

# REVISTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA



ISSN: 2709-4502

Alpha Centauri



Elaboración de salsa de soya natural y la influencia de las  
enzimas en su producción



Making Natural Soy Sauce and the Influence of  
Enzymes on Its Production

<https://doi.org/10.47422/ac.v1i2.11>

## Elaboración de salsa de soya natural y la influencia de las enzimas en su producción

### Making Natural Soy Sauce and the Influence of Enzymes on Its Production

 CORDOVA CORONADO, Peggy Paola  
Universidad Nacional de Trujillo. Perú

 MONTOYA CÁRDENAS, Gustavo Adolfo  
Universidad César Vallejo. Perú

#### RESUMEN

La salsa de soya se elabora mediante la fermentación de los granos de soya con trigo tostado por las enzimas, que son biocatalizadores. Para elaborar la salsa de soya, se mezcla la soya, el trigo y el *Aspergillus oryzae* para producir koji. Durante este tiempo se generan las enzimas catalíticas incluyendo la amilasa, que convierten el almidón en azúcares simples; las proteasas, que hidroliza las proteínas a péptidos y aminoácidos; las celulasas, que degradan la celulosa a azúcares y las lipasas produciendo ácidos grasos, precursores de los compuestos aromáticos. Elaborado el Koji, se mezcla con salmuera, denominada Moromi. El Moromi se fermenta en varias etapas, la primera es la transformación de los azúcares (glucosa, manosa) a ácido láctico, luego se produce la fermentación alcohólica, en donde se crean los compuestos aromáticos característicos. Elaborar una salsa de soya natural, se emplea un cuidado proceso de por lo menos 180 días.

**Palabras clave:** soya, natural, enzimas, moromi, producción.

## ABSTRACT

Soy sauce is made by the fermentation of soybeans with toasted wheat by enzymes, which are biocatalysts. To make soy sauce, soybeans, wheat and *Aspergillus oryzae* are mixed together to produce koji. During this time, catalytic enzymes are generated, including amylase, which converts starch into simple sugars; proteases, which hydrolyze proteins to peptides and amino acids; cellulases, which degrade cellulose to sugars; and lipases, which produce fatty acids, precursors of aromatic compounds. Elaborated the Koji, it is mixed with brine, called Moromi. The Moromi is fermented in several stages, the first is the transformation of sugars (glucose, mannose) to lactic acid, then alcoholic fermentation occurs, where the characteristic aromatic compounds are created. To make a natural soy sauce, a careful process of at least 180 days is employed.

**Keywords:** soybean, natural, enzymes, moromi, production.

## INTRODUCCIÓN

Los alimentos fermentados tradicionales han sido un componente importante en la dieta de millones de personas, especialmente en los países en desarrollo cuyas industrias son principalmente basadas en la agricultura. Los alimentos fermentados son la comida popular y las delicias que se consumen normalmente por personas de bajos ingresos y constituyen la fuente de los nutrientes necesarios en su dieta. Como es sabido, los microorganismos responsables de este proceso de fermentación son las bacterias, levaduras y mohos. (Steinkraus, 2004), (Rondón, Mejía, Toro, 2005) y (Wood, 1998). La preparación de los alimentos por fermentación tiene ciertas ventajas. El proceso de fermentación produce enzimas deseables, destruye sabores indeseables, olores y las enzimas, sabor y aroma; preserva la materia prima; sintetiza componentes deseables, cambian el estado físico les da color a los alimentos. Las enzimas producidas por microorganismos

específicos son los responsables de la conversión de las materias primas en los procesos de fermentación (Steinkraus, 2004), (Sánchez, 2008).

En el oriente, hay muchos tipos de alimentos fermentados indígenas que incluyen la soja. Entre ellas, la salsa de soja, que se consume en muchos países orientales, de uso múltiple con un sabor de sal y sabor característico (Sugiyama, 2015), (Yufeng, Wang 2011). La salsa de soja ha sido reconocida como un condimento agradable para pescado y carne en todo el mundo. Hay muchas variedades de salsa de soja, cuyos cultivos característicos dependen de las proporciones de las materias primas utilizadas y los métodos de producción (Cui, Muralidhara 2010)

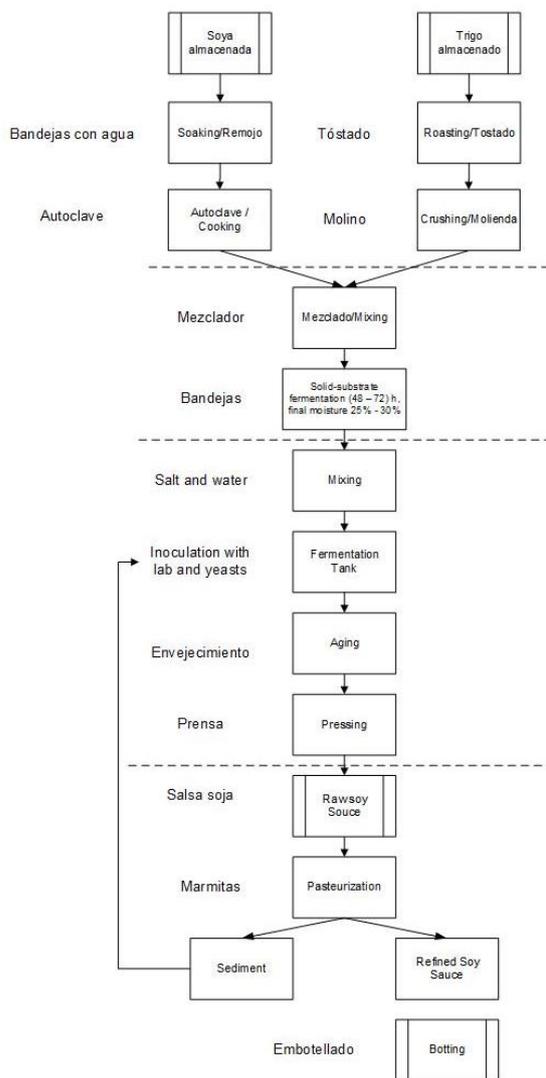
La tecnología de la fermentación de la salsa de soja se ha mejorado durante muchos años. Hoy, la salsa de soja fermentada es fabricada por los métodos más modernos y sofisticados, en términos de instalaciones y tecnología (Sugiyama, 2015), (Sánchez, 2008).



La salsa de soja se elabora a base de 4 ingredientes: la soya, el trigo, sal y agua. Los ingredientes son muy simples, pero deben ser seleccionados minuciosamente, pues sus cambios influyen directamente sobre el sabor y el aroma de la salsa de soja.

Proceso de Preparación de la Materia Prima

Figura 1. Proceso Tradicional de la Salsa de Soja.



En general, la soya se compone aproximadamente de 38% de proteínas, 31% de carbohidratos, 18% de grasa y el 8% de agua.

También contiene un alto nivel de minerales y vitaminas. La proteína de soya contiene principalmente glicina, faseolina y legumelin.

Originalmente, toda la soja se utiliza como punto de partida de materia prima en la preparación de la salsa, sin embargo, desde hace 50 años, en Japón se ha venido utilizando la harina de soja desgrasada, para reemplazar el grano entero. Su uso se ha demostrado que reduce el costo de producción, al igual que para aumentar la solubilidad de nitrógeno.

Ya sea trigo entero o harina de trigo, se utilizan para la producción de salsa de soja de alta calidad. Yokotsuka (1994) señala las funciones del trigo en la elaboración de la salsa de soja: 1) reducir la humedad de los granos cocidos de 60% a alrededor del 45%, lo que es desfavorable para el crecimiento de microorganismos indeseables, pero suficiente para el crecimiento del koji. 2) Ayuda a obtener el máximo crecimiento del koji. 3) Sirve como precursor de azúcares, alcoholes y ácidos orgánicos. 4) Proporciona la lignina y los glucósidos, precursores del sabor vanílico del producto. 5) Sirve como una fuente de ácido glutámico.

Mientras que el trigo entero es esencial en la preparación de la salsa de soja japonesa, la harina de trigo es más común en los preparados en los países del sudeste asiático. Al lado de la harina de trigo, la harina de arroz o mezcla de ambos también se utilizan en la región.

El proceso de fabricación de salsa de soja fermentada se compone de tres grandes procesos: la producción de koji, la fermentación con

salmuera y la refinación. Hacer koji es una técnica característica de Oriente a través de la historia de 3000 años (Sugiyama, 2020), la soja entera se humedece y se cocina bajo presión de vapor. Este proceso influye en gran medida la digestibilidad; el trigo, la otra mitad de las materias primas, se tuesta y luego se tritura groseramente en 4 a 5 partes. Los dos materiales antedichos son mezclados en la misma cantidad. Con esta cantidad, el trigo tostado y molido absorberá la mayor parte de la humedad de la soja cocida (alrededor de 60-62%) y permite a la mezcla alcanzar un contenido de humedad de alrededor del 47%.

### Proceso de Koji

Posteriormente inoculados con un cultivo puro de “arranque”, esporas de *Aspergillus oryzae*, en bandejas de madera. La mezcla se airea con temperatura y humedad del aire controlado a 30°C durante 2 días. Esto permite al koji para crecer a través hacia afuera de la masa, y producir diferentes clases de enzimas, incluyendo la amilasa, la celulosa, la invertasa, lipasas y proteasas, necesarias para hidrolizar la descomposición de las materias primas. El producto se llama “Koji”, el rápido crecimiento del moho y la alta actividad de enzimas son esenciales para la reducción de la duración del proceso (Rondón, Mejía, Toro 2005), (Sugiyama, 2015) y (Tsao, 2010).

El propósito de producir Koji es para tener una fuente de enzimas tales como: las enzimas proteolíticas para la conversión de las proteínas de soja en péptidos y aminoácidos; las amilasas

juegan un papel importante en la degradación del almidón y oligosacáridos a ofrecer importantes azúcares fermentables para la etapa posterior, la fermentación, a través del cual el sabor y aromas se ven mejorados. Se ha demostrado que la reducción de azúcar del substrato aumenta notablemente después de 18 hrs de incubación, mientras que la actividad de la amilasa no se detecta hasta después de 25-30 hrs. La aparición de la amilasa se acompaña de un segundo aumento en la reducción del azúcar. Pare ello, el aumento a principios de la reducción de azúcar que se cree son el resultado de la inversión de la sacarosa presente en la soja por la enzima invertasa.

Las Celulasas juegan un importante papel en la hidrólisis de la celulosa en glucosa, las sustancias convertidas por las enzimas de koji van a ser los nutrientes de las bacterias del ácido láctico y levaduras en la fermentación posterior de salmuera (Rondón, Mejía, Toro 2005), (Luh, 1995), (Lusas, Ericksin 1989), (Sugiyama, 2015) y (Tsao, 2010).

El proceso de producción de koji se debe limitar a 45 hrs para lograr una fuerte actividad de la proteasa. Se sabe que la actividad de la proteasa puede aumentar cuando el koji se produce a los 25°C (en general, el koji producido a altas temperaturas tiene una mayor capacidad de sacarificación, pero a más baja temperatura puede producir un koji con una mayor actividad de la proteasa acida). Sin embargo, la temperatura óptima de crecimiento para el moho es de unos 33°C. Los estudios sobre cinética de producción de la proteasa han demostrado que el mayor incremento en la actividad de la proteasa aparece

en la última fase de crecimiento de hongos (Wood, 1998).

### Proceso de Moromi

El segundo paso es el llamado Fermentación del Moromi (en medio líquido), comienza por la combinación de la mezcla fermentada de granos harina con agua salina, creando una masa. La alta concentración de sal y el alto contenido de agua de la masa crea un ambiente selectivo de crecimiento, lo cual favorece la proliferación de halófilos, o bacterias y levaduras “amantes de la sal” e inhiben el crecimiento de microorganismos ajenos a este proceso, presentes durante el proceso de Koji. (Rondón, Mejía, Toro, 2005), (Luh, 1995), (Lusas, Erickson 1989), (Sugiyama, 2015), (Tsao, 2010) y (Yufeng, Wang, 2011).

Se hizo evidente a través de la investigación mucho después de 1950 que tres grupos especiales de microorganismos, *Tetragenococcus halophilus*, *Zigosaccharomyces rouxii* y *Cándida sp*, juegan un papel importante en la fermentación de salmuera. Durante el periodo de moromi, las enzimas producidas durante la etapa de koji hidrolizan la materia prima. La proteína se descompone en aminoácidos o péptidos pequeños. El almidón se convierte en azúcar, que posteriormente son fermentados por la acción de los microorganismos resistentes a la sal en ácido láctico, alcohol y varios aromas (Rondón, Mejía y Toro, 2005), (Lusas, Erickson, 1989), (Sugiyama, 2015), (Tsao, 2010) y (Yufeng, Wang, 2011).

En la primera etapa, un cultivo de bacteria láctica, se añade. *Tetragenococcus halophilus*,

bacterias del ácido láctico de la salsa de soja y miso, es un *Micrococcus* gram- positivo, con un diámetro de 0,6-0,9 micras. Es halófilo, anaerobio facultativo. Las actividades acuáticas son óptimas 0.99-0.94, que corresponden a 10.5% (w / v) en contenido de sal. La actividad más baja de agua en la que *T. halophilus* puede crecer es 0.808. Esta actividad de agua corresponde a 24% (w / v) en contenido de sal. Esta bacteria puede crecer en un rango de pH de 5,5 a 9,0 y una temperatura de 20-42 ° C. su crecimiento óptimo se produce a los 25-30 ° C.

Los aminoácidos esenciales para estas bacterias son: leucina, isoleucina, valina, ácido glutámico, arginina, histidina, triptófano y fenilalanina. Algunas cepas también requieren uracilo.

En la producción de moromi, grandes cantidades de glucosa son liberados en la salmuera por efecto del almidón contenido en los materiales a través de la acción de las enzimas en la etapa del koji. Galactosa, arabinosa, xilosa, y similares también son liberadas a través de la misma acción por la transformación de los hidratos de carbono de las materias primas. *T. halophilus* convierte un mol de glucosa a 1,71 moles de ácido L-láctico, 0,28 moles de ácido acético y 0,17 moles de ácido fórmico. Galatose, arabinosa, xilosa también se convierten principalmente en ácido láctico. El ácido cítrico también se encuentra en la soja. Ácido cítrico se convierte en 0,16 mol de ácido L-láctico, 1,86 mol de ácido acético y 0,59 moles de ácido fórmico por *T. halophilus*.

Este micrococo osmofílico se propaga y produce ácido láctico, es necesario evitar que el pH



disminuya demasiado rápido. La disminución rápida del pH detiene de repente el crecimiento de las bacterias del ácido láctico. Como tal la baja de pH obstaculiza no solo la acción de las enzimas proteolíticas derivadas del koji sino también de la glutaminasa, enzima que convierte la glutamina en ácido glutámico. En consecuencia, el volumen de descomposición de las proteínas de soja baja y lo mismo ocurre con la concentración de ácido glutámico en el producto final. Por lo que la temperatura de la masa moromi se mantiene relativamente bajo (15-20°C) para evitar el crecimiento demasiado rápido de la bacteria láctica. Cuando se llega a un pH de 5.2, se agrega un cultivo de levadura, *Zigosaccharomyces rouxii*.

*Z. rouxii* es la levadura responsable de la fermentación alcohólica y principal componente fumaron HEMF durante la fermentación de salmuera de salsa de soja y miso. Es una de las levaduras tolerantes a la sal y pueden crecer, ya sea en un medio libre de sal o en un medio con sal. Tiene una fuerte resistencia a la sal, y puede crecer en un medio con un contenido de sal de hasta un 24-26% (w / v) y actividad acuática de 0.787-0.810. En un medio libre de sal, la glucosa y la maltosa pueden ser fermentadas en alcohol, mientras que, en un medio con una concentración de sal, solo la glucosa puede ser fermentada por esta levadura. \* Una de las características más importantes de la resistencia a la sal *Z. rouxii*, así como las especies de *Cándida* es el hecho de que la fermentación polialcohol se acelera en una alta concentración de sal, porque se supone que los polialcoholes, tales como el glicerol y similares,

actúan como un soluto compatible para obtener una fuerte resistencia a la sal.

El pH en el que *Z. rouxii* puede crecer es entre 3 y 7 en un medio libre de sal. Sin embargo, en presencia de un 18% (w / v) de sal, sólo puede crecer en el rango de pH-4.5. El rango de la temperatura para el crecimiento es 20-35 ° C en un medio libre de sal, pero el límite superior de la temperatura se eleva a 40 ° C en el 18% (w / v) de sal. *Z. rouxii* requiere biotina, tiamina, ácido pantoténico, inositol para su crecimiento. El requerimiento de inositol incrementa en los medios de con una alta concentración de sal. Este inositol se suministra a la salmuera en gran medida a través de la descomposición de la fitina y fosfatidil inositol contenidos en la soja por las enzimas del koji. Entonces, la temperatura del moromi se eleva lentamente hasta casi 30°C hasta que se produce la fermentación alcohólica fuerte, como resultado de 2-3% de etanol y muchos tipos de compuestos aromáticos son producidos por esta levadura. Después de que termine la fermentación alcohólica, la temperatura vuelve a caer y se mantiene a alrededor de 25°C durante los últimos 2 meses. Otro grupo de levaduras tolerantes a la sal, conocida como *Torulopsis* (ahora clasificadas como especies de *Cándida*), a menudo se producen en la etapa intermedia o final. Producen los compuestos fenólicos y añaden un poco de aroma característico a la salsa de soja (Rondón, Mejía, Toro, 2005), (Luh, 1995), (Lusas, Erickson, 1989), (Sugiyama, 2020), (Yufeng, Wang, 2011).

Las especies típicas de este grupo observado en la salsa de soja o miso en el moromi son: *C. versatilis*, *C. etchellsii*, y similares. Estas

levaduras no son los únicos responsables de la fermentación alcohólica principal, sino que convierten la glucosa y otros azúcares en alcoholes. La característica de la fermentación alcohólica de los resultados de las especies de *Candida* a partir de la fermentación de azúcares distintos de la glucosa, tales como la maltosa, en presencia de un 18% (w / v) de sal. Especies de *Candida* y crecen bien en medios con actividades de agua entre 0,975 y 0,840. También tienen una fuerte tolerancia a la sal, ya que son capaces de crecer en medios con hasta un 26% (w / v) en contenido de sal. El rango de la temperatura de crecimiento se eleva a 35 ° C en la presencia de 18% (w / v) de sal. *Cándida* produce glicerol y eritritol, que se consideran responsables de su tolerancia a la sal.

Entre las especies de *Cándida* producen compuestos, 4-EG es importante, ya que tiene alguna influencia en el aroma de salsa de soja y es un compuesto que no se producen por *Z. rouxii*. La presencia de 4-EG en una concentración de más de 8 ppm tiene un efecto negativo en el aroma de la salsa de soja, a pesar de que tiene un efecto más en el aroma por debajo de 8 ppm, como se muestra ya. Sin embargo, el control del crecimiento de las especies de *Candida* en moromi es muy difícil. Como cuestión de hecho, la fermentación del moromi se puede hacer sin el crecimiento de las especies de *Candida* y se puede producir una salsa de soja fermentada con una calidad y aroma satisfactoria.

Además de todas las reacciones biológicas y enzimáticas, algunas interacciones químicas o fisicoquímicas entre los constituyentes del moromi proceden a través de esta etapa. Los llamados

“reacciones de pardeamiento” entre los aminoácidos y componentes de azúcar son los típicos y pueden provocar la formación de las características de color marrón-rojizo de la salsa de soja. Cerca de 300 tipos de componentes de sabor se han identificado en la salsa de soja y la mayoría de estos compuestos se cree que son formados durante este proceso.

En general, de buena calidad al estilo japonés, la salsa de soja tiene un pH de 4.7- y contiene 1.50-1.65% de nitrógeno total (péptidos simple: 45% de aminoácidos, el 45% de amonio), 2.5% como azúcares reductores (glucosa: alrededor del 85%); 2.1% como ácidos orgánicos (ácido láctico: alrededor del 70%); 1.0-1.5% como polialcoholes (glicerina: 80-90%); 2.0-2.5% como etanol y 16-18% de cloruro de sodio. La composición de aminoácidos de la salsa de soja fermentada es casi la misma que la de la mezcla original de la soja y el trigo con las siguientes excepciones: la arginina es convertida a la ornitina por algunas de las bacterias del ácido láctico, el triptófano y la cistina son inestables en el moromi; y la tirosina se precipita en parte en el líquido del moromi debido a su solubilidad baja o es cambiada a la tiramina por las bacterias del ácido láctico.

Se tarda más de 6 meses para la fermentación y el envejecimiento de toda la masa de moromi. Por lo tanto, acortar este periodo es importante y los nuevos procesos para la fabricación de salsa de soja son deseables.

## CONCLUSIONES

Los procesos de elaboración de cualquier producto fermentado de la manera natural requieren controles específicos de temperatura, pH, acidez y tiempo.

Se requiere de mucha experiencia en el trabajo y manejo de cepas específicas para el tipo de metabolito que se requiere en la fermentación.

La característica principal de todo microorganismo es su crecimiento y desarrollo, como los nutrientes necesarios para su desarrollo, por lo que las pruebas a nivel de laboratorio son esenciales para poder identificar y adaptar una cepa necesaria para la elaboración de las enzimas requeridas en el proceso.

El uso de microorganismos y no de enzimas específicas, es el hecho de que el microorganismo, no solo aporta las enzimas necesarias en la fermentación, sino que existen metabolitos adicionales que son característicos de sabor y aroma del producto.

Las producciones de productos fermentados de la manera natural son más saludables para el consumo humano que el haberlos realizado utilizando insumos químicos.

Producir una salsa de soya de la manera tradicional japonesa de forma natural es más recomendable que realizar una salsa de soya por hidrólisis química, ya que el aporte de nutrientes al ser humano es más aprovechado y la generación de metabolitos secundarios son más dañinos para la salud al largo plazo.

La falta de conocimiento de los beneficios de la salsa de soya producida de forma natural es

poco conocido a nivel de las amas de casa, por lo que el consumo solo es por cuestiones de márketing del producto en los supermercados, lo cual nos hace partes directas de la difusión.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rondon, A; Mejía, L. y Toro, H. (2005). Evaluación de dos Procesos en la Elaboración de Salsa de Soya Fermentada, Revista Universidad de Caldas, Julio-diciembre 2005.
- Luh, B. (1995). Industrial Production of Soy Sauce, Journal of Industrial Microbiology, Dept of Food Science & Technology, University of California, Davis, CA 95616, USA.
- Wood, B. (1998). Microbiology Of Fermented Foods, , volume 2, second edition
- Cui, Z. y Muralidhara, H. (2010). Membrane Technology, A Practical Guide To Membrane Technology and Applications in Food and Bioprocessing, 2010, Primera edición, Ed. Elsevier.
- Lusas, E. y Erickson D. (1989). Food Uses of Whole Oil and Seeds, Chapter Eight.
- Sugiyama, S. (2015). Producción y Usos de la Salsa de Soya, Kikkoman Foods Inc.
- Tsao, G. (2010). Biotechnology in China II: Chemicals, Energy and Environment.
- Steinkraus, K. (2004). Industrialization of Indigenous Fermented Foods, 2da edición, 2004.



- Yufeng, L; y Wang, Ch. (2011). Desing of Koji Making Disc Machine Control System In Soy Sauce. Applied Informatics and Communication International Conference, ICAIC. EdtSpringer, Jun Zhang.
- Sanchez, P. (2008). Philippine Fermented Foods: Principles and Technology, The University of the Philippines Press.
- Applewhite, T. (1988). Proceeding of the World Congress on Vegetable Protein Utilization in Human Foods and Animal Feedstuffs, American Oil Chemists Society Champaing, Illinois.
- Huang, T; y Teng, D. (2018). Soy Sauce: Manufacturing and Biochemical Change, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan.
- Hamada, T; Fukushima, Y; y Motai, H. (1992). Continuous Production of Soy Sauce in a Bioreactor, Panel on the Applications of Biotechnology Fermented.
- Shurtleff, W. y Aoyagim, A. (2010) History of Soybeans and Foods in Sotheast Asia, 13th Century to, Edit Soyinfo Center.

#### **CORRESPONDENCIA:**

Mblgo. Peggy Paola Cordova Coronado  
peggy.cordova@productiva.pe

