

ΔΙΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ FURAN, 2-METHYL FURAN & 3-METHYL FURAN ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΕΙΔΩΝ ΚΑΦΕ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΓΟΡΑΣ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΩΝ ΣΕ ΤΟΞΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Γ. ΚΑΡΑΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΧΗΜΕΙΟ ΤΟΥ ΚΡΑΤΟΥΣ

Α΄ ΧΗΜΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ Β΄ - ΧΗΜΙΚΩΝ ΚΙΝΔΥΝΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΕΙΔΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

ΕΘΝΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΡΥΠΑΝΤΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ (NRL PC)

Κωδικός έργου: 20Ε.2.10

Αρμόδια Υπηρεσία: Γενική Διεύθυνση Γενικού Χημείου του Κράτους

Εμπλεκόμενη Υπηρεσία: Διεύθυνση Αλκοόλης και Τροφίμων

Υλοποίηση: Α΄ Χ.Υ. Αθηνών (Προϊσταμένη Δ/νσης: Δ. Τσίπη)

Κύριος έργου: Σ. Ζήση – Προϊσταμένη Γ.Δ. – Γ.Χ.Κ.

Συντονιστής έργου: Β. Τζαμτζής (έως 14/6/2020), Σ. Κυριακίδης (από 15/6/2020)

Σχεδιασμός / Υλοποίηση: Γ. Καρανικολόπουλος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Φουράνιο και τα υποκατεστημένα ανάλογά του έχουν συγκεντρώσει το επιστημονικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια μετά από τη δημοσίευση σημαντικού αριθμού ερευνητικών μελετών αναφορικά με τη παρουσία τους, σε σημαντικές συγκεντρώσεις, σε ποικίλα τρόφιμα. Συνακόλουθα οι αρχές που είναι επιφορτισμένες με το έργο της Ασφάλειας των Τροφίμων, τόσο σε Ευρωπαϊκό (EFSA) όσο και σε Παγκόσμιο επίπεδο (FDA), προχώρησαν σε συγκέντρωση των επιστημονικών δεδομένων προκειμένου να αξιολογήσουν την επικινδυνότητα της παρουσίας των συγκεκριμένων ρυπαντών στην αλυσίδα των τροφίμων. Παράλληλα, με βάση τη Σύσταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής 2007/196, συνίσταται η παρακολούθηση των επιπέδων τους στα τρόφιμα, μέσω των διαδικασιών ελέγχου της εσωτερικής αγοράς, για κάθε κράτος μέλος. Στα πλαίσια αυτά, με δεδομένο ότι ο καφές αποτελεί – με βάση τη βιβλιογραφία – ένα από τα πλέον επιβαρυνόμενα προϊόντα γίνεται, στη παρούσα μελέτη, μια προσπάθεια καταγραφής των επιπέδων των υποκατεστημένων Φουρανίων σε καφέ, από διάφορα σημεία πώλησης της λιανικής αλυσίδας διακίνησης. Έμφαση δόθηκε τόσο στη προσπάθεια αποτύπωσης του “Εμπορικού προφίλ” του καφέ στην Ελληνική αγορά (Πολυεθνικές Επιχειρήσεις, Μεσαίου μεγέθους μονάδες επεξεργασίας/τυποποίησης, Ιδιωτικές Ετικέτες και Μικρές τοπικές μονάδες), όσο και των διαφορετικών τύπων καφέ που κυριαρχούν στην εσωτερική αγορά (καφές σε κάψουλα, φίλτρου, εσπρέσο, ελληνικός και στιγμιαίος).

Το σύνολο των δειγμάτων αναλύθηκε άμεσα με χρήση της τεχνικής *ID HS GC-MS*, τόσο ως επεξεργασμένος καφές (καφές “ως έχει”) όσο και μετά τη παρασκευή του αντίστοιχου ροφήματος/παρασκευάσματος (σύμφωνα με το τύπο του καφέ). Ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων για τις διαφοροποιήσεις μεταξύ των διαφορετικών τύπων καφέ καθώς και για την παραλαβή των Φουρανίων στο τελικό ρόφημα. Η παρούσα εργασία είναι η πρώτη που παραθέτει εκτεταμένα στοιχεία για την επίδραση του τρόπου παρασκευής του τελικού παρασκευάσματος στη περιεκτικότητα στους συγκεκριμένους ρυπαντές και προχωρά παράλληλα σε συγκριτική αντιπαράθεση των αποτελεσμάτων για όλα τα είδη καφέ που αναλύθηκαν. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν τα διεθνή ευρήματα και υπογραμμίζουν την ανάγκη περαιτέρω παρακολούθησης των συγκεκριμένων ρυπαντών.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

Furan (F): Φουράνιο ή 1-οξυκυκλοπενταδιένιο-2,4, C_4H_4O

2-MF (2MF): 2-μεθυλοφουράνιο

3-MF (3MF): 3-μεθυλοφουράνιο

2,5-DMF: 2,5-διμεθυλοφουράνιο

d₄-Furan: ισοτοπικά επισημασμένο – δευτεριωμένο – φουράνιο

d₃-2MF: ισοτοπικά επισημασμένο – δευτεριωμένο – 2-μεθυλοφουράνιο

bw: σωματικό βάρος

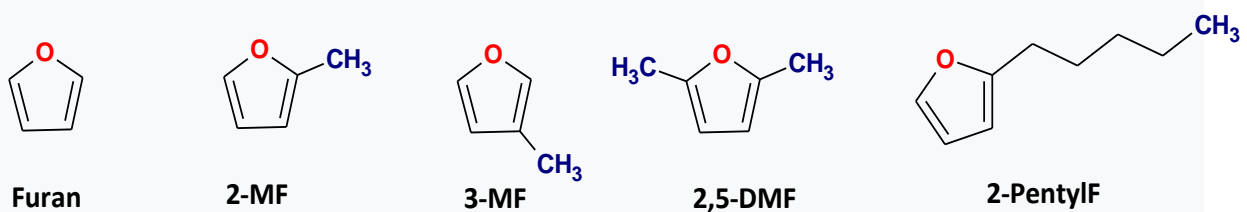
LB: χαμηλότερο όριο

UB: ανώτερο όριο

ID HS GC-MS: Μέθοδος Ισοτοπικής Αραίωσης και δειγματοληψίας της υπερκείμενης αέριας φάσης με Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με Χρωματογραφία μάζας

1. ΓΕΝΙΚΑ – ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ & ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Το φουράνιο (F), το 2-μεθυλοφουράνιο (2-MF), το 3-μεθυλοφουράνιο (3-MF) και το 2,5-διμεθυλοφουράνιο (2,5-DMF) καθώς και μια σειρά από άλλα υποκατεστημένα παράγωγά τους είναι πτητικές ενώσεις που σχηματίζονται σε τρόφιμα κατά τη θερμική επεξεργασία (Σχήμα 1., *Οι χημικοί τύποι των Φουρανίων - Αναφερόμενα με σειρά ελαττούμενης παρουσίας, αν και το ακριβές προφίλ της συγκέντρωσής τους εξαρτάται από το είδος του τροφίμου*). Το Φουράνιο μπορεί να σχηματιστεί στα τρόφιμα από μια ποικιλία προδρόμων συμπεριλαμβανομένων των: ασκορβικό οξύ, αμινοξέα, υδατάνθρακες, ακόρεστα λιπαρά οξέα και καροτενοειδή (βλ. αναλυτικά στοιχεία στην επόμενη ενότητα). Τα χαρακτηριστικά των τροφίμων, οι συνθήκες επεξεργασίας και μαγειρέματος, και οι απώλειες που συμβαίνουν, κυρίως λόγω της εξάτμισης, κατά τη προετοιμασία του φαγητού καθορίζουν τη τελική συγκέντρωση των παραπάνω ρυπαντών στο φαγητό στο επίπεδο του καταναλωτή.



Σχήμα 1.: Οι δομές των Φουρανίων – Το Φουράνιο και τα υποκατεστημένα παράγωγά του που έχουν μελετηθεί αναφορικά με τη παρουσία τους στα τρόφιμα

Η χρόνια διατροφική έκθεση στο Φουράνιο εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας ένα σύνολο δεδομένων που περιείχε 9.663 δείγματα από κυβερνητικούς οργανισμούς και 7.393 δείγματα που παρέχονται από εμπορικούς/ιδιωτικούς οργανισμούς (*EFSA Journal 2017;15(10):5005*). Οι δύο κατηγορίες δεδομένων ήταν συγκρίσιμες και αξιολογήθηκαν όλα μαζί ως ένα ενιαίο σύνολο. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις φουρανίου βρέθηκαν σε ολόκληρους καβουρδισμένους κόκκους καφέ, με μέση τιμή 4.579 µg/kg. Υψηλές μέσες συγκεντρώσεις φουρανίου βρέθηκαν επίσης σε αλεσμένο καβουρδισμένο καφέ (2.361 µg/kg), διάφορα στερεά καφέ (2.186 µg/kg), υποκατάστατα καφέ (1.922 µg/kg), στιγμιαίος καφές (310 µg/kg) και υποκατάστατα στιγμιαίου καφέ (127 µg/kg). Μέσες συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 20 έως 57 µg/kg βρέθηκαν σε σύνθετα τρόφιμα (παρασκευασμένες σαλάτες

με βάση τα δημητριακά και με βάση τα λαχανικά), έτοιμα φαγητά για βρέφη και μικρά παιδιά, σάλτσα σόγιας, ψωμί και προϊόντα αρτοποιίας, ωμά ζυμαρικά, δημητριακά πρωινού, εκλεκτά αρτοσκευάσματα και αλκοολούχα ποτά.

Δεν υπήρχαν αρκετά δεδομένα για τη παρουσία των υποκατεστημένων αναλόγων: 2-μεθυλοφουράνιο, 3-μεθυλοφουράνιο και 2,5-διμεθυλοφουράνιο. Επιπλέον, από τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τη συνύπαρξη φουρανίου και μεθυλοφουρανίων, οι λόγοι 2-μεθυλοφουρανίου/φουρανίου και 3-μεθυλοφουρανίου/φουρανίου υπολογίστηκαν μόνο για καφέ, βρεφικά δημητριακά, παιδικά τρόφιμα και νιφάδες δημητριακών. Τα δεδομένα συνύπαρξης στο 2,5-διμεθυλοφουράνιο ήταν πολύ περιορισμένα για να αντλήσουν μια τέτοια αναλογία.

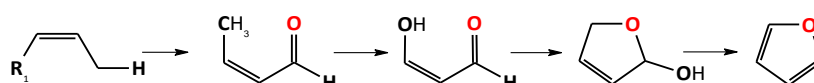
Οι υψηλότερες εκθέσεις στο Φουράνιο υπολογίστηκαν στην νεότερη ομάδα πληθυσμού, δηλαδή στα βρέφη. Οι μέσες διατροφικές εκθέσεις που υπολογίστηκαν για βρέφη κυμαίνονταν από 0.14 έως 0.99 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw ανά ημέρα (κατώτατο LB έως ανώτατο UB). Όσον αφορά το 95^ο εκατοστημόριο έκθεσης, το οποίο αναφέρεται σε καταναλωτές με μεγάλη έκθεση σε μια δεδομένη διατροφική έρευνα και ηλικιακή τάξη, οι υψηλότερες εκτιμήσεις παρατηρήθηκαν επίσης για βρέφη που κυμαίνονται από 0.27 έως 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw ανά ημέρα (ελάχιστο LB έως μέγιστο UB). Η χρόνια διατροφική έκθεση σε ενήλικες, ηλικιωμένους και πολύ ηλικιωμένους εκτιμάται ότι ήταν κατά μέσο όρο μεταξύ 0.11 και 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw ανά ημέρα (ελάχιστο LB έως μέγιστο UB) και το 95^ο εκατοστημόριο ήταν μεταξύ 0.20 και 1.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw ανά ημέρα (ελάχιστο LB έως μέγιστο UB) ανάλογα με την έρευνα και την ηλικιακή ομάδα. Τα έτοιμα γεύματα για βρέφη και μικρά παιδιά είναι ο κύριος συντελεστής στη διατροφική έκθεση των βρεφών. Για ενήλικες, ηλικιωμένους και πολύ ηλικιωμένους, η έκθεση οφείλεται κυρίως στη κατανάλωση καφέ. Τα δημητριακά και τα προϊόντα με βάση τα σιτηρά είναι η ομάδα τροφίμων που συμβάλλει περισσότερο στην έκθεση των νηπίων, παιδιών και έφηβων, και είναι επίσης ο δεύτερος μεγαλύτερος παράγοντας έκθεσης για όλες τις άλλες ηλικιακές τάξεις. Η επίδραση της επαναθέρμανσης των επεξεργασμένων τροφίμων στις συγκεντρώσεις φουρανίου είναι περιορισμένη και εξαρτάται από τη συμπεριφορά του καταναλωτή. Όσον αφορά το σχηματισμό φουρανίου κατά το μαγείρεμα στο σπίτι, ένα συγκεκριμένο σενάριο με βάση το ψήσιμο ψωμιού δεν επηρέασε το συνολικό αποτέλεσμα της έκθεσης αξιολόγησης. Η συμπερίληψη μεθυλοφουρανίων, ωστόσο, μπορεί να αυξήσει σημαντικά την έκθεση. Συνακόλουθα, το σενάριο έκθεσης στο άθροισμα του φουρανίου, του 2-μεθυλοφουρανίου και του 3-μεθυλοφουρανίου, για ενήλικες, ηλικιωμένους και πολύ ηλικιωμένους, παρουσίασε την υψηλότερη αύξηση σε σύγκριση με το βασικό σενάριο. Αυτή η έκθεση οφείλεται κυρίως στις υψηλές συγκεντρώσεις του 2-μεθυλοφουρανίου στον καφέ (τέσσερις φορές υψηλότερες από το φουράνιο).

Σε μακροχρόνιες μελέτες, το φουράνιο συσχετίστηκε με τοξικότητα στο ήπαρ. Παρατηρήθηκε χολαγγειίτιδα σε αρουραίους ως πρώιμη και ευαίσθητη απόκριση με σημαντικές αυξήσεις μετά από

36 εβδομάδες σε δόσεις 0.44 mg/kg bw και άνω. Σε ποντίκια, εμφανίστηκε ηπατοκυτταρικό αδένωμα /καρκίνωμα στις 104 εβδομάδες στις δόσεις 4 mg/kg bw και άνω. Σε αρουραίους, παρατηρήθηκε χολαγγειοκαρκίνωμα στην υψηλή δόση του 8 mg/kg bw. Δεν παρατηρήθηκαν σχετικές κακοήθειες σε δόσεις στο επίπεδο 2 mg/mg bw και κάτω για έως 104 εβδομάδες.

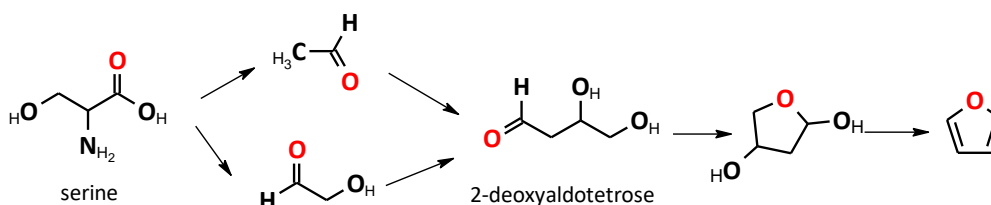
2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΦΟΥΡΑΝΙΟΥ & ΜΕΘΥΛΟΦΟΥΡΑΝΙΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Ο σχηματισμός από ακόρεστα λιπαρά οξέα και πιθανώς καρροτενοειδή προήλθε από το σχηματισμό 4-υδροξυαλκενίων-2, ιδιαίτερα 4-υδροξυβουτενάλης-2, που παράγεται από την οξείδωση του βουτενάλης-2 που με τη σειρά της μπορεί να είναι παράγεται από την οξείδωση των πολυακόρεστων ωμέγα-3 λιπαρών οξέων (Owczarek-Fendor et al., 2010) (Σχήμα 2.).



Σχήμα 2.: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού φουρανίου από πολυακόρεστα λιπίδια (Perez Locas and Yaylayan, 2004; Owczarek-Fendor et al., 2010)

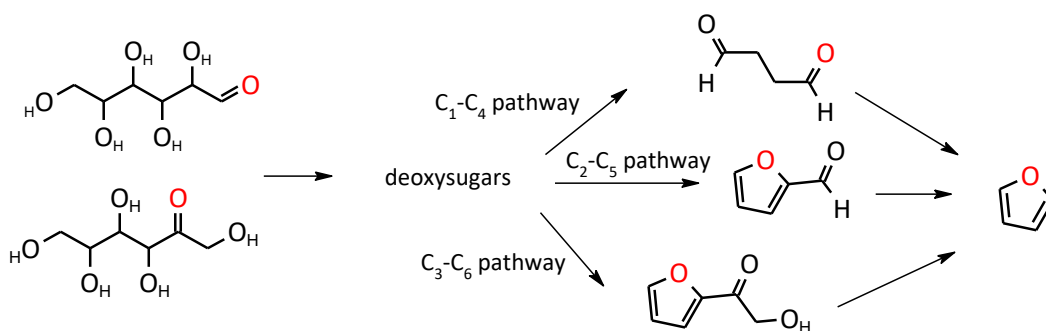
Ο σχηματισμός φουρανίου αναφέρθηκε κατά τη θερμική αποικοδόμηση της σερίνης και της κυστεΐνης (Perez Locas and Yaylayan, 2004). Η οδός σχηματισμού από τη σερίνη περιλαμβάνει το σχηματισμό ακεταλδεΐδης και γλυκολαλδεΐδης οι οποίες είναι αμφότερες επιρρεπείς σε αλδολική συμπύκνωση δημιουργώντας την κρίσιμη ενδιάμεση 2-δεοξυαλδοτετρόζη, η οποία με τη σειρά της μετά την κυκλοποίηση και την αφυδάτωση αποδίδει Φουράνιο (Σχήμα 3.). Η κυστεΐνη υποτίθεται ότι αντιδρά με παρόμοιο μονοπάτι (Perez Locas and Yaylayan, 2004).



Σχήμα 3.: Προτεινόμενη οδός σχηματισμού φουρανίου από σερίνη (Perez Locas and Yaylayan, 2004; Limacher et al., 2008)

Άλλα αμινοξέα μπορούν επίσης να προκαλέσουν το σχηματισμό φουρανίου. Το ασπαραγινικό οξύ, η αλανίνη και η θρεονίνη μπορούν να αποικοδομηθούν σε ακεταλδεΐδη, αλλά απαιτούν μια εξωτερική πηγή γλυκολαλδεΐδης (π.χ. σάκχαρα) για να σχηματίσουν το ενδιάμεσο 2-δεοξυαλδοτετρόζη (Perez Locas and Yaylayan, 2004).

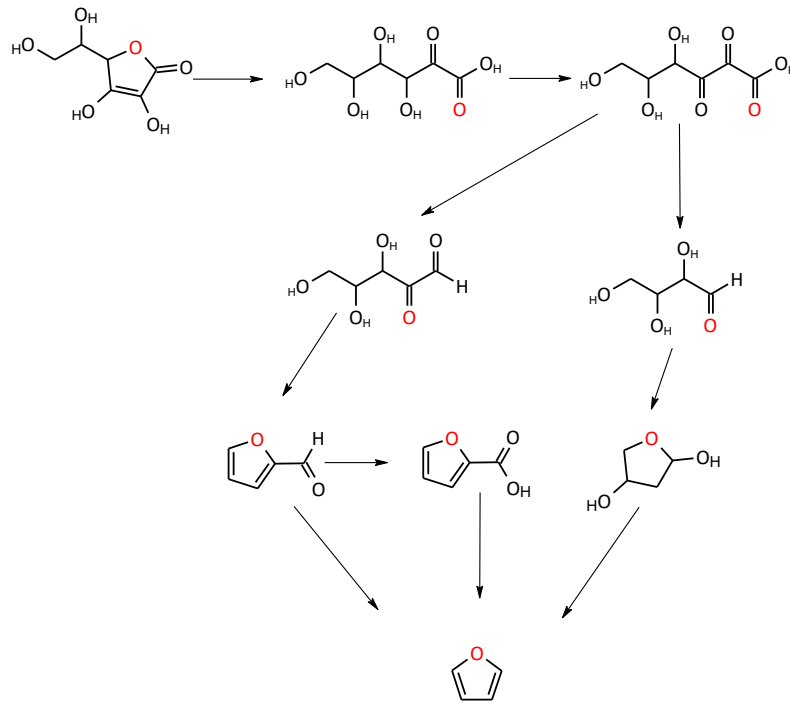
Αν και οι άμινο-ενώσεις θα ευνοήσουν το σχηματισμό Φουρανίου από σάκχαρα (μέσω της αντίδρασης *Maillard*), τα σάκχαρα από μόνα τους είναι ικανά να παράγουν Φουράνιο. Έχουν προταθεί διάφορες οδοί που περιλαμβάνουν τόσο τον ανασυνδυασμό προϊόντων διάσπασης σακχάρων από τον άθικτο σκελετό σακχάρου (Limacher et al., 2008) όσο και την αποικοδόμηση του άθικτου σκελετού σακχάρου (Limacher et al., 2008; Van Lancker et al., 2011). Η οδός διάσπασης περιλαμβάνει κυρίως τη συμπύκνωση ακεταλδεΐδης και γλυκολαλδεΐδης (Limacher et al., 2008). Ο σχηματισμός από τον άθικτο σκελετό σακχάρου περιλαμβάνει διάφορες παράλληλες οδούς, οι οποίες εξαρτώνται από τον τύπο του σακχάρου (Limacher et al., 2008). Αυτές οι αντιδράσεις περιλαμβάνουν το σχηματισμό δεοξυ-ενδιάμεσων μέσω αντίδρασης αφυδάτωσης που ακολουθείται από αντιδράσεις κυκλοποίησης και περαιτέρω αφυδάτωση. Τέλος, οι απώλειες κυρίως των C₁ και C₂ ατόμων άνθρακα, της αλυσίδας των σακχάρων, έχουν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό φουρανίου. **Ο σχηματισμός φουρανίου σε συνθήκες ξηρής θέρμανσης είναι συνήθως πολύ υψηλότερος από ό,τι σε συνθήκες αποστείρωσης υπό πίεση** (Σχήμα 4.).



Σχήμα 4.: Προτεινόμενος μηχανισμός σχηματισμού φουρανίου από εξόζες (Limacher et al., 2008)

Ο σχηματισμός φουρανίου από ασκορβικό οξύ πιστεύεται ότι ξεκινά με το άνοιγμα με υδρόλυση του δακτυλίου του ασκορβικού οξέος και την απομάκρυνση του νερού για να σχηματιστεί 4-δεοξυασκορβικό οξύ. Αυτό το ενδιάμεσο μπορεί να παράγει 2-δεοξυαλδοτετρόζη. Εναλλακτικά, το 4-

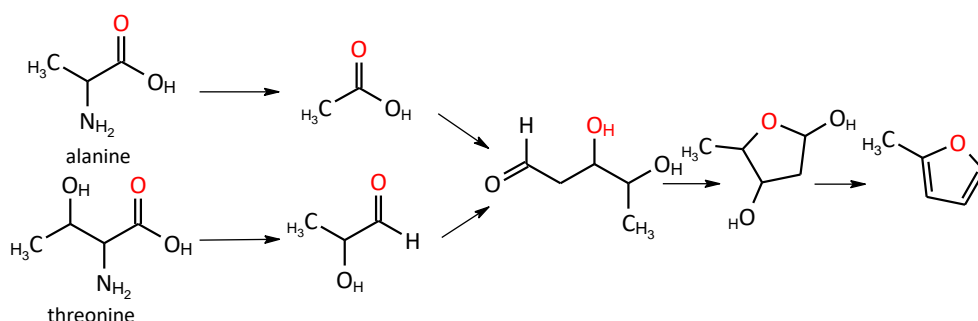
δεοξυασκορβικό οξύ μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό 2-φουρφουράλης η οποία με τη σειρά της είναι πρόδρομος ένωση του Φουρανίου (*Limacher et al., 2007*) (Σχήμα 5.).



Σχήμα 5.: Προτεινόμενη οδός σχηματισμού φουρανίου από ασκορβικό οξύ (προσαρμοσμένη από τους *Limacher et al., 2007*)

Ο σχηματισμός μεθυλοφουρανίων στα τρόφιμα έχει λάβει πολύ λιγότερη προσοχή, αν και πρόσφατα αποδείχθηκε ότι το 2-μεθυλφουράνιο ήταν το κυρίαρχο Φουράνιο στον καφέ (*Becalski et al., 2016*). Κατά συνέπεια, ο σχηματισμός μεθυλοφουρανίων είναι λιγότερο κατανοητός. Για το 2-μεθυλφουράνιο, έχει προταθεί μια οδός που βασίζεται στην αλδολική συμπύκνωση αλδεϋδών *Strecker* (που προέρχεται από θρεονίνη) και της ακεταλδεϋδης - παρόμοια με τη διαδρομή γλυκοαλδεϋδης/ακεταλδεϋδης για το Φουράνιο (*Mark et al., 2006*) (Σχήμα 6.). Πράγματι, καθώς τα μοντέλα συστημάτων χωρίς αμινοξέα παρήγαγαν λίγο ή καθόλου μεθυλοφουράνια (*Mark et al., 2006; Limacher et al., 2008*), η παρουσία αμινοξέων φαίνεται να παίζει βασικό ρόλο στον σχηματισμό τους. Ο *Limacher et al. (2007)*, ανέφερε το σχηματισμό 2-μεθυλφουρανίου από την αποικοδόμηση του ασκορβικού οξέος, αλλά αναγνώρισε ότι ήταν μια μάλλον περιορισμένη οδός αποδόμησης. Ο *Mark et al. (2006)* ανέφερε το σχηματισμό μεθυλοφουρανίου από λινολενικό οξύ παρουσία α-τοκοφερόλης ή/και ιόντων σιδήρου. Με βάση τα ευρήματα των *Adams et al. (2011)*, δείχνοντας σε μοντέλα συστημάτων ότι οι α,β-ακόρεστες αλδεϋδες είναι δυνητικοί πρόδρομοι των αντίστοιχων

αλκυλιωμένων φουρανίων υπό συνθήκες ψησίματος, θα μπορούσε να προταθεί ότι η 2-πεντενάλη μπορεί να είναι μια ανάλογη πρόδρομος ένωση που σχηματίζεται μέσω της οξείδωσης του λινολενικού οξέος. Η οδός σχηματισμού από 2-πεντενάλη προχωρά παρόμοια με τον σχηματισμό φουρανίου που περιγράφεται στο Σχήμα 2., απαιτώντας οξειδωτικές συνθήκες. Ο Adams *et al.* (2011), επιπλέον έδειξε ότι τα αμινοξέα, όπως η φαινυλαλανίνη, καταλύουν το σχηματισμό αλκυλοφουρανίων από τις αντίστοιχες α,β-ακόρεστες αλδεΐδες τους, αν και η επίδραση στο σχηματισμό 2-μεθυλοφουρανίου από την 2-πεντενάλη δεν ήταν σημαντική. Δεν παρατηρήθηκε σχηματισμός μεθυλοφουρανίου από λινελαϊκό οξύ παρουσία ιόντων σιδήρου ή βουτυλιωμένου υδροξυτολουολίου (Mark *et al.*, 2006).



Σχήμα 6.: Προτεινόμενη οδός σχηματισμού 2-μεθυλοφουρανίου (Mark *et al.*, 2006)

3. ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ – ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ

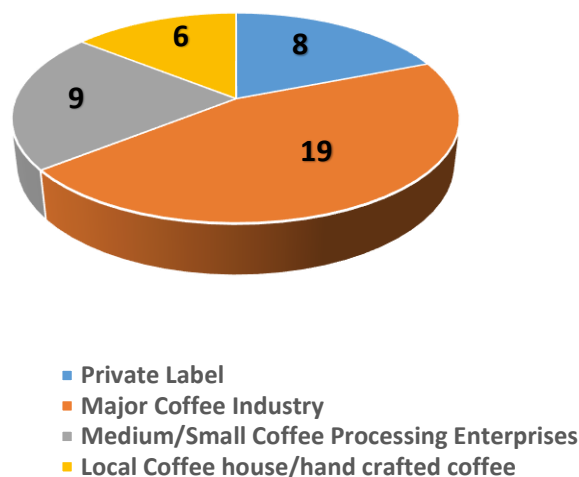
Για την προστασία της δημόσιας υγείας, το άρθρο 2 του κανονισμού (ΕΟΚ) 315/93 ορίζει ότι, όπου είναι απαραίτητο, καθορίζονται μέγιστα όρια για συγκεκριμένους ρύπους. Έτσι, ένας αριθμός μέγιστων ορίων για ρυπαντές τροφίμων, φυτοτοξίνες καθώς και ρυπαντές επεξεργασίας όπως η 3-μονοχλωροπροπάνιο-1,2-διόλη ή οι εστέρες της (3-MCPD & 3-MCPDEs), έχουν θεσπιστεί επί του παρόντος στον κανονισμό της Επιτροπής (ΕΚ) 1881/2006. Το φουράνιο στα τρόφιμα δεν καλύπτεται σήμερα από τον παρόντα κανονισμό της ΕΕ. Η σύσταση 2007/196 της Επιτροπής συνέστησε στα κράτη μέλη να παρακολουθήσουν την παρουσία του φουρανίου, σε τρόφιμα που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία, κατά τη διάρκεια των ετών 2007 και 2008. Τα αποτελέσματα αυτής της παρακολούθησης δημοσιεύθηκαν σε μια έκθεση της EFSA (EFSA Journal, 2011; 9(9):2347) και περιλάμβανε δεδομένα για εμπορικά διαθέσιμα τρόφιμα που δειγματίστηκαν και αναλύθηκαν

χωρίς περαιτέρω προετοιμασία καθώς και για τρόφιμα που αναλύθηκαν μετά από περαιτέρω προετοιμασία στο εργαστήριο (σύμφωνα με τις οδηγίες του αντίστοιχου τρόφιμου).

Τόσο το 2-μεθυλοφουράνιο όσο και το 2,5-διμεθυλοφουράνιο περιλαμβάνονταν στον ενωσιακό κατάλογο αρτυμάτων και πρώτων υλών κατάλληλων για τρόφιμα. Ωστόσο, καταργήθηκαν από τον παραπάνω κατάλογο με τον κανονισμό (ΕΕ) 246/2014 της Επιτροπής, δεδομένου ότι οι αιτήσεις για τη χρήση τους είχαν αποσυρθεί από την βιομηχανία. Η “*The Good Scents Company*” (ένας ιστότοπος που διατηρείται από τη βιομηχανία αρωματικών ουσιών) ανέφερε ότι το 3-μεθυλοφουράνιο δεν προορίζεται για αρωματικές ύλες.

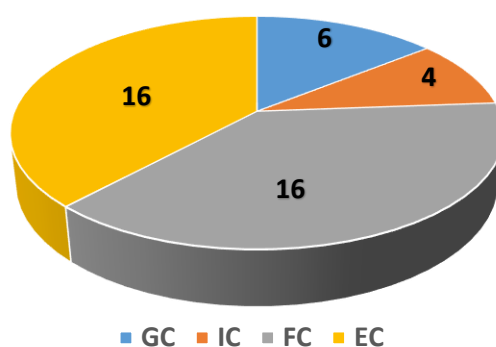
4. Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ – ΑΠΟΤΥΠΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Στα πλαίσια της δειγματοληψίας επιχειρήθηκε μια καταγραφή της εγχώριας αγοράς του καφέ, όπως αυτή αποτυπώνεται στα σημεία λιανικής πώλησής του. Στο πλαίσιο αυτό, δειγματούθησαν **42** συσκευασίες καφέ καλύπτοντας αρχικά όλο το φάσμα της αγοράς του συγκεκριμένου προϊόντος: Πολυεθνικές Εταιρίες Παραγωγής και Διάθεσης, Ιδιωτικές Ετικέτες, Μεσαίες Μονάδες Επεξεργασίας και Συσκευασίας καθώς και πολύ περιορισμένης παραγωγής, μικρές τοπικές επιχειρήσεις (*local coffee house*). Η κατανομή των δειγμάτων φαίνεται στο *Σχήμα 7*.



Σχήμα 7.: Η Κατανομή των δειγμάτων με βάση την Εμπορική τους Προέλευση

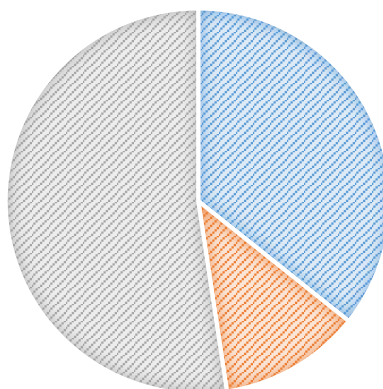
Παράλληλα αποτυπώθηκαν τα διάφορα είδη καφέ που είναι διαθέσιμα στην ελληνική αγορά. Έτσι, δειγματίστηκαν 4 είδη καφέ: καφές τύπου “Εσπρέσο” (*Espresso*, με έμφαση στους καφέδες σε κάψουλα οι οποίοι αντιπροσωπεύουν ένα διαρκώς αυξανόμενο κομμάτι της αγοράς καφέ διεθνώς), καφές Φίλτρου, καφές “Ελληνικός” και Στιγμαίος καφές. Στο *Σχήμα 8*, φαίνεται ο διαμοιρασμός των δειγμάτων ως προς τον Τύπο του καφέ. Επιπλέον, έγινε προσπάθεια να καταγραφούν στη δειγματοληψία οι διαφορετικές ποικιλίες του καφέ, ο βαθμός καβουρδίσματος καθώς και ο βαθμός άλεσης του καφέ. Τα παραπάνω δίνονται αναλυτικά στο *Σχήμα 9*.



Σχήμα 8.: Οι τύποι καφέ που δειγματίστηκαν. Καφές Φίλτρου (FC), Καφές Εσπρέσο (EC), Ελληνικός Καφές (GC) & Στιγμαίος Καφές (IC)

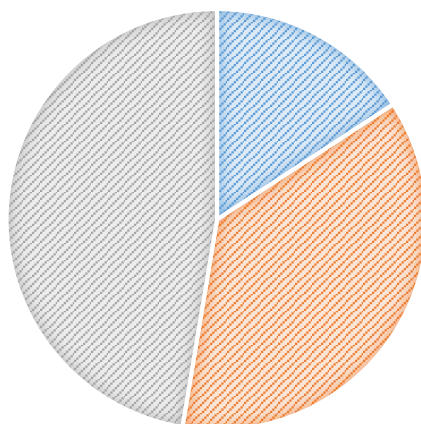
ΟΙ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

■ Arabica ■ Arabica Single Origin ■ Arabica/Robusta



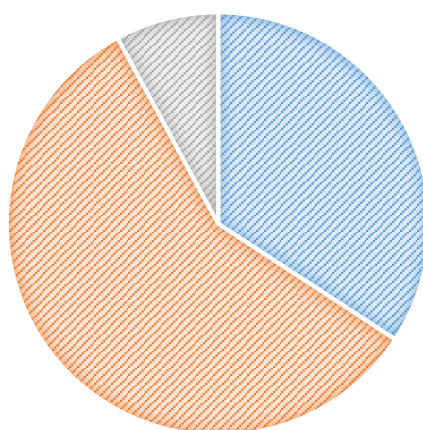
Η ΑΛΕΣΗ

■ F-UF ■ M-MF ■ M



ΤΟ ΚΑΒΟΥΡΔΙΣΜΑ

■ Dark ■ Medium ■ Light



Σχήμα 9.: Η κατανομή των δειγμάτων ως προς την Ποικιλία, τον βαθμό Άλεσης και το βαθμό Καβουρδίσματος

Συνακόλουθα, έγινε προσπάθεια να αποτυπωθεί η επίδραση του τρόπου προετοιμασίας του τελικού παρασκευάσματος (ρόφημα καφέ) στη παρουσία σε αυτό των μελετώμενων ρυπαντών. Ας σημειωθεί εδώ, ότι η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη όπου γίνεται συγκριτική αντιπαράθεση και στατιστική επεξεργασία μεταξύ διαφορετικών “τύπων” καφέ προκειμένου να δοθεί μια απάντηση στο βασικό ερώτημα που αφορά στη παρουσία των Φουρανίων στο καφέ που καταναλώνεται από τον τελικό χρήστη.

Πιο συγκεκριμένα οι “τύποι” Καφέ & οι αντίστοιχοι Τρόποι Παρασκευής που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα εργασία είναι:

I. Στιγμαίος Καφές

I.1. Παρασκευή κρύου ροφήματος (τύπου “φραπέ”)

II. Ελληνικός Καφές

II.1. Παραδοσιακή Παρασκευή ροφήματος (μπρίκι)

III. Καφές Φίλτρου

III.1. Παρασκευή ροφήματος με χρήση “Μηχανής Φίλτρου”

III.2. “Χειροκίνητη Παρασκευή” – *Manual Brewing* – ροφήματος

III.2.1. Παρασκευή με ενστάλαξη ζεστού νερού ($\approx 90^{\circ}\text{C}$, *drip Coffee brewing*, V60)

III.2.2. Παρασκευή με κρύα εκχύλιση (η παρασκευή περιλαμβάνει παραμονή του καφέ για μεγάλο χρονικό διάστημα – τυπικά 10–12 h – σε επαφή με το νερό και σε θερμοκρασία ψύξης – $4-6^{\circ}\text{C}$ – πριν το τελικό φιλτράρισμα – διήθηση – και απομάκρυνση του υπολείμματος του καφέ από το παρασκεύασμα, *Cold Brewing*)

IV. Καφές Εσπρέσο

IV.1. Μηχανή Εσπρέσο (με χρήση προσαρμογέα για τριμμένο & καβουρδισμένο καφέ)

IV.2. Μηχανή Εσπρέσο με κάψουλες (*cartridge delivery system*)

5. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ – ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ

Η μέθοδος ανάλυσης βασίζεται στη τεχνική *ID HS GS-MS* και αποτελεί μια προσαρμογή στο εργαστήριό μας παλαιότερων δημοσιευμένων μεθόδων (*Food Chemistry*, 1990, 38, 802–804;

Food Science and Technology, 2016, 72, 44–54; EURL DTU, 2019, Workshop on Furans Determination).

5.1 Πορεία Ανάλυσης και Στοιχεία Μεθόδου

Ο αναλυτικός προσδιορισμός των αναλυτών – *Furan, 2-MF & 3-MF*, στο εξής αποκαλούμενα ως *Φουράνια* – βασίζεται στη μέθοδο *Standard Addition*. Το δείγμα ομογενοποιείται και διαχωρίζεται σε 7 υποδείγματα (σε γυάλινα φιαλίδια κατάλληλα για τον αυτόματο δειγματολήπτη). Στη περίπτωση της ανάλυσης του επεξεργασμένου καφέ (καφές “ως έχει”) σε κάθε φιαλίδιο ζυγίζονται 0.200 g δείγματος και ακολούθως προστίθενται 5 ml διαλύματος NaCl 5M (θερμοκρασία δια/τος: 4-5°C) και τα εσωτερικά πρότυπα (*iSTDs: d₄-Furan, d₃-2MF*). Αντίστοιχα, για την ανάλυση του παρασκευάσματος καφέ (ρόφημα), αμέσως μετά τη παρασκευή του αραιώνεται με κρύο νερό (1:1, θερμοκρασία H₂O: 4-5°C) και μεταφέρονται άμεσα από αυτό 5 ml σε κάθε ένα από τα φιαλίδια του αυτόματου δειγματολήπτη, ενώ ακολούθως προστίθενται τα εσωτερικά πρότυπα. Η ανάλυση συνεχίζεται με τη προσθήκη των προτύπων (*Furan, 2-MF & 3-MF, Standard Addition scheme*) σύμφωνα με το σχήμα: 3x X₀, 2x X_{1/2}, 1x X₁ και 1x X₂ (όπου X είναι η αναμενόμενη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα). Τέλος, τα δείγματα (7 φιαλίδια για κάθε δείγμα) εισάγονται προς ανάλυση στον αυτόματο δειγματολήπτη, όπου επωάζονται για 20 min/60°C υπό ανακίνηση και λαμβάνονται 500 μl από την υπερκείμενη αέρια φάση (σε ισορροπία με το διάλυμα, *Head Space*) προς έγχυση στην αναλυτική στήλη (*HP Plot Q 15m, 0.32 mm, 20 μm*) του αέριου χρωματογράφου συζευγμένου με Φασματομετρία μάζας (GC-MS). Πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι κατά τη διάρκεια της ανάλυσης ιδιαίτερη μέριμνα πρέπει να ληφθεί ώστε το σύνολο των χρησιμοποιούμενων σκευών (σύριγγες, φιαλίδια) καθώς και τα διαλύματα (πρότυπα και διαλύτες) να βρίσκονται σε χαμηλή θερμοκρασία (≤ 5°C, διατηρούνται κρύα με χρήση πάγου ή ξηρού πάγου). Τα τελικά αποτελέσματα αναλύονται και αξιολογούνται με τη χρήση κατάλληλου λογισμικού. Τα ιόντα που καταγράφονται, οι χαρακτηριστικοί χρόνοι κατακράτησης καθώς και τα στοιχεία επίδοσης της μεθόδου που εφαρμόζεται δίνονται στο Πίνακα 1. Επιπλέον, στο Σχήμα 10, δίνονται χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα των προσδιοριζόμενων αναλυτών.

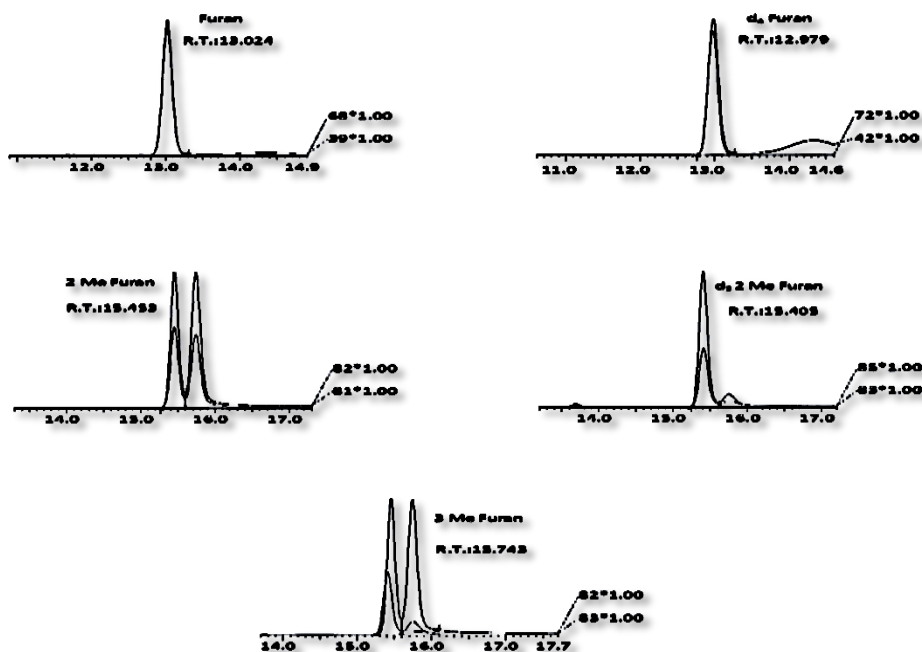
Πίνακας 1.: Τα στοιχεία επίδοσης/δεδομένα επικύρωσης της Μεθόδου για τον προσδιορισμό των Φουρανίων στο καφέ.

| Analytes | Retention Time (min) | Ions (m/z) | Recoveries %, (mean values) ⁽¹⁾ | Uncertainty % ⁽²⁾ | LOD (μgkg ⁻¹) ⁽³⁾ | LOQ (μgkg ⁻¹) ⁽³⁾ |
|----------|-----------------------|------------|--|------------------------------|--|--|
| 1 | Furan | 68 | 100 | 25 | 4.0 | 8.0 |
| | d ₄ -Furan | 72 | | | | |
| 2 | 2-MF | 82 | 100 | 25 | 4.0 | 8.0 |
| | d ₃ -2MF | 85 | | | | |
| 3 | 3-MF | 82 | 100 | 25 | 4.0 | 8.0 |

⁽¹⁾: Οι τιμές αναφέρονται σε πειράματα *Standard Addition*

⁽²⁾: Οι τιμές της Αβεβαιότητας υπολογίστηκαν με βάση τη προσέγγιση U_f στο LOQ (maximum standard uncertainty - as laid down on Regulation (EC) 401/2006).

⁽³⁾: Οι τιμές LOD (Limit of Detection) και LOQ (Limit of Quantification) υπολογίστηκαν με βάση ανάλυση πολλαπλών blank δειγμάτων – blank matrix

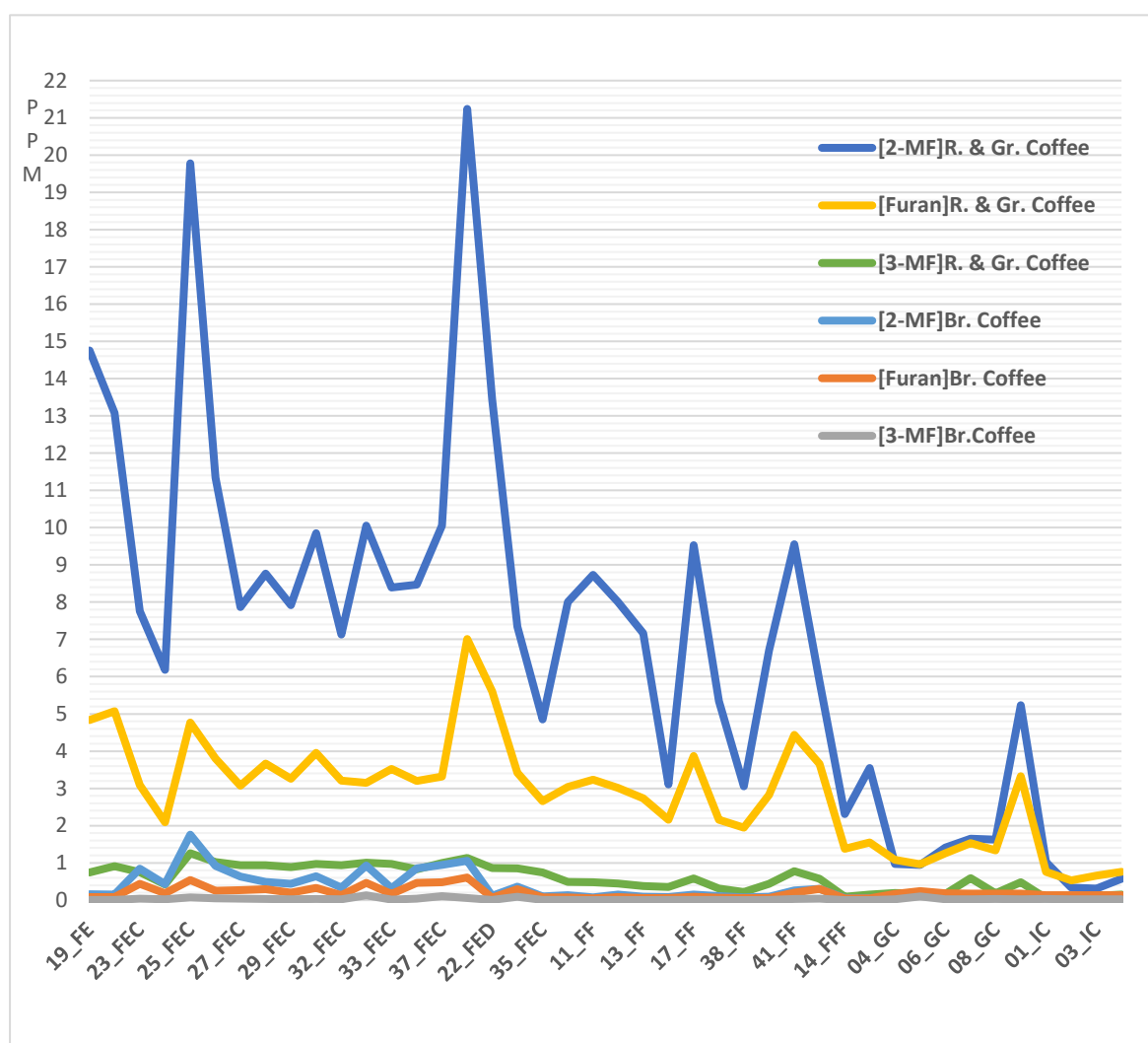


Σχήμα 10.: Χαρακτηριστικά Χρωματογραφήματα (GC-MS)

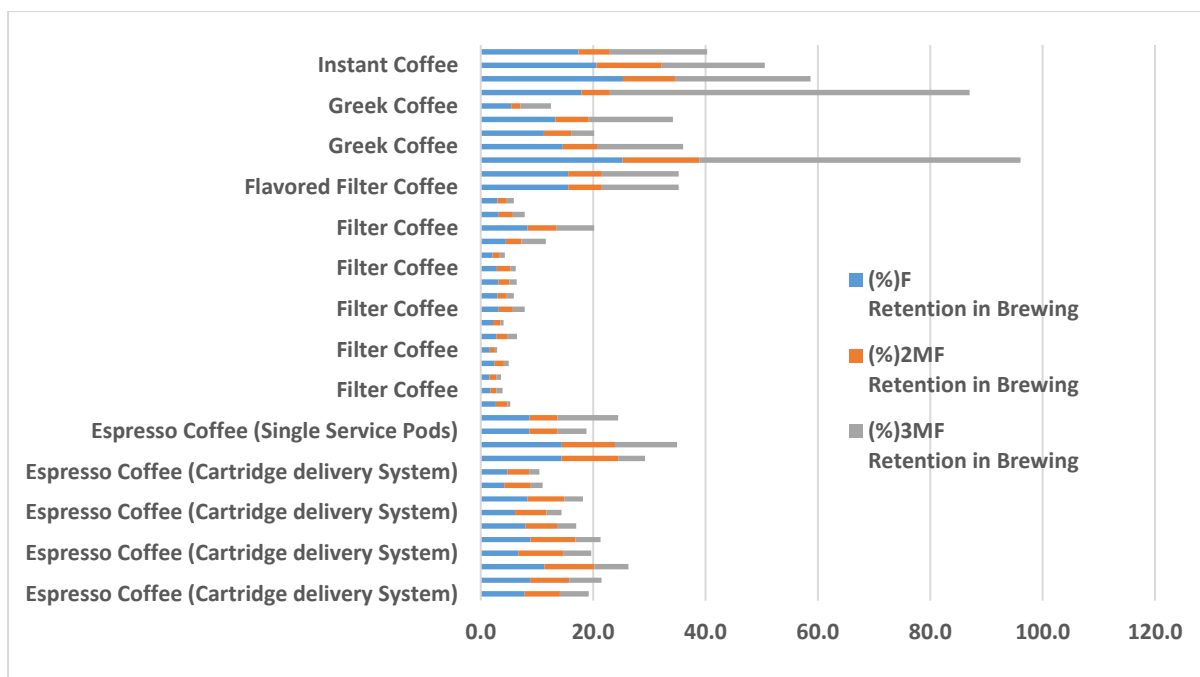
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

6.1. ΠΑΡΑΘΕΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

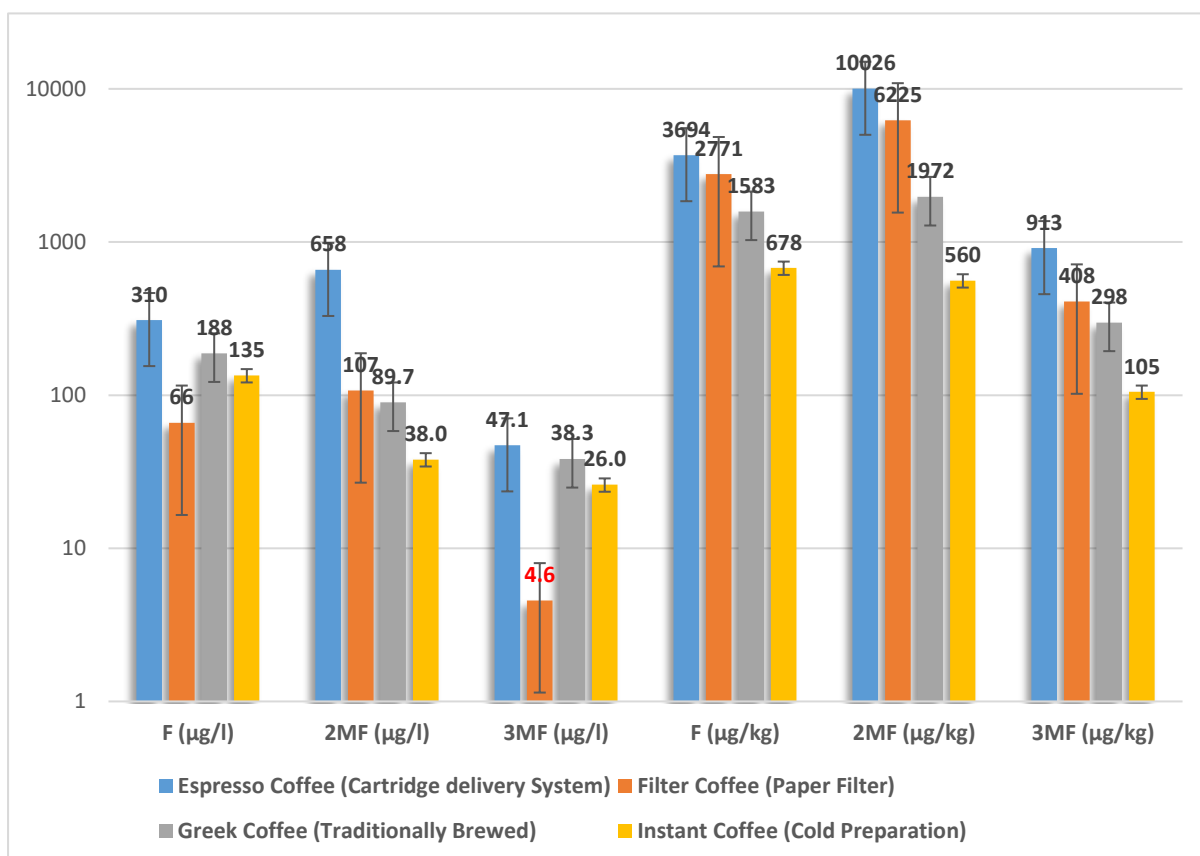
Τα αποτελέσματα από το σύνολο των παραπάνω προσδιορισμών δίνονται στα γραφήματα που ακολουθούν (Σχήματα 11. – 13.), ενώ συγκεντρώνονται αναλυτικά στο Πίνακα 3., όπου διαφάνεται με σαφήνεια η σημαντική ελάττωση της περιεκτικότητας σε Φουράνια των παρασκευασμάτων καφέ (ροφήματα) σε σχέση με τον αντίστοιχο καφέ από τον οποίο παράγονται. Ειδικότερα, η παραλαβή στο ρόφημα των αναλυτών (*cup delivery*) κυμαίνεται από περίπου 2% έως και περίπου 30%, της αρχικής συγκέντρωσης, ανάλογα με το είδος του τελικού παρασκευάσματος. Στο Πίνακα 2. δίνεται η παραλαβή στο τελικό ρόφημα (σε ποσοστά % της αρχικής ποσότητας στον επεξεργασμένο καφέ) για τα διάφορα είδη καφέ.



Σχήμα 11.: Το Προφίλ των Φουρανίων στα μελετώμενα είδη καφέ. Συγκριτική αντιπαράθεση της συγκέντρωσης των αναλυτών στον επεξεργασμένο καφέ (*Roasted & Ground Coffee, R. & Gr.* – καφές “ως έχει”) & στο τελικό παρασκεύασμα (*Brewed Coffee, Br.* - ρόφημα)



Σχήμα 12.: Παραλαβή των Φουρανίων κατά τη διαδικασία παρασκευής του τελικού ροφήματος. Σύγκριση των διαφορετικών τύπων καφέ



Σχήμα 13.: Η παρουσία των Φουρανίων στο καφέ που καταναλώνουμε – Διαφοροποιήσεις ανά είδος καφέ – Παράθεση μέσων τιμών (mean values) και διακυμάνσεων (SD)

Πίνακας 2.: Η παραλαβή των αναλυτών στο τελικό ρόφημα για τα είδη καφέ που μελετήθηκαν – Μέσος όρος % ποσοστών κατακράτησης αναλυτών στο παρασκεύασμα του καφέ σε σχέση με την αρχική περιεκτικότητα του επεξεργασμένου καφέ από τον οποίο προέκυψαν.

| Είδος | (%) F (Retention in Brewing) | (%) 2-MF (Retention in Brewing) | (%) 3-MF (Retention in Brewing) |
|--|---|--|--|
| Espresso Coffee (Cartridge delivery System) | 8.3 | 6.4 | 4.8 |
| Filter Coffee (Paper Filter) | 3.8 | 2.2 | 2.5 |
| Greek Coffee (Traditionally Brewed) | 14 | 6.4 | 18 |
| Instant Coffee (Cold Preparation) | 20 | 7.9 | 31 |

Πίνακας 3.: Αναλυτική παράθεση αποτελεσμάτων για το προσδιορισμό Φουρανίων σε δείγματα καφέ – Παρατίθενται τα επίπεδα συγκέντρωσης των αναλυτών στον επεξεργασμένο καφέ (μg/kg)⁽¹⁾ & στο τελικό παρασκεύασμα (μg/L)⁽²⁾.

| | Είδος Καφέ | Ταυτότητα Δείγματος | [Furan] ⁽¹⁾ μg/kg | [2-MF] ⁽¹⁾ μg/kg | [3-MF] ⁽¹⁾ μg/kg | [Furan] ⁽²⁾ μg/L | [2-MF] ⁽²⁾ μg/L | [3-MF] ⁽²⁾ μg/L |
|----|------------------------------------|---------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1 | Espresso Coffee | 19_FE | 4839 | 14752 | 745 | 84 | 162 | 8 ⁽⁴⁾ |
| 2 | Espresso Coffee | 21_FE | 5070 | 13080 | 910 | 80 | 150 | 8 ⁽⁴⁾ |
| 3 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 23_FEC | 3090 | 7760 | 750 | 438 | 848 | 44 |
| 4 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 24_FEC | 2090 | 6180 | 420 | 184 | 430 | 24 |
| 5 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 25_FEC | 4770 | 19780 | 1260 | 542 | 1758 | 76 |
| 6 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 26_FEC | 3800 | 11340 | 1020 | 254 | 918 | 50 |
| 7 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 27_FEC | 3070 | 7870 | 940 | 272 | 630 | 42 |
| 8 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 28_FEC | 3670 | 8770 | 940 | 294 | 490 | 32 |
| 9 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 29_FEC | 3260 | 7920 | 890 | 200 | 440 | 24 |
| 10 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 31_FEC | 3950 | 9850 | 970 | 330 | 644 | 32 |
| 11 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 32_FEC | 3210 | 7130 | 940 | 134 | 336 | 20 |
| 12 | Espresso Coffee (Al. Capsules) | 36_FEC | 3150 | 10050 | 1010 | 466 | 926 | 130 |
| 13 | Espresso Coffee (Plastic Capsules) | 33_FEC | 3520 | 8390 | 970 | 168 | 322 | 18 |
| 14 | Espresso Coffee (Plastic Capsules) | 34_FEC | 3200 | 8470 | 830 | 460 | 852 | 40 |
| 15 | Espresso Coffee (Plastic Capsules) | 37_FEC | 3320 | 10050 | 1000 | 480 | 950 | 110 |
| 16 | Espresso Coffee (Pods) | 20_FEP | 7010 | 21240 | 1130 | 608 | 1060 | 58 |
| 17 | Espresso Coffee Decaf | 22_FED | 5610 | 13450 | 860 | 66 | 114 | 4 ⁽³⁾ |
| 18 | Espresso Coffee Decaf (Al. Caps.) | 30_FEC | 3420 | 7340 | 850 | 296 | 366 | 92 |
| 19 | Espresso Coffee Decaf (Al. Caps.) | 35_FEC | 2660 | 4850 | 740 | 72 | 98 | 4 ⁽³⁾ |
| 20 | Filter Coffee | 10_FF | 3040 | 8000 | 490 | 74 | 136 | 4 ⁽³⁾ |
| 21 | Filter Coffee | 11_FF | 3235 | 8730 | 483 | 52 | 78 | 2 ⁽³⁾ |
| 22 | Filter Coffee | 12_FF | 3015 | 8000 | 450 | 84 | 152 | 8 ⁽⁴⁾ |
| 23 | Filter Coffee | 13_FF | 2738 | 7163 | 375 | 60 | 94 | 2 ⁽³⁾ |
| 24 | Filter Coffee | 16_FF | 2156 | 3106 | 354 | 60 | 82 | 4 ⁽³⁾ |
| 25 | Filter Coffee | 17_FF | 3873 | 9531 | 583 | 92 | 150 | 10 |
| 26 | Filter Coffee | 18_FF | 2159 | 5346 | 314 | 68 | 104 | 4 ⁽³⁾ |
| 27 | Filter Coffee | 38_FF | 1950 | 3060 | 220 | 56 | 74 | 2 ⁽³⁾ |
| 28 | Filter Coffee | 39_FF | 2830 | 6710 | 440 | 58 | 90 | 4 ⁽³⁾ |
| 29 | Filter Coffee | 41_FF | 4440 | 9550 | 780 | 198 | 264 | 34 |
| 30 | Filter Coffee | 42_FF | 3660 | 5870 | 570 | 306 | 304 | 38 |

| | | | | | | | | |
|----|-------------------------|--------|------|------|-----|-----|-----|------------------|
| 31 | Flavoured Filter Coffee | 14_FFF | 1383 | 2310 | 95 | 44 | 58 | 2 ⁽³⁾ |
| 32 | Flavoured Filter Coffee | 15_FFF | 1548 | 3550 | 153 | 46 | 58 | 2 ⁽³⁾ |
| 33 | Greek Coffee | 04_GC | 1079 | 973 | 190 | 168 | 58 | 26 |
| 34 | Greek Coffee | 05_GC | 966 | 950 | 175 | 244 | 130 | 100 |
| 35 | Greek Coffee | 06_GC | 1260 | 1410 | 170 | 184 | 86 | 26 |
| 36 | Greek Coffee | 07_GC | 1530 | 1646 | 587 | 172 | 80 | 24 |
| 37 | Greek Coffee | 08_GC | 1338 | 1621 | 187 | 178 | 96 | 28 |
| 38 | Greek Coffee | 09_GC | 3327 | 5234 | 480 | 180 | 88 | 26 |
| 39 | Instant Coffee | 01_IC | 760 | 1020 | 50 | 136 | 52 | 32 |
| 40 | Instant Coffee | 02_IC | 530 | 340 | 100 | 134 | 32 | 24 |
| 41 | Instant Coffee | 03_IC | 660 | 310 | 120 | 136 | 36 | 22 |
| 42 | Instant Coffee | 40_IC | 760 | 570 | 150 | 132 | 32 | 26 |

⁽¹⁾: Οι τιμές αναφέρονται σε προσδιορισμό στον επεξεργασμένο καφέ όπως αγοράστηκε από τα σημεία λιανικής πώλησης – καφές “ως έχει” – πριν τη παρασκευή του αντίστοιχου ροφήματος (εκφράζονται σε μg/kg).

⁽²⁾: Οι τιμές αναφέρονται στο τελικό παρασκεύασμα – ρόφημα – αμέσως μετά τη παρασκευή του (εκφράζονται σε μg/L).

⁽³⁾: Τιμές \leq LOD (Όριο Ανίχνευσης) της Μεθόδου.

⁽⁴⁾: Τιμές \leq LOQ (Όριο Ποσοτικού Προσδιορισμού) της Μεθόδου.

6.2. Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΡΟΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΡΟΦΗΜΑΤΟΣ

Επιπρόσθετα έγινε προσπάθεια αποτύπωσης στα αναλυτικά δεδομένα της επίδρασης του τρόπου παρασκευής του τελικού ροφήματος στην παρουσία των ρυπαντών. Για το λόγο αυτό επιλέχθηκαν δύο είδη καφέ (καφές “Φίλτρου” και “Εσπρέσο”) και παρασκευάστηκαν ροφήματα με διαφορετικές μεθόδους: Μηχανή Εσπρέσο (*Espresso Coffee maker*), Μηχανή Φίλτρου (*drip Coffee maker*), Ζεστή χειροκίνητη εκχύλιση (*drip Coffee brewing – V60*) και Κρύα εκχύλιση (*cold brewing*).

Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την αναμενόμενη (και καταγεγραμμένη βιβλιογραφικά) συσχέτιση. Ωστόσο, είναι η πρώτη φορά που αυτό καταγράφεται με σαφήνεια με τη παρασκευή διαφορετικών ροφημάτων από το ίδιο δείγμα καφέ και επιπλέον στη συγκριτική αυτή αντιπαράθεση εντάσσονται δύο σχετικά νέοι τρόποι παρασκευής που κερδίζουν διαρκώς έδαφος τα τελευταία χρόνια (Ζεστή χειροκίνητη εκχύλιση & Κρύα εκχύλιση). Τα αποτελέσματα παρατίθενται αναλυτικά στο Σχήμα 14.

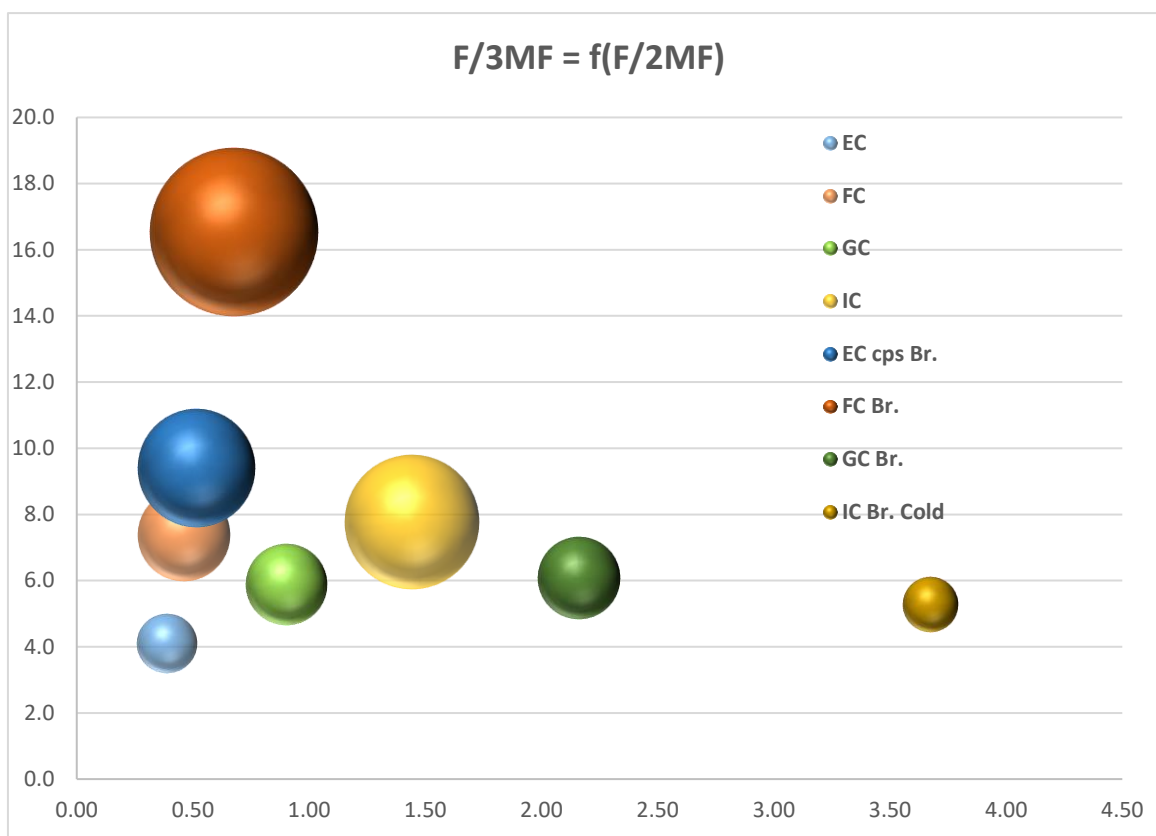


Σχήμα 14.: Η επίδραση του τρόπου παρασκευής του ροφήματος στη περιεκτικότητα σε Φουράνια - Συγκριτική αντιπαράθεση της επίδρασης του τρόπου παρασκευής σε δύο διαφορετικά δείγματα επεξεργασμένου καφέ (Καφές Εσπρέσο – πράσινο χρώμα, Καφές Φίλτρου – κίτρινο χρώμα)

Από τα παραπάνω αποτελέσματα (Σχήμα 14.) γίνονται σαφείς αφενός η μεγαλύτερη επιβάρυνση του καφέ Εσπρέσο σε σχέση με το καφέ Φίλτρου, ως προς τη περιεκτικότητα στους θεωρούμενους ρυπαντές, και αφετέρου ότι η παρουσία του φίλτρου ή/και το “ανοιχτό σύστημα εκχύλισης” για το καφέ Φίλτρου (σε αντίθεση με το ερμητικά κλειστό σύστημα της μηχανής Εσπρέσο) συντελεί στην ελάττωση της συγκέντρωσης των αναλυτών στο τελικό ρόφημα. Παράλληλα, οι “νέοι” τρόποι εκχύλισης που εξετάζονται φαίνεται να οδηγούν σε μεγαλύτερη επιβάρυνση (σαφώς μικρότερη από τη περίπτωση του Εσπρέσο) του τελικού ροφήματος. Σημειώνεται, ότι η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που καταγράφει με σαφήνεια τη τάση αυτή, ενώ υπογραμμίζεται η ανάγκη για περαιτέρω μελέτη της παραπάνω συμπεριφοράς (περισσότερα πειράματα σε διαφορετικά είδη καφέ και συνθήκες εκχύλισης).

Παράλληλα είναι η πρώτη φορά που καταγράφεται η περίπτωση του Ελληνικού καφέ καθώς και η περίπτωση του κρύου παρασκευάσματος στιγμιαίου καφέ (καφές τύπου “Φραπέ”) αναφορικά με τη περιεκτικότητα τους στο σύνολο των μελετώμενων Φουρανίων.

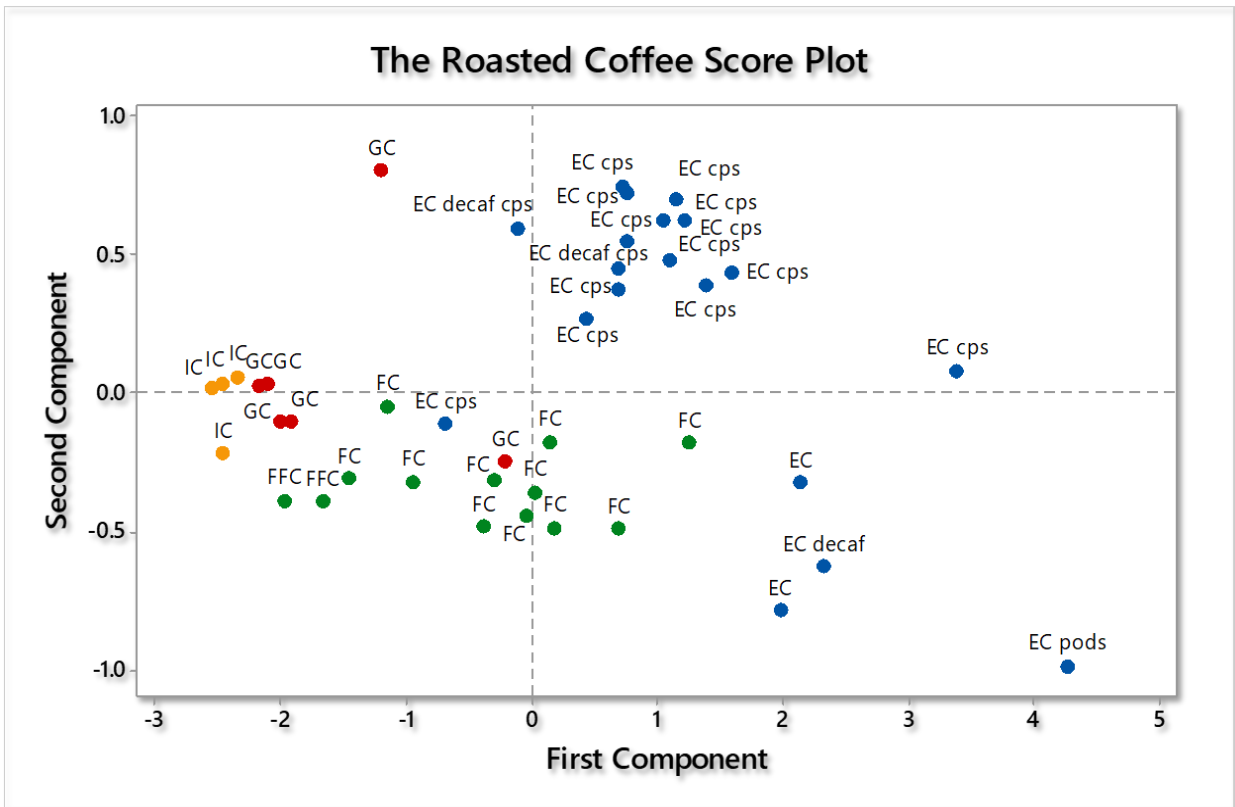
Ακολούθως, γίνεται μια προσπάθεια να εκτιμηθούν και να αξιολογηθούν δύο χαρακτηριστικοί λόγοι καθώς και η συσχέτισή τους στα μελετώμενα δείγματα, οι λόγοι των συγκεντρώσεων **[F]/[3MF]** & **[F]/[2MF]**. Οι παραπάνω λόγοι αποτυπώνουν το χαρακτηριστικό προφίλ των αναλυτών στα δείγματα και παράλληλα λειτουργούν (όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα που παρατίθενται) ως χαρακτηριστικό “αποτύπωμα” για το κάθε είδος καφέ. Στο Σχήμα 15. δίνεται το χαρακτηριστικό γράφημα συσχέτισης των παραπάνω λόγων για τα δείγματα που αναλύθηκαν στη παρούσα μελέτη.



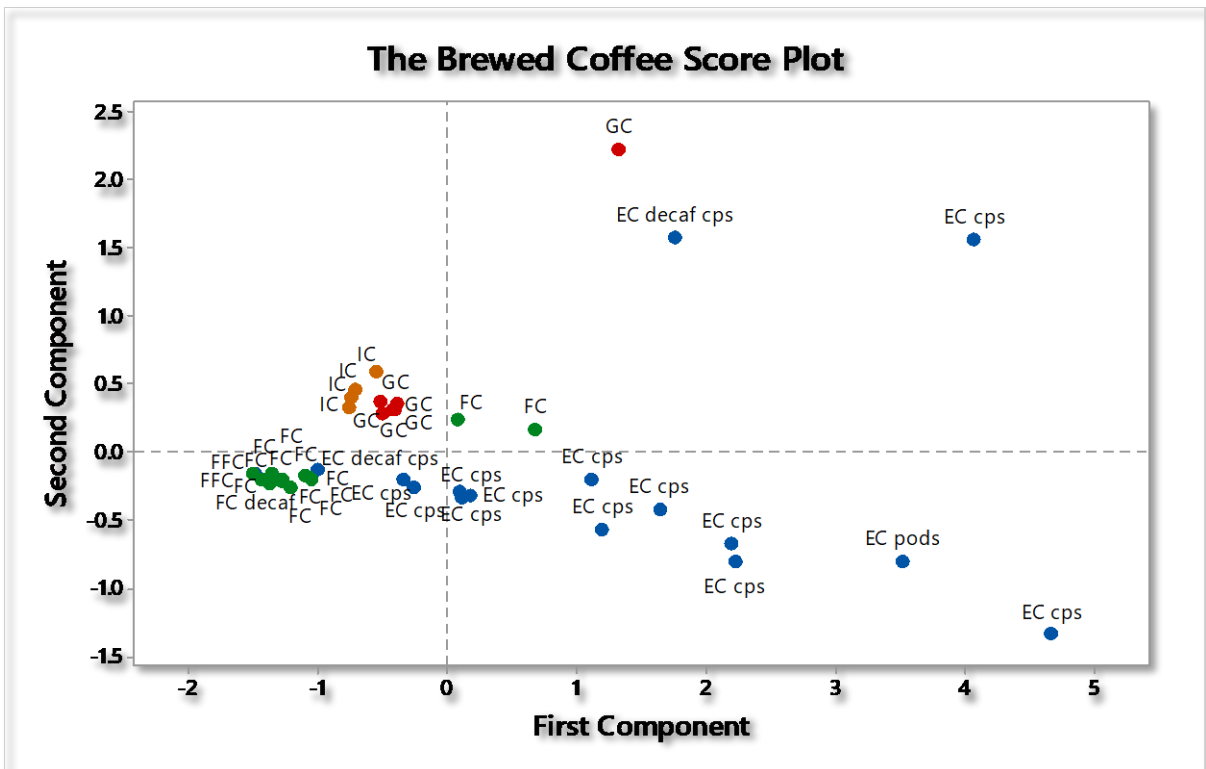
Σχήμα 15.: Ο λόγος $[F]/[3MF]$ ως συνάρτηση του $[F]/[2MF]$ για το σύνολο των μελετώμενων δειγμάτων καφέ, παρατίθενται τα μεγέθη για τον επεξεργασμένο καφέ (EC, FC, GC & IC) & για τα τελικά παρασκευάσματα καφέ (EC cps Br., FC Br., GC Br. & IC Br. Cold) – Αποδίδονται οι μέσες τιμές των μεγεθών (*mean values*) ενώ η διάμετρος των απεικονιζομένων σφαιρών αντιστοιχεί στο μέγεθος της Τυπικής Απόκλισης (*SD*) του αντίστοιχου πληθυσμού προσδιορισμών.

6.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ – ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΣΥΝΙΣΤΩΣΩΝ (PRINCIPAL COMPONENTS ANALYSIS)

Στο πλαίσιο αυτό και στη προσπάθεια να διερευνηθεί περαιτέρω η στατιστική συσχέτιση των παραπάνω δειγμάτων (σε σχέση με τη παρουσία των προσδιοριζόμενων αναλυτών) πραγματοποιήθηκε μια Πολυπαραμετρική Ανάλυση - Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (*Multivariate – PCA Analysis*) και τα αποτελέσματα παρατίθενται στα ακόλουθα γραφήματα (*Score Plots*) τόσο για τον επεξεργασμένο καφέ (Σχήμα 16.) όσο και για το τελικό ρόφημα (Σχήμα 17.).



Σχήμα 16.: Το γράφημα – Score Plot – για τον επεξεργασμένο καφέ – PC₂ vs PC₁



Σχήμα 17.: Το γράφημα – Score Plot – για το παρασκευασμένο ρόφημα καφέ – PC₂ vs PC₁

Η Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών (*Principal Components Analysis, PCA*) – όπως αποδίδεται γραφικά και από τα παραπάνω γραφήματα, *Σχήμα 16. & 17.* – οδηγεί στο συμπέρασμα της ύπαρξης στατιστικά διακεκριμένων γεωμετρικών τόπων (ως προς τις συγκεντρώσεις των προσδιοριζόμενων αναλυτών) για τα δείγματα που μελετήθηκαν, ανάλογα με το είδος τους. Έτσι, μπορούμε να διακρίνουμε το είδος του καφέ (καθώς και εκείνο του αντίστοιχου ροφήματος) από το συνδυασμό των τιμών των συγκεντρώσεων των προσδιοριζόμενων Φουρανίων ([F],[2MF] & [3MF]). Γεγονός, που με τη σειρά του, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τόσο ο τρόπος επεξεργασίας του καφέ (συλλογή-παραγωγή, καβούρδισμα και βαθμός άλεσης) όσο και ο τρόπος παρασκευής του ροφήματος (Εσπρέσο, Φίλτρου, Ελληνικός ή Στιγμιαίος) αποδίδουν στο προϊόν ένα χαρακτηριστικό “αποτύπωμα” αναφορικά με τους μελετώμενους ρυπαντές.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη προσπάθεια **συγκριτικής αντιπαράθεσης διαφορετικών “τύπων” καφέ καθώς και των διαδικασιών παρασκευής του τελικού ροφήματος σε σχέση με τη παρουσία Φουρανίων**, για την ελληνική αγορά.
 - Τα πρώτα καταγεγραμμένα/δημοσιευμένα δεδομένα και συγκριτική ανάλυση για τον **Ελληνικό καφέ** καθώς και για τη περίπτωση του **κρύου παρασκευάσματος Στιγμιαίου καφέ** (καφές τύπου “Φραπέ”)
 - Τα πρώτα πειραματικά δεδομένα για την **επίδραση του τρόπου παρασκευής (*brewing effect*)** στη τελική περιεκτικότητα των Φουρανίων στο ρόφημα του καφέ
 - Παρουσιάζονται τα πρώτα **πειραματικά δεδομένα** για τη συμπεριφορά της **“χειροκίνητης εκχύλισης” (*manual brewing*)** στο προφίλ των Φουρανίων στο ρόφημα του καφέ
- **Υψηλή περιεκτικότητα σε Φουράνια ανιχνεύθηκε σε όλα τα δείγματα** επεξεργασμένου καφέ που εξετάστηκαν (καταγράφηκαν τιμές **έως και 20 mg/kg**). Αποτέλεσμα που βρίσκεται σε απόλυτη συμφωνία με τη διεθνή βιβλιογραφία.
- Η παρουσία στο **τελικό παρασκεύασμα** (ρόφημα) των αναλυτών προσδιορίζεται σε **σημαντικά χαμηλότερες τιμές** σε σύγκριση με την περιεκτικότητα στον **αντίστοιχο επεξεργασμένο καφέ** (οι προσδιοριζόμενες τιμές των αναλυτών διαμορφώνονται, γενικά, **σε επίπεδα μικρότερα του 1.0 mg/L**).
 - Η αναλογία των συγκεντρώσεων των αναλυτών στον επεξεργασμένο καφέ προς εκείνων στο αντίστοιχο ρόφημα διαμορφώνεται στη περιοχή **x10 – x60**, ανάλογα με το τρόπο παρασκευής και το είδος του καφέ.
- Από τα μελετώμενα παρασκευάσματα καφέ (ροφήματα) **η κατάταξη σε αύξουσα σειρά**, ως προς τη μέση τιμή των προσδιοριζόμενων αναλυτών, είναι:
 - **Καφές Φίλτρου (FC)**
 - **Στιγμιαίος Καφές (IC - κρύο παρασκεύασμα)**
 - **Ελληνικός Καφές (GC)**
 - **Καφές Εσπρέσο (EC - σύστημα με κάψουλες)**

- Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων ανέδειξε **ένα κοινό “μοτίβο” στη συγκέντρωση των Φουρανίων** για διαφορετικούς τύπους επεξεργασμένου καφέ και παρασκευάσματα
 - **Η διαφορά στον “τύπο” του καφέ** καθώς και **στο τρόπο παρασκευής του τελικού ροφήματος** οδηγεί σε ένα διαφορετικό **“αποτύπωμα” αναλυτών**

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Adams A, Bouckaert C, Van Lancker F, De Meulenaer B and De Kimpe N, 2011. Amino acid catalysis of 2-alkylfuran formation from lipid oxidation-derived alpha, beta-unsaturated aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 11058–11062. <https://doi.org/10.1021/jf202448v>
- Becalski A, Halldorson T, Hayward S and Roscoe V, 2016. Furan, 2-methylfuran and 3-methylfuran in coffee on the Canadian market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.006>
- EFSA (European Food Safety Authority), 2017. Risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food. *EFSA Journal* 2017; 15(10):5005. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5005>
- EFSA (European Food Safety Authority), 2011. Use of the EFSA Comprehensive European Food Consumption Database in Intakes Assessment. *EFSA Journal* 2011; 9(3):2097, 34 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2097>
- EFSA (European Food Safety Authority), 2011. Update on furan levels in food from monitoring years 2004-2010 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 2011; 9(9):2347, 33 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2347>
- EFSA (European Food Safety Authority), 2010. Update of results on the monitoring of furan levels in food. *EFSA Journal* 2010; 8(7):1702, 18 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1702>
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization), 2011. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Rome Feb 2010: Furan. Technical Report Series 959/Food Additives Series 63 (2011). Available online: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=5884>
- FDA (US Food and Drug Administration), 2004. Furan in Food, Thermal Treatment; Request for Data and Information. *Federal Register* Vol. 69 No 90 (2004) 25911. Available online: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2004-05-10/pdf/04-10588.pdf>
- FDA (US Food and Drug Administration), 2004. Determination of furan in foods. Available online: http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/4045b2_10_furan%20method.pdf

- Limacher A, Kerler J, Conde-Petit B and Blank I, 2007. Formation of furan and methylfuran from ascorbic acid in model systems and food. *Food Additives and Contaminants*, 24, 122–135. <https://doi.org/10.1080/02652030701393112>
- Limacher A, Kerler J, Davidek T, Schmalzried F and Blank I, 2008. Formation of furan and methylfuran by Maillardtype reactions in model systems and food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3639–3647. <https://doi.org/10.1021/jf800268t>
- Mark J, Pollien P, Lindinger C, Blank I and Mark T, 2006. Quantitation of furan and methylfuran formed in different precursor systems by proton transfer reaction mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2786–2793. <https://doi.org/10.1021/jf052937v>
- Owczarek-Fendor A, De Meulenaer B, Scholl G, Adams A, Van Lancker F, Yogendrarajah P, Uytterhoeven V, Eppe G, De Pauw E, Scippo ML and De Kimpe N, 2010. Importance of fat oxidation in starch-based emulsions in the generation of the process contaminant furan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9579–9586. <https://doi.org/10.1021/jf101671u>
- Perez Locas C and Yaylayan VA, 2004. Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan - a food toxicant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6830–6836. <https://doi.org/10.1021/jf0490403>
- Shen MY, Liu Q, Jia HB, Jiang YJ, Nie SP, Xie JH, Li C and Xie MY, 2016. Simultaneous determination of furan and 2-alkylfurans in heat-processed foods by automated static headspace gas chromatography-mass spectrometry. *LWT-Food Science and Technology*, 72, 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.030>
- Shimoda M and Shibamoto T, 1990. Isolation and identification of headspace volatiles from brewed coffee with an on-column GC MS method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 802–804. <https://doi.org/10.1021/jf00093a045>
- Waizenegger J, Winkler G, Kuballa T, Ruge W, Kersting M, Alexy U and Lachenmeier DW, 2012. Analysis and risk assessment of furan in coffee products targeted to adolescents. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 29, 19–28. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.617012>