



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0026207

(51)⁷ A23G 1/00; A23G 1/02

(13) B

(21) 1-2014-00783

(22) 13/08/2012

(86) PCT/US2012/050608 13/08/2012

(87) WO2013/025621 21/02/2013

(30) 61/523,148 12/08/2011 US

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/08/2014 317A

(73) MARS, INCORPORATED (US)

6885 Elm Street, McLean, VA 22101, United States of America

(72) SEGUINE, Edward (US); MILLS, David (US); MARELLI, Jean-Philippe (FR);
MOTAMAYOR-ARIAS, Juan Carlos (VE); DA SILVA COELHO, Irene (BR).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) PHƯƠNG PHÁP LÊN MEN HẠT CA CAO

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ, bao gồm các bước: a) lấy hạt ca cao từ ba quả hoặc ít hơn của một cây ca cao, và nạp các hạt ca cao thu được vào đồ chứa kín khí; b) loại không khí ra khỏi đồ chứa và đóng kín đồ chứa kín khí này; c) lên men hạt ca cao ở nhiệt độ có kiểm soát trong điều kiện kỵ khí trong khoảng thời gian định trước thứ nhất ít nhất là 36 giờ; d) phân tách dịch nhầy ra khỏi hạt ca cao ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước thứ hai; và e) làm khô hạt ca cao đến độ ẩm nằm trong khoảng từ 5% đến 10%.



CA-1.4



CCN-51



Comum



FA-1.3



FCON-150



PH-16



PS-1319



TSH-1188
Vị đắng



VB-1151

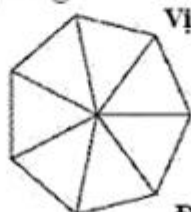


VP-01

Vị chát

Mùi quả

Mùi hoa



Vị chua

Hương cao cao

Đặc tính hương thơm khác

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ, bao gồm các bước: a) lấy hạt ca cao từ ba quả hoặc ít hơn của một cây ca cao, và nạp các hạt ca cao thu được vào đồ chứa kín khí; b) loại không khí ra khỏi đồ chứa và đóng kín đồ chứa kín khí này; c) lên men hạt ca cao ở nhiệt độ có kiểm soát trong điều kiện kỵ khí trong khoảng thời gian định trước thứ nhất ít nhất là 36 giờ; d) phân tách dịch nhầy ra khỏi hạt ca cao ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước thứ hai; và e) làm khô hạt ca cao đến độ ẩm nằm trong khoảng từ 5% đến 10%.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hạt ca cao là nguyên liệu chính để sản xuất sôcôla. Các hạt này được lấy từ quả của cây *Theobroma cacao*, được trồng ở các đồn điền thuộc vùng xích đạo, ví dụ, ở Brazil, Costa Rica, Ecuador, Indonesia, Ivory Coast, Ghana và Việt Nam. Bên trong quả, hạt ca cao được bao quanh bởi lớp thịt quả. Hạt ca cao nguyên chất có vị chát, mùi vị khó chịu, và cần được lên men, làm khô, rang để thu được hương vị ca cao đặc trưng mong muốn.

Thông thường, sôcôla được điều chế bằng cách trộn đường; bơ ca cao với ca cao lỏng hoặc hạt ca cao nghiền, tiếp theo là lọc, tạo sôcôla và ủ. Sôcôla sữa được điều chế theo phương pháp tương tự nhưng bổ sung thêm sữa hoặc bột sữa.

Hương vị sôcôla phụ thuộc vào nguồn gốc hạt ca cao, giống ca cao, quá trình lên men, làm khô, rang hạt và quá trình xử lý tiếp bởi nhà sản xuất sôcôla.

Kiểu gen có ảnh hưởng cả về chất lượng và độ đậm của hương vị sôcôla, bằng cách xác định số lượng tiền chất và hoạt tính enzym. Mỗi kiểu gen cần có quy trình lên men (còn được gọi là quy trình ủ) thích hợp với kiểu gen của nó để thu được chất lượng hương vị tốt nhất. Công nghệ lên men với quy mô lớn đã được biết đến. Ví dụ, xem Figueira et al., Trop. Agric. (Trinidad) 74, trang 132-139 (1997). Ví dụ, giống ca cao *Forastero* cần khoảng thời gian lên men nằm trong khoảng từ 5 ngày đến 8 ngày để tạo ra hương vị đặc trưng, trong khi giống ca cao *Criollo* cần khoảng thời gian lên men nằm trong khoảng từ 2 ngày đến 3 ngày.

Có một số ý kiến cho rằng chất lượng hương vị của hạt ca cao đã lên men phụ thuộc chủ yếu vào động học vận chuyển của nước và chất hòa tan trong quá trình lên men chứ không phản ánh sự khác biệt về đặc tính di truyền trong protein dự trữ, tuy nhiên vấn đề này vẫn chưa được làm rõ. Cho dù vậy, hiệu suất lên men có thể liên quan đến các yếu tố như protein dự trữ và khả năng tiếp cận, phá hủy quá trình phân chia tế bào, huy động enzym, và biến đổi ở các lớp thịt quả và vỏ ngoài. Ngoài ra, quá trình lên men ca cao tự nhiên là rất không đồng nhất và khác biệt nhiều cả về số lượng vi sinh vật, thành phần loài lẫn các chất chuyển hóa. Dường như sự khác biệt này phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm khu vực gieo trồng, điều kiện gieo trồng, độ chín của quả, độ tuổi của hạt sau thu hoạch và điều kiện bảo quản, dịch bệnh, giống ca cao, sự biến đổi về tỷ lệ lớp thịt quả/hạt, phương pháp lên men, kích cỡ lô lên men, điều kiện mùa màng và thời tiết, tần suất đảo trộn hoặc không đảo trộn, thời gian lên men, làm cho khả năng tái lập kết quả của quá trình lên men trở nên khó khăn. Do không kiểm soát được bản chất của quá trình lên men, đặc biệt do không kiểm soát được sự tăng trưởng và phát triển của vi sinh vật và sự trao đổi chất trong quá trình lên men, nên chất lượng hạt ca cao thành phẩm thường không được ổn định.

Nhiều khía cạnh nghiên cứu ca cao đòi hỏi phải đánh giá chất lượng sản phẩm thu hoạch bằng một số lượng nhỏ cây thử nghiệm. Hơn nữa, việc đánh giá này phải được thực hiện càng sớm càng tốt trong giai đoạn sinh sản của cây ca cao, tức là từ lúc mới có từ một đến vài quả. Do đó, cần có phương pháp lên men hoặc ủ lượng nhỏ hạt ca cao một cách nhanh chóng và hiệu quả để cho phép các chuyên gia nhân giống và nghiên cứu ca cao đánh giá được chất lượng của các giống ca cao cải tiến.

Biết rằng các phương pháp lên men truyền thống thường được thực hiện bằng cách trộn hạt ca cao được lấy từ 6 đến 8 quả hoặc nhiều hơn của nhiều hơn một cây ca cao và ủ trong thiết bị lên men cỡ lớn (tức là từ 6 đến 8 quả hoặc nhiều hơn được ủ thành đống). Phương pháp này không cho phép đánh giá được hương vị của từng cây ca cao. Ví dụ, xem Clapperton et al., *Cocoa Growers Bulletin*, 48, pp. 4757 (1994).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Trái lại, mục đích của sáng chế là đề cập đến phương pháp, trong đó từ 1 đến 3 quả được lấy từ một cây ca cao được lên men cùng nhau trong môi trường có kiểm soát và không được ủ thành đống. Do đó, phương pháp theo sáng chế cho phép các chuyên gia

nhân giống và nghiên cứu ca cao đánh giá được chất lượng của các giống ca cao cải tiến trên từng cây hoặc thậm chí trên từng quả ca cao.

Sáng chế đề cập đến phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ bao gồm các bước: lấy hạt ca cao từ một cây duy nhất (tốt hơn nếu, hạt được thu hái từ ba quả ca cao hoặc ít hơn trên cùng một cây), nạp hạt ca cao thu được vào đồ chứa kín khí, loại không khí ra khỏi đồ chứa và đóng kín đồ chứa kín khí này. Theo một số phương án, hạt ca cao đã được loại bỏ lớp thịt quả. Ngoài ra, theo các phương án khác, hạt ca cao chưa được loại bỏ lớp thịt quả. Tùy ý, trước khi loại không khí ra khỏi đồ chứa, hạt ca cao được cấy với men cái. Hạt ca cao được lên men ở nhiệt độ có kiểm soát ở điều kiện kỵ khí trong khoảng thời gian định trước thứ nhất (nằm trong khoảng từ 12 giờ đến 72 giờ). Dịch nhầy được tách ra khỏi hạt ca cao ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước thứ hai. Theo một phương án, dịch nhầy được loại bỏ sau khi quá trình lên men kết thúc. Theo một phương án khác, dịch nhầy được loại bỏ ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước trong quá trình lên men. Tùy ý, phương pháp theo sáng chế bao gồm bước lên men hạt ca cao ở nhiệt độ có kiểm soát trong điều kiện hiếu khí một phần trong khoảng thời gian định trước thứ ba (nằm trong khoảng từ 12 giờ đến 144 giờ). Hạt ca cao đã lên men được làm khô đến tổng lượng ẩm nằm trong khoảng từ 5% đến 10%; và sau đó hạt ca cao được hóa già tùy ý trong khoảng thời gian định trước thứ tư (nằm trong khoảng từ 2 tuần đến 10 tuần). Theo một số phương án, hạt ca cao được nạp vào túi lưới sau đó nạp vào đồ chứa kín khí. Do đó, việc nhấc túi hạt ca cao ra khỏi đồ chứa khi tách các hạt ca cao ra khỏi dịch nhầy trở nên dễ dàng và thuận tiện. Theo một số phương án, túi lưới là túi nhựa dẻo, tốt hơn nếu túi lưới là túi nhựa dẻo làm bằng polyetylen hoặc polypropylen. Theo một số phương án, túi lưới là túi làm bằng sợi đay. Theo một số phương án, đồ chứa là túi nhựa dẻo, tốt hơn nếu đồ chứa là túi nhựa dẻo làm bằng polyetylen hoặc polypropylen, tốt hơn nếu đồ chứa là túi nhựa dẻo có khóa, do loại túi này rất dễ loại bỏ không khí và đậy kín. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng loại túi nhựa dẻo bất kỳ có thể được sử dụng, bao gồm PE, HDPE, LDPE, PP, PET, PEN hoặc Nilông, nhưng không chỉ giới hạn ở các loại túi này.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng oxy có thể thấm qua thành bên của túi polyetylen, cho dù ở tốc độ chậm. Theo đó, thuật ngữ “kín khí” sử dụng trong bản mô tả có nghĩa là “hầu như kín khí” hoặc “tương đối kín khí” trong quá trình

lên men. Hơn nữa, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cũng hiểu rằng trừ khi được thực hiện trong điều kiện chân không, không thể loại bỏ được hoàn toàn không khí ra khỏi đồ chứa. Do đó, khi không khí được loại bỏ ra khỏi đồ chứa và đậy kín, một lượng không khí vẫn có thể còn lưu lại trong đồ chứa này.

Theo một phương án khác, phương pháp theo sáng chế còn bao gồm bước rang hạt ca cao, loại bỏ lớp vỏ để thu được nhân hạt ca cao và nghiền nhân hạt ca cao thu được thành sôcôla lỏng.

Các dấu hiệu và đặc điểm nổi bật khác của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết bởi phần mô tả dưới đây và bộ yêu cầu bảo hộ.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ thể hiện phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ theo sáng chế.

Fig.2 là đồ thị thể hiện nhiệt độ trong quá trình lên men theo phương pháp của sáng chế.

Fig.3 là biểu đồ hình sao thể hiện mỗi giống trong số 10 giống ca cao được đánh giá cho thấy sôcôla lỏng thu được bằng phương pháp theo sáng chế có đặc tính hương vị rất đặc trưng của hạt ca cao đã lên men.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ (ví dụ, lên men lượng hạt được lấy từ ba quả ca cao hoặc ít hơn, tốt hơn nếu hạt được lấy từ hai quả hoặc ít hơn, và tốt nhất nếu hạt được lấy từ một quả hoặc ít hơn) theo mô hình có kiểm soát và có thể tái lập kết quả để thực hiện nghiên cứu nhân giống và các nghiên cứu khác (ví dụ, nghiên cứu điều kiện dinh dưỡng của đất) đối với hương vị của từng cây ca cao, mà điều này không thể thực hiện được bằng phương pháp lên men truyền thống. Phương pháp theo sáng chế cho phép đánh giá thuộc tính của từng giống cây ca cao ở thời điểm cụ thể. Phương pháp theo sáng chế cũng có thể cho phép đánh giá thuộc tính của từng giống cây ca cao sớm hơn nhiều so với trước đây (ví dụ, khi cây ca cao mới có được từ một đến ba quả). Đặc biệt, phương pháp theo sáng chế cho phép đánh giá thuộc tính của từng giống cây ca cao ngay trong năm gieo trồng đầu tiên và trước khi nhân giống và trồng đại trà. Phương pháp theo sáng chế được sử dụng để sàng lọc các cây ca cao trong

các nghiên cứu phát triển hương vị. Phương pháp theo sáng chế là hữu ích trong thử nghiệm nhân giống để sản xuất được sản phẩm chất lượng cao thích hợp hơn. Ngoài ra, phương pháp theo sáng chế còn được sử dụng để đánh giá và sàng lọc ảnh hưởng của việc bổ sung các cơ chất và điều kiện xử lý khác nhau trong quá trình lên men đối với hương vị và chất lượng của ca cao lỏng và sôcôla tương ứng. Phương pháp này cũng có thể được sử dụng để đánh giá các thông số phân tích hóa học. Ví dụ, phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng để đánh giá hàm lượng flavanol trong hạt ca cao đã được làm khô và lên men để so sánh một giống ca cao bất kỳ với một giống ca cao khác về hàm lượng flavanol trong quá trình lên men. Phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với phương pháp phân tích GC-MS hoặc HPLC-MS hoặc các phương pháp phân tích thích hợp khác để đánh giá thành phần quan tâm.

Trừ khi có quy định khác, toàn bộ các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật sử dụng trong bản mô tả có nghĩa tương tự như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Mặc dù các phương pháp và nguyên liệu là giống hoặc tương tự như các phương pháp và nguyên liệu được mô tả trong bản mô tả có thể được sử dụng khi thực hiện sáng chế, nhưng các phương pháp và nguyên liệu thích hợp hơn được mô tả dưới đây. Toàn bộ các công bố đơn, đơn patent, patent và các tài liệu tham khảo được đề cập trong bản mô tả, được kết hợp trong sáng chế bằng cách viện dẫn. Trong trường hợp có mâu thuẫn, thì cần hiểu theo bản mô tả của sáng chế và các định nghĩa ở đây. Ngoài ra, các nguyên liệu, phương pháp, và ví dụ được thể hiện trong bản mô tả chỉ nhằm mục đích minh họa, chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Theo sáng chế, tốt hơn nếu nguyên liệu hạt ca cao theo sáng chế là được lấy từ loài bất kỳ thuộc chi *Theobroma* hoặc *Herrania* hoặc các giống lai chéo nội dòng và bên trong dòng của chúng, và tốt hơn nữa nếu nguyên liệu hạt ca cao theo sáng chế được lấy từ loài *Theobroma cacao* và *Theobroma grandiflorum*. Thuật ngữ "*Theobroma cacao*" như được sử dụng trong bản mô tả để chỉ toàn bộ các giống, cụ thể là toàn bộ các giống thương mại, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, *Criollo*, *Forastero*, *Trinitario*, *Arriba*, *Amelonado*, *Contamana*, *Curaray*, *Guiana*, *Iquitos*, *Maranon*, *Nacional*, *Nanay* và *Purus*, và các giống lai và lai chéo của chúng. Hạt ca cao được lấy từ quả của giống *Theobroma cacao* là nguyên liệu chính để sản xuất sôcôla. Bên trong quả, hạt ca cao được bao quanh bởi lớp thịt quả. Sau khi thu hái quả, hạt ca cao (thường chứa ít nhất một phần lớp thịt quả bao quanh) được tách ra khỏi quả. Do đó, tốt hơn nếu nguyên liệu hạt ca

cao được sử dụng trong phương pháp của sáng chế có thể bao gồm hạt ca cao được lấy từ quả của giống *Theobroma cacao*, và có thể còn bao gồm lớp thịt quả được lấy từ quả này. Theo một phương án, nguyên liệu hạt ca cao có thể còn bao gồm chủ yếu hạt ca cao và lớp thịt quả được lấy từ quả của giống *Theobroma cacao*.

Thuật ngữ “cocoa” và “ca cao” sử dụng trong bản mô tả là các từ đồng nghĩa.

Thuật ngữ “lên men” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hoạt động hoặc quá trình hoặc bất kỳ liên quan tới việc chuyển hóa hoặc phân hủy bằng enzym các chất hữu cơ bởi vi sinh vật. Quá trình lên men cũng có thể bao gồm quá trình sản xuất các hoạt chất và hợp chất hữu ích, thông thường là các hoạt chất và hợp chất hữu cơ bởi vi sinh vật. Các hợp chất này có ảnh hưởng hoặc quyết định một hoặc nhiều đặc tính của nguyên liệu lên men và/hoặc nguyên liệu hoặc sản phẩm được điều chế bằng cách xử lý tiếp nguyên liệu lên men này. Ví dụ về các đặc tính này có thể bao gồm đặc tính cảm quan, cảm nhận, dinh dưỡng, công nghệ, thành phần, hoặc chất lượng của nguyên liệu đã lên men và/hoặc sản phẩm của nó, ví dụ, hàm lượng của hợp chất cụ thể, mùi vị, mùi thơm, hương thơm, cấu trúc, màu sắc, tính chất lưu biến. Thuật ngữ “lên men” bao gồm cả quá trình lên men kỵ khí và lên men hiếu khí, cũng như các quá trình bao gồm một hoặc nhiều bước lên men kỵ khí và/hoặc lên men hiếu khí. Thuật ngữ “lên men kỵ khí” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các điều kiện sao cho việc phân hủy chất hữu cơ bởi vi sinh vật kỵ khí (ví dụ, nấm men) diễn ra thuận lợi hơn so với việc phân hủy chất hữu cơ bởi vi sinh vật hiếu khí (ví dụ, vi khuẩn). Tương tự, thuật ngữ “lên men hiếu khí” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các điều kiện sao cho việc phân hủy chất hữu cơ bởi vi sinh vật hiếu khí (ví dụ, vi khuẩn) diễn ra thuận lợi hơn so với việc phân hủy chất hữu cơ bởi vi sinh vật kỵ khí (ví dụ, nấm men). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng không nhất thiết phải có được các điều kiện hiếu khí hoàn toàn hoặc kỵ khí hoàn toàn để quá trình lên men xảy ra.

Thuật ngữ “hạt ca cao” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hạt của cây ca cao hoặc cocoa cũng như bộ phận dùng của nó và bao gồm cả nhân hạt. Hạt ca cao cấu tạo chủ yếu gồm ba phần: phần bên ngoài chứa lớp vỏ hoặc vỏ hạt bao quanh hạt; phần bên trong gồm lá mầm và phôi hoặc mầm chứa bên trong lớp vỏ; và lớp thịt quả. Trong bản mô của sáng chế, các thuật ngữ “vỏ ngoài”, “vỏ” hoặc “vỏ hạt” là các từ đồng nghĩa. Thuật ngữ “lớp thịt quả” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ lớp thịt quả bao quanh các hạt được bọc ở bên trong quả ca cao.

Thuật ngữ “hạt ca cao đã lên men” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hạt ca cao đã lên men trong ít nhất một ngày, tốt hơn nếu ít nhất hai ngày, do vậy đã trải qua quá trình lên men. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng thời gian lên men phụ thuộc vào loại hạt ca cao được sử dụng.

Thuật ngữ “hạt ca cao chưa được loại bỏ lớp thịt quả” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hạt ca cao chưa được tách ra khỏi lớp thịt quả bao quanh nó. Thuật ngữ “hạt ca cao đã được loại bỏ lớp thịt quả” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ hạt ca cao đã được tách hoàn toàn ra khỏi lớp thịt quả bao quanh nó. Tốt hơn nếu, thuật ngữ “được tách hoàn toàn” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ việc tách bỏ ra khỏi hạt ca cao hơn 40%, tốt hơn nếu hơn 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, hoặc 99% khối lượng lớp thịt quả tính theo tổng khối lượng ban đầu của các hạt và lớp thịt quả. Phương pháp lên men theo sáng chế có thể sử dụng hạt ca cao chưa được loại bỏ lớp thịt quả, hạt ca cao đã được loại bỏ lớp thịt quả hoặc hạt ca cao được loại bỏ một phần lớp thịt quả.

Thuật ngữ “điều chỉnh” hoặc “kiểm soát” sử dụng trong bản mô tả liên quan đến quá trình lên men nguyên liệu hữu cơ bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở việc kích hoạt quá trình lên men và/hoặc kích hoạt giai đoạn cụ thể của quá trình lên men; tăng tốc hoặc giảm tốc quá trình lên men và/hoặc tăng tốc hoặc giảm tốc giai đoạn cụ thể của quá trình lên men; kích hoạt và/hoặc tăng tốc hoặc giảm tốc sự chuyển tiếp từ một giai đoạn của quá trình lên men sang một giai đoạn khác của quá trình lên men (ví dụ, sự chuyển tiếp từ quá trình lên men chủ yếu nhờ nấm men sang quá trình lên men chủ yếu nhờ vi khuẩn sinh axit lactic, hoặc từ quá trình lên men chủ yếu nhờ vi khuẩn sinh axit lactic sang quá trình lên men chủ yếu nhờ vi khuẩn sinh axit axetic khi lên men hạt ca cao và lớp thịt quả); biến đổi các điều kiện lên men, ví dụ, nhiệt độ hoặc độ pH; biến đổi thành phần của nguyên liệu đã được lên men (ví dụ, biến đổi quá trình chuyển hóa hoặc tổng hợp hoạt chất cụ thể có trong nguyên liệu lên men); biến đổi đặc tính và/hoặc số lượng chủng vi sinh vật thực hiện và/hoặc có trong quá trình lên men; kích thích hoặc ức chế sự sinh trưởng của vi sinh vật cụ thể.

Thuật ngữ “quá trình lên men tự phát”, “quá trình lên men tự nhiên” hoặc “quá trình lên men” như được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quá trình lên men sử dụng vi sinh vật nội sinh có mặt trong tự nhiên và/hoặc được nạp một cách vô tình vào nguyên liệu hữu cơ đã được lên men tại thời điểm ban đầu hoặc trong quá trình lên men. Ví dụ và không chỉ giới hạn ở, trong quá trình lên men tự nhiên hạt ca cao và lớp thịt quả, vi sinh

vật có thể được nạp vào sau khi hạt ca cao và lớp thịt quả được tách ra khỏi quả ca cao từ vi sinh vật có trong tự nhiên, ví dụ, trên tay nhân viên thu hái, công cụ thu hái (dao, xẻng, thùng chưa được rửa), trong quá trình lên men, thùng gỗ hoặc đồ đựng thùng như là lá chuối, túi đay hoặc bao tải và ở những vị trí lên men trước đó. Do đó, theo phương pháp của sáng chế, một quá trình lên men tự nhiên khác có thể được kiểm soát bằng cách bổ sung chế phẩm chứa một hoặc nhiều chủng vi khuẩn sinh axit lactic và/hoặc vi khuẩn sinh axit axetic, một hoặc nhiều chủng nấm men, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng vào nguyên liệu hữu cơ, ví dụ, hạt ca cao và lớp thịt quả. Nhờ đó, vi sinh vật có trong nguyên liệu này được biến đổi và quá trình lên men được kiểm soát. Chủng vi sinh vật được nạp theo các chế phẩm này có thể giống (ví dụ, cùng loài và/hoặc chi) và/hoặc có thể khác (ví dụ, khác loài và/hoặc chi) với các chủng vi sinh vật có trong tự nhiên trong nguyên liệu hữu cơ này.

Thuật ngữ “quá trình lên men truyền thống” hoặc “quá trình lên men cổ điển” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ quá trình lên men sử dụng để sản xuất ca cao thương mại, tức là quá trình lên men quy mô lớn bằng ủ đồng, thùng hoặc thùng. Quá trình lên men truyền thống hoặc cổ điển theo sáng chế cũng bao gồm quá trình lên men hạt ca cao được lấy từ quả của nhiều cây ca cao. Quá trình lên men truyền thống và cổ điển theo sáng chế cũng bao gồm quá trình lên men hạt ca cao được lấy từ quả của một hoặc nhiều cây ca cao bằng cách bổ sung hạt ca cao vào đồng ủ, thùng hoặc thùng lên men từ trước.

Phương pháp theo sáng chế bao gồm các bước: lấy hạt ca cao từ ba quả hoặc ít hơn của một cây duy nhất, tốt hơn nếu từ hai quả hoặc ít hơn của một cây duy nhất; hoặc tốt hơn nữa từ một quả hoặc ít hơn của một cây ca cao duy nhất, và chuyển hạt ca cao vào đồ chứa kín khí. Thông thường, một quả ca cao chứa khoảng 40 hạt và có trọng lượng nằm trong khoảng từ 75g đến 200g (hạt cộng với lớp thịt quả). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể nhận thấy rằng kích cỡ quả ca cao có thể thay đổi rất nhiều và do đó số lượng quả được sử dụng trong phương pháp của sáng chế cũng sẽ thay đổi để thu được khối lượng hạt mong muốn. Ví dụ, khoảng 25g, 50g, 100g, 150g, 200g, 250g, 300g, 350g, 400g, 450g, 500g, 550g, 600g nguyên liệu hữu cơ (tức là hạt cộng với lớp thịt quả hoặc không) được nạp vào đồ chứa kín khí để thực hiện phương pháp lên men theo sáng chế. Để dễ dàng xử lý, tốt hơn nếu hạt ca cao được nạp vào túi lưới trước khi chuyển vào đồ chứa. Tốt hơn nếu, đồ chứa là hầu như vô trùng. Theo một phương án,

đồ chứa kín khí là đồ chứa bằng polypropylen. Theo một phương án khác, đồ chứa kín khí là túi polyetylen có khóa.

Tùy ý, hạt ca cao theo sáng chế được cấy với men cái. Thuật ngữ “men cái” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chế phẩm chứa vi sinh vật sống có khả năng hoạt hóa hoặc thực hiện quá trình lên men nguyên liệu hữu cơ, tùy ý sau khi đã được nhân giống trong môi trường nuôi cấy riêng để thu được mật độ giống cao. Men cái có thể là, ví dụ, dịch nuôi cấy, dịch nuôi cấy đã được ép, chế phẩm khô hoặc đông khô, bao gồm cả, ví dụ, chế phẩm đông khô và chế phẩm làm khô bằng phương pháp sấy tầng sôi/sấy phun, chế phẩm đông khô hoặc chế phẩm đông khô đậm đặc. Men cái cũng có thể là nguyên liệu thu được sau khi tháo sinh khối ra khỏi thùng lên men hoặc dịch nhầy thu được từ quá trình lên men. Tốt hơn nếu, khi dịch nuôi cấy được sử dụng, thì ít nhất 1mL, 2mL, 3mL, 4mL, 5mL, 6mL, 7mL, 8mL, 9mL, 10mL, 15mL, 20mL, 25mL, 30mL, 35mL, 40mL, 45mL, 50mL dịch nuôi cấy được sử dụng. Men cái có thể được nạp trong điều kiện chân không hoặc điều kiện chứa khí, ví dụ, N₂, CO₂ và các khí tương tự. Ví dụ, men cái có thể được sản xuất trong bình kín làm bằng vật liệu mềm dẻo, vật liệu cứng hoặc vật liệu không mềm dẻo thích hợp hoặc vật liệu khác và phân phối đến khu vực lên men và có thể được bổ sung vào nguyên liệu hữu cơ cần lên men, hoặc tùy ý được nhân giống ban đầu trên môi trường nuôi cấy riêng để thu được mật độ giống cao. Men cái thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng (ví dụ, xem WO 2007/031186). Men cái ưu tiên là men cái được mô tả trong Ví dụ 1.

Ngoài vi sinh vật, men cái cũng có thể chứa chất đệm và chất kích thích sinh trưởng (ví dụ, carbohydrat hoặc nguồn nitơ có thể chuyển hóa), enzym (ví dụ, pectinaza) hoặc chất bảo quản (ví dụ, chất bảo quản lạnh) hoặc chất mang khác, nếu muốn, như là bột sữa hoặc đường.

Men cái có thể là giống tự nhiên, tức là chứa vi sinh vật có trong tự nhiên. Theo cách khác, men cái có thể là giống tinh khiết, tức là có thể chứa sinh khối của một chủng vi sinh vật duy nhất (tức là chủng thu được chủ yếu từ một tế bào) của vi khuẩn sinh axit lactic, vi khuẩn sinh axit axetic hoặc nấm men. Theo các phương án khác, men cái có thể là hỗn hợp giống, tức là có thể chứa nhiều hơn một chủng vi khuẩn sinh axit lactic, vi khuẩn sinh axit axetic hoặc nấm men.

Khi phương pháp theo sáng chế được sử dụng để so sánh các giống cây ca cao khác nhau, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng việc sử dụng cùng men cái cho mỗi phản ứng lên men là được mong muốn.

Tùy ý, men cái có thể được nuôi cấy trong khoảng thời gian từ 1 đến 48 giờ trước khi bổ sung vào hạt ca cao. Tốt hơn nếu, men cái có thể được nuôi cấy trong khoảng thời gian từ 1 giờ đến 30 giờ trước khi bổ sung vào hạt ca cao. Tốt hơn nữa nếu, men cái được nuôi cấy trong khoảng thời gian từ 3 đến 16 giờ trước khi bổ sung vào hạt ca cao.

Ngay sau khi hạt ca cao và men cái tùy ý được nạp vào đồ chứa, không khí được loại khỏi đồ chứa và đồ chứa được đóng kín. Việc loại không khí là bước quan trọng để hoạt hóa bước lên men kỵ khí thứ nhất. Hạt ca cao được lên men trong điều kiện kỵ khí trong khoảng thời gian định trước thứ nhất bằng khoảng 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ hoặc lâu hơn, tốt hơn nếu khoảng 48 giờ.

Phương pháp lên men theo sáng chế được thực hiện ở điều kiện nhiệt độ có kiểm soát, tốt hơn nếu trong thiết bị nuôi cấy vi sinh vật. Thuật ngữ “nhiệt độ có kiểm soát” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ nhiệt độ được kiểm soát giống như nhiệt độ trong đồng ủ, thùng hoặc thùng lên men truyền thống. Ví dụ, trong bước lên men kỵ khí nhiệt độ tăng từ 25-30°C lên đến khoảng 34-40°C. Fig.2 thể hiện biểu đồ kiểm soát nhiệt độ trong quá trình lên men theo sáng chế. Tốt hơn nếu biểu đồ nhiệt độ được duy trì trong quá trình lên men theo sáng chế là giống với biểu đồ nhiệt độ của quá trình lên men truyền thống quy mô lớn.

Sau đó, hạt ca cao được lên men tùy ý ở nhiệt độ có kiểm soát trong điều kiện hiếu khí trong khoảng thời gian định trước thứ hai. Ví dụ, hạt ca cao được lên men tùy ý trong điều kiện hiếu khí trong khoảng 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ, 84 giờ, 96 giờ, 108 giờ, 120 giờ, 132 giờ, 144 giờ hoặc lâu hơn, tốt hơn nếu khoảng 120 giờ. Trong quá trình lên men hiếu khí nhiệt độ tăng từ 40°C lên đến khoảng 50°C hoặc cao hơn do sử dụng thiết bị nuôi cấy. Fig.2 là đồ thị thể hiện nhiệt độ trong bước lên men hiếu khí theo sáng chế.

Trong quá trình lên men, “dịch nhầy” ướt được tạo ra. Trong quá trình lên men, đồ chứa kín khí tùy ý được mở một hoặc nhiều lần để loại bỏ dịch nhầy này. Theo phương án khác, dịch nhầy không được loại bỏ cho đến khi quá trình lên men (ví dụ, lên men hiếu khí một phần và lên men kỵ khí) kết thúc. Người có hiểu biết trung bình trong

lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng nếu muốn dừng quá trình lên men trước khi kết thúc quá trình lên men, thì có thể loại bỏ dịch nhầy và làm khô hạt ca cao.

Theo các phương án khác nhau, dịch nhầy được loại bỏ ở 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ, 96 giờ hoặc 120 giờ sau khi bắt đầu quá trình lên men. Theo một số phương án, dịch nhầy được loại bỏ ở 48 giờ và 96 giờ sau khi bắt đầu quá trình lên men. Theo các phương án khác, dịch nhầy được loại bỏ ở 72 giờ và 120 giờ sau khi bắt đầu quá trình lên men. Theo các phương án ưu tiên, dịch nhầy không được loại bỏ lần đầu cho tới 72 giờ sau khi bắt đầu quá trình lên men.

Khi muốn dịch nhầy được loại bỏ trong bước lên men kỵ khí sau khoảng thời gian mong muốn, thì dịch nhầy được phân tách ra khỏi hạt ca cao, không khí thâm nhập vào đồ chứa, hạt ca cao được chuyển sang đồ chứa kín khí giống hoặc khác và đồ chứa này được đóng kín. Nếu muốn, không khí được nén ra khỏi đồ chứa trước khi bịt kín. Mặc dù, trong quá trình này, không khí (ví dụ, oxy) được phép thâm nhập vào đồ chứa (ví dụ, túi), nhưng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng quá trình sinh trưởng và chuyển hóa của vi sinh vật kỵ khí (ví dụ, nấm men) vẫn đủ mạnh để bước lên men kỵ khí được tiếp tục. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng nếu dịch nhầy được loại bỏ trong bước lên men hiếu khí, thì việc không khí (ví dụ, oxy) thâm nhập vào khi mở đồ chứa kín khí sẽ ít ảnh hưởng hoặc không ảnh hưởng đến bước lên men hiếu khí.

Sau khi kết thúc bước lên men kỵ khí và bước lên men hiếu khí một phần, hạt ca cao được làm khô đến tổng lượng ẩm nhỏ hơn 10%, tốt hơn nếu hạt ca cao được làm khô đến tổng lượng ẩm nằm trong khoảng từ 7% đến 8%. Khi được làm khô đến tổng lượng ẩm thích hợp, hạt ca cao có thể được hóa già trong khoảng thời gian định trước thứ ba. Ví dụ, hạt ca cao được hóa già trong 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 7 tuần, 8 tuần, 9 tuần, 10 tuần hoặc lâu hơn, tốt hơn nếu ít nhất là trong 6 tuần, ở nhiệt độ phòng, trước khi sản xuất sôcôla lỏng. Khi hạt ca cao được làm khô lần đầu, các tác giả sáng chế phát hiện thấy rằng có lượng hương vị đáng kể hoặc có hương vị khác, không có ở hạt ca cao đã được hóa già kỹ. Sự hóa già tuân theo quy luật cấp số nhân, trong đó các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hóa già hạt ca cao trong 6 tuần sẽ là đủ để cho hầu hết các biến đổi xảy ra. Một số giống ca cao có thể hóa già nhanh, một số giống khác có thể hóa già chậm, nhưng thông thường hóa già 6 tuần là điểm cân bằng thời gian giữa hóa già quá mức và việc loại bỏ một số tác nhân hương vị lạ.

Sau khi hạt ca cao được làm khô và tùy ý hóa già, các hạt này được rang và nghiền thành dịch lỏng bằng cách sử dụng quy trình đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm rang hạt ca cao; loại bỏ lớp vỏ để thu được nhân hạt ca cao và nghiền nhân hạt ca cao thu được thành sôcôla lỏng. Sôcôla lỏng thu được có đặc tính hương vị tương tự như sôcôla lỏng được sản xuất từ hạt ca cao được lên men truyền thống. Đặc tính hương vị tương tự như sôcôla lỏng được sản xuất từ hạt ca cao được lên men truyền thống có nghĩa là một chuyên gia được huấn luyện trong phân tích cảm quan sôcôla và đã có cảm nhận với hương vị của các giống ca cao thu được bằng phương pháp lên men truyền thống công nhận rằng hương vị thu được theo phương pháp lên men ở quy mô nhỏ của sáng chế sẽ là hương vị điển hình mà chuyên gia này mong đợi theo phương pháp lên men truyền thống các giống ca cao này.

Theo một số phương án, sôcôla lỏng thu được theo phương pháp của sáng chế có đặc tính hương vị tương đương với sôcôla lỏng được sản xuất từ hạt ca cao được lên men truyền thống. Thuật ngữ "tương đương" theo sáng chế có nghĩa là trong phân tích cảm quan không thể phát hiện được sự khác biệt giữa hương vị của sôcôla lỏng thu được theo phương pháp của sáng chế và sôcôla lỏng thu được từ phương pháp lên men truyền thống.

Mỗi mẫu có thể được đánh giá về các đặc tính hương vị sau: “hương *ca cao*” (như được tìm thấy trong hạt của giống ca cao trồng ở Ghana), “vị chua” (định tính mùi vị được tạo ra bởi dung dịch nước pha loãng chứa hầu hết các axit), “vị chất” (định tính mùi vị được tạo ra bởi dung dịch nước pha loãng chứa các hợp chất khác nhau như là caffeine, cảm nhận được ở đầu lưỡi và mặt trong vòm miệng), “mùi quả” (mùi vị của hoa và quả đã chín: táo, chuối, lê và các quả tương tự), “mùi hoa”, ví dụ, “mùi hoa toàn phần” hoặc “mùi vỏ cây” (cảm nhận của khứu giác với mùi hoa nói chung: hoa hồng, hoa nhài, hoa lan dạ hương, hoa tử đinh hương và các loài hoa tương tự), “mùi caramel, mùi hạt và mùi vỏ hạt” (mùi vị của hạt đã được rang, vỏ hạt, và đường đã được caramel hóa) “mùi khói” (mùi vị của khói; được tạo ra từ bước làm khô hạt ca cao sau khi lên men bằng củi đun), “vị rát” (mùi vị của thịt quả đã bị ám khói hoặc phần thịt quả khác đã bị ám khói được tạo ra từ hạt ca cao đã bị nhiễm dịch bệnh, “mùi mốc” (mùi vị của nguyên liệu hạt bị ẩm mốc), và “độ nguyên chất” (tính chất của hạt ca cao chưa được rang đủ khi hương vị chưa đạt được); “mùi đất” (cảm nhận bằng khứu giác cho biết mùi hơi ẩm của đất hoặc đất bám vào hoặc mùi nặng của đất trong vườn trồng ca cao sau mưa), “mùi vỏ cây”, “đỗ

nhuộm bản”, nhưng không chỉ giới hạn ở các tiêu chí cảm quan này. Ngoài ra, mỗi mẫu có thể được đánh giá về các tiêu chí cảm quan khác bao gồm “vị đắng” (cảm nhận bằng vị giác do sự loại bỏ vị ngọt so với vị đắng theo giác quan bao gồm sự co và/hoặc rất mô) hoặc “tiêu chí khác” (hương vị khác với các tiêu chí cảm quan nêu trên), nhưng không chỉ giới hạn ở các tiêu chí này.

Bằng cách điều chỉnh các khía cạnh như trên và các khía cạnh khác của quá trình lên men, phương pháp theo sáng chế cho phép kiểm soát hoặc điều hòa tỷ lệ lên men, mức độ lên men, tốc độ và năng suất lên men, số lượng và/hoặc chất lượng của cả hoạt chất mong muốn và không mong muốn trong chất liệu lên men và đặc tính của nguyên liệu đã lên men này và/hoặc sản phẩm thu được từ quá trình xử lý tiếp theo chất liệu lên men, như là sôcôla lỏng, bột ca cao, bơ ca cao hoặc sôcôla, nhưng không chỉ giới hạn ở các chỉ tiêu này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Phương pháp lên men hạt ca cao theo sáng chế

Quả ca cao được thu hái từ các cây riêng biệt khi đã chín và vận chuyển đến khu vực lên men được đặt ở bên ngoài phòng thí nghiệm một ngày trước khi lên men. Mỗi quả được bổ đôi bằng dao (được khử trùng bên ngoài bằng etanol 70%). Hạt ca cao (không chứa noãn) ở bên trong một quả được lấy từ một cây ca cao được tách ra bởi nhân viên phòng thí nghiệm có sử dụng găng tay cao su và chuyển ngay vào túi lưới làm bằng polyetylen, sau đó đặt vào bên trong túi nhựa dẻo kín có khóa làm bằng polypropylen (kích cỡ 23cm x 18 cm) (Wyda Practic, Sao Paulo, BR) và đóng kín. Quy trình này được thực hiện trong khoảng 1 phút/1 quả. Để điều chế men cái, 10 quả từ mỗi giống ca cao CCN51 và TSH1188 đã được thụ phấn tự nhiên được bổ đôi để thu lấy hạt ca cao và chuyển vào phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, các quả ca cao được loại bỏ lớp thịt quả bằng cách sử dụng máy xay cải tiến trong đó lưỡi dao được tháo bỏ và thay bằng cánh khuấy theo tỷ lệ như sau: 50g hạt tươi + 100mL nước trong 1 phút. Tỷ lệ này thay đổi phụ thuộc vào khối lượng quả cần lên men. Lớp thịt quả được lọc qua sàng và dịch nổi được chuyển vào bình nón được đậy bằng giấy nhôm và để ở nhiệt độ phòng (bên ngoài phòng thí nghiệm) trong 3 giờ để tạo ra cơ chất dùng cho men cái. Men cái bất kỳ có thể được sử dụng. Sau đó, từng túi nhựa dẻo kín có khóa nêu trên được chuyển vào

phòng thí nghiệm, mở và bổ sung 5mL men cái đã được điều chế trước đó vào mỗi túi này (lượng men cái phụ thuộc vào nồng độ vi sinh vật có trong môi trường nuôi cấy). Không khí được loại bỏ ra khỏi các túi nhựa dẻo kín có khóa này, bằng cách đặt các túi này lên bề mặt phẳng và ép để loại bỏ toàn bộ không khí, sau đó các túi được đóng kín. Các túi nhựa dẻo kín có khóa này được đặt vào tủ nuôi cấy có nhiệt độ được kiểm soát (theo Fig.1). Nhiệt độ được điều chỉnh trong quá trình này bằng cách sử dụng cảm biến được đặt ở bên trong tủ nuôi cấy, sao cho nhiệt độ của toàn bộ của các túi này được kiểm soát theo biểu đồ nhiệt độ của quá trình lên men "truyền thống" trong đó các túi này được xem như là một bộ phận của đồng ủ, thùng hoặc thùng lên men truyền thống. Điều này là cần thiết, do lượng nhỏ hạt ca cao được sử dụng, nếu nhiệt độ không được điều chỉnh theo biểu đồ nhiệt độ của quá trình lên men truyền thống, thì nhiệt độ của hạt ca cao trong các túi này sẽ không tăng mạnh. Nguyên nhân của hiện tượng này là do lượng hạt ca cao được lên men là rất nhỏ, và tổn thất nhiệt ra môi trường lớn hơn nhiều so với nhiệt độ được tạo ra trong quá trình lên men truyền thống. Do đó, quá trình lên men sẽ không được thực hiện đầy đủ.

Hạt ca cao được lên men trong khoảng 7 ngày. Dịch nhầy (phần lớp thịt quả dạng lỏng được loại khỏi hạt ca cao) được thu ở thời điểm 48 và 96 giờ bằng cách mở túi nhựa dẻo kín có khóa, nhấc túi lưới chứa hạt ca cao và loại bỏ dịch nhầy ra khỏi túi dẻo này (để mô phỏng quá trình loại bỏ dịch nhầy trong đồng ủ lên men) và đóng túi nhựa dẻo kín trở lại. Sau khi lên men, hạt ca cao được làm khô (theo một phương pháp, hạt ca cao được trải lên bề mặt phẳng và phơi khô bằng ánh sáng mặt trời) đến độ ẩm nằm trong khoảng từ 7% đến 8% (thông thường, hạt ca cao thương mại được làm khô đến tổng lượng ẩm nằm trong khoảng từ 5% đến 10%). Bước này được thực hiện trong thời gian nằm trong khoảng từ 4 ngày đến 10 ngày phụ thuộc vào điều kiện thời tiết. Sau đó, các hạt ca cao được lấy từ cùng một quả được bảo quản trong các túi đay riêng biệt trong 6 tuần ở nhiệt độ phòng, trong nhà kho trước khi sản xuất sôcôla lỏng. Sau khi bảo quản, hạt ca cao đã lên men được rang và nghiền thành sôcôla lỏng theo điều kiện tiêu chuẩn của phòng thí nghiệm.

Ví dụ 2

Phân tích hương vị của hạt ca cao đã lên men

Hạt ca cao được lấy từ một cây duy nhất của mười giống ca cao riêng biệt được lên men theo phương pháp của sáng chế. Mười giống này được đặt tên là CA-1.4, CCN-51, Comum, FA-1.3, FCON-150, PH-16, PS-1319, TSH-1188, VB-1151 và VP-01. Phân tích hương vị được thực hiện bởi chuyên gia cảm quan đối với các mẫu sôcôla lỏng. Cụ thể, mùi hoa, mùi quả, vị chát, vị đắng, vị chua, hương ca cao, và các đặc tính hương vị khác của các hạt ca cao đã lên men được đánh giá. Như được thể hiện bằng biểu đồ hình sao trên Fig.3, sôcôla lỏng được sản xuất bằng phương pháp lên men theo sáng chế có hương vị rất đặc trưng của hạt ca cao đã lên men. Quan trọng hơn, như được kỳ vọng mỗi giống ca cao này có đặc tính hương vị đồng nhất.

Hơn nữa, phân tích thử nghiệm này đã kiểm chứng được khả năng tái lập kết quả của phương pháp lên men theo sáng chế (tức là độ đồng nhất về hương vị của hạt ca cao khi được lên men lặp lại, dữ liệu này không được thể hiện).

Ví dụ 3

Ảnh hưởng của khối lượng hạt ca cao và men cái trong quá trình lên men đối với hương vị.

Ảnh hưởng của cỡ mẫu (tức là khối lượng hạt và khối lượng men cái) đến hương vị của sôcôla lỏng được sản xuất từ hạt ca cao đã lên men được đánh giá. Đối với mỗi giống trong số 10 giống ca cao nêu trên được đánh giá ở 5 cỡ mẫu hạt (50g, 100g, 200g, 400g, hoặc 600g) và 7 cỡ mẫu men cái khác nhau (0mL, 1mL, 3mL, 5mL, 10mL, 20mL hoặc 40mL). Đặc tính hương vị của sôcôla lỏng được sản xuất bằng phương pháp lên men của sáng chế được mô tả trong Bảng dưới đây. Tỷ lệ được liệt kê cho mỗi đặc tính được tính trung bình từ 9 lần đánh giá cảm quan, (3 lần thử trên 3 mẫu sôcôla lỏng khác nhau được đánh giá bởi chuyên gia cảm quan theo phương pháp mù-đôi).

	Cỡ mẫu	Men cái	Hương ca cao	Vị chua	Vị đắng	Vị chát	Mùi quả	Mùi hoa	Đặc tính hương vị khác
1	50	0	6,67	0,78	4,53	5,24	1,49	2,27	0,68
2	100	0	6,58	0,90	4,58	5,35	1,47	2,18	0,79
3	200	0	6,38	1,15	4,68	5,58	1,41	1,99	1,02
4	400	0	5,99	1,64	4,89	6,03	1,29	1,61	1,46
5	600	0	5,59	2,13	5,09	6,49	1,18	1,22	1,91
6	50	1	6,66	0,79	4,52	5,23	1,50	2,27	0,69
7	100	1	6,56	0,92	4,58	5,35	1,47	2,18	0,80
8	200	1	6,36	1,17	4,69	5,59	1,41	1,98	1,03
9	400	1	5,97	1,67	4,90	6,06	1,30	1,60	1,48
10	600	1	5,58	2,16	5,12	6,53	1,18	1,22	1,93

11	50	3	6,63	0,81	4,51	5,23	1,52	2,27	0,71
12	100	3	6,53	0,94	4,57	5,36	1,49	2,17	0,82
13	200	3	6,34	1,20	4,69	5,61	1,43	1,98	1,05
14	400	3	5,95	1,72	4,93	6,11	1,30	1,59	1,52
15	600	3	5,56	2,24	5,17	6,61	1,18	1,20	1,98
16	50	5	6,60	0,83	4,51	5,23	1,53	2,26	0,72
17	100	5	6,50	0,96	4,57	5,36	1,50	2,16	0,84
18	200	5	6,31	1,24	4,70	5,62	1,44	1,97	1,08
19	400	5	5,92	1,78	4,96	6,15	1,31	1,58	1,55
20	600	5	5,53	2,32	5,22	6,68	1,19	1,19	2,03
21	50	10	6,52	0,87	4,48	5,22	1,57	2,25	0,77
22	100	10	6,42	1,02	4,56	5,37	1,54	2,15	0,89
23	200	10	6,23	1,32	4,72	5,67	1,47	1,95	1,14
24	400	10	5,85	1,92	5,03	6,27	1,33	1,56	1,65
25	600	10	5,47	2,52	5,35	6,88	1,19	1,16	2,15
26	50	20	6,36	0,97	4,44	5,20	1,65	2,22	0,85
27	100	20	6,27	1,14	4,54	5,39	1,61	2,12	0,99
28	200	20	6,09	1,50	4,76	5,77	1,53	1,92	1,27
29	400	20	5,72	2,21	5,18	6,52	1,37	1,51	1,83
30	600	20	5,35	2,92	5,60	7,27	1,21	1,11	2,39
31	50	40	6,05	1,15	4,35	5,17	1,80	2,16	1,03
32	100	40	5,97	1,39	4,51	5,43	1,75	2,06	1,20
33	200	40	5,80	1,85	4,83	5,95	1,65	1,84	1,53
34	400	40	5,45	2,78	5,47	7,00	1,44	1,42	2,20
35	600	40	5,11	3,72	6,11	8,04	1,24	0,99	2,87

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp lên men hạt ca cao ở quy mô nhỏ, bao gồm các bước:

a) lấy hạt ca cao từ ba quả hoặc ít hơn của một cây ca cao, và nạp các hạt ca cao thu được vào đồ chứa kín khí;

b) loại không khí ra khỏi đồ chứa và đóng kín đồ chứa kín khí này;

c) lên men hạt ca cao ở nhiệt độ có kiểm soát trong điều kiện kỵ khí trong khoảng thời gian định trước thứ nhất ít nhất là 36 giờ;

d) phân tách dịch nhầy ra khỏi hạt ca cao ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước thứ hai; và

e) làm khô hạt ca cao đến độ ẩm nằm trong khoảng từ 5% đến 10%.

2. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cấy hạt ca cao với men cái trước khi thực hiện bước (b).

3. Phương pháp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước lên men hạt ca cao ở nhiệt độ có kiểm soát trong điều kiện hiếu khí một phần trong khoảng thời gian định trước thứ ba trước khi thực hiện bước (d) hoặc (e).

4. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hạt ca cao được hóa già trong khoảng thời gian định trước thứ tư sau khi thực hiện bước (e).

5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó đặc tính hương vị của sôcôla lỏng thu được từ hạt ca cao đã lên men là tương đương với đặc tính hương vị của sôcôla lỏng thu được từ hạt ca cao được lên men theo phương pháp truyền thống.

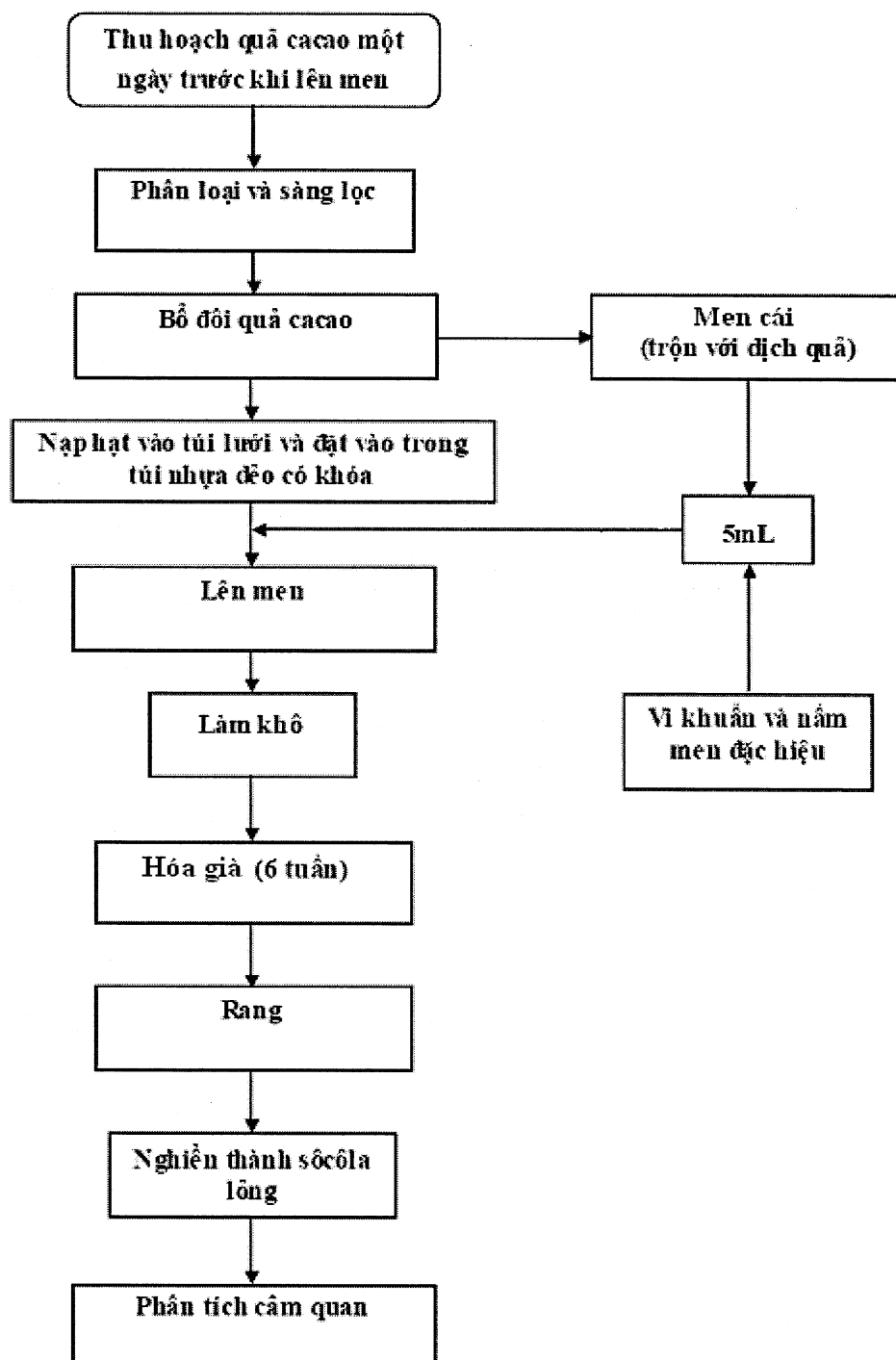
6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước rang hạt ca cao thu được sau bước (e) hoặc theo điểm 4, loại bỏ lớp vỏ để thu được nhân hạt ca cao và nghiền nhân hạt ca cao thu được thành sôcôla lỏng.

7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hạt ca cao được nạp vào túi lưới trước khi nạp vào đồ chứa kín khí.

8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó đồ chứa kín khí là túi nhựa dẻo.

9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó đồ chứa kín khí là túi nhựa dẻo có khóa làm bằng polypropylen.

10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 9, trong đó men cái được điều chế bằng cách sử dụng nấm men và/hoặc vi khuẩn đặc hiệu.
11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hạt ca cao được lấy từ hai quả ca cao hoặc ít hơn.
12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó hạt ca cao được lấy từ một quả ca cao hoặc ít hơn.
13. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó khoảng thời gian định trước thứ nhất nằm trong khoảng từ 36 giờ đến 72 giờ.
14. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 13, trong đó khoảng thời gian định trước thứ ba nằm trong khoảng từ 12 giờ đến 144 giờ.
15. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 4 đến 14, trong đó khoảng thời gian định trước thứ tư nằm trong khoảng từ 2 tuần đến 10 tuần.
16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dịch nhầy được loại bỏ ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước trong bước lên men kỵ khí.
17. Phương pháp theo điểm trong số các điểm từ 3 đến 16, trong đó dịch nhầy được loại bỏ ở một hoặc nhiều khoảng thời gian định trước trong bước lên men hiếu khí.
18. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó dịch nhầy được loại bỏ sau khi kết thúc quá trình lên men.

**Fig.1**

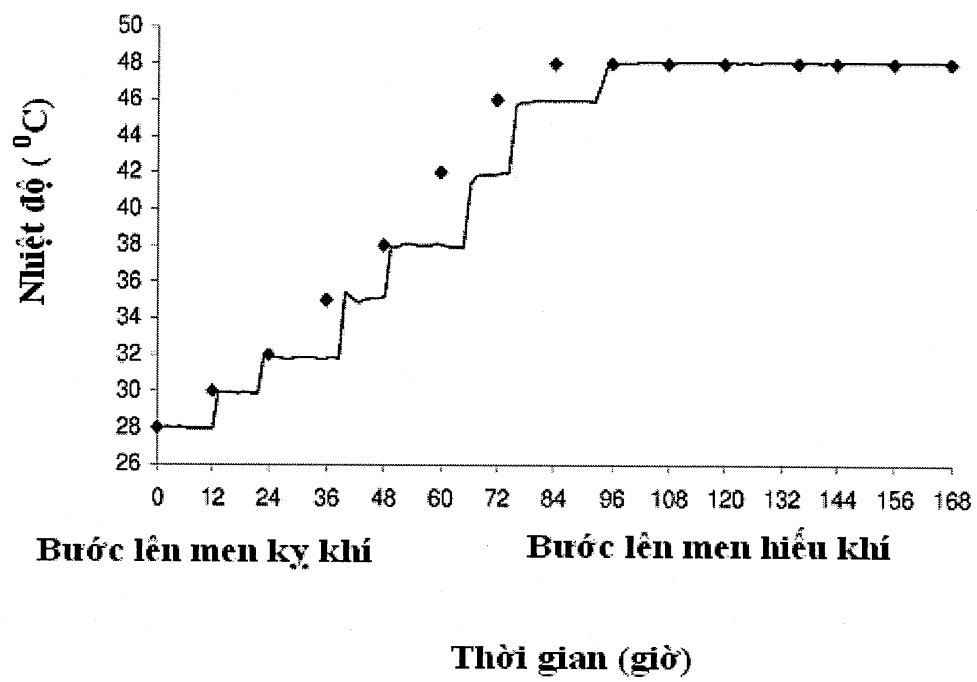
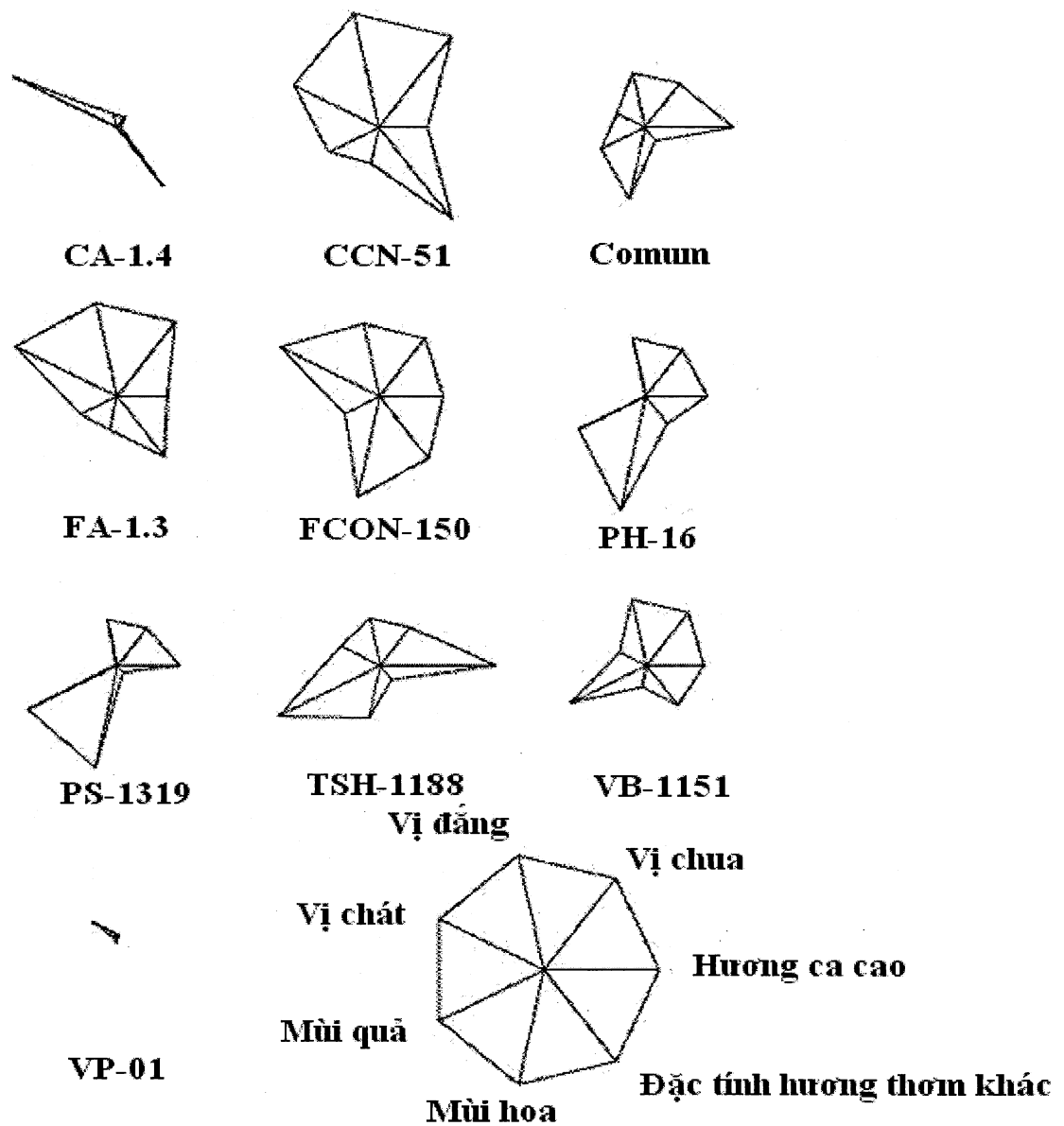


Fig.2

**Fig.3**