

DESCRIPCIÓN

TÍTULO DE LA INVENCION: SAZONADOR LÍQUIDO SIMILAR A SALSA DE SOYA Y MÉTODO PARA SU PRODUCCIÓN

5

CAMPO TÉCNICO

[0001]

La presente invención se refiere a un sazonador líquido similar a salsa de soya sin sal o baja en sal, y a un método para producir dicho sazonador líquido similar a salsa de soya.

10

FUNDAMENTO DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

[0002]

El método tradicional de producción de salsa de soya japonesa sigue los siguientes pasos. Una mezcla de soya hervida y trigo tostado se inocula con un hongo *koji* para hacer una salsa de soya *koji*. La mezcla se somete a maceración con solución salina de alta concentración para producir la moromi (mezcla de moromi), que luego se fermenta y madura durante un período de tiempo prolongado de varios meses a un año. La solución salina de alta concentración se usa principalmente para inhibir el crecimiento de bacterias putrefactas. Sin embargo, ha habido dudas sobre la posible relación entre la ingesta excesiva de sal y la presión arterial alta, enfermedad renal o similares, y existe una creciente demanda de una salsa de soya con sal reducida (bajo contenido de sodio).

15

20

[0003]

Con respecto a un método para producir una salsa de soya sin sal o baja en sal, se informa un método indirecto de producción en el que, para evitar la contaminación por microorganismos, la salsa de soya *koji* macerada con solución salina de alta concentración de forma tradicional es desalinizada por eliminación de sal a través de un proceso de membrana tal como el uso de una membrana de intercambio iónico después de la fermentación y maduración (ver, por ejemplo, PTL 1). Sin embargo, un sazonador líquido obtenido por dicho método de producción indirecta tiene problemas, incluido el

25

30

alto costo debido al largo proceso de desalinización, y el efecto adverso sobre el sabor, como la amargura y un sabor áspero.

[0004]

5 También se informa un método de producción directa en el que la maceración se realiza en condiciones sin sal o bajas en sal controlando el pH y la temperatura en combinación con el uso de alto contenido de nitrógeno o alcohol para la maceración (véase, por ejemplo, PTL 2 a PTL 4). Sin embargo, un problema de preparación en condiciones sin sal y de bajo pH es que por sí solo no se puede evitar por completo el desperdicio por microorganismos. La maceración con alto contenido de nitrógeno
10 también es problemática porque implica una filtrabilidad deficiente. La maceración a alta temperatura implica problemas tales como la fermentación incompleta de la levadura y la transmisión de un olor debido a la maceración en caliente y a la amargura. El crecimiento de microorganismos se puede reducir con la maceración con alcohol. Sin embargo, existe el problema de que el alcohol agregado tiene un efecto sobre la
15 fermentación y el sabor de la levadura.

[0005]

También se informa un sazonador líquido bajo en sal que se obtiene mediante un proceso en el que la digestión de una *moromi* se lleva a cabo simultáneamente con la fermentación alcohólica. Específicamente, en la digestión del carbohidrato o la proteína
20 de la materia prima, o una mezcla de estos materiales con menos del 2% (p/v) de sal, se añaden levaduras productoras de alcohol después de ajustar el pH de la *moromi* inicial a 4 a 6 (ver PTL 5). Un inconveniente de esta técnica, sin embargo, es que el crecimiento de microorganismos en la *moromi* no puede reducirse suficientemente en las primeras etapas de la fermentación, y a menudo se produce contaminación.

25 [0006]

También se informa un sazonador líquido que se produce al mezclar salsa de soya *koji* con agua caliente de 70 a 80 ° C para preparar una *moromi* con una temperatura de 50 a 57 ° C, y agitación intermitente o continua de la *moromi* mientras se mantiene la temperatura de la *moromi*. Con una concentración de sal de 0 a 5% (p/v), se
30 evita el deterioro de la *moromi* y se reduce el tiempo de descomposición (ver PTL 6). Sin embargo, si bien esta técnica permite la producción de una *moromi* baja en sal, el proceso requiere la adición de sal en un paso de fermentación de ácido láctico o

levadura, o en algún otro paso posterior a estos pasos. Esto hace que sea difícil obtener un sazónador líquido similar a una salsa de soya baja en sal.

[0007]

5 Como se describió anteriormente, hay muchos informes de sazónadores líquidos similares a salsa de soya sin sal o bajos en sal. Sin embargo, estos son insuficientes en términos de practicidad, y existe la necesidad de un sazónador líquido similar a una salsa de soya sin sal o baja en sal que tenga un sabor deseable que pueda producirse sin contaminación por microorganismos.

10

REFERENCIAS CITADAS

LITERATURA RELACIONADA CON PATENTES

[0008]

PTL 1: JP-B-45-020887

15

PTL 2: JP-B-62-062143

PTL 3: JP-A-5-219915

PTL 4: JP-A-2009-165377

PTL 5: Patente Japonesa No. 3065695

PTL 6: Patente Japonesa No. 3827300

20

DIVULGACIÓN DE LA INVENCION

PROBLEMA A RESOLVER POR LA INVENCION

[0009]

25 La presente invención está destinada a encontrar una solución a los problemas anteriores, y es un objeto de la presente invención proporcionar un sazónador líquido similar a una salsa de soya sin sal o baja en sal que tenga un sabor deseable y una funcionalidad deseable sin contaminación por microorganismos nocivos y un método para producir dicho sazónador líquido similar a salsa.

30 MEDIOS PARA RESOLVER EL PROBLEMA

[0010]

Los presentes inventores llevaron a cabo estudios intensivos para resolver los problemas anteriores y descubrieron que se puede obtener un sazonzador líquido similar a una salsa de soya sin sal o bajo en sal que tiene un sabor deseable y una funcionalidad deseable sin contaminación por microorganismos dañinos cuando se prepara un *koji* sólido inoculando granos de materia prima principalmente de soya o trigo con un hongo *koji* se prepara en una *moromi* con adición de agua sin sal o baja en sal para la maceración, y la *moromi*, después de la pasteurización, se fermenta con levadura mientras se previene la contaminación con el uso de un contenedor adaptado para reducir la entrada de microorganismos nocivos. La presente invención se ha completado con base en este hallazgo.

[0011]

Específicamente, la presente invención se relaciona con lo siguiente.

(1) Un sazonzador líquido similar a una salsa de soya que tiene una concentración de sal de menos del 4% (p/v), y que comprende 20 ppm (p/v) o más de alcohol isoamílico, 6 ppm (p/v) o más de 2-feniletanol, 9 ppm (p/v) o más de alcohol isobutílico, y 10 ppm (p/v) o más de HEMF (4-Hidroxi-2(o 5)-etil-5. (o 2)-metil-3(2H)-furanona_{2,3} con respecto a una concentración de nitrógeno total de 1.0% (p/v).

(2) El sazonzador líquido similar a salsa de soya descrito en (1) anterior, que contiene 50 ppm (p/v) o menos de iones de sodio.

(3) Un método para producir el sazonzador líquido similar a salsa de soya de los puntos anteriores anteriores (1) o (2), el método que comprende los pasos de:

1. inocular granos de materia prima principalmente de soya o trigo con un hongo *koji* para preparar un *koji* sólido y añadir agua o solución salina para descomponer con calor una *moromi* con una concentración de sal de menos de 4% (p/v);

2. pasteurizar la *moromi* obtenida en el paso 1; y

3. inocular la *moromi* pasteurizada obtenida en el paso 2 con levadura y fermentar la *moromi* con la levadura en un recipiente adaptado para reducir la entrada de microorganismos dañinos.

EFECTO DE LA INVENCION

[0012]

De acuerdo con la presente invención, se puede obtener un sazonador líquido similar a una salsa de soya, sin sal o baja en sal, que tenga un sabor y aroma deseables sin contaminación por microorganismos dañinos.

Además, el sazonador líquido sin sal producido por la presente invención tiene una concentración iónica de sodio extremadamente baja y un sabor deseable, y se puede usar como un sazonador líquido similar a una salsa de soya adecuado para personas que padecen, por ejemplo, de presión arterial alta o enfermedad renal

MODALIDADES PARA REALIZAR LA INVENCION

[0013]

La presente invención se describe en detalle a continuación.

En la presente invención, se prepara una salsa de soya *moromi* que tiene una concentración de sal de menos del 4% (p/v) mezclando agua o solución salina en un *koji* sólido preparado a partir de granos de materia prima. La *moromi* se descompone luego en calor de 25 a 57 °C de 0 a 48 horas. Preferiblemente, agua caliente o solución salina de 70 a 80 °C se mezcla en un *koji* sólido, y la mezcla se agita intermitentemente o continuamente en un tanque mientras se mantiene la *moromi* entre 50 y 57 °C, y la enzima se descompone durante 15 a 30 horas, como en la Patente Japonesa No. 3827300.

[0014]

Como se usa en este documento, "granos de materia prima" se refiere, por ejemplo, a materiales proteicos tales como soya integral, soya desgrasada, proteína de soya, gluten de trigo, guisante verde, arveja ancha y guisante rojo, y materiales de almidón tales como trigo, cebada, centeno, salvado de trigo, arroz, salvado de arroz, maíz y pulpa de almidón. Estos pueden usarse solos o en combinación.

[0015]

El *koji* sólido utilizado aquí se obtiene inoculando un material proteico preparado usando un método ordinario o una mezcla del material proteico y un material de almidón con un hongo *koji* como *Aspergillus soyae* y *Aspergillus oryzae*, y realizando un cultivo sólido de 2 a 3 días (preparación de *koji*).

Cuando se mezclan materiales de proteína y almidón, estos se mezclan a una relación en peso de preferiblemente 1: 0.25 a 4 cuando, por ejemplo, se desea un sazón líquido similar a una salsa de soya común. Sin embargo, la relación de combinación de estos materiales no está particularmente limitada.

5 [0016]

El agua o solución salina utilizada para la maceración se usa en cantidades suficientes para remojar el *koji*. Típicamente, la cantidad de agua o solución salina es preferiblemente de 1 a 4 veces el peso de *koji* en volumen (v/p). En el momento de la descomposición térmica, se puede agregar un ácido comestible, un agente enzimático o

10 carbón activado, que se describirán más adelante, para mejorar las propiedades antibacterianas, la eficacia de la descomposición y el sabor. Con el fin de reducir el burbujeo durante la fermentación de la levadura, se puede agregar un agente antiespumante de silicona de tipo emulsión en una concentración final de 0.01 a 0.5% (p/v).

15 [0017]

En el momento de la descomposición térmica, se puede agregar un agente enzimático en una concentración final de 0.001 a 1% (p/v) para promover la descomposición de la *moromi*. Ejemplos del agente enzimático incluyen proteasa (endoproteasa, exoproteasa), celulasa y pectinasa.

20 [0018]

La descomposición térmica es seguida por la pasteurización con calor de la salsa de soya *moromi* que tiene una concentración de sal de menos del 4% (p/v). El método de pasteurización por calor no está particularmente limitado, y puede ser cualquiera de, por ejemplo, UHT (método de calentamiento a temperatura ultra alta),

25 HTST (método de esterilización de alta temperatura en tiempo corto), retorta, tanque presurizado, inyección de vapor, infusión de vapor, autoclave, calentador de placas, raspado superficial, intercambio térmico de Joule y métodos de pasteurización tubular. Se prefieren los métodos que usan un tanque presurizado y un pasteurizador tubular. Por ejemplo, la *moromi* puede pasteurizarse aplicando calor bajo presión aplicada

30 mientras se agita uniformemente la *moromi* en un tanque presurizado. La pasteurización de bacterias no deseadas se vuelve insuficiente cuando la temperatura de pasteurización es demasiado baja, o cuando el tiempo de pasteurización es demasiado

corto, y no es preferible. Por el contrario, el sabor del sazonador líquido se deteriora cuando la temperatura de pasteurización es demasiado alta, o cuando el tiempo de pasteurización es demasiado largo, y no es preferible. Preferiblemente, la *moromi* se pasteuriza durante, por ejemplo, 2 minutos a 180 minutos a 80 °C, de 5 segundos a 15 minutos a 121 °C, o 1 segundo a 30 segundos a 130 °C, aunque las condiciones óptimas varían con el método de pasteurización seleccionado.

[0019]

El pH de la *moromi* preparada puede ajustarse para mejorar las propiedades antibacterianas o para ajustar el sabor. Deseablemente, el pH se ajusta de 3,0 a 7,0, preferiblemente de 4,0 a 5,5 desde el punto de vista de las propiedades antibacterianas y la fermentación de la levadura. El pH puede ajustarse en el momento de la descomposición térmica, o antes o después de la pasteurización por calor de la *moromi*. Ejemplos del ácido comestible como ajustador de pH incluyen ácido láctico, ácido acético, ácido málico, ácido cítrico, ácido glucónico y ácido adípico. Preferido por el sabor es el ácido láctico.

[0020]

Para la fermentación suave de levadura, se puede agregar de 0 a 20% (p/v) de azúcar al *moromi*. El azúcar puede ser cualquier azúcar, siempre que pueda ser utilizado por la levadura. Ejemplos incluyen glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, manosa y glicerol. Sin embargo, es deseable usar glucosa en vista de la eficacia de la utilización. El importante componente de aroma HEMF de la salsa de soya se puede aumentar con el uso de una pentosa, como ribosa y xilosa, incluso cuando la salsa de soya no contiene sal o tiene bajo contenido de sal, como se describe en el documento JP-A-2001-120293. Los azúcares pueden usarse solos o en combinación. También es posible usar materiales alimenticios que contengan estos azúcares. Ejemplos de dichos materiales alimenticios incluyen un azúcar de mesa, un azúcar líquido de glucosa fructosa, un azúcar líquido de fructosa glucosa, un azúcar morena suave y una melaza.

[0021]

Antes de la fermentación de la levadura, se puede agregar un agente enzimático en una concentración final de 0,001 a 1% (p/v) para promover la descomposición de la *moromi*, o para mejorar la comprensibilidad. Ejemplos del agente enzimático incluyen proteasa (endoproteasa, exoproteasa), celulasa y pectinasa.

[0022]

Antes de la fermentación de la levadura, se puede agregar carbón activado a la *moromi* para eliminar el amargor y mejorar el sabor. Preferiblemente, el carbón activado es un polvo, más preferiblemente un polvo con un tamaño de partícula promedio de 10 a 100 μ m. El carbón activado se agrega preferiblemente en una cantidad de 0.1 a 5% (p/p) con respecto a la materia prima de la *moromi*. El tipo de carbón activado se puede seleccionar apropiadamente de acuerdo con el uso previsto. Por ejemplo, los carbones activados que tienen funciones tales como la eliminación del amargor, la eliminación del mal olor, el ajuste del sabor y el ajuste del color se pueden usar en combinación.

[0023]

La levadura utilizada en la presente invención no está particularmente limitada. Por ejemplo, pueden usarse *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii* y *Kluyveromyces marxianus*. Debido a que la *moromi* de la presente invención es libre de sal o baja en sal, también es posible usar otras levaduras, que incluyen, por ejemplo, levaduras de vino débilmente halotolerantes, levaduras de cerveza y levaduras de *shochu* (bebida alcohólica destilada). Preferiblemente, la levadura se agrega en una concentración de 1×10^5 células o más, preferiblemente 1×10^6 a 1×10^7 células por gramo de *moromi*.

[0024]

Para la fermentación de la levadura, la *moromi* se carga en un recipiente adaptado para reducir la entrada de microorganismos dañinos. Aquí, el contenedor adaptado para reducir la entrada de microorganismos dañinos es un contenedor que está estructurado para bloquear el interior del contenedor del aire ambiente. Para fines experimentales, el contenedor puede ser una jarra de polipropileno procesada para la eliminación de bacterias o una botella de medio de vidrio. Para la producción industrial, el contenedor puede ser un fermentador de jarra con una función para suministrar aire sin bacterias al contenedor, o un tanque de fermentación presurizado. Para la eliminación de bacterias en el aire, se puede usar un filtro capaz de recoger al menos 99.97% de polvo de 0.3- μ m o más grande, por ejemplo, como un filtro HEPA.

[0025]

La levadura se fermenta a una temperatura de crecimiento de levadura, específicamente de 15 a 45 ° C, preferiblemente de 20 a 30 ° C, de 1 a 90 días, preferiblemente de 3 a 28 días.

[0026]

La cantidad de alcohol producido en el sazónador líquido similar a salsa de soya de la presente invención se puede ajustar en el intervalo de 0 a 20% (p/v) de acuerdo con la concentración del azúcar agregado en el paso de fermentación, el tipo de levadura utilizado, o las condiciones de fermentación. El alcohol también se puede agregar al completar la fermentación. Sin embargo, para proporcionar el sazónador líquido similar a la salsa de soya con el sabor similar a la salsa de soya, el contenido de alcohol es preferiblemente menor que 8% (p/v), más preferiblemente 2 a 7% (p/v). La concentración de alcohol puede medirse usando un método conocido, por ejemplo, con un kit de medición que usa cromatografía de gases o un método enzimático.

[0027]

Después de la fermentación, la *moromi* puede procesarse por un método ordinario, tal como prensado, calentamiento, refinado y filtración, de modo que puede obtenerse un sazónador líquido similar a una salsa de soya tenga un sabor y funcionalidad deseables con una concentración de sal de menos del 4% (p/v). La concentración de sal puede medirse utilizando métodos como la potenciometría y el método de Mohr.

[0028]

A diferencia del sazónador líquido conocido similar a salsa de soya sin sal o baja en sal, el sazónador líquido similar a salsa de soya de la presente invención satisface las siguientes condiciones para la concentración de componentes de aroma y tiene un sabor que se asemeja más al sabor de la salsa de soya.

(1) La concentración de alcohol isoamílico es de 20 ppm (p/v) o más con respecto a la concentración total de nitrógeno de 1.0% (p/v)

(2) La concentración de 2-feniletanol es de 6 ppm (p/v) o más con respecto a la concentración total de nitrógeno de 1.0% (p/v)

(3) La concentración de alcohol isobutílico es de 9 ppm (p/v) o más con respecto a la concentración total de nitrógeno de 1.0% (p/v)

(4) La concentración de HEMF es de 10 ppm (p/v) o más con respecto a la concentración total de nitrógeno de 1.0% (p/v)

5 [0029]

Se sabe que el alcohol isoamílico y el 2-feniletanol son responsables de la nota de base del *sake*, y que estos alcoholes, junto con el alcohol isobutílico, son componentes aromáticos del origen de la fermentación de la levadura que mejoran el sabor de la salsa de soya. La concentración de estos componentes de aroma puede medirse mediante, por ejemplo, GC-MS (cromatografía de gases – espectrometría de masas) o GC-FID (cromatografía de gases – detección por ionización de flama).

[0030]

Se sabe que el HEMF, un componente aromático importante de la salsa de soya, reduce su concentración en un proceso de maceración bajo en sal (J. Agric. Food Chem. Vol 44, 3273-3275, 1996). El sazoador líquido similar a salsa de soya de la presente invención, sin embargo, tiene los mismos niveles de concentración de HEMF que una salsa de soya ordinaria, y tiene el sabor similar a la salsa de soya.

[0031]

El sazoador líquido similar a una salsa de soya sin de sal de la presente invención, que se obtiene sin utilizar ninguna sal en el agua utilizada en la etapa de maceración, tiene una concentración de ion de sodio de 50 ppm (p/v) o menos. El sazoador líquido similar a la salsa de soya sin sal de la presente invención difiere de los sazoadores líquidos similares a salsa de soya sin sal conocidos a este respecto, y tiene una concentración de sodio más baja que los sazoadores líquidos similares a salsas de soya sin sal conocidos. La concentración de iones de sodio puede medirse utilizando métodos tales como espectrometría de absorción atómica y espectrometría de emisión ICP.

[0032]

A continuación se describe la presente invención en mayor detalle utilizando Ejemplos. Debe observarse que el alcance técnico de la presente invención no está limitado en modo alguno por los siguientes ejemplos.

EJEMPLOS

[0033]

1. Producción de Sazonador Líquido Sin Sal

Preparación de salsa de soya *Koji*

5 Se mezclaron soya procesada desgrasada (50%, p/p) y trigo molido tostado (50%, p/p) para preparar una salsa de soya *koji*. La soya procesada desgrasada se usó después de ser empapada con agua (130%, p/p) y hervida. La materia prima se inoculó con un iniciador de semillas de *Aspergillus soyae*, y se procesó durante 42 horas utilizando un método ordinario para obtener una salsa de soya *koji* (preparación de *koji*).

10 [0034]

Preparación de *Moromi*

 La salsa de soya *koji* anterior se mezcló con 200 partes en peso de agua caliente (precalentada a 70°C; que no contiene sal) con respecto a 100 partes en peso del *koji*. La mezcla se descompuso con calor a 55 °C durante 24 horas por agitación continua a
15 100 rpm en un tanque de descomposición equipado con una chaqueta aislante que tiene paletas de agitación en el eje giratorio. Esto produjo una *moromi* sin sal.

[0035]

Pasteurización de la *Moromi*

 Después de llevar a pH 4.0 a 5.0 con ácido láctico como se muestra en la Tabla
20 1, la *moromi* sin sal (Ejemplos 1-1 a 1-4, 300 g cada uno) se puso en una botella de medio de vidrio, y se pasteurizó con un autoclave a 121 °C durante 5 minutos. A la *moromi* de cada grupo se añadió luego 50% (p/v) de glucosa procesada para la eliminación de bacterias en una concentración final de 5% (p/v), como se muestra en la Tabla 1.

25 [0036]

[Tabla 1]

	Pasteurización	PH <i>Moromi</i>	Suplemento de azúcar (concentración final)	Levadura	Fermentación temp.
Com. Ej. 1-1	Ninguno	4.0	Glucosa al 5%	<i>Z. rouxii</i>	25°C
Com. Ej. 1-2	Ninguno	4.5	Glucosa al 5%	<i>Z. rouxii</i>	25°C
Com. Ej. 1-3	Ninguno	5.0	Glucosa al 5%	<i>Z. rouxii</i>	25°C
Ej. 1-1	121°C, 5 min	5.0	Glucosa al 5%	<i>Z. rouxii</i>	20°C
Ej. 1-2	121°C, 5 min	5.0	Glucosa al 5%	<i>Z. rouxii</i>	25°C
Ej. 1-3	121°C, 5 min	5.0	Glucosa al 5%	<i>Z. rouxii</i>	30°C
Ej. 1-4	121°C, 5 min	5.0	Ninguno	<i>Z. rouxii</i>	30°C

5 [0037]

Fermentación de levadura

Una levadura de salsa de soya precultivada (*Zygosaccharomyces rouxii*) se agregó a la *moromi* en una concentración de 1×10^7 células/g de *moromi*, y la mezcla se fermentó a una temperatura de *moromi* de 20 a 30 °C durante 14 días, como se muestra en la Tabla 1.

10

[0038]

Refinamiento

Después de la fermentación de la levadura, la *moromi* se prensó, se calentó y se maceró para obtener un sazónador líquido refinado similar a salsa de soya. La Tabla 2 muestra el recuento de bacterias viables comunes y los valores analíticos de los componentes del sazónador líquido obtenido similar a la salsa de soya.

15

[0039]

Recuento de Bacterias Viables Comunes y Análisis de Componentes

Para el recuento de bacterias viables comunes, el sazónador líquido tipo salsa de soya se cultivó en un medio preparado mediante la adición de 30 µg/ml de nistatina a medio de agar estándar PEARLCORE (fabricado por Eiken Chemical Co., Ltd.), y se contó el número de colonias desarrolladas. Cabe señalar que el recuento de bacterias

20

viabiles comunes obtenido por este método no incluye levaduras, y representa principalmente el número de bacterias contaminantes. La concentración total de nitrógeno (TN), la concentración de alcohol y el pH se determinaron usando los métodos descritos en *Métodos de prueba de Salsa de soya* (publicada el 1 de marzo de 1985, ed. Japan Soy Sauce Research Center). La concentración de sal fue determinada por el método de Mohr. La concentración de ácido glutámico se determinó usando un analizador de aminoácidos.

10

15 [0040]

[Tabla 2]

	Recuento de bacterias viabiles comunes después de la fermentación de la levadura (ufc/ml)	NaCl % (p/v)	TN % (p/v)	Glu % (p/v)	pH	Alc % (v/v)
Com. Ej. 1-1	8.7×10^7 (deterioro)	0	1.05	0.73	4.1	2.9
Com. Ej. 1-2	3.8×10^8 (deterioro)	0	1.10	0.82	4.2	2.3
Com. Ej. 1-3	6.0×10^8 (deterioro)	0	1.08	0.85	4.1	2.1
Ej. 1-1	$< 1 \times 10^3$	0	1.14	0.78	4.7	5.9
Ej. 1-2	$< 1 \times 10^3$	0	1.15	0.69	4.7	5.7
Ej. 1-3	$< 1 \times 10^3$	0	1.15	0.73	4.6	5.4
Ej. 1-4	$< 1 \times 10^3$	0	1.16	0.70	4.6	2.1

[0041]

Como se puede ver a partir de los resultados de los Ejemplos Comparativos 1-1 a 1-3 en la Tabla 2, no fue posible obtener el sazónador líquido similar a salsa de soya deseado cuando la *moromi* no se pasteurizó y se produjo desperdicio durante el proceso de maceración, incluso cuando el pH inicial de la *moromi* se redujo a 4.0. Por otro lado, el sazónador líquido similar a salsa de soya se obtuvo sin desperdicio en el proceso de maceración cuando la etapa de pasteurización se realizó como en los Ejemplos 1-1 a 1-

20

4, incluso cuando la concentración de alcohol era baja como en el Ejemplo 1-4. La fermentación de la levadura también se consideró deseable desde el punto de vista de la concentración de alcohol. También se confirmó que la temperatura de fermentación preferida es de 20 a 30 °C para prevenir un efecto sobre la fermentación y el sabor de la levadura.

[0042]

2. Modificación del Método para Producir un Sazonador Líquido Similar a Salsa de soya Sin sal o Bajo en Sal

Preparación de *Moromi* con una Mayor Cantidad de Salsa de soya *Koji*

Como en el Ejemplo 1, la salsa de soya *koji* se mezcló con 140 partes en peso de agua caliente a 70 °C con respecto a 100 partes por peso del *koji*. En el Ejemplo 2-4 y en los Ejemplos Comparativos 2-1 y 2-2, se añadió sal en las concentraciones finales que se muestran en la Tabla 3. Después de añadir 1.5% (p/p) de carbón activado (Kujyaku TK2, fabricado por Kawakita Chemical Co., Ltd.) con respecto a la materia prima, el pH se ajustó a 4.8 con ácido láctico, y la mezcla se descompuso por calor a 55 °C durante 24 horas por agitación continua a 100 rpm en un tanque de descomposición equipado con una chaqueta aislante que tiene paletas de agitación en el eje giratorio. Esto produjo una *moromi*. Esta *moromi* tenía una mayor proporción de salsa de soya *koji* que la *moromi* del Ejemplo 1.

[0043]

Producción de Sazonador Líquido Similar a Salsa de soya

La *moromi* anterior fue pasteurizado a 121 °C durante 5 minutos usando un fermentador de jarra, y se añadió 50% (p/v) de glucosa procesada para la eliminación de bacterias en una concentración final de 5% (p/v). A la mezcla se añadió luego levadura precultivada (*Zygosaccharomyces rouxii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*) en una concentración de 1×10^7 células/g de *moromi*. Después de agregar un agente enzimático comercialmente disponible (endoproteasa, exoproteasa) en una concentración final de 0.1% (p/p), la mezcla fue fermentada con la levadura a una temperatura *moromi* de 25 °C o 30 °C durante 14 días, como se muestra en la Tabla 3.

[0044]

[Tabla 3]

	PH <i>Moromi</i>	NaCl % (p/v)	Levadura	Temp. de Fermentación
Ej. 2-1	4.8	0	<i>Z. rouxii</i>	25°C
Ej. 2-2	4,8	0	<i>S. cerevisiae</i>	25°C
Ej. 2-3	4,8	0	<i>K. marxianus</i>	30°C
Ej. 2-4	4,8	3	<i>Z. rouxii</i>	25°C
Com. Ej. 2-1	4,8	16	<i>S. cerevisiae</i>	25°C
Com. Ej. 2-2	4,8	16	<i>K. marxianus</i>	30°C

[0045]

Evaluación de Refinamiento y Sabor

- Después de la fermentación de la levadura, la *moromi* se prensó, se calentó y se maceró para obtener un sazónador líquido refinado similar a salsa de soya. La Tabla 4 muestra los valores analíticos de los componentes y los resultados de la evaluación del sabor del sazónador líquido. El sabor se evaluó de acuerdo con los siguientes criterios.

Excelente: Muy deseable

Bueno: Deseable

Malo: Indeseable

[0046]

[Tabla 4]

	NaCl % (p/v)	TN % (p/v)	Glu % (p/v)	pH	Alc % (v/v)	Evaluación del sabor	Comentarios
Ej. 2-1	0	1.51	0.91	4.7	4.9	Excelente	Aroma dulce
Ej. 2-2	0	1.51	0.93	4.7	5.6	Bueno	Aroma afrutado, sabor similar a sake
Ej. 2-3	0	1.49	0.88	4.7	5.3	Bueno	Olor de fermentación, olor a encurtidos
Ej. 2-4	3	1.47	0.88	4.7	5.1	Excelente	Olor a salsa ligera de soya con aroma dulce
Com. Ej. 2-1	16	1.48	0.90	4.8	0	Malo	Olor de la materia prima, olor a patata
Com. Ej. 2-2	16	1.48	0.90	4.8	0	Pobre	Olor de la materia prima, olor a patata

[0047]

Al aumentar la cantidad de la salsa de soya *koji* utilizada para la preparación de la *moromi*, y al añadir un agente enzimático para la fermentación de la levadura, fue posible producir sazónadores líquidos que tienen un sabor deseable con alta concentración total de nitrógeno y alta concentración de ácido glutámico.

Los sazónadores líquidos fermentados sin sal como en los ejemplos 2-1 y 2-2 tenían un aroma dulce y elegante como un todo, y el sabor era deseable. El sazónador líquido bajo en sal del Ejemplo 2-4 que se sometió a fermentación de levadura bajo una baja concentración de sal (3%, p/v) tenía un aroma que era más parecido a una salsa de soya, y el sabor también era deseable.

[0048]

La levadura de *sake S. cerevisiae* utilizada en el Ejemplo 2-2, y la levadura *K. marxianus* resistente al calor utilizada en el Ejemplo 2-3 tenían tasas de fermentación más altas que la levadura de salsa de soya (*Z. rouxii*) utilizada en el Ejemplo 2-1, con una tendencia a producir más alcohol, y son más deseables en términos de propiedades antibacterianas. Sin embargo, estas levaduras son levaduras no halotolerantes, y no

crecen bien y no producen alcohol bajo altas concentraciones de sal como en los ejemplos comparativos 2-1 y 2-2, y no pueden usarse en la maceración tradicional de salsa de soya. Una ventaja de la fermentación sin sal o baja en sal de la presente invención es que permite el uso de estos microorganismos no halotolerantes.

5 [0049]

3. Producción de Sazonador Líquido Sin Sal con Sabor a Salsa de soya Mejorado Producción de Sazonador Líquido Similar a la Salsa de soya con Adición de Pentosa

Se añadió una solución de glucosa al 50% (p/v) para la eliminación de bacterias, y ribosa o xilosa a una *moromi* sin sal pasteurizada producida de la misma manera que en el Ejemplo 2. Estos se agregaron en las concentraciones finales (p/v) que se muestran en la Tabla 5. A la mezcla se añadió levadura de salsa de soya *Z. rouxii* como en el Ejemplo 2-1, y se añadió un agente enzimático comercialmente disponible (endoproteasa, exoproteasa) en una concentración final de 0.1% (p/p). La mezcla se fermentó a una temperatura de *moromi* de 25 °C por 14 días. Después de la fermentación de la levadura, la *moromi* se prensó, se calentó y se maceró para obtener un sazónador líquido refinado similar a salsa de soya.

[0050]

[Tabla 5]

	PH <i>Moromi</i>	NaCl % (p/v)	Levadura	Suplemento de azúcar (concentración final)	Temp. de Fermentación
Ej. 2-1 (control)	4.8	0	<i>Z. rouxii</i>	Glucosa al 5%	25°C
Ej. 3-1	4.8	0	<i>Z. rouxii</i>	4% de glucosa, 1% de ribosa	25°C
Ej. 3-2	4.8	0	<i>Z. rouxii</i>	4% de glucosa, 1% de ribosa	25°C

20

[0051]

La Tabla 6 muestra los valores analíticos de los componentes y los resultados de la evaluación del sabor del sazónador líquido similar a salsa de soya. La evaluación del sabor confirmó que la adición de ribosa o xilosa para la fermentación mejora el aroma similar a la salsa de soya y mejora la calidad, aunque los valores analíticos de los componentes comunes permanecieron esencialmente iguales. El resultado sugiere que

25

agregar pentosa es efectivo para mejorar aún más el sabor similar a la salsa de soya del sazonzador líquido similar a la salsa de soya sin sal.

[0052]

[Tabla 6]

	NaCl % (p/v)	TN % (p/v)	Glu % (p/v)	pH	Alc % (v/v)	Evaluación del sabor
Ej. 2-1	0	1,51	0,91	4,7	4,9	Aroma dulce
Ej. 3-1	0	1,45	0,78	4,7	4,8	Olor característico de la fermentación de la salsa de soya
Ej. 3-2	0	1.47	0.90	4.7	3.0	Olor característico de la fermentación de la salsa de soya, fuerte

5 [0053]

4. Comparación de la salsa de soya desalinizada, la salsa de soya *Koikuchi* (color oscuro) disponible comercialmente y la salsa de soya sin sal comercialmente disponible
Preparación de Salsa de soya Desalinizada

10 Las semillas de soya desgrasadas, cocidas y desnaturalizadas, y el trigo tostado triturado se mezclaron en cantidades iguales, y la mezcla se inoculó con un iniciador de semillas, y se procesó durante 42 horas bajo aireación para obtener una salsa de soya *koji* (elaboración de *koji*). El *koji* se mezcló en solución salina, y se fermentó y maduró en condiciones controladas donde se fermentaba la *moromi* entre 25 y 30 ° C durante 150 días con agitación apropiada usando un método ordinario. Esto fue seguido por
15 prensado y filtración, y una salsa de soya no calentada que tenía una concentración de sal de aproximadamente 18% (p/v), y se obtuvo una concentración de nitrógeno total de aproximadamente 1.7% (p/v).

20 La salsa de soya sin calentar se calentó a 80 ° C durante 1 hora, y se refinó por filtración. La salsa de soya resultante se desalinó con un electrodializador (fabricado por Astom Corporation) y una salsa de soya desalada de pH 4,7 que tiene una concentración de sal del 0.1% (p/v), una concentración de nitrógeno total de aproximadamente 1,6% (p/v), y se obtuvo una concentración de ácido glutámico de aproximadamente 0.9% (p/v).

25

[0054]

Análisis de Componentes de Aroma

Las concentraciones de alcohol isoamílico, 2-feniletanol, alcohol isobutílico y HEMF se midieron usando el método de análisis cuantitativo descrito en J. Agric. Food Chem. Vol. 39, 934, 1991. Específicamente, estos se analizaron por cromatografía de gases (6890N, fabricada por Agilent Technologies), y el contenido de cada componente de aroma se determinó mediante el método de curva estándar usando una sustancia estándar.

[0055]

La Tabla 7 muestra los resultados del análisis de componentes de aroma para los sazónadores líquidos de los Ejemplos (Ejemplos 1-4, 2-1, 2-2, 2-4, 3-1, y 3-2), una salsa de soya desalada, una salsa de soya comercialmente disponible *koikuchi* (color oscuro) (fabricada por Kikkoman Corporation), y un sazónador líquido similar a salsa de soya disponible comercialmente macerado con alcohol (salsa de soya sin sal disponible comercialmente). Se confirmó que las concentraciones de alcohol isoamílico, 2-feniletanol y alcohol isobutílico con respecto al 1% (p/v) de la concentración total de nitrógeno tendían a ser globalmente más altas en los sazónadores líquidos similares a salsas de soya de la presente invención que en la salsa de soya desalinizada y la salsa de soya disponible comercialmente, y que los sazónadores líquidos similares a salsa de soya de la presente invención tenían una concentración de alcohol isoamílico de 20 ppm (p/v) o más, concentración de 2-feniletanol de 6 ppm (p / v) o más, y una concentración de alcohol isobutílico de 9 ppm (p/v) o más y eran sazónadores líquidos sin sal o bajos en sal que tenían un sabor deseable. También se confirmó que los sazónadores líquidos de los Ejemplos 2-1, 2-2 y 2-4 tenían los mismos niveles de concentración de HEMF que la salsa de soya desalada y la salsa de soya *Koikuchi* (color oscuro) disponible comercialmente, y también tenían el sabor similar a salsa de soya.

[0056]

También se confirmó que los sazónadores líquidos sin sal preparados mediante la adición de pentosa como en los Ejemplos 3-1 y 3-2 tenían concentraciones de HEMF incluso mayores, y que se puede obtener un sazónador líquido con un sabor similar a

salsa de soya mejorado cuando se agrega pentosa en la implementación de la presente invención.

[0057]

[Tabla 7]

	NaCl % (p/v)	Alc % (p/v)	TN % (p/v)	Concentración (ppm, p/v) con respecto a TN 1% (p/v)				Resumen de producción
				Alcohol isoamili co	2-Fenil etanol	Alcohol isobutili co	HEMF	
Ej. 1-4	0	2.1	1.16	23.7	8.9	9.3	12.1	Sin suplemento de azúcar, bajo en alcohol
Ej. 2-1	0	4.9	1.51	99.1	31.3	28.6	18.8	
Ej. 2-2	0	5.8	1.51	48.8	15.3	21.2	11.7	Fermentación con <i>S. cerevisiae</i>
Ej. 2-4	3.0	5.1	1.47	100.8	45.0	44.6	14.2	Fermentación con 3% de sal
Ej. 3-1	0	4.8	1.45	70.5	18.0	29.9	41.0	Se agregó ribosa al 1% para la fermentación
Ej. 3-2	0	3.0	1.47	74.4	18.1	28.9	29.8	Se agregó xilosa al 3% para la fermentación
Salsa de soya desalinizada	0.1	2.3	1.66	2.3	1.0	3.5	13.4	Maceración seguida de desalinización por electrodiálisis
Salsa de soya <i>koikuchi</i> (de color oscuro) comercialmente disponible	16.0	3.0	1.60	2.6	3.0	4.4	16.6	Elaboración
Salsa de soya sin sal comercialmente disponible	6.2	13.4	3.06	0.0	1.6	0.0	2.1	Macerado con alcohol

5

[0058]

Análisis de la Concentración de Iones Metálicos

La concentración de iones metálicos se analizó mediante espectrofotometría de absorción atómica con llama de aire-acetileno, usando un espectrofotómetro de absorción atómica AA6300 (fabricado por Shimadzu Corporation). Se creó una curva estándar usando una solución estándar para espectrofotometría de absorción atómica (fabricada por Kanto Kagaku).

10

[0059]

La Tabla 8 muestra las concentraciones de iones metálicos del sazónador líquido similar a la salsa de soya sin sal del Ejemplo 2-1, la salsa de soya desalada preparada en la Sección 4 anterior, y una salsa de soya sin sal disponible

5 comercialmente. El condimento líquido similar a la salsa de soya libre de sal de la presente invención tenía una concentración de iones de sodio considerablemente menor que las otras salsas de soya. La salsa de soya desalinizada tenía una baja concentración de iones de potasio, pero la concentración de iones de sodio era relativamente alta debido a la eficiencia de electrodiálisis. Estos resultados sugieren que el sazónador

10 líquido similar a salsa de soya sin sal de la presente invención es un sazónador líquido que tiene una concentración de iones sodio considerablemente más baja que los sazónadores líquidos tradicionales similares a salsas de soya sin sal o bajas en sal y que es funcionalmente deseable para, por ejemplo, la prevención de la hipertensión sensible a la sal.

[0060]

[Tabla 8]

	Na ppm (p/v)	K ppm (p/v)	Mg: ppm (p/v)
Ej. 2-1	1	433	75
Salsa de soya desalinizada	530	8	60
Salsa de soya sin sal comercialmente disponible	78	545	97

[0061]

Evaluación sensorial

La evaluación sensorial fue realizada por ocho panelistas entrenados que tenían

20 una capacidad de discriminación, y se les pidió a estos panelistas que dieran puntajes. Específicamente, los sazónadores líquidos sin sal de los Ejemplos 1-4, 2-1, 2-2, 3-1 y 3-2, una muestra preparada mediante la adición de alcohol a la muestra del Ejemplo 2-1 en una concentración final de 8.5% (p/v) y una salsa de soya sin sal comercialmente disponible se evaluaron para intensidades de salinidad, *umami*, amargor y sabor similar

25 a salsa de soya, y para palatabilidad (sensación placentera), en relación con la salsa de

soya desalada preparada en Sección 4 arriba. Los criterios de evaluación son los siguientes.

- 1: Baja intensidad/mala palatabilidad
- 2: Intensidad ligeramente baja/Palatabilidad ligeramente pobre
- 3: La misma intensidad/la misma palatabilidad
- 4: Intensidad ligeramente alta/Palatabilidad ligeramente deseable
- 5: Alta intensidad/palatabilidad deseable

[0062]

La Tabla 9 muestra los resultados de la prueba de evaluación sensorial para los
 10 sazonadores líquidos sin sal. Los puntajes presentados en la tabla son los valores
 medios de los ocho panelistas. Las muestras de los Ejemplos 2-1 y 2-2 como los
 productos de la presente invención tenían *umami* y palatabilidad mejorados que la salsa
 de soya desalada. Se confirmó que las muestras de los Ejemplos 3-1 y 3-2 también
 15 tenían un sabor similar a la salsa de soya debido al aumento de HEMF. Por otro lado, se
 confirmó que la muestra con alcohol añadido y la salsa de soya sin sal comercialmente
 disponible tenían un fuerte sabor alcohólico y tendían a ser desagradables. Los
 productos de la presente invención tenían un aroma similar a la salsa de soya debido a la
 alta concentración total de nitrógeno y a la alta concentración de ácido glutámico, y los
 20 mismos niveles de concentración de alcohol que una salsa de soya fermentada. Estos
 contribuyeron a la palatabilidad mejorada.

25

30

[0063]

[Tabla 9]

	Puntuación media					Comentarios
	Salinidad	<i>Umami</i>	Amargor	Sabor similar a salsa de soya	Sabor agradable	
Salsa de soya desalinizada	-	-	-	-	-	Sabor natural con cierta dureza
Ej. 1-4	2,3	3,0	3,0	2,3	5,1	Suave aroma a salsa de soya, sabor deseable
Ej. 2-1	3,0	3,8	3,4	2,8	3,6	Aroma elegante, sabor deseable
Ej. 2-2	3,3	3,6	3,3	2,6	3,5	Sabor elegante similar a <i>sake</i>
Ej. 3-1	3,3	3,4	3,4	3,4	3,5	Suave aroma a salsa de soya, sabor deseable
Ej. 3-2	3,4	3,1	3,6	3,5	3,8	Fuerte aroma a salsa de soya, sabor deseable
Ej. 2-1 + alcohol (8.5%)	2,3	3,0	3,5	2,0	2,0	Sabor fuerte a alcohol, sin sabor a salsa de soya
Salsa de soya sin sal comercialmente disponible	3.6	2.8	4,1	1,9	1,5	Fuerte sabor a alcohol con sabor amargo

5

[0064]

La misma evaluación sensorial se realizó para los sazónadores líquidos bajos en sal, específicamente, para la muestra del Ejemplo 2-4 (3% de sal), y para una muestra preparada mediante la adición de sal a una salsa de soya desalada en una concentración final de 3% (N = 8) . Por la presencia de una pequeña cantidad de sal, la muestra del

10 Ejemplo 2-4 que contenía un 3% de sal había mejorado mucho la salinidad, el *umami*, el sabor a la salsa de soya y la palatabilidad, y se evaluó como un sazónador líquido más equilibrado en comparación con la salsa de soya desalada a la que se añadió sal para tener la misma concentración de sal.

[0065]

Estos resultados confirmaron que el sazonzador líquido similar a salsa de soya de la presente invención, a pesar de no tener sal o tener bajo contenido de sal, tiene un
 5 sabor excelente y una palatabilidad más deseable que la salsa de soya desalada, la salsa de soya sin sal comercialmente disponible. y la salsa de soya preparada agregando sal o alcohol a la salsa de soya desalada.

[0066]

Producción experimental de Sazonador Líquido Sin Sal

- 10 (A) Descomposición a Alta Temperatura con Ácido Acético - Pasteurización de la solución de *Moromi* - Fermentación de Levadura

Se cargó una salsa de soya *koji* (7.8 kg) que contenía soya procesada desgrasada (50%, p/p) y trigo molido tostado (50%, p/p) en un fermentador de jarra de 30 L con 12 L de 75 ° C agua caliente y 100 mL de ácido acético. La mezcla se agitó a
 15 55 °C durante 24 horas para descomponer. La *moromi* descompuesta se filtró a través de papel de filtro para separar el líquido del sólido, y el filtrado (solución de *moromi*) se sometió a pasteurización con calor a 121 °C durante 3 minutos. A la solución *moromi* pasteurizada se le añadió 1 L de glucosa y 1×10^6 células/ml de levadura con salsa de soya (*Zygosaccharomyces rouxii*), y la mezcla se fermentó a una temperatura
 20 *moromi* de 30 °C durante 7 días.

[0067]

- (B) Descomposición a Alta Temperatura con Ácido Láctico - Pasteurización de la solución de *Moromi* - Fermentación de la Levadura

La misma salsa de soya *koji* utilizada en (A) (7,8 kg) se cargó en un
 25 fermentador de jarra de 30 L con 12 L de agua caliente a 75 ° C y 100 ml de ácido láctico. La mezcla se agitó a 55°C durante 24 horas para descomponer. La *moromi* descompuesta se filtró a través de papel de filtro para separar el líquido del sólido, y el filtrado (solución de *moromi*) se sometió a pasteurización con calor a 121 °C durante 3 minutos. A la solución de *moromi* pasteurizada se le añadió 1 L de glucosa y 1×10^6
 30 células/ml de levadura con salsa de soya (*Zygosaccharomyces rouxii*), y la mezcla se fermentó a una temperatura de *moromi* de 30 °C durante 7 días.

[0068]

(C) Descomposición a Alta temperatura con Ácido láctico - Pasteurización de *Moromi* - Fermentación de Levadura

La misma salsa de soya *koji* utilizada en (A) (7,8 kg) se cargó en un fermentador de jarra de 30 L con 12 L de agua caliente a 75 ° C y 100 ml de ácido láctico. La mezcla se agitó a 55 °C durante 24 horas para descomponer. La *moromi* descompuesta se pasteurizó con calor a 121 °C durante 3 minutos mientras se agita en el fermentador de jarras. A la *moromi* pasteurizada se le agregó 1L de glucosa y 1×10^6 células/ml de levadura con salsa de soya (*Zygosaccharomyces rouxii*), y la mezcla se fermentó a una temperatura de *moromi* de 30 °C durante 7 días.

[0069]

Resultados

La Tabla 11 muestra los valores analíticos y los resultados de la evaluación del sabor de estas muestras de sazonadores líquidos. No hubo una gran diferencia entre los valores analíticos de las muestras. Sin embargo, las muestras fueron muy diferentes en términos de sabor. La muestra de descomposición de ácido acético (A) tenía un olor ácido notable, y el sabor era demasiado simple. La muestra pasteurizada de la solución de *moromi* (A, B) tenía un sabor desagradable que incluía un olor a oxidación y un olor de deterioro. La muestra de (C) tenía *umami* con un sabor que se parecía más a una salsa de soya.

25

30

[0070]

[Tabla 11]

Muestra	pH	TN (%, p/v)	Glu (%, p/v)	Alcohol (%, p/v)	Evaluación del sabor
(A) Acido acético- pasteurización de la solución de <i>moromi</i>	4,98	1,72	1,26	5,78	- olor ácido y olor de deterioro están presentes - Sabor ácido con sabor a salsa de soya
(B) Acido láctico- pasteurización de la solución de <i>moromi</i>	5,02	1.74	1,37	4,67	- Amargor y olor ácido/olor de deterioro presentes - Sabor fuerte
(C) Ácido láctico- pasteurización de <i>Moromi</i>	5,03	1.90	1,51	5,55	- Sabor similar a salsa de soya - <i>umami</i> fuerte

[0071]

- Estos resultados confirmaron que el sazonador líquido de la presente invención
- 5 producido por fermentación de levadura sin separación sólido-líquido tenía un sabor muy diferente del sazonador líquido producido por fermentación de levadura con separación sólido-líquido.

RESUMEN

Se proporciona en la presente un sazónador líquido similar a salsa de soya sin sal o con bajo contenido de sal que tiene un sabor deseable y una funcionalidad deseable sin contaminación por microorganismos. También se proporciona un método para producir dicho sazónador líquido similar a salsa. El sazónador líquido similar a la salsa de soya sin sal o bajo en sal que tiene un sabor deseable y una funcionalidad deseable se obtiene inoculando granos de materia prima principalmente de soya o trigo con un hongo *koji* para preparar un *koji* sólido, añadiendo agua sin sal o baja en sal para preparar el *koji* sólido para preparar una *moromi*, pasteurizar la *moromi* y fermentar la *moromi* con levadura en un recipiente adaptado para reducir la entrada de microorganismos dañinos.