

## تهیه‌ی جانشین کره‌ی کاکائو و شکلات از روغن بذرچای استریفیه شده

سهیلا زرین قلمی<sup>1</sup>، محمدعلی سحری<sup>2\*</sup>، محسن برزگر<sup>3</sup>، زهره حمیدی اصفهانی<sup>3</sup>

1- دانشجوی دوره‌ی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

2- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

3- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: 88/1/10 تاریخ پذیرش: 88/3/26)

### چکیده

به منظور تهیه‌ی جانشین کره‌ی کاکائو، روغن بذرچای هیدروژنه (دمای 180 درجه‌ی سانتی‌گراد، دور همزن، 350 دور در دقیقه و میزان 0/4 درصد وزن روغن کاتالیست نیکل) و جزء جامد به‌دست آمده از روش جزء به جزء سازی روغن بذرچای (دمای 20- درجه‌ی سانتی‌گراد، دور سانتریفیوژ 10000 g و زمان 5-10 دقیقه) با نسبت 70:30 مخلوط شده و تحت فرایندهای اصلاحی استریفیه‌کردن شیمیایی و آنزیمی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نقطه‌ی ذوب و گونه‌های تری‌آسیل‌گلیسرول در روغن استریفیه شده به روش آنزیمی، به کره‌ی کاکائو نزدیک‌تر است. این روغن با درصد‌های مختلف (5، 10، 15 و 20) با کره‌ی کاکائو جانشین گردید و شکلات تهیه شد. نتایج آماری نشان داد که سختی شکلات‌های تهیه شده از 5 و 10 درصد روغن استریفیه شده در مقایسه با سایر نمونه‌ها به شکلات شاهد (دارای 100 درصد کره‌ی کاکائو) نزدیک‌تر است. همچنین بررسی سپیدک شکلات و ویژگی‌های حسی مشخص کرد که با افزودن 10 درصد روغن استریفیه شده به فرمول شکلات (3/5 درصد محصول نهایی)، میزان تشکیل سپیدک کاهش یافته و در ویژگی‌های حسی (به جز بافت) تغییر معناداری ایجاد نمی‌شود.

**کلید واژگان:** استریفیه کردن شیمیایی و آنزیمی، روغن بذرچای، جانشین کره‌ی کاکائو، شکلات

### 1- مقدمه

استئارین (POS) و 1 و 3- دی استئارین، 2- اولئین (SOS) است که بسته به منطقه‌ی کشت گیاه کاکائو به ترتیب به میزان تقریبی 21، 44 و 24 درصد از کل تری‌آسیل‌گلیسرول‌های کره‌ی کاکائو را تشکیل می‌دهد. آرایش منظم تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها در کره‌ی کاکائو سبب شده که استفاده از این ماده‌ی با ارزش، در فرمول شکلات اجتناب‌ناپذیر باشد [2، 3].

اما به دلیل منابع محدود کره‌ی کاکائو و تقاضای فراوان بازار و در نتیجه افزایش قیمت آن و همچنین گسترش

بیش از صد سال است که در بیشتر کشورها شکلات به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و طعم مطلوب، یکی از پرطرفدارترین مواد غذایی محسوب می‌شود. یکی از ویژگی‌های فیزیکی مؤثر در طعم شکلات، ذوب شدن سریع آن در دهان و سخت و شکننده بودن آن در دمای اتاق است [1]. این ویژگی منحصر به فرد، به دلیل ترکیب تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها در کره‌ی کاکائو است. بیشتر آرایش تری‌آسیل‌گلیسرول‌های کره‌ی کاکائو به صورت 1 و 3- دی‌پالمیتین، 2- اولئین (POP)، 1- پالمیتین، 2- اولئین-3-

\* مسئول مکاتبات: [sahari@modares.ac.ir](mailto:sahari@modares.ac.ir)

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد اولیه

- بذر چای از ایستگاه تحقیقاتی فشالم در استان گیلان تهیه شد.

- کره‌ی کاکائو (تولید کشور مالزی)، پودر کاکائو و لستین از کارخانه‌ی مینو و پودر قند از یکی از فروشگاه‌های مواد غذایی تهیه شد.

- آنزیم ترمومایسس لانوگینوسوز تثبیت شده بر گرانول‌های سیلیکا<sup>1</sup> از شرکت نووزایمز<sup>2</sup> تهیه شد.

- استانداردهای تری آسیل گلیسرول از شرکت لارودان<sup>3</sup> کشور سوئد تهیه شد.

### 2-2- استخراج روغن

بذرهای چای پس از خشک شدن (رطوبت=12 درصد) و پوست‌گیری، در آسیاب با دور بالا به‌طور کامل خرد شد. مقدار معینی از بذرچای آسیاب شده داخل کارتوش (صافی مخصوص استخراج روغن) ریخته شد و روغن با استفاده از حلال هگزان به روش غرقابی استخراج شد [9]. برای جداسازی حلال از روغن، از تبخیرکننده‌ی چرخان تحت خلأ<sup>4</sup> استفاده گردید. روغن به دست آمده تا انجام آزمایش‌های بعدی، در دمای 24- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

### 2-3- جزء به جزء سازی روغن بذرچای

مقداری از روغن بذر چای درون دستگاه سرد و گرم کننده<sup>5</sup> با دمای 20- درجه‌ی سانتی‌گراد (به دلیل نقطه‌ی ذوب زیر صفر درجه‌ی سانتی‌گراد روغن بذرچای) در حال هم زدن متناوب به مدت 4 ساعت قرار داده شد. سپس دو فاز مایع و جامد به دست آمده، توسط سانتریفوژ با دور 10000 g در دمای 20- درجه‌ی سانتی‌گراد جداسازی شد [11، 12].

### 2-4- هیدروژنه کردن روغن بذرچای

هیدروژنه کردن روغن بذر چای تحت شرایط واکنش: دمای 180 درجه‌ی سانتی‌گراد، دور همزن، 350 دور در دقیقه و میزان

روش‌های اصلاحی چربی‌ها و روغن‌های خوراکی، امروزه جانشین‌های کره‌ی کاکائو از روغن‌ها و چربی‌های ارزان قیمت و در دسترس تهیه و به بازار عرضه می‌شوند [4، 5].

گیاه چای به دو صورت نوشیدنی و زیتنی وجود دارد. در نوع نوشیدنی، علاوه بر برگ‌ها، مقدار زیادی بذر به عنوان فرآورده‌ی جانبی تشکیل می‌شود. این در حالی است که این بذرها دارای مقادیر زیادی روغن (حدود 24-32 درصد، بسته به گونه و منطقه‌ی کشت گیاه چای) با کیفیت تغذیه‌ای بالا هستند. به همین دلیل امروزه بسیاری از چای‌کاران به‌ویژه در چین و ژاپن، گونه‌های مختلف چای را به‌منظور تولید بذر و استفاده از روغن آن کشت می‌دهند. در این کشورها روغن بذر چای به دلیل درصد بالای اسیدهای چرب غیراشباع و داشتن مواد ضداکسایش طبیعی (پلی‌فنل‌ها، کاروتنوئیدها و کاتشین) به مقدار زیاد، یکی از با ارزش‌ترین روغن‌ها از نظر تغذیه‌ای (روغن فراسودمند) محسوب می‌شود. همچنین در کشور چین سال‌های متمادی است که از روغن بذر چای برای درمان بیماری‌های گوارشی و بهبود زخم‌های حاصل از سوختگی استفاده می‌شود [6، 7، 8].

همچنین پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که روغن بذر چای ماده‌ی اولیه‌ی مناسب برای تهیه‌ی مارگارین بوده و به دلیل میزان زیاد مواد ضداکسایش طبیعی، استفاده از این روغن به میزان 5 درصد، در افزایش زمان نگهداری روغن‌های غیراشباع و فسادپذیر از جمله روغن ماهی مؤثر است [9، 10].

با توجه به ویژگی‌های ذکر شده در ارتباط با روغن بذر چای و با در نظر گرفتن این نکته که در مناطق شمالی کشور، سطح وسیعی از زمین‌ها به کشت گیاه چای اختصاص داده شده است و هر سال مقدار زیادی بذر چای که منبع خوبی از روغن خوراکی مفید است بدون استفاده می‌ماند، بنابراین در این تحقیق روغن بذر چای تحت روش‌های اصلاحی استریفیه کردن شیمیایی و آنزیمی قرار گرفت و ماده‌ی به‌دست آمده با کره‌ی کاکائو در شرایط آزمایشگاه و صنعت (استفاده در فرمول شکلات) مقایسه شد و امکان استفاده از روغن بذر چای اصلاح شده به عنوان جایگزین مناسب برای کره‌ی کاکائو، در فرمول شکلات مورد بررسی قرار گرفت.

1. Immobilized *Thermomyces lanuginosus*  
2. Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark  
3. Larodan Fine Chemicals AB; Malmo, Sweden  
4. Rotary evaporator (Heidolph, Germany)  
5. Cold/Heat Test chamber (Binder, Germany)

کریستال‌های اولیه شکل بگیرند. سپس برای از بین رفتن کریستال‌های نامطلوب، مخلوط دوباره تا دمای 31-32 درجه‌ی سانتی‌گراد حرارت داده شد (مشروط‌کردن دمایی<sup>2</sup>). سپس شکلات مایع به قالب‌های پلاستیکی منتقل شد و در دمای 10 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 12 ساعت نگهداری گردید. سپس نمونه‌های شکلات جامد در پوشش آلومینیومی بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی، در دمای یخچال نگهداری شد [16].

## 2-8- آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی

نقطه‌ی ذوب نمونه‌های روغن با روش لوله‌ی موئین بسته تعیین شد [17].

برای تعیین گونه‌های تری‌آسیل‌گلیسرول در نمونه‌های روغن، از دستگاه کروماتوگراف مایع با کارایی بالا با فاز معکوس<sup>3</sup>، مجهز به آشکارساز ضریب شکست<sup>4</sup> ستون لیکروسفر<sup>5</sup> (طول 25 متر، قطر داخلی 4 میلی‌متر و اندازه‌ی ذرات 4 میکرومتر) استفاده شد. فاز متحرک، ترکیبی از حلال‌های استن و استونیتریل با نسبت حجمی 60 به 40 و با سرعت 0/6 میلی‌لیتر در دقیقه انتخاب شد. دمای ستون و آشکارساز به ترتیب 35 و 40 درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد. مقدار 5 درصد روغن در کلروفرم حل و به میزان 10 میکرولیتر به دستگاه تزریق گردید. شناسایی گونه‌های تری‌آسیل-گلیسرول نمونه‌های روغن با مقایسه‌ی زمان بازداری<sup>6</sup> آن‌ها با استانداردهای تری‌آسیل‌گلیسرول انجام گرفت.

بافت یا سختی نمونه‌های شکلات (ابعاد تقریبی 10×25×50 میلی‌متر) توسط دستگاه بافت سنج<sup>7</sup>، مجهز به سمبه‌ی ته صاف 1/6 میلی‌متری (قطر نمونه باید حداقل 3 برابر قطر سمبه باشد) و سرعت نفوذ 1/5 میلی‌متر بر ثانیه اندازه‌گیری شد و نیروی بیشینه در عمق 6 میلی‌متر به‌عنوان سختی نمونه‌ها گزارش شد. قبل از انجام آزمایش، نمونه‌های شکلات به مدت 2 ساعت در دمای 20 درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت [18].

برای بررسی تشکیل سپیدک، نمونه‌های شکلات طی مدت زمان 20 روز در دوره‌ی دمایی 30 و 18 درجه‌ی سانتی‌گراد به ترتیب به مدت 8 و 16 ساعت قرار گرفتند. پس از هر دوره‌ی دمایی،

0/4 درصد وزنی کاتالیست نیکل، در پایلوت کارخانه پارس قو، تهران، انجام شد.

## 2-5- استریفیه‌کردن شیمیایی روغن بذرچای

مخلوط روغن هیدروژنه و جزء جامد جدا شده در واکنش جزء به جزء سازی با نسبت 70:30 درون بالن دستگاه تبخیرکننده‌ی چرخان تحت خلأ در دمای 95 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت حرارت داده شد تا رطوبت و هوای اضافی موجود در آن خارج گردد. سپس مقدار 1 درصد (وزنی-وزنی) هیدروکسیدسدیم به عنوان کاتالیست به مخلوط اضافه و واکنش استریفیه‌شدن به مدت 30 دقیقه در دمای 120 درجه‌ی سانتی‌گراد (برای ایجاد دمای 120 درجه، از پارافین مایع استفاده گردید) انجام شد. برای متوقف کردن واکنش از محلول 20 درصد (وزنی-وزنی) اسیدسیتریک به میزان 2 درصد (حجمی-حجمی) استفاده شد. روغن استریفیه شده چندین بار با آب مقطر داغ در قیف جدا کننده (دکانتور) شسته شد. سپس لایه‌ی روغنی دوباره به مدت 30 دقیقه تحت خلأ حرارت داده شد تا به‌طور کامل خشک شود [9، 13، 14].

## 2-6- استریفیه‌کردن آنزیمی روغن بذرچای

مخلوط روغن هیدروژنه و جزء جامد با نسبت 70:30 درون ظروف درب‌پیچ‌دار ریخته شد و با آنزیم لپاز به‌دست آمده از ترمومایسس لانوگینوسوز تحت شرایط واکنش: 10 درصد وزنی آنزیم، دمای 60 درجه‌ی سانتی‌گراد، دور همزن 700 دور در دقیقه (استفاده از آهن‌ربا و گرم‌کننده‌ی برقی) و زمان 8 ساعت استریفیه شد [15].

## 2-7- تهیه‌ی نمونه‌های شکلات تیره

برای تهیه‌ی نمونه‌های شکلات، 50 درصد پودر قند آسیاب شده، 35 درصد کره‌ی کاکائو، جانشین تهیه شده از روغن بذرچای با نسبت‌های 5، 10، 15 و 20 درصد کره‌ی کاکائو و 14 درصد پودر کاکائو در دمای 60 درجه‌ی سانتی‌گراد و با سرعت 200 دور در دقیقه به مدت 20 دقیقه مخلوط شدند. سپس لستین سویا (0/5 درصد) به مخلوط افزوده و مخلوط به مدت 20 دقیقه‌ی دیگر با همان شرایط هم‌زده شد (ورزدادن<sup>1</sup>). سپس مخلوط تا دمای 28-29 درجه‌ی سانتی‌گراد در طی مدت زمان 20 دقیقه سرد شد تا

1. Conching

2. Tempering

3. HPLC (Younglin, Acme 9000)

4. Refractive index (RI)

5. Lichrosphere (RP-18 column)

6. Retention time

7. Instron universal testing machine (model H 25K-S, UK)

آنزیمی مقدار آن به ترتیب به حدود 0/41 و 11/15 درصد افزایش پیدا می‌کند. همچنین بعد از استریفیه کردن 1-پالمیتین، 2-اولئین، 3-استتارین، 1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-اولئین و بعضی از گونه‌های دیگر که در جزء جامد وجود نداشته اما در ترکیب تری‌آسیل‌گلیسرول‌های کره‌ی کاکائو مشاهده می‌شود (1-پالمیتین، 2-لینولئین، 3-استتارین و 1 و 2-دی‌اولئین 3- استتارین) ایجاد شدند. اما گونه‌های تری‌آسیل‌گلیسرول در نمونه‌ی استریفیه شده به روش آنزیمی نسبت به نوع شیمیایی به کره‌ی کاکائو نزدیک‌تر است. در نمونه‌ی استریفیه شده به روش آنزیمی تری‌آسیل‌گلیسرول‌های اصلی کره‌ی کاکائو (1-پالمیتین، 2-اولئین، 3-استتارین، 1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-اولئین و 1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-اولئین) به ترتیب با مقادیر 11/15، 17/42 و 10/73 درصد مشاهده می‌شود. نتیجه‌ی مشابه در سال 2009 از استریفیه کردن آنزیمی روغن زیتون برای تهیه‌ی چربی مشابه با کره‌ی کاکائو به دست آمد و میزان تری‌آسیل‌گلیسرول‌های اصلی کره‌ی کاکائو از 1/05، 1/2 و 1/1 درصد در روغن زیتون به 19/7، 11/9 و 10/9 درصد در روغن استریفیه شده افزایش پیدا کرد [21].

مطابق نتایج جدول 1، در نمونه‌ی استریفیه شده به روش شیمیایی میزان 1 و 3-دی‌استتارین، 2-اولئین بسیار کمتر از مقدار آن در کره‌ی کاکائو بوده و همچنین عکس ترکیب تری‌آسیل‌گلیسرول‌های کره‌ی کاکائو مقدار آن از 1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-اولئین در خود نمونه نیز کمتر است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استریفیه کردن به روش آنزیمی برای تهیه‌ی جانشین کره‌ی کاکائو روش مناسب‌تری از نوع شیمیایی است. این امر به دلیل اثر انتخابی آنزیم بر موقعیت‌های 1 و 3 تری‌آسیل‌گلیسرول بوده که نسبت به نوع شیمیایی که اسیدهای چرب در بین 3 موقعیت مختلف به صورت کاملاً تصادفی توزیع می‌شوند، فرآورده‌های جانبی کمتری تولید می‌کند [22].

$L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  (به ترتیب بیانگر شدت روشنایی، قرمزی و زردی)، توسط دستگاه رنگ‌سنج هانترلب<sup>1</sup> تعیین و شاخص سفیدی<sup>2</sup> به عنوان نشانه‌ی پیشرفت در تشکیل سپیدک در نمونه‌های شکلات، از فرمول زیر محاسبه شد [19]:

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های شکلات شامل بافت، رنگ، طعم و بو، تراوش روغن، ذوب شدن در دهان و پذیرش کلی توسط 30 ارزیاب آموزش دیده و با آزمون هدونیک 5 نقطه‌ای انجام گرفت. نمونه‌ها در هر یک از ویژگی‌های فوق بر اساس معیارهای عالی، خوب، متوسط، بد و بسیار بد با به ترتیب امتیاز 5، 4، 3، 2 و 1 مورد ارزیابی قرار گرفتند.

### 9-2- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در مورد ارزیابی آماری آزمون حسی، از آزمون فریدمن<sup>3</sup> استفاده گردید.

## 3- نتایج و بحث

### 3-1- نتایج تعیین نقطه‌ی ذوب و گونه‌های تری

#### آسیل‌گلیسرول در نمونه‌های روغن

نتایج تعیین نقطه‌ی ذوب و گونه‌های تری‌آسیل‌گلیسرول در جزء جامد، نمونه‌های استریفیه شده به روش شیمیایی و آنزیمی و کره‌ی کاکائو در جدول 1 آمده است. مطابق این نتایج، 1-پالمیتین، 2-اولئین، 3-استتارین (POS)، 1 و 3-دی‌استتارین، 2-اولئین (SOS) و 1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-اولئین (POP) به ترتیب با مقادیر حدود 43/18، 29/92 و 17/48 درصد، گونه‌های اصلی تری‌آسیل‌گلیسرول در کره‌ی کاکائو را تشکیل می‌دهند. مطالعه‌های مختلف انجام شده نیز نتایج مشابه را گزارش کرده‌اند [1، 2، 20]. در بین گونه‌های اصلی تری‌آسیل‌گلیسرول کره‌ی کاکائو فقط 1 و 3-دی‌استتارین، 2-اولئین به مقدار 0/14 درصد در جزء جامد مشاهده می‌شود. اما بعد از استریفیه کردن به روش شیمیایی و

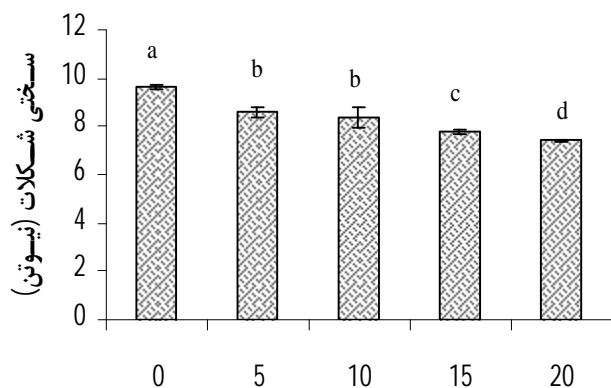
1. HunterLab (Hunter Associated Lab, Inc., Reston, Virginia, USA)  
2. Whiteness Index (WI)  
3. Friedman

جدول 1 نقطه‌ی ذوب و گونه‌های تری‌آسیل‌گلیسرول در جزء جامد، نمونه‌های استریفیه شده به روش شیمیایی و آنزیمی و کره‌ی کاکائو

کره‌ی کاکائو	نمونه‌ی 2	نمونه‌ی 1*	جزء جامد	تری‌آسیل‌گلیسرول (درصد)
1/66±0/02 <sup>d</sup>	3/19±0/07 <sup>b</sup>	2/40±0/32 <sup>c</sup>	29/16±0/02 <sup>a</sup>	1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-لینولین (PLP)
0/62±0/04 <sup>d</sup>	14/82±0/04 <sup>c</sup>	27/60±0/14 <sup>a</sup>	20/71±0/01 <sup>b</sup>	تری‌اولئین (OOO)
2/21±0/02 <sup>c</sup>	6/30±0/42 <sup>b</sup>	24/66±0/13 <sup>a</sup>	-	1-پالمیتین، 2-لینولین، 3-استارین (PLS)
17/48±0/02 <sup>a</sup>	10/73±0/04 <sup>b</sup>	7/29±0/42 <sup>c</sup>	-	1 و 3-دی‌پالمیتین، 2-اولئین (POP)
1/86±0/01 <sup>b</sup>	4/81±0/13 <sup>a</sup>	1/97±0/07 <sup>b</sup>	-	1 و 2-دی‌اولئین، 3-استارین (SOO)
43/18±0/07 <sup>a</sup>	17/42±0/06 <sup>b</sup>	7/40±0/57 <sup>c</sup>	-	1-پالمیتین، 2-اولئین، 3-استارین (POS)
29/92±0/12 <sup>a</sup>	11/15±0/07 <sup>b</sup>	0/41±0/12 <sup>c</sup>	0/14±0/04 <sup>d</sup>	1 و 3-دی‌استارین، 2-اولئین (SOS)
0/09±0/02 <sup>d</sup>	31/58±0/21 <sup>b</sup>	28/28±0/52 <sup>c</sup>	49/99±0/15 <sup>a</sup>	سایر
31/43 ± 0/12 <sup>b</sup>	32/03 ± 0/06 <sup>a</sup>	30/03±0/06 <sup>c</sup>	-	نقطه‌ی ذوب

\* نمونه‌ی 1: روغن استریفیه شده به روش شیمیایی. نمونه‌ی 2: روغن استریفیه شده به روش آنزیمی مقادیر موجود در جدول بیانگر میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد به دست آمده از 3 بار تکرار بوده و حروف کوچک لاتین بالای داده‌ها در هر سطر، نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد است.

پایین‌تر بودن میزان چربی جامد<sup>2</sup> در روغن استریفیه شده در مقایسه با کره‌ی کاکائو است [23].



#### درصد جایگزینی کره کاکائو با روغن استریفیه شده

نمودار 1 اثر درصد جایگزینی کره‌ی کاکائو با روغن استریفیه

شده بر سختی نمونه‌های شکلات

مقادیر نشان داده شده در نمودار بیانگر میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد به دست آمده از 3 بار تکرار بوده و علامت بالای داده‌ها نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد است.

در بین نمونه‌های شکلات تهیه شده از درصدهای مختلف روغن استریفیه شده، نمونه‌های دارای 5 و 10 درصد از این

نتایج بررسی نقطه‌ی ذوب نیز نشان می‌دهد که نمونه‌ی استریفیه شده به روش آنزیمی در مقایسه با نوع شیمیایی دارای نقطه‌ی ذوب نزدیک‌تر (32/03 ± 0/06) به کره‌ی کاکائو (0/12 ± 31/43) است (جدول 1).

بنابراین نمونه‌ی استریفیه شده به روش آنزیمی به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد و با درصدهای مختلف [5، 10، 15، 20] درصد (جانشین کره‌ی) در فرمول شکلات تیره استفاده گردید. سپس ویژگی‌های کیفی (سختی و تشکیل سپیدک) و حسی (بافت، رنگ، طعم و بو، تراوش روغن<sup>1</sup>، ذوب‌شدن در دهان و پذیرش- کلی) شکلات‌های تهیه شده با این درصدها، با شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو (نمونه‌ی شاهد) مقایسه شد.

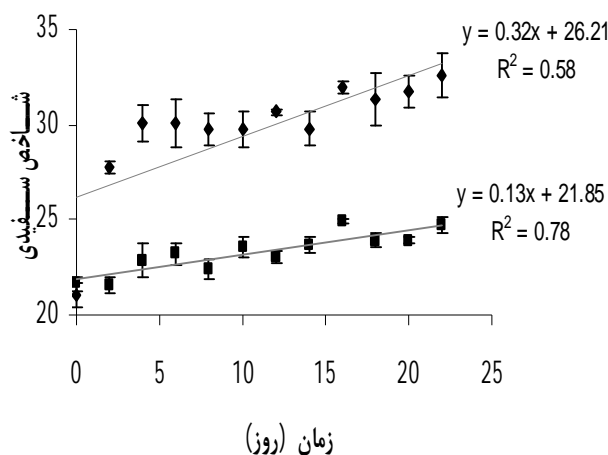
#### 3-2- نتایج ارزیابی میزان سختی نمونه‌های

#### شکلات

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری میزان سختی (به عنوان یک ویژگی کیفی مهم) نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و روغن استریفیه شده (با نسبت‌های جایگزینی 5، 10، 15 و 20 درصد کره‌ی کاکائو) در نمودار 1 مشخص شده است. مطابق نتایج این نمودار، نمونه‌ی شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو بالاترین میزان سختی را نشان می‌دهد و با افزایش میزان درصد روغن استریفیه شده، سختی نمونه‌های شکلات کاهش پیدا می‌کند. این امر احتمالاً به دلیل کمتر بودن اسیدهای چرب اشباع و در نتیجه

2. Solid fat content

1. Oil off



روغن، سختی بیشتری از بقیه داشته و اختلاف آماری معناداری با هم ندارند (سطح 5 درصد). بنابراین نمونه‌ی دارای 10 درصد روغن استریفیه شده (3/5 درصد محصول نهایی) برای تهیه‌ی نمونه‌های شکلات و بررسی سایر ویژگی‌ها انتخاب شد.

### 3-3- نتایج بررسی تشکیل و گسترش سپیدک

#### در نمونه‌های شکلات

نمودار 2، تشکیل و گسترش سپیدک را در طی مدت زمان 20 روز نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار 2 مشخص شده است، میزان ضریب تشخیص ( $R^2$ )، برای نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و روغن استریفیه شده (10 درصد) به ترتیب 0/78 و 0/58 است که بیانگر وجود رابطه‌ی خطی در تشکیل سپیدک شکلات در طی مدت زمان آزمایش نمونه‌های شکلات است. در سال 1994، لوهمان و هارتل نیز گزارش کرده‌اند که تشکیل سپیدک در شکلات تیره به صورت یک تابع خطی است [19]. اما در سال 2002، اسپورن و آکوه بیان کردند که تشکیل سپیدک در شکلات همیشه به صورت یک تابع خطی نیست و با توجه به فرمول و شرایط تهیه‌ی شکلات می‌تواند خطی یا غیر خطی باشد [24]. همچنین داده‌های موجود در نمودار 2 نشان می‌دهد که سپیدک در نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو با مقدار و شدت بیشتری از نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و روغن استریفیه شده ایجاد می‌شود. احتمال می‌رود که این امر به دلیل ساختار کریستالی بیشتر و پیچیده‌تر در نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و روغن استریفیه شده در مقایسه با نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو است [19، 24].

◆ نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو

■ نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و روغن استریفیه شده

نمودار 2 تشکیل و گسترش سپیدک در نمونه‌های شکلات تهیه

شده از کره‌ی کاکائو و کره‌ی کاکائو با روغن استریفیه شده

(10 درصد) طی مدت زمان نگهداری 20 روز

مقادیر نشان داده شده در نمودار بیانگر میانگین داده‌ها  $\pm$  انحراف

استاندارد به دست آمده از 3 بار تکرار است.

البته این نکته قابل ذکر است که سازوکار تشکیل سپیدک به درستی مشخص نشده است. اما عوامل مختلفی از جمله مشروط کردن دمایی نامناسب، سردکردن سریع شکلات بعد از مشروط کردن دمایی و در هنگام قالب‌گیری، افزایش دما و یا نوسان‌های دمایی در طول مدت زمان نگهداری شکلات و ساختارهای کریستالی می‌توانند در تشکیل و گسترش سپیدک در فرآورده‌های شکلاتی، نقش مهمی داشته باشند [16، 19، 25].

### 4-3- نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های شکلات

نتایج ارزیابی حسی در نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و نمونه‌های شکلات تهیه شده از کره‌ی کاکائو و روغن استریفیه شده (10 درصد) در جدول 2 آمده است. این نتایج نشان می‌دهند که نمونه‌های شکلات در هیچ‌یک از ویژگی‌های حسی به جز بافت، اختلاف آماری معنادار (سطح 5 درصد) ندارند. البته با توجه به نتایج این نمودار، قابل ذکر است که تفاوت در بافت، سبب تراوش روغن نشده و در شکل ظاهری و یا پذیرش کلی نمونه‌های شکلات تغییری ایجاد نکرده است.

in supercritical carbon dioxide by lipase. Food Chemistry, 100, 1303–1311.

- [4] Fadel, H.H. M., Mageed, M.A.A., Samad, A.K.M.E.A. and Lotfy S.N. 2006. Cocoa substitute: evaluation of sensory qualities and flavour. European Food Research Technology, 223, 125–131.
- [5] Wang, H. X., Wu, H., Ho, C.T. and Weng, X.C. 2006. Cocoa butter equivalent from enzymatic interesterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. Food Chemistry, 97, 661–665.
- [6] Ravichandran, R. 1993. Fat stability and amino acids in South Indian tea seeds. International Journal of Food Science and Technology, 28, 639-646.
- [7] Sahari, M.A., Ataii, D. and Hamed, M. 2004. Characteristics of tea seed oil in comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. Journal of the American Oil Chemists' Society, 81(6), 585–588.
- [8] Lee, C.P. and Yen, G.C. (2006). Antioxidant activity and bioactive compounds of tea seed (*Camellia oleifera* Abel.) oil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 54(3), 779-784.
- [9] Fattahi-far, E., Sahari, M.A. and Barzegar, M. 2006. Interesterification of tea seed oil and its application in margarine production. Journal of the American Oil Chemists' Society, 83(10), 841–845.
- [10] Fazel, M., Sahari, M.A. and Barzegar, M. 2008. Determination of main tea seed oil antioxidants and their effects on common kila oil. International Food Research Journal, 15, 209–217.
- [11] Mamat, H., NorAini, I., Said, M. and Jamaludin, R. 2005. Physicochemical characteristic of palm oil and sunflower oil blends fractionated at different temperature. Food Chemistry, 91(4), 731–736.
- [12] Jamshidian, M., Sahari, M.A. and Barzegar, M. 2007. Modified milk fat as food ingredient. Journal of Food Science and Technology, 44(3), 338-341.
- [13] Karabulut, I., Turan, S. and Ergin, G. 2004. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. European Food Research and Technology, 218, 224–229.

جدول 2 ارزیابی حسی نمونه‌های شکلات تهیه شده از

کره‌ی کاکائو و کره‌ی کاکائو با روغن استریفیه شده (10 درصد) به روش آزمون فریدمن و ویلکاکسون<sup>1</sup>

ویژگی‌های حسی مورد مقایسه	تعداد میانگین رتبه	جمع رتبه	Z <sup>1</sup>
رنگ	7/50	2/50	-1/00
بافت	7/50	105/0	-3/63*
طعم و بو	4/00	24/00	-0/905
تراوش روغن	1/50	3/00	-1/414
ذوب شدن در دهان	3/00	9/00	-0/447
پذیرش کلی	3/00	12/00	-1/342
	3/00	3/00	

<sup>1</sup>آماره‌ی Z ویلکاکسون.

\* اختلاف معنادار در سطح 5 درصد.

#### 4- منابع

- [1] Segall, S. D., Artz, W.E., Raslan, D.S., Ferraz, V.P. and Takahashi, J.A. 2005. Analysis of triacylglycerol isomers in Malaysian cocoa butter using HPLC–mass spectrometry. Food Research International, 38, 167–174.
- [2] Simoneau, C., Hannaert, P. and Anklam, E. 1999. Detection and quantification of cocoa butter equivalents in chocolate model systems: analysis of triglyceride profiles by high resolution GC. Food Chemistry, 65, 111–116.
- [3] Liu, K.J., Chang, H.M. and Liu, K.M. 2007. Enzymatic synthesis of cocoa butter analog through interesterification of lard and tristearin

1 - Wilcoxon

- chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, 267–276.
- [20] Undurraga, D., Markovits, A. and Erazo, S. 2001. Cocoa butter equivalent through enzymic interesterification of palm oil midfraction. *Process Biochemistry*, 36, 933–939.
- [21] Çiftçi, O.N., Fadiloğlu, S. and Göğüş, F. 2009. Conversion of olive pomace oil to cocoa butter-like fat in a packed-bed enzyme reactor. *Bioresource Technology*, 100, 324–329.
- [22] Abigor, R.D., Marmer, W.N., Fogliab, T.A., Jones, K.C., DiCiccio, R.J., Ashby, R. and Uadia, P.O. 2003. Production of cocoa butter-like fats by the lipase-catalyzed interesterification of palm oil and hydrogenated soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(12), 1193–1196.
- [23] Dimick, P.S. and Manning, D.M. 1987. Thermal and compositional properties of cocoa butter during static crystallization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 64, 1663–1669.
- [24] Osborn, H.T. and Akoh, C.C. 2002. Enzymatically modified beef tallow as a substitute for cocoa butter. *Food Chemistry and Toxicology*, 67(7), 2480–2485.
- [25] Lonchamp, P. and Hartel, R.W. 2006. Surface bloom on improperly tempered chocolate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 159–168.
- [14] Schmidt, S., Hurtová, S., Zemanovič, J., Sekretár, S., Šimon, P. and Ainsworth, P. 1996. Preparation of modified fats from vegetable oil and fully hydrogenated vegetable oil by randomization with alkali catalysts. *Food Chemistry*, 55(4), 343–348.
- [15] Zhang, H., Xu, X., Nilsson, J., Mu, H., Adler-Nissen, J. and Høy, C.E. 2001. Production of margarine fat by enzymatic interesterification with silica-granulated *Thermomyces lanuginosa* lipase in a large scale study. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(1), 57–64.
- [16] Bricknell, J. and Hartel, R. W. 1998. Relation of fat bloom in chocolate to polymorphic transition of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(11), 1609–1615.
- [17] AOAC, Official Methods of Analysis, Washington, USA. 1990. Method No. 920. pp157.
- [18] FarzanMehri, H., Abbasi, S. and Sahari, M.A. 2008. Effect of sugar replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of milk chocolate. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 3(3), 65-82.
- [19] Lohman, M.H. and Hartel, R.W. 1994. Effect of milk fat fractions on fat bloom in dark



## Preparation of cocoa butter replacer and chocolate from esterified tea seed oil

Zarringhalami, S. <sup>1</sup>, Sahari, M. A. <sup>2\*</sup>, Barzegar, M. <sup>3</sup>, Hamidi-Esfehani, Z. <sup>3</sup>

1-ph.D, Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, TMU

2-Professor, of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, TMU

3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, TMU

(Received:88/1/10 Accepted:88/3/26)

In order to produce cocoa butter replacer, the hydrogenated (180 °C temperature, 400 rpm mixing rate and 0.4 percent Ni catalyst) and solid fraction (centrifugation at 10000g for 5-10 min at -20 °C) of tea seed oil, at weight percent ratio of 30:70 was modified by the chemical and enzymatic esterification. The results show that enzymatically esterified sample (EIS) had the melting point and triacylglycerol species closer to those of cocoa butter than chemically interesterified sample. Results also showed that at EIS percentages of 5 and 10, there is less effect on texture of chocolate than other percentages (15 and 20 percent). Based on the results taken from bloom formation and sensory evaluation, adding up to 10 percent of EIS reduces the bloom rate without damaging the sensory attributes in chocolate samples.

**Key words:** Chemical and enzymatic esterification, Tea seed oil, Cocoa butter replacer, Chocolate

---

\*Corresponding author E-Mail address: [sahari@modares.ac.ir](mailto:sahari@modares.ac.ir)