

# 类可可脂的酶法制备工艺优化及性质分析

酉琳娜<sup>1</sup>, 陈焱<sup>1</sup>, 王翔宇<sup>1</sup>, 尚刚<sup>2</sup>, 于燕<sup>3</sup>, 柳湘<sup>3</sup>, 江鑫<sup>1</sup>, 孙承国<sup>2</sup>, 王风艳<sup>1</sup>

(1. 中粮营养健康研究院有限公司, 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 老年营养食品研究北京市工程实验室, 北京 102209; 2. 中粮油脂专业化公司研发中心, 天津 300452; 3. 中粮东海粮油工业(张家港)有限公司, 江苏 张家港 215634)

**摘要:**为制备性质与天然可可脂接近的类可可脂, 以 Lipozyme RM IM 为催化剂, 棕榈油中熔点分提产物和硬脂酸为原料, 在无溶剂条件下进行酶法酯交换反应, 并通过分子蒸馏和溶剂结晶纯化制备类可可脂。对酶法酯交换制备工艺及分子蒸馏和溶剂结晶纯化工艺进行单因素试验优化。同时以天然可可脂为对照, 对制备的类可可脂进行理化性质及结晶性能分析。结果表明: 酶法酯交换工艺的最优条件为底物质量比 1:1、酶添加量 8% (以底物总质量计)、反应温度 70 °C、反应时间 2 h; 分子蒸馏纯化工艺的最优条件为蒸馏温度 210 °C、进料速度 2 mL/min、刮板速度 150 r/min; 以正己烷为溶剂结晶纯化工艺的最优条件为结晶温度 15 °C、结晶时间 18 h。在最优条件下制备的类可可脂各项指标与天然可可脂基本一致, 且二者经调温后均表现出稳定的  $\beta$  结晶趋势。综上, 该工艺适用于性质接近天然可可脂的类可可脂的工业化生产。

**关键词:** 棕榈油中熔点分提产物; 硬脂酸; 类可可脂; 酶法酯交换; 分子蒸馏纯化; 溶剂结晶纯化

中图分类号: TS224; Q814.9 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2024)10-0090-07

## Optimization of enzymatic preparation of cocoa butter equivalent and its property analysis

YOU Linna<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, WANG Xiangyu<sup>1</sup>, SHANG Gang<sup>2</sup>, YU Yan<sup>3</sup>,  
LIU Xiang<sup>3</sup>, JIANG Xin<sup>1</sup>, SUN Chengguo<sup>2</sup>, WANG Fengyan<sup>1</sup>

(1. Beijing Engineering Laboratory of Geriatric Nutrition Food Research, Beijing Key Laboratory of Nutrition & Health and Food Safety, COFCO Nutrition and Health Research Institute Co., Ltd., Beijing 102209, China; 2. COFCO Oils R&D Center, Tianjin 300452, China; 3. COFCO Eastocean Oils & Grains Industries (Zhangjiagang) Co., Ltd., Zhangjiagang 215634, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to prepare the cocoa butter equivalent (CBE) similar to the natural cocoa butter (CB), palm oil mid-fraction and stearic acid were used to prepare CBE through interesterification with Lipozyme RM IM as catalyst in solvent free system. Therewith, molecular distillation and solvent crystallization were employed to purify the reaction product. The single factor experiment was carried out to optimize the process conditions of interesterification reaction, molecular distillation process and solvent crystallization. At the same time, the physicochemical properties and crystallization properties of CBE prepared were analyzed using natural CB as a control. The results showed that the optimal conditions of interesterification reaction were as follows: substrate mass ratio 1:1, enzyme dosage 8% (based on the total mass of the substrates), reaction temperature 70 °C, and reaction time 2 h. The optimal molecular

distillation process conditions were as follows: distillation temperature 210 °C, feeding rate 2 mL/min, wiper rotation speed 150 r/min. The optimal conditions for *n*-hexane solvent crystallization were as follows: crystallization temperature 15 °C and crystallization time 18 h.

收稿日期: 2022-12-16; 修回日期: 2024-05-20

基金项目: 国家重点计划项目(2021YFD2100304)

作者简介: 酉琳娜(1992), 女, 研发专员, 硕士, 研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail) youlinna@cofco.com。

通信作者: 王风艳, 高级工程师, 博士(E-mail) wangfengyan@cofco.com; 孙承国, 高级工程师, 硕士(E-mail) suncg@cofco.com。

The indexes of CBE prepared under these conditions were basically consistent with those of natural CB, and both showed stable  $\beta$  crystallization trend after temperature regulation. In conclusion, the preparation technology had a favorable prospect in the industrial production of the CBE with the similar characteristics of the natural CB.

**Key words:** palm oil mid-fraction; stearic acid; cocoa butter equivalent; enzymatic interesterification; molecular distillation purification; solvent crystallization purification

可可脂(CB)是巧克力制品的重要组成成分,其主要由1,3-二饱和脂肪酸-2-不饱和脂肪酸甘油三酯(SUS)组成,包括1,3-二棕榈酸-2-油酸甘油三酯(POP)、1-棕榈酸-2-油酸-3-硬脂酸甘油三酯(POS)和1,3-二硬脂酸-2-油酸甘油三酯(SOS)<sup>[1]</sup>。CB特殊的甘油三酯组成赋予其独特的物理性质,其在室温下为固体,在口中可迅速熔化<sup>[2]</sup>。然而天然CB的供应量不足以满足日渐增长的需求<sup>[3-4]</sup>,因此对可可脂替代品(CBA)的研究随之增加。

一般来讲,CBA可分为代可可脂和类可可脂(CBE)两类,代可可脂可分为月桂酸型代可可脂(CBS)和非月桂酸型代可可脂(CBR)。其中,CBE具有与天然CB相似的甘油三酯组成及物理性质,且可以以任意比例与CB混合使用,受到了更多的青睐和关注。目前,制备的CBE的技术主要有物理法及酯交换法两种。其中:物理法是基于对天然油脂进行分提、调配等工艺制备CBE<sup>[5-6]</sup>,该方法所需的油脂原料如婆罗双树脂、雾冰草脂(IB)<sup>[7]</sup>、芒果仁油<sup>[8]</sup>、乳木果油<sup>[9]</sup>、烛果油等产量有限且不稳定<sup>[1]</sup>;酯交换法是基于油脂与脂肪酸或脂肪酸酯进行酯交换反应制备CBE,该方法大部分以棕榈油为原料,可有效减少原料产量波动对生产的影响<sup>[10]</sup>。

酶法酯交换作为一种新型的生物改性技术,具有特异性强、反应条件温和、安全性高、污染性小等优点,在CBE的制备中已有较多应用<sup>[11-14]</sup>。马芳等<sup>[15]</sup>以棕榈油中熔点分提产物(PMF)和硬脂酸为原料,Lipozyme TL IM为催化剂,在无溶剂条件下反应10 h,经5次液液萃取除酸后制备CBE。沈琪等<sup>[16]</sup>对不同脂肪酶的催化效果进行分析,最终选择特异性及催化活力更优的Lipozyme RM IM作为催化剂,并以PMF和硬脂酸为原料,在环己烷体系下制备CBE。王胜杰等<sup>[17]</sup>考察了Lipozyme TM LM和Lipozyme RM IM对酯交换反应的影响,以PMF和硬脂酸乙酯为原料,在无溶剂体系下经减压蒸馏和干法分提纯化制备CBE。综上,目前已有报道重点研究CBE的酶法酯交换制备过程,对后续纯化工艺及制备的CBE品质分析关注较少。除此之外,较长的

反应时间、有机试剂的使用使酯交换反应难以在工业生产中得到实际应用,因此探索在工业生产中有潜在应用的CBE生产工艺具有积极的意义。

本文以PMF和硬脂酸为原料,在无溶剂体系下通过酶法酯交换制备CBE,考察酶添加量、底物比和反应时间对酯交换反应的影响,通过分子蒸馏、溶剂结晶纯化CBE,考察了分子蒸馏进料速度、蒸馏温度和刮板速度对脱酸效率的影响,结晶温度对高熔点甘油三酯去除效果的影响,并对自制CBE及天然CB的理化性质、晶体形态、晶型及热性质进行分析,以期制备性质良好的CBE提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

棕榈油中熔点分提产物(PMF,其中POP 86.6%, POS 6.32%),实验室自制;2种天然可可脂CB1、CB2,均为市场采购;Lipozyme RM IM,丹麦Novo公司;硬脂酸(纯度 $\geq 98\%$ )、正己烷,均为市售分析纯;异丙醇、正己烷和乙腈(液相色谱流动相用),均为市售色谱纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

DHG-9245A 电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;ME204 电子天平、DSC1 差示扫描量热仪,瑞士Mettler-Toledo公司;Eurostar 40 悬臂式电动搅拌器、RCT Basic 加热磁力搅拌器,德国IKA公司;KDL1 短程分子蒸馏仪,德国UIC公司;RA8 恒温水浴锅,德国Lauda公司;1260 液相色谱仪、7890B 气相色谱仪,美国Agilent公司;MB3600-CH10 油脂分析仪,瑞士ABB公司;Axio Imager A2m 偏光显微镜,德国Zeiss公司;D8 X 射线衍射仪、MQ20 核磁共振分析仪,美国Bruker公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 酶法酯交换

称取一定量的PMF与硬脂酸于三口烧瓶,置于油浴中加热搅拌至原料完全熔化。待温度稳定后,加入一定量Lipozyme RM IM,搅拌反应一定时间。反应完成后,将三口烧瓶置于沸水浴中加热5 min,过滤除去脂肪酶得到酯交换粗产物。

### 1.2.2 分子蒸馏纯化

采用分子蒸馏对酯交换粗产物进行脱酸。开启旋片泵预热,同时将蒸馏温度设为指定值,将酯交换粗产物置于分子蒸馏装置中,在 70℃ 预热 20 ~ 30 min 后打开阀门,抽取系统真空。待真空度降至 1 kPa 后开启扩散泵预热,15 min 后开启扩散泵阀门,对酯交换粗产物进行分子蒸馏,收集轻组分(脂肪酸)和重组分(CBE 粗产物)。

### 1.2.3 溶剂结晶纯化

将分子蒸馏得到的 CBE 粗产物熔化后,按油剂比 1:5 (质量体积比) 加入适量正己烷,振荡使 CBE 粗产物完全溶解后置于 65℃ 水浴 30 min 后,将水浴温度降至所需温度,结晶 18 h 后真空抽滤分离结晶相和液相。将结晶相和液相分别在 80℃ 真空条件下除水和正己烷,分别得到固脂和液油(CBE)。

### 1.2.4 酶法酯交换反应指标计算

硬脂酸指数(SI)按式(1)计算<sup>[18]</sup>。

$$I_s = (\omega_{\text{POP}} + \omega_{\text{SOS}} \times 2) / (\omega_{\text{POP}} + \omega_{\text{POS}} + \omega_{\text{SOS}} \times 2) \quad (1)$$

式中: $I_s$  为 SI 值; $\omega_{\text{POP}}$ 、 $\omega_{\text{POS}}$  和  $\omega_{\text{SOS}}$  分别表示酯交换反应产物中对应甘油三酯含量。

得率( $x$ )按式(2)计算<sup>[19]</sup>。

$$x = (\omega_{\text{POP}} + \omega_{\text{POS}} + \omega_{\text{SOS}}) / (\omega'_{\text{POP}} + \omega'_{\text{POS}} + \omega'_{\text{SOS}}) \times 100\% \quad (2)$$

式中: $\omega_{\text{POP}}$ 、 $\omega_{\text{POS}}$  和  $\omega_{\text{SOS}}$  分别表示酯交换反应产物中对应甘油三酯含量; $\omega'_{\text{POP}}$ 、 $\omega'_{\text{POS}}$ 、 $\omega'_{\text{SOS}}$  分别表示原料中对应甘油三酯含量。

特异性酯交换速率(SIV)代表酯交换反应过程中硬脂酸替代甘油三酯 sn-1 位和 sn-3 位脂肪酸的速率,具体按式(3)计算<sup>[19]</sup>。

$$V_{\text{SI}} = (\omega_{\text{POS}} - \omega'_{\text{POS}}) / M_{\text{POS}} + 2 \times (\omega_{\text{SOS}} - \omega'_{\text{SOS}}) / M_{\text{SOS}} \quad (3)$$

式中: $V_{\text{SI}}$  为 SIV 值, mmol/(g·h);  $\omega_{\text{POS}}$  和  $\omega_{\text{SOS}}$  分别表示酯交换产物中对应甘油三酯含量; $\omega'_{\text{POS}}$  和  $\omega'_{\text{SOS}}$  分别表示原料中对应甘油三酯含量; $M_{\text{POS}}$  和  $M_{\text{SOS}}$  分别表示 POS 和 SOS 的摩尔质量, g/mol;  $t$  表示反应时间, h。

### 1.2.5 基本指标测定

过氧化值的测定,参照 GB 5009.227—2016 中第一法滴定法;酸值的测定,参照 GB 5009.229—2016 中第一法冷溶剂指示剂滴定法;碘值的测定,采用油脂分析仪进行;脂肪酸组成的测定,参照 GB 5009.168—2016 中酯交换法;sn-2 位脂肪酸组成的测定,参照 GB/T 24894—2010;固体脂肪含量(SFC)的测定,参照 GB/T 31743—2015。

甘油三酯组成的测定:称取约 100 mg 油样于 15 mL 离心管中,加入 10 mL 色谱纯正己烷,涡旋后经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后进液相色谱仪测定。测定条件:C18 反相色谱柱,蒸发光散射检测器(ELSD),温度 70℃,气体流量 1.8 L/min,增益 1 倍;流速 0.8 mL/min,流动相 A 为正己烷-异丙醇(体积比 1:1),流动相 B 为乙腈;梯度洗脱程序为 0~10 min 40% A,50 min 44% A,60 min 40% A,并保持 10 min。以标准品的保留时间定性,以峰面积归一化法定量。

### 1.2.6 结晶性能测定

#### 1.2.6.1 结晶形态

采用偏光显微镜(PLM)拍摄样品的结晶形态。将样品于 80℃ 熔化后保持 30 min 以消除晶体记忆,用移液枪移取 10  $\mu\text{L}$  样品滴在预热好的载玻片上,盖上盖玻片,于 26℃ 下放置 24 h 进行测定。

#### 1.2.6.2 热性质

采用差示扫描量热(DSC)仪测量样品的结晶和熔化性质。温度控制程序:将样品以 10℃/min 升温至 80℃,并保持 10 min 以消除晶体记忆;以 5℃/min 降温至 -30℃ 并维持 10 min,绘制结晶曲线;最后以 5℃/min 升温至 80℃,绘制熔化曲线。

#### 1.2.6.3 晶型

利用 X-射线衍射(XRD)仪检测样品的晶型。将样品于 80℃ 熔化后保持 30 min 以消除晶体记忆,于 0℃ 维持 90 min,然后于 26℃ 下放置 40 h 调温,挑取适量样品于检测片上涂布均匀且平整,进行检测。检测条件:电流 40 mA,电压 40 kV,扫描角度( $2\theta$ ) 16°~30°,扫描速度 5(°)/min。

#### 1.2.7 数据分析

数据均为 3 组平行试验的平均值,采用 SPSS 单因素 AVONA 检验分析,并通过 Origin 2022 绘图。

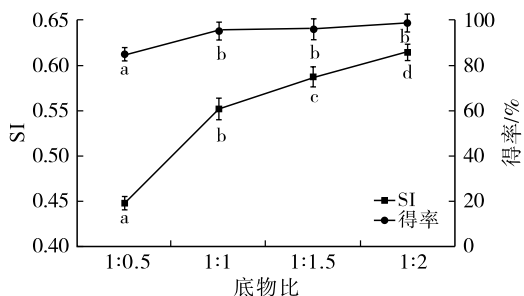
## 2 结果与讨论

### 2.1 酶法酯交换条件考察

#### 2.1.1 底物比的考察

在反应温度 70℃、反应时间 5 h、酶添加量 8% (以 PMF 和硬脂酸总质量计) 条件下,考察底物比(PMF 与硬脂酸质量比)对酯交换反应的影响,结果见图 1。

从图 1 可以看出,底物比从 1:0.5 减小到 1:1,产物得率表现出明显的增长趋势,表明硬脂酸含量增加对反应的促进效果较为明显,随着底物比的继续减小,得率无明显变化。随着底物比的减小,产物 SI 值增加,在底物比为 1:1 时产物 SI 值与天然 CB (SI 值为 0.56) 接近。综合考虑,选择底物比为 1:1。



注:不同字母表示组内差异显著( $p < 0.05$ )。下同

Note: Different letters indicate significant differences within the group ( $p < 0.05$ ). The same below

图1 底物比对酯交换反应的影响

Fig. 1 Effect of substrate mass ratio on interesterification reaction

### 2.1.2 酶添加量的考察

在底物比 1:1、反应温度 70℃、反应时间 5 h 条件下,考察酶添加量对酯交换反应的影响,结果见图 2。

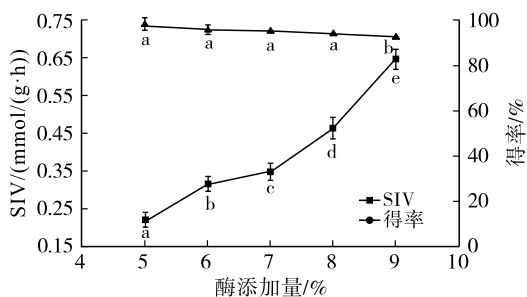


图2 酶添加量对酯交换反应的影响

Fig. 2 Effect of enzyme dosage on interesterification reaction

由图 2 可看出,在酶添加量为 5% ~ 9% 时,随着酶添加量的增加,特异性酯交换速率显著提升,产物得率则降低。随着酶添加量的增加,酯交换程度会增强,但随之会促进甘油三酯的水解,从而使副产物增多,产物得率降低<sup>[20]</sup>。综合考虑,选择酶添加量为 8%。

### 2.1.3 反应时间的考察

在底物比 1:1、反应温度 70℃、酶添加量 8% 条件下,考察反应时间对酯交换反应的影响,结果见图 3。

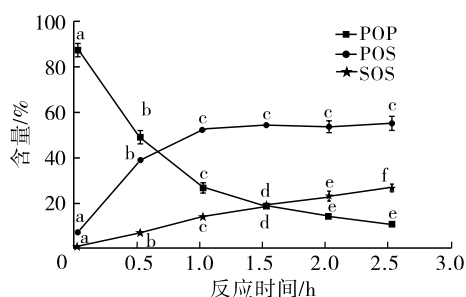


图3 反应时间对酯交换反应的影响

Fig. 3 Effect of reaction time on interesterification reaction

由图 3 可看出,随着反应时间的延长,产物中 POP 含量逐渐降低,反应 2 h 后 POP 含量无显著变化;POS 含量逐渐增加,反应 1 h 后无明显变化;SOS 含量在整个考察范围内显著增加。当反应时间为 2 h 时,产物的甘油三酯组成与天然 CB 最为接近。因此,选择反应时间为 2 h。

综上,最优酶法酯交换反应条件为反应温度 70℃、底物比 1:1、酶添加量 8%、反应时间 2 h,在此条件下酯交换产物的甘油三酯组成及含量为 POP 11.9%、POS 54.1%、SOS 23.5%,酸值(KOH)为 135 mg/g。

### 2.2 分子蒸馏试验条件考察

分子蒸馏能依据不同物质分子运动平均自由程的差别实现物质的分离<sup>[21]</sup>,可以有效脱除酶法酯交换产物中的游离脂肪酸<sup>[22]</sup>。以分子蒸馏产物的酸值作为评估指标,对影响分子蒸馏脱酸效果的主要因素进行单因素考察。

#### 2.2.1 进料速度的考察

在蒸馏温度 190℃、刮板速度 150 r/min 的条件下,考察进料速度对分子蒸馏脱酸效果的影响,结果如图 4 所示。

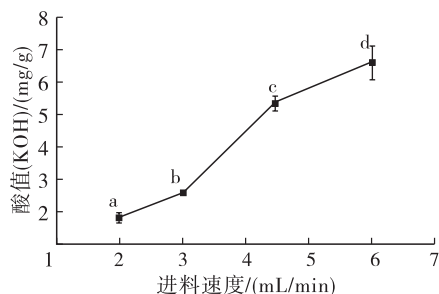


图4 进料速度对分子蒸馏脱酸效果的影响

Fig. 4 Effect of feeding rate on deacidification by molecular distillation

由图 4 可看出,随着进料速度的增加,产物的酸值显著升高( $p < 0.05$ ),原因是进料速度的增加导致产品在蒸发器表面的停留时间缩短,热传导不充分<sup>[23]</sup>。为保证脱酸效率,选择进料速度为 2 mL/min。

#### 2.2.2 蒸馏温度的考察

在进料速度 2 mL/min、刮板速度 150 r/min 的条件下,考察蒸馏温度对分子蒸馏脱酸效果的影响,结果见图 5。

蒸馏温度可显著影响脱酸效果,蒸馏温度升高,游离脂肪酸的平均分子自由程增加,分离效率提升<sup>[24]</sup>,产物酸值降低。由图 5 可看出,随着蒸馏温度的升高,产物的酸值降低,在蒸馏温度达到 210℃ 后,产物的酸值降低不显著。综合分析,选择蒸馏温度为 210℃。

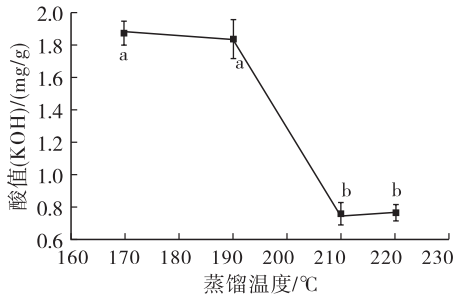


图5 蒸馏温度对分子蒸馏脱酸效果的影响  
Fig. 5 Effect of distillation temperature on deacidification by molecular distillation

### 2.2.3 刮板速度的考察

在进料速度 2 mL/min、蒸馏温度 210 °C 的条件下,考察刮板速度对分子蒸馏脱酸效果的影响,结果见图 6。

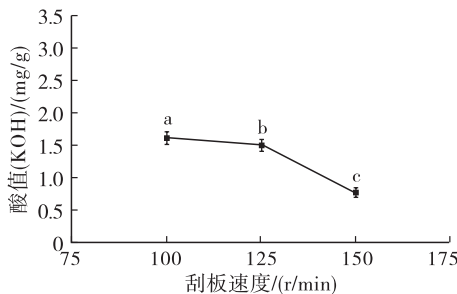


图6 刮板速度对分子蒸馏脱酸效果的影响  
Fig. 6 Effect of wiper rotation speed on deacidification by molecular distillation

当刮板速度提高时,样品在蒸发器表面分布更加均匀,更有利于游离脂肪酸的脱除<sup>[25]</sup>。由图 6 可看出,随着刮板速度的增加,产物的酸值降低,刮板速度为 150 r/min 时,产物的酸值(KOH)已低于 1 mg/g。综合考虑,选择刮板速度为 150 r/min。

综上,确定最优分子蒸馏条件为蒸馏温度 210 °C、进料速度 2 mL/min、刮板速度 150 r/min,在此条件下产物的酸值(KOH)为 0.88 mg/g,甘油三酯组成及含量为 POP 12.5%、POS 52.3%、SOS 24.2%。对比发现,分子蒸馏纯化后样品的 POP、POS 和 SOS 组成没有明显变化,表明分子蒸馏不会影响产物的甘油三酯组成。产物酸值满足 GB 15196—2015 规定的代可可脂(包括 CBE)酸值(KOH)小于或等于 1 mg/g 要求。

### 2.3 溶剂结晶试验条件考察

分子蒸馏脱酸产物在 40 °C 下仍有较高的固体脂肪含量(11.83%),因此通过溶剂结晶将产物中高熔点甘油三酯去除。对溶剂结晶纯化工艺的结晶温度进行考察,结晶温度对产物碘值及甘油三酯组成的影响见表 1,结晶温度对产物固体脂肪含量和得率的影响见表 2。

表 1 结晶温度对产物碘值及甘油三酯组成的影响

Table 1 Effect of crystallization temperature on iodine value and triglyceride composition of product

样品	碘值(I)/(g/100 g)	POP/%	POS/%	SOS/%
CBE 粗产物	31.05	12.5	52.3	24.2
25 °C 产物	-	-	-	-
20 °C 产物	31.61	13.0	55.2	24.4
15 °C 产物	33.61	13.6	55.6	24.1
10 °C 产物	34.09	13.9	55.7	23.8

注: - 表示未检出。下同

Note: - . not detected. The same below

由表 1 可看出,随着结晶温度的降低,产物的碘值逐步提升,而 POP、POS 和 SOS 组成无明显变化。

表 2 结晶温度对产物固体脂肪含量和得率的影响

Table 2 Effect of crystallization temperature on solid fat content and yield of product

样品	N20	N30	N35	N40	得率/%
CBE 粗产物	74.79	50.64	20.83	11.83	-
25 °C 产物	-	-	-	-	-
20 °C 产物	66.03	39.31	6.08	0.63	88.6
15 °C 产物	65.62	35.16	0.70	0.00	81.0
10 °C 产物	64.16	30.19	0.00	0.00	77.2

注: N20、N30、N35、N40 分别表示在 20、30、35、40 °C 下的固体脂肪含量

Note: N20、N30、N35、N40 represent SFC at 20, 30, 35 °C and 40 °C, respectively.

由表 2 可看出,当结晶温度为 25 °C 时,无固脂析出。随着结晶温度的降低,固脂析出量增多,产物得率随之降低。同时,随着结晶温度的降低,产物的固体脂肪含量明显降低。在结晶温度为 15 °C 时,制备的 CBE 固体脂肪含量与天然 CB 无明显差异,在 20 °C 下固体脂肪含量均大于 65%,而在 35 °C 时几乎均为 0(见图 7),此时产物得率为 81.0%。

综上,确定溶剂结晶纯化工艺的结晶温度为 15 °C。

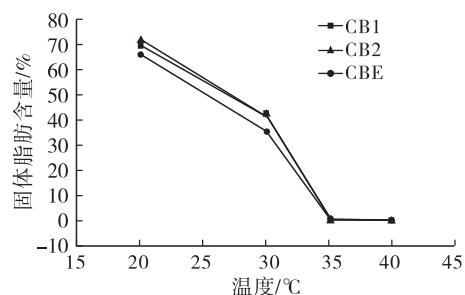


图7 自制 CBE 与天然 CB 的 SFC 曲线

Fig. 7 SFC curves of CBE prepared and natural CB

### 2.4 自制 CBE 及天然 CB 性质比较

#### 2.4.1 基本指标

对自制 CBE 及 2 种天然 CB 基本指标进行比较,结果如表 3 所示。

由表 3 可看出,自制 CBE 的各项指标与天然

CB无明显差异,且过氧化值满足 GB 15196—2015 规定的代可可脂(包括 CBE)过氧化值小于或等于 0.13 g/100 g 的标准。

表3 自制 CBE 与天然 CB 基本指标对比

Table 3 Common property comparison between CBE prepared and natural CB

项目	CB1	CB2	CBE
碘值(I)/(g/100 g)	35.03	34.82	33.61
酸值(KOH)/(mg/g)	3.2	3.0	0.88
过氧化值/(g/100 g)	0.072	0.059	0.053
甘油三酯/%			
POP	14.6	14.1	13.6
POS	54.6	56.8	55.6
SOS	25.0	25.6	24.1
主要脂肪酸/%			
C16:0	25.4	25.8	22.8
C18:0	35.8	36.1	40.3
C18:1	33.7	33.0	31.7
C18:2	2.9	2.7	4.1
sn-2 位脂肪酸/%			
C16:0	1.5	2.8	4.5
C18:0	1.7	3.3	2.9
C18:1	88.5	86.9	82.0
C18:2	7.9	7.1	10.5

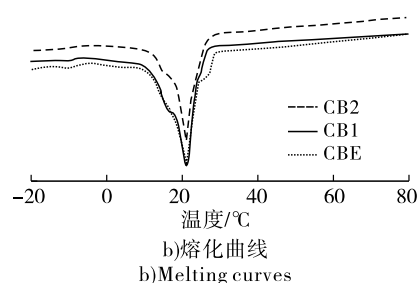
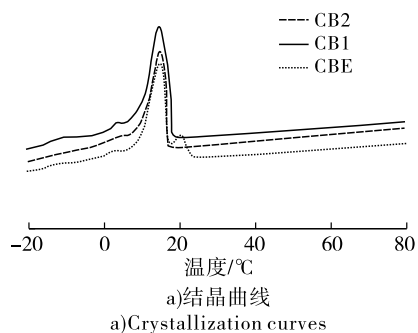


图9 自制 CBE 与天然 CB 的 DSC 曲线

Fig. 9 DSC curves of CBE prepared and natural CB

从图 9a 可以看出,自制 CBE 与天然 CB 具有相似的结晶曲线,但自制 CBE 在稍高的温度存在一个小的放热峰。推测原因可能是自制 CBE 产品中仍有少量高熔点的甘油三酯,在结晶过程中首先结晶析出。从图 9b 可以看出,天然 CB 与自制 CBE 具有相似的熔化曲线,且吸收峰宽度相同。综合分析,自制 CBE 具有与天然 CB 相似的结晶和熔化性质。

#### 2.4.2.3 晶型

自制 CBE 及天然 CB 的 XRD 谱图如图 10 所示。

油脂的晶型主要分为  $\alpha$ 、 $\beta'$  和  $\beta$  型。根据晶体衍射理论, $\alpha$  晶体的短间距在 4.10 Å, $\beta'$  晶体的短间距在 3.80 Å 和 4.20 Å, $\beta$  晶体的短间距在 4.60 Å<sup>[26]</sup>。CB 的主要甘油三酯组成为 SUS 型,在调温过程中,更易从不稳定的  $\alpha$  和  $\beta'$  晶型转化为稳定的  $\beta$  晶型。由图 10 可看出,天然 CB 与自制 CBE 均在

#### 2.4.2 结晶性能

##### 2.4.2.1 结晶形态

自制 CBE 及天然 CB 的结晶形态如图 8 所示。

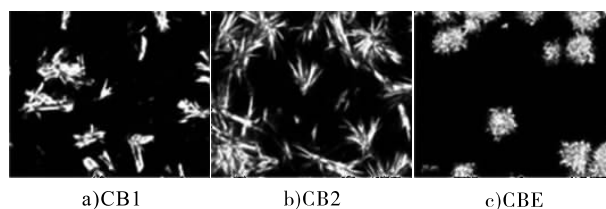


图8 自制 CBE 与天然 CB 的 PLM 图

Fig. 8 PLM images of CBE prepared and natural CB

从图 8 可以看出,两种天然 CB 与自制 CBE 在 26 °C 下的结晶形态并不完全相同。CB1 晶体呈现出规则形状,CB2 晶体表现出明显的针状结晶簇形状,而自制 CBE 晶体呈现出不规则的圆盘状。从晶体大小来看,天然 CB 储存过程中形成的晶体大小相对均一,而自制 CBE 形成的晶体大小存在差异,这可能与样品甘油三酯组成及其他微量组分不同有关。

##### 2.4.2.2 热性质

自制 CBE 及天然 CB 的 DSC 曲线如图 9 所示。

4.60 Å 附近有一个主要的吸收峰,表现出非常强烈的  $\beta$  型结晶倾向。因此,自制 CBE 具有与天然 CB 相同的晶体类型,且表现出稳定的  $\beta$  型结晶趋势。

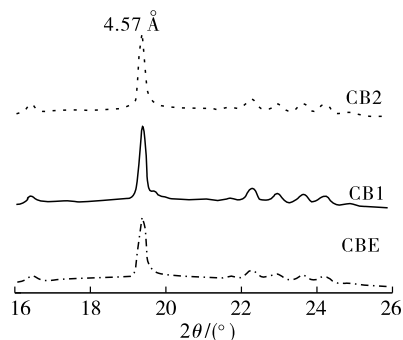


图10 自制 CBE 与天然 CB 的 XRD 谱图

Fig. 10 XRD patterns of CBE prepared and natural CB

## 3 结论

以 PMF 和硬脂酸为原料,Lipozyme RM IM 为催



化剂,在底物比 1:1、酶添加量 8%、反应温度 70 °C、反应时间 2 h 的条件下进行酯交换反应,得到的酯交换粗产物在蒸馏温度 210 °C、进料速度 2 mL/min、刮板速度 150 r/min 条件下进行分子蒸馏脱酸后,再经正己烷在 15 °C 下结晶 18 h 纯化制备 CBE。自制的 CBE 各项指标与天然 CB 基本一致。本方法在酯交换过程中不加入有机试剂,可制备高品质的 CBE,具有较强的实际应用前景。

#### 参考文献:

- [1] 金俊, PEMBE W M, 郑立友, 等. 5 种亟待开发的类可可脂木本油料脂肪[J]. 中国油脂, 2017, 42(4): 1-7.
- [2] MOHD HASSIM N A. Enzymatic interesterification of palm fractions for the production of cocoa butter alternatives[J/OL]. J Oil Palm Res, 2018; 38 [2022-12-16]. <https://doi.org/10.21894/jopr.2018.0038>.
- [3] SUH N N, MOLUA E L. Cocoa production under climate variability and farm management challenges: Some farmers' perspective[J/OL]. J Agric Food Res, 2022, 8; 100282 [2022-12-16]. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100282>.
- [4] BEG M S, AHMAD S, JAN K, et al. Status, supply chain and processing of cocoa: A review[J]. Trends Food Sci Technol, 2017, 66: 108-116.
- [5] NORAZLINA M R, JAHURUL M H A, HASMADI M, et al. Trends in blending vegetable fats and oils for cocoa butter alternative application: A review[J]. Trends Food Sci Technol, 2021, 116: 102-114.
- [6] MUTIA R, ZAIDEL D A, MUHAMAD I I. Characterization of cocoa butter equivalent from formulated hard palm oil mid-fraction and canola oil blend[J/OL]. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci, 2021, 807(4): 42075 [2022-12-16]. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/807/4/042075>.
- [7] AUMPAI K, TAN C P, HUANG Q, et al. Production of cocoa butter equivalent from blending of illipé butter and palm mid-fraction[J/OL]. Food Chem, 2022, 384: 132535 [2022-12-16]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132535>.
- [8] HAQUE AKANDA M J, NORAZLINA M R, AZZATUL F S, et al. Hard fats improve the physicochemical and thermal properties of seed fats for applications in confectionery products[J]. Food Rev Int, 2020, 36(6): 601-625.
- [9] 郭婷婷, 汪颖, 黎丽, 等. 乳木果油制备类可可脂条件优化及其性质研究[J]. 食品工业, 2019, 40(1): 86-91.
- [10] 池娟娟, 陈云波, 张亚飞, 等. 纯脂巧克力用脂及其分析、应用研究进展[J]. 中国油脂, 2021, 46(8): 131-139.
- [11] 谭天伟, 陈必强. *Candida* sp. 99-125 脂肪酶及其在化学品合成中的应用[J]. 化工学报, 2010, 61(7): 1685-1692.
- [12] 胡芳, 韦富香, 王志成, 等. 基于响应面的酶法酯交换制备乌柏脂油类可可脂[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(3): 94-97.
- [13] UNDURRAGA D, MARKOVITS A, ERAZO S. Cocoa butter equivalent through enzymic interesterification of palm oil midfraction[J]. Process Biochem, 2001, 36(10): 933-939.
- [14] HUANG Z, GUO Z, XIE D, et al. *Rhizomucor miehei* lipase-catalysed synthesis of cocoa butter equivalent from palm mid-fraction and stearic acid: Characteristics and feasibility as cocoa butter alternative[J/OL]. Food Chem, 2021, 343: 128407 [2022-12-16]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128407>.
- [15] 马芳, 宋海东, 魏安池, 等. Lipozyme TL IM 酶促酯交换棕榈油中间熔点物制备类可可脂的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2014, 35(3): 21-24, 36.
- [16] 沈琪, 刘元法, 徐振波, 等. 非水相酶促酸解制备类可可脂的工艺研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(7): 41-45.
- [17] 王胜杰, 李成, 翁新楚. 利用硬脂酸乙酯制备类可可脂工艺研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2018, 41(1): 197-203.
- [18] BLOOMER S, ADLERCREUTZ P, MATTIASSON B. Triglyceride interesterification by lipases. 1. Cocoa butter equivalents from a fraction of palm oil[J]. J Am Oil Chem Soc, 1990, 67(8): 519-524.
- [19] 吴华昌, 宗敏华, 王菊芳, 等. 无溶剂系统脂肪酶催化 POMF 转酯生产类可可脂的研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(3): 36-39.
- [20] KOH S P, TAN C P, LAI O M, et al. Enzymatic synthesis of medium- and long-chain triacylglycerols (MLCT): Optimization of process parameters using response surface methodology[J]. Food Bioprocess Technol, 2010, 3(2): 288-299.
- [21] WU W, WANG C, ZHENG J. Optimization of deacidification of low-calorie cocoa butter by molecular distillation[J]. LWT - Food Sci Technol, 2012, 46(2): 563-570.
- [22] 徐文迪, 缪智诚, 王小三, 等. 酶法合成中长碳链甘油三酯[J]. 中国油脂, 2019, 44(8): 51-56.
- [23] 黄杰秋, 朱秋劲, 王竞, 等. 分子蒸馏富集苏麻油中  $\alpha$ -亚麻酸的研究[J]. 食品科技, 2016, 41(9): 197-202.
- [24] SOLAESA Á G, SANZ M T, FALKEBORG M, et al. Production and concentration of monoacylglycerols rich in  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids by enzymatic glycerolysis and molecular distillation[J]. Food Chem, 2016, 190: 960-967.
- [25] 曹建兰, 卢俏, 张煜. 分子蒸馏技术纯化辣椒碱类物质的工艺条件优化[J]. 食品科学, 2014, 35(12): 60-64.
- [26] BRESSON S, LECUELLE A, BOUGRIOUA F, et al. Comparative structural and vibrational investigations between cocoa butter (CB) and cocoa butter equivalent (CBE) by ESI/MALDI-HRMS, XRD, DSC, MIR and Raman spectroscopy[J/OL]. Food Chem, 2021, 363: 130319 [2022-12-16]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130319>.