



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

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

(11)



1-0024025

(51)⁷ A23F 5/10; A23F 5/14

(13) B

(21) 1-2011-01136

(22) 02/10/2009

(86) PCT/JP2009/067249 02/10/2009

(87) WO2010/038867 08/04/2010

(30) 2008-257179 02/10/2008 JP

(45) 25/06/2020 387

(43) 25/07/2011 280A

(73) SUNTORY HOLDINGS LIMITED (JP)

1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-8203 Japan

(72) ONISHI, Tatsuji (JP); FUJIWARA, Masaru (JP); YOSHIMOTO, Seiko (JP);
MIZUTA, Mami (JP)

(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HẠT CÀ PHÊ RANG, QUY TRÌNH SẢN XUẤT VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO
QUẢN HẠT CÀ PHÊ RANG NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hạt cà phê rang mà có thể bảo quản được trong không khí mà không làm hỏng hương thơm và vị vốn có của cà phê, trong đó sự biến đổi mùi vị theo thời gian và sự giảm chất lượng do oxy hóa được ức chế để đảm bảo rằng chúng vẫn giữ được mùi vị mong muốn. Cụ thể, etyl isovalerat hoặc hạt cà phê rang được đưa qua quá trình lên men và rang được kết hợp với hạt cà phê rang cần được bảo quản.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hạt cà phê rang có chất lượng được cải thiện mà có thể bảo quản trong không khí trong một thời gian dài. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bảo quản hạt cà phê rang mà được làm thích hợp để có thể bảo quản hạt cà phê rang trong một thời gian dài trong không khí.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Quả cà phê tươi được thu hoạch từ cây cà phê bao gồm lớp vỏ ngoài (phần ngoài cùng), lớp thịt quả, lớp nhót (lớp pectin), lớp vỏ trấu (vỏ hạt hoặc vỏ trấu), lớp vỏ lụa, nội nhũ, và phôi. Quả cà phê tươi này được lột lớp vỏ ngoài, lớp thịt quả, lớp vỏ trấu, v.v. bằng cách mài nhẵn khô (còn được gọi là mài nhẵn không rửa) hoặc mài nhẵn ẩm (còn được gọi là mài nhẵn có rửa) để thu được các hạt cà phê xanh (kết hợp nội nhũ và phôi). Để làm ra cà phê thông thường, hạt cà phê xanh được rang bằng thiết bị rang và hạt cà phê rang thu được được xay để tạo ra bột cà phê, sau đó rót nước sôi lên bột cà phê này để pha thành chiết phẩm cà phê uống ngay được. Hai đặc tính quan trọng đối với chất lượng của cà phê là vị và hương thơm và vì việc rang cà phê có ảnh hưởng rất lớn đến các đặc tính này, nên trước đó đã có nhiều ý tưởng được đề xuất để cải thiện cách thực hiện và kiểm soát việc rang cà phê.

Vấn đề gặp phải đối với hạt cà phê rang là ở chỗ sự phân tán hương thơm và sự oxy hóa là đáng kể hoặc và nếu hạt cà phê rang có chất lượng mong muốn không được sử dụng ngay mà được bảo quản trong một thời gian, thì hương thơm của chúng sẽ nhạt dần và mùi lạ được gọi là “mùi oxy hóa” (mùi của các hạt đã để lâu) sẽ tăng lên làm giảm chất lượng cà phê. Cụ thể là, bột cà phê thu được bằng cách xay hạt cà phê rang bằng máy xay cà phê hoặc máy tương tự có diện tích bề mặt tiếp xúc tăng, khiến cho sự oxy hóa trong không khí sẽ làm giảm mùi vị đáng kể hơn. Trong các trường hợp này, các nhà phân phối hạt cà phê rang hoặc bột cà phê thường tiến hành các biện pháp khác nhau để làm giảm tối thiểu sự giảm chất lượng hạt cà phê rang và các biện pháp này bao gồm bọc hạt cà phê rang bằng nguyên liệu bao gói kín sao cho chúng được bọc kín (hút chân không) để ngăn ngừa không cho tiếp xúc với không khí (hoặc oxy), hoặc thay thế không khí môi trường bằng khí nitơ hoặc các khí khác. Tuy

nhiên, mặc dù đã có các biện pháp này, vẫn khó cho những người tiêu dùng mà mua hạt cà phê rang hoặc bột cà phê để có thể sử dụng chúng ngay khi họ mở các gói, và đặc biệt là ở nhà, hạt cà phê rang hoặc bột cà phê thường được dùng dưới dạng các gói chia nhỏ, và với mùi biến chất vị của cà phê không thể tránh được trong quá trình này.

Trong các trường hợp này, các phương pháp đã được triển khai để duy trì chất lượng hạt cà phê rang trong một thời gian dài. Các phương pháp này bao gồm phương pháp trong đó hạt cà phê được bao bằng sacarit để đảm bảo rằng chúng có thể bảo quản được trong một thời gian dài với sự biến đổi mùi vị theo thời gian ít hơn và sự giảm chất lượng do oxy hóa bị ức chế (tài liệu patent 1); và phương pháp trong đó hợp chất tocopherol và/hoặc dẫn xuất của nó được bổ sung vào hạt cà phê rang sao cho mùi vị của chúng được làm cho ổn định (tài liệu patent 2).

Từ tình trạng kỹ thuật của sáng chế, đã biết rằng cà phê rang chứa etyl isovalerat (etyl 3-metylbutylrat) (tài liệu 3) và rằng mùi vị của cà phê được cải thiện bằng cách lên men hạt cà phê xanh (tài liệu patent 4, 5 và 6).

Danh sách viện dẫn

Tài liệu patent 1: JP 2001-112415 A

Tài liệu patent 2: JP 1994-2027 B

Tài liệu 3: M. Czerny and W. Grosch (2000). Potent Odorants of Raw Arabica Coffee. Their changes during Roasting. J. Agric. Food Chem.

Tài liệu patent 4: EP 1 880 614

Tài liệu patent 5: EP 1 886 576

Tài liệu patent 6: US 2007/0100207

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Như được mô tả trên đây, hạt cà phê rang khi tiếp xúc với không khí trong một thời gian dài sẽ làm giảm chất lượng của chúng, và các biện pháp thông thường được tiến hành trong quá trình bảo quản hạt cà phê đã không chứng tỏ được sự thỏa mãn hoàn toàn. Các phương pháp mô tả trong tài liệu patent 1 và 2 bao gồm quy trình phức tạp vì cần đến bước sấy hạt cà phê rang với dung dịch chứa chất phụ gia (ví dụ, sacarit

hoặc tocopherol), và trong bước này, không thể tránh khỏi sự phân tán hương thơm của hạt cà phê rang và quá trình oxy hóa và, hơn nữa là, vị của chất phụ gia sẽ làm ảnh hưởng đến vị của sản phẩm cà phê thành phẩm; do đó, các phương pháp này luôn luôn không dễ thực hiện.

Do đó, một mục đích của sáng chế là đề xuất hạt cà phê rang mà có thể bảo quản được trong không khí (môi trường tự nhiên không thân thiện đối với hạt cà phê) mà không làm hỏng vị và hương thơm vốn có của cà phê và có sự biến đổi mùi vị theo thời gian và sự giảm chất lượng cà phê do oxy hóa được ức chế để đảm bảo rằng các hạt cà phê này vẫn giữ được mùi vị mong muốn. Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất phương pháp bảo quản hạt cà phê rang trong không khí mà ức chế được cả sự biến đổi mùi vị theo thời gian, đặc biệt là trong không khí, và sự giảm chất lượng cà phê do oxy hóa.

Giải quyết vấn đề

Để giải quyết các vấn đề trên đây, các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu chuyên sâu và nhận thấy rằng một lượng rất nhỏ etyl isovalerat có tác dụng ngăn việc giảm hương thơm của hạt cà phê rang mà có thể biến đổi theo thời gian, và che đi mùi oxy hóa. Kết quả từ một nghiên cứu khác, các tác giả sáng chế còn nhận thấy rằng: etyl isovalerat là một thành phần được tạo ra trong quá trình lên men hạt cà phê và có đủ khả năng chịu nhiệt để được giữ lại trong hạt cà phê ngay cả sau khi rang; hương thơm của hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat có khả năng giữ lại hương thơm đặc trưng của cà phê mà xuất hiện lúc rang; cụ thể hơn, các tác giả sáng chế nhận thấy rằng thành phần tạo hương thơm cho hạt cà phê lên men có tác dụng ngăn sự giảm hương thơm của hạt cà phê rang mà có thể biến đổi theo thời gian và che đi mùi oxy hóa. Các tác giả sáng chế còn khẳng định rằng hạt cà phê rang mà được trộn ít nhất một phần với hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat hoặc hạt cà phê rang được đưa qua quá trình lên men có sự biến đổi mùi vị theo thời gian và sự giảm chất lượng do oxy hóa được ức chế, ngay cả khi chúng được đựng trong đồ chứa theo cách sao cho chúng tiếp xúc với không khí; sáng chế được thực hiện dựa trên các phát hiện này.

Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến các vấn đề sau.

1. Hạt cà phê rang trong đồ chứa chứa etyl isovalerat trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb và thấp hơn hoặc bằng 200ppb.

2. Hạt cà phê rang trong đồ chứa bao gồm hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb và thấp hơn hoặc bằng 200ppb.
3. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm 1 hoặc 2, trong đó đồ chứa này chứa hạt cà phê rang ở dạng chúng được tiếp xúc với không khí.
4. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb.
5. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat là hạt cà phê rang được lên men mà được đưa qua quá trình lên men và rang.
6. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm 5, trong đó tỷ lệ của hạt cà phê rang được lên men so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 1% trọng lượng.
7. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm 5 hoặc 6, trong đó tỷ lệ của hạt cà phê rang được lên men so với tổng lượng hạt cà phê là thấp hơn hoặc bằng 50% trọng lượng.
8. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 7, trong đó hạt cà phê rang được lên men chứa etyl axetat ở nồng độ cao hơn hoặc bằng 5ppm và/hoặc etanol ở nồng độ cao hơn hoặc bằng 500ppm.
9. Quy trình sản xuất hạt cà phê rang bao gồm bước xử lý hạt cà phê rang sao cho chúng bao gồm hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat, trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb và thấp hơn hoặc bằng 200ppb.
10. Phương pháp bảo quản hạt cà phê rang trong không khí, bao gồm bước xử lý hạt cà phê rang sao cho chúng bao gồm hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat, trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb và thấp hơn hoặc bằng 200ppb.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Theo sáng chế, hạt cà phê rang cần được bảo quản trong một thời gian dài có thể được xử lý theo cách sao cho chúng chứa etyl isovalerat; ví dụ, có thể tiến hành xử lý bằng cách trộn các hạt cà phê này với hạt cà phê chứa etyl isovalerat (ví dụ, hạt cà phê lên men) là ít nhất một phần các hạt này; do đó hạt cà phê rang đã xử lý có thể bảo

quản được trong không khí mà không làm giảm chất lượng. Do đó, không cần tiến hành các biện pháp đặc biệt như bảo quản hạt cà phê đã xay ở trạng thái kín hoặc trạng thái chân không để không cho chúng tiếp xúc với không khí (hoặc oxy), hoặc làm sạch bằng khí nitơ hoặc các khí khác. Ngay cả nếu hạt cà phê đựng trong túi (hoặc bột cà phê) khi được phân phối ở trạng thái chân không hoặc ở trạng thái khác được mở tại nhà và được sử dụng dưới dạng các phần chia nhỏ, hương thơm và mùi vị của chúng sẽ không bị ảnh hưởng bởi không khí, mà chất lượng ưu tiên của hạt cà phê rang sẽ được duy trì để đảm bảo rằng cà phê có hương thơm mong muốn có thể được uống ở thời điểm bất kỳ trong một khoảng thời gian dài.

Hạt cà phê rang chứa hạt cà phê rang được lên men thu được bởi sáng chế không chỉ có khả năng bảo quản trong một khoảng thời gian dài mà còn có tác dụng có lợi đối với chất lượng của chiết phẩm cà phê pha từ hạt cà phê rang - chiết phẩm cà phê này, nhờ vào việc bổ sung hạt cà phê rang được lên men, có hương đầu ngào ngạt, và độ đậm (độ đặc) đồng thời tránh được sự biến đổi theo thời gian (ví dụ, sự phân tán hương thơm và oxy hóa).

Hạt cà phê xay thu được bằng cách xay hạt cà phê rang trong không khí bị phân tán hương thơm trong quá trình xay đến mức độ đáng kể trong không khí, mức này được thông báo thường nằm trong khoảng từ 40 đến 50%; tuy nhiên, hạt cà phê rang theo sáng chế có ưu điểm là ngay cả khi chúng được xay trong không khí thì hương thơm của chúng không dễ bị phân tán, nhờ đó có thể thu được bột cà phê giàu hương thơm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hạt cà phê rang

Thuật ngữ “hạt cà phê rang” như được đề cập trong sáng chế là hạt cà phê thu được bằng cách xử lý nhiệt hạt cà phê xanh mà được gọi là “rang”. Nhờ quá trình rang, các thành phần trong hạt cà phê xanh được biến đổi về mặt hóa học, dẫn đến các đặc tính vốn có như hương thơm, vị và màu của cà phê tăng lên. Trừ khi có chỉ dẫn khác, thuật ngữ “hạt cà phê rang” như được sử dụng trong sáng chế sẽ bao gồm, để cho thuận tiện, bột xay của hạt cà phê rang (mà đôi khi có thể được gọi là “bột cà phê”).

Theo sáng chế, các loại hạt cà phê không bị giới hạn cụ thể. Ví dụ về các loại

này bao gồm Brazin, Columbia, Tanzania, Mocha, Kilimanjaro, Mandheling, Blue Mountain, v.v.. Các loài cà phê bao gồm Arabica, Robusta, Liberica, v.v.. Hạt cà phê có thể là của một loài hoặc giống; theo cách khác hai hoặc nhiều hơn hai loài hoặc giống có thể được trộn lẫn với nhau.

Phương pháp và điều kiện rang không bị giới hạn cụ thể và nguồn nhiệt thích hợp như lửa trực tiếp, khí nóng, khí bán nóng, lửa than, bức xạ hồng ngoại xa, vi sóng, hoặc hơi quá nhiệt có thể được áp dụng cho thiết bị thích hợp như trống nằm ngang, trống nằm thẳng đứng, thùng quay thẳng đứng, đệm tầng sôi hoặc bình điều áp sao cho hạt cà phê được rang đến mức thích hợp (tức là, rang nhạt, rang rất nhạt (màu vỏ quế), rang trung bình, rang đậm, rang trung bình mức độ city, full city, rang đậm kiểu Pháp hoặc Italia) mà đáp ứng được mục đích mong muốn tùy thuộc vào loài hoặc giống hạt cà phê. Từ quan điểm thu hồi các chất rắn hòa tan với hiệu suất cao trong quá trình chiết, trống nằm ngang hở, trống nằm ngang kín hoặc thùng quay thẳng đứng được ưu tiên, trong đó thùng quay thẳng đứng được ưu tiên hơn. Từ quan điểm ức chế mùi oxy hóa, ưu tiên rang hạt cà phê theo cách sao cho giá trị L, như được đo bằng dụng cụ đo sự chênh lệch màu và được sử dụng làm chỉ số đánh giá mức độ rang, các giá trị đọc được nằm trong khoảng 10 đến 30, tốt hơn là trong khoảng 10 đến 25, tốt hơn nữa là trong khoảng 15 đến 25. Ở hạt cà phê được rang đến mức độ rang này, tác dụng của etyl isovalerat trong việc ức chế (che đi) mùi oxy hóa được thể hiện đáng kể. Mức độ rang có thể được đánh giá bằng quy trình sau: 50% hạt cà phê rang trong thử nghiệm được xay đến kích thước hạt nằm trong khoảng từ 0,8 đến 1,2mm; lượng hạt có kích thước 0,5mm và nhỏ hơn và hạt có kích thước 2mm và lớn hơn được điều chỉnh đến 5% và thấp hơn; việc chà xát được loại bỏ nếu cần; các hạt đã xay được nạp vào trong một ngăn, được rút ra đủ, và sau đó được đưa đi đánh giá bằng thiết bị đo màu quang phổ. Thiết bị đo màu quang phổ có thể được sử dụng là SE-2000 do NIPPON DENSHOKU INDUSTRIES CO., LTD. sản xuất.

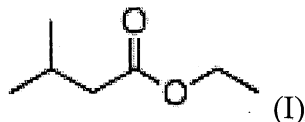
Để đảm bảo mùi vị thơm ngon, hạt cà phê rang được làm nguội theo mong muốn đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 100°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 60°C trong khoảng 30 phút sau khi rang.

Etyl isovalerat

Sáng chế được đặc trưng bởi việc kết hợp etyl isovalerat vào hạt cà phê rang

mô tả trên đây. Etyl isovalerat (còn được gọi là este 3-metyl-etyl của axit butanoic, este 3-metyl-etyl của axit butyric, hoặc este etyl của axit isovaleric) là hợp chất có công thức (I) dưới đây:

[Công thức hóa học 1]



và hợp chất này được tìm thấy trong các loại quả như dứa, dâu tây, và quả thuộc giống cam quýt. Đối với hạt cà phê rang theo sáng chế, có thể sử dụng chiết phẩm thực vật chứa etyl isovalerat thu được từ các thực vật chứa chất này bằng phương pháp chiết đã biết bất kỳ; chiết phẩm thực vật có thể được bổ sung nguyên dạng hoặc, theo cách khác, etyl isovalerat trong chiết phẩm có thể được cô hoặc tinh chế và sau đó, bổ sung dịch cô thu được hoặc sản phẩm tinh khiết vào hạt cà phê rang. Nếu chiết phẩm hoa quả được bổ sung trực tiếp vào hạt cà phê rang, mùi vị của quả này có thể sẽ có ảnh hưởng tiềm tàng đến đồ uống cà phê mà được tạo ra bằng cách pha hạt cà phê rang này với nước sôi hoặc nước tương tự; do đó, tốt hơn là etyl isovalerat được sử dụng ở dạng dịch cô hoặc sản phẩm tinh khiết hoặc ở dạng sản phẩm tổng hợp, hơn là sử dụng ở dạng chiết phẩm hoa quả.

Các tác giả sáng chế cũng khẳng định bởi nghiên cứu rằng hạt cà phê lên men chứa etyl isovalerat. Vì không loại nào trong số hạt cà phê xanh không lên men, hạt cà phê thu được bằng cách rang, và đồ uống cà phê trên thị trường được thấy là có chứa etyl isovalerat, có thể kết luận rằng etyl isovalerat là hợp chất được tạo ra đặc biệt ở hạt cà phê khi được lên men. Hạt cà phê được đưa qua quá trình lên men (ở đây được gọi là “hạt cà phê lên men”) thu được bằng cách xử lý quả cà phê tươi thu hoạch được bằng quy trình lên men nhất định mà tận dụng chức năng của vi sinh vật, và hạt cà phê này là hạt cà phê chứa etyl isovalerat ở nồng độ mà có thể phát hiện được bằng phương pháp dưới đây.

Phương pháp phát hiện etyl isovalerat trong hạt cà phê

Hạt cà phê xanh (5g) đầu tiên được xay đến mức xay trung bình, sau đó bổ sung nước cất (50ml) để chưng cất bằng hơi nước; dịch cất thu được (100ml) được cho vào phễu tách và sau khi bổ sung natri clorua (25g) và dietyl ete (50ml), phễu tách

được lắc trong 20 phút. Lớp diethyl ete được thu hồi và lớp nước còn lại được cho vào phễu tách; sau khi bổ sung một lần nữa diethyl ete (50ml), phễu tách được lắc trong 20 phút và lớp diethyl ete được thu hồi. Lớp diethyl ete thu được với tổng lượng là 100ml được đưa trở lại phễu tách; sau khi rửa phễu tách này bằng nước cất (50ml), lớp diethyl ete được thu hồi và bổ sung natri sulfat (30g); hỗn hợp này được khử nước và cô đến 1ml bằng phương pháp cô KD (Kuderna-Danish); dịch cô được đưa vào GC-MS để phát hiện etyl isovalerat. Các điều kiện GC-MS là như sau.

Điều kiện GC-MS

- Thiết bị: 6890N (GC) + 5973inert (MS), sản phẩm của Agilent
- Cột: MACH HP-INNOWAX (10m*0,20mm*0,20 μ m), sản phẩm của GERSTEL
- Nhiệt độ cột: 40°C (3 phút) ~ 50°C/phút ~ 250°C (10 phút)
- Khí mang: He
- Nhiệt độ cổng phun: 250°C
- Nhiệt độ dòng chuyển: 250°C
- Nhiệt độ nguồn ion hóa: 230°C
- Thông số quét: $m/z = 35 \sim 350$
- Thông số SIM: $m/z = 70, 88, 102$

Ví dụ, hạt cà phê lên men có thể thu được bằng một trong số các phương pháp sau đây:

- 1) Cho quả cà phê tươi sau khi thu hoạch tiếp xúc với vi sinh vật để lên men và sau đó loại bỏ vỏ (mài nhẵn) bằng phương pháp rửa hoặc không rửa.
- 2) Phơi khô quả cà phê tươi sau khi thu hoạch dưới mặt trời hoặc bằng các biện pháp cơ học và sau đó cho tiếp xúc với vi sinh vật để lên men và loại bỏ vỏ (mài nhẵn) bằng phương pháp rửa hoặc không rửa.
- 3) Phơi khô quả cà phê tươi sau khi thu hoạch dưới mặt trời đồng thời tiến hành lên men nhờ vi sinh vật và sau đó loại bỏ vỏ (mài nhẵn).
- 4) Lột vỏ lớp thịt quả của quả cà phê tươi sau khi thu hoạch trong thiết bị xay

tách vỏ lớp thịt quả và cho vào thùng nước, tại đây chúng được loại bỏ lớp nhót bám vào vỏ trấu đồng thời chúng được tiến hành lên men nhờ vi sinh vật khi có mặt các chất dinh dưỡng bổ sung mà có thể được chuyển hóa bởi vi sinh vật sử dụng và sau đó phơi khô chúng dưới mặt trời hoặc bằng các biện pháp cơ học và loại bỏ vỏ.

Việc cho tiếp xúc với vi sinh vật có thể được thực hiện hoặc theo cách không tự nhiên bằng cách bổ sung vi sinh vật, hoặc bằng cách sử dụng vi sinh vật đã bám vào quả cà phê tươi trên bề mặt của chúng hoặc cách tương tự. Trường hợp tiếp xúc không tự nhiên với vi sinh vật, các vi sinh vật được lấy làm ví dụ có thể được sử dụng bao gồm nấm men như nấm men để lên men rượu vang (ví dụ, nấm men chủng Lalvin L2323 (Setin Co., Ltd.) và chủng CK S102 (BioSpringer), cả hai chủng này đều thuộc loài *Cerevisiae* của chi *Saccharomyces*, và thuộc loài *bayanus* của chi *Saccharomyces*), nấm men để lên men bia, và nấm men bánh mỳ; vi khuẩn sinh axit lactic thuộc chi *Lactobacillus*, *Pediococcus*, và *Oenococcus*; aspergilli như các chủng dùng để sản xuất rượu *sake*, *shouchu* (rượu cất của Nhật), và *miso* (trương đậu cô đặc lên men của Nhật); và deuteromycetes, hoặc vi sinh vật thuộc chi *Geotrichum*. Ví dụ về các vi sinh vật thuộc chi *Geotrichum* bao gồm *Geotrichum candidum*, *Geotrichum rectangulatum*, *Geotrichum klebahnii*, và *Geotrichum sp.*, trong đó đặc biệt tốt hơn là *Geotrichum sp.* SAM2421 (số ký gửi quốc tế (International Deposit Number): FERM BP-10300) hoặc biến thể của nó. Các vi sinh vật thuộc chi *Geotrichum* này có thể thu được dưới dạng thành phần phân lập từ quả cà phê tươi.

Việc cho tiếp xúc với vi sinh vật có thể được tiến hành bằng cách phun hoặc phun bụi vi sinh vật lên quả cà phê tươi hoặc bằng cách ngâm quả cà phê tươi trong huyền phù chứa vi sinh vật. Các điều kiện lên men có thể được chọn thích hợp tùy theo vi sinh vật cụ thể sử dụng.

Như đã nêu ở trên, các vi sinh vật thuộc chi *Geotrichum* hoặc *Saccharomyces* có thể được tìm thấy trên quả cà phê tươi, vì thế thay vì tiến hành lên men bằng vi sinh vật theo cách không tự nhiên như bằng cách cho tiếp xúc với vi sinh vật, tập tính của các vi sinh vật thuộc chi *Geotrichum* hoặc *Saccharomyces* này đơn giản có thể được kiểm soát để lên men để thu được hạt cà phê lên men.

Các vùng sản xuất quả cà phê tươi được chia rộng thành hai nhóm, một là các vùng như Yemen và Brazil là nơi mùa thu hoạch là mùa khô và không cần lo lắng về

vấn đề mưa, và vùng còn lại là các vùng như Mỹ La tinh, châu Phi mà châu Á nơi mà có độ ẩm cao làm kéo dài thời gian phơi khô dưới mặt trời. Ở nhóm vùng thứ nhất bao gồm Yemen và Brazil, hạt cà phê lên men có thể được tổng hợp theo cách không tự nhiên bằng các phương pháp mô tả 1), 2) hoặc 4) trên đây, tốt hơn là phương pháp 1) hoặc 2); ở nhóm vùng thứ hai bao gồm Mỹ La tinh, châu Phi và châu Á, hạt cà phê lên men có thể được sản xuất không chỉ bằng các biện pháp không tự nhiên mà còn bằng phương pháp 3) mô tả trên đây, trong đó quả cà phê tươi sau khi thu hoạch được phơi khô dưới mặt trời đồng thời được lên men với sự trợ giúp của vi sinh vật bám trên bề mặt quả tươi. Lưu ý rằng để tiến hành “lên men” trong phạm vi thuật ngữ sử dụng trong sáng chế, quan trọng là phải kiểm soát được các điều kiện sinh trưởng của các vi sinh vật nêu trên theo cách sao cho ngăn ngừa được “sự thối rữa”, cụ thể là để đảm bảo rằng sẽ không xuất hiện mùi hôi từ sulfit hoặc amoniac. Trong trường hợp phương pháp 3), để đảm bảo rằng không xảy ra sự thối rữa, quan trọng là quả cà phê tươi được phơi khô dưới mặt trời (tức là để lên men nhờ vi khuẩn) được bảo vệ để không bị thối rữa bằng cách tiến hành các biện pháp thích hợp như chất đóng quả cà phê tươi với độ dày không vượt quá mức nhất định (tức là, 10cm hoặc dưới 10cm), bố trí cà phê thành lớp mỏng (tức là, 5cm hoặc dưới 5cm) ngay sau khi bắt đầu phơi khô và tăng dần dần độ dày lớp phơi (tức là, trong khoảng từ 5 đến 10cm) khi lượng nước trong quả cà phê giảm dần, hoặc đảo đều các đồng quả cà phê tươi (tức là, một giờ một lần).

Hạt cà phê rang theo sáng chế có thể được xử lý sao cho chúng chứa, ít nhất là một phần của chúng, hạt cà phê lên men mô tả trên đây, tốt hơn là hạt cà phê được lên men và rang (mà sau đây được gọi là “hạt cà phê rang được lên men”), nhờ đó etyl isovalerat hữu hiệu để thu được chất lượng tốt hơn mà là mục tiêu chính của sáng chế có thể được kết hợp vào. Thời gian xử lý không bị giới hạn và hai phương pháp có thể được lấy làm ví dụ; theo một phương pháp, hạt cà phê xanh lên men được trộn với hạt cà phê xanh chưa lên men cần được bảo quản và sau đó rang hỗn hợp này (phương pháp này được gọi là phương pháp trộn trước); và theo phương pháp còn lại, hạt cà phê rang được lên men được trộn với hạt cà phê rang khác (phương pháp này được gọi là phương pháp trộn sau). Dù tiến hành phương pháp trộn trước hay trộn sau, hạt cà phê lên men đều được rang theo cách mong muốn để thu được giá trị L nằm trong khoảng từ 16 đến 30, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 18 đến 22. Nếu quá trình rang mà thu được giá trị L nhỏ hơn 16, các dipeptit vòng và các chất khác thu được có thể làm

ảnh hưởng đến hiệu quả của ethyl isovalerat mà là thành phần hữu hiệu theo sáng chế.

Hương thơm đặc trưng của ethyl isovalerat hoặc hạt cà phê (tốt hơn là hạt cà phê rang được lên men) chứa ethyl isovalerat là hữu dụng để che đi mùi oxy hóa. Do đó, hạt cà phê rang theo sáng chế mà được trộn ít nhất một phần với hạt cà phê chứa ethyl isovalerat có thể được bảo quản trong không khí, chỉ bị biến đổi hương thơm cà phê rất ít và vẫn giữ được hương thơm cà phê ưa thích. Lượng ethyl isovalerat là lượng mà khi hạt cà phê rang bảo quản được đo bằng phương pháp GC-MS mô tả trên đây để phát hiện ethyl isovalerat, nồng độ ethyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê rang (mà, trong trường hợp ethyl isovalerat được bổ sung trực tiếp vào hạt cà phê rang cần được bảo quản, là tổng lượng hạt cà phê rang, và trong trường hợp hạt cà phê rang chứa ethyl isovalerat được trộn với hạt cà phê rang cần được bảo quản, là tổng của hai loại hạt cà phê rang) là ít nhất 10ppb, tốt hơn là ít nhất 30ppb, tốt hơn nữa là ít nhất 50ppb. Trừ khi được kết hợp vào với lượng ít nhất là 10ppb, ethyl isovalerat không đủ hữu hiệu để kiểm soát việc giảm chất lượng hạt cà phê rang có thể xảy ra trong quá trình bảo quản trong không khí. Khi hàm lượng ethyl isovalerat tăng, thì chất lượng duy trì của hạt cà phê rang được cải thiện, nhưng mặt khác, mùi đặc trưng của ethyl isovalerat mà giống mùi hoa quả có thể làm ảnh hưởng đến hương thơm của cà phê, do đó, giới hạn trên của hàm lượng ethyl isovalerat là 200ppb, tốt hơn là 160ppb, tốt hơn nữa là 100ppb.

Nếu ethyl isovalerat được kết hợp ở dạng hạt cà phê rang được lên men, thì hạt cà phê rang được lên men có thể được bổ sung với lượng sao cho ethyl isovalerat được kết hợp vào với tỷ lệ nêu trên; thông thường, tỷ lệ của hạt cà phê rang được lên men được kết hợp vào là ít nhất 1% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 5% trọng lượng, của tổng lượng hạt cà phê rang (tổng của trọng lượng hạt cà phê rang cần được bảo quản và trọng lượng hạt cà phê rang được lên men). Về cơ bản không có giới hạn trên cho tỷ lệ hạt cà phê rang được lên men được kết hợp vào, và có thể điều chỉnh tỷ lệ này đến 100% trọng lượng để thu được hạt cà phê rang có chất lượng duy trì rất tốt; tuy nhiên, từ quan điểm về mùi vị, tốt hơn là hạt cà phê rang được lên men được trộn với hạt cà phê rang chưa lên men với tỷ lệ tốt hơn là thấp hơn hoặc bằng 50% trọng lượng, tốt hơn nữa là thấp hơn hoặc bằng 30% trọng lượng.

So với ethyl isovalerat ở dạng sản phẩm tinh khiết (mà có thể là sản phẩm tổng

hợp), việc sử dụng hạt cà phê rang được lên men chứa ethyl isovalerat không chỉ hữu hiệu trong việc che đi mùi oxy hóa của hạt cà phê rang cần được bảo quản mà còn có khả năng làm tăng mùi vị cho hạt cà phê. Cơ chế của hiện tượng này chưa được nắm rõ nhưng ethyl axetat và/hoặc etanol mà là các thành phần trong hương thơm đặc trưng của hạt cà phê lên men góp phần rất nhiều. Do đó, hạt cà phê rang được lên men phải được kiểm soát về quá trình lên men và rang sao cho chúng chứa các lượng ethyl axetat và etanol xác định. Cụ thể là, hàm lượng ethyl axetat là ít nhất 5ppm, tốt hơn là ít nhất 10ppm, tốt hơn nữa là ít nhất 20ppm, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 30ppm, và tốt nhất là ít nhất 40ppm; hàm lượng etanol là ít nhất 500ppm, tốt hơn là ít nhất 600ppm, và tốt hơn nữa ít nhất là 1000ppm.

Các giá trị về hàm lượng của ethyl axetat và etanol nêu trên là các giá trị thu được bằng cách tiến hành phân tích thành phần của khí trong khoảng chứa bên trên của ống mẫu sắc ký khí (gas chromatographic-GC) được nạp hạt cà phê rang, đã lên men còn nguyên (chưa được xay). Các điều kiện để phân tích GC là như sau.

Điều kiện phân tích GC

- Thiết bị: Agilent 7694 HeadspaceSampler (sản phẩm của Agilent Technologies)

Hệ thống Agilent 6890 GC (sản phẩm của Agilent Technologies)

- Cột: HP-INNOWAX (60mm x đường kính trong 0,25mm x độ dày màng 0,25 μ m)
- Nhiệt độ: giữ ở nhiệt độ 40°C trong 4 phút, tăng 3°C/phút đến 220°C, và giữ ở nhiệt độ 230°C trong 30 phút
- Bộ dò: MSD, FID

Ethyl axetat và etanol là các thành phần mà có thể được phát hiện rõ ràng ở hạt cà phê xanh chưa lên men và hạt cà phê rang chưa lên men. Các thành phần này có áp suất hơi cao hơn so với nước và dễ bay hơi, nhưng trong trường hợp các thành phần này có mặt trong hạt cà phê xanh do kết quả của quá trình lên men, chúng có thể ít có khả năng bay hơi hơn và một lượng lớn các thành phần này sẽ vẫn còn trong hạt cà phê ngay cả sau khi rang ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 200 đến 300°C. Trên cơ sở các quan sát này, có thể nói rằng ethyl axetat và etanol là các thành phần đặc biệt được tổng hợp và kết hợp vào hạt cà phê nhờ lên men. Ethyl axetat và etanol vẫn còn trong hạt cà phê lên men cũng thể hiện hiệu quả trong việc ức chế sự phân tán các thành

phần hương thơm chính trong hạt cà phê rang, như rượu furfurylic, 5-metylfurfural, 2,5-dimetylpyrazin, 2,6-dimetylpyrazin, etylpyrazin, phenol, và 2-axetylpyrol. Ngoài ra, khi chiết phẩm cà phê được thu từ hạt cà phê rang được lên men, etyl axetat hòa tan trong chiết phẩm này mà sau đó thể hiện khả năng bay hơi vốn có của etyl axetat, tạo ra hương đầu ngào ngạt. Nói cách khác, hạt cà phê rang được lên men làm tăng hương thơm của cà phê trong chiết phẩm cà phê, đồng thời hạt cà phê rang được lên men cũng thể hiện hiệu quả trong việc cải thiện chất lượng của chiết phẩm cà phê bằng cách đem lại độ đậm (độ đặc) cho vị cà phê.

Hạt cà phê rang trong đồ chứa

Theo sáng chế, hạt cà phê rang mô tả trên đây chứa etyl isovalerat hoặc hạt cà phê rang chứa hạt cà phê rang này (tốt hơn là hạt cà phê rang được lên men) được làm cho phù hợp theo cách sao cho chúng được chứa trong đồ chứa, tốt hơn là ở trạng thái sao cho hạt cà phê rang này được tiếp xúc với không khí. Đặc điểm thuận lợi của phương thức này là hương thơm của cà phê sẽ chỉ phân tán ở mức nhỏ và sự xuất hiện quá trình oxy hóa cũng được hạn chế trong suốt quá trình bảo quản kéo dài, không chỉ trong các điều kiện thuận lợi mà còn trong không khí là điều kiện không thân thiện đối với hạt cà phê rang.

Thuật ngữ “không khí” như được sử dụng ở đây có nghĩa là không khí có oxy, và đặc biệt là thuật ngữ này được dùng để chỉ không khí có oxy với lượng đủ để làm thoái biến hạt cà phê rang do oxy hóa (tức là, ít nhất 10% thể tích/thể tích, tốt hơn là ít nhất 15% thể tích/thể tích, so với tổng thể tích của không khí), và thuật ngữ “bảo quản trong không khí” được dùng để chỉ trạng thái hạt cà phê rang được bảo quản trong không khí có oxy trong một khoảng thời gian từ một ngày đến sáu tháng, tốt hơn là khoảng từ một ngày đến ba tháng, tốt hơn nữa là khoảng từ một ngày đến một tháng.

Thuật ngữ “hạt cà phê rang được chứa trong đồ chứa ở trạng thái sao cho chúng tiếp xúc với không khí” được dùng để chỉ các hạt cà phê được rang bằng máy rang cà phê hoặc bởi người bán lẻ hạt cà phê hoặc ở quán cà phê hoặc ở nhà và sau đó không được xử lý bằng biện pháp bất kỳ như làm sạch bằng khí nitơ hoặc hút chân không mà đơn giản là được đặt trong đồ chứa bảo quản (ví dụ, túi, lon, và thùng) mà cho phép bảo quản chúng khi tiếp xúc với không khí. Hạt cà phê rang mà được bán trên thị trường sau khi đã được xử lý nhất định như làm sạch bằng khí nitơ hoặc hút

chân không và được mở tại nhà và được chuyển vào đồ chứa để bảo quản (ví dụ, túi, lon, và thùng) mà tiếp xúc với không khí cũng được bao gồm trong thuật ngữ “hạt cà phê rang chứa trong đồ chứa ở trạng thái sao cho chúng tiếp xúc với không khí”. Cần lưu ý rằng đồ chứa được sử dụng theo sáng chế không giới hạn ở đồ chứa kín.

Hạt cà phê rang trong đồ chứa là hạt cà phê vẫn chưa được xay hoặc bột cà phê mà thu được bằng cách xay hạt cà phê rang thành hạt hoặc hạt mịn. Quy trình sản xuất bột cà phê không bị giới hạn cụ thể và các phương tiện xay đã biết như máy xay cà phê, máy xay, máy nghiền và máy mài có thể được sử dụng. Việc sản xuất bột cà phê có liên quan đến các vấn đề như sự phân tán phần lớn hương thơm cà phê trong quá trình xay và chất lượng ngày càng giảm do quá trình oxy hóa trong không khí mà là kết quả của việc tăng diện tích bề mặt sau khi xay; hạt cà phê rang theo sáng chế mà chứa hạt cà phê rang được lên men ít có khả năng gặp phải các trường hợp giảm chất lượng trong và sau khi xay hơn. Như đã lưu ý, việc trộn với hạt cà phê rang được lên men có thể thực hiện ở thời điểm bất kỳ, nhưng trong trường hợp bột cà phê, từ quan điểm ức chế sự giảm chất lượng trong quá trình xay, tốt hơn là tiến hành trộn trước khi xay. Do đó, bột cà phê thu được được ức chế sự phân tán hương thơm trong và sau khi xay và bột cà phê ít có khả năng bị oxy hóa hơn; do đó, bột cà phê theo sáng chế có hương thơm đậm chưa đạt được từ trước đến nay.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ở phần dưới đây, sáng chế được giải thích chi tiết hơn bởi các ví dụ mà không nhằm làm giới hạn sáng chế.

Ví dụ 1: Sản xuất hạt cà phê lên men (1)

Hạt cà phê lên men được sản xuất theo các bước dưới đây:

- 1) bước xử lý bằng hơi để xử lý quả cà phê tươi bằng hơi ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90 đến 110°C trong 15 đến 30 giây;
- 2) bước làm nguội đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 40°C;
- 3) bước điều chỉnh độ pH bao gồm bổ sung axit adipic hoặc axit lactic với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,5% trọng lượng tính theo trọng lượng của quả cà phê tươi, nhờ đó điều chỉnh độ pH của lớp vỏ ngoài của quả cà phê tươi để nằm trong khoảng từ 3 đến 4;

- 4) bước kết hợp vi sinh vật để tiến hành lên men nhờ vi sinh vật hoặc đồng thời với hoặc sau bước điều chỉnh độ pH;
- 5) bước nuôi cấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 40°C trong thời gian từ 48 đến 72 giờ;
- 6) bước phơi khô để làm khô quả cà phê tươi đã nuôi cấy; và
- 7) bước tách/tinh chế để tách lớp thịt quả cà phê ra khỏi hạt cà phê để thu được hạt cà phê lên men.

Cụ thể hơn, 100kg quả cà phê tươi mới (loại Arabica Brazil) được cung cấp và vận chuyển trên băng truyền có thể điều chỉnh được tốc độ và được trang bị bộ phận cấp hơi loại phễu, nhờ đó tiến hành bước 1) trên đây ở nhiệt độ 100°C trong khoảng thời gian 20 giây. Sau đó, không khí lạnh được cấp để làm nguội quả cà phê tươi xuống nhiệt độ 40°C (bước 2)). 50 gam tế bào khô của chủng *Lalvin* EC1118 (*Saccharomyces bayanus*; nấm men để lên men rượu vang) được hòa tan trong 200g nước để tạo ra dung dịch nấm men, dung dịch này được bổ sung cùng với 100g axit adipic vào 100kg quả cà phê tươi sao cho nấm men có thể bám vào quả cà phê tươi ở nồng độ $1,0 \times 10^{6-7}$ tế bào mỗi quả cà phê tươi (các bước 3) và 4)). Quả cà phê tươi được để yên ở nhiệt độ 35°C trong 72 giờ để lên men (bước 5)) và sau đó được làm khô bằng thiết bị sấy (bước 6)), bóc lớp thịt quả bằng thiết bị bóc vỏ để thu được hạt cà phê lên men (hạt xanh) (bước 7)), mà sau đó được đưa vào thiết bị rang loại trống nằm ngang (được cấp không khí nóng), ở đó hạt cà phê này được rang đến mức trung bình (giá trị L: 20,5) để thu được hạt cà phê rang được lên men (mẫu 1).

Hạt cà phê rang được lên men (mẫu 2) thu được bằng cách lặp lại quy trình giống như được thực hiện đối với mẫu 1, ngoại trừ các điểm khác biệt dưới đây: cung cấp 1000g quả cà phê tươi mới; việc xử lý bằng hơi ở bước 1) được tiến hành ở nhiệt độ 100°C trong 15 giây; vi sinh vật sử dụng trong bước 3) là vi khuẩn sinh axit lactic để sản xuất sữa chua (*Lactobacillus acidophilus*); nồng độ của vi khuẩn sinh axit lactic sử dụng là $1,0 \times 10^{7-8}$ tế bào với mỗi quả cà phê tươi; và không sử dụng axit adipic.

Hạt cà phê rang được lên men (mẫu 3) thu được bằng cách lặp lại quy trình trên đây, ngoại trừ là vi khuẩn sinh axit lactic để sản xuất sữa chua được thay thế bằng nấm để sản xuất rượu *shochu* (*Aspergillus kawachii*) và nồng độ nấm bám vào là $1,0 \times$

10^{3-4} tế bào với mỗi quả cà phê tươi.

Mỗi mẫu hạt cà phê rang được lên men không được xay mà được đưa y nguyên (giả thiết hình dạng ban đầu của chúng) vào ống đựng mẫu chạy sắc ký khí (GC) ở lượng 10g, và khí trong khoảng chứa đỉnh được phân tích các thành phần của nó. Kết quả là, các mẫu 1, 2 và 3 chứa etyl axetat với lượng tương ứng là 65ppm, 63ppm và 68ppm, và etanol với lượng tương ứng là 3100ppm, 3200ppm, và 630ppm.

Các điều kiện để phân tích GC là như sau.

Điều kiện phân tích GC

- Thiết bị: Agilent 7694 HeadspaceSampler (sản phẩm của Agilent Technologies)

Hệ thống Agilent 6890 GC (sản phẩm của Agilent Technologies)

- Cột: HP-INNOWAX (60mm x đường kính trong 0,25mm x độ dày màng 0,25 μ m)
- Nhiệt độ: được giữ ở nhiệt độ 40°C trong 4 phút, tăng 3°C/phút cho đến 220°C, và giữ ở nhiệt độ 230°C trong 30 phút
- Bộ dò: MSD, FID

Ví dụ 2: Sản xuất hạt cà phê lên men (1)

Ở Guatemala, phương pháp mài nhẵn có rửa thường được áp dụng để thu được hạt cà phê xanh từ quả cà phê tươi. Cụ thể hơn, quả cà phê tươi sau khi thu hoạch được cho vào trong thùng nước và loại bỏ các tạp chất bất kỳ; sau đó, bóc lớp thịt quả trong thiết bị bóc vỏ và đưa trở lại thùng nước nơi mà chúng sẽ được loại bỏ lớp nhớt dính vào vỏ trấu; sau đó quả cà phê tươi được phơi khô hoặc dưới mặt trời hoặc bằng biện pháp cơ học và loại bỏ vỏ. Quy trình này là một sự lựa chọn tất yếu vì cây cà phê được trồng trên dốc núi và không có chỗ nào để có thể trải quả cà phê tươi sau khi thu hoạch để phơi khô.

Ngược lại, ở Brazil và các vùng khác mà có diện tích rộng bằng phẳng mà có thể phơi khô quả cà phê tươi với lượng lớn vào thời điểm bất kỳ và trong đó mùa thu hoạch là mùa khô và không cần phải lo lắng về vấn đề mưa, phương pháp mài nhẵn không rửa được áp dụng (còn được biết là mài nhẵn “tự nhiên”). Cụ thể hơn, quả cà phê tươi sau khi thu hoạch được trải ngay ở các sân phơi và sau khi được phơi khô dưới mặt trời, được bóc lớp thịt quả còn bám trên quả cà phê tươi; quy trình này khác

biệt ở chỗ mùi vị, hương thơm và độ đậm phức hợp được bộc lộ ở hạt cà phê xanh trong khi chúng được làm khô trong một thời gian đủ dài.

Tuy nhiên, trong ví dụ 2, một thử nghiệm được tiến hành ở Guatemala để thu được hạt cà phê xanh bằng cách mài nhẵn không rửa. Cụ thể hơn, quả cà phê tươi sau khi thu hoạch được chất đồng với độ dày không vượt quá mức nhất định (thấp hơn hoặc bằng 5cm), và lớp này dần dần được làm cho dày hơn (5 đến 10cm) khi hàm lượng nước trong quả cà phê tươi giảm, và các đồng quả cà phê tươi được đảo một giờ một lần, nhờ đó quả cà phê tươi được làm khô đến hàm lượng nước còn lại thấp hơn hoặc bằng 10% trong khoảng thời gian 2 tuần, và sau đó được loại bỏ vỏ để thu được hạt cà phê xanh (mẫu 4). Phân tích hạt cà phê xanh thu được như trong ví dụ 1 chứng tỏ rằng hạt cà phê xanh này chứa etyl axetat và etanol. Phân tích etyl isovalerat bằng phương pháp được mô tả sau đó cũng chứng minh được sự có mặt của etyl isovalerat.

Ví dụ 3: Thử nghiệm bảo quản hạt cà phê rang (1)

1. Đánh giá cảm quan hạt cà phê rang

Hạt cà phê loại Arabica Brazin được cấp vào thiết bị rang dạng trống nằm ngang (được cấp không khí nóng), tại đây chúng được rang đến mức độ trung bình (giá trị L: 19,5) để thu được hạt cà phê rang, sau đó bổ sung dung dịch etanol chứa etyl isovalerat (sản phẩm của Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.) với lượng sao cho hàm lượng etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê rang là 10, 30, 50, 100 và 200ppb (thể tích/trọng lượng) (các hỗn hợp thu được lần lượt được đề cập đến là mẫu được bổ sung 10ppb, mẫu được bổ sung 30ppb, mẫu được bổ sung 50ppb, mẫu được bổ sung 100ppb, và mẫu được bổ sung 200ppb). Sau khi khuấy ở nhiệt độ thường trong vài phút, các mẫu tương ứng được gia nhiệt bằng cách khuấy trên đĩa nóng ở nhiệt độ khoảng 100°C trong khoảng 20 phút, và bước gia nhiệt có khuấy này được dừng khi hạt cà phê rang có trọng lượng gần bằng trọng lượng của chúng trước khi bổ sung dung dịch etanol. Mỗi mẫu hạt cà phê rang có trọng lượng 120g được cho vào túi nhôm (tên sản phẩm: Lamijip AL-12) có dung tích khoảng 300ml và được đưa qua thử nghiệm bảo quản, trong đó khoảng không gian trống được để ở mức tối thiểu. Thể tích không khí trong túi nhôm là khoảng 20ml. Tiến hành thử nghiệm bảo quản trong tủ lạnh (5°C), buồng ổn nhiệt 37°C, và buồng ổn nhiệt 55°C. Mẫu không chứa etyl isovalerat (mẫu không bổ sung) được đưa qua cùng thử nghiệm bảo quản này làm mẫu

đối chứng. Sau khi bảo quản, mở các túi ra, và hương thơm từ bên trong mỗi túi được đánh giá bởi bốn chuyên gia tham gia thử nghiệm dựa trên thang điểm 4 về việc có hoặc không có mùi biến chất (độ mạnh của mùi oxy hóa), và tính trung bình các điểm số.

Các kết quả như được thể hiện trong bảng 1. Rõ ràng từ bảng 1 là, mẫu đối chứng (mẫu không bổ sung) không xuất hiện mùi oxy hóa có thể nhận thấy bất kỳ nào sau khi bảo quản trong tủ lạnh trong khoảng 20 ngày, nhưng lại xuất hiện mùi oxy hóa khi bảo quản ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ thường. Bằng cách bổ sung etyl isovalerat với hàm lượng 10ppb (thể tích/trọng lượng) và cao hơn so với tổng lượng hạt cà phê rang, mùi oxy hóa có thể được ức chế (che đi) và mùi này hầu như không nhận thấy khi bổ sung etyl isovalerat với hàm lượng 30ppb (thể tích/trọng lượng) và cao hơn.

[Bảng 1]

Lượng (số)	Etyl isovalerat (ppb)	5°C x 3 tuần	37°C x 3 tuần	55°C x 1 tuần
Mẫu không bổ sung	0	0	2,0	2,5
Mẫu bổ sung 10ppb	10	0	0,8	1,4
Mẫu bổ sung 30ppb	30	0	0,6	0,9
Mẫu bổ sung 50ppb	50	0	0,4	0,7
Mẫu bổ sung 100ppb	100	0	0,1	0,2
Mẫu bổ sung 200ppb	200	0	0	0,1
(Các điểm số để đánh giá mùi oxy hóa) Có thể nhận thấy, mạnh (3,0); có thể nhận thấy, rõ ràng (2,0); có thể nhận thấy, nhẹ (1,0); không nhận thấy (0)				

2. Đánh giá cảm quan chiết phẩm cà phê

Tiếp đó, chiết phẩm cà phê được thu từ các mẫu hạt cà phê rang nêu trên chứa etyl isovalerat và mẫu đối chứng (mẫu không bổ sung) của hạt cà phê rang, mỗi loại được bảo quản ở nhiệt độ 5°C (trong 3 tuần) và 55°C (trong 1 tuần), và tiến hành đánh giá cảm quan các chiết phẩm trong cốc. Để tạo ra chiết phẩm cà phê, hạt cà phê xay được cho vào máy xay cà phê sẵn có trên thị trường (tên sản phẩm: BONMAC; Model No. BM570N) và xay đến mức trung bình (mặt số trên máy xay cà phê được để ở mức trung bình) và, sau đó, rót 65g nước sôi lên 5g hạt cà phê đã xay (bột cà phê) để chiết

theo cách thông thường. Đánh giá cảm quan chiết phẩm cà phê thu được (thử nghiệm bằng cốc) bởi bốn chuyên gia tham gia vào thử nghiệm. Trong quá trình đánh giá này, chiết phẩm cà phê thu được từ hạt cà phê rang (mẫu không bổ sung) trước khi bảo quản được sử dụng làm đối chứng, và mẫu ưa thích so với mẫu đối chứng (về hương thơm cà phê và mức độ đậm của cà phê) được đánh giá trên thang điểm 5 và tính trung bình các điểm số. Ngoài ra, độ mạnh của vị do sự giảm chất lượng hạt cà phê rang (mùi biến chất: độ mạnh của mùi oxy hóa và vị chát của dư vị) được đánh giá trên thang điểm 4 và tính trung bình các điểm số.

Các kết quả đánh giá sự ưa thích được thể hiện trong Bảng 2. Khi bổ sung ethyl isovalerat với hàm lượng 30ppb (thể tích/trọng lượng) và cao hơn, hương thơm của cà phê sẽ tăng dần theo mức bổ sung tăng, với kết quả là đem lại độ đậm cho cà phê. Cụ thể, hương đầu có hương thơm ngào ngạt. Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C, tất cả các mẫu từ hạt cà phê rang bị giảm chất lượng ở cả hương thơm và độ đậm của cà phê; tuy nhiên, các mẫu từ hạt cà phê rang mà đã được bổ sung ethyl isovalerat với hàm lượng 30ppb (thể tích/trọng lượng) và cao hơn đáp ứng quan điểm về cảm quan, vì chúng có hương thơm và độ đậm ít nhất là ngang bằng với hương thơm và độ đậm của mẫu không bổ sung trước khi bảo quản.

[Bảng 2]

Lượng (Số)	Etyl isovalerat (ppb)	Hương thơm cà phê		Độ đậm cà phê	
		5°C x 3 tuần	55°C x 1 tuần	5°C x 3 tuần	55°C x 1 tuần
Mẫu không bổ sung	0	0	-1,0	0	-1,0
Mẫu bổ sung 10ppb	10	0	-0,5	0	-1,0
Mẫu bổ sung 30ppb	30	0,5	0	0,5	0
Mẫu bổ sung 50ppb	50	1,5	1,0	1,0	0,5
Mẫu bổ sung 100ppb	100	1,5	1,0	1,0	0,5
Mẫu bổ sung 200ppb	200	2,0	1,5	1,0	0,5
(Các điểm số đánh giá)					

Mạnh (2,0); khá mạnh (1,0); không thay đổi (0); khá yếu (-1); yếu (-2)
--

Các kết quả đánh giá mùi biến chất được thể hiện trong bảng 3, từ bảng này rõ ràng là như trong đánh giá hương thơm của hạt cà phê rang (Bảng 1), mẫu không bổ sung của chiết phẩm cà phê cũng có mùi biến chất có thể nhận thấy (mùi oxy hóa và vị chát của dư vị) do chất lượng bị giảm; mặt khác, mẫu được bổ sung ethyl isovalerat với hàm lượng 10ppb (thể tích/trọng lượng) ức chế được mùi biến chất so với mẫu không bổ sung, và mùi biến chất của mẫu được bổ sung 30ppb (thể tích/trọng lượng) hầu như không nhận thấy; cụ thể là, tất cả các chuyên gia tham gia vào thử nghiệm đều trả lời rằng họ không nhận thấy có mùi biến chất ở mẫu được bổ sung 50ppb (thể tích/trọng lượng).

Tuy nhiên, chiết phẩm cà phê thu được từ mẫu hạt cà phê rang có bổ sung ethyl isovalerat với hàm lượng 200ppb không được đánh giá cao bởi một vài người tham gia thử nghiệm mà cảm thấy rằng hương thơm của ethyl isovalerat có ảnh hưởng đến hương thơm của cà phê. Điều này gợi ý rằng giới hạn trên của hàm lượng ethyl isovalerat là khoảng 200ppb.

[Bảng 3]

Lượng (số)	Ethyl isovalerat (ppb)	Mùi oxy hóa		Vị chát của dư vị	
		5°C x 3 tuần	55°C x 1 tuần	5°C x 3 tuần	55°C x 1 tuần
Mẫu không bổ sung	0	0	2,3	0	2,5
Mẫu bổ sung 10ppb	10	0	1,5	0	2,0
Mẫu bổ sung 30ppb	30	0	0	0	1,0
Mẫu bổ sung 50ppb	50	0	0	0	0
Mẫu bổ sung 100ppb	100	0	0	0	0
Mẫu bổ sung 200ppb	200	0	0	0	0
(Các điểm đánh giá mùi oxy hóa)					
Có thể nhận thấy, mạnh (3,0); có thể nhận thấy, rõ ràng (2,0); có thể nhận thấy, nhẹ (1,0); không nhận thấy (0)					

Ví dụ 4: Thử nghiệm bảo quản hạt cà phê rang (2)

1. Đánh giá cảm quan hạt cà phê rang

Hạt cà phê Arabica Brazil được cấp vào thiết bị rang loại trống nằm ngang (được cấp không khí nóng) tại đây chúng được rang đến mức trung bình (giá trị L: 20,0) để thu được hạt cà phê rang, trong đó hạt cà phê rang được lên men được tạo ra trong ví dụ 1 (làm mẫu 1) được kết hợp với lượng sao cho hàm lượng của chúng so với tổng lượng hạt cà phê sẽ là 1, 5 và 30% trọng lượng (các hỗn hợp thu được lần lượt được đề cập đến là mẫu được trộn 1%, mẫu được trộn 5%, và mẫu được trộn 30%). Mỗi mẫu hạt cà phê rang chứa hạt cà phê rang được lên men và có trọng lượng 120g được cho vào túi nhôm (tên sản phẩm: Lamijip AL-12) có dung tích khoảng 300ml, và được đưa qua thử nghiệm bảo quản, trong đó khoảng không gian trống được duy trì ở mức tối thiểu. Thể tích không khí bên trong túi nhôm là khoảng 20ml. Tiến hành thử nghiệm bảo quản trong tủ lạnh (5°C), buồng ổn nhiệt 37°C, và buồng ổn nhiệt 55°C. Mẫu không được kết hợp với hạt cà phê rang được lên men (mẫu không bổ sung) được đưa qua thử nghiệm bảo quản này làm mẫu đối chứng.

Etyl isovalerat trong hạt cà phê được phát hiện bằng phương pháp sau. Đầu tiên, hạt cà phê xanh (5g) được xay đến mức trung bình, tiếp đó bổ sung nước cất (50ml) để chung cất bằng hơi nước; dịch cất thu được (100ml) được cho vào phễu tách, và sau khi bổ sung natri clorua (25g) và dietyl ete (50ml), phễu tách được lắc trong 20 phút. Thu hồi lớp dietyl ete và cho lớp nước còn lại vào phễu tách; sau khi bổ sung một lần nữa dietyl ete (50ml), phễu tách được lắc trong 20 phút, và thu hồi lớp dietyl ete. Đưa lớp dietyl ete thu được với tổng thể tích là 100ml trở lại phễu tách; sau khi rửa phễu tách này bằng nước cất (50ml), thu hồi lớp dietyl ete, và bổ sung natri sulfat (30g); hỗn hợp này được khử nước và cô đến 1ml bằng phương pháp cô KD (Kuderna-Danish); tiến hành GC-MS dịch cô này.

Các điều kiện GC-MS là như sau.

Điều kiện GC-MS

- Thiết bị: 6890N (GC) + 5973inert (MS), sản phẩm của Agilent
- Cột: MACH HP-INNOWAX (10m*0,20mm*0,20 µm), sản phẩm của GERSTEL
- Nhiệt độ cột: 40°C (3 phút) ~ 50°C/phút ~ 250°C (10 phút)

- Khí mang: He
- Nhiệt độ cổng phun: 250°C
- Nhiệt độ dòng vận chuyển: 250°C
- Nhiệt độ nguồn ion hóa: 230°C
- Thông số quét: $m/z = 35 \sim 350$
- Thông số SIM: $m/z = 70, 88, 102$

Hàm lượng etyl isovalerat trong mẫu được trộn 1%, mẫu được trộn 5% và mẫu được trộn 30% lần lượt là 6,5, 39 và 152ppb (thể tích/trọng lượng), so với tổng lượng hạt cà phê. Sau khi bảo quản, các túi được mở và hương thơm trong mỗi túi được đánh giá bởi bốn chuyên gia tham gia vào thử nghiệm dựa trên thang điểm 4 về việc có hay không có mùi biến chất (độ mạnh của mùi oxy hoá) do quá trình bảo quản, và tính trung bình điểm số.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 4. Từ bảng 4 rõ ràng thấy rằng, mẫu đối chứng (mẫu không bổ sung) không có mùi oxy hoá có thể nhận thấy sau khi bảo quản trong tủ lạnh trong 20 ngày, nhưng có mùi oxy hoá khi bảo quản ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ thường. Bằng cách kết hợp với hạt cà phê rang được lên men với lượng 1% trọng lượng và cao hơn, mùi oxy hoá có thể bị ức chế (che đi), và mùi oxy hoá không nhận thấy khi hạt cà phê rang được lên men được kết hợp với lượng 5% trọng lượng; đặc biệt trong trường hợp chúng được kết hợp với lượng 30% trọng lượng và cao hơn, tất cả những người tham gia thử nghiệm đều trả lời rằng họ không cảm nhận thấy bất kỳ mùi oxy hoá nào. Từ các kết quả này, nhận thấy rằng bằng cách kết hợp với hạt cà phê rang được lên men với lượng sao cho etyl isovalerat có mặt với hàm lượng 10 ppb (thể tích/trọng lượng) và cao hơn, mùi oxy hoá của hạt cà phê rang có thể được ức chế (che đi), và mùi oxy hoá hầu như không nhận thấy khi hạt cà phê rang được lên men được kết hợp để tạo ra hàm lượng etyl isovalerat bằng 30ppb (thể tích/trọng lượng) và cao hơn.

[Bảng 4]

	Điều kiện bảo quản		
	5°C x 20 ngày	37°C x 20 ngày	55°C x 6 ngày

Mẫu không bổ sung	0	2,0	2,5
Mẫu được trộn 1%	0	1,6	1,5
Mẫu được trộn 5%	0	0,6	0,5
Mẫu được trộn 30%	0	0	0
(Điểm đánh giá mùi oxy hoá) Có thể nhận thấy, mạnh (3,0); có thể nhận thấy, rõ ràng (2,0); có thể nhận thấy, nhẹ (1,0); không có thể nhận thấy (0)			

2. Đánh giá cảm quan chiết phẩm cà phê

Tiếp theo, chiết phẩm cà phê được thu từ các mẫu hạt cà phê rang nêu trên chứa hạt cà phê rang được lên men (chứa etyl isovalerat) và mẫu đối chứng (mẫu không bổ sung) của hạt cà phê rang, mỗi loại được bảo quản ở nhiệt độ 5°C và 55°C (6 ngày bảo quản), và các chiết phẩm này được đưa qua đánh giá cảm quan bằng thử nghiệm bằng cốc. Để tạo ra chiết phẩm cà phê, hạt cà phê xay được đưa vào máy xay cà phê có trên thị trường (tên sản phẩm: BONMAC; Model No. BM570N) và được xay đến mức trung bình (mặt số trên máy xay cà phê được để ở mức trung bình) và, sau đó, rót 65g nước sôi lên 5g hạt cà phê đã xay (bột cà phê) để chiết theo cách thông thường. Chiết phẩm cà phê thu được được đánh giá cảm quan (thử nghiệm bằng cốc) bởi bốn chuyên gia tham gia vào thử nghiệm. Trong đánh giá này, chiết phẩm cà phê thu được từ hạt cà phê rang (mẫu không bổ sung) trước khi bảo quản được sử dụng làm mẫu đối chứng, và mẫu ưa thích so với mẫu đối chứng (về hương thơm cà phê và mức độ đậm của cà phê) được đánh giá trên thang điểm 5, và tính trung bình các điểm số. Ngoài ra, độ mạnh của vị do chất lượng hạt cà phê rang bị giảm (mùi biến chất: độ mạnh của mùi oxy hoá và vị chất của dư vị) được đánh giá trên thang điểm 4, và tính trung bình các điểm số.

Các kết quả đánh giá mẫu ưa thích được thể hiện trong bảng 5. Khi hạt cà phê rang được lên men được kết hợp với tỷ lệ 5% trọng lượng và cao hơn, hương thơm của cà phê sẽ mạnh dần theo mức bổ sung tăng của chúng, với kết quả là đem lại độ đậm cho cà phê. Cụ thể, hương đầu có hương thơm ngào ngạt. Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C, tất cả các mẫu hạt cà phê rang đều bị giảm chất lượng cả về hương thơm và độ đậm của cà phê; tuy nhiên, các mẫu từ hạt cà phê rang được kết hợp với hạt cà phê rang được lên men với lượng 5% trọng lượng và cao hơn đáp ứng yêu cầu cảm quan vì

chúng có hương thơm và độ đậm ít nhất là ngang bằng với hương thơm và độ đậm của mẫu không bổ sung trước khi bảo quản.

[Bảng 5]

	Hương thơm cà phê		Độ đậm cà phê	
	5°C x 6 ngày	55°C x 6 ngày	5°C x 6 ngày	55°C x 6 ngày
Mẫu không bổ sung	0	-1,0	0	-1,0
Mẫu được trộn 1%	0	-1,0	0	-1,0
Mẫu được trộn 5%	1	0,5	1	0,5
Mẫu được trộn 30%	2	1,0	2	1,0
(Các điểm số đánh giá)				
Mạnh (2,0); khá mạnh (1,0); không thay đổi (0); khá yếu (-1); yếu (-2)				

Các kết quả đánh giá sự giảm chất lượng hương thơm được thể hiện trong bảng 6, từ bảng này rõ ràng là giống như trong đánh giá hương thơm hạt cà phê rang (bảng 4), mẫu không bổ sung (đối chứng) của chiết phẩm cà phê cũng có mùi biến chất có thể nhận thấy (mùi oxy hóa và vị chát của dư vị) do chất lượng bị giảm; mặt khác, mẫu được trộn 1% được ức chế mùi biến chất so với mẫu không bổ sung, và mùi biến chất của mẫu được trộn 5% hầu như không nhận thấy; cụ thể là, tất cả chuyên gia tham gia thử nghiệm đều trả lời rằng họ không thấy mùi biến chất ở mẫu được trộn 30%.

[Bảng 6]

	Mùi oxy hóa		Vị chát của dư vị	
	5°C x 6 ngày	55°C x 6 ngày	5°C x 6 ngày	55°C x 6 ngày
Mẫu không bổ sung	0	2,3	0	2,5
Mẫu được trộn 1%	0	1,5	0	1,8
Mẫu được trộn 5%	0	0,5	0	0,5
Mẫu được trộn 30%	0	0,0	0	0,0
(Điểm số đánh giá mùi oxy hóa)				
Có thể nhận thấy, mạnh (3,0); có thể nhận thấy, rõ ràng (2,0); có thể nhận thấy, nhẹ (1,0); không có thể nhận thấy (0)				

Từ các kết quả trên đây, có thể thấy rằng để ức chế sự phát triển mùi oxy hóa trong quá trình bảo quản kéo dài hạt cà phê rang, sẽ có hiệu quả nếu kết hợp hạt cà phê

rang được lên men với lượng 1% trọng lượng và cao hơn sao cho ethyl isovalerat có mặt với hàm lượng 10ppb và cao hơn, và tốt hơn là kết hợp hạt cà phê rang được lên men với lượng 5% trọng lượng và cao hơn sao cho ethyl isovalerat có mặt với hàm lượng 30ppb và cao hơn.

Ví dụ 5: Thử nghiệm bảo quản hạt cà phê rang (3)

Hạt cà phê rang được lên men được tạo ra (mẫu 4) trong ví dụ 2 được kết hợp với hạt cà phê rang sử dụng trong ví dụ 4, với lượng sao cho hàm lượng mẫu 4 là 30% trọng lượng so với tổng lượng hạt cà phê (hàm lượng ethyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê: 10,2ppb). Hỗn hợp thu được được đưa qua thử nghiệm bảo quản ở nhiệt độ 55°C như trong ví dụ 4. Hạt cà phê rang không kết hợp với hạt cà phê lên men (lượng ethyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê: 0ppb) cũng được đưa qua thử nghiệm bảo quản làm mẫu đối chứng.

Sau khi bảo quản, hương thơm của hạt cà phê rang được đánh giá và chiết phẩm cà phê thu được từ hạt cà phê này cũng được đánh giá bằng thử nghiệm bằng cốc, cả hai đánh giá này đều được tiến hành như trong ví dụ 4. Hạt cà phê kết hợp với hạt cà phê rang được lên men được ức chế đáng kể mùi oxy hóa so với mẫu không bổ sung của hạt cà phê, và các kết quả của thử nghiệm bằng cốc được thể hiện dưới đây: hạt cà phê kết hợp với hạt cà phê rang được lên men làm tăng các đặc tính mùi vị ưa thích của cà phê (tức là, hương thơm, độ đậm, và dư vị kéo dài) và có khả năng ức chế các mùi vị không dễ chịu (vị chát và mùi oxy hóa) mà kèm theo là sự giảm chất lượng từ quá trình bảo quản; tất cả các chuyên gia tham gia vào thử nghiệm đều trả lời rằng họ rất thích đồ uống cà phê được pha từ hạt cà phê kết hợp với hạt cà phê lên men.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hạt cà phê rang trong đồ chứa, chứa etyl isovalerat, trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb và thấp hơn hoặc bằng 200ppb.
2. Hạt cà phê rang trong đồ chứa, bao gồm hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat, trong đó tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10ppb và thấp hơn hoặc bằng 200ppb.
3. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm 1 hoặc 2, trong đó đồ chứa này chứa hạt cà phê rang ở dạng chúng được cho tiếp xúc với không khí.
4. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat là hạt cà phê rang được lên men mà được đưa qua quá trình lên men và rang.
5. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm 4, trong đó tỷ lệ của hạt cà phê rang được lên men so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 1% trọng lượng.
6. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm 4 hoặc 5, trong đó tỷ lệ của hạt cà phê rang được lên men so với tổng lượng hạt cà phê là thấp hơn hoặc bằng 50% trọng lượng.
7. Hạt cà phê rang trong đồ chứa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 4 đến 6, trong đó hạt cà phê rang được lên men chứa etyl axetat ở hàm lượng cao hơn hoặc bằng 5ppm và/hoặc etanol ở hàm lượng cao hơn hoặc bằng 500ppm.
8. Quy trình sản xuất hạt cà phê rang bao gồm bước xử lý hạt cà phê rang sao cho chúng bao gồm hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat, và sao cho tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10 ppb và thấp hơn hoặc bằng 200 ppb.
9. Phương pháp bảo quản hạt cà phê rang trong không khí, bao gồm bước xử lý hạt cà phê rang sao cho chúng bao gồm hạt cà phê rang chứa etyl isovalerat, và sao cho tỷ lệ etyl isovalerat so với tổng lượng hạt cà phê là cao hơn hoặc bằng 10 ppb và thấp hơn hoặc bằng 200 ppb.