη συγκέντρωση και σε ορισμένο μήκος κύματος είναι γραμμική εξάρτηση τού πάχους της στοιβάδας l (νόμος του Lambert) και β) η απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας για ορισμένο πάχος στοιβάδας και σε ορισμένο μήκος κύματος είναι γραμμική εξάρτηση τής συγκεντρώσεως C (νόμος του Beer). Ο νόμος του Beer αποτελεί τη βάση της φασματοφωτομετρίας.

Ο συντελεστής ϵ ονομάζεται μοριακός συντελεστής αποσβέσεως (molar extinction coefficient). Παριστάνει την απορρόφηση διαλύματος μιας ουσίας, όταν η συγκέντρωσή της είναι 1 mole/L και το πάχος της στοιβάδας είναι 1cm. Οι φυσικοχημικές διαστάσεις του ϵ είναι $\text{mole}^{-1}\text{cm}^2$. Η τιμή του ϵ εξαρτάται από τη φύση της ουσίας και από το μήκος κύματος, στο οποίο γίνεται η μέτρηση της απορροφήσεως.

Ο νόμος του Beer πρόποθέτει ότι:

α) ο μόνος μηχανισμός αλληλεπίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και της διαλυμένης ουσίας είναι η απορρόφηση, β) η προσπίπτουσα ακτινοβολία είναι μονοχρωματική, γ) η απορρόφηση γίνεται σε ένα όγκο διαλύματος ομοιόμορφης διατομής και δ) ότι τα σωματίδια που απορροφούν δρουν ανεξάρτητα το ένα από το άλλο και άσχετα προς τον αριθμό και το είδος τους (Θ.Π. Χατζηϊωάννου).

Δεν ισχύει για πυκνά διαλύματα ($c > 0,01M$), διότι σε αυτά οι αποστάσεις μεταξύ των σωματιδίων που απορροφούν γίνονται τόσο μικρές ώστε καθένα από αυτά να επηρεάζει την κατανομή φορτίου στα γειτονικά σωματίδια και συνεπώς και την ικανότητα τους να απορροφούν ακτινοβολία ορισμένου μήκους κύματος. Σε πυκνά διαλύματα δεν παραμένει σταθερή η μοριακή απορροφητικότητα ϵ .

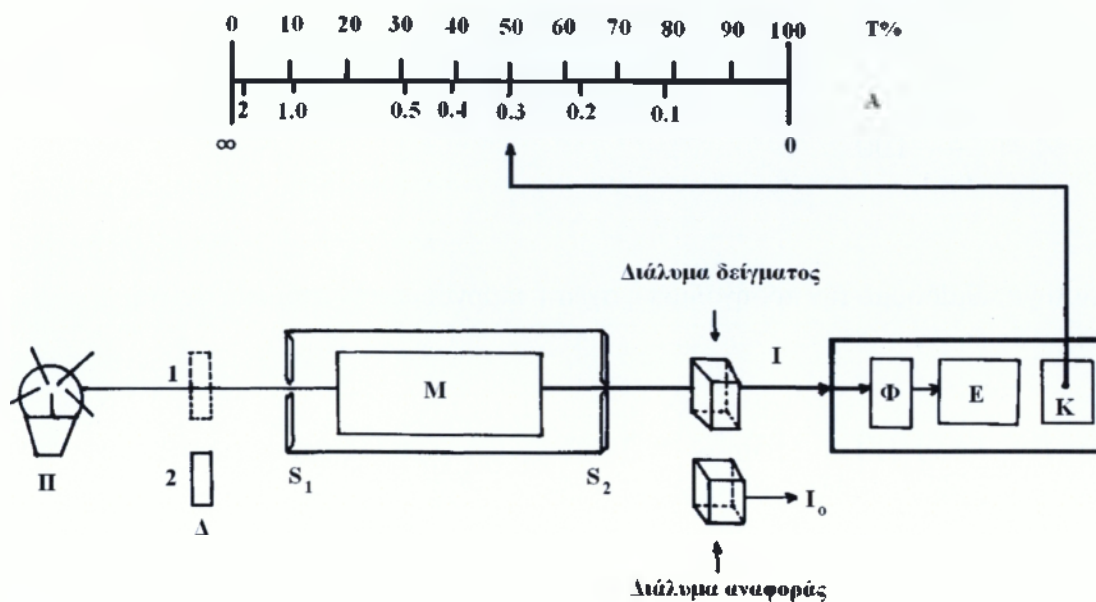
4.3. Μέτρηση της διαπερατότητας και της απορρόφσεως

Η διαπερατότητα και η απορρόφηση ενός διαλύματος μιας ουσίας μετριοούνται με ειδικά όργανα που ονομάζονται φωτόμετρα ή φασματοφωτόμετρα. Υπάρχουν διάφοροι τύποι φασματοφωτόμετρων:

i. Φασματοφωτόμετρο ορατού

Η πιο απλή μορφή φασματοφωτόμετρου είναι το φασματοφωτόμετρο ορατού φάσματος (VIS από το Visible). Σε αυτό η πηγή είναι μια κοινή λάμπα πυράκτωσης. Το σύστημα διαχωρισμού είναι ένα κοινό πρίσμα ή συνηθέστερα ένα παραθλαστικό φράγμα το οποίο απομονώνει την επιθυμητή μονοχρωματική ακτινοβολία (μια συχνότητα ορατή σαν κόκκινο, πράσινο, κίτρινο κλπ φως). Η ακτινοβολία αυτή περνάει μέσα από μια κυψελίδα δηλ. διαφανές άχρωμο δοχείο που περιέχει το προς εξέταση δείγμα και όσο φως δεν απορροφά το διάλυμα μετρείται από ένα κοινό φωτόμετρο που βρίσκεται από την απέναντι πλευρά της κυψελίδας. Η επιλογή του μεγέθους και του σχήματος των κυψελίδων εξαρτάται από τη φύση και την ποσότητα του δείγματος. Οι κυψελίδες που χρησιμοποιούνται για το διάλυμα αναφοράς και για το διάλυμα του δείγματος πρέπει να έχουν το ίδιο ακριβώς πάχος στοιβάδας και την ίδια διαπερατότητα σε όλη την περιοχή του φάσματος. Ο έλεγχος αυτός γίνεται ως εξής: Προσθέτουμε στις δύο κυψελίδες νερό ή έναν οποιονδήποτε διαλύτη. Μετά τοποθετούμε τη μία κυψελίδα στη θέση του διαλύματος αναφοράς και την άλλη στη θέση του δείγματος. Στο σημείο αυτό η ένδειξη του οργάνου πρέπει να είναι ακριβώς $100\%T$ ή $A=0$ σε όλη την περιοχή του φάσματος. Οι κυψελίδες πρέπει να καθαρίζονται πριν να χρησιμοποιηθούν. Ο καθαρισμός γίνεται με απορρυπαντικό και αποσταγμένο νερό. Αν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για οργανικούς διαλύτες, ο καθαρισμός συνεχίζεται με αλκοόλη και αιθέρα. Αν οι κυψελίδες δεν καθαρίσουν με τον τρόπο αυτό, τότε χρησιμοποιείται μείγμα πυκνού υδροχλωρικού οξέος και αιθανόλης 1:1, ή θερμό νιτρικό οξύ. Αν παρόλα αυτά οι κυψελίδες δεν καθαρίσουν τότε βυθίζονται σε χρωμοθειϊκό οξύ για μικρό χρονικό διάστημα (Κουιμτζή, 1982).

Στο σχήμα που ακολουθεί υπάρχει η σχηματική παράσταση ενός τέτοιου οργάνου.



Σχήμα 6: Σχηματική παράσταση οργάνων μετρήσεως της απορρόφησης όπου Π= πηγή φωτός, Δ= πέτασμα, S_1 = σχισμή εισόδου πολυχρωματικής δέσμης, Μ= φίλτρο ή μονοχρωμάτορας, S_2 = σχισμή εξόδου μονοχρωματικής δέσμης, Φ= φωτοανιχνευτής, Ε=ενισχυτής ρεύματος, Κ= κλίμακα ενδείξεων του οργάνου (Κουιμτζής, 1982).

Η μέτρηση της διαπερατότητας και της απορροφήσεως γίνεται πάντοτε σε σχέση με το διάλυμα αναφοράς. Στις περισσότερες περιπτώσεις το διάλυμα αναφοράς είναι ο διαλύτης, στον οποίο έχει διαλυθεί η ουσία. Γενικά όμως το διάλυμα αναφοράς περιέχει όλα τα συστατικά που περιέχει και το εξεταζόμενο διάλυμα, εκτός από την ουσία που πρόκειται να προσδιορισθεί.

Οι μετρήσεις αυτές γίνονται με τον παρακάτω τρόπο: στην αρχή ανάμεσα στην πηγή φωτός και το φωτοανιχνευτή τοποθετείται το πέτασμα Δ (Θέση 1). Έτσι, στο φωτοανιχνευτή δεν φτάνει καμία ακτινοβολία και το φωτορεύμα είναι μηδέν. Η κλίμακα των ενδείξεων ρυθμίζεται με τον κατάλληλο διακόπτη στην ένδειξη 0 T%. Στη συνέχεια το πέτασμα απομακρύνεται, και στην πορεία της μονοχρωματικής δέσμης τοποθετείται η κυψελίδα με το διάλυμα αναφοράς.

Η απορρόφηση του διαλύματος αυτού είναι μηδέν (διαπερατότητα 100%), επειδή η συγκέντρωση της ουσίας είναι μηδέν. Η ένταση της μονοχρωματικής δέσμης που βγαίνει από το διάλυμα αναφοράς θεωρείται σαν I_0 . Στο σημείο αυτό η κλίμακα ρυθμίζεται στην ένδειξη 100 T%. Κατόπιν, στην πορεία της δέσμης τοποθετείται το διάλυμα της ουσίας. Τώρα η βελόνα δείχνει στην κλίμακα κατευθείαν την τιμή της απορροφήσεως και τη διαπερατότητα επί 100.

Στις κλίμακες των οργάνων η διαπερατότητα δίνεται σαν $T \times 100$, δηλαδή:

$$T \% = \frac{I}{I_0} \cdot 100$$

Αν λογαριθμίσουμε την προηγούμενη σχέση παίρνουμε την επόμενη σχέση,

$$\log T \% = \log 100 - \left(-\log \frac{I}{I_0} \right) = 2 - A \text{ και τελικά προκύπτει ότι :}$$

$$A = 2 - \log T \%$$

Έτσι, ένα διάλυμα με διαπερατότητα $T\% = 50$ (δηλαδή 50% του φωτός απορροφάται και 50% περνάει) έχει απορρόφηση,

$$A = 2 - \log 50 = 2 - 1,698 = 0,302$$

Από τη σχέση 3 φαίνεται ότι η ευαισθησία στους φασματοφωτομετρικούς προσδιορισμούς εξαρτάται από την τιμή του ϵ (χημικό σύστημα) και από την ικανότητα του οργάνου να μετρά με ακρίβεια μικρές διαφορές ανάμεσα στις εντάσεις I_0 και I . (Κουιμτζής, 1982).

ii. Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους (UV)

Η οργανολογία του είναι παρόμοια με αυτήν του ορατού. Οι διαφορές είναι δύο: Η πηγή είναι λυχνία Δευτερίου ή Ξένου (για να παράγει υπεριώδη ακτινοβολία) και όλα τα εξαρτήματα (πρίσμα, κυψελίδα κλπ) δεν είναι από γυαλί (το οποίο απορροφά την υπεριώδη ακτινοβολία) αλλά από χαλαζία. Σαν όργανο συνήθως εμπεριέχει και λυχνία πυράκτωσης ώστε να μπορεί να γίνουν μετρήσεις και στο ορατό φάσμα. Τότε αναφέρεται σαν UV-VIS (Gruenwedel D.W. and Whitaker).

iii. Φασματοφωτόμετρο υπέρυθρον (IR)

Η οργανολογία του είναι παρόμοια με του ορατού. Οι διαφορές είναι στην κυψελίδα (επειδή δεν πρέπει να απορροφά υπέρυθρη ακτινοβολία) είναι συνήθως από ανόργανα άλατα αλκαλίων και στον τρόπο μέτρησης, συνήθως λαμβάνεται φάσμα απορρόφησης και όχι απορρόφηση σε μια συγκεκριμένη συχνότητα. Χρησιμοποιείται πολύ στον προσδιορισμό της δομής των χημικών ενώσεων.

iv. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης (AAS)

Σε αυτό η μονοχρωματική ακτινοβολία παράγεται από ειδικές λυχνίες για κάθε μετρούμενο μέταλλο (είναι εξειδικευμένη αναλυτική τεχνική για προσδιορισμό μετάλλων). Μέσα σε αυτές τις λυχνίες δημιουργείται ατμός του μετάλλου ο οποίος φωτοβολεί συγκεκριμένη συχνότητα. Το δείγμα αεριοποιείται με κάποιο τρόπο (είτε σε φούρνο γραφίτη, είτε με ψεκασμό σε φλόγα) και οι ατμοί του δείγματος μπαίνουν στην πορεία του παραγόμενου από την λυχνία μονοχρωματικού φωτός. Από εκεί απορροφούν μια ποσότητα φωτός ανάλογη της περιεκτικότητας του δείγματος προς το εξεταζόμενο μέταλλο, η οποία μετράται από τον μετρητή - φωτόμετρο.

4.4. Αρχή λειτουργίας φασματοφωτομετρίας ορατού-υπεριώδους (UV-VIS)

Κάποια μόρια όταν ακτινοβοληθούν, απορροφούν μέρος της ακτινοβολίας και μάλιστα κάποια συγκεκριμένα μήκη κύματος (π.χ. η ροδαμίνη απορροφά γύρω στα 350nm με μέγιστο τα 363nm). Όσο περισσότερα μόρια υπάρχουν στην δέσμη του φωτός, τόσο περισσότερο φως απορροφάται. Άρα μετρώντας την διαφορά της ποσότητας του φωτός, με και χωρίς τα προς μέτρηση μόρια μπορούμε να εκτιμήσουμε την ποσότητα τους. Αυτό είναι που κάνουμε χωρίς όργανο (στην ουσία αντί για φασματοφωτόμετρο χρησιμοποιούμε τα μάτια μας) παρατηρώντας πόσο σκούρο είναι ένα διάλυμα χρωστικής. Σκούρο διάλυμα = πυκνό, ανοιχτόχρωμο = αραιό. Χρησιμοποιώντας μια σειρά πρότυπα διαλύματα π.χ. 1, 3, 5, 10 ppm μπορούμε να συγκρίνουμε ένα άγνωστο διάλυμα και να πούμε ότι αυτό είναι μεταξύ 3 και 5 ppm εφόσον η χρωματική του ένταση είναι μεταξύ του 2ου και 3ου προτύπου. Δεν μπορούμε όμως να πούμε ότι είναι 3,2 ή 4,0 ή 4,5 ppm γιατί απλά δεν μπορούμε να το εκτιμήσουμε. Αυτό γίνεται με το φασματοφωτόμετρο, το οποίο για κάθε πρότυπο δίνει σαν αποτέλεσμα έναν αριθμό [το ποσοστό του φωτός που πέρασε (διαπερατότητα %) ή το λογάριθμο της ποσότητας του φωτός που απορροφήθηκε (ABS)] οπότε με απλούς μαθηματικούς υπολογισμούς μπορεί να εξαχθεί ακριβές

αποτέλεσμα. Π.χ. έστω ότι τα πρότυπα διαλύματα παρουσίασαν απορροφήσεις $1\text{ppm}=0,08$, $3\text{ppm}=0,24$, $5\text{ppm}=0,40$ $10\text{ppm}=0,80$ και του δείγματος $=0,30$. Τότε η περιεκτικότητα του δείγματος είναι $3,75\text{ppm}$. Οι μετρήσεις γίνονται στο μήκος κύματος που παρουσιάζει την μέγιστη απορρόφηση η εξεταζόμενη ουσία, ώστε να περιοριστούν οι επιδράσεις από άλλες ουσίες που υπάρχουν στο ίδιο διάλυμα (και απορροφούν σε άλλα μήκη κύματος) και συμβολίζεται με λ_{max} . Η θέση που βρίσκεται το μέγιστο απορροφήσεως εξαρτάται από το ηλεκτρονικό σύστημα της ουσίας που συμμετέχει στη διέγερση. Στο λ_{max} ο μοριακός συντελεστής αποσβέσεως έχει τη μέγιστη τιμή και συμβολίζεται με ϵ_{max} (Κουιμτζή Θ., 1982).

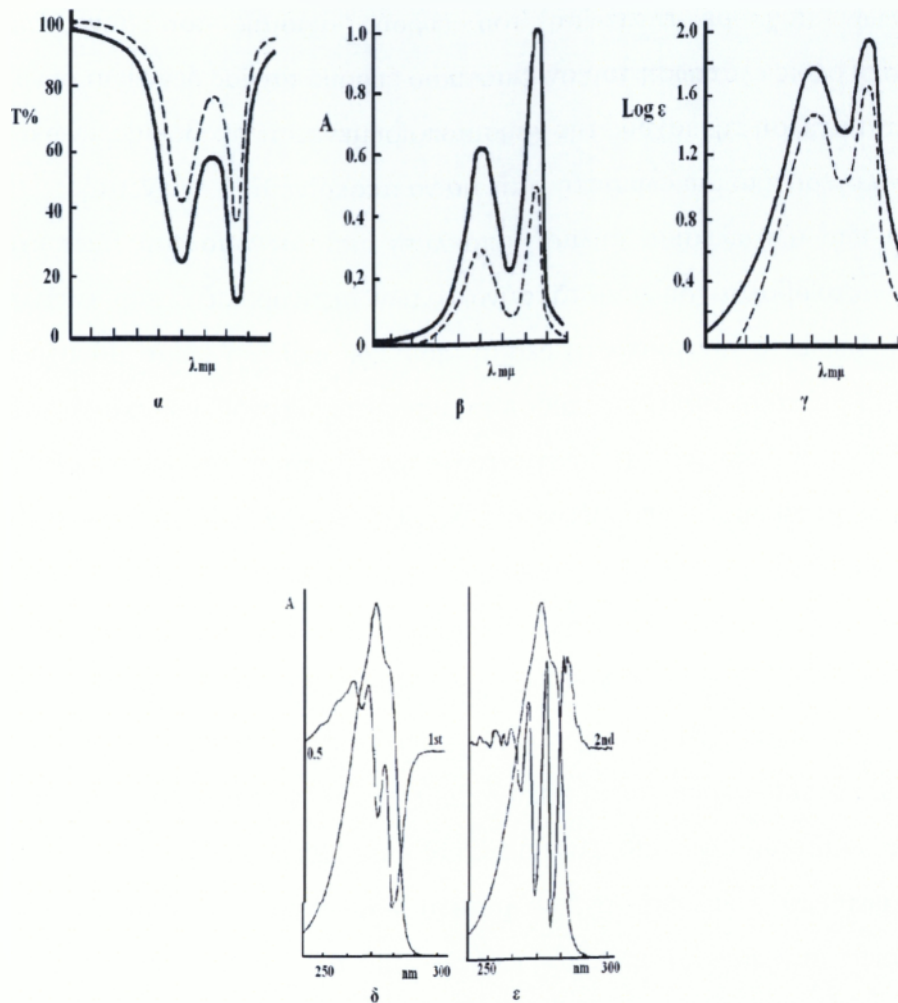
4.5. Φάσματα απορροφήσεως υπεριώδους-ορατού

Η γραφική απεικόνιση της απορροφήσεως ενός διαλύματος σε σχέση με το μήκος κύματος της μονοχρωματικής δέσμης δίνει το φάσμα απορροφήσεως της διαλυμένης ουσίας (σχήμα 6β). Η συγκέντρωση του διαλύματος και το πάχος της κυψελίδας εκλέγονται με τέτοιο τρόπο, ώστε οι μετρήσεις της απορροφήσεως να έχουν τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.

Στην ποιοτική ανάλυση προτιμώνται οι καμπύλες $\log \epsilon$ σε σχέση με το μήκος κύματος (σχήμα 6γ), επειδή η μορφή των καμπύλων αυτών είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα φάσματα δίνονται και σαν μεταβολή της διαπερατότητας (σχήμα 6α).

Σε ορισμένα φασματοφωτόμετρα διπλής δέσμης υπάρχει αυτόματη διάταξη καταγραφής της πρώτης ή της δεύτερης παραγώγου των φασμάτων απορρόφησης (σχήματα 6δ και 6ε). Οι παράγωγοι των φασμάτων χρησιμοποιούνται τόσο στην ποιοτική, όσο και στην ποσοτική χημική ανάλυση.

Η φασματοφωτομετρία χρησιμοποιείται ευρέως και για ουσίες που απορροφούν στο υπεριώδες (π.χ. σορβικό οξύ), αλλά και για ουσίες που δεν έχουν χρωμοφόρες ομάδες στο μόριο τους (αόρατες), αλλά γίνονται ορατές μετά από σχετικές αντιδράσεις (π.χ. η προλίνη σχηματίζει πορτοκαλέρυθρο σύμπλοκο με την νινυδρίνη και έτσι μπορεί να μετρηθεί φασματοφωτομετρικά).



Σχήμα 7: Υποθετικά φάσματα απορροφήσεως που επεξηγούνται στο κείμενο

(Κουμιτζής, 1982)

4.6. Αποκλίσεις από το νόμο του Beer

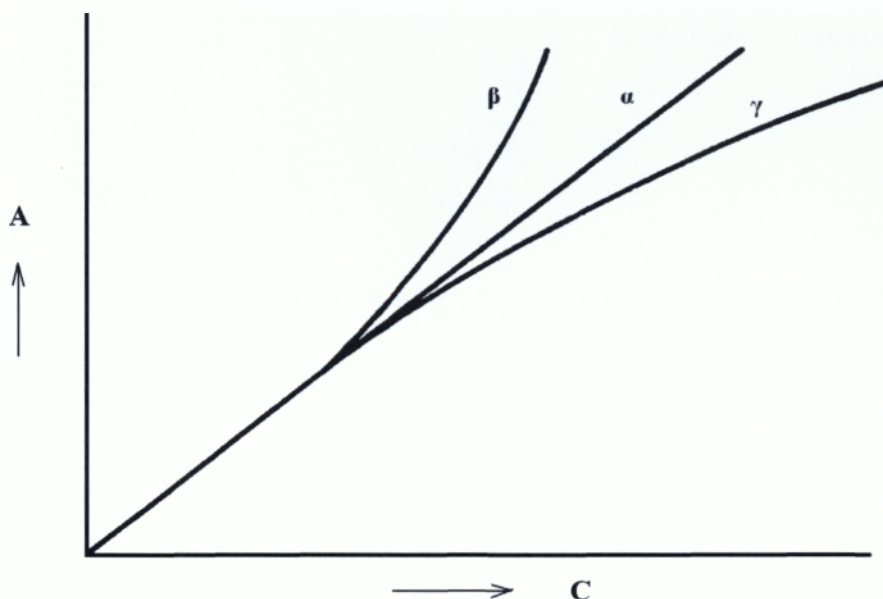
Σε μερικές περιπτώσεις παρατηρείται απόκλιση από τη γραμμική σχέση απορρόφησης A και συγκέντρωσης C , θετική ή αρνητική. Η χρησιμοποίηση $\log(I_0/I)$ πολυχρωματικής δέσμης ακτινοβολιών συνεπάγεται αρνητική απόκλιση από το νόμο του Beer, εκτός από την μοναδική περίπτωση, στην οποία οι μοριακές απορροφητικότητες όλων των ακτινοβολιών της δέσμης είναι ίσες.

Βέβαια, μονοχρωματική ακτινοβολία δεν είναι δυνατόν να επιτευχθεί με τις συνήθως χρησιμοποιούμενες μονοχρωματικές διατάξεις, διότι οι πηγές εκπέμπουν πολυχρωματική ακτινοβολία, ο δε μονοχρωμάτορας μπορεί να διακρίνει ορισμένο εύρος ταινίας από το συνεχές φάσμα της πηγής. Για αυτό κατά τις

φασματοφωτομετρικές μετρήσεις επιδιώκεται η χρησιμοποίηση στενής δέσμης ακτινοβολιών (π.χ. με ελάττωση του εύρους σχισμής του μονοχρωμάτορα). Απεριόριστη όμως ελάττωση του ονομαστικού εύρους ταινίας δεν είναι δυνατή, διότι συνεπάγεται μείωση της ισχύος της χρησιμοποιούμενης ακτινοβολίας, ενώ απαιτείται ισχύς μεγαλύτερη από μια ελάχιστη τιμή για να αποκρίνεται ο ανιχνευτής.

Το ίδιο αποτέλεσμα, δηλαδή απόκλιση από το νόμο του Beer έχει και η παράσιτη ακτινοβολία, δηλαδή το σύνολο των ακτινοβολιών που φθάνουν στον ανιχνευτή, χωρίς να ανήκουν στη δέσμη, που έχει επιλεγεί με το μονοχρωμάτορα. Εάν P_0 , P , P_s είναι οι ισχύεις της προσπίπτουσας, της διερχόμενης και της παράσιτης ακτινοβολίας αντίστοιχα, η πραγματική απορρόφηση $A_{\text{πρ}} = \log(P_0/P)$, ενώ η πειραματικά μετρούμενη απορρόφηση είναι $A_{\text{πειρ}} = \log[(P_0 + P_s) / (P + P_s)]$. Επειδή $A_{\text{πειρ}} < A_{\text{πρ}}$ παρατηρείται αρνητική απόκλιση από το νόμο του Beer. Φαινομενικές αποκλίσεις από το νόμο του Beer παρατηρούνται και όταν τα σωματίδια που απορροφούν, συμμετέχουν σε χημικές ισορροπίες, όπως για παράδειγμα ισορροπίες πολυμερισμού, σχηματισμού συμπλόκων, διαστάσεως ασθενών οξέων ή βάσεων. Άλλοτε πάλι οι αποκλίσεις αυτές οφείλονται στις ατέλειες των οργάνων με τα οποία γίνεται η μέτρηση της απορροφήσεως (Gruenwedel & Whitaker, 1984). Πιο συγκεκριμένα μη γραμμική σχέση μεταξύ λαμβανόμενου σήματος και ισχύος ακτινοβολίας, συνεπάγεται απόκλιση από το νόμο του Beer που ελαχιστοποιείται με τη χρησιμοποίηση φασματοφωτομέτρου διπλής δέσμης.

Επίσης παρατηρούνται και χημικές αποκλίσεις. Ως γνωστόν η καμπύλη αναφοράς είναι ευθεία γραμμή, όταν το σύνολο της ουσίας που απορροφά βρίσκεται με την ίδια χημική μορφή ή όταν η σχετική αναλογία δύο ή περισσότερων χημικών σωματιδίων της δε μεταβάλλεται με την αναλυτική συγκέντρωση της ουσίας. Στην εξίσωση του νόμου του Beer η συγκέντρωση c παριστάνει την αληθινή συγκέντρωση των σωματιδίων που απορροφούν η οποία συμπίπτει με την αναλυτική συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας, μόνο όταν τα σωματίδια που απορροφούν δε συμμετέχουν σε χημικές ισορροπίες. Αν όμως αυτά συμμετέχουν σε χημικές ισορροπίες, όπως π.χ. ισορροπίες διάστασης ασθενών οξέων ή βάσεων, πολυμερισμού, σχηματισμού συμπλόκων κ.λπ., οποιαδήποτε μετατόπιση στη θέση ισορροπίας κατά τη μεταβολή της αναλυτικής συγκέντρωσης συνεπάγεται φαινομενική απόκλιση από το νόμο του Beer (Θ.Π. Χατζηϊωάννου).



Σχήμα 8: α) Γραφική απεικόνιση τον νόμου του Beer, β) θετική απόκλιση από το νόμο του Beer και γ) αρνητική απόκλιση

4.7. Φωτομετρική ακρίβεια – Βέλτιστη περιοχή απορροφήσεως

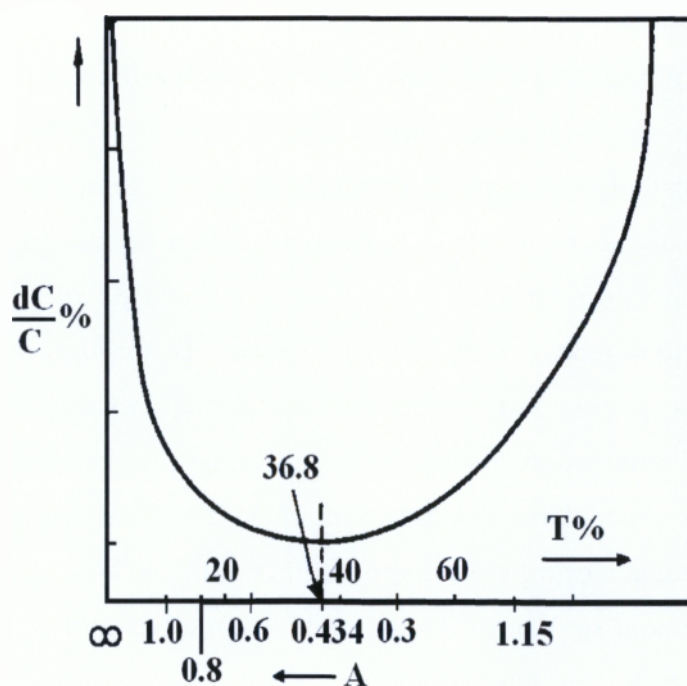
Η περιοχή συγκεντρώσεων στην οποία γίνονται φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί, περιορίζεται μεταξύ ορισμένων ορίων, ακόμη και για τα χημικά συστήματα που ακολουθούν το νόμο του Beer. Τα όρια αυτά καθορίζονται τόσο από το χημικό σύστημα (τιμή του ϵ), όσο και από τα όργανα με τα οποία γίνονται οι μετρήσεις της απορροφήσεως ή της διαπερατότητας. Σε μεγάλες συγκεντρώσεις η απορρόφηση είναι μεγάλη και η ένταση της δέσμης φωτός που φτάνει στο φωτοανιχνευτή γίνεται πολύ μικρή. Στην περίπτωση αυτή υπάρχει όριο στη συγκέντρωση που καθορίζεται από την ευαισθησία του φωτοανιχνευτή. Σε μικρές συγκεντρώσεις η απορρόφηση είναι μικρή και η ένταση της δέσμης του φωτός είναι μεγάλη, αλλά τα μικρά σφάλματα στη μέτρηση της απορροφήσεως (σφάλματα που οφείλονται στο θόρυβο του σήματος και στην αποτίμηση των ενδείξεων) καλύπτουν μεγάλο ποσοστό στην ολική τιμή της απορροφήσεως.

Το φωτομετρικό σφάλμα μιας αναλύσεως είναι το σφάλμα στον προσδιορισμό της συγκεντρώσεως, που οφείλεται στο σφάλμα αναγνώσεως της κλίμακας διαπερατότητας του φασματοφωτομέτρου, το οποίο συνήθως είναι σταθερό και ίσο

με το εύρος της βελόνης του οργάνου ή το πάχος της γραμμής του καταγραφίματος. Εάν dC είναι το αντίστοιχο απόλυτο σφάλμα στη συγκέντρωση C της ουσίας που προσδιορίζεται, η σχέση μεταξύ του σχετικού σφάλματος dC/C και των dT και T παρέχεται από την εξίσωση :

$$\frac{dC}{C} = \left(\frac{0.4343}{T \log T} \right) dT \quad (6)$$

Η παραπάνω σχέση λαμβάνεται με διαφορίση της σχέσεως $C = - \log \frac{T}{\epsilon b}$, ως προς T και συνδυασμό του εξαγόμενου με την εξίσωση αυτή. Ο όρος dT βρίσκεται στην περιοχή 0.002-0.01 και καλείται απόλυτο φωτομετρικό σφάλμα. Γραφική απεικόνιση του σχετικού σφάλματος dC/C ως συνάρτηση της διαπερατότητας T παρέχει καμπύλη, οποία εμφανίζει ελάχιστο σε $T=0.368$ ($\Lambda=0.434$). Σε ορισμένους τύπους φασματοφωτομέτρων το ελάχιστο σφάλμα εμφανίζεται σε διαφορετικές τιμές T (Θ.Π. Χατζηϊωάννου).



Σχήμα 9: Εξάρτηση του dC/C από την απορρόφηση για σταθερό σφάλμα dI .

(Κουιμτζής, 1982)

Από το διάγραμμα του σχήματος 8 φαίνεται ότι το σχετικό σφάλμα είναι πολύ μεγάλο στις μικρές και στις μεγάλες τιμές απορροφήσεως.

Για τη μείωση του σχετικού σφάλματος χρησιμοποιείται η διαφορική φασματοφωτομετρία. Υπάρχουν τρεις μέθοδοι διαφορικής φασματοφωτομετρίας. Η μέθοδος υψηλής απορροφήσεως εφαρμόζεται όταν η απορρόφηση του διαλύματος είναι μεγάλη ($A > 1$). Στη μέθοδο αυτή, ενώ η ρύθμιση του μηδενός της κλίμακας του φασματοφωτομέτρου γίνεται όπως στην κλασική φασματοφωτομετρία, η ρύθμιση του 100% T ($A=0$) γίνεται όχι με τυφλό αλλά με πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης C_2 ($C_2 < C_x$ όπου C_x είναι η συγκέντρωση του αγνώστου). Με τον τρόπο αυτό πετυχαίνεται επέκταση της κλίμακας του φασματοφωτομέτρου και συνεπώς το σχετικό σφάλμα αναλύσεως ελαττώνεται, γιατί το ΔT εξακολουθεί να παραμένει το ίδιο. Τα ο μέγεθος της επεκτάσεως της κλίμακας και συνεπώς η αύξηση της ακρίβειας εξαρτώνται από τη διαπερατότητα του πρότυπου διαλύματος. Εφόσον ισχύει ο νόμος του Beer για τα διαλύματα C_2 και C_x , η σχετική απορρόφηση A' είναι ανάλογη της διαφοράς $C_x - C_2$ μεταξύ των συγκεντρώσεων του δείγματος και του προτύπου. Είναι δηλαδή $A' = \log(P_2/P_x) = \epsilon \cdot b \cdot (C_x - C_2)$ όπου P_2 και P_x είναι οι ισχείς των διερχόμενων ακτινοβολιών από το πρότυπο C_2 και το δείγμα C_x αντίστοιχα (Κουμτζής, 1982).

4.8. Η πορεία της ποσοτικής φασματοφωτομετρικής ανάλυσης

Τα βασικά στάδια μιας φασματοφωτομετρικής ανάλυσης είναι:

- η επιλογή της απορροφούσα ουσίας και η λήψη του φάσματος απορρόφησης της (αν δεν είναι ήδη γνωστό),
- η επιλογή του καταλληλότερου μήκους κύματος,
- η κατασκευή της καμπύλης αναφοράς
- η μέτρηση της απορρόφησης του διαλύματος του αγνώστου και ο υπολογισμός της συγκέντρωσής του από την καμπύλη αναφοράς, τα οποία περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.
- η διαμόρφωση των κατάλληλων προπαρασκευαστικών σταδίων (λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος, ζύγιση, διαλυτοποίηση κ.λπ.).

1. Επιλογή της ένωσης που θα απορροφήσει & λήψη του φάσματος απορρόφησης

Εάν η ένωση E που θα προσδιοριστεί απορροφά επαρκώς στις χρησιμοποιούμενες περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, προσδιορίζεται ως

έχει. Αν όχι επιχειρούμε με κατάλληλα αντιδραστήρια τη μετατροπή της σε άλλη παράγωγη ένωση II, η οποία να απορροφά ισχυρά. Για το σκοπό αυτό μπορούν να χρησιμοποιηθούν όλα τα είδη των χημικών αντιδράσεων (συμπλοκομετρικές, οξειδοαναγωγής, οργανικές αντιδράσεις κλπ.). Κατά την επιλογή και τη χρησιμοποίηση της αντίδρασης σχηματισμού παραγώγων πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα παρακάτω:

1. **Το σχηματιζόμενο παράγωγο πρέπει να είναι σταθερό**, η αντίδραση να είναι κατά το δυνατόν εκλεκτική, ποσοτική και κατά προτίμηση καθορισμένης στοιχειομετρίας, τα χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια να μην απορροφούν στην περιοχή απορρόφησης του προϊόντος II και να μη σχηματίζονται παρεμποδίζουσες απορροφούσες ουσίες από τυχόν συνυπάρχουσες ξένες ουσίες.

2. **Πρέπει να επιλεγούν οι άριστες συνθήκες**. Οι σπουδαιότεροι από τους παράγοντες, που είναι κρίσιμοι για την ακρίβεια και την ευαισθησία της αναλύσεως είναι οι εξής:

- **pH:** Με έλεγχο του pH αποφεύγονται ανεπιθύμητες δευτερεύουσες αντιδράσεις. Κατά την ανάπτυξη μιας νέας φασματοφωτομετρικής μεθόδου ή κατά τον έλεγχο μιας πρότυπης μεθόδου είναι προτιμότερο να μετρηθεί η απορρόφηση A διαλυμάτων του παραγώγου II σε διάφορα pH. Γραφική απεικόνιση της A σε συνάρτηση του pH πολλές φορές καθορίζει μία βέλτιστη περιοχή τιμών pH, στο "πλατώ" της καμπύλης, όπου η A είναι πρακτικώς ανεξάρτητη του pH.
- **Συγκέντρωση αντιδραστηρίων:** Προσδιορίζεται η άριστη συγκέντρωση αντιδραστηρίων, διότι ανεπάρκεια ή περίσσεια τους είναι δυνατόν να προκαλέσει αποκλίσεις από το νόμο του Beer και να μειώσει την ευαισθησία του προσδιορισμού.
- **Διαλύτης:** Ο διαλύτης επηρεάζει το φάσμα απορρόφησης και την απορροφητικότητα της απορροφούσας ουσίας και επίσης τη διαλυτότητα των προσδιοριζόμενων ουσιών και των αντιδραστηρίων. Πολλά οργανικά αντιδραστήρια ή απορροφούνται προϊόντα είναι δυσδιάλυτα στο νερό. Στις περιπτώσεις αυτές χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες αναμίξιμοι με το νερό, για την αποφυγή καθίζησης και διευκόλυνση της αντίδρασης σχηματισμού της απορροφούσας ένωσης II. Σε πολλές περιπτώσεις είναι δυνατόν να γίνει και εκχύλιση της ένωσης II με οργανικό διαλύτη, για το

διαχωρισμό της από την περίσσεια των αντιδραστηρίων ή από παρεμποδίζουσες ουσίες. Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται πολλές φορές η ευαισθησία της μεθόδου, μερικές φορές μάλιστα και η εκλεκτικότητα, διότι υπεισέρχεται ένα πρόσθετο στάδιο στην ανάλυση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η εκχύλιση συμπλόκων μεταλλοϊόντων, καθώς και συζευγμένων ιόντων οργανικών ουσιών με ιόντα χρωστικών (ion-pair extraction photometry), οπότε αυξάνεται η εκλεκτικότητα και η ευαισθησία του προσδιορισμού. Το φάσμα απορρόφησης μιας ουσίας (αριθμός και εύρος κορυφών, θέση του λ_{\max} , τιμή του ϵ_{\max}) επηρεάζεται αρκετά από τη φύση του διαλύτη. Όσο πιο πολικός είναι ο διαλύτης, τόσο περισσότερο επηρεάζει το φάσμα απορρόφησης. Οι πολικοί διαλύτες αυξάνουν το εύρος των κορυφών και μετατοπίζουν τη θέση του λ_{\max} . Όταν η διεγερμένη κατάσταση είναι περισσότερο πολική από τη βασική, τότε η αύξηση της πολικότητας τού διαλύτη προκαλεί βαθυχρωμία (μετατόπιση σε μεγαλύτερα μήκη κύματος). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η διεγερμένη κατάσταση σαν πιο πολική επιδιαλυτώνεται καλύτερα και πέφτει η στάθμη ενέργειάς της. Έτσι η διαφορά της ενέργειας ανάμεσα στις δύο καταστάσεις μικραίνει και φυσικά η αντίστοιχη απορρόφηση μετατοπίζεται σε μεγαλύτερα μήκη κύματος. Συνήθως οι απορροφήσεις που οφείλονται στις διεγέρσεις $\eta \rightarrow \pi^*$ μετατοπίζονται σε μικρότερα μήκη κύματος, ενώ οι απορροφήσεις που οφείλονται στις διεγέρσεις $\pi \rightarrow \pi^*$ μετατοπίζονται σε μεγαλύτερα μήκη κύματος (Κουιμτζής, 1982).

- Σειρά προσθήκης αντιδραστηρίων:** Σε πολλές περιπτώσεις η προσθήκη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται με καθορισμένη σειρά, είτε διότι απαιτούνται συγκεκριμένα διαδοχικά στάδια αντίδρασης είτε διότι αλλαγή στη σειρά είναι δυνατόν να προκαλέσει δευτερεύουσες αντιδράσεις ή ατελή σχηματισμό της ουσίας Π.
- Χρόνος:** Η απορροφούσα ουσία Π πρέπει να παράγεται γρήγορα και να είναι σταθερή για μακρό χρονικό διάστημα, ώστε η μέτρηση της απορρόφησης να γίνεται με χρονική άνεση. Σε ορισμένες όμως περιπτώσεις είναι δυνατόν να απαιτηθεί αρκετός χρόνος για την αποπεράτωση της αντίδρασης σχηματισμού της ουσίας Π. Στις περιπτώσεις αυτές μπορεί να χρησιμοποιηθεί κινητική μέθοδος ανάλυσης ή αναλυτής ροής.

- **Σταθερότητα:** Αν η ουσία Π δεν είναι σταθερή για μακρό χρονικό διάστημα οι μετρήσεις της απορρόφησης πρέπει να γίνονται το ταχύτερο δυνατό. Για την εύρεση του άριστου χρόνου μέτρησης μετά την ανάμειξη των αντιδραστηρίων, κατασκευάζεται γραφική παράσταση της A ως συνάρτηση του χρόνου t και επιλέγεται ως άριστη περιοχή τιμών t αυτή που αντιστοιχεί στο 'πλατώ' της παράστασης. Αν δεν υπάρχει 'πλατώ' οι μετρήσεις της A πρέπει να γίνονται σε μία αυστηρά καθορισμένη χρονική στιγμή, η ακρίβεια όμως τέτοιων μεθόδων είναι μικρή, διότι η A μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Λύση στο πρόβλημα αυτό αποτελεί η χρησιμοποίηση αυτοματοποιημένου φασματοφωτομετρικού αναλυτή. Σε περιπτώσεις φωτοευπαθών ουσιών, πρέπει να αποφεύγεται η έκθεσή τους στο άμεσο ηλιακό φως.
- **Θερμοκρασία:** Η άριστη θερμοκρασία προσδιορίζεται πειραματικά. Μερικές φορές απαιτούνται υψηλές θερμοκρασίες για την επιτάχυνση της αντίδρασης σχηματισμού της ένωσης Π, ενώ άλλοτε απαιτούνται χαμηλές θερμοκρασίες για την αύξηση της σταθερότητάς της.
- **Μοριακή απορροφητικότητα της παράγωγης ένωσης:** Η μοριακή απορροφητικότητα ϵ της ένωσης Π πρέπει να είναι αρκετά υψηλή, ώστε η ευαισθησία της μεθόδου να είναι μεγάλη και η προσδιοριζόμενη ένωση Ε να μπορεί να προσδιοριστεί στην περιοχή συγκέντρωσης των δειγμάτων. Η ελάχιστη τιμή ϵ_{\min} καθορίζεται από την ελάχιστη τιμή της απορρόφησης A , η οποία μπορεί να μετρηθεί με ανεκτή ακρίβεια, το πάχος κυψελίδας και από την ελάχιστη συγκέντρωση c της απορροφούσας ουσίας. Π.χ. για $A_{\min} = 0.1$, $b=1$ και $c=1 \times 10^{-5}$ M, είναι $\epsilon_{\min} = A_{\min}/bc = 0.1/1 \times 1 \times 10^{-5} = 1 \times 10^4$ L.mol⁻¹.cm⁻¹. Οι τιμές των ϵ , b και A_{\min} καθορίζουν την ελάχιστη συγκέντρωση c_{\min} , η οποία μπορεί να μετρηθεί με ανεκτή ακρίβεια. Η ιδανική απορροφούσα ουσία έχει μία ταινία απορρόφησης με εκτεταμένη περιοχή μέγιστης απορρόφησης, 'πλατώ' στο μέγιστο και μεγάλη απορροφητικότητα σε αυτό, ώστε η ευαισθησία της ανάλυσης να είναι υψηλή (Θ.Π. Χατζηϊωάννου).

II. Η επιλογή του αναλυτικού μήκους κύματος

Το μήκος κύματος στο οποίο γίνονται οι μετρήσεις ονομάζεται αναλυτικό μήκος κύματος. Προτιμάται το μήκος κύματος στο οποίο απορροφά μόνο η προσδιοριζόμενη ένωση Ε ή το προϊόν Π της αντίδρασής της και δεν απορροφούν

συνυπάρχουσες ουσίες, διότι τότε η μέθοδος είναι ειδική για την ουσία X. Κατά κανόνα αποφεύγεται μήκος κύματος, στο οποίο το αντιδραστήριο απορροφά ισχυρά και επιλέγεται μήκος κύματος λ_{\max} στο 'πλατώ' μέγιστης απορρόφησης για να επιτευχθεί μέγιστη ευαισθησία και καλύτερη εφαρμογή του νόμου του Beer. Αν όμως το δείγμα περιέχει προσμίξεις που απορροφούν στο λ_{\max} ή αν η απορρόφηση στο λ_{\max} είναι πολύ μεγάλη και δεν είναι δυνατόν να μειωθεί με αραιώση των διαλυμάτων, λόγω μετατόπισης της θέσης ισορροπίας ενός συστήματος, επιλέγεται μήκος κύματος σε περιοχή 'πλατώ' ελάχιστης απορρόφησης ή στην ανάγκη και στις πλευρές μίας ταινίας απορρόφησης. Πρέπει να αποφεύγονται μήκη κύματος που βρίσκονται στο απότομα ανερχόμενο ή κατερχόμενο τμήμα του φάσματος απορρόφησης, γιατί στο τμήμα αυτό μικρή μετακίνηση του λ συνεπάγεται μεγάλο σφάλμα στη μετρούμενη απορρόφηση.

Κατά την φασματοφωτομετρική ανάλυση ουσιών στο υπεριώδες, παρουσία παρεμποδιστών προτιμάται η μέτρηση απορρόφησης σε δύο μήκη κύματος που να μην απέχουν πολύ μεταξύ τους και αν είναι δυνατόν να βρίσκονται σε 'πλατώ' μέγιστης και ελάχιστης απορρόφησης. Στην περίπτωση αυτή η καμπύλη αναφοράς κατασκευάζεται ως γραφική παράσταση ΔA ως προς c και έτσι αίρεται η παρεμποδιστική δράση, διότι αν $\epsilon_{x,1}$, $\epsilon_{x,2}$, $\epsilon_{z,1}$ και $\epsilon_{z,2}$ είναι οι μοριακές απορροφητικότητες της μετρούμενης ουσίας E και της παρεμποδίζουσας ουσίας Z στα δύο μήκη κύματος, επειδή $\epsilon_{z,1} \approx \epsilon_{z,2}$ (λόγω της ασθενούς πλατιάς ζώνης), έχουμε:

$$\Delta A = [\epsilon_{x,1}bc_x + \epsilon_{z,1}bc_z] - [\epsilon_{x,2}bc_x + \epsilon_{z,2}bc_z] = (\epsilon_{x,1} - \epsilon_{x,2})bc_x$$

Για συστήματα που επηρεάζονται από το pH και για τα οποία υπάρχει ισοσβεστικό σημείο επιλέγεται το λ_{is} αν δεν είναι δυνατός ο έλεγχος του pH (Θ.Π. Χατζηϊωάννου).

III. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς & μέτρηση απορρόφησης αγνώστου διαλύματος και υπολογισμοί

Παρασκευάζεται μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων στα οποία οι συγκεντρώσεις του συστατικού είναι γνωστές. Επίσης παρασκευάζεται και ένα διάλυμα αναφοράς στο οποίο η συγκέντρωση του συστατικού είναι μηδέν. Η χημική σύσταση των πρότυπων διαλυμάτων και του διαλύματος αναφοράς πρέπει να πλησιάζει όσο το δυνατό περισσότερο στη χημική σύσταση του άγνωστου διαλύματος. Η απορρόφηση των πρότυπων διαλυμάτων μετριέται σε ένα ορισμένο μήκος κύματος σε σχέση με το διάλυμα αναφοράς. Το μήκος κύματος στο οποίο γίνονται οι μετρήσεις ονομάζεται αναλυτικό μήκος κύματος. Η γραφική παράσταση

των τιμών απορροφήσεως σε σχέση με τη συγκέντρωση δίνει την καμπύλη αναφοράς. Οι συγκεντρώσεις του συστατικού στα πρότυπα διαλύματα πρέπει να είναι τέτοιες, ώστε η απορρόφησή τους να κυμαίνεται από 0.2 μέχρι 0.8. Μετά γίνεται η μέτρηση της απορροφήσεως στο άγνωστο διάλυμα. Η τιμή της συγκρίνεται με τις τιμές της καμπύλης αναφοράς και υπολογίζεται η άγνωστη συγκέντρωση του συστατικού στο διάλυμα. Αν η απορρόφηση στο άγνωστο διάλυμα είναι μεγαλύτερη από 0.8, το διάλυμα αραιώνεται. Αν η απορρόφηση είναι μικρότερη από 0.2, τότε γίνεται κατάλληλη ρύθμιση του οργάνου.

Στις περιπτώσεις που δεν χρειάζεται μεγάλη ακρίβεια στον προσδιορισμό της συγκεντρώσεως του συστατικού, παρασκευάζεται ένα μόνο πρότυπο διάλυμα. Έστω C_{π} η συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος και A_{π} η απορρόφησή του. Αν A_{α} είναι η απορρόφηση του άγνωστου διαλύματος, η συγκέντρωσή του C_{α} προκύπτει από τη σχέση:

$$C_{\alpha} = C_{\pi} \cdot \frac{A_{\alpha}}{A_{\pi}} \quad (9)$$

Για την εφαρμογή της σχέσεως 9 πρέπει να είναι γνωστό ότι το χημικό σύστημα υπακούει στο νόμο του Beer (Κουιμτζής, 1982).

IV. Προετοιμασία δείγματος

Στη φασματοφωτομετρία υπεριώδους και ορατού χρησιμοποιούνται αραιά διαλύματα του δείγματος. Ο χρησιμοποιούμενος διαλύτης για την παρασκευή του δείγματος δεν πρέπει να απορροφά στην περιοχή του φάσματος, όπου μετρείται η απορρόφηση του δείγματος.

Ο διαλύτης είναι δυνατόν να επιδράσει στη διαλυμένη ουσία και να μεταβάλλει το φάσμα απορρόφησής της. Οι πολικοί διαλύτες αυξάνουν το εύρος των κορυφών απορρόφησης και μετατοπίζουν τη θέση του λ_{\max} . Η οξύτητα επίσης του διαλύτη (που ρυθμίζεται με την προσθήκη ισχυρού οξέος ή βάσης) επηρεάζει δραστικά το φάσμα απορρόφησης πολλών ουσιών.

Οι φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί βασίζονται στο γνωστό νόμο του Beer. Τα δείγματα, στα οποία πρόκειται να γίνει ο προσδιορισμός ενός ή περισσοτέρων συστατικών, κατεργάζονται έτσι, ώστε στο τελικό στάδιο της κατεργασίας να έχουμε διάλυμα. Ο προσδιορισμός των συστατικών στο διάλυμα αυτό

γίνεται, είτε με τη βοήθεια πρότυπων διαλυμάτων, ή με μία φασματοφωτομετρική ογκομέτρηση (Singh et al., 1998).

4.9. Εφαρμογές της φασματοφωτομετρίας υπεριώδους-ορατού

Η φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού έχει πολλές εφαρμογές, τόσο στην ποιοτική όσο και στην ποσοτική ανάλυση. Έτσι η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται στη διευκρίνιση της δομής των μορίων, στην ταυτοποίηση ουσιών, στον ποσοτικό προσδιορισμό ανόργανων και οργανικών ενώσεων, στην μελέτη της κινητικής των αντιδράσεων, στην μελέτη της χημικής ισορροπίας των αμφίδρομων αντιδράσεων κ.ά.

Οι ποσοτικοί προσδιορισμοί βασίζονται στα φάσματα απορροφήσεως. Σαν χαρακτηριστικά μεγέθη χρησιμοποιούνται η θέση του λ_{\max} και η τιμή του ϵ_{\max} . Όταν υπάρχουν και οι παράγωγοι των φασμάτων απορροφήσεως, τότε σαν χαρακτηριστικά μεγέθη χρησιμοποιούνται τα μήκη κύματος των μέγιστων - ελάχιστων και η ποσοτική σχέση ανάμεσα στα μέγιστα και στα ελάχιστα.

Η χρησιμοποίηση των φασμάτων απορροφήσεως υπεριώδους-ορατού στη διευκρίνιση της δομής των μορίων και στην ταυτοποίηση των ουσιών δεν είναι τόσο εκτεταμένη, όσο άλλων φασματοσκοπικών μεθόδων π.χ. IR και NMR. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, οι ταινίες απορροφήσεως που οφείλονται στις ηλεκτρονικές διεγέρσεις διευρύνονται από τις διεγέρσεις ταλαντώσεως και περιστροφής των μορίων. Σε πολλές όμως περιπτώσεις τα φάσματα αυτά είναι απαραίτητα για την επιβεβαίωση δομών, που βρίσκονται με άλλες μεθόδους. Με τα φάσματα αυτά μπορεί να γίνει:

- α) διάκριση ανάμεσα σε συζυγικά συστήματα.
- β) διαπίστωση ταυτομερών δομών.
- γ) ταυτοποίηση μίας ουσίας (Πολυχρονιάδου-Αλιχανίδου, 1996).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΦΕΪΝΗΣ

5.1. Παρασκευή διαλύματος βασικού οξικού μολύβδου

Το εν λόγω διάλυμα παρασκευάζεται με διάλυση 15g άνυδρου βασικού οξικού άλατος μολύβδου, $\text{CH}_3(\text{COO})_2\text{Pb} - \text{Pb}(\text{OH})_2$ σε 150 ml αποσταγμένου νερού σε μια φιάλη των 250 ml. Ακολουθεί θέρμανση υπό ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα μέχρι εμφάνισης διαλύματος άσπρου χρώματος. Μετά την ψύξη του διαλύματος γίνεται φιλτράρισμα του ιζήματος και προσαρμογή της πυκνότητάς του στα 1.22-1.23 mg/ml με χρήση πυκνόμετρου ανάλογης κλίμακας, συμπληρώνοντας αποσταγμένο νερό όπου κρίνεται απαραίτητο (Shufen et al., 1990).

5.2. Προσδιορισμός της % περιεκτικότητας σε καφεΐνη

5.2.1. Εξαγωγή των αλκαλοειδών

Ζυγίζεται περίπου 1 g αλεσμένου καφέ και τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως των 200 ml. Στη συνέχεια προστίθενται 96 ml αποσταγμένο νερό και αφού ζυγίζεται το διάλυμα, τίθεται σε βρασμό για 5 λεπτά με παράλληλη ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα. Στη συνέχεια ζυγίζονται 4 ml βασικού διαλύματος οξικού μολύβδου και προστίθενται στο διάλυμα εν θερμώ. Το διάλυμα ψύχεται και ξαναζυγίζεται. Προστίθεται το αποσταγμένο νερό που εξαερώθηκε κατά τη διάρκεια του βρασμού. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό μέχρι διαύγασης και τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως των 200ml. Ακολούθως μετράται ο όγκος του διηθήματος με τη χρήση ογκομετρικού κυλίνδρου των 100ml και με βάση την αναλογία 0,1 g NaHCO_3 ανά 10 ml του διηθήματος, προστίθεται στερεό όξινο ανθρακικό νάτριο. Κατόπιν διηθείται πάλι υπό κενό μέχρι διαύγασης και το διήθημα τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως των 200ml (Shufen et al., 1990).

5.2.2. Διαχωρισμός της καφεΐνης από τα άλλα αλκαλοειδή

Μεταφέρονται 50 ml διήθημα, το οποίο προήλθε από τη διαδικασία της εξαγωγής των αλκαλοειδών, σε ποτήρι ζέσεως των 100 ml και προστίθεται διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (NaOH) συγκέντρωσης 1M με σιφόνιο μετρήσεως των 10ml

μέχρις ότου το pH ρυθμιστεί μεταξύ 12.5-12.7. Κατόπιν το διάλυμα μεταγγίζεται σε διαχωριστική χοάνη των 200mL και με διαδοχικές εκχυλίσεις χρησιμοποιώντας 25, 20, 15 και 10ml χλωροφορμίου αντίστοιχα κάθε φορά, γίνεται η εξαγωγή της καφεΐνης από την υδατική φάση.

Η διαδικασία που ακολουθείται κατά την εκχύλιση είναι η εξής :

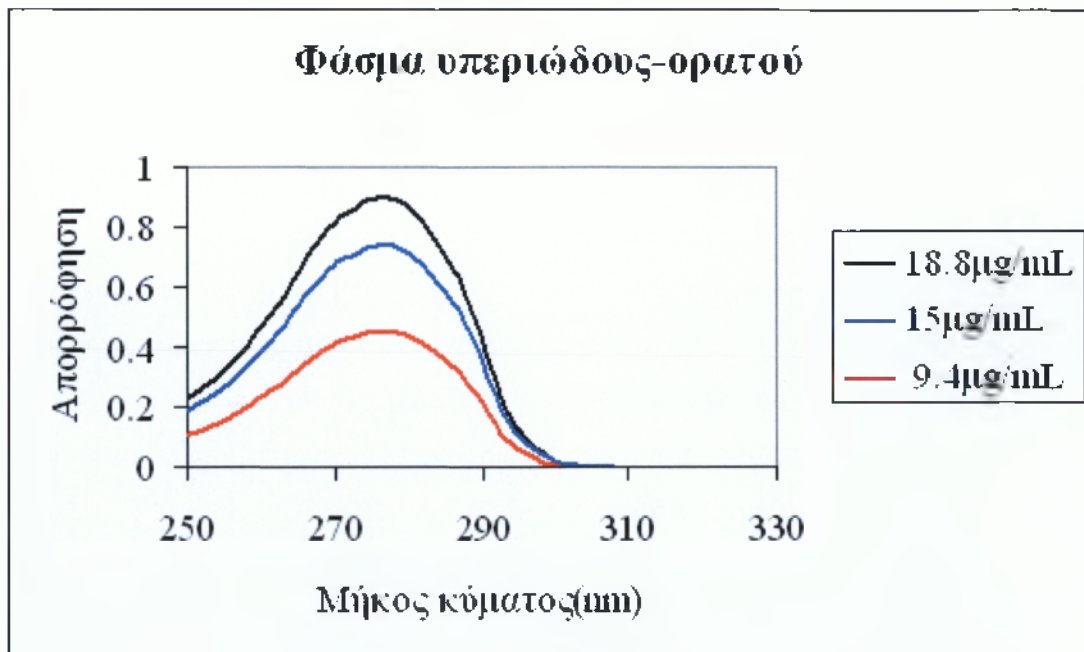
- i. Προστίθεται η ποσότητα χλωροφορμίου στην χοάνη και ακολουθεί ανακίνηση για 1 λεπτό περίπου. Στην συνέχεια η χοάνη αφήνεται σε ηρεμία μέχρις ότου διαχωριστούν οι δύο φάσεις, υδατική και χλωροφορμίου.
- ii. Οι φάσεις του χλωροφορμίου από τις διαδοχικές εκχυλίσεις συλλέγονται και η διαδικασία επαναλαμβάνεται.

Η συλλογή των φάσεων του χλωροφορμίου γίνεται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml η οποία στην συνέχεια συμπληρώνεται με χλωροφόρμιο μέχρι τη χαραγή. Για την μέτρηση της απορρόφησης στα 275.8nm χρειάζεται να γίνει αραιώση του εκχυλίσματος 1:10 (Shufen et al., 1990).

5.3. Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της καφεΐνης

5.3.1. Φάσμα υπεριώδους-ορατού της καφεΐνης

Στο επόμενο σχήμα δίνεται ένα τυπικό χρωματογράφημα για τρία διαλύματα καφεΐνης σε χλωροφόρμιο συγκέντρωσης 18.8, 15 και 9.4μg/mL στο φάσμα ορατού-υπεριώδους από 250 μέχρι 320nm.

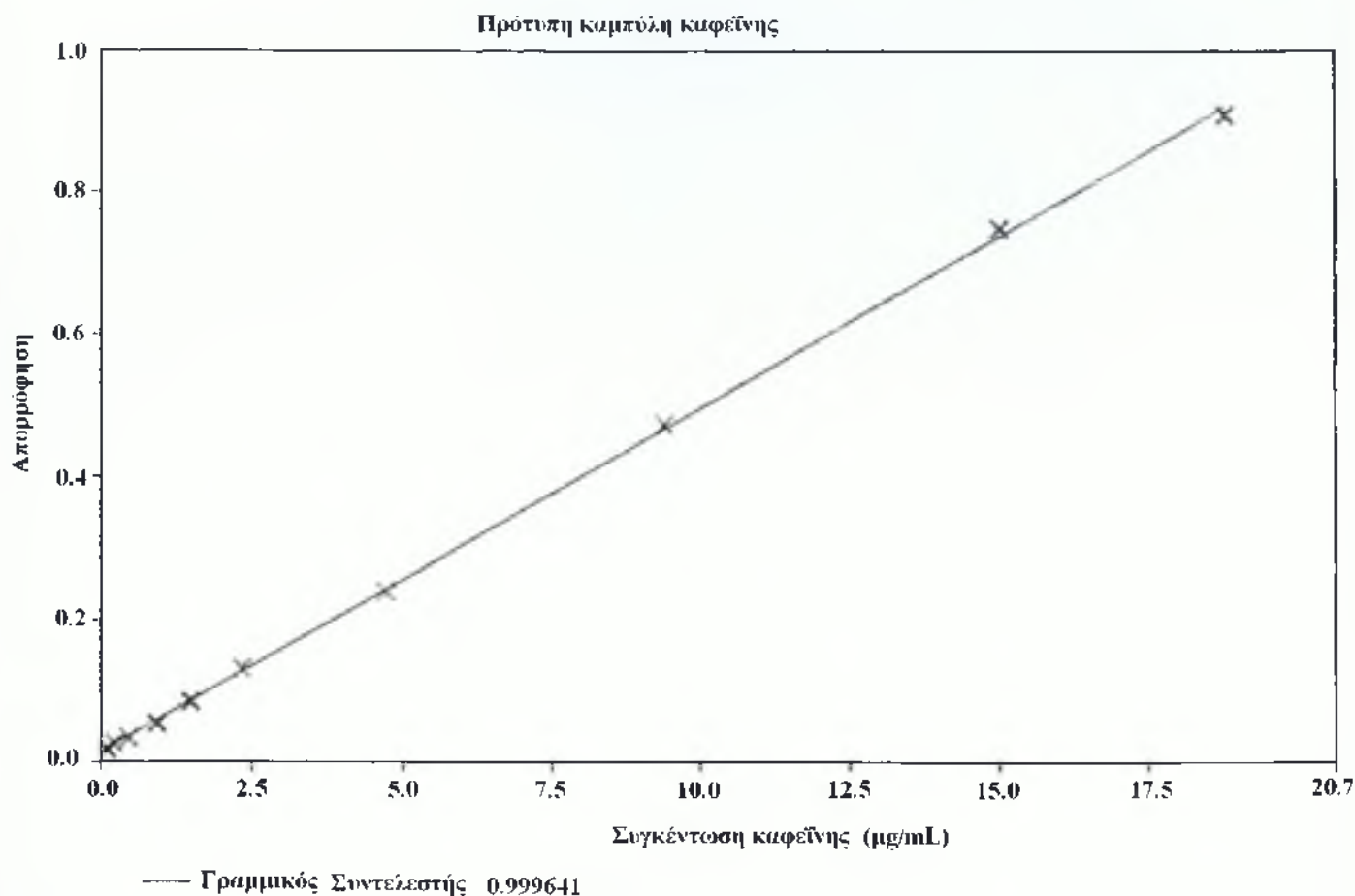


Σχήμα 10: Φάσμα υπεριώδους-ορατού της καφεΐνης

Στα φάσματα υπεριώδους-ορατού της καφεΐνης σε χλωροφόρμιο φαίνεται ότι παρουσιάζεται ένα μέγιστο της απορρόφησης της καφεΐνης στα 275.8nm και για τις τρεις συγκεντρώσεις καφεΐνης.

5.3.2. Κατασκευή πρότυπης καμπύλης

Αρχικά παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα με συνεχείς αραιώσεις διαλύματος καφεΐνης σε χλωροφόρμιο ($CHCl_3$). Το κάθε διάλυμα μετρείται 3 φορές και από τον μέσο όρο των απορροφήσεων κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη του σχήματος 10, η οποία υπακούει στον νόμο Lambert-Beer.



Σχήμα 11: Πρότυπη καμπύλη καφεΐνης $A = 0,0481C + 0,0144$

5.3.3. Μέτρηση απορρόφησης της καφεΐνης

Ποσότητα από το εκχύλισμα καφεΐνης σε χλωροφόρμιο μεταφέρεται σε μια κυψελίδα χαλαζία 1cm και μετρείται στο φασματοφωτόμετρο η απορρόφηση του σε μήκος κύματος 275.8 nm.

5.3.4. Υπολογισμός της ποσότητας της καφεΐνης

Με βάση τις απορροφήσεις και την πρότυπη καμπύλη της καφεΐνης υπολογίζεται η συγκέντρωσή της σε mg/ml στο τελικό μέσο του χρησιμοποιημένου προγράμματος καταγραφής και επεξεργασίας αποτελεσμάτων του φασματοφωτόμετρου υπεριώδους-ορατού.

Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας σε καφεΐνη στα δείγματα καφέ γίνεται ως εξής (εφαρμογή σε ένα δείγμα με θερμοκρασία νερού 100°C) :

Σε 1g καφέ περιέχονται Xg καφεΐνης.

Στο διάλυμα των 100mL περιέχονται Xg καφεΐνης.

Στα 50mL τελικού διηθήματος περιέχονται X/2g καφεΐνης.

Στα 100mL εκχυλίσματος CHCl₃ περιέχονται X/2g καφεΐνης.

Στα 5mL εκχυλίσματος που χρησιμοποιήθηκαν για την αραιώση, περιέχονται X/40g καφεΐνης.

Στα 50mL αραιωμένου διαλύματος περιέχονται X/40g καφεΐνης.

Η περιεκτικότητα της καφεΐνης, βάση της απορρόφησης είναι π μg/mL.

Στα 50mL αραιωμένου διαλύματος η ποσότητα της καφεΐνης είναι $\pi \times 50$ μg καφεΐνης.

$X/40 = \pi \times 10^{-6}$ g $\Rightarrow X = \pi \times 40 \times 10^{-6}$ g καφεΐνης στο 1g καφέ.

Ομοίως υπολογίζονται όλες οι περιεκτικότητες %w/w καφεΐνης των δειγμάτων.

5.4. Στατιστικός Έλεγχος Πειραματικών Αποτελεσμάτων

5.4.1. Ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA) ως προς την συγκέντρωση καφεΐνης διαφορετικών δειγμάτων

Για την μελέτη της συγκέντρωσης της καφεΐνης στα διαφορετικά δείγματα καφέ πραγματοποιείται ανάλυση της διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA) σύμφωνα με το στατιστικό πρόγραμμα MINITAB 13. Για τις πιθανές διαφορές των μέσων όρων χρησιμοποιείται ο έλεγχος πολλαπλών συγκρίσεων Tukey με την βοήθεια του στατιστικού προγράμματος MULTICOMP.

Για να ισχύει ο στατιστικός έλεγχος θα πρέπει να ισχύουν και κάποιες προϋποθέσεις :

α) Θα πρέπει να υπάρχει κανονικότητα στις τιμές που ελέγχονται. Ο έλεγχος της κανονικότητας γίνεται στα υπολείμματα της ANOVA με τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov.

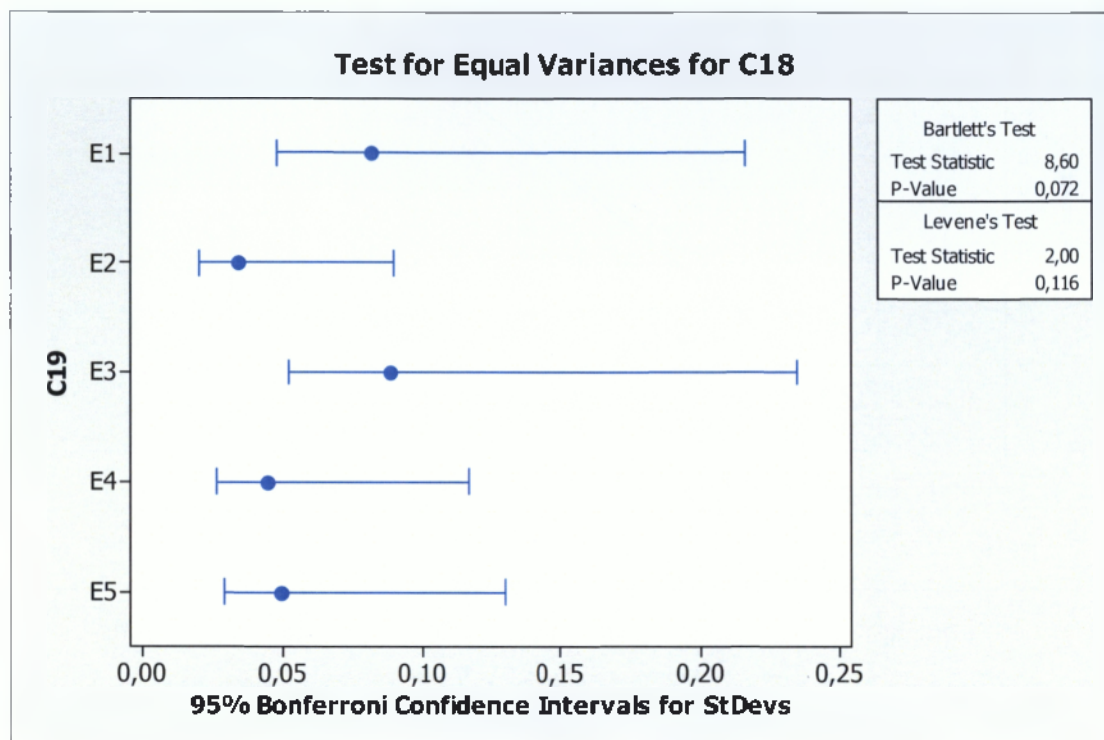
β) Θα πρέπει να υπάρχει ομοιογένεια στις διακυμάνσεις όλων των ομάδων. Αυτή η προϋπόθεση πραγματοποιείται με τον έλεγχο Levene. (Πετρίδης, 2000)

5.4.2. Έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων

Όπως προαναφέρθηκε για τον έλεγχο αυτόν πραγματοποιείται ο στατιστικός έλεγχος Levene.

Από τον έλεγχο ομοιογένειας των διακυμάνσεων, αν η τιμή του ελέγχου Levene είναι $P > 0.05$ τότε ισχύει η μηδενική υπόθεση, που σημαίνει ότι υπάρχει

ομοιογένεια των διακυμάνσεων των δειγμάτων. Παράδειγμα γραφήματος της ομοιογένειας της ANOVA δίνεται στο ακόλουθο σχήμα.

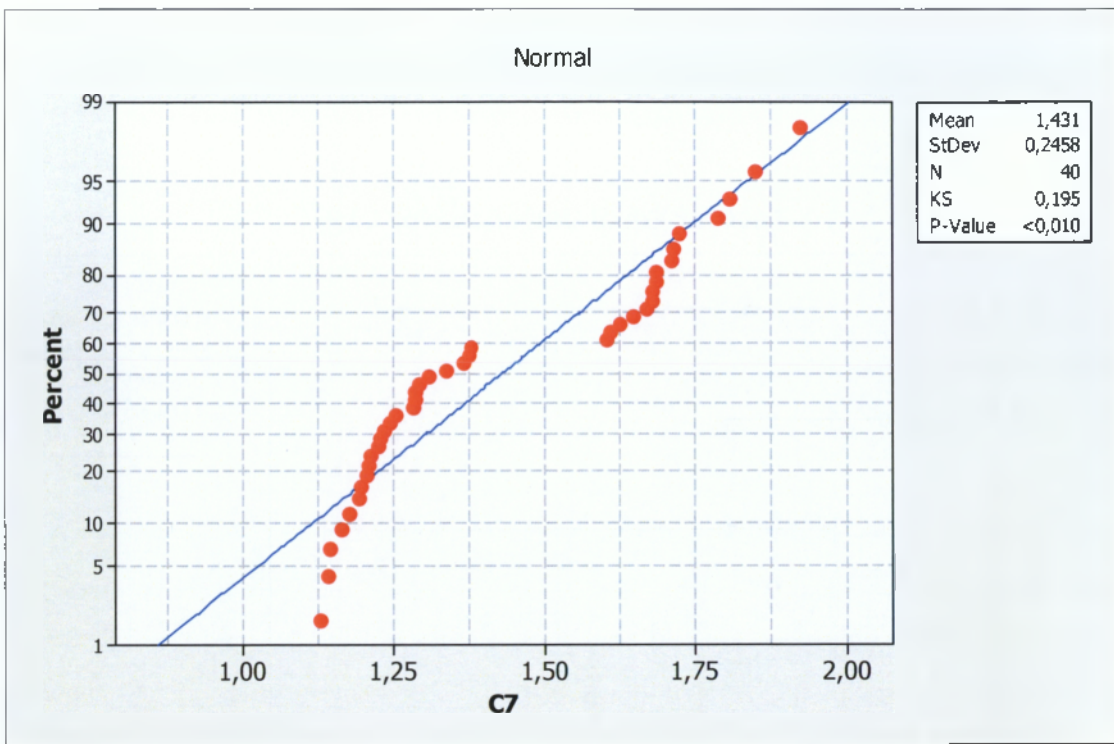


Σχήμα 12: Γράφημα ελέγχου Levene ομοιογένειας των διακυμάνσεων

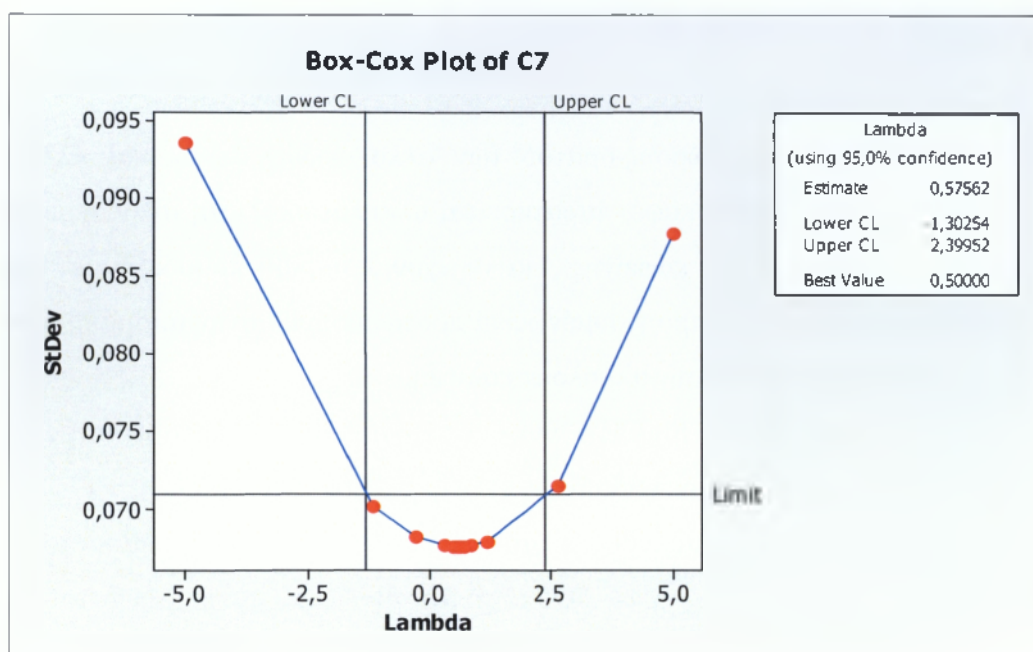
5.4.3. Έλεγχος της κανονικότητας της στήλης υπολειμμάτων

Από τον έλεγχο Kolmogorov – Smirnov για την κανονικότητα της στήλης υπολειμμάτων DTA, αν προκύπτει ότι $P\text{-value} < 0,010$, τότε ισχύει η εναλλακτική υπόθεση, δηλαδή η στήλη των υπολειμμάτων DTA δεν ακολουθεί κανονική κατανομή. Για αυτόν τον λόγο απαιτείται μετασχηματισμός της τετραγωνικής ρίζας των στοιχείων. Τα γραφήματα της κανονικότητας της ANOVA και του μετασχηματισμού των στοιχείων δίνονται ακολούθως.

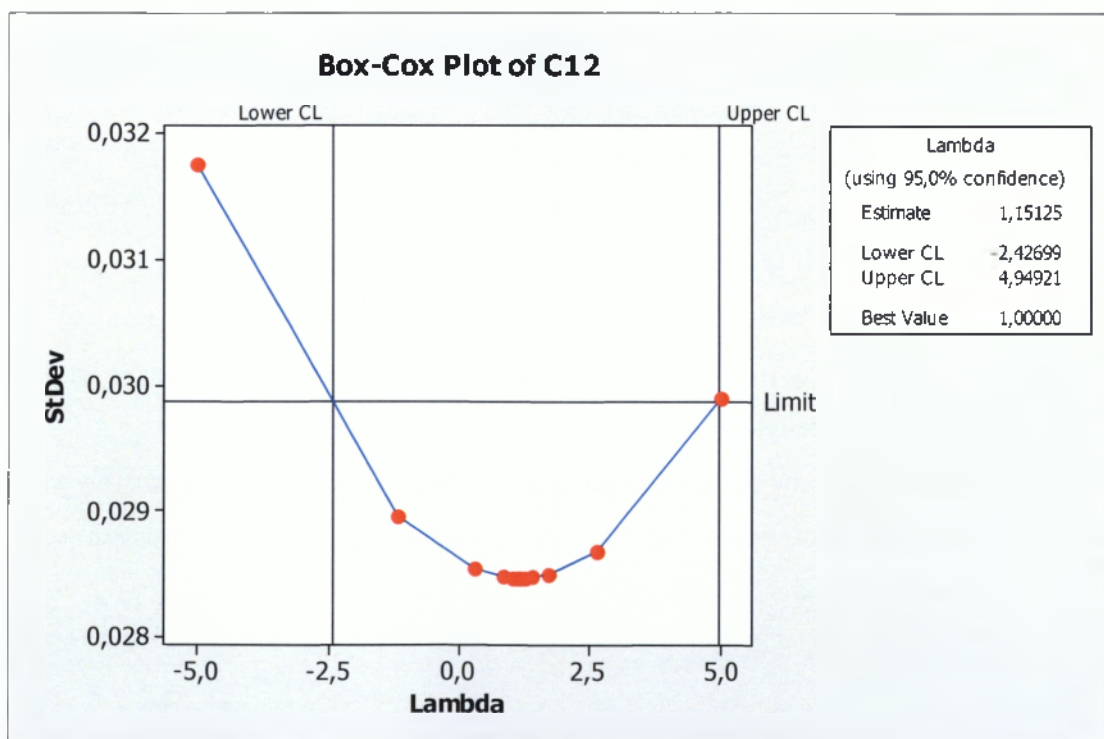
Έτσι αφού ισχύουν και οι δύο προϋποθέσεις μπορεί να εφαρμοστεί ο έλεγχος one-way ANOVA.



Σχήμα 13: Γράφημα ελέγχου Kolmogorov-Smirnov κανονικότητας της στήλης υπολειμμάτων



A) Παρατηρούμε ότι η Best Value είναι 0,5. Άρα ο κατάλληλος μετασχηματισμός των τιμών είναι ο τετραγωνικός μετασχηματισμός.



B) Παρατηρούμε ότι η Best Value είναι ίση με ένα 1 άρα τα στοιχεία τώρα ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Σχήμα 14: Γράφημα μετασχηματισμού των στοιχείων

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα φάσματα υπεριώδους-ορατού των αλκαλοειδών, αλλά και άλλων ενώσεων που περιέχονται στον καφέ, παρατηρείται αλληλοεπικάλυψη στην περιοχή της μέγιστης απορρόφησης της καφεΐνης. Για να έχουμε ακριβή προσδιορισμό του ποσοστού της καφεΐνης πρέπει προηγουμένως να προχωρήσουμε στην απομάκρυνση όλων των ενώσεων που εμφανίζουν αλληλοεπικάλυψη.

Με την προσθήκη $\text{Pb}(\text{CH}_2\text{COO})_2$ επιτυγχάνεται η καταβύθιση και απομάκρυνση των υδατοδιαλυτών πρωτεϊνών.

Ο ίδιος ο οξικός μόλυβδος παρεμποδίζει τον φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό της καφεΐνης και για το λόγο αυτό καταβυθίζεται η περίσσεια του με την προσθήκη NaHCO_3 .

Όλα τα αλκαλοειδή, και κυρίως η καφεΐνη, η θεοβρωμίνη και η θεοφυλλίνη, λόγω της μεγάλης ομοιότητας των δομών τους, εμφανίζουν παρόμοια φάσματα υπεριώδους-ορατού. Έτσι, για την απομάκρυνση των υπόλοιπων αλκαλοειδών ρυθμίζεται το pH σε τιμή μεταξύ 12.5-12.7, όπου ο συντελεστής κατανομής της θεοβρωμίνης αλλά και της θεοφυλλίνης στο CHCl_3 είναι πολύ μικρός και έτσι παραμένουν στην υδατική φάση, ενώ η καφεΐνη, της οποίας ο συντελεστής κατανομής δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη μεταβολή του pH, παραλαμβάνεται στη στοιβάδα του CHCl_3 .

Η ποσότητα καφεΐνης που εκχυλίζεται από τον καφέ στο νερό κατά την διάρκεια θέρμανσης εξαρτάται από την θερμοκρασία δεδομένου ότι ο χρόνος θέρμανσης παραμένει σταθερός.

Το ποσοστό καφεΐνης είναι μια ένδειξη της σύστασης των δειγμάτων καφέ και μπορούν να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα για την αναλογία των ποικιλιών που δημιουργούν το μίγμα.


7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ashihara H. and Grozier A., 2001. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *TRENDS in Plant Science* 6, No.9, 407-413.
2. Barone J.J. and Roberts H.R., 1996. Caffeine Consumption. *Food Chemistry Toxicology* 1, No.1, 119-129, Great Britain.
3. Belitz H.D. and Grosch W., 1999. Coffee, Tea, Cocoa. In: *Food Chemistry*, 4th Edition, p. 874-904, Springer-Verlag, Berlin Germany.
4. Charalambous G., 1986. Coffee. In: *Handbook of Food and Beverage Stability: Chemical Biochemical, Microbiological and Nutritional Aspects*, p.686-717, Clarke R., Academic Press, Inc. USA.
5. Gehrig M. and Schulmeyr J., 1997. Supercritical CO₂ tea decaffeination. *TRENDS in Food Science & Technology*. 8, 315-316, Germany.
6. Gokulakrishnan S., Chandraraj K., Gummadi S.N., 2005. Microbial and enzymatic methods for the removal of caffeine. *Enzyme and Microbial Technology*. 37, 225-232, India.
7. Cornelis MC, El-Sohemy A: "Coffee, caffeine and coronary heart disease", *Current Opinion in Lipidology* 18: 13-19, 2007.
8. Gruenwedel D.W. and Whitaker, 1984. Ultraviolet and Visible Spectrophotometry, p.203-244, Elbe J.H. and Schwartz S.J., Atomic Absorption, p.387-433, Price W.J. and Whiteside P.J. In: *Food Analysis Principles and Techniques*, Vol.2, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.
9. Hart F.L. and Fisher H.J., 1971. Cocoa, Coffee, Tea and Yerba Mate. In: *Modern Food Analysis*, p.91-107, Springer-Verlag, New York.
10. Huck C.W., Guggenbichler W., Bonn G.K., 2005. Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 538, 195-203, Austria.
11. Hui Y.H., 1992. Caffeine. In: *Encyclopedia of Food Science and Technology*, Vol.1, p.239-245, John Wiley & Sons, Inc., USA.
12. James J.E., 1991. Historical Overview and Current Use, p.3-18, *Pharmacology of Caffeine* p.19-41. In: *Caffeine and Health*. Academic Press, Bundoora, Australia.

13. Knox K. and Huffaker J.S., 1997. What is coffee p.1-14, Rosting and Blending p.74-80. In: Coffe Basics a quick and easy guide, John Wiley and Sons Inc., New York.
14. Lee F.A., 1975. Coffee. In: Basic Food Chemistry, p.282-303, The AVI Publishing Company, Inc., New York.
15. Lee R.A. and Balick M.J., 2006. Rx: Caffeine. *Ethnomedicine*, 2, No2, 55-59.
16. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Willett WC, Rimm EB, Manson JE, Stampfer MJ, Rexrode KM, Hu FB: "Coffee consumption and coronary heart diseases in men and women: A prospective cohort study", *Circulation* 113:2045-2053, 2006.
17. Luque-Perez E., Rios A., Valcarcel M., Danielsson L.G., Ingman F., 1999. Spectrophotometric flow injection determination of caffeine in solid and slurry coffee and tea samples using supported liquid membranes. *Laboratory automation and information management*, 34, 131-142, Cordoba, Stockholm.
18. Macrae R., Robinson R.K., Salder M.J., 1993. Caffeine. In: *Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition*, Vol.1, p.566-571, Academic Press, Oxford.
19. Myers MG: "Effect of caffeine on blood pressure beyond the laboratory", *Hypertension* 43:724-725, 2004.
20. Nagao M, Gujita Y, Wakabayashi K, Nukaya H, Kosuge T, Sugimura T: "Mutagens in coffee and other beverages", *Environ Health Perspect* 67:89-91, 1986.
21. Nehlig A, Debry G: "Potential genotoxic, mutagenic and antimutagenic effects of coffee: a review", *Mutation Research* 317:145-162, 1994.
22. Riksen NP, Rongen GA, Smits P: "Acute and long-term cardiovascular effects of coffee: implications for coronary heart disease", *Pharmacol. Ther* 121:185-191, 2009.
23. Sebald J., Schulmeyr J., Foster A., 1996. Decaffeination of black tea. *TRENDS in Food Science & Technology*, 7, 99, Germany.
24. Senol A. and Aydin A., 2005. Solid-liquid extraction of caffeine from tea waste using battery type extractor: Process optimization. *Journal of Food Engineering*, Turkey.

25. Shufen L., Berger J., Hartland S., 1990. UV spectrophotometric determination of theobromine and caffeine in cocoa beans. *Analytica Chimica Acta*, 232, 409-412, Amsterdam.
26. Singh B.R., Wecheter M.A., Hu Y., Lafontaine C., 1998. Determination of caffeine content in coffee using Fourier transform infra-red spectroscopy in combination with attenuated total reflectance technique: a biochemists. *Biochemical Education*, 26, 243-247, USA.
27. Westerterp-Plantenga M., Diepvens K., Joosen A., Berube-Parent S., Tremblay A., 2006. Metabolic effects of spices, teas and caffeine. *Physiology and Behaviour*, Maastricht, Wageningen, Quebec.
28. Wikipedia: "Ames test". (β) RCN, Biology pages: "Ames test". (γ) San Diego State University: "The Ames test".
29. Wu JN, Ho SC, Zhou C, Ling WH, Chen WQ, Wang CL, Chen YM: "Coffee consumption and risk of coronary heart diseases: a meta-analysis of 21 prospective cohort studies", *Int J Cardiol* (Epub ahead of print) 2008.
30. Ε.Κ. Βουδούρη και Μ.Γ. Κοντομηνά, «Εισαγωγή στη Χημεία των Τροφίμων», Οργανισμός εκδόσεως διδακτικών βιβλίων, 1998.
31. Δ.Σ. Γαλανός, «Θέματα Χημείας Τροφίμων», Οργανισμός εκδόσεως διδακτικών βιβλίων, 1998.
32. Γεράρδης Τ., 1998. Από το δέντρο στο φλιτζάνι σελ.81-88, Η χημεία του καφέ σελ.89-102. Ο καφές ένα αραβικό παραμύθι. Πρώτη Έκδοση, Τροχαλία, Αθήνα.
33. Κουιμτζή Θ., 1982. Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους-Ορατού. Ενόργανη Χημική Ανάλυση, σελ.51-122, Δεύτερη Έκδοση, Γραφικές Τέχνες, Θεσσαλονίκη.
34. Κώδικας Τροφίμων Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης, Καφές, σελ.247-250 Τόμος Β', Γενικό Χημείο Κράτους.
35. Πετρίδης Δ., 2000. Έλεγχος της υπόθεσης σύγκρισης των εξαρτημάτων ή κατά ζεύγη δειγμάτων σελ.84-87, Ανάλυση της διακύμανσης ενός παράγοντα ή μίας κατεύθυνσης σελ.90-95. Εφαρμοσμένη Στατιστική (Με έμφαση στην επιστήμη των τροφίμων), Εκδόσεις Όμηρος, Θεσσαλονίκη.
36. Πολυχρονιάδου-Αληχανίδου Α., 1996. Φασματοσκοπία. Ανάλυση Τροφίμων, σελ.61-87, Ε' Έκδοση, Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη.

37. Τζουβαρά-Καραγιάννη Σ., 1990. Καφές σελ.251-259. Αξιοπιστία των αναλύσεων σελ. 293-310 στο Σύσταση, Χημική Ανάλυση και Προδιαγραφές Βασικών Τροφών, Δεύτερη Έκδοση, Ιωάννινα.
38. Θ.Π. Χατζηϊωάννου, «Εργαστηριακές ασκήσεις ποσοτικής αναλυτικής χημείας», Αθήνα, 1992.



Μια φορά και έναν καιρό, σε ένα μακρινό τόπο που ονομαζόταν Αιθιοπία ζούσε ένας νέος βοσκός που ονομαζόταν Kaldi. Κάθε απόγευμα ο Kaldi άφηνε ελεύθερα τα κατσίκια του να βοσκήσουν μόνα τους, στον λόφο που βρισκόταν δίπλα στο χωριό του και το απόγευμα ο βοσκός επέστρεφαν στο σπίτι. Ένα απόγευμα λοιπόν τα κατσικάκια δεν επέστρεψαν σπίτι. Ο νεαρός βγήκε για να αναζητήσει τα ζώα. Έψαχνε όλη νύχτα και τελικά τις πρώτες πρωινές ώρες τα βρήκε, να τρώνε τα φύλλα και τους καρπούς ενός μικρού δέντρου και να τριγυρνάνε συνεχώς γύρω του. Τόσο έντονη ήταν η υπερκινητικότητα τους, που νόμιζες ότι χόρευαν. Σχεδόν αμέσως συνειδητοποίησε ότι θα πρέπει να φταίνε οι καρποί αυτού του δέντρου, για την συμπεριφορά των κατά τα άλλα υπεύθυνων ζώων του χωριού. Ο Kaldi δοκίμασε μερικούς από τους μικρούς κόκκινους καρπούς του δέντρου. Μετά από λίγο, συνόδευε τα κατσίκια του στο χορό. Στα πειράματα του λοιπόν, καβούρδισε και στην συνέχεια έβρασε τους καρπούς του δέντρου, δοκιμάζοντας μετά το παραγόμενο ρόφημα. Μοιράστηκε με τους υπόλοιπους μοναχούς τα αποτελέσματα των ερευνών του και από εκείνο το σημείο και μετά, δεν κοιμόταν πια κανένας τους κατά την διάρκεια των προσευχών!

Κάπως έτσι λοιπόν, διαδόθηκε η φήμη και το ρόφημα του καφέ...

Καλαμάτα 2010