

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΖΥΜΩΣΗΣ ΑΠΟ ΟΣΠΡΙΑ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ

ΕΛΕΝΗΣ Ι. ΚΑΠΟΛΟΥ

(AM 215089)



Αθήνα, Σεπτέμβριος 2020

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΖΥΜΩΣΗΣ ΑΠΟ ΟΣΠΡΙΑ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΗΣ

ΕΛΕΝΗΣ Ι. ΚΑΠΟΛΟΥ

(ΑΜ 215089)

τριμελής εξεταστική επιτροπή

Μπόσκου Γ., Αναπληρωτής Καθηγητής (επιβλέπων)

Κυριακού Μ., Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Νομικός Τ., Αναπληρωτής Καθηγητής

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2020

Εγώ, η **Ελένη Ι. Καπόλου**, βεβαιώνω υπεύθυνα ότι:

1 Είμαι η κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία σου δεν συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.

2 Αποδέχομαι ότι η ΒΚΠ μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας σου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Σε όσους με οδηγούν όλο και πιο κοντά

στον αληθινό μου εαυτό

- Το προϊόν Holi Bean που προέκυψε από αυτή την εργασία διακρίθηκε με το 3ο Βραβείο στο διαγωνισμό καινοτομίας του ΣΕΒΤ ECOTROPHELIA 2019
- Μέρος της εργασίας αυτή παρουσιάστηκε στην Επιστημονική Ημερίδα της ΠΕΤΕΤ “Τεχνολογίες και καινοτομίες στην παραγωγή και συσκευασία τροφίμων & ποτών” στις 12/10/19 στο πλαίσιο της FOODTECH 2019
- Καπόλου Ε, Παρασκευουλάκου Ε, Μπαλντζή Β, Καραγιάννης Σ, Μπόσκου Γ (2019). Holi Bean: καινοτόμο βιολειτουργικό προϊόν από ζυμωμένα φασολιά και ελαιόλαδο, με οφέλη στην καρδιαγγειακή και γαστρεντερική υγεία των καταναλωτών. 15ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής & Διαιτολογίας, Δεκέμβριος 2019, Αθήνα, πόστερ AA28.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σύμφωνα με πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα, το εντερικό μικροβίωμα παίζει σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη υγεία και επηρεάζει την ανάπτυξη χρόνιων νοσημάτων, από παχυσαρκία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 μέχρι γαστρεντερικές δυσλειτουργίες. Τα ζυμωμένα τρόφιμα αποτελούν, αφενός, πηγές προβιοτικών οργανισμών, προάγοντας την γαστρεντερική υγεία και την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιόκοσμου, και αφετέρου είναι πιο πλούσια σε θρεπτικά και βιοενεργά συστατικά, συγκρινόμενα με τα αντίστοιχα μη ζυμωμένα προϊόντα (πρώτες ύλες). Τα όσπρια είναι εξαιρετικές πηγές διαιτητικών ινών (πρεβιοτικών), αλλά και γενικότερα μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών καθώς και φυτοχημικών ουσιών, ενώ η βιοδιαθεσιμότητα των παραπάνω στοιχείων ενισχύεται σημαντικά με την διαδικασία της ζύμωσης. Ζυμωμένα προϊόντα με υπόστρωμα όσπρια παράγονται και καταναλώνονται παραδοσιακά στις ασιατικές χώρες, αλλά έχουν γίνει ιδιαίτερα δημοφιλή παγκοσμίως στις μέρες μας. Στην παρούσα εργασία επιχειρείται μια ανασκόπηση προϊόντων ζύμωσης οσπρίων και των λειτουργικών ιδιοτήτων αυτών. Ακολουθώς, πραγματοποιείται αναφορά στην παραγωγική διαδικασία και τις λειτουργικές ιδιότητες του προϊόντος Holí Bean, μίας πάστας από ζυμωμένα λευκά φασόλια και ελαιόλαδο, με οφέλη στην καρδιαγγειακή και γαστρεντερική υγεία των καταναλωτών, που παρουσιάστηκε και βραβεύτηκε στον Εθνικό Πανεπιστημιακό Διαγωνισμό του Συνδέσμου Ελληνικών Βιομηχανιών Τροφίμων, “Ecotrophelia 2019”. Η ιδέα για την ανάπτυξη του συγκεκριμένου προϊόντος αποδίδεται στην συγγραφέα της εργασίας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Όσπρια, ζύμωση, λειτουργικές ιδιότητες, ναττοκινάση, Holí Bean

ABSTRACT

FUNCTIONAL PROPERTIES OF FERMENTED PRODUCTS FROM PULSES

by Kapolou I. Eleni

According to recent scientific data, the intestinal microbiome plays an important role in human health and affects the development of chronic diseases, from obesity and type 2 diabetes to gastrointestinal disorders. Fermented foods are, on the one hand, sources of probiotics, promoting gastrointestinal health and the growth of the intestinal microbiome, and, on the other hand, richer in nutrients and bioactive components, compared to the corresponding non-fermented products (raw materials). Legumes are excellent sources of dietary fiber (prebiotics), but are also rich in macronutrients and micronutrients as well as phytochemicals, while the bioavailability of the above elements is significantly enhanced by the fermentation process. Fermented legume-based products are traditionally produced and consumed in Asian countries, but have become very popular worldwide, nowadays. In the present work, a review of legume-based fermented products and their functional properties is attempted. Next, reference is made to the production process and functional properties of the product Holi Bean, a paste of fermented white beans and olive oil, with benefits to the cardiovascular and gastrointestinal health of consumers, which was presented and awarded at the National University Competition of the Federation of Hellenic Food Industries, Ecotrophelia 2019 ". The idea for the development of this novel food product is attributed to the author of the work.

KEY WORDS: legumes, fermentation, functional properties, nattokinase, Holi Bean,

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα, καταρχάς, να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή μου, κο Μπόσκου Γεώργιο, για την άριστη συνεργασία και καθοδήγηση, τόσο στη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας, όσο και στη διαδικασία συμμετοχής της ομάδας μας στον διαγωνισμό Ecotrophelia 2019 (ανάπτυξη προϊόντος, προετοιμασία φακέλου, ημέρα Διαγωνισμού κλπ). Χωρίς αυτόν, το εγχείρημα Holi Bean δεν θα είχε υλοποιηθεί, ούτε θα είχε λάβει τρίτο βραβείο καινοτομίας και τον ευχαριστώ θερμά γι' αυτό.

Θα ήθελα, ακόμα, να ευχαριστήσω τους καθηγητές κα Κυριακού Μαντώ και κο Νομικό Τζώρτζη, μέλη της εξεταστικής επιτροπής της παρούσας εργασίας, για την διαθεσιμότητά τους, την διάθεση συνεργασίας και την αρωγή και καθοδήγηση στη διάρκεια ανάπτυξης του προϊόντος, για την διερεύνηση τόσο της μικροβιολογικής ασφάλειας όσο και των λειτουργικών ιδιοτήτων του προϊόντος Holi Bean (κυρίως με αναφορά στο καρδιαγγειακό σύστημα).

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συμφοιτήτριές μου, Παρασκευουλάκου Ευτυχία και Μπάλντζη Βικτώρια, καθώς και τον συνεργάτη μου Σταύρο Καραγιάνη, για την ομαδική εργασία και την πολύτιμη συνδρομή τους στην περάτωση του εγχειρήματος Holi Bean.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα αγαπημένα μου πρόσωπα, και ιδίως τον σύντροφο μου Άρη, τους γονείς μου και την αδερφή μου, που μου συμπαραστάθηκαν ενεργά και ποικιλοτρόπως στην διαδρομή απόκτησης του τρίτου, κατά σειρά, αλλά πλέον πολυπόθητου για μένα πτυχίου διαιτολογίας. Εύχομαι να καταφέρω να ανταποδώσω την έμπρακτη και πολυεπίπεδη στήριξή τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	13
Αντικείμενο	13
Περιεχόμενο της εργασίας	14
1 Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	16
1.1 Γενικά.....	16
1.2 Μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στις ζυμώσεις τροφίμων.....	17
1.3 Σύγχρονες τάσεις ζυμωμένων προϊόντων.....	19
2 ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΑ ΖΥΜΩΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΣΠΡΙΩΝ	22
2.1 Miso	23
2.2 Tempeh	26
2.3 Σάλτσα σόγιας.....	28
2.4 Natto	33
3 ΤΟ ΚΑΙΝΟΤΟΜΟ ΠΡΟΪΟΝ HOLI BEAN	37
3.1 Παρουσίαση του προϊόντος και των καινοτόμων χαρακτηριστικών του	37
3.2 Διαδικασία παραγωγής	39
3.3 Σύστημα Ανάλυσης Κινδύνου με Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου	41
3.4 Μικροβιολογικός έλεγχος	45
3.5 Διατροφική ανάλυση και ετικέτα προϊόντος	48
3.6 Μαγειρικές χρήσεις.....	51
3.7 Διατροφικά οφέλη.....	52
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	54
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	57

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1. Το παραδοσιακό ιαπωνικό προϊόν miso	24
Εικόνα 2. Η διαδικασία παραγωγής miso σόγιας	25
Εικόνα 3. Σούπα miso	25
Εικόνα 4. Το ζυμωμένο προϊόν tempheh	26
Εικόνα 5. Η διαδικασία παραγωγής του tempheh	27
Εικόνα 6. Ψητό tempheh.....	28
Εικόνα 7. Σάλτσα σόγιας	29
Εικόνα 8. Διαδικασία φυσικής ζύμωσης για την παραγωγή σάλτσας σόγιας.....	30
Εικόνα 9. Natto	33
Εικόνα 10. Η διαδικασία παραγωγής του natto	34
Εικόνα 11. Ρύζι βρασμένο στον ατμό, με επικάλυψη από natto, ο πιο συνηθισμένος τρόπος κατανάλωσης natto στην Ιαπωνία.....	35
Εικόνα 12. Φαρμακολογικές ιδιότητες της ναπτοκινάσης, που σχετίζονται με μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου (διάγραμμα από Hongjie Chen et al, 2018)	36
Εικόνα 13. Το προϊόν Holi Bean	37
Εικόνα 14. Οι βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή του <i>Holi Bean</i> , μαζί με δείγμα από το τελικό προϊόν.	38
Εικόνα 15. Στιγμιότυπο από την διακόσμηση του περιπτέρου μας.....	39
Εικόνα 16. Το διάγραμμα παραγωγής του Holi Bean	41
Εικόνα 17. Ετικέτα του προϊόντος Holi Bean	49

Εικόνα 18. Ο δίσκος για την γευστική δοκιμή από την κριτική επιτροπή του διαγωνισμού	51
Εικόνα 19. Το ενημερωτικό φυλλάδιο για το Holi Bean που δινόταν στους επισκέπτες την ημέρα του Διαγωνισμού	53

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία συντάχτηκε με αφορμή την ανάπτυξη του καινοτόμου προϊόντος Holí Bean για την συμμετοχή του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου στον Εθνικό Πανεπιστημιακό Διαγωνισμό του Συνδέσμου Ελληνικών Βιομηχανιών Τροφίμων, “Ecotrophelia 2019”. Το προϊόν και η ομάδα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, της οποίας επικεφαλής ήταν η συγγραφέας της εργασίας, τιμήθηκε με το τρίτο βραβείο καινοτομίας.

1 Αντικείμενο

Σύμφωνα με πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα [1, 2, 3], το εντερικό μικροβίωμα παίζει σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη υγεία και επηρεάζει την ανάπτυξη χρόνιων νοσημάτων, από παχυσαρκία και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 μέχρι γαστρεντερικές δυσλειτουργίες όπως σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου και καρκίνο του παχέος εντέρου. Η επίπτωση τέτοιων νοσημάτων βαίνει αυξανόμενη στις δυτικού τύπου κοινωνίες, επιβαρύνοντας σταθερά τα εθνικά συστήματα υγείας. Οι διαιτητικές συνήθειες μαζί με λοιπούς περιβαλλοντικούς παράγοντες φαίνεται να διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στη διαμόρφωση της εντερικής μικροχλωρίδας. Την ευεργετική δράση των διαφόρων πληθυσμών διαμεσολαβεί η ζύμωση των διαιτητικών ινών, προς παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου. Τα τελευταία λειτουργούν ως ενδογενή σήματα με αντιφλεγμονώδη δράση και σημαντική συμβολή στην ομοιόσταση των λιπιδίων.

Τα όσπρια είναι εξαιρετικές πηγές διαιτητικών ινών (πρεβιοτικών), αλλά και γενικότερα μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών καθώς και φυτοχημικών ουσιών. Η βιοδιαθεσιμότητα των παραπάνω στοιχείων, όμως, επηρεάζεται σημαντικά από τα φυσικώς ενεχόμενα στα όσπρια αντιθρεπτικά συστατικά (anti-nutrients), τα οποία σχηματίζουν σύμπλοκα και εμποδίζουν την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών. Οι αναστολείς θρυψίνης και το φυτικό οξύ, για παράδειγμα, μειώνουν την απορροφησιμότητα της πρωτεΐνης και την απελευθέρωση των μεταλλικών στοιχείων, αντιστοίχως, ενώ οι αλληλεπιδράσεις φυτικού οξέος και φαινολικών ενώσεων με μεταλλικά στοιχεία είναι επίσης σημαντικές στα όσπρια.

Η ζυμωτική διαδικασία είναι μια επιθυμητή διαδικασία βιοχημικών μετατροπών με την μεσολάβηση της δράσης μικροοργανισμών και παραγόμενων από αυτούς ενζύμων. Εξυπηρετεί την παρεμπόδιση των παραπάνω αναφερόμενων αλληλεπιδράσεων στα όσπρια και την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των ωφέλιμων περιεχόμενων συστατικών. Πιο αναλυτικά, μέσω της ζύμωσης ενεργοποιούνται ενδογενή ένζυμα όπως η α-αμυλάση, η φυτάση και άλλες γλυκοζιδάσες, τα οποία αποικοδομούν αφενός τους αντιθρεπτικούς παράγοντες και αφετέρου σύνθετα μακροθρεπτικά συστατικά σε πιο απλές και εύπεπτες μορφές τους. Τα ζυμωμένα τρόφιμα αποτελούν, επιπλέον, πηγές προβιοτικών οργανισμών, προάγοντας την γαστρεντερική υγεία και την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιόκοσμου. Η ζύμωση παρατείνει, τέλος, την διάρκεια ζωής των προϊόντων και ενισχύει την ασφάλεια των τροφίμων, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών.

Στην παρούσα εργασία επιχειρείται μια ανασκόπηση προϊόντων ζύμωσης οσπρίων και των λειτουργικών ιδιοτήτων αυτών. Ακολούθως, πραγματοποιείται αναφορά στην παραγωγική διαδικασία και τις λειτουργικές ιδιότητες του προϊόντος Holí Bean, μίας πάστας από ζυμωμένα λευκά φασόλια και ελαιόλαδο, με οφέλη στην καρδιαγγειακή και γαστρεντερική υγεία των καταναλωτών. Η ιδέα για την ανάπτυξη του συγκεκριμένου προϊόντος αποδίδεται στην συγγραφέα της εργασίας.

2 Περιεχόμενο της εργασίας

Η παρούσα εργασία αποτελείται από 5 κεφάλαια, το περιεχόμενο των οποίων έχει ως εξής:

Στο Κεφάλαιο 2 περιγράφεται η διαδικασία της ζύμωσης και οι βασικές κατηγορίες μικροοργανισμών που λαμβάνουν μέρος στις ζυμώσεις τροφίμων.

Στο Κεφάλαιο 3 παρατίθενται βασικά παραδοσιακά ζυμωμένα προϊόντα οσπρίων, που προέρχονται από τις ανατολικές χώρες, ιδίως την Ιαπωνία. Γίνεται αναφορά στη διαδικασία παραγωγής τους και στα διατροφικά οφέλη από την κατανάλωσή τους.

Στο Κεφάλαιο 4 παρουσιάζεται το καινοτόμο προϊόν Holí Bean, που παράγεται από τη ζύμωση λευκών ελληνικών φασολιών, με την συνακόλουθη προσθήκη ελαιολάδου και μπαχαρικών.

Περιγράφεται η διαδικασία παραγωγής με το Σύστημα Ανάλυσης Κινδύνων και Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου, ενώ επίπλεον παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του διενεργηθέντος μικροβιολογικού ελέγχου και της διατροφικής ανάλυσης αυτού, οι μαγειρικές του χρήσεις καθώς και τα διατροφικά οφέλη από την κατανάλωση.

Στο Κεφάλαιο 5 συνοψίζονται τα κύρια συμπεράσματα από την ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της εργασίας.

1 Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

1.1 Γενικά

Ζύμωση τροφίμων είναι μία ελεγχόμενη διεργασία μικροβιακής αύξησης και ενζυματικών μετατροπών μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών των τροφίμων που χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα [4]. Χρησιμοποιείται, παραδοσιακά, για την συντήρηση των τροφίμων, αφού η εγκατεστημένη μικροχλωρίδα αποτρέπει την εισβολή άλλων ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και βελτιώνει την μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων. Για παράδειγμα, κατά την γαλακτική ζύμωση, οι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί παράγουν μεταβολίτες όπως γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, διοξείδιο του άνθρακα, αιθανόλη, υπεροξείδιο του υδρογόνου, βακτηριοσίνες και αντιμικροβιακά πεπτίδια [5], τα οποία δρουν συνεργιστικά περιορίζοντας την επιβίωση και την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών.

Πέρα από τη συντήρηση, η ζυμωτική διαδικασία, χρησιμοποιείται για να προσδώσει χαρακτηριστικό άρωμα, γεύση, υφή αλλά και διατροφικό προφίλ στα τρόφιμα. Έτσι, αν και οι αρχαίοι πολιτισμοί ανέπτυξαν και χρησιμοποιούσαν τη ζύμωση κυρίως ως τρόπο συντήρησης των γεωργικών προϊόντων, με τη βοήθεια της τεχνολογίας η ζύμωση εξελίχθηκε σε ένα εργαλείο για τη δημιουργία επιθυμητών οργανοληπτικών ιδιοτήτων στα τρόφιμα καθώς και για τη βελτίωση της γεύσης τους [6]. Το ψωμί είναι ένα κλασικό τέτοιο παράδειγμα, όπου η κύρια λειτουργία της ζύμωσης της ζύμης είναι η δημιουργία της χαρακτηριστικής δομής, υφής καθώς και του οργανοληπτικού προφίλ του ψωμιού μετά το ψήσιμο.

Η ζύμωση βοηθά, επίσης, στην απομάκρυνση των αντι-θρεπτικών παραγόντων και των τοξινών των πρώτων υλών καθώς και στη βελτίωση του διατροφικού τους προφίλ [5, 6]. Για παράδειγμα, η ζύμωση των φασολιών σόγιας σε προϊόντα όπως το tempeh (βλ. Κεφ. 3.2), το natto (βλ. Κεφ. 3.4) και τη σάλτσα σόγιας (βλ. Κεφ. 3.3) οδηγεί σε μείωση αντι-θρεπτικών παραγόντων όπως είναι το φυτικό οξύ και οι αναστολείς θρυψίνης, ενώ επιπλέον έχει ως αποτέλεσμα την υδρόλυση σύνθετων πρωτεϊνών σόγιας σε πιο εύπεπτα και βιοδιαθέσιμα πεπτίδια και αμινοξέα [7].

1.2 Μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στις ζυμώσεις τροφίμων

Οι παραδοσιακές διεργασίες ζύμωσης τροφίμων μπορούν γενικά να ταξινομηθούν σε ζύμωση από οξυγαλακτικά βακτήρια, ζύμωση μυκήτων και αλκαλική ζύμωση.

1.2.1 Οξυγαλακτικά βακτήρια

Με τον όρο οξυγαλακτικά βακτήρια περιγράφονται βακτηριακά στελέχη που ανήκουν σε 4 γένη: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* [8]. Ως «γαλακτική ζύμωση» χαρακτηρίζεται ένα μεταβολικό μονοπάτι, όπου ο μονοσακχαρίτης γλυκόζη μέσω μίας σειράς οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων μετατρέπεται είτε αποκλειστικά, ή κυρίως, σε γαλακτικό οξύ (ομοζυμωτικά βακτήρια) είτε σε μίγμα γαλακτικού οξέος (50%) συνοδευόμενο από διοξείδιο του άνθρακα και αιθανόλη (ετεροζυμωτικοί οργανισμοί) [8, 9]. Στους ετεροζυμωτικούς μικροοργανισμούς οφείλεται κυρίως η παραγωγή ενώσεων όπως η ακεταλδεύδη και το ακετύλιο που ευθύνονται για την ιδιαίτερη γεύση και το άρωμα που αποκτούν κάποια προϊόντα.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν ως θρεπτικές απαιτήσεις κάποια αμινοξέα, βιταμίνες Β και βάσεις πουρινών και πυριμιδινών. Είναι μεσόφιλα, αλλά μπορούν και αναπτύσσονται από 5 μέχρι τους 45°C. Τα περισσότερα στελέχη αυξάνονται σε pH 4.0-4.5, αλλά αναφέρονται στελέχη που μπορούν και αναπτύσσονται σε pH 3.2 και κάποια άλλα σε pH 9.6. Επίσης παρουσιάζουν κάποια από αυτά σε μικρό βαθμό λιπολυτικότητα και πρωτεολυτικότητα [8].

Έτσι, λοιπόν, εάν η οξύτητα της πρώτης ύλης που θα υποστεί ζύμωση είναι σε τέτοιο επίπεδο που να επιτρέπει τη βακτηριακή αύξηση και επιπλέον υπάρχουν ελεύθερα σάκχαρα¹, τότε ευνοείται η ανάπτυξη των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος.

¹Τα φυσικά εκείνα προϊόντα που περιέχουν πολυσακχαρίτες κυρίως και όχι ελεύθερα σάκχαρα, δεν μπορούν εύκολα να ζυμωθούν από ζύμες και βακτήρια του γαλακτικού οξέος, διότι οι μικροοργανισμοί αυτοί δεν διαθέτουν το αντίστοιχο ένζυμο. Για το σκοπό αυτό προστίθενται εξωγενή ένζυμα. Τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η χρήση της βύνης του κριθαριού στη βιομηχανία παραγωγής μπίρας. Τα ένζυμα αυτά διασπούν το άμυλο προέρχονται από τους βλαστημένους σπόρους κριθαριού και στη συνέχεια η ζύμωση γίνεται από τις ζύμες.

Παραδείγματα προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση γαλακτικού οξέος συνιστούν το γιαούρτι, τα λουκάνικα, το τυρί, το ξινολάχανο (ζυμωμένο λάχανο από την Ανατολική και Κεντρική Ευρώπη) και το Kimchi (λάχανο μαζί με μπαχαρικά που έχει υποστεί ζύμωση, από την Κορέα). Σε κάποια προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση γαλακτικού οξέος συμμετέχουν, επίσης, και μύκητες, όπως για παράδειγμα στο κεφίρ (ένα ελαφρώς αλκοολούχο γαλακτοκομικό ποτό από τον Καύκασο) και το kombucha (ένα ζυμωμένο γλυκαντικό τσάι από την Κίνα).

1.2.2 Ζύμες

Τα περισσότερα στελέχη ζυμών που παρουσιάζουν βιομηχανικό ενδιαφέρον ανήκουν στο γένος *Saccharomyces* και μάλιστα στο είδος *Saccharomyces cerevisiae* [8]. Οι πιο γνωστοί μυκηλιακοί μύκητες που παίρνουν μέρος στην επεξεργασία τροφίμων ανήκουν στο γένος *Penicillium* (τυριά) και στο γένος *Aspergillus* (σάλτσα σόγιας, ποτά με βάση τη σόγια ή το ρύζι – Άπω Ανατολή).

Με την ονομασία ζύμη της αρτοποιίας περιλαμβάνονται διάφορα στελέχη του *S. cerevisiae*, που έχουν απομονωθεί για τις ιδιαίτερες ιδιότητές τους. Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιείται για την αύξηση αυτών των στελεχών περιέχει μελάσσα, πηγή αζώτου (αμμωνιακά άλατα, ουρία, βύνη κ.α.), ανόργανα ιόντα υπό μορφή φωσφορικών και άλλων αλάτων και διάφορους αυξητικούς παράγοντες υπό μορφή φυτικών εκχυλισμάτων, ζύμης ή και βιταμίνες.

Η ρύθμιση στο pH γίνεται στο 4.3 – 4.5 και η θερμοκρασία στους 30°C. Κατά την αύξηση χρειάζεται ισχυρή ανάδευση και η μελάσσα προστίθεται σταδιακά για να συγκρατείται το επίπεδο των σακχάρων σε 0.5-1.5%. Με την ολοκλήρωση 4-5 κύκλων, τα κύτταρα φυγοκεντρούνται, στη συνέχεια το ίζημα περνά από φίλτρο για την αφαίρεση της υγρασίας και συντηρείται τέλος υπό μορφή πάστας σε μικρές ποσότητες. Η υγρασία στο τελικό προϊόν πρέπει να είναι μικρότερη από 8%.

Όταν η πρώτη ύλη που θα υποστεί ζύμωση περιέχει ελεύθερα σάκχαρα και είναι όξινη, τότε θα αναπτυχθούν ζύμες οι οποίες παράγουν αλκοόλη. Οι ζύμες που χρησιμοποιούνται για τη

ζύμωση της βύνης είναι διάφορα στελέχη του *S. cerevisiae*, ή του *S. Carlsbergensis*, ανάλογα με το τύπο της μύρας που θα παραχθεί.

Τα περισσότερα από τα γνωστά τρόφιμα που έχουν υποστεί ζύμωση με βάση φασόλια σόγιας από την Ασία, όπως το tempeh και η σάλτσα σόγιας (βλ. Κεφάλαιο 3) παράγονται με ζύμωση μυκήτων, με εξαίρεση το natto, που παράγεται με βακτηριακή αλκαλική ζύμωση [11].

1.2.3 Άλλα βακτηριακά στελέχη

Στα αλκαλικής ζύμωσης τρόφιμα, η πρωτεΐνη των πρώτων υλών αποικοδομείται σε αμινοξέα και πεπτίδια, με ταυτόχρονη απελευθέρωση αμμωνίας, η οποία αυξάνει το pH του τελικού προϊόντος (σε επίπεδα μέχρι και 9) και προσδίδει στο τρόφιμο μία έντονη οσμή αμμωνίας [10, 11, 12]. Οι περισσότερες αλκαλικές ζυμώσεις πραγματοποιούνται αυθόρμητα από μικτές² βακτηριακές καλλιέργειες, κυριαρχούμενες από τον *Bacillus subtilis*. Σε άλλες περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται αμιγείς καλλιέργειες, όπως για παράδειγμα στο ιαπωνικό τρόφιμο natto, το οποίο εμβολιάζεται με μία καθαρή καλλιέργεια *Bacillus subtilis var. natto*.

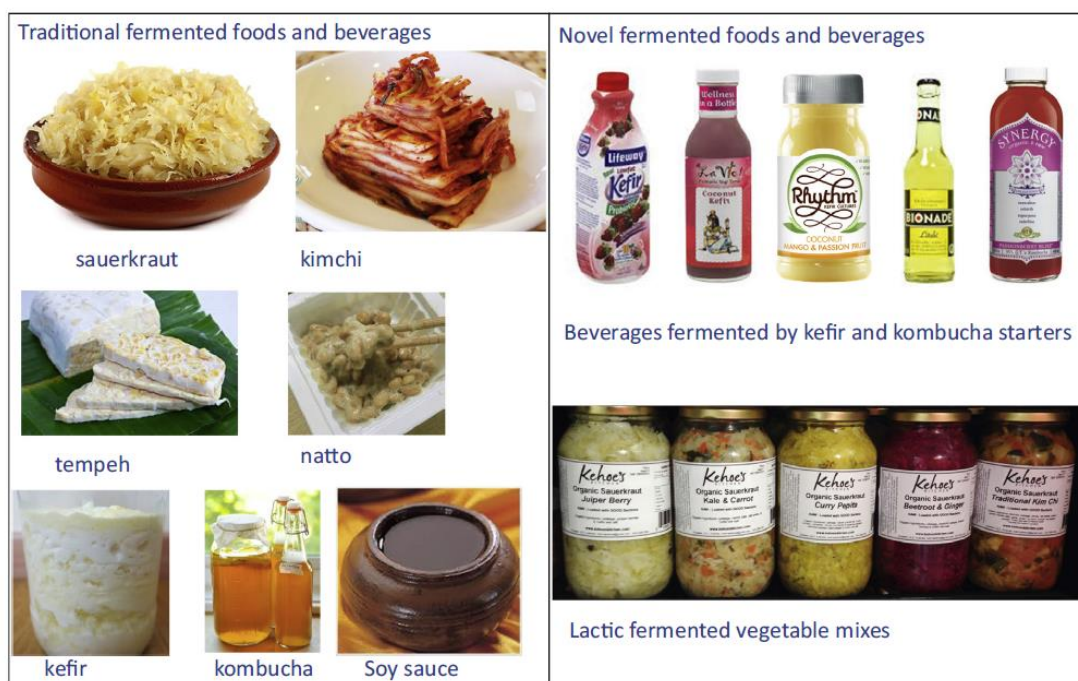
Στην παραγωγή των ελβετικών τυριών χρησιμοποιούνται καλλιέργειες του *Propionibacterium freudenreichii*, ενώ για την παραγωγή διαφόρων τύπων τυριών που παρουσιάζουν εξωτερικό στρώμα μικροορανισμών, (smear ripened), γίνεται εμβολιασμός με μικτές ή καθαρές καλλιέργειες στελεχών του γένους *Micrococcus*, *Brevibacterium linens* κ.α. [8].

1.3 Σύγχρονες τάσεις ζυμωμένων προϊόντων

Τα ζυμωμένα τρόφιμα συνιστούν ένα σημαντικό μέρος της διατροφής των ανθρώπων σε αναπτυσσόμενες χώρες και στην Άπω Ανατολή. Στο δυτικό κόσμο, με εξαίρεση το ψωμί, το γιαούρτι και τα λουκάνικα, τα ζυμωμένα τρόφιμα είχαν στην πλειοψηφία τους εκλείψει, χάρη

² Οι μικτές καλλιέργειες που αρκετά συχνά χρησιμοποιούνται στη Βιομηχανία Τροφίμων παρασκευάζονται είτε από ήδη μικτές καλλιέργειες, είτε από καθαρές καλλιέργειες μικροβιακών στελεχών που αναμιγνύονται κατά τον εμβολιασμό στις σωστές αναλογίες. Όταν χρησιμοποιούνται μικτές καλλιέργειες, οι οργανισμοί αυτοί πρέπει να είναι συμβατοί δηλαδή να μην αναπτύσσουν φαινόμενα ανταγωνισμού μεταξύ τους. Γενικότερα η διατήρηση της ισορροπίας σε τέτοιους μικτούς πληθυσμούς είναι δύσκολη.

στις νέες τεχνολογίες συντήρησης (βλ. ψύξη). Παρόλα αυτά, φαίνεται να υπάρχει αναθέρμανση του ενδιαφέροντος των καταναλωτών για τα τρόφιμα αυτά, λόγω των περιεχόμενων προβιοτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων αυτών. Έτσι, τα ζυμωμένα τρόφιμα προωθούνται στις μέρες μας για την πρόληψη ή την αντιμετώπιση ενός εύρους ασθενειών από παχυσαρκία μέχρι και καρκίνο. Για παράδειγμα, το kimchi φαίνεται να έχει αντικαρκινικές και αντιγηραντικές ιδιότητες και να βοηθά στην αντιμετώπιση της παχυσαρκίας και της δυσκοιλιότητας [13], ενώ το ζυμωμένο τρόφιμο κεφίρ φαίνεται να μειώνει τα συμπτώματα δυσανοχής στη λακτόζη, να ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα καθώς επίσης να έχει υπολιπιδαιμική, αντιμεταλλαξιγόνο και αντικαρκινική δράση [14].



Σχήμα 2.1: Παραδείγματα παραδοσιακών και καινοτόμων ζυμωμένων τροφίμων και ποτών (Netsanet Shiferaw Terefe, Food Fermentation)

Παρόλο που πολλοί από τους ισχυρισμούς υγείας για τα ζυμωμένα τρόφιμα δεν έχουν, ακόμη, επιστημονική τεκμηρίωση [15], ευρήματα από πρόσφατες έρευνες in vitro και σε ζωικά μοντέλα φαίνεται να επιβεβαιώνουν αυτούς τους ισχυρισμούς. Για παράδειγμα, μία έρευνα από μία κορεάτικη ομάδα [13] κατέγραψε ότι κατανάλωση του kimchi για δύο εβδομάδες από υπέρβαρους και παχύσαρκους ανθρώπους οδήγησε σε μείωση του δείκτη μάζας σώματος, του

σωματικού λίπους, του λόγου περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων, της αρτηριακής πίεσης, της γλυκόζης νηστείας καθώς και της ολικής χοληστερόλης.

Τα ζυμωμένα τρόφιμα, λοιπόν, ανήκουν στη λίστα με τις δέκα κορυφαίες τάσεις στα τρόφιμα το έτος 2016 (Riley, 2015) και οι εταιρείες τροφίμων ανταποκρίνονται σε αυτή την τάση, τόσο με την εμπορευματοποίηση παραδοσιακών ζυμωμένων προϊόντων (όπως για παράδειγμα το κεφίρ και το Kombucha, των οποίων η αγορά στη Βόρεια Αμερική το 2014 ανήλθε σε 130 και 480 εκατομμύρια δολάρια, αντιστοίχως) όσο και με την ανάπτυξη καινοτόμων ζυμωμένων προϊόντων, με βάση τις παραδοσιακές εκδοχές τους (όπως τα προϊόντα Bionade και Rythem, που βασίζονται στα προϊόντα kombucha και κεφίρ). Επιπλέον, στην αγορά υπάρχουν πολλά προβιοτικά προϊόντα με βάση την σόγια ή δημητριακά, σε απόκριση στην αύξηση των δυσανοχών στη λακτόζη και στη γλουτένη καθώς και στην αύξηση της αυστηρής χορτοφαγίας [16].

2 ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΑ ΖΥΜΩΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΟΣΠΡΙΩΝ

Στη χώρα μας υπάρχει πληθώρα παραδοσιακών ζυμωμένων τροφίμων, όπως η γιαούρτη, η φέτα, οι ελιές, το τουρσί, η κάππαρη, το προζύμι, το κρασί και η μπίρα. Πρόκειται, βασικά, για γαλακτοκομικά ζυμωμένα προϊόντα, προϊόντα ζύμωσης λαχανικών και προϊόντα αλκοολικής ζύμωσης. Ζυμωμένα προϊόντα οσπρίων παράγονται παραδοσιακά στις ασιατικές χώρες και ιδίως στην Ιαπωνία [17], έχουν όμως γίνει παγκοσμίως γνωστά και έχουν μελετηθεί από τους ερευνητές για τις λειτουργικές τους ιδιότητες, αφού η κατανάλωσή τους φαίνεται να συνδέεται με την μακροζωία. Είναι, επιπλέον, δημοφιλή στους χορτοφάγους και στους αυστηρούς χορτοφάγους, οι οποίοι αναζητούν τρόπους να υποκαταστήσουν την ζωική πρωτεΐνη, επιλέγοντας τρόφιμα υψηλής διατροφικής αξίας.

Στο παρόν Κεφάλαιο πραγματοποιείται μια ανασκόπηση στα παραδοσιακά ζυμωμένα προϊόντα από όσπρια. Σε αυτά συγκαταλέγονται το miso, το tempeh, η σάλτσα σόγιας και το natto. Γίνεται αναφορά στην διαδικασία παραγωγής τους, τις μαγειρικές χρήσεις και τα διατροφικά οφέλη. Στο σύνολο τους πρόκειται για τρόφιμα που παράγονται με βασικό υπόστρωμα για τους ζυμωτικούς μικροοργανισμούς τα φασόλια σόγιας.

Τα φασόλια σόγιας εμπεριέχουν ισοφλαβονοειδή, διαιτητικές ίνες και κάλιο, τα οποία έχουν μελετηθεί για τις ευεργετικές τους ιδιότητες στο καρδιαγγειακό σύστημα. Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με μετα-αναλύσεις, τα ισοφλαβονοειδή έχουν ευεργετική δράση στην αρτηριακή πίεση και στο λιπιδαιμικό προφίλ, ενώ επιπλέον δρουν προστατευτικά στην ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου [18]. Οι διαιτητικές ίνες των φασολιών σόγιας διακρίνονται για την υπολιπιδαιμική τους δράση και τη συμβολή στην μείωση του σωματικού βάρους. Επιπλέον, μία προοπτική μελέτη στις ΗΠΑ ανέδειξε ότι αύξηση στην κατανάλωση των διαιτητικών ινών από φασόλια συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο θνησιμότητας από καρδιαγγειακά νοσήματα σε θήλεα άτομα.

Τα ζυμωμένα προϊόντα σόγιας είναι πιο πλούσια σε διαιτητικές ίνες και κάλιο, καθώς και σε άλλα βιοενεργά συστατικά, συγκρινόμενα με τα ανάλογα μη ζυμωμένα προϊόντα. Τα βιοενεργά συστατικά των ζυμωμένων προϊόντων περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, το ινωδολυτικό ένζυμο ναπτοκινάση στο natto και την πολυαμίνη στο miso και την σάλτσα σόγιας. Η διαιτητική πρόσληψη της πολυαμίνης σπερμιδίνης έχει συσχετιστεί με μειωμένη

θνησιμότητα από καρδιακή ανεπάρκεια. Επιπλέον, η πρόσληψη ζυμωμένων προϊόντων σόγιας και των περιεχόμενων ισοφλαβονοειδών παρουσίασε αντίστροφη συσχέτιση με την ανάπτυξη υπέρτασης σε νορμοτασικούς άνδρες και γυναίκες. Και πάλι, ο εν λόγω συσχετισμός δεν αναδείχθηκε για τα μη-ζυμωμένα προϊόντα σόγιας [19].

Καταλήγωντας, η κατανάλωση ζυμωμένων προϊόντων σόγιας συσχετίζεται αντιστρόφως, και στατιστικά σημαντικώς, με την θνησιμότητα από όλες τις αιτίες και στα δύο φύλα, ενώ η κατανάλωση μη-ζυμωμένων προϊόντων δεν ανέδειξε αντίστοιχο συσχετισμό, γεγονός που καθιστά ελκυστική την μελέτη των συγκεκριμένων τροφίμων [20].

Επειδή στο σύνολό τους τα παραδοσιακά αυτά προϊόντα αφορούν στην ζύμωση των φασολιών της σόγιας, η συγγραφέας της εργασίας θα ήθελε να παραθέσει την παρακάτω διευκρίνιση, αναφορικά με τα γενετικά τροποποιημένα στελέχη της σόγιας.

Η γενετική τροποποίηση της σόγιας αφορά στην ανθεκτικότητα της σε φυτοφάρμακα, σε μία προσπάθεια εκ μέρους των επιστημόνων να επιλυθούν προβλήματα που προέκυπταν κατά την καλλιέργειά της. Στην Αμερική και στην Ασία επιτρέπεται η καλλιέργεια και η χρήση του συγκεκριμένου στελέχους, ενώ στην Ευρώπη η χρήση του επιτρέπεται με τον όρο να αναγράφεται στην ετικέτα ότι πρόκειται για μεταλλαγμένο προϊόν. Το ισχύον νομικό πλαίσιο για γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς [21, 22, 23] υποδεικνύει πως, όταν γενετικά τροποποιημένα προϊόντα περιέχονται σε τρόφιμα σε ποσότητα μεγαλύτερη από 0.9%, πρέπει υποχρεωτικά να αναγράφεται στη συσκευασία του προϊόντος.

2.1 Miso

2.1.1 Γενικά

Το miso είναι ένα παραδοσιακό ιαπωνικό φαγητό ή καρύκευμα και η πρώτη γνωστή αναφορά για αυτό παρουσιάζεται σε ένα αρχαίο κινέζικο κείμενο (“Syurai”) γύρω στο 700 π.Χ.

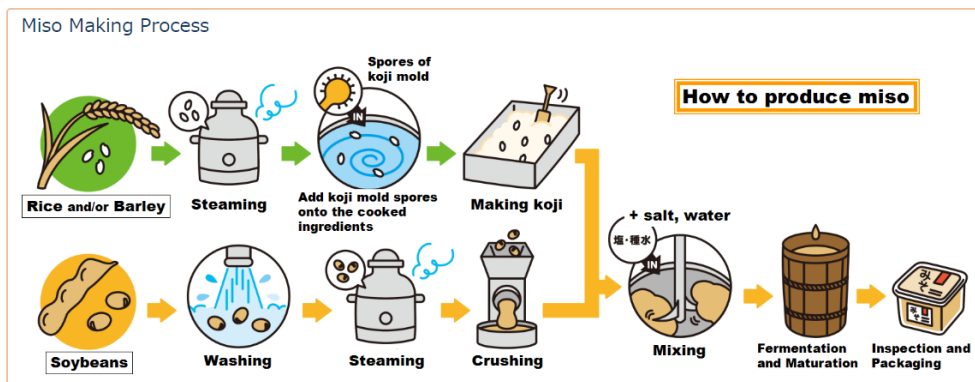


Εικόνα 1. Το παραδοσιακό ιαπωνικό προϊόν *miso*

Το *miso* παράγεται από τη ζύμωση φασολιών σόγιας, ρυζιού ή κριθαριού με *koji* και αλάτι. Το *koji* δημιουργείται ως αποτέλεσμα της καλλιέργειας του μύκητα *Aspergillus oryzae* σε ρύζι ή και σε δημητριακά πλούσια σε άμυλο, όπως το κριθάρι. Σε κάποιες περιπτώσεις, πέρα από το *koji* χρησιμοποιούνται επιπρόσθετα καλλιέργειες από *Saccharomyces cerevisiae* και λακτοβάκιλλους [24].

2.1.2 Διαδικασία παραγωγής

Η πιο διαδεδομένη εκδοχή του *miso* παράγεται από τη ζύμωση φασολιών σόγιας, παρόλα αυτά υπάρχουν διάφορες παραλλαγές ανάλογα τα χρησιμοποιούμενα συστατικά, τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της ζύμωσης – η οποία ποικίλλει από μία εβδομάδα έως είκοσι μήνες -, το προστιθέμενο αλάτι (5-13%), την ποικιλία του *koji* και τον χρησιμοποιούμενο ζυμωτήρα. Το τυπικό τελικό προϊόν είναι μια παχύρρευστη πάστα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή σούπας.



Εικόνα 2. Η διαδικασία παραγωγής miso σόγιας

2.1.3 Μαγειρικές χρήσεις

Η σούπα με miso είναι βασικό συστατικό της ιαπωνικής κουζίνας και παρασκευάζεται με λαχανικά, tofu³, φύκια, αποξηραμένες σαρδέλες ή οστρακοειδή.



Εικόνα 3. Σούπα miso

2.1.4 Διατροφικά οφέλη

Το miso είναι πλούσιο σε πρωτεΐνη, βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία και, ως εκ τούτου, κατέχει σπουδαία θέση στην διατροφή των Ιαπώνων. Ποσοστό μεγαλύτερο από 95% του ιαπωνικού πληθυσμού καταναλώνει miso, ενώ πολλοί το χρησιμοποιούν ακόμα και σε καθημερινή βάση.

³ Το tofu είναι ένα μη ζυμωμένο προϊόν σόγιας που δημιουργείται από το γάλα σόγιας (από μουλιασμένα σε νερό φασόλια σόγιας), με την προσθήκη πηκτικών παραγόντων (θειικό ασβέστιο) για την παραγωγή του τελικού προϊόντος tofu με την μορφή πηγματος.

Περιλαμβάνει βιταμίνες (E, B2, B12), μέταλλα, ισοφλαβονοειδή και λεκιθίνη ενώ μακροθρεπτικά είναι πηγή υδατανθράκων και φυτικής πρωτεΐνης [24]. Μία ανασκόπηση από τον Watanabe το 2013 [25] κατέγραψε τις επιδράσεις της κατανάλωσης miso αναφορικά με την προστασία από ακτινοβολία, την πρόληψη ανάπτυξης νεοπλασιών στο ήπαρ, στο στήθος και στο γαστρεντερικό σύστημα καθώς και την πρόληψη υπέρτασης σε ζωικά μοντέλα. Η κατανάλωση miso φαίνεται να μειώνει το οξειδωτικό στρες και, ως εκ τούτου, συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου, καρκίνου ή άλλων χρόνιων νοσημάτων [26, 27].

Εντούτοις, το περιεχόμενο αλάτι μπορεί να συνδεθεί με αύξηση της αρτηριακής πίεσης, οπότε θα πρέπει να δίδεται η δέουσα προσοχή στη συνολική ημερήσια κατανάλωση άλατος.

2.2 Tempeh

2.2.1 Γενικά

Το tempeh είναι ένα παραδοσιακό ινδονησιακό τρόφιμο από τη ζύμωση φασολιών σόγιας, που έχει γίνει γνωστό εξαιτίας των διατροφικών ποιοτήτων του και ρυθμιστικών λειτουργιών του στον μεταβολισμό [28].

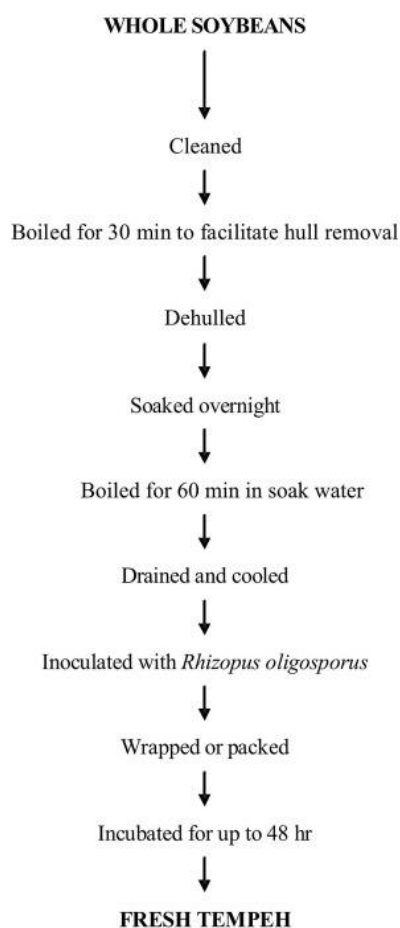


Εικόνα 4. Το ζυμωμένο προϊόν tempeh

2.2.2 Διαδικασία παραγωγής

Το παραδοσιακό tempeh παράγεται από βρασμένα και αποφλοιωμένα φασόλια σόγιας, που ζυμώνονται με τον μύκητα *Oligosporus Rhizopus* sp. Μετά από ζύμωση για 1-2 ημέρες, το

παραγόμενο tempeh συμπιέζεται σε μορφή μπαρών, που είναι είτε κίτρινες είτε μαύρες. Το χρώμα εξαρτάται από το είδος των φασολιών σόγιας και το είδος του μύκητα που χρησιμοποιείται. Πρόσφατα αναπτύχθηκαν νέες μέθοδοι για την παραγωγή του tempeh με αυξημένα επίπεδα αμινοβουτυρικού οξέος [29, 30] και ισοφλαβονοειδών [28] στο τελικό προϊόν.



Εικόνα 5. Η διαδικασία παραγωγής του tempeh

2.2.3 Μαγειρικές χρήσεις

Το tempeh μπορεί να παρασκευαστεί στον ατμό, να τηγανιστεί ή να ψηθεί και συχνά επίσης ενσωματώνεται σε σούπες, μαγειρευτά ή ψητά.



Εικόνα 6. Ψητό tempeh

2.2.4 Διατροφικά οφέλη

Το tempeh μπορεί να είναι ένα χρήσιμο συμπλήρωμα για τη διατήρηση της οστικής υγείας σε μετεμηνοπαυσιακές γυναίκες. Πιο αναλυτικά, το tempeh έχει ασβέστιο, ισοφλαβονοειδή και πρεβιοτικά που ενισχύουν την εντερική μικροχλωρίδα και σχετίζονται εμμέσως με την οστική υγεία (gut-bone axis) [31]. Τα περιεχόμενα ισοφλαβονοειδή έχουν βιολογική δράση ανάλογη με αυτή των οιστρογόνων, και ως εκ τούτου, αναμένεται να έχουν ευεργετική δράση σε οιστρογονοεξαρτώμενες καταστάσεις, όπως είναι η εμμηνόπαυση και η οστεοπόρωση [31, 32, 33] καθώς και στα καρδιαγγειακά νοσήματα, λόγω της δράσης τους στον μεταβολισμό των λιπιδίων και της χοληστερόλης [34]. Τέλος, το tempeh περιέχει αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), στοιχείο με αντι-υπερτασικές ιδιότητες. Προσθέτοντας φύτρα από φασόλια σόγιας που περιέχουν μεγάλες ποσότητες ισοφλαβονοειδών, οι Nakajima et al παρασκεύασαν ένα νέο είδος tempeh, εμπλουτισμένο σε ισοφλαβονοειδή [28], για την ενίσχυση των ωφελειών από την κατανάλωσή του.

2.3 Σάλτσα σόγιας

2.3.1 Γενικά

Η σάλτσα σόγιας είναι ένα ιαπωνικό καρύκευμα σε υγρή μορφή που πλέον χρησιμοποιείται στην μαγειρική σε παγκόσμια κλίμακα. Σύμφωνα με την παράδοση, η σάλτσα σόγιας παρασκευάστηκε πρώτη φορά από ένα βουδιστή μοναχό στην Yuasa της Ιαπωνίας το 1254.



Εικόνα 7. Σάλτσα σόγιας

Οι διάφορες παραλλαγές της σάλτσας σόγιας οφείλονται στους διαφορετικές ποικιλίες και αναλογίες των χρησιμοποιούμενων πρώτων υλών, των μικροοργανισμών του εμβολίου και των συνθηκών της ζύμωσης [35].

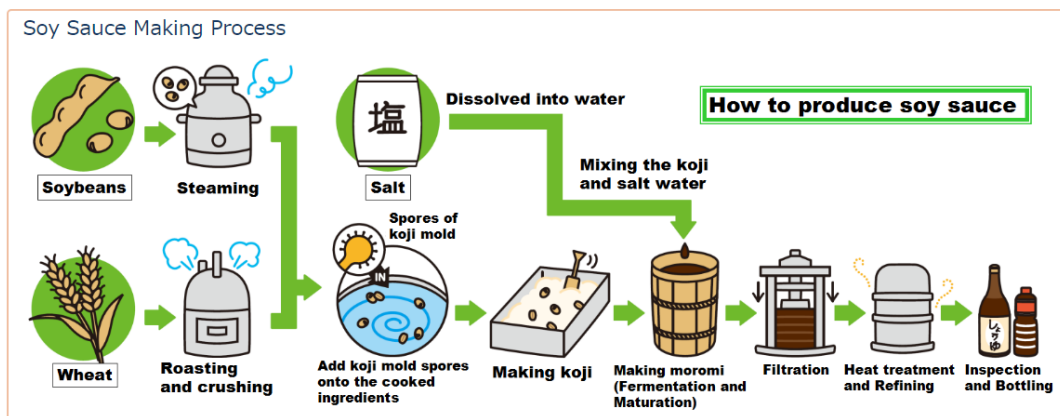
- Η σκούρου χρώματος σάλτσα σόγιας έχει ωριμάσει περισσότερο καιρό, κάτι που της δίνει σχεδόν μαύρο χρώμα. Είναι λιγότερο αλμυρή, ενώ πολλές φορές περιέχει σιρόπι μελάσας, το οποίο την κάνει πιο πυκνή στην υφή. Πολλές φορές, οι σκούρες είναι παχύρρευστες σάλτσες.
- Η ανοιχτόχρωμη (ή ελαφριά) είναι πιο αλμυρή και ρευστή σαν κρασί.

Εκτός από τη γλυκιά σάλτσα σόγιας της Ινδονησίας, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος, όλες οι άλλες μπορούν να καταναλωθούν και ωμές, και μαγειρεμένες.

2.3.2 Διαδικασία παραγωγής

Η παραδοσιακή σάλτσα σόγιας παράγεται σε ξύλινα δοχεία με στατική ζύμωση για ένα με δύο χρόνια. Παρόλα αυτά, στις μέρες μας η διαδικασία παραγωγής, από το μαγείρεμα των πρώτων υλών μέχρι την συσκευασία, γίνεται αυτοματοποιημένα με συστήματα που ελέγχονται από υπολογιστές.

Τα φασόλια σόγιας αρχικά μουλιάζονται και έπειτα μαγειρεύονται σε συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας, ενώ το σιτάρι ψήνεται και αλέθεται σε μικρότερα κομμάτια. Στη συνέχεια, αναμιγνύονται περίπου ίσες σε βάρος ποσότητες φασολιών σόγιας και σιταριού με μία μικρή ποσότητα koji, *Aspergillus oryzae* ή *Aspergillus sojae* [36] και ξεκινά η ζύμωση. Στο συγκεκριμένο στάδιο προστίθεται και το αλάτι. Ο πολτός, που περιλαμβάνει koji, NaCl σε αναλογία 15-17% w/v και νερό ζυμώνεται σε επισμαλτωμένες ή ανοξείδωτες δεξαμενές, για 6-8 μήνες σε θερμοκρασία δωματίου ή και μεγαλύτερη. Ο πολτός αυτός επίσης περιλαμβάνει λακτοβάκιλλους, για παράδειγμα *Pedicoccus sojae nov. sp.* [37] ή *Tetragenococcus halophilus*, καθώς και ζύμες, όπως *Zygosaccharomyces rouxii* and *Candida famata*. Επίσης, από τον πολτό έχουν απομονωθεί και άλλοι μικροοργανισμοί που συμβάλλουν στην παραγωγή πολυολών από άμυλο όπως *Aureobasidium pullulans* [38] και *Metschnikowia koreensis* [39]. Ο πολτός αυτός, λοιπόν, αφού ωριμάσει συμπίεζεται με την εφαρμογή πρέσας, μέσα από την οποία διαχωρίζονται τα υγρά από τα στερεά μέρη του μείγματος. Τα υγρά παστεριώνονται και έπειτα συσκευάζονται σε μπουκάλια, ενώ τα στερεά μέρη οδηγούνται για παραγωγή υποπροϊόντων, κυρίως ζωοτροφών.



Εικόνα 8. Διαδικασία φυσικής ζύμωσης για την παραγωγή σάλτσας σόγιας

Ένας άλλος τρόπος παρασκευής της σάλτσας σόγιας είναι η χημική υδρόλυση. Το μείγμα φασολιών και σιταριού βράζεται μέσα σε υδροχλωρικό οξύ για περίπου είκοσι ώρες. Προστίθεται ανθρακικό νάτριο, αναμειγνύεται με ενεργό άνθρακα και φιλτράρεται. Στο διάλυμα αυτό εισάγονται συντηρητικά και πρόσθετα, όπως καραμελόχρωμα, σιρόπι γλυκόζης, τεχνητό άρωμα, αλάτι ή ζάχαρη, αν πρόκειται για γλυκιά σάλτσα.

Αν και η σάλτσα σόγιας η οποία έχει παραχθεί με φυσική ζύμωση υπερέχει σε ποιότητα και γεύση, πολλές νέες βιομηχανίες έχουν στραφεί στην υδρόλυση, η οποία δίνει το πλεονέκτημα του χρόνου και άρα μαζικότερη παραγωγή, αφού συνολικά διαρκεί δύο μέρες, ενώ η φυσική ζύμωση περισσότερο από έξι μήνες. Η εξέλιξη στην παρασκευή της λέγεται πως είναι μια νέα διαδικασία, συνδυασμός των δύο που εφαρμόζονται σήμερα, δηλαδή ζύμωση και υδρόλυση, η οποία έχει ως αποτέλεσμα ένα προϊόν ανώτερης ποιότητας από αυτά που φτιάχνονται αμιγώς τεχνητά.

2.3.3 Μαγειρικές χρήσεις

Η σάλτσα σόγιας μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ποικίλους τρόπους, σε πληθώρα συνταγών:

- Ως μαρινάδα σε κρεατικά και πουλερικά.
- Ως ενισχυτικό γεύσης λαχανικών, ζυμαρικών, κρεατικών και πουλερικών τόσο στο μαγείρεμα όσο και στο σερβίρισμα.
- Για να προσδώσει άρωμα και χρώμα στα φαγητά (κατά το μαγείρεμα).
- Για να μειωθεί η έντονη οσμή από ωμά θαλασσινά και ψάρια (για παράδειγμα στο σούσι στην ιαπωνική κουζίνα).

Οι ιδιότητες που έχει να ενισχύει τη γεύση μπορεί να αλλάξουν ανάλογα με το υλικό στο οποίο προστίθεται και να έχουν αποτέλεσμα άλλοτε γλυκό, άλλοτε ξινό ή αλμυρό. Στη σάλτσα σόγιας ειδικοί επιστήμονες φαγητού προσδιορίζουν πως βρήκαν μεγάλη συγκέντρωση umami, δηλαδή της πέμπτης γεύσης.

2.3.4 Διατροφικά οφέλη

Η σάλτσα σόγιας δεν είναι μόνο ένα παραδοσιακό προϊόν, αλλά ένα λειτουργικό τρόφιμο. Κατά τη διαδικασία της ζύμωσης και της συνακόλουθης ωρίμανσης της σάλτσας σόγιας, οι πρωτεΐνες που υπάρχουν στα φασόλια σόγιας και στο σιτάρι πέπτονται σε μικρότερα πεπτίδια και αμινοξέα από μικροβιακά πρωτεολυτικά ένζυμα, καθιστώντας την ένα ιδιαίτερος εύπεπτο τρόφιμο, ενώ είναι αξιοσημείωτο ότι κανένα από τα αλλεργιογόνα των χρησιμοποιούμενων πρώτων υλών δεν ανευρίσκονται στο τελικό παραγόμενο προϊόν [40]. Περίπου 1% w/v των πολυσακχαριτών που προέρχονται από τα κυτταρικά τοιχώματα των φασολιών σόγιας είναι παρόντα στο τελικό προϊόν, και αυτοί οι πολυσακχαρίτες έχουν ισχυρή αντι-αλλεργική δράση,

τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* [41]. Η από του στόματος χορήγηση πολυσακχαριτών από την σάλτσα σόγιας φάνηκε να είναι αποτελεσματική θεραπεία για ασθενείς με αλλεργική ρινίτιδα.

Η σάλτσα σόγιας μειώνει την αρτηριακή πίεση και φαίνεται να παρεμποδίζει τη δράση του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης I, χωρίς ακόμα να έχουν προσδιοριστεί τα πεπτίδια στα οποία οφείλεται αυτή η δράση [42].

Η σάλτσα σόγιας περιέχει, επίσης, 4-υδροξύ-2-έθυλ-5-μέθυλ-φουρανόνη και σχετικές ενώσεις που έχουν ισχυρή αντι-οξειδωτική και αντικαρκινική δράση [43], ενώ ταυτόχρονα φαίνεται να παρεμποδίζει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων (αντιθρομβωτική δράση), που ενδεχομένως οφείλεται στις β-ανθρακικές αλυσίδες [44].

Παράγωγα ισοφλαβονοειδών από την σάλτσα σόγιας παρεμποδίζουν τη δράση αποκαρβοξυλασών της ιστιδίνης, οι οποίες παράγουν ισταμίνη, η οποία διαμεσολαβεί σε φλεγμονή, αλλεργία και στην έκκριση του γαστρικού οξέος [45, 46]. Τέτοιες ενεργές ενώσεις σχηματίζονται κατά την διαδικασία της πέψης των φασολιών σόγιας και του σιταριού αλλά και κατά τις ενζυματικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην διάρκεια της ζύμωσης.

Παλιότερες μελέτες έχουν, αναδείξει, πιθανές αντικαρκινικές της ιδιότητες με βάση πειράματα σε ζωικά μοντέλα, όπως αυτές υποδεικνύονται από την παρεμπόδιση νεοπλασιών επαγόμενων από το βενζοπυρένιο στον στόμαχο [47, 48, 49] καθώς και τις αντιμικροβιακές της ιδιότητες κατά των μικροοργανισμών *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *S. enteritidis*, *Vibrio cholera* [50], και *Escherichia coli* O157:H7 [51].

Εξαιτίας της υπολογίσιμης ποσότητας κατανάλωσης σε ημερήσια βάση, από τους Ιάπωνες αλλά και από λοιπούς πληθυσμούς, παράγονται πλέον σάλτσες σόγιας με μειωμένη περιεκτικότητα σε NaCl, για τον περιορισμό της λήψης άλατος. Παρόλο που η μειωμένη περιεκτικότητα άλατος μπορεί να επιταχύνει την μικροβιακή ανάπτυξη, η γευστική ποιότητα της παραγόμενης σάλτσας σόγιας υποβαθμίζεται με αυτή την μέθοδο. Έτσι, αναζητούνται τρόποι για την αναστροφή της εν λόγω επίδρασης, όπως η χρήση υποκαταστάτων άλατος, συνδυασμός καλλιεργειών, πρότερη επεξεργασία των πρώτων υλών και ενθυλάκωση των καλλιεργειών εκκίνησης της ζύμωσης [52].

2.4 Natto

2.4.1 Γενικά

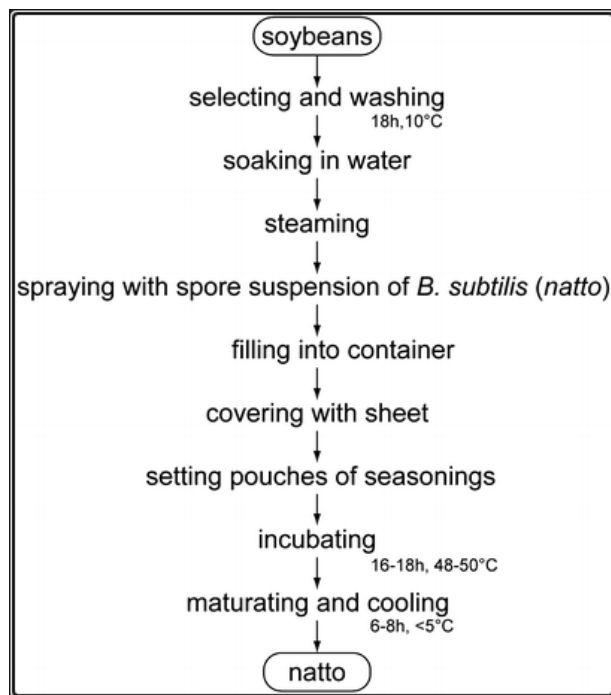
Το natto, ένα ζυμωμένο προϊόν από φασόλια σόγιας με καλλιέργεια βάκιλλου *Bacillus subtilis*, έχει αρχίσει να γίνεται δημοφιλές και στις δυτικές κοινωνίες, ενώ είναι ευρέως γνωστό στην Ιαπωνία για περισσότερα από 400 χρόνια. Το natto έχει υψηλή διατροφική αξία και είναι ένα εύπεπτο τρόφιμο, ενώ επιπλέον έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες. Παλαιότερα, που οι τροφικές δηλητηριάσεις ήταν συχνές στην Ιαπωνία, οι άνθρωποι κατανάλωναν natto σε μία προσπάθεια να προλάβουν νόσους όπως την χολέρα, τον τυφοειδή πυρετό και την δυσεντερία. Κατά μέσο όρο 75% του ιαπωνικού πληθυσμού καταναλώνει natto 2-3 φορές την εβδομάδα.



Εικόνα 9. Natto

2.4.2 Διαδικασία παραγωγής

Για την παραγωγή του natto χρησιμοποιούνται φασόλια σόγιας, τα οποία μουλιάζονται και κατόπιν μαγειρεύονται με ατμό. Τα ατμισμένα φασόλια σόγιας εμβολιάζονται με σπόρους του βακίλλου *B. Subtilis*. Η διαδικασία της ζύμωσης διαρκεί για περίπου 20 ώρες, στη διάρκεια της οποίας το άμυλο και οι πρωτεΐνες των φασολιών σόγιας μετατρέπονται σε ένα μίγμα που περιλαμβάνει αμινοξέα, βιταμίνες και ένζυμα. Τέλος, το προϊόν ζύμωσης αφήνεται για 6-8 h, στη συντήρηση να ωριμάσει και να κρυώσει.



Εικόνα 10. Η διαδικασία παραγωγής του natto

2.4.3 Μαγειρικές χρήσεις

Στην Ιαπωνία το natto είναι βασικό τρόφιμο (staple food) και καταναλώνεται από πολλούς σαν πρωινό, αλλά και καθ' όλη την διάρκεια της ημέρας. Η πιο συνηθισμένη μαγειρική παρασκευή του περιλαμβάνει ρύζι βρασμένο στον ατμό, που εν συνεχεία γαρνίρεται με natto σαν επικάλυψη (topping), μαζί με καυτή μουστάρδα, σάλτσα σόγιας και ψιλοκομμένο φρέσκο κρεμμυδάκι.



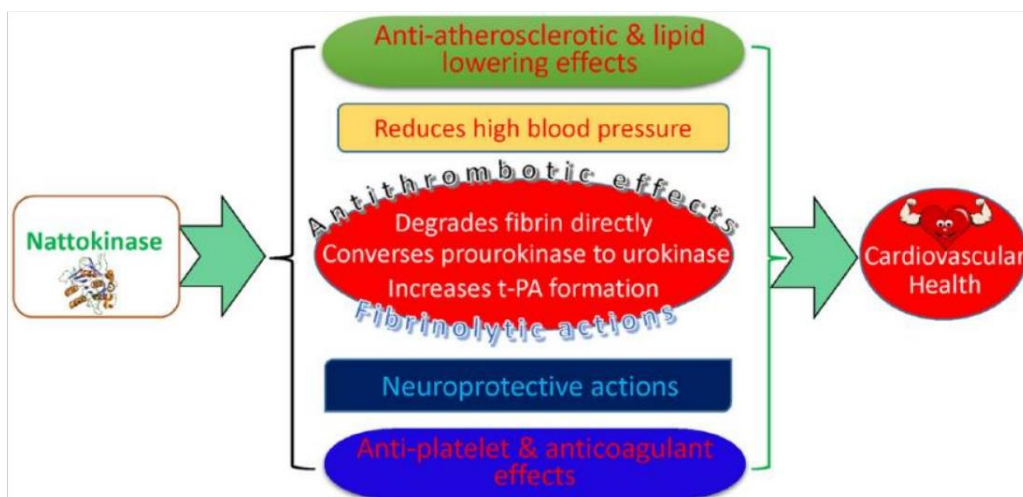
Εικόνα 11. Ρύζι βρασμένο στον ατμό, με επικάλυψη από natto, ο πιο συνηθισμένος τρόπος κατανάλωσης natto στην Ιαπωνία

2.4.4 Διατροφικά οφέλη

Το natto περιλαμβάνει το ινωδολυτικό ένζυμο ναττοκινάση, προβιοτικούς μικροοργανισμούς λόγω της ζύμωσης, βιταμίνη K2 και διπικολινικό οξύ, καθώς και σαπωνίνες και ισοφλαβονοειδή, που προέρχονται από τα φασόλια σόγιας.

Η ναττοκινάση είναι ένα ένζυμο, μία πρωτεάση σερίνης, με ποικίλες ευεργετικές δράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα. Πιο αναλυτικά, η ναττοκινάση έχει θρομβολυτικές ιδιότητες, αντι-υπερτασική και υπολιπιδαιμική δράση, ενώ ταυτόχρονα συμβάλλει σε βελτίωση της αιματικής ροής [53-56]. Σε μελέτη με 173 διαφορετικά προϊόντα που εξετάστηκαν για τις θρομβολυτικές τους ιδιότητες, κανένα ένζυμο δεν βρέθηκε να προσεγγίζει την δράση της ναττοκινάσης [57]. Έτσι, σύμφωνα με τα επιστημονικά δεδομένα, η κατανάλωση του natto μπορεί να συμβάλει στην μείωση της θνησιμότητας από καρδιαγγειακή νόσο και στα δύο φύλα [58, 59].

Οι μικροοργανισμοί *Bacillus subtilis* έχουν προβιοτική δράση [60]. Το βακτήριο *Bacillus subtilis* είναι γενικά αναγνωρισμένο ως ασφαλές με βάση την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) και πολλές προ-κλινικές και κλινικές μελέτες έχουν αναδείξει την υποσχόμενη αποτελεσματικότητά του στην θεραπεία και πρόληψη της διάρροιας, ποικίλης αιτιολογίας, καθώς και σε άλλες κλινικές καταστάσεις [61].



Εικόνα 12. Φαρμακολογικές ιδιότητες της ναττοκινάσης, που σχετίζονται με μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου (διάγραμμα από Hongjie Chen et al, 2018)

Η συγκέντρωση της βιταμίνης K2 αυξάνεται 124 φορές, σε σχέση με την περιεχόμενη στα φασόλια σόγιας πριν την ζύμωση [62]. Η βιταμίνη K2 διεγείρει τον σχηματισμό των οστών. Όταν σταματήσει η αύξηση του πληθυσμού των βακτηρίων, μετά από προσεγγιστικά 15 ώρες ζύμωσης, το natto έχει μία κολλώδη υφή, που οφείλεται στον σχηματισμό του πολύ-γ-γλουταμικού οξέος [24], το οποίο επίσης διεγείρει την απορρόφηση του ασβεστίου. Έτσι, το natto μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη της οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [63].

Το διπικολινικό οξύ (DPA, 2,6-πυριδινοδικαρβοξυλικό οξύ) που περιέχεται στο natto έχει αντιθρομβωτική δράση, παρεμποδίζοντας αφενός την συσσώρευση των αιμοπεταλίων, με δράση ισχυρότερη και από της ασπιρίνης, και αφετέρου τον μηχανισμό θρόμβωσης της θρομβίνης και του ινωδογόνου [64]. Επιπλέον, το DPA διαθέτει αντιμικροβιακή δράση ενάντια στην *E. coli* O157 και στο *Helicobacter pylori*, αιτιολογικό παράγοντα για στομαχικά έλκη [65].

Συμπερασματικά, το natto προσελκύει σε παγκόσμιο επίπεδο το ενδιαφέρον των ερευνητών ως ένα τρόφιμο που προωθεί την μακροζωία.

3 ΤΟ ΚΑΙΝΟΤΟΜΟ ΠΡΟΪΟΝ HOLI BEAN

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζεται το προϊόν Holi Bean που αναπτύχθηκε από την ομάδα του Χαροκοπέιου Πανεπιστημίου, με επιστημονικό υπεύθυνο τον καθηγητή κύριο Μπόσκου. Στην ομάδα επικεφαλής ήταν η συγγραφέας της παρούσας εργασίας, ενώ επίσης συμμετείχαν οι Παρασκευουλάκου Ευτυχία και Μπάλντζη Βικτώρια. Πρόκειται για ένα λειτουργικό προϊόν που περιέχει δύο βασικά στοιχεία της μεσογειακής διατροφής, και συγκεκριμένα ελληνικά λευκά φασόλια και εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο. Τα φασόλια ζυμώνονται, με διαδικασία αντίστοιχη του παραδοσιακού ιαπωνικού προϊόντος natto (βλ. Κεφ 3.4), και στη συνέχεια πολτοποιούνται προς παραγωγή πάστας, με ταυτόχρονη προσθήκη του ελαιολάδου και μπαχαρικών, για ενίσχυση της γεύσης του παραγόμενου τελικού προϊόντος. Το προϊόν απέσπασε τρίτο βραβείο καινοτομίας στον Εθνικό Πανεπιστημιακό Διαγωνισμό του Συνδέσμου Ελληνικών Βιομηχανιών Τροφίμων, “Ecotrophelia 2019” και προσέλκυσε το ενδιαφέρον πολλών καταναλωτών, οι οποίοι εκφράστηκαν ιδιαίτερα θερμά σχετικά με το γευστικό αποτέλεσμα αλλά ακόμη ενδιαφέρθηκαν για τις λειτουργικές του ιδιότητες.



Εικόνα 13. Το προϊόν Holi Bean

3.1 Παρουσίαση του προϊόντος και των καινοτόμων χαρακτηριστικών του

Το καινοτόμο τρόφιμο Holi Bean είναι μια πάστα από ζυμωμένα λευκά φασόλια, εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο και μπαχαρικά. Ύστερα από σειρά γευστικών δοκιμών τα μπαχαρικά που επιλέχθηκαν ήταν καπνιστή πάπρικα, σκόρδο σε σκόνη και μαύρο πιπέρι, τα οποία πρόσδωσαν μία χαρακτηριστική γεύση που παρέπεμπε σε αλλαντικό προϊόν, ενώ το προϊόν περιέχει αποκλειστικά συστατικά φυτικής προέλευσης. Πρόκειται για ένα τρόφιμο κατάλληλο και για αυστηρούς χορτοφάγους, το οποίο δεν παστεριώνεται ώστε να παραμένουν αναλλοίωτα τα θρεπτικά συστατικά της ζύμωσης.



Εικόνα 14. Οι βασικές πρώτες ύλες για την παραγωγή του Holi Bean, μαζί με δείγμα από το τελικό προϊόν.

Η ιδέα για τη ζύμωση του λευκού ελληνικού φασολιού προέρχεται από το παραδοσιακό ιαπωνικό προϊόν natto, αποτέλεσμα της ζύμωσης φασολιών σόγιας με τον βάκιλο *Bacillus subtilis*. Η κατανάλωση του natto συνδέεται με μία σειρά ωφελειών για την υγεία, που προέρχονται από την παραγόμενη ναττοκινάση, τα περιεχόμενα προβιοτικά και πρεβιοτικά, την βιταμίνη K2 κ.α. (βλ. Κεφ. 3.4.3). Η ναττοκινάση είναι ένα ένζυμο, μία πρωτεάση σερίνης, γνωστό για τις αντιθρομβωτικές και ινωδολυτικές του ιδιότητες.

Η χρησιμοποίηση ενός λευκού ελληνικού φασολιού για την ζύμωση με τον βάκιλο *Bacillus subtilis* προς παραγωγή ενός είδους ελληνικού natto, από την μία, και, από την άλλη, η πολτοποίηση του παραγόμενου ζυμωμένου προϊόντος για την παραγωγή μιας εύχρηστης για τον καταναλωτή πάστας συνιστούν τους δύο βασικούς άξονες καινοτομίας του προϊόντος. Επιπλέον, υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης φασολιών χαμηλότερης ποιότητας, β' διαλογής, που δεν θα μπορούσαν να διατεθούν στην λιανική αγορά. Το τρόφιμο Holi Bean είναι, ουσιαστικά, μία παραλλαγή ενός παραδοσιακού λειτουργικού ιαπωνικού προϊόντος που δεν υπάρχει ούτε στην Ιαπωνία ούτε στην παγκόσμια αγορά, προσανατολισμένη στην προώθηση τοπικών ελληνικών προϊόντων και προσαρμοσμένη στις ευρωπαϊκές γευστικές προτιμήσεις.

Η παραγόμενη πάστα συγκεράζει αποτελεσματικά τη γεύση με τα διατροφικά οφέλη (λειτουργικές ιδιότητες) από την κατανάλωση. Πρόκειται για ένα λειτουργικό προϊόν, κατάλληλο για αυστηρούς χορτοφάγους, για χορτοφάγους και για reducetarians, δηλαδή για ανθρώπους που θέλουν να μειώσουν την κατανάλωση ζωικών προϊόντων.

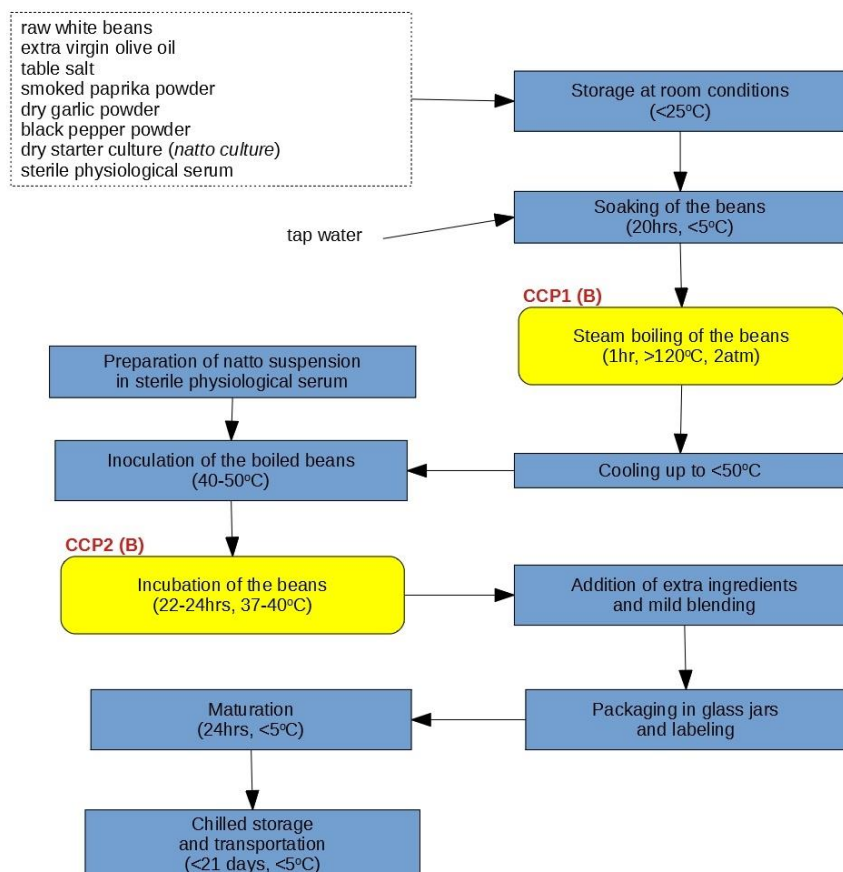


Εικόνα 15. Στιγμιότυπο από την διακόσμηση του περιπτέρου μας

3.2 Διαδικασία παραγωγής

Η διαδικασία παραγωγής του Holí Bean παρουσιάζεται στο σχήμα 4.3. Αναλυτικά, η διαδικασία παραγωγής απαρτίζεται από την ακόλουθη σειρά βημάτων.

- i.1 Τα λευκά φασόλια μουλιάζονται για 20 ώρες, στη συντήρηση.
- i.2 Στη συνέχεια, ατμίζονται για μία ώρα, σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από 120°C και σε πίεση 2 atm.
- i.3 Αφήνονται στην άκρη να κρυώσουν.
- i.4 Όταν η θερμοκρασία τους φτάσει στους 40-50°C πραγματοποιείται ο εμβολιασμός τους με εναιώρημα *natto* που έχει αραιωθεί σε αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό.
- i.5 Επωάζονται για 22-24 ώρες σε θερμοθάλαμο, σε ελεγχόμενες σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας, στο εύρος 37-40°C
- i.6 Η επώαση διακόπτεται και πραγματοποιείται η προσθήκη των υπόλοιπων υλικών της συνταγής, δηλαδή του ελαιολάδου, αλατιού και μπαχαρικών.
- i.7 Πραγματοποιείται ανάμιξη των συστατικών, πολτοποίηση και ομογενοποίηση του μίγματος.
- i.8 Το προϊόν συσκευάζεται σε γυάλινα βάζα και τοποθετείται η σχετική ετικέτα του προϊόντος.
- i.9 Το προϊόν αφήνεται να ωριμάσει για μία ημέρα στη συντήρηση.
- i.10 Το προϊόν τοποθετείται σε ψυκτικούς θαλάμους και διανέμεται στα σημεία πώλησης
- i.11 Στα σημεία πώλησης, το προϊόν αποθηκεύεται σε συνθήκες συντήρησης (<5°C), όπου και παραμένει για διάστημα 21 ημερών.



Εικόνα 16. Το διάγραμμα παραγωγής του Holi Bean

3.3 Σύστημα Ανάλυσης Κινδύνου με Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου

Με βασικούς άξονες την ασφάλεια του παραγόμενου προϊόντος, την ορθολογική χρήση των πρώτων υλών και την αποτελεσματική και άμεση αντίδραση σε τυχόντα προβλήματα, γίνεται ανάλυση Κινδύνου με Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (Εγχειρίδιο Ανάλυσης Κινδύνων με Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου, Μπόσκου Γεώργιος).

Η ανάλυση κινδύνου για τα συστατικά του Holi Bean παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1: Ανάλυση κινδύνων για τα συστατικά του Holi Bean

Συστατικό	Πιθανός Κίνδυνος		Προληπτικό μέτρο
Λευκά φασόλια	Βιολογικός	Μύκητες	Συντήρηση σε ξηρό μέρος
	Χημικός	υπολείμματα χημικών αγροχημικών	Προϊόν βιολογικής καλλιέργειας
	Φυσικός	Μικρές πέτρες, χώματα, ξυλαράκια	Υποβολή σε διαδικασία διαλογής
	Αλλεργιογόνα	-	
Καλλιέργεια Natto	Βιολογικός	Επιμόλυνση του αρχικού εμβολίου για την εκκίνηση της καλλιέργειας	Αγορά από αξιόπιστους προμηθευτές και συντήρηση σε κλειστές συσκευασίες
	Χημικός	-	
	Φυσικός	-	
	Αλλεργιογόνα	-	
Φυσιολογικός Ορός	Κανένας	-	Διατηρείται σφραγισμένος
Νερό	Βιολογικός	Παθογόνο E. Coli	Χρήση πόσιμου νερού βρύσης ή εμφιαλωμένου νερού
	Χημικός	Χλώριο και βαρέα μέταλλα	
	Φυσικός	-	
	Αλλεργιογόνα	-	
Εξαιρετικά παρθένο ελαιόλαδο	Βιολογικός	-	
	Χημικός	Υπολείμματα φυτοφαρμάκων, διοξίνες, PCBs, σε υπέρβαση των σχετικών ορίων με βάση το ρυθμιστικό πλαίσιο και βενζο [α] πυρένιο	Αγορά από αξιόπιστους προμηθευτές
	Φυσικός	-	
	Αλλεργιογόνα	-	
Καπνιστή πάπρικα	Βιολογικός	Μύκητες	Συντήρηση σε ξηρό μέρος
	Χημικός	PAHs	Αγορά από αξιόπιστους προμηθευτές
	Φυσικός	ξύλινα θραύσματα	Κοσκίνισμα πριν την χρήση/χρήση διανομέα με κόσκινο
	Αλλεργιογόνα	-	

Σκόρδο αποξηραμένο σε σκόνη	Βιολογικός	Μύκητες	Συντήρηση σε ξηρό μέρος
	Χημικός	υπολείμματα χημικών αγροχημικών	Αγορά από αξιόπιστους προμηθευτές
	Φυσικός	ξύλινα θραύσματα	Κοσκίνισμα πριν την χρήση/χρήση διανομέα με κόσκινο
	Αλλεργιογόνα	-	
Επιτραπέζιο αλάτι	Κανέναν	-	
Μαύρο Πιπέρι	Βιολογικός	-	
	Χημικός	-	
	Φυσικός	ξύλινα θραύσματα	Κοσκίνισμα πριν την χρήση/χρήση διανομέα με κόσκινο
	Αλλεργιογόνα	-	

Η ανάλυση κινδύνων για την παραγωγική διαδικασία παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.2.

Το σχέδιο ΑΚΚΣΕ (Ανάλυση Κινδύνων και Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου) για την παραγωγική διαδικασία του Holi Bean παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.3. Πιο αναλυτικά, υπάρχει ένα κρίσιμο σημείο ελέγχου για πιθανό βιολογικό κίνδυνο (ανάπτυξη μυκήτων) στο στάδιο του βρασμού/ατμίسمatos των φασολιών με κρίσιμο όριο 120°C/2 atm για τουλάχιστον 1 ώρα. Η παρακολούθηση πραγματοποιείται με καταγραφή των συνθηκών θερμοκρασίας, πίεσης και χρόνου βρασμού. Αν παρατηρηθεί απόκλιση από τα κρίσιμα όρια, πραγματοποιείται επανάληψη της διεργασίας του βρασμού ως διορθωτική ενέργεια. Υπάρχει, ακόμα, ένα δεύτερο κρίσιμο σημείο ελέγχου για ανίχνευση πιθανού κινδύνου βιολογικής φύσεως, στο στάδιο της επώασης-ζύμωσης των φασολιών με κρίσιμα όρια 39-40°C/22 ώρες. Η παρακολούθηση πραγματοποιείται με καταγραφή των τιμών θερμοκρασίας-χρόνου στη διάρκεια της ζύμωσης. Τυχούσα απόκλιση από τα ορισμένα κρίσιμα όρια αντιμετωπίζεται με επανάληψη του σταδίου της επώασης ως διορθωτικό μέτρο.

Πίνακας 4.2: Ανάλυση κινδύνων για την διαδικασία παραγωγής

Διεργασία	Πιθανός Κίνδυνος		Προληπτικό μέτρο
Αποθήκευση των πρώτων υλών	Βιολογικός	Ανάπτυξη μυκήτων	Διατήρηση θερμοκρασίας έως 25°C και της υγρασίας έως 65%. Καλές συνθήκες αερισμού των χώρων.
	Χημικός	Μυκοτοξίνες από τους μύκητες	
	Φυσικός	Έντομα	Έλεγχος παρασίτων. FIFO/FEFO ⁴ μέθοδοι διαχείρισης των πρώτων υλών
Μούλιασμα των φασολιών	Βιολογικός	Ανάπτυξη μυκήτων	Το μούλιασμα των φασολιών πραγματοποιείται σε συνθήκες συντήρησης (<4°C)
	Χημικός	Μυκοτοξίνες από τους μύκητες	
Άτμισμα φασολιών	Βιολογικός	Ανάπτυξη μυκήτων	Βράσιμο στους 120°C για τουλάχιστον 1 ώρα
Προετοιμασία της καλλιέργειας natto	Βιολογικός	Επιμόλυνση της καλλιέργειας με σταφυλόκοκκο	Τήρηση ορθών πρακτικών υγιεινής
Εμβολιασμός των φασολιών με την καλλιέργεια natto	Βιολογικός	Επιμόλυνση της καλλιέργειας με σταφυλόκοκκο	Τήρηση ορθών πρακτικών υγιεινής
Επώαση	Βιολογικός	Ανάπτυξη μυκήτων	Η επώαση διαρκεί για τουλάχιστον 22 ώρες
Προσθήκη των υπόλοιπων συστατικών	Βιολογικός	Επιμόλυνση της καλλιέργειας με σταφυλόκοκκο	Τήρηση ορθών πρακτικών υγιεινής
Συσκευασία σε γυάλινα δοχεία	Βιολογικός	Επιμόλυνση της καλλιέργειας με σταφυλόκοκκο	Τήρηση ορθών πρακτικών υγιεινής. Χρήση αποστειρωμένων βάζων.
Αποθήκευση στην κατάψυξη για μεταφορά/διανομή	Βιολογικός	Επιμόλυνση της καλλιέργειας με σταφυλόκοκκο	Τήρηση ορθών πρακτικών υγιεινής. Τήρηση της κρύας αλυσίδας.

4 Οι μέθοδοι FIFO (First In First Out) και FEFO (First Expired First Out) αποτελούν μεθόδους οργάνωσης και αποθήκευσης των πρώτων υλών σε μία παραγωγική διαδικασία, σύμφωνα με τις οποίες οι πρώτες ύλες που εισαγονται στην αποθήκη πρώτες ή έχουν πιο σύντομη ημερομηνία λήξης, είναι αυτές που θα καταναλωθούν και πρώτες.

Πίνακας 4.3: Σχέδιο ΑΚΚΣΕ για την παραγωγική διαδικασία του Holi Bean

ΚΣΕ	Διεργασία	Κίνδυνος	Κρίσιμο Όριο	Παρακολούθηση	Διορθωτικές Ενέργειες	Αρχείο Καταγραφής
ΚΣΕ1	Άτμισμα φασολιών	Βιολογικός	>120°C, 1 h, >2 atm	Καταγραφή των παραμέτρων θ, t, P μαγειρέματος σε κάθε παρτίδα	Επανάληψη διεργασίας	Μικροβιολογικό αρχείο των παραμέτρων μαγειρέματος σύμφωνα με τον Ν. 2073/2005
ΚΣΕ2	Επώαση/ Ζύμωση	Βιολογικός	>22h at 39-40°C	Καταγραφή των παραμέτρων θ, t ζύμωσης-επώασης σε κάθε παρτίδα	Ανάκληση της παρτίδας αν η θ αυξήθηκε πέραν των αποδεκτών ορίων για διάστημα μεγαλύτερο των δύο ωρών. Επέκταση της περιόδου ζύμωσης κατά λίγες ώρες με την προσθήκη πρόσθετης ποσότητας καλλιέργειας natto-εμβολίου	Μικροβιολογικό αρχείο των παραμέτρων ζυμωτικής διαδικασίας σύμφωνα με τον Ν. 2073/2005

3.4 Μικροβιολογικός έλεγχος

3.4.1 Δείγματα προς ανάλυση

Με την βοήθεια του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας, την πολύτιμη συνδρομή της κυρίας Κώτσου και την επιμέλεια της Αναπληρώτριας Καθηγήτριας κυρίας Κυριακού πραγματοποιήθηκε μικροβιολογικός έλεγχος σε τέσσερα δείγματα. Το δείγμα 1 είναι ζυμωμένο προϊόν από λευκά φασόλια το οποίο ήταν αποθηκευμένο στην κατάψυξη για χρονικό διάστημα δύο μηνών. Το δείγμα 2 είναι φρέσκο προϊόν Holi Bean, που παρασκευάστηκε ακριβώς για τις ανάγκες του μικροβιολογικού ελέγχου. Τα δείγματα 3 και 4 είναι δύο παλιότερα δείγματα προϊόντος Holi Bean που διατηρήθηκαν σε συνθήκες συντήρησης (<4°C) για χρονικό διάστημα 2 μηνών.

3.4.2 Αποτελέσματα μικροβιολογικού ελέγχου

Στους Πίνακα 4.4 και 4.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα καταμέτρησης του μικροβιακού φορτίου σε θρεπτικά υλικά Plate Count Agar, θρεπτικό υλικό για ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών, και MYP, το οποίο συνιστά θρεπτικό υλικό εκλεκτικό για *Bacillus*. Η εν λόγω διαδικασία ανέδειξε την επικράτηση δύο διαφορετικών ειδών μικροοργανισμών, Α και Β.

Ο μικροοργανισμός Α (που σχηματίζει τις αποικίες τύπου Α) προσδιορίστηκε με μία σειρά δοκιμών ως gram+ και θετικός στη δοκιμασία καταλάσης βάκιλλος, διαφόρων μεγεθών, που σχηματίζει ενδοσπόρια, δηλαδή φαίνεται να είναι ο μικροοργανισμός *Bacillus* sp. που χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό του αρχικού τροφίμου.

Ο μικροοργανισμός Β προσδιορίστηκε ως gram + και αρνητικός στην δοκιμασία της καταλάσης καταλάσης κόκκος. Σε θρεπτικό υλικό Slanetz – Bartley, το οποίο είναι εκλεκτικό για εντερόκοκκους, έδωσε τυπικές αποικίες, ώστε κατά πάσα πιθανότητα ο μικροοργανισμός Β ανήκει στους εντερόκοκκους.

Στον Πίνακα 4.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της καταμέτρησης μικροβιακού φορτίου σε θρεπτικό υλικό Chromocult, εκλεκτικό θρεπτικό υλικό για τα κολίμορφα βακτήρια. Αναδείχθηκε η ύπαρξη κολίμορφων βακτηρίων στο αρχικό προϊόν ζυμωμένων φασολιών (δείγμα 1). Στα δείγματα τελικού προϊόντος, όμως, (δείγματα 2-4), δεν εμφανίζονται καθόλου κολίμορφα βακτήρια, το οποίο είναι πολύ θετικό στοιχείο, αφού φαίνεται πως με τους χειρισμούς για την παρασκευή του τελικού προϊόντος αντιμετωπίζεται αποτελεσματικά τυχούσα επιμόλυνση κολίμορφων βακτηρίων από κάποιο μη-ελεγχόμενο στάδιο.

Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα καταμέτρησης μικροβιακού φορτίου σε θρεπτικό υλικό Plate Count Agar

Θρεπτικό υλικό		Plate Count Agar	
Αποικίες (cfu/g)		A	B
Δείγμα 1	Ζυμωμένα λευκά φασόλια από την κατάψυξη	$4.7 (\pm 0.6) \cdot 10^6$	$1.6 (\pm 0.6) \cdot 10^7$
Δείγμα 2	Φρέσκο τελικό προϊόν Holi Bean	$2 (\pm 0.7) \cdot 10^6$	$2.4 (\pm 0.3) \cdot 10^6$
Δείγμα 3	Παλιότερο δείγμα Holi Bean από την συντήρηση 1	$6.9 (\pm 0.6) \cdot 10^8$	$1.4 (\pm 0.5) \cdot 10^9$
Δείγμα 4	Παλιότερο δείγμα Holi Bean από την συντήρηση 2	$1.2 (\pm 0.5) \cdot 10^8$	$2.5 (\pm 0.3) \cdot 10^8$

*οι αριθμοί στην παρένθεση είναι η τυπική απόκλιση των μέσων

Πίνακας 4.5: Αποτελέσματα καταμέτρησης μικροβιακού φορτίου σε θρεπτικό υλικό ΜΥΡ

Θρεπτικό υλικό		ΜΥΡ	
Αποικίες (cfu/g)		A	B
Δείγμα 1	Ζυμωμένα λευκά φασόλια από την κατάψυξη	$1.2 (\pm 0.3) \cdot 10^7$	$1.2 (\pm 0.3) \cdot 10^7$
Δείγμα 2	Φρέσκο τελικό προϊόν Holi Bean	$1.9 (\pm 0.6) \cdot 10^6$	$1.4 (\pm 0.3) \cdot 10^6$
Δείγμα 3	Παλιότερο δείγμα Holi Bean από την συντήρηση 1	$9.3 (\pm 3.7) \cdot 10^8$	$2.1 (\pm 1.4) \cdot 10^9$
Δείγμα 4	Παλιότερο δείγμα Holi Bean από την συντήρηση 2	$2.1 (\pm 0.07) \cdot 10^8$	$2.5 (\pm 0.1) \cdot 10^8$

*οι αριθμοί στην παρένθεση είναι η τυπική απόκλιση των μέσων

Πίνακας 4.6: Περιγραφικά στοιχεία και αποτελέσματα δοκιμασιών στους δύο διαφορετικούς τύπους μικροοργανισμών που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα

Περιγραφή αποικιών	Τύποι αποικιών	
	A	B
	μεγάλες, ανάγλυφες, πεπλατυσμένες με κυματοειδή περιφέρεια	μικρές, στρογγυλές, διαφανείς
Χρώση Gram	+	+
Δοκιμή καταλάσης	+	-
Κόκκος/Βάκιλλος	Βάκιλλος	Κόκκος
Σχηματισμός ενδοσπορίου	✓	x

Πίνακας 4.7: Αποτελέσματα καταμέτρησης μικροβιολογικού φορτίου σε θρεπτικό υλικό Chromocult

Θρεπτικό υλικό		Chromocult
Αποικίες (cfu/g)		Ολικά κολίμορφα
Δείγμα 1	Ζυμωμένα λευκά φασόλια από την κατάψυξη	$2.5 (\pm 0.06) \cdot 10^3$
Δείγμα 2	Φρέσκο τελικό προϊόν Holi Bean	-
Δείγμα 3	Παλιότερο δείγμα Holi Bean από την συντήρηση 1	-
Δείγμα 4	Παλιότερο δείγμα Holi Bean από την συντήρηση 2	-

*οι αριθμοί στην παρένθεση είναι η τυπική απόκλιση των μέσων

3.4.3 Συμπεράσματα

Σχετικά με το μικροβιακό φορτίο, ο αριθμός των μικροοργανισμών που καταμετρήθηκαν είναι ικανοποιητικός για την ζύμωση, της τάξης 10^6 με 10^8 cfu/g. Από την σύγκριση, δε, των καταμετρούμενων βακίλλων στα δείγματα 3 και 4 σε σχέση με τα δείγματα 1 και 2, φαίνεται πως, οι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στην διαδικασία της ζύμωσης πολλαπλασιάζονται σημαντικά στο τελικό προϊόν σε συνθήκες συντήρησης. Σημειώνεται, όμως, ότι δεν μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα, δεδομένου ότι τα δείγματα 3 και 4 δεν προέρχονται από τα δείγματα 1 και 2. Για την επιβεβαίωση της συγκεκριμένης υπόθεσης απαιτείται καταμέτρηση του μικροβιακού φορτίου στα διάφορα στάδια παραγωγής και συντήρησης του ίδιου δείγματος, με την ίδια πρώτη ύλη ζυμωμένων φασολιών.

Σχετικά με το είδος των μικροοργανισμών που εμφανίζονται με τις αποικίες τύπου B, συστήνεται να γίνουν περαιτέρω αναλύσεις ώστε να εξακριβωθεί η πηγή προέλευσης του πιθανού εντερόκοκκου. Πιο αναλυτικά, χρειάζεται να εξεταστεί αν ο πιθανός αυτός εντερόκοκκος υπάρχει στο αρχικό εμβόλιο μαζί με τον *Bacillus subtilis* ή αν πρόκειται για επιμόλυνση από κακό χειρισμό, επιμολυσμένη πρώτη ύλη κλπ.

3.5 Διατροφική ανάλυση και ετικέτα προϊόντος

Η διατροφική ανάλυση του προϊόντος Holi Bean εξήχθη υπολογιστικά, με βάση τα επιμέρους συστατικά του και την ποσόστωση αυτών στην τελική συνταγή. Τα δεδομένα διατροφικού προφίλ για τα επιμέρους συστατικά της συνταγής προήλθαν από την Βάση Δεδομένων του Υπουργείου Γεωργίας των ΗΠΑ (USDA, Food Data Central).

Με βάση την ανάλυση του Πίνακα 4.8, η διατροφική αξία του προϊόντος, όπως αυτή αναγράφεται στην συσκευασία, παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.9, ακολούθως.

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΖΥΜΩΣΗΣ ΑΠΟ ΟΣΠΡΙΑ






Produced in Greece



5 202109 549311



Producer: HUA TEAM 19,
E. Venizelou st. 70, 17671 Kallithea
Athens, Greece
www.hua.gr
@holibeanpaste

372.3 KJ 89 Kcal	Fat 7.6g	Saturates 1.1g	Sugars 0g	Fiber 16g	Salt 17g
45%	10.8%	5.3%	0%	6.6%	12.4%

per serving (20g)
net weight 165g e



HOLI BEAN

FERMENTED BEAN PASTE
WITH EXTRA VIRGIN OLIVE OIL

Nutritional Declaration	per 100g	per serving(20g)	% GDA per serving	% DRI per serving
ENERGY	1491.5KJ/365.5 KJ/Kcal	372.3X89 KJ/Kcal	45%	
FAT:	30.3 g	7.6 g	10.8%	
• Saturates (g)	4.3 g	1.1 g	5.3%	
CARBOHYDRATES	17.2 g	4.3 g	1.7%	
• sugars	0 g	0 g	0%	
• fiber	6.6 g	1.6 g	6.6%	
PROTEINS	5.6 g	1.4 g	2.8%	
SALT	2.9	0.7	12.4%	
POTASSIUM	412.5 mg	104 mg		5.2%
PHOSPHORUS	118.8 mg	29.7 mg		4.2%
FOLIC ACID	97.2 mcg	24.3 mcg		12.1%

GDA: Guideline of Daily Amounts for an average adult with 2000 Kcal of daily intake
DRI: Daily Reference Intake for an average adult

Ingredients: Fermented bean pulp (64%) extra virgin olive oil (30%), smoked paprika powder, salt, garlic powder, black pepper

To be kept in the refrigerator. Once it is opened to be consumed within 7 days.

Source of potassium & phosphorus -High in folic acid and monounsaturated fat
Contains amino acids, nattokinase (enzyme) & probiotics

Expiring date: on the lid

Εικόνα 17. Ετικέτα του προϊόντος Holi Bean

Πίνακας 4.8: Διατροφική ανάλυση του προϊόντος Holi Bean με βάση τα θρεπτικά συστατικά των επιμέρους συστατικών της συνταγής του

Μακροθρεπτικά συστατικά ανά 100 g							
Συστατικά	Natto από λευκά φασόλια	Ελαιό-λαδο	Άλας	Μαύρο πιπέρι	Σκόρδο σε σκόνη	Καπνιστή πάπρικα	Holi Bean
Ποσότητα (g)	64.2	28.5	3.0	0.8	1.5	2.0	100.0
g/100 g συστατικού							
Ενέργεια (Kcal)	165.2	884.0	0.0	251.0	331.0	40.0	365.9
Λιπίδια	0.6	100.0	0.0	3.2	0.7	0.1	28.9
Κορεσμένα λιπαρά	0.1	13.8	0.0	1.4	0.3	0.0	4.0
Υδατάνθρακες	30.6	0.0	0.0	64.0	72.7	9.3	21.5
Σάκχαρα	0.0	0.0	0.0	0.6	2.4	4.2	0.1
Φυτικές ίνες	12.2	0.0	0.0	25.3	9.0	1.7	8.2
Πρωτεΐνες	10.4	0.0	0.0	10.4	16.6	1.1	7.0
Αλάτι	0.02	0.00	98.5	0.05	0.15	0.01	3.0
Μονοακόρεστα λιπαρά	0.1	73.0	0.0	0.7	0.1	0.0	20.8
Πολυακόρεστα λιπαρά	0.3	10.5	0.0	1.0	0.2	0.2	3.2
Χοληστερόλη (mg)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Πίνακας 4.9: Διατροφική αξία του προϊόντος Holi Bean

Διατροφική αξία	/100 g	/μερίδα*	% ΠΠΑ
Θερμίδες (Kcal)	365.9	73.2	3.7%
Λιπαρά (g)	28.9	5.8	8.3%
Κορεσμένα λιπαρά (g)	4.0	0.8	4.0%
Υδατάνθρακες (g)	21.5	4.3	1.7%
Σάκχαρα (g)	0.1	0.0	0.0%
Φυτικές ίνες (g)	8.2	1.6	6.6%
Πρωτεΐνες (g)	7.0	1.4	2.8%
Αλάτι (g)	3.0	0.6	9.9%

*Ως μερίδα νοείται ποσότητα ίση με 20 g προϊόντος

3.6 Μαγειρικές χρήσεις

Το Holi Bean είναι μια αλμυρή πάστα που μπορεί να καταναλωθεί με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Βασικά, μπορεί να καταναλωθεί σαν άλειμμα σε ψωμί, φρυγανιές, ρυζογκοφρέτες κλπ, ως ένα γρήγορο και υγιεινό σνακ ή ορεκτικό, για όλες τις ώρες της ημέρας. Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν σάλτσα (dressing) για ψητό κρέας, κοτόπουλο, πατάτες και λαχανικά ή ακόμα να χρησιμοποιηθεί σαν ζωμός σε σούπα για πρόσθετη γεύση.



Εικόνα 18. Ο δίσκος για την γευστική δοκιμή από την κριτική επιτροπή του διαγωνισμού

3.7 Διατροφικά οφέλη

Το Holi Bean είναι ένα ζυμωμένο λειτουργικό προϊόν, το οποίο δεν παστεριώνεται, ώστε να διατηρηθούν αναλλοίωτα τα θρεπτικά συστατικά της ζύμωσης. Συγκεντρώνει, λοιπόν, έναν αριθμό από διατροφικά οφέλη, τα πιο ενδιαφέροντα από τα οποία συνδέονται με τις καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες από την παραγόμενη ναττοκινάση.

Με βάση πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα, η ναττοκινάση έχει ισχυρή ινωδολυτική δράση καθώς και αντι-υπερτασικές, αντι-αθηροσκληρωτικές, υπολιπιδαιμικές, αντι-αιμοπεταλιακές αλλά και νευροπροστατευτικές επιδράσεις. Αυτή τη στιγμή, η ναττοκινάση ως δραστική ουσία εξετάζεται σε μία τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή στις ΗΠΑ, για μείωση του καρδιαγγειακού κινδύνου και πρόληψη αθηροσκλήρωσης καθώς και για τις νευροπροστατευτικές της ιδιότητες [66].

Επιπροσθέτως, το προϊόν είναι πλούσια πηγή προβιοτικών εξαιτίας των μικροοργανισμών ζύμωσης *Bacillus subtilis*. Σύμφωνα με μικροβιολογικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο ζυμωμένο τελικό προϊόν, ο αριθμός των βακτηρίων *Bacillus subtilis* είναι της τάξης 10^6 cfu/g τελικού προϊόντος. Ο μικροοργανισμός *Bacillus subtilis* είναι πιστοποιημένος ως ασφαλής από την Διοίκηση Τροφίμων και Φαρμάκων καθώς και από την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων. Μια σειρά από κλινικές και προκλινικές μελέτες έχουν αναδείξει την υποσχόμενη αποτελεσματικότητά του για την αντιμετώπιση και πρόληψη της διάρροιας, ποικίλης αιτιολογίας, καθώς και για άλλες κλινικές καταστάσεις [60, 61].

Σύμφωνα με το ισχύον θεσμικό πλαίσιο, Ν. 1169/2011 και Ν. 1924/2006, το Holi Bean είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, λόγω του περιεχόμενου ελαιολάδου, καθώς και πηγή καλίου. Είναι, επίσης, πλούσια πηγή φυτικών ινών, που προκύπτουν από τη φύση της πρώτης ύλης (25 γρ φυτικές ίνες ανά 100 γρ λευκού φασολιού). Ακόμα είναι πηγή φωσφόρου και φυλλικού οξέος.

Η παραγόμενη λόγω της διαδικασίας ζύμωσης βιταμίνη K2 (μενακινόννη) προωθεί περαιτέρω την καρδιαγγειακή υγεία αλλά και την οστική υγεία, συνιστώντας ένα μικροθρεπτικό συστατικό πολύτιμο για γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση.

Holi BEAN: A paste for taste, better health and environment!

"Holi BEAN" is a plant-based, dairy alternative paste of fermented beans, extra virgin olive oil and spices. It is inspired by Natto, a traditional fermented Japanese food known for its health-promoting properties, famous among health-conscious consumers.

Our vision was to create a unique Greek version of Natto, by using local small white beans, extra virgin olive oil and spices to produce a paste with a Mediterranean flavour.

Because of its characteristics, Holi BEAN belongs to future food trends, that combine convenience with high nutrition and strong taste.

Holi BEAN is a wealth of nutrients, such as:

- nattokinase, an enzyme offering cardiovascular benefits (enhanced blood flow, thrombolytic, anti-hypertensive, lipid-lowering activity)
- probiotics and prebiotics, supporting digestive system
- vitamin K2, an important nutrient for bone health, and post-menopausal women
- monounsaturated fatty acids and antioxidants, further promoting heart health
- other nutrients and vitamins: essential amino acids, dietary fiber, potassium, folic acid, phosphorus.

- No artificial processed ingredients
- High nutrient content
- Gluten-free
- GMO-free
- Vegan product
- Low environmental footprint

Uses: a flavorsome snack easily consumed all-day long! It can be used as a non-dairy spread alternative on bread and crackers or sandwiches, consisting a healthy and tempting appetizer or snack consumed all-day long.



HUA TEAM 2019
Kapoliou Eleni (ds215089@hua.gr)
Baintzi Viktoria
Paraskevoulakou Eftychia
Prof. Dr. Boskou George (gboskou@hua.gr)
f @holibeanpaste

Εικόνα 19. Το ενημερωτικό φυλλάδιο για το Holi Bean που δινόταν στους επισκέπτες την ημέρα του Διαγωνισμού

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία παρουσιάστηκαν ζυμωμένα προϊόντα οσπρίων, που παραδοσιακά παράγονται στις ασιατικές χώρες, καθώς και ένα καινοτόμο προϊόν από ζύμωση λευκών ελληνικών φασολιών, που αναπτύχθηκε στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο στο πλαίσιο του Πανεπιστημιακού Διαγωνισμού “Ecotrophelia 2019” και απέσπασε τρίτο βραβείο καινοτομίας.

Τα παραδοσιακά προϊόντα οσπρίων που παρουσιάστηκαν στην παρούσα εργασία παράγονται, στο σύνολό τους, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα για την ζύμωση φασόλια σόγιας. Πρόκειται για τα τρόφιμα miso, tempeh, σάλτσα σόγιας και natto, τρόφιμα ιδιαίτερα συνηθισμένα στις χώρες από τις οποίες προέρχονται, τα οποία γίνονται δημοφιλή σε παγκόσμιο, πλέον, επίπεδο. Αυτό συμβαίνει τόσο εξαιτίας των λειτουργικών ιδιοτήτων που τα συνοδεύουν όσο και εξαιτίας της διάδοσης της χορτοφαγίας και της συνακόλουθης ανάγκης για αναζήτηση φυτικών τροφίμων με υψηλή διατροφική αξία προς αντικατάσταση της ζωικής πρωτεΐνης.

Τα φασόλια σόγιας ως χρησιμοποιούμενη πρώτη ύλη εμπεριέχουν πλήθος μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών, όπως για παράδειγμα πρωτεΐνη, ισοφλαβονοειδή, ασβέστιο, διαιτητικές ίνες (πρεβιοτικά) και κάλιο. Παρόλα αυτά, η διαδικασία της ζύμωσης ενισχύει την διατροφική αξία τους, ώστε τα τελικώς παραγόμενα τρόφιμα είναι πιο πλούσια σε διαιτητικές ίνες και κάλιο, καθώς και σε άλλα βιοενεργά συστατικά, συγκρινόμενα με τα ανάλογα μη ζυμωμένα προϊόντα. Επιπλέον, τα ζυμωμένα προϊόντα σόγιας είναι πιο εύπεπτα, εξαιτίας της αποικοδομητικής δράσης των μικροοργανισμών στα μακροθρεπτικά συστατικά του υποστρώματος και, ως εκ τούτου, παρουσιάζουν και βελτιωμένα επίπεδα βιοδιαθεσιμότητας. Τα βιοενεργά συστατικά των ζυμωμένων προϊόντων περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, το ινωδολυτικό ένζυμο ναττοκινάση στο natto και την πολυαμίνη στο miso και την σάλτσα σόγιας, στοιχεία με καρδιοπροστατευτική δράση. Αντίστοιχα οφέλη παρουσιάζουν και τα περιεχόμενα ισοφλαβονοειδή των ζυμωμένων τροφίμων.

Επιπρόσθετα, η κατανάλωση ζυμωμένων προϊόντων συμβάλλει στη διαμόρφωση και ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας, η οποία με την σειρά της φαίνεται να

διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην γενικότερη κατάσταση υγείας του ατόμου και στην παρεμπόδιση εμφάνισης διαφόρων χρόνιων μη-μεταδομένων νοσημάτων. Τα ζυμωμένα προϊόντα οσπρίων περιέχουν τόσο προβιοτικά (μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στη διαδικασία της ζύμωσης) όσο και πρεβιοτικά (διαιτητικές ίνες οσπρίων), προάγοντας την γαστρεντερική υγεία και την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιόκοσμου.

Αξιοσημείωτη είναι, ακόμα, η συμβολή των ζυμωμένων προϊόντων σόγιας στην ενίσχυση της οστικής υγείας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, λόγω των περιεχόμενων ισοφλαβονοεδών, ασβεστίου, προβιοτικών μικροοργανισμών (gut-bone axis) καθώς ακόμα και πρόσθετων στοιχείων, όπως για παράδειγμα η βιταμίνη K2 (μενακινόνη) και το πολύ-γ-γλουταμικό οξύ τα οποία ανευρίσκονται στο natto, ενισχύοντας περαιτέρω την απορρόφηση του ασβεστίου και τον σχηματισμό των οστών.

Πέραν αυτών, κάθε τρόφιμο φαίνεται να έχει τις δικές του πρόσθετες λειτουργικές ιδιότητες, όπως αυτές προκύπτουν από την χρησιμοποιούμενη διαδικασία ζύμωσης και τα παραγόμενα βιοενεργά συστατικά, όπως για παράδειγμα οι αντι-οξειδωτικές ιδιότητες του miso, οι αντι-υπερτασικές ιδιότητες του tempeh (γ-αμινο-βουτυρικό οξύ, GABA) και της σάλτσας σόγιας και οι αντιθρομβωτικές ιδιότητες του natto (ναττοκινάση).

Με βασική πηγή έμπνευσης το παραδοσιακό αλλά και λειτουργικό προϊόν natto αναπτύχθηκε το καινοτόμο προϊόν Holi Bean. Μία πάστα από ζυμωμένα λευκά ελληνικά φασόλια, ελαιόλαδο και μπαχαρικά. Η διαδικασία της ζύμωσης είναι αντίστοιχη αυτής που λαμβάνει χώρα στην παραγωγή του natto, με ελαφρώς τροποποιημένες συνθήκες, προσαρμοσμένες στην αλλαγή του υποστρώματος, από φασόλια σόγιας σε λευκά ελληνικά φασόλια. Η δυνατότητα χρησιμοποίησης φασολιών χαμηλότερης ποιότητας, β' διαλογής, που δεν θα μπορούσαν να διατεθούν στην λιανική αγορά, ως υπόστρωμα για την ζύμωση, σε συνδυασμό με την πολτοποίηση των πρώτων υλών για την παραγωγή μίας εύχρηστης και εύληπτης πάστας ενισχύουν την καινοτομία του προϊόντος. Η προσθήκη του ελαιολάδου προσδίδει στο προϊόν μεσογειακό χαρακτήρα αλλά και ωφέλιμα θρεπτικά συστατικά, όπως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και αντι-οξειδωτικά.

Εν κατακλείδι, τα λειτουργικά προϊόντα είναι στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος των καταναλωτών αναφορικά με την αναζήτηση της ευζωΐας (well-being), ενώ ταυτόχρονα η χορτοφαγία (vegetarianism, veganism) και η προσπάθεια μείωσης της ζωικής κατανάλωσης (reducetarianism) φαίνεται να γίνονται όλο και πιο δημοφιλή ρεύματα. Σε αυτό το πλαίσιο, η προώθηση και ανάπτυξη προϊόντων ζύμωσης με βάση τα όσπρια φαίνεται παραπάνω από ουσιώδης.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- 1 Shreiner, A. B., Kao, J. Y., & Young, V. B. (2015). The gut microbiome in health and in disease. *Current opinion in gastroenterology*, 31(1), 69–75. <https://doi.org/10.1097/MOG.000000000000139>
- 2 Mohajeri, M. H., Brummer, R., Rastall, R. A., Weersma, R. K., Harmsen, H., Faas, M., & Eggersdorfer, M. (2018). The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *European journal of nutrition*, 57 (Suppl 1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1703-4>
- 3 Das, B., Nair, G.B. Homeostasis and dysbiosis of the gut microbiome in health and disease. *J Biosci* 44, 117 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9926-y>
- 4 Maria L Marco, Dustin Heeney, Sylvie Binda, Christopher J Cifelli, Paul D Cotter, Benoit Foligné, Michael Gänzle, Remco Kort, Gonca Pasin, Anne Pihlanto, Eddy J Smid, Robert Hutkins, Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond, *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 44, 2017, Pages 94-102, ISSN 0958-1669, <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- 5 Di Cagno, Raffaella & Coda, Rossana & De Angelis, Maria & Gobbetti, Marco. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food microbiology*. 33. 1-10. [10.1016/j.fm.2012.09.003](https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003).
- 6 Şanlıer, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. (2019). Health benefits of fermented foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(3), 506–527. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>
- 7 [Soni, S.](#) and [Dey, G.](#) (2014), "Perspectives on global fermented foods", *British Food Journal*, Vol. 116 No. 11, pp. 1767-1787. <https://doi.org/10.1108/BFJ-01-2014-0032>
- 8 Μαντώ Κυριακού, «Σημειώσεις Εφαρμοσμένης Μικροβιολογίας», Αθήνα 2009
- 9 Δημήτριος Τυμπής, Ελευθέριος Πετράκης, Σπυρίδων Κοντελής «Μικροβιολογία τροφίμων : Μεθοδολογία και τεχνικές αναλύσεων», Συλλογικό έργο, Θεσσαλονίκη, Δίσιγμα, 2016
- 10 Netsanet Shiferaw Terefe, Food Fermentation, Reference Module in Food Science, Elsevier, 2016, ISBN 9780081005965, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03420-X>.
- 11 Achi, Ome. (2015). Biotechnology and Traditional Fermented Foods.
- 12 Sarkar, Prabir & Nout, M.J.. (2014). Handbook of Indigenous Foods Involving Alkaline Fermentation.
- 13 Eun Kyoung Kim, So-Yeon An, Min-Seok Lee, Tae Ho Kim, Hye-Kyoung Lee, Won Sun Hwang, Sun Jung Choe, Tae-Young Kim, Seung Jin Han, Hae Jin Kim, Dae Jung Kim, Kwan-Woo Lee, Fermented kimchi reduces body weight and improves metabolic parameters in overweight and obese patients, *Nutrition Research*, Volume 31, Issue 6, 2011, Pages 436-443, ISSN 0271-5317, <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.05.011>

- 14 Guzel-Seydim, Zeynep & Kok-Tas, Tugba & Greene, Annel & Seydim, Atif. (2011). Review: Functional Properties of Kefir. *Critical reviews in food science and nutrition*. 51. 261-8. 10.1080/10408390903579029.
- 15 Leroy, Frédéric & De Vuyst, Luc. (2014). Fermented food in the context of a healthy diet: How to produce novel functional foods?. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 17. 574-581. 10.1097/MCO.0000000000000108.
- 16 Gupta, S. & Abu-Ghannam, N. (2012) Probiotic fermentation of plant based products: possibilities and opportunities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52: 183-199.
- 17 Murooka, Y., & Yamshita, M. (2008). Traditional healthful fermented products of Japan. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(8), 791–798. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0362-5>
- 18 Yu, Y. et al. (2016) Soy isoflavone consumption and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 6, 25939; doi: 10.1038/srep25939.
- 19 Nozue M, Shimazu T, Sasazuki S, et al. Fermented soy product intake is inversely associated with the development of high blood pressure: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study. *J Nutr* 2017;147:1749-56. doi:10.3945/jn.117.250282 pmid:28724661
- 20 Yang, Hye Jeong & Park, Sunmin & Pak, Valeriy & Chung, Kyung & Kwon, Dae. (2011). Fermented Soybean Products and Their Bioactive Compounds. 10.5772/10670
- 21 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1829/2003 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2003 για τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα και ζωοτροφές
- 22 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1830/2003 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2003 σχετικά με την ιχνηλασιμότητα και την επισήμανση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών και την ιχνηλασιμότητα τροφίμων και ζωοτροφών που παράγονται από γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς, και για την τροποποίηση της οδηγίας 2001/18/ΕΚ
- 23 Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 65/2004 της επιτροπής της 14ης Ιανουαρίου 2004 για την καθιέρωση συστήματος σχηματισμού και απόδοσης αποκλειστικών αναγνωριστικών κωδικών για τους γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς
- 24 Murooka, Y., & Yamshita, M. (2008). Traditional healthful fermented products of Japan. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(8), 791–798. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0362-5>
- 25 Watanabe H. (2013). Beneficial biological effects of miso with reference to radiation injury, cancer and hypertension. *Journal of toxicologic pathology*, 26(2), 91–103. <https://doi.org/10.1293/tox.26.91>
- 26 Zaheer, Khalid & Akhtar, Humayoun. (2015). An Updated Review of Dietary Isoflavones: Nutrition, Processing, Bioavailability and Impacts on Human Health.

- Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 57. 00-00. 10.1080/10408398.2014.989958.
- 27 Ueoka R, Yamauchi A (2004) Antitumor effect of hybrid liposomes including extracts from koji-miso. *Biosci Ind* 62:33–34
 - 28 Nakajima N, Nozaki N, Ishihara K, Ishikawa A, Tsuji H (2005) Analysis of isoflavone content in tempeh: a fermented soybean product, and preparation of a new isoflavone-enriched tempeh. *J Biosci Bioeng* 100:685–687
 - 29 Aoki H, Furuya Y, Endo Y, Fujimoto K (2003) Effects of γ -aminobutyric acid-enriched tempeh-like fermented soybean (GABAtempeh) on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 67:1806–1808
 - 30 Aoki H, Uda I, Tagami K, Furuya Y, Endo Y, Fujimoto K (2003) The production of a new tempeh-like fermented soybean product containing a high level of γ -aminobutyric acid by anaerobic incubation with *Rhizopus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 67:1018–1023
 - 31 Gail A. Greendale, Gordon FitzGerald, Mei-Hua Huang, Barbara Sternfeld, Ellen Gold, Teresa Seeman, Sherry Sherman, MaryFran Sowers, Dietary Soy Isoflavones and Bone Mineral Density: Results from the Study of Women's Health Across the Nation, *American Journal of Epidemiology*, Volume 155, Issue 8, 15 April 2002, Pages 746–754, <https://doi.org/10.1093/aje/155.8.746>
 - 32 Hasnah Haron, Suzana Shahar, Kimberly O. O'Brien, Amin Ismail, Norazmi Kamaruddin & Suriah Abdul Rahman (2010) Absorption of calcium from milk and tempeh consumed by postmenopausal Malay women using the dual stable isotope technique, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61:2, 125-137, DOI: [10.3109/09637480903348080](https://doi.org/10.3109/09637480903348080)
 - 33 Fraser L. Collins, Soon Mi Kim, Laura R. McCabe, Connie M. Weaver. 2017. Intestinal Microbiota and Bone Health: The Role of Prebiotics, Probiotics, and Diet. *Bone Toxicology*, pages 417-443.
 - 34 Stein K (2000) FDA approves health claim labeling for foods containing soy protein. *J Am Diet Assoc* 100:292–298
 - 35 Kataoka S (2005) Functional effects of Japanese-style fermented soy sauce (*shoyu*) and its components. *J Biosci Bioeng* 100:227–234
 - 36 Kobayashi M (2005) Immunological functions of soy sauce: hypoallergenicity and antiallergic activity of soy sauce. *J Biosci Bioeng* 100:144–151
 - 37 Sakaguchi K (1958) Studies on the activities of bacteria in soy sauce brewing Part III. Taxonomic studies on *Pediococcus soyae* nov. sp., the soy sauce lactic acid bacteria. *Bull Agric Chem Soc Japan* 22:353–362
 - 38 Sasahara H, Izumori K (2005) Production of L-sorbitol from L-fructose by *Aureobasidium pullulans* LP23 isolated from soy sauce mash. *J Biosci Bioeng* 100:223–226

- 39 Sasahara H, Izumori K (2005) Production of L-talitol from L-piscose by *Metschnikowia koreensis* LA1 isolated from soy sauce mash. *J Biosci Bioeng* 100:335–338
- 40 Ogawa T, Samoto M, Takahashi K (2000) Soybean allergens and hypoallergenic soybean products. *J Nutr Sci Vitaminol* 46:271– 279
- 41 Kobayashi M, Matsushita H, Yoshida K, Tsukiyama R, Sugimura T, Yamamoto K (2004) In vitro and in vivo anti-allergic activity of soy sauce. *Int J Mol Med* 14:879–884
- 42 Yang, Hye Jeong & Park, Sunmin & Pak, Valeriy & Chung, Kyung & Kwon, Dae. (2011). Fermented Soybean Products and Their Bioactive Compounds. 10.5772/10670
- 43 Long LH, Kwee DC, Halliwell B (2000) The antioxidant activities of seasonings used in Asian cooking: powerful antioxidant activity of dark soy sauce revealed using ABTS assay. *Free Radical Res* 32:181–186
- 44 Tsuchiya H, Sato M, Watanabe I (1999) Antiplatelet activity of soy sauce, a functional seasoning. *J Agric Food Chem* 47:4167– 4174
- 45 Kinoshita E, Ozawa Y, Aishima T (1997) Novel tartaric acid isoflavone derivatives that play key roles in differentiating Japanese soy sauces. *J Agric Food Chem* 45:3753–3759
- 46 Kinoshita E, Saito M (1998) Novel histamine measurement by HPLC analysis used to assay histidine decarboxylase inhibitory activity of shoyuflavones from soy sauce. *Biosci Biotechnol Biochem* 62:1488–1491
- 47 Kataoka S, Liu W, Albright K, Storkson J, Pariza M (1997) Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia and reduction of H₂O₂ concentration in human polymorphonuclear leucocytes by flavour components of Japanese-style fermented soy sauce. *Food Chem Toxicol* 35:449–457
- 48 Ito A, Watanabe H, Basaran N (1993) Effects of soy products in reducing risk of spontaneous and neutron-induced liver tumors in mice. *Int J Oncol* 2:773–776
- 49 Benjamin H, Storkson J, Nagahara A, Pariza MW (1991) Inhibition of benzo(a) pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by dietary soy sauce. *Cancer Res* 51:2940–2942
- 50 Akiba C, Ujiie T, Yokoyama S (1957) The sterilizing effects of soy sauce and other sauces on the pathogens in the digestive tract. *Chomi Kagaku* 4:1–9
- 51 Masuda S, Hara-Kudo Y, Kumagai S (1998) Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 populations by soy sauce: a fermented seasoning. *J Food Prot* 61:657–661
- 52 Devanthi PVP, Gkatzionis K. Soy sauce fermentation: Microorganisms, aroma formation, and process modification. *Food Research International* (Ottawa, Ont.). 2019 Jun;120:364-374. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.03.010
- 53 Kurosawa, Y., Nirengi, S., Homma, T., Esaki, K., Ohta, M., Clark, J. F., & Hamaoka, T. (2015). A single-dose of oral nattokinase potentiates thrombolysis and anti-coagulation profiles. *Scientific reports*, 5, 11601. <https://doi.org/10.1038/srep11601>

- 54 Weng, Y., Yao, J., Sparks, S., & Wang, K. Y. (2017). Nattokinase: An Oral Antithrombotic Agent for the Prevention of Cardiovascular Disease. *International journal of molecular sciences*, 18(3), 523. <https://doi.org/10.3390/ijms18030523>
- 55 Chen, H., McGowan, E. M., Ren, N., Lal, S., Nassif, N., Shad-Kaneez, F., Qu, X., & Lin, Y. (2018). Nattokinase: A Promising Alternative in Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases. *Biomarker insights*, 13, 1177271918785130. <https://doi.org/10.1177/1177271918785130>
- 56 Hsia CH, Shen MC, Lin JS, et al. Nattokinase decreases plasma levels of fibrinogen, factor VII, and factor VIII in human subjects. *Nutr Res*. 2009;29(3):190-196. doi:10.1016/j.nutres.2009.01.009
- 57 Fujita M, Hong K, Ito Y, Fujii R, Kariya K, Nishimuro S (1995)Thrombolytic eVect of nattokinase on a chemically induced thrombosis model in rat. *Biol Pharm Bull* 18:1387–1391
- 58 Katagiri Ryoko, Sawada Norie, Goto Atsushi, Yamaji Taiki, Iwasaki Motoki, Noda Mitsuhiro et al. Association of soy and fermented soy product intake with total and cause specific mortality: prospective cohort study *BMJ* 2020;
- 59 Nagata C, Wada K, Tamura T, et al. Dietary soy and natto intake and cardiovascular disease mortality in Japanese adults: the Takayama study. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(2):426-431. doi:10.3945/ajcn.116.137281
- 60 Permpoonpattana, P & Hong, H.A. & Khaneja, R & Cutting, S. (2012). Evaluation of *Bacillus subtilis* strains as probiotics and their potential as a food ingredient. *Beneficial microbes*. 3. 127-35. 10.3920/BM2012.0002
- 61 Suva MA, Sureja VP, Kheni DB. Novel insight on probiotic *Bacillus subtilis*: Mechanism of action and clinical applications. *J Curr Res Sci Med* 2016;2:65-72
- 62 Yanagisawa Y, Sumi H (2005) Natto bacillus contains a large amount of water-soluble vitamin K (menaquinone-7). *J Food Biochem* 29:267–277
- 63 Ikeda Y, Iki M, Morita A, et al. Intake of fermented soybeans, natto, is associated with reduced bone loss in postmenopausal women: Japanese Population-Based Osteoporosis (JPOS) Study. *J Nutr*. 2006;136(5):1323-1328. doi:10.1093/jn/136.5.1323
- 64 OHSUGI, Tadanori & IKEDA, Shiori & Sumi, Hiroyuki. (2005). Antiplatelet Aggregation and Anti-blood Coagulation Activities of Dipicolinic Acid, a Sporal Component of *Bacillus Subtilis* Natto. *Food Science and Technology Research - FOOD SCI TECHNOL RES*. 11. 308-310. 10.3136/fstr.11.308.
- 65 Sumi H, Yatagai C, Ikeda S, Ohsugi T (2006) Dipicolinic acid in *Bacillus subtilis* natto and strong anti-H. pylori activity. *Clin Pharm Therapy* 16:261–266
- 66 Siber Roller, Βασική Μικροβιολογία και Υγιεινή για Επαγγελματίες Τροφίμων. Επιμέλεια Ελληνικής Έκδοσης: Γεώργιος Μπόσκου
- 67 Nattokinase Atherothrombotic Prevention Study, University of Southern California: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02080520>