トリアシルグリセロールからなる分子間化合物を用いたカカオバター代用脂の開発に関する研究

渡邊, 慎平

トリアシルグリセロールからなる分子間化合物を用いた
カカオバター代用脂の開発に関する研究

2024

渡邊　慎平

目次

第 1 章 緒論

油脂は常温で液状である油と固体状の脂肪を合わせた総称であり、1 分子のグリセロールに 3 分子の脂肪酸がエステル結合したトリアシルグリセロール（triacylglycerol: TAG）と同義で用いられる [1)]。食品としての油脂は、栄養学的にはタンパク質や炭水化物と並ぶ主要な栄養素であり、脂溶性栄養成分の効率的な運搬を担うだけでなく、細胞膜の構成成分として臓器組織を形成し、情報伝達の主体であるホルモンの原料となる。調理・加工においては被加熱食品に熱を伝え、好ましい風味や色調を付与する [2)]。さらにチョコレートやマーガリン等の油性固体コロイド食品においては、液体、結晶、ゲル、エマルション等の高次構造の主体となる（図 1-1）ことで、食感、外観、展延性や起泡性、乳化安定性等の物理的特性を決定する [3)]。これら油性固体コロイド食品の多くが製造直後は熱力学的に準安定状態であるが、保管・流通環境が不適切であると、油脂分子は熱力学的に安定状態へと転移（変性）し、その結果食品の物理的性質や、官能特性が変化（劣化）し、著しく製品価値が損なわれる（図 1-2）[3)]。このような油性食品での品質劣化の防御は究極の技術的解決課題であり、これまで油脂の物理学的性質の理解を目指した観点から研究が行われてきた [4–9)]。

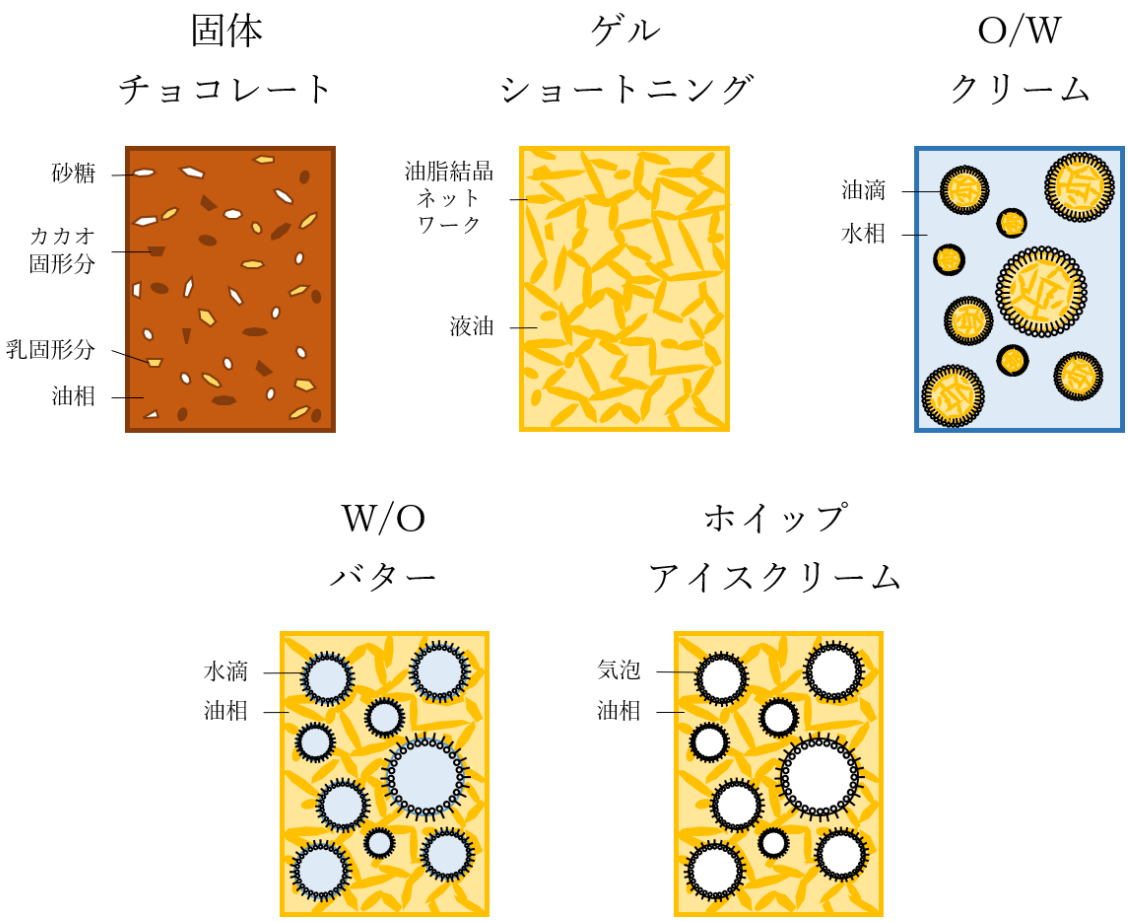


図 1-1　油脂含有食品の各種物理状態 [3)]

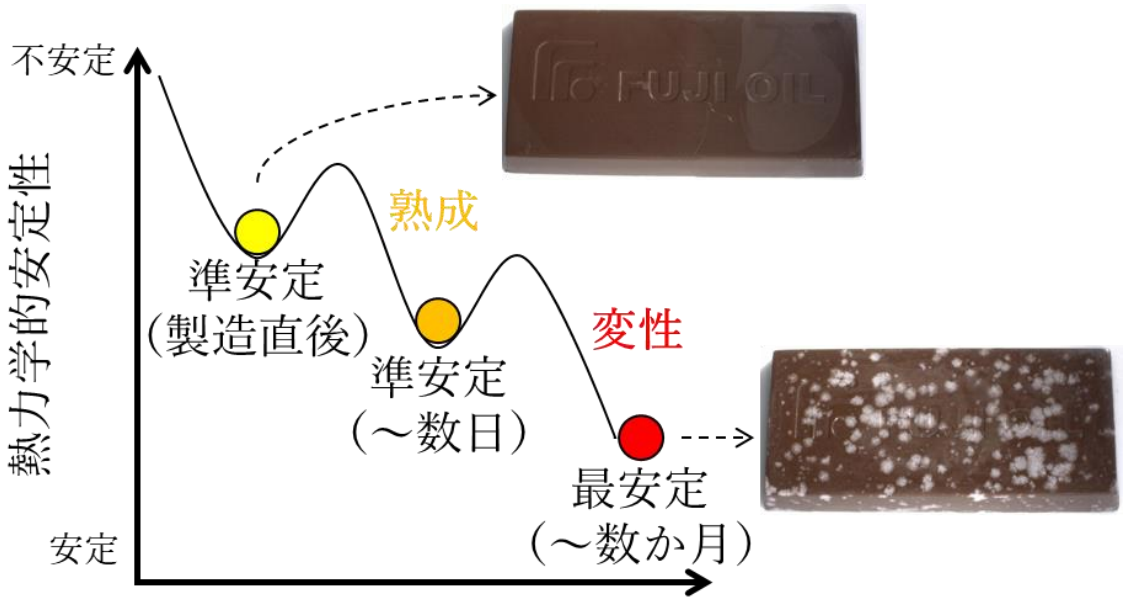


図 1-2　油性固体コロイド食品の熱力学的安定性とチョコレートの変性例

TAG の化学構造

TAG を構成する脂肪酸は炭素数が 4 から 24 までの直鎖脂肪酸が一般的であり、食用油脂は炭素数 16 のパルミチン酸や、炭素数 18 のステアリン酸、オレイン酸、リノール酸およびリノレン酸が豊富に含まれる。TAG は単一の脂肪酸で構成される単一酸型 TAG と、複数の脂肪酸種で構成される混酸型 TAG に分類され、混酸型 TAG はさらにグリセロールのヒドロキシ基に対する脂肪酸の結合位置（stereo-specifically numbered(*sn*)-1、*sn*-2 および *sn*-3）により、対称型と非対称型に分けられる（図 1-3)。TAG の結晶構造や種々の物理的性質は、構成脂肪酸の鎖長や不飽和の程度に加えて、*sn*-結合位置によっても変化する。

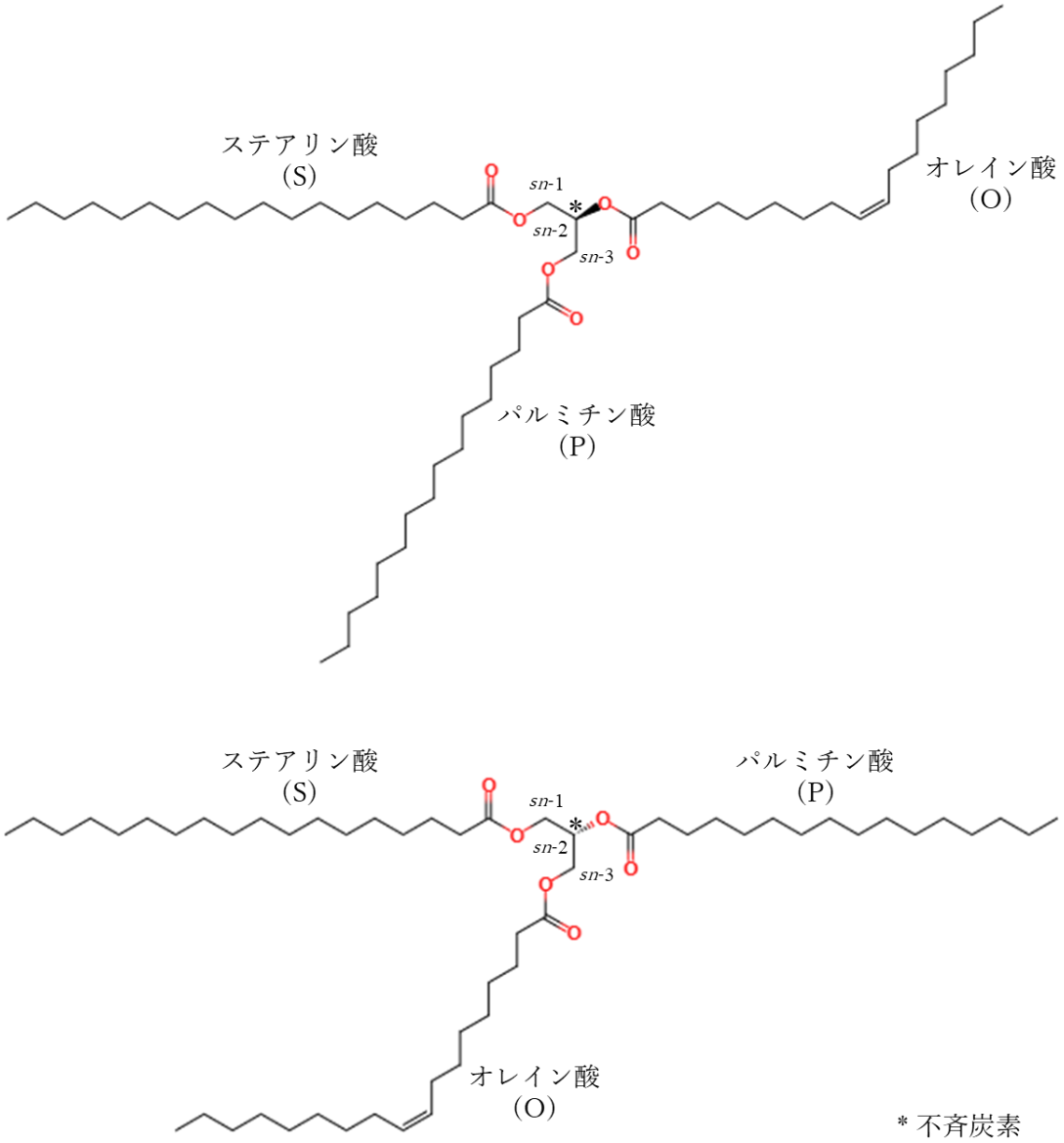


図 1-3　（上）1-stearoyl-2-oleoyl-3-palmitoylglycerol (SOP)および（下）1-stearoyl-2-palmitoyl-3-oleoylglycerol (SPO)の構造

TAG の結晶構造

TAG は同一組成でありながら物理的性質の異なる複数の結晶多形をとり、熱力学的に安定な方向へ単変形的な相転移挙動を示す [10]。この多形現象は製品品質に影響を及ぼすことから、TAG の多形制御は究極の技術的解決課題として認識されている。TAG 結晶は、数本の TAG から構成される単位胞により組立てられ、鎖長構造、脂肪酸鎖の副格子構造、メチル基末端やグリセロールの立体配座、分子傾斜等の構造的要素によって特徴付けられる [11]。一方、TAG の詳細な結晶構造は、単結晶育成が困難なことから実際に解析が行われた例はわずかである [12–17]。例えば粉末結晶試料を用いた X 線回折（X-ray diffraction: XRD）測定により、鎖長構造（chain-length structure）や副格子構造（sub-cell structure）といった構造情報を、単結晶を得ることなく取得が可能である [18–20]。

TAG の結晶は、隣接する脂肪酸鎖中のアシル鎖間の相互作用により分子が層状に並んだラメラ構造をとる（図 1-4）[21]。TAG の鎖長構造は、結晶中に積層する単一ラメラ構造の繰返し周期に含まれる脂肪酸鎖の数と定義され、2 鎖長構造（double chain-length structure: DCL）または 3 鎖長構造（triple chain-length structure: TCL）を形成する。水平方向のラメラ面に対する TAG 結晶の分子軸の傾きを分子傾斜と呼び、安定な結晶多形ほど大きくなる。さらにラメラの積層方向に対するラメラ層間の厚みを長面間隔（long spacing）と呼び、分子傾斜が大きくなるほど長面間隔は小さくなる。さらに TAG の結晶多形は副格子構造から決定される [21]。TAG 結晶内部ではアシル鎖同士が疎水性相互作用等により会合し、秩序化された配列をとる。鎖状分子に垂直な面におけるアシル鎖の配列様式（パッキング）を副格子構造とよび、油脂結晶を構成する TAG の分子量や結合する脂肪酸種に無関係に一定である。TAG 結晶の代表的な副格子構造は、（1）六方晶型（hexagonal sub-cell structure: H 型）、(2) 斜方晶垂直型（orthorhombic perpendicular sub-cell structure：

$O_{\perp}$型)、(3) 三斜晶平行型 (triclinic parallel sub-cell structure：$T_{/\!/}$型)) の 3 つが挙げられる [11]。それぞれ一般的にはギリシャ文字を使用して α 型、β'型、β 型と呼ばれ、XRD 測定において固有の短面間隔パターンが観察される (図 1-5) [11]。H 型副格子は、アシル鎖が秩序性を有しておらず流動的に回転したままラメラ面に垂直に配向する。アシル鎖同士のパッキングは緩く、そのため密度および融点は低く、不安定構造となる。$O_{\perp}$型副格子では副格子の角と中央にアシル鎖が位置し、TAG 結晶の分子軸はラメラ面に対して傾斜する。全てのアシル鎖が隣接するアシル鎖、すなわち副格子の角と中央の位置にあるアシル鎖の繰返し単位の向きが直交する。パッキングの密度は H 型副格子と $T_{/\!/}$型副格子の間であり、したがって融点もこれらの多形の間となる。$T_{/\!/}$型副格子は菱面体の角にアシル鎖が位置し、TAG 結晶の分子軸はラメラ面に対して $O_{\perp}$型副格子よりもさらに傾斜する。隣接する全てのアシル鎖が平行に位置し、パッキングは密であるため融点および密度が最も高く最安定な構造となる。以上のように、β 型が熱力学的に最安定であることから、準安定な α 型と β'型は経時的に β 型へと転移する。この結晶多形転移と呼ばれる現象は α 型、β'型、β 型の順で起こり、不可逆的な場合が多いが、一部の結晶多形には可逆的な結晶構造の変化を見せるサブフォームも存在する。本研究での sub-α 型は α 型よりも低い融点を有する結晶多形であるが、両者は温度に依存して可逆的に変化する特徴を有する [22]。

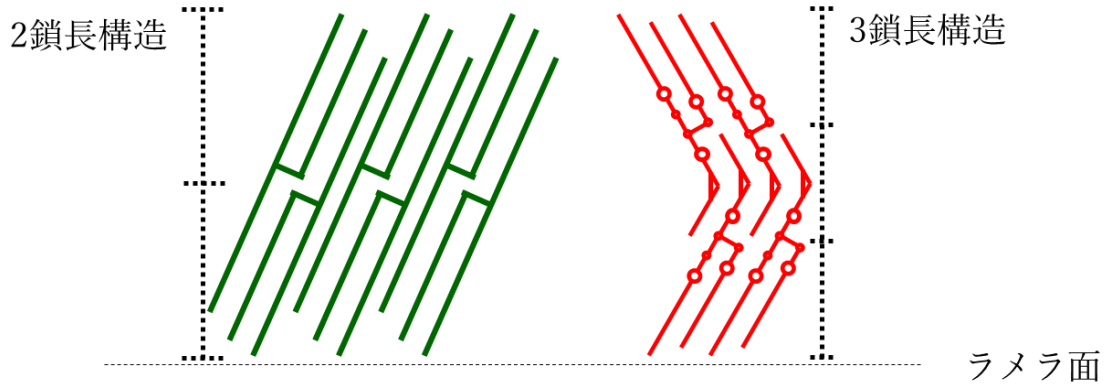


図 1-4　TAG のラメラ構造と鎖長構造 [21)]

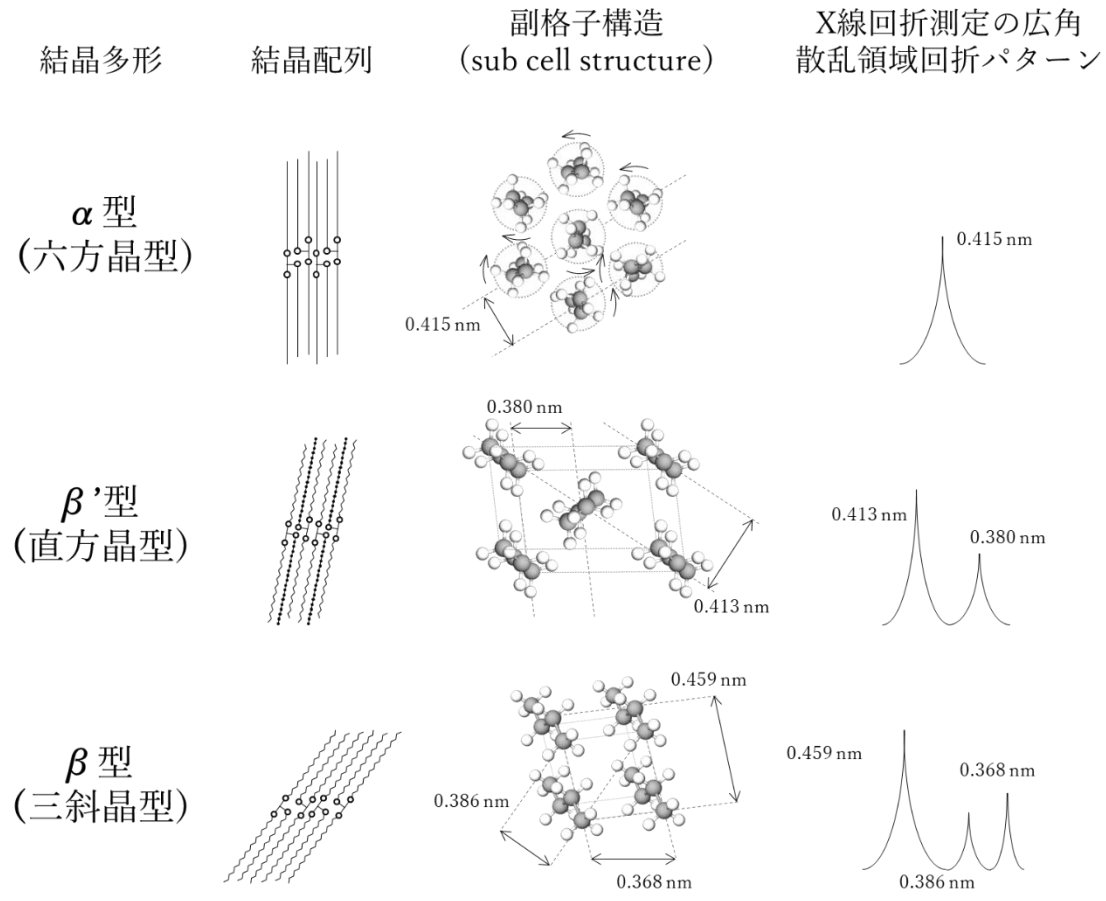


図 1-5　TAG の典型的な結晶配列、副格子構造および XRD 測定により観察される広角散乱領域回折パターン [11)]

TAG の混合相挙動

天然油脂およびそれを原料とした加工油脂は多種類の TAG の混合物である。TAG は分子種によって固有の結晶多形や物理化学的性質を示すが、混合系ではこれらの因子が相互に影響を及ぼし合って複雑な性質を呈する。したがって、混合油脂の物性や保存安定性の制御には、単一 TAG の構造や物性に対する理解に加えて、複数の TAG の混合相挙動の理解が重要となる。混合相挙動理解の第一ステップは、熱力学的に安定な平衡状態における相図の作成である。さらに実用的には非平衡状態の理解も重要となり、第二ステップとして混合系の結晶化、結晶多形転移および融解挙動の速度論的な解析が重要となる。この場合、時間分割で測定可能な実験が要求され、示差走査熱量計（Differential Scanning Calorimeter: DSC）による熱的解析や、放射光 X 線回折（Synchrotron radiation X-ray diffraction: SR-XRD）測定が最適である。

図 1-6 に代表的な 3 つの混合相挙動を示す[23]。TAG の混合相挙動は以下の一般的な状態により理解できる。混晶（mixed crystal）または固溶体（solid solution）は成分 A と成分 B が任意の混合比で均質な固相となった状態を指し、この混合状態の性質を相溶性（miscibility）という（図 1-6(a)）。図 1-6(a)中において、高温側の曲線を液相線と称し、単一液相領域と、固相と液相が共存する領域を分ける線である。液相線の描写は、任意の割合で混合した 2 成分混合物の融点を測定することにより描写できる。混晶を形成する 2 成分混合物の融点は、両成分の融点間の融点を示し、混合比依存的に増加あるいは減少する。従って液相線は 2 成分の融点を繋いだ線となる。低温側の曲線を固相線とよび、固相と液相が共存する領域と、固相のみの領域を分離する線である。混晶を形成する 2 成分混合系の例として、1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol（SOS）/1-palmitoyl-2-oleoyl-3-distearoylglycerol（POS）の 2 成分混合系[24]や、カカオ脂の主要 TAG である 1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol

（POP）/POS/SOS[25, 26]が例示できる。対して、成分 A の成分 B に対する溶解度が限定され、固相中に別個の結晶として相分離する状態を共晶（eutectic）という（図 1-6(b)）。両成分の融点や分子体積等の性質が大きく異なるときに共晶状態となり、例えば結合脂肪酸の炭素数が 4 つ以上異なる trilauroylglycerol（LLL）/SOS[27]や、炭素数は同じであっても融点が異なる tristearoylglycerol(SSS)/SOS[28]や tripalmitoylglycerol(PPP)/POP[29]は共晶である。共晶を形成した混合物では、共晶点では単一の融点を示し、融点降下の影響を受けて構成する両成分の融点より低くなる。共晶点以外では、融点の低下に加えて、構成する両成分が別個に融解するため、DSC にて融解挙動を解析すると、複数の吸熱ピークが観察される。一方、成分 A および成分 B 間の特異的な相互作用により、特定の組成比で新たな錯体を形成する場合を分子間化合物（Molecular Compound: MC）と呼び、図 1-6（c）での点 C に示した化合物の組成と融点をもつ。MC を形成する成分 A と成分 B は共晶的な関係が基本である。得られる相図は成分 A と MC 成分 C の 2 成分共晶系と、MC 成分 C と成分 B の 2 成分共晶系の 2 つの相図を左右につなぎ合わせた様相を示す。これまでに報告されている MC の多くは、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸が混在する混酸型 TAG の等モル混合物であり、SOS/1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol（SSO）[30]、SOS/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol（OSO）[31, 32]、POP/1,2-dipalmitoyl-3-oleoylglycerol（PPO）[33, 34]、POP/1,3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol（OPO）[34, 35]が例示できる。これらは全て、*sn*-2 位に不飽和脂肪酸、*sn*-1,3 位に飽和脂肪酸が結合した混酸対称型 TAG と、*sn*-2 位に飽和脂肪酸、*sn*-1,3 位に不飽和脂肪酸が結合した混酸対称型 TAG もしくは、*sn*-1,2 位に飽和脂肪酸、*sn*-3 位に不飽和脂肪酸が結合した混酸非対称型 TAG との組合せである。しかしながら、前述の組合せに類似した組合せでも、SOS/1,2-dioleoyl-3-stearoylglycerol（OOS）[36]や POP/1,2-dioleoyl-3-palmitoylglycerol（OOP）[37]では共晶を形成し、OOP/OPO、OOP/PPO

は準安定型で MC を形成し、最安定型では共晶となることが報告されている [38]。MC の形成には脂肪酸組成とともに、グリセロール基の立体配座やアルキル鎖間の相互作用が関わっているとされる [39]。MC の活用例として、POP がパーム油、OPO が豚脂に含まれる点に着想したトランス脂肪酸フリーのマーガリンやショートニングの開発 [40, 41] などがある。

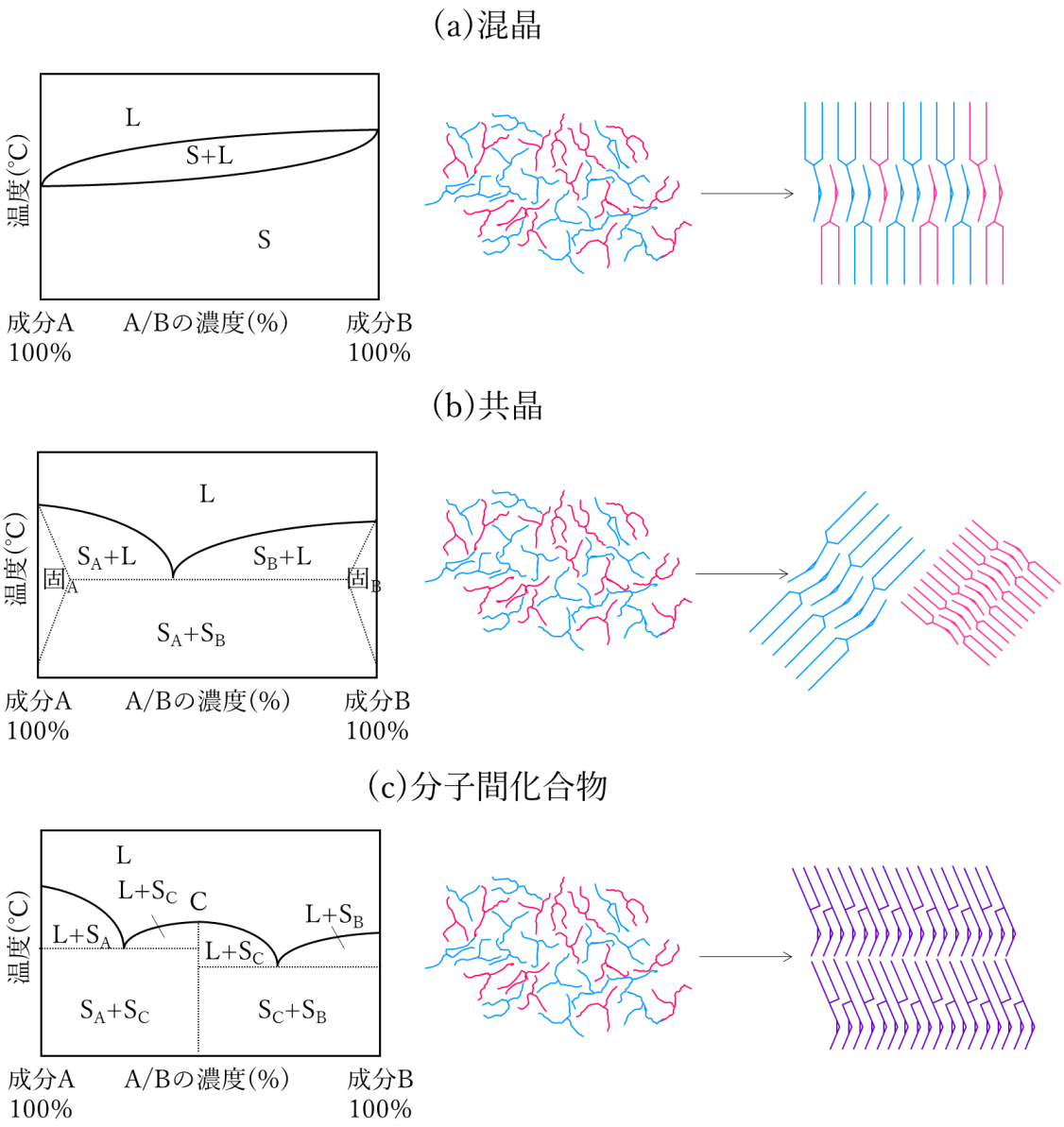


図 1-6　TAG の 2 成分の混合相図と模式図（(a)混晶、(b)共晶、(c)分子間化合物、L: 液体、S: 固体、C: 分子間化合物）

チョコレートとカカオ脂

チョコレートは世界で知られる嗜好菓子であり、カカオマス、ココアパウダー、カカオ脂などのカカオ原料、砂糖、乳成分や少量の乳化剤（レシチン）や香料（バニリン）を含んでいる。その構造はカカオ脂を主体とした油脂の連続相に、微粒化された砂糖やカカオ固形分、乳固形分が分散した状態となる（図 1-1）[42, 43]。したがって、カカオ脂の結晶状態やその高次構造は、チョコレート製造工程での単位操作や、製品外観および食感、風味発現に至るまでのあらゆる段階で大きな影響を与える。チョコレートのおいしさを決定付けるのは、体温付近で素早く融解する物理的性質と、味や香りなどの化学的性質である。特に、素早い融解挙動はチョコレートに清涼感を与え、同時にチョコレート中の味や香気を一気に解き放つ（図 1-7)。カカオ脂の素早い融解挙動は特有の TAG 組成と結晶多形が密接に結びついている。カカオ脂の TAG 組成は POS、SOS そして POP 等の *sn*-2 位にオレイン酸、*sn*-1,3 位にパルミチン酸もしくはステアリン酸が結合した混酸対称型 TAG が全体の 80%以上を占め、混晶を形成する [24, 25]。カカオ脂の結晶多形は前述のギリシャ文字表記とは別に、表 1-1 記載のローマ数字表記が一般的に使用される [42]。カカオ脂の結晶多形毎の XRD パターンや結晶構造は図 1-8 及び図 1-9 のような違いが報告されている [45]。この中で、好ましい硬さやパチンと割れるスナップ性を示し、体温付近での素早い融解と高い保存安定性を発現するのはⅤ型のみである。そこで、チョコレート製造工程では、カカオ脂のⅤ型結晶化を誘導するために特別な温調操作（テンパリング）が実施される（図 1-10）[42, 44]。一般的なテンパリングはチョコレート生地を 50℃程度で溶解し、攪拌しながら 25℃前後まで冷却後、連続的に 30℃から 32℃付近まで再加熱し、成形・冷却を実施する。本操作によりⅣ型結晶の析出と再加熱によるⅤ型への多形転移が促される。またテンパリングで得られる結晶は、Ⅴ型を直接析出・成長させて得られる結晶と比較して結晶サイズは微細となり、ス

ナップ性と素早い融解挙動の発現に繋がる。さらにⅤ型で成形したチョコレートは密度が高いことから融液からの体積収縮が大きく、成形容器より容易に離型する。その結果、表面が鏡面となり好ましい外観を発現する。以上のように、カカオ脂をⅤ型へと誘導するテンパリング操作はチョコレートの官能特性に大きく寄与し、欠かせない工程となっている。

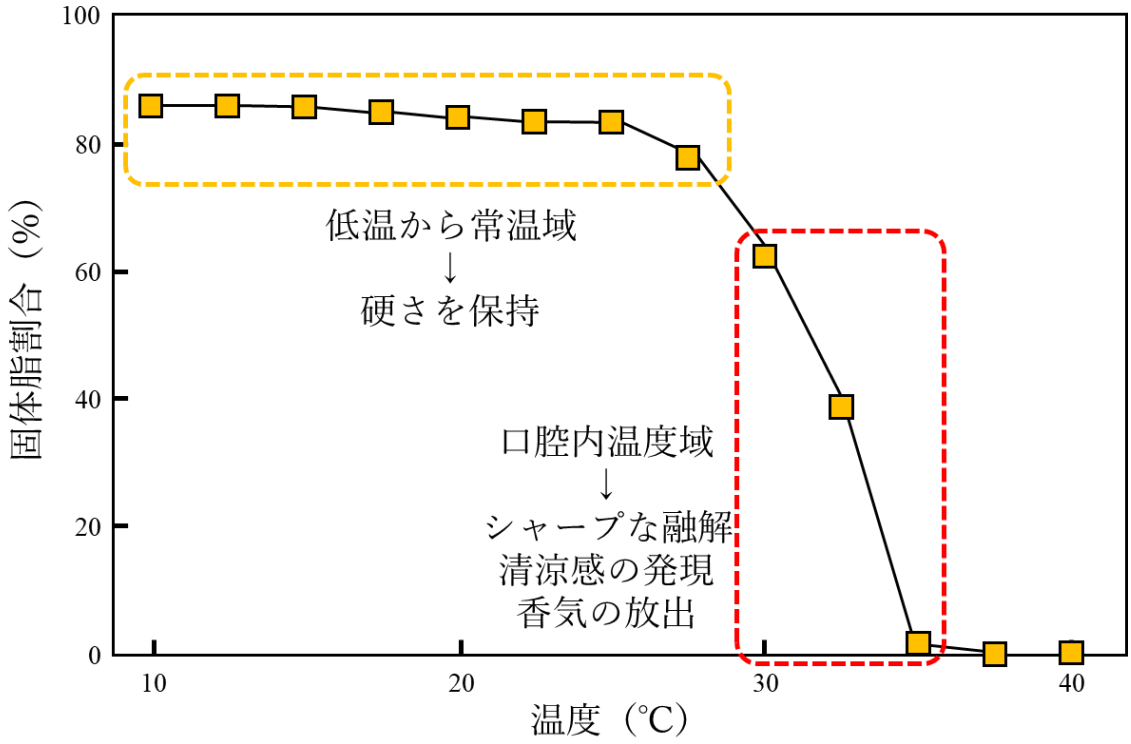


図 1-7　カカオ脂の固体脂割合と温度の関係

表 1-1　カカオ脂の結晶構造と融点 [42)]

結晶多形	Ⅰ型 sub-α	Ⅱ型 α	Ⅲ型 β'_2	Ⅳ型 β'_1	Ⅴ型 β_2	Ⅵ型 β_1
鎖長構造	2	2	2	2	3	3
副格子構造	n.i.	H	$O_{\perp}$	$O_{\perp}$	$T_{/\!/}$	$T_{/\!/}$
融点（℃）	17	23	25	27	33	36

n.i.; Not identified

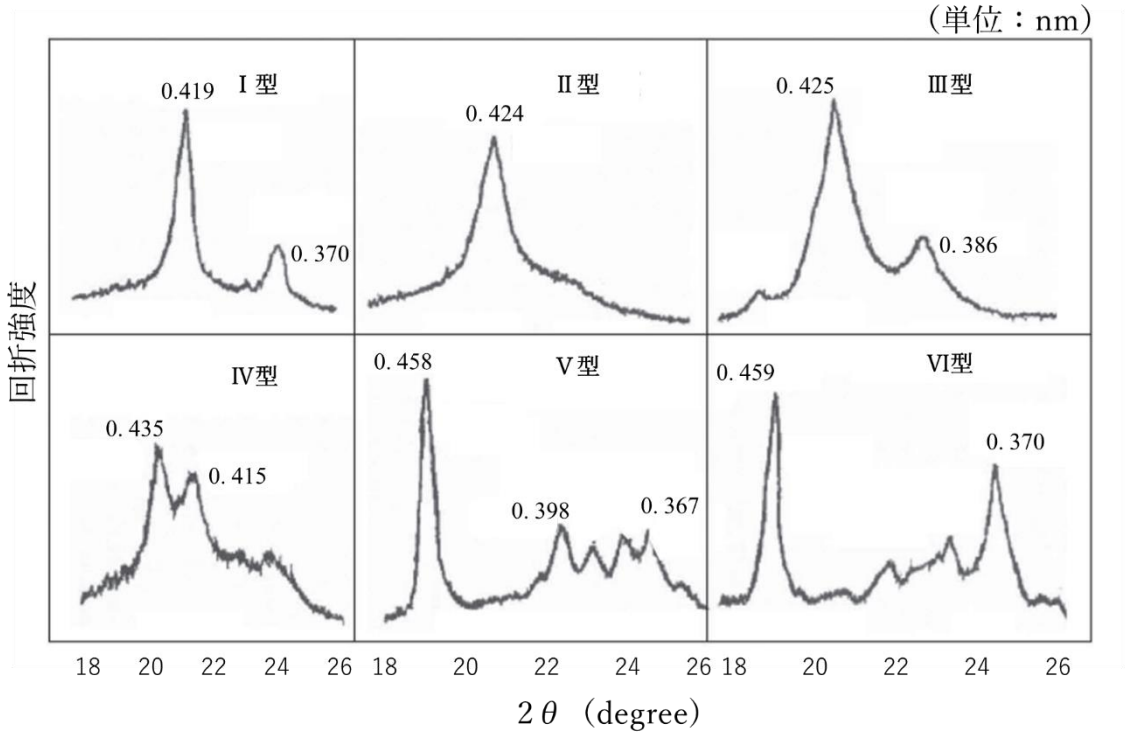


図 1-8　カカオ脂の結晶多形毎の XRD パターン [45)]

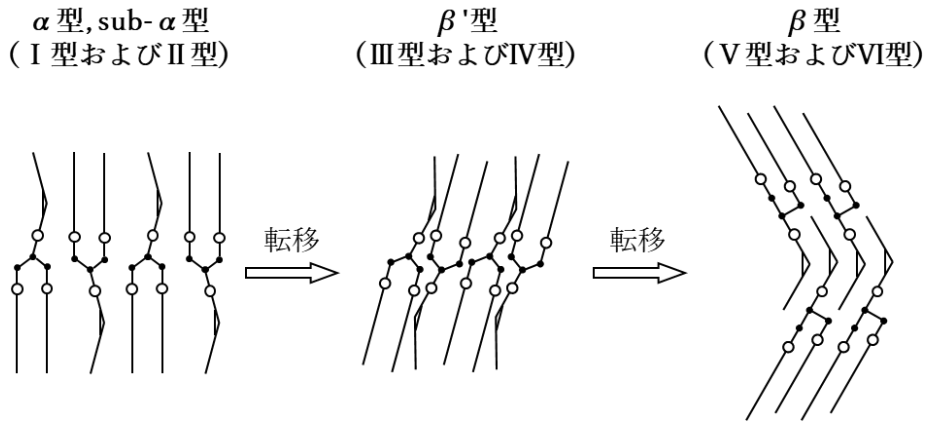


図 1-9　カカオ脂の多形毎の結晶構造モデル

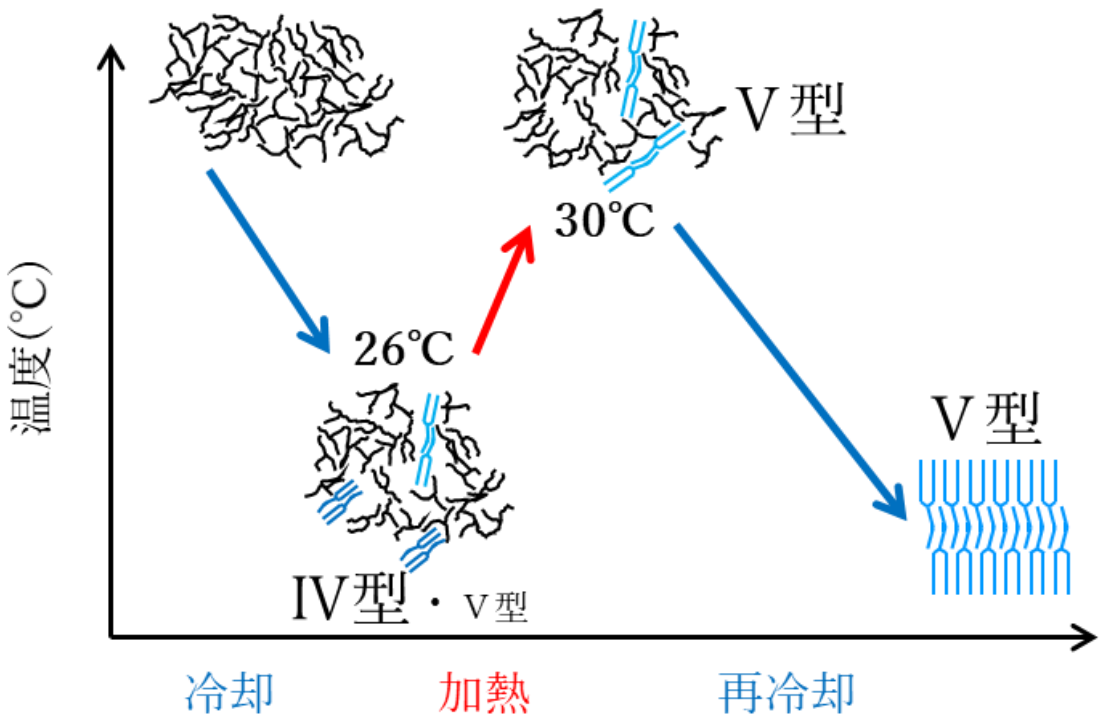


図 1-10　チョコレート製造時のテンパリングの模式図 [42, 44)]

カカオ豆生産が抱える課題

カカオの木（*Theobroma cacao, L.*）は中南米原産であり、16 世紀以降ヨーロッパ、アジア、アフリカへと渡った[46]。現在カカオ豆は西アフリカ、中南米および東南アジアで生産されているが、そのうち約 70%をコートジボワール、ガーナ等の西アフリカ諸国に依存しており、多くが小さな家族農園にて労働集約的に栽培されている[47,48]。またカカオ豆のほとんどを欧州、北米および東アジアにて消費されており、生産と消費の二極化が進んでいる（図 1-11）[49]。カカオ生産の抱える課題は、無計画な農地拡大による森林破壊、一部の強制的な児童労働の可能性、害虫被害やカカオの木の高齢化、そして気候変動による不安定な生産量、不十分な収入による生産者の疲弊と減少など多岐に渡り、持続可能性が極めて低い状況である。特に、需給ギャップの拡大は今後さらに深刻化が進む[48, 50, 51]。チョコレート消費量と一人当たりの所得には明確な正の傾向があり、今後新興国におけるチョコレート消費量の大幅な増加が見込まれる（図 1-12）[52]。一方、生産面では、農地拡大の余地はほぼなく、カカオ生産量上位 2 カ国は気候変動の影響を受け、栽培適性の低下が大いに懸念される[50]。これらのことから、2030 年以降は深刻なカカオの需給逼迫が予想され、生産量増加に向けた施策として、病害虫の制御、高収量品種の開発、農家の収入保証による離農抑制が推進されるが、十分な効果は未だ認められておらず、チョコレート産業全体であらゆる施策を有機的に組合せて推進する必要がある。カカオ脂においても同様に、代替油脂の利用を推進することでカカオ依存度を低下する必要がある。

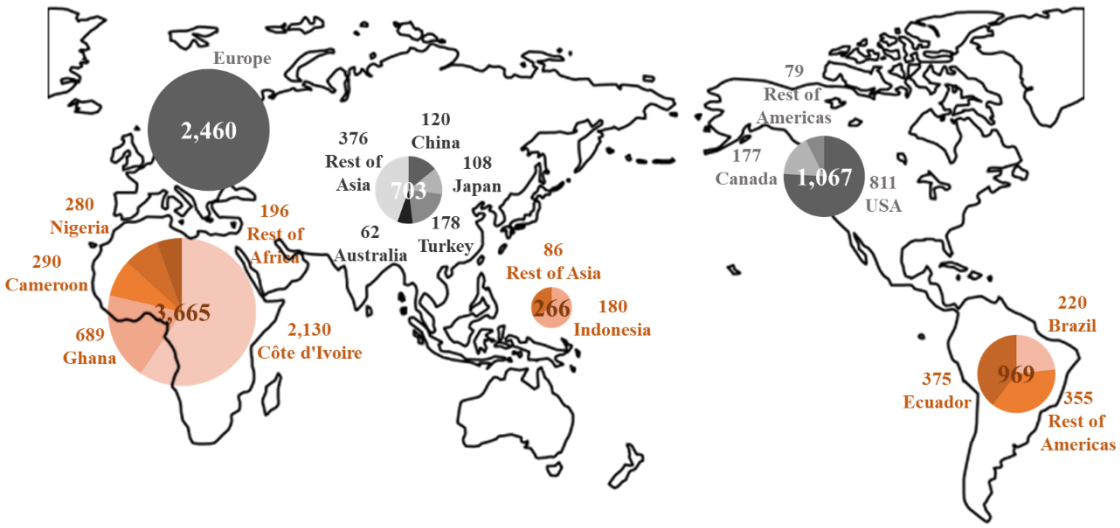


図 1-11　カカオ豆生産量（茶色）とカカオ原料輸入量（黒色）（千トン、2020/2021）の比較からわかる生産地と消費地の二極化 [49)]

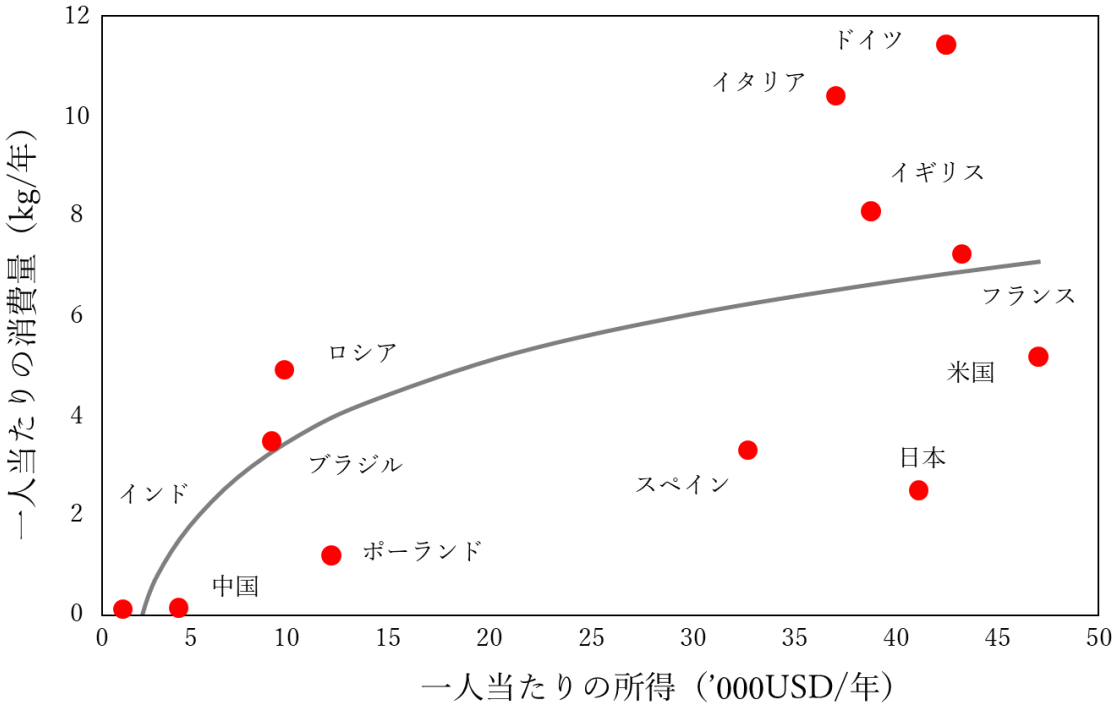


図 1-12　一人当たりのチョコレートの消費量と所得の相関 [51)]

カカオ代用脂

チョコレートおよびカカオ原料を含んだチョコレート様食品には、カカオ脂以外の植物油脂が配合される。植物油脂を配合する目的は、古くはカカオ脂代替による製品の価格抑制と、カカオ脂のみでは達成困難な製造工程の簡略化や製品への物理的機能の付与であった[53]。しかしながら、前述したカカオ脂需給バランスの崩壊に伴うチョコレート不足そして価格上昇の懸念により、カカオ脂を代替する油脂（Cocoa butter alternative: CBA）に大きな期待が寄せられている。CBA はその機能と油脂組成を基に 3 つに分類される[54,55]。カカオ代用脂（Cocoa butter equivalent: CBE）はカカオ脂類似の TAG 組成を有し、物理的性質も類似する。一般的に、CBE は POP に富むパーム油分別中融点画分と、シア脂等の SOS に富む天然油脂の混合油脂である。カカオ脂と任意の割合で相溶し、チョコレート製造時はテンパリングを必要とする。カカオ代替脂（Cocoa butter replacer: CBR）は、テンパリング操作が不要であり、カカオ脂に類似した脂肪酸組成を有するが TAG 組成は類似しない。そのためカカオ脂との相溶性は高くない。以前は液油の部分水素添加および分別により製造されていたが、トランス脂肪酸摂取の健康への影響が懸念されて以来、パーム油や液油の極度硬化油を原料としたランダムエステル交換油の利用が広がっている。カカオ置換脂（Cocoa butter substitute: CBS）はパーム核分別油等のラウリン酸含有油脂であり、カカオ脂と類似した物性を有する。テンパリング操作は不要で、素早い固化特性を有し、安価であることから日本以外の世界中で利用されている。脂肪酸組成および TAG 組成はカカオ脂と大きく異なり、相溶性は極めて低い。以上 3 種の CBA はチョコレート様食品に要求される価格や機能、物性に応じて製造者により選択される。

ファットブルーム

ブルームは、一般的に製造時または保管時の過失により引き起こされるチョコレート表面の外観不良を指し、特に、チョコレート中の油脂の構造変化により発現するものをファットブルームと呼ぶ[56,57]。ファットブルームが発現すると、チョコレート表面に白変やまだら模様が生じ、外観的にその魅力が大きく低下する（図 1-13)。ファットブルームが進行した場合、高頻度でチョコレートの内部構造においても油脂の相分離並びに結晶の粗大化が進行し、食感は硬く、さらには脆くなり、口溶けは悪化する[58]。このようなチョコレート品質の変化は消費者の購買行動や官能評価に悪影響し、そして賞味期限の設定に大きく影響することから製造者にとって極めて重要な課題である。チョコレート製品のファットブルームに関する研究は数十年にもおよび、いくつかの原因がすでに特定されている[6]。特に CBR や CBS を用いた非テンパリング型チョコレートでは、不適切な保管温度条件や被覆対象食品からの油脂移行をきっかけに、油相からカカオ脂の相分離が促進され、さらにIV型からＶ型への多形転移が進行することによりファットブルームが発現する[56,57]。このようなファットブルームの解決策として、チョコレートの品質面ではカカオ脂の多形転移を抑制する乳化剤の配合[59–61]や、CBR や CBS 部の組成改善によるカカオ脂相溶性の向上などが講じられる[62–67]。品質面以外では製造温度の最適化や、輸送・保管中の厳密な温度管理等の対策が実施されるが、生産コストや管理コストに大きく影響し、その効果も十分でない。したがって、製造時およびその後のいかなる条件においてもファットブルームを発現させない油脂の開発が強く望まれている。

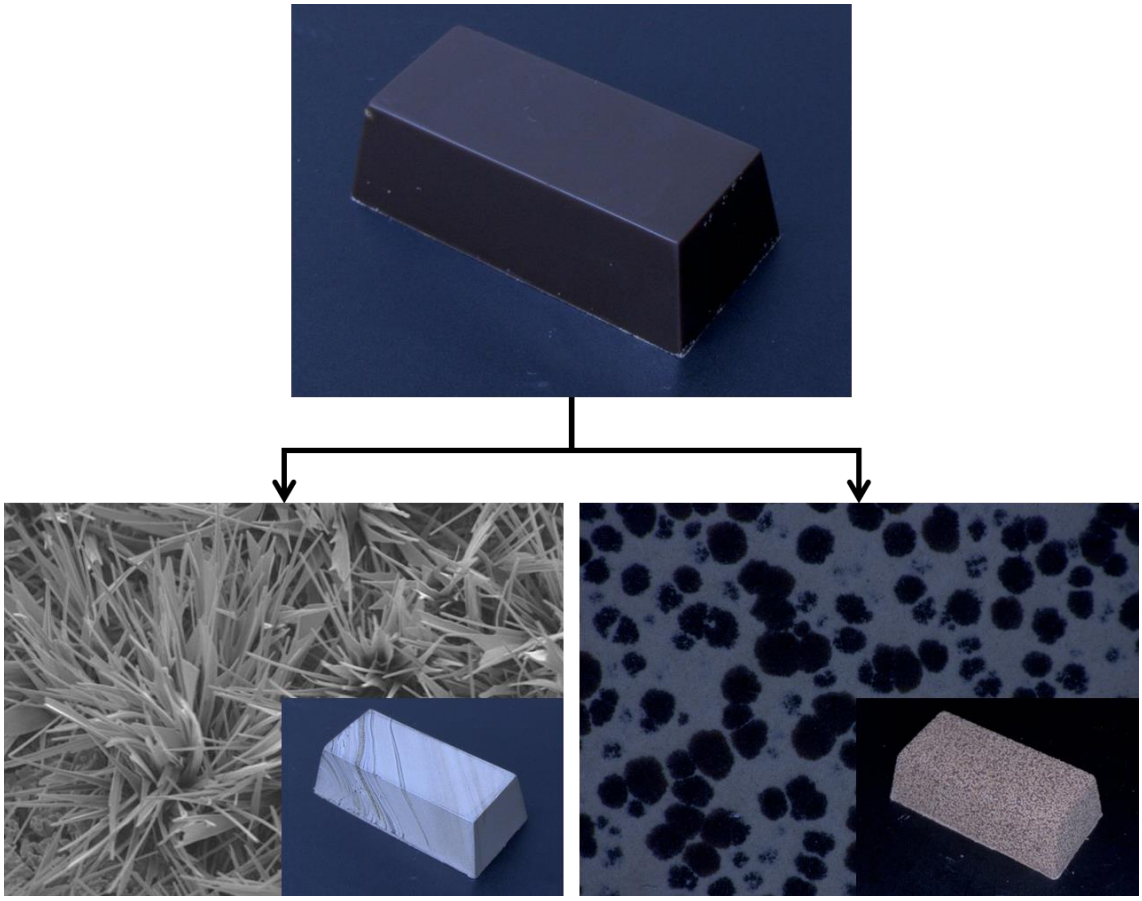


図 1-13　正常なチョコレートの外観（上）と、不適切な保管条件にて発生したファットブルーム外観（左下）、ならびに製造時の過失により発現したファットブルーム外観（右下）

これまで述べてきたように、チョコレート産業界はカカオ豆の生産における持続可能性の低下や、カカオ原料の需給バランスの崩壊などの課題に直面しており、その解決が望まれている。油脂産業界もまた、チョコレートにおけるカカオ脂の依存度の低下を目指した CBA の開発とその利用の推進が期待されている。チョコレートのおいしさを左右する物理的性質や、保存安定性はチョコレートに配合される油脂によって決定付けられることから、CBA の開発においては油脂結晶の物理化学的特性を理解し制御することが重要となる。特に、保存安定性を高めた CBA の開発は、SDGs 目標 12 の「作る責任、使う責任」の達成に貢献でき、積極的に取り組むべき課題といえる。以上の背景を鑑み、本研究では保存性を高めた CBA の開発を試みた。本研究ではカカオ脂に豊富な TAG が MC を形成することに着眼し、MC を活用した CBA の機能評価を実施した。以下に本研究の検討内容を列記する。

第 2 章では、カカオ脂に豊富な SOS と等モルで MC を形成することが知られる SSO および OSO に着目し、SOS/SSO/OSO の 3 成分混合物を網羅的に調製し、混合相挙動の解析を XRD 測定及び DSC 測定にて試みた。また、混晶を形成した特異な 3 成分混合物に対して、SR-XRD 測定を実施し、混晶の形成過程の解明を試みた。

第 3 章では、第 2 章で混晶の形成を認めた 3 成分混合物の SOS をカカオ脂に置換したカカオ脂/SSO/OSO（カカオ脂割合約 50%）を調製し、XRD 測定による混合相挙動の系統的な解析や、DSC を用いた熱流的解析、更にはパルス NMR 分光光度計を用いた固体脂含量（SFC）測定により油脂物性の解析を実施した。さらにこの 3 成分混合物を油相とするチョコレート生地を調製し、単純冷却にて得たチョコレート試料の物性や保存安定性を評価することにより、カカオ代用脂としての有

用性を評価した。

第 4 章では、MC を活用した高い保存安定性を備えた CBS の開発を目指し、SOS と OSO を等モルで混合し、この混合物を CBS に豊富な LLL と混合した 3 成分混合物 LLL/SOS/OSO を調製し、SR-XRD 測定および DSC を用いて冷却昇温過程における結晶化挙動及び融解挙動を解析した。更に偏光顕微鏡観察（Polarized Optical Microscopy: POM）にて結晶形態観察を実施し、これらの検討により LLL/SOS/OSO の 3 成分混合挙動の解析を実施した。

第 5 章では、等量混合したカカオ脂および OSO 脂の混合油脂と CBS を混合した 3 成分混合油脂を調製し、SFC 測定による融解挙動解析および XRD 測定による結晶構造解析を実施した。更に 3 成分混合油脂を油相としたコンパウンドチョコレートを調製し、硬さ評価により喫食評価および耐熱性評価を実施するとともに、冷却挙動の評価により製造適正を評価した。さらにコンパウンドチョコレートを保存試験に供し、保存安定性を評価した。これらの検討により CBS/OSO/カカオ脂のカカオ代用脂としての機能評価を実施した。

第 2 章 1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol/1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol の 3 成分混合物の特性解析

第 1 節　　はじめに

油脂は食品や化粧品、医薬品にも配合され、最終製品の物理的性質の一端を担う。したがって、油脂を構成する TAG の混合相挙動の理解は、最終製品の物理的性質の制御に極めて重要である[68–70]。そのため古くから単一 TAG の物理化学的性質の解析[12–20, 71, 72]や、2 成分混合相挙動の解析が数多く実施された[26, 28, 31, 32, 73]。しかし、私たちが口にする食品のほとんどが多成分でかつ非平衡状態であることから、一般的な構造解析手法である XRD 測定、赤外分光法、ラマン分光法、そして核磁気共鳴法では得られる情報に限りがあった。しかし、高エネルギー物理実験用加速器の進歩により、TAG の混合物の複雑な多形転移現象に対して、SR-XRD を用いた速度論的な解析が可能となり、油脂結晶の相挙動に対する研究が飛躍的に発展した[29,30,33,35–39,74–86]。Kellens らは、油脂のモデル系として PPP、SSS およびこれらの混合物を用いて、それまで観察が困難であった油脂の結晶化、多形転移および融解などの動的な挙動を SR-XRD にてその場で観察することに成功した[74–76]。また Sato らは、単一飽和脂肪酸型 TAG と比較して、複雑な相挙動を示す不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする混酸型 TAG に関して、SOS をモデル分子とした動的な解析を SR-XRD 測定にて実施し、秒から分単位で起こる融液媒介転移を詳細に解析している[77]。さらに、Yoshikawa らは共晶を形成する SOS と LLL の 2 成分混合物において、LLL に対する SOS の固溶限界が熟成過程でどのように変化するかを SR-XRD を用いて極めて詳細に解析し、その結果、SOS の LLL に対する固溶限界は、熟成前は 7.5 から 10%であったが、熟成後には 2.5%未満となり、5%以上も低下することを明らかとした[27]。近年はより複雑な挙動を示す 3 成分混合物[79, 80]や天然

油脂[81,82]、さらには水中油型乳化物[83–85]に対しても SR-XRD 測定を適応する例が報告されている。Arima らは、パーム中融点画分を油相とする水中油型乳化物中の油脂結晶の配向性について、放射光マイクロビーム XRD を用いて解析した結果、界面結晶化を促進する乳化剤により析出した油脂結晶が、油水界面に平行な方向に配向している様子を初めて確認した[85]。以上の報告例のように、多成分系でかつ非平衡状態である食品において、SR-XRD 測定は強力な解析手法として活用されており、本研究でも、SOS/SSO/OSO からなる 3 成分混合相の特性解析を実施した。SOS はカカオ脂の主要な TAG であり、その多形制御はチョコレートの品質維持に極めて重要である[77]。一方、SSO および OSO は、SOS と等モルで MC を形成し、構成 TAG と異なる物理化学的性質を示すことが知られている[30–32]（図 2-1 及び表 2-1）。特に SOS の結晶多形が複雑であるのに対し、2 種の MC の結晶多形は比較的単純であり、制御が容易であることが推察される。実際に Takeuchi らは、SOS/SSO の 2 成分混合系において、SOS が 50%でない混合物の DSC 測定による熱流解析や SR-XRD 測定にて速度論的解析を実施し、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ の結晶化が、SOS や SSO の結晶化と比べて早いことを認めている[30]。この理由として両者の鎖長構造の違いを考察しており、実製品への活用に期待を寄せている。また Koyano らは、SOS と OSO の 2 成分混合相挙動の解析を進めた結果、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β 型の析出速度が α 型の析出速度より早く、したがってテンパリング操作なしに安定な β 型を有する油脂を得ることができる点について触れている[32]。Koyano らはさらに、カカオ脂と OSO を等量混合した油脂を配合し、テンパリングせずに調製したチョコレートの物理的性質の評価を進め[87]。その結果、テンパリング済みのチョコレートと比較して融解挙動は近似し、一方で柔らかく可塑性を有する β 型の安定多形を有するチョコレートが得られたことを報告しており、従来手法では製造でき得なかった新たな物性を有するチョコレートの開発に期待を寄せている。以上の報告

より、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ および $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の油脂素材としての活用は、良好な作業性や高い保存安定性などをチョコレートに付与でき、従来のチョコレートから改善が期待できる点で興味深いものの、実用化した例は限られている。さらに、2 種の MC の一挙に活用することにより、双方の特徴を両立した油脂素材となる可能性が期待されるが、SOS/SSO/OSO の 3 成分混合相挙動を解析した例は見当たらない。そこで本研究では SSO や OSO を活用した新たな CBA の創出を目指し、SOS/SSO/OSO の 3 成分混合相の特性を網羅的に解析した。

表 2-1　SOS、SSO、OSO、および $MC_{SOS/SSO=1/1}$、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の多形毎の融点(℃)、長面間隔（nm)、鎖長構造 [30–32, 72)]

TAG	SOS					SSO		OSO		
結晶多形	α	γ	β'	β_2	β_1	α	β'	α	β'	β
融点（ºC)	23.5	35.4	36.5	41.0	43.0	31.6	41.4	−6.0	n.i.	25.0
長面間隔(nm)	4.83	7.05	7.00	6.50	6.50	8.50	7.08	5.20	4.50	6.50
鎖長構造	2	3	3	3	3	3	3	2	2	3

TAG	$MC_{SOS/SSO=1/1}$			$MC_{SOS/OSO=1/1}$	
結晶多形	α	β'	β	α	β
融点（ºC)	27.5	34.0	40.6	n.i.	36.0
長面間隔(nm)	5.46	5.00	4.56	n.i.	4.50
鎖長構造	2	2	2	2	2

n.i.; Not identified.

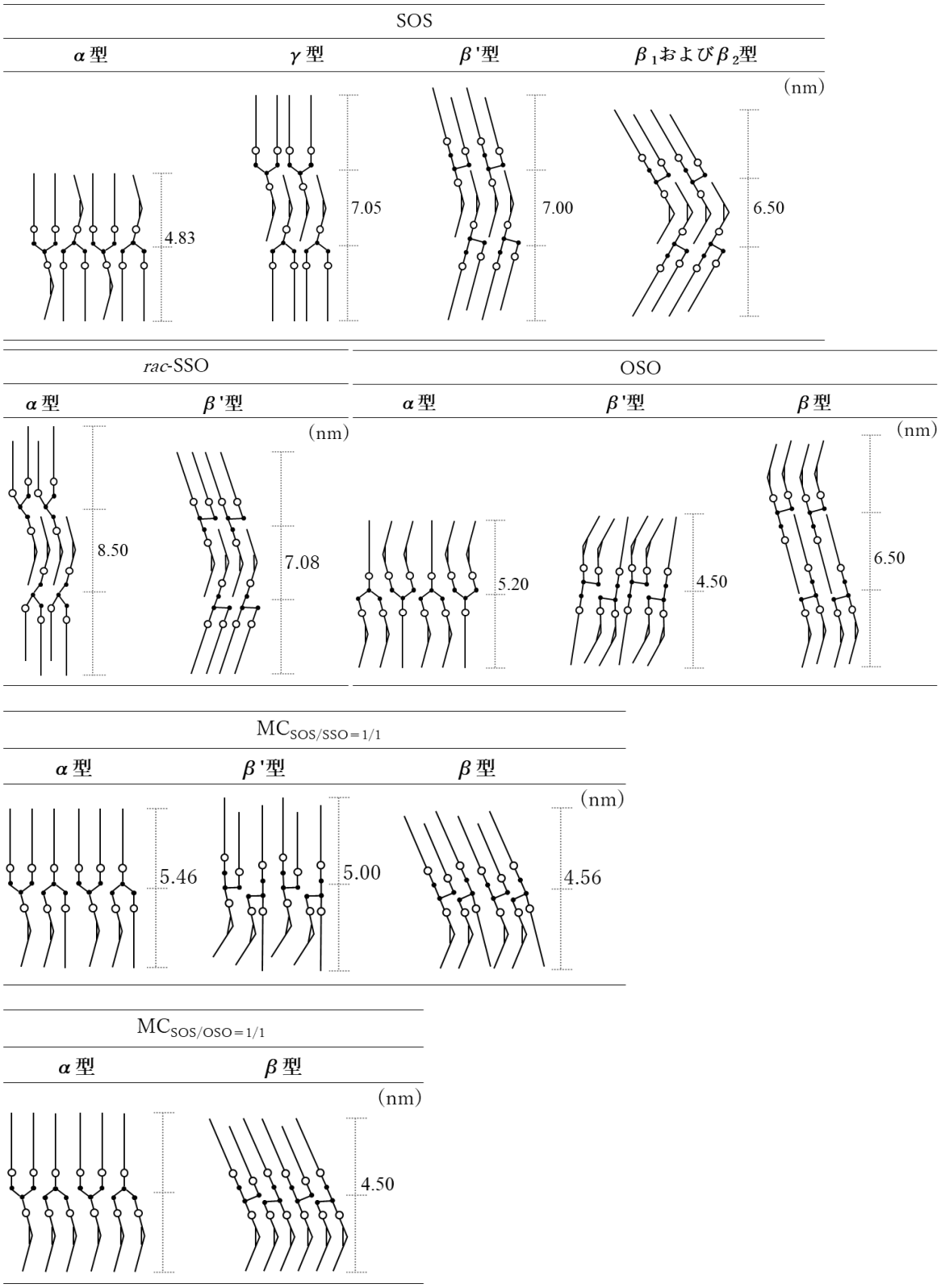


図 2-1　SOS、SSO、OSO、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ および $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の多形毎の結晶構造モデル図 [30–32, 72)]

第 2 節　　材料および方法

第 1 項　試料の調製

SOS、SSO および OSO（純度は 99%以上）は月島食品（株）（東京）より購入した。バイアル瓶に各 TAG を秤量し、60℃にて融解させ、十分に攪拌して SOS/SSO/OSO 融液試料を調製した。SOS/SSO/OSO の混合比（重量基準）は、70/0/30、70/10/20、70/20/10、70/30/0、60/0/40、60/10/30、60/20/20、60/30/10、60/40/0、50/0/50、50/10/40、50/20/30、50/25/25、50/30/20、50/40/10、50/50/0、40/0/60、40/10/50、40/20/40、40/30/30、40/40/20、40/50/10、40/60/0 となるよう調製した。

第 2 項　示差走査熱量計（DSC）測定による融解挙動解析

DSC 測定により結晶化および融解挙動を解析した（使用機器：Q-10，TA Instruments Japan Inc.，東京）。混合試料を 80℃にて完全融解させ、十分に攪拌後、専用アルミセルに 6.0 ± 0.5 mg 秤量した。最安定型の調製は、試料を封入したアルミセルを 60℃で完全融解させ、5℃で 1 hr 冷却固化後、28℃にて 10 日間熟成させることにより実施した。測定条件は、初期温度を 20℃、最終温度を 50℃とし、その間 2℃/min の速度で加熱した。複数の結晶が同時に融解することで融解ピークの重なりが認められた場合は、OriginPro software（ORIGIN 2015，OriginLab Co.，東京）を用いて各融解ピークをデコンボリューション処理した。

第 3 項　XRD 測定

混合試料の結晶多形解析のために XRD 測定を実施した。第 2 項で調製した混合試料を 80℃で融解し、専用セルに約 5.0 μL 滴下した。その後、DSC 測定による融解挙動解析に用いた試料と同様にして最安定型を調製した。測定は粉末 X 線回折装置（Ultima IV X-ray-diffractometer，㈱リガク，東京）を用いた。測定条件は以

下の通りである。

[XRD 測定条件]

X 線　Cu-Ka 線　X 線波長　0.154 nm、

出力　1.6 kW (40 kV-40 mA)

サンプリング幅　0.03 degree.　スキャンスピード　3.00 degree/min

開始角度　1 degree　終了角度　30 degree

散乱スリット　開放　受光スリット　開放

安定型の結晶構造測定時　20℃

融解挙動測定時　初期温度 10℃、最終温度 45℃、昇温速度 2℃/min

第 4 項　放射光 X 線回折（SR-XRD）測定

混合試料の結晶析出、多形転移および融解挙動の速度論的な測定は、高輝度光科学研究センター内大規模放射光施設（SPrinig-8）にて実施した。測定試料は両面をポリイミドフィルムで封印したアルミニウムセル（内径 1.5 mm×1.5 mm, 厚さ 2 mm)に封入した。測定温度は Linkam 10021（ジャパンハイテック㈱, 千葉）で制御し、初期温度は 60℃、その後－20℃まで 2℃/min の速度での冷却と 10 min の保持、そして 60℃まで 2℃/min の速度で昇温した。その他の条件は以下である。

[SR-XRD 測定条件]

X 線波長　0.049 nm　エネルギー　24 keV

カメラ長　780 mm　検出器　PILATUS3　2M

第 3 節　　結果と考察

第 1 項　最安定型の DSC 測定による融解挙動解析

図 2-1 に 3 成分混合物の熟成処理後の融解挙動を示した。図 2-1(a)の SOS/SSO/OSO が 70/0/30 および 70/10/20 では融解ピークの分離が認められ、SOS/SSO/OSO が 70/20/10 および 70/30/0 ではブロードな融解ピークが認められた。また、SOS60%では全混合物においてブロードな融解ピークとなった（図 2-1(b)）。これらの融解ピークはデコンボリューション解析により、各図中において点線に示した 31℃から 35℃の温度域に融解開始温度（Tm 値）を有する融解ピークと、35℃から 40℃の温度域に Tm 値を有する融解ピークに分離された。SOS40%では、SOS/SSO/OSO が 40/0/60、40/10/50、40/20/40 および 40/30/30 では 20℃から 25℃の温度域に分離した融解ピークが認められ、SOS/SSO/OSO が 40/40/20 から 40/60/0 では 40℃付近にブロードな融解ピークが認められた（図 2-1(d)）。これらもデコンボリューション解析により、各図中において点線に示すように複数の融解ピークの重なりが確認された。以上より、SOS が 70%、60%および 40%の混合物では、DSC 測定による融解挙動解析において分離した融解ピークもしくは、複数の融解ピークの重なりが認められたことから共晶を形成している判断された。一方、SOS が 50%の混合物では、鋭い単一の融解ピークが観察されたことから（図 2-1(c)）、混晶を形成していると推察された。

表 2-2 には、本研究で検討した全 23 種の混合物の Tm 値をまとめた。この表中には、後述する XRD 解析結果に基づき帰属した結晶多形を、各 Tm 値に対応するよう併記した。まず、SOS50%の混合物では、単一の融解ピークを認めたことと、後述する XRD 解析の結果より、全ての構成 TAG が 2 鎖長構造を有する β 型の混晶を形成したと判断した。SOS と SSO もしくは SOS と OSO は等モルで MC を形成する [30–32, 72]ことを鑑みると、SSO と OSO の和と SOS がほぼ等モルとなる

SOS50%の混合物で混晶を形成した機構として、SOS 分子を SSO と OSO が分け合った結果、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ を形成し、この 2 種の MC が混晶を形成したものと推察した。なお、図 2-2 に示した熱力学的に平衡状態にある 3 成分混合物の状態図のうち、SOS50%の混合物の状態図（図 2-2(c)）中に点線で示した線は、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が形成する混晶の液相線であり、OSO 濃度が 10%の点を除いて OSO 濃度依存的に低融点側へシフトする挙動であった結果からも、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が混晶を形成すると推察された。なお、一貫した挙動でない OSO 濃度が 10%の点については後にさらなる解析を加えている。次に、SOS70%および SOS60%の混合物では、異なる 2 つの融解挙動を認めたことから 2 種の MC の混晶と MC を形成しなかった SOS が共晶を形成していると推察した。また XRD 解析結果を踏まえると、いずれの混合物の場合も低融点側の融解ピークは 2 種の MC のβ型の混晶の融解に由来し、高融点側の融解ピークは MC を形成できず相分離した SOS のβ型の融解に由来するものと判断した（図 2-2(a)および図 2-2(b)）。SOS40%については、以下のように極めて複雑な混合相挙動を示すことが明らかとなり、より正確な相挙動に理解にはさらなる解析が必要と考えられる。OSO 濃度が 50%および 60%においては、25℃付近の融解ピークと 35℃付近の融解ピークはそれぞれ OSO のβ型の融解に由来するものと、2 種の MC のβ型の混晶の融解に由来するものと推察し、この混合濃度域ではこれら 2 つの結晶が共晶を形成していると推察した。OSO 濃度が 30%および 40%では、20℃付近の融解ピークは OSO のβ型の融解に由来し、高温域のブロードな融解ピークは、SSO のβ'型と 2 種の MC のβ型の混晶が連続して融解したことに由来するものと推察し、この濃度域では OSO のβ型、SSO のβ'型そして 2 種の MC のβ型の混晶が共晶を形成していると推察した。OSO 濃度が 0%、10%、20%および 30%においては、35℃付近と 40℃付近の融解ピークは、それぞれ SSO のβ'型の融解と 2 種の MC の

β型の混晶の融解に由来するものと推察し、この濃度域では SSO のβ'型と 2 種の MC のβ型の混晶が共晶を形成していると推察した。これらの結果を図 2-2(d)に状態図を作図したが、非常に複雑な状態図を示した。しかしながら、SOS40%の混合物に関しては、OSO 濃度が 30%から 40%の間の濃度域での正確な挙動を把握できてないなど、十分な混合相挙動の理解に至っておらず、今後詳細な解析が必要と考えられる。SOS50%の混合物において、前述の通り、2 種の MC のβ型の混晶を形成している可能性が高いと推定される一方で、OSO 濃度が 0%から 10%においてTm 値が低下し、10%から 20%の間では Tm 値は上昇し、20%から 50%までは緩やかに低下するという一貫しない Tm 値の挙動を認めていた。この結果からはSOS50%の混合物が混晶を形成すると断言できなかったことから、SOS50%の混合物の DSC 測定による融解挙動に対してさらに解析を実施した。その結果、ピークトップ温度とオフセット温度を解析したところ、これらの温度は OSO 濃度に依存して低温度側にシフトすることが確認された（表 2-3 及び図 2-3）。以上の解析結果と SOS50%の全混合物の鋭い DSC 測定による融解挙動解析から得られた融解ピークから、SOS50%の混合物は全て混晶を形成していると判断した。

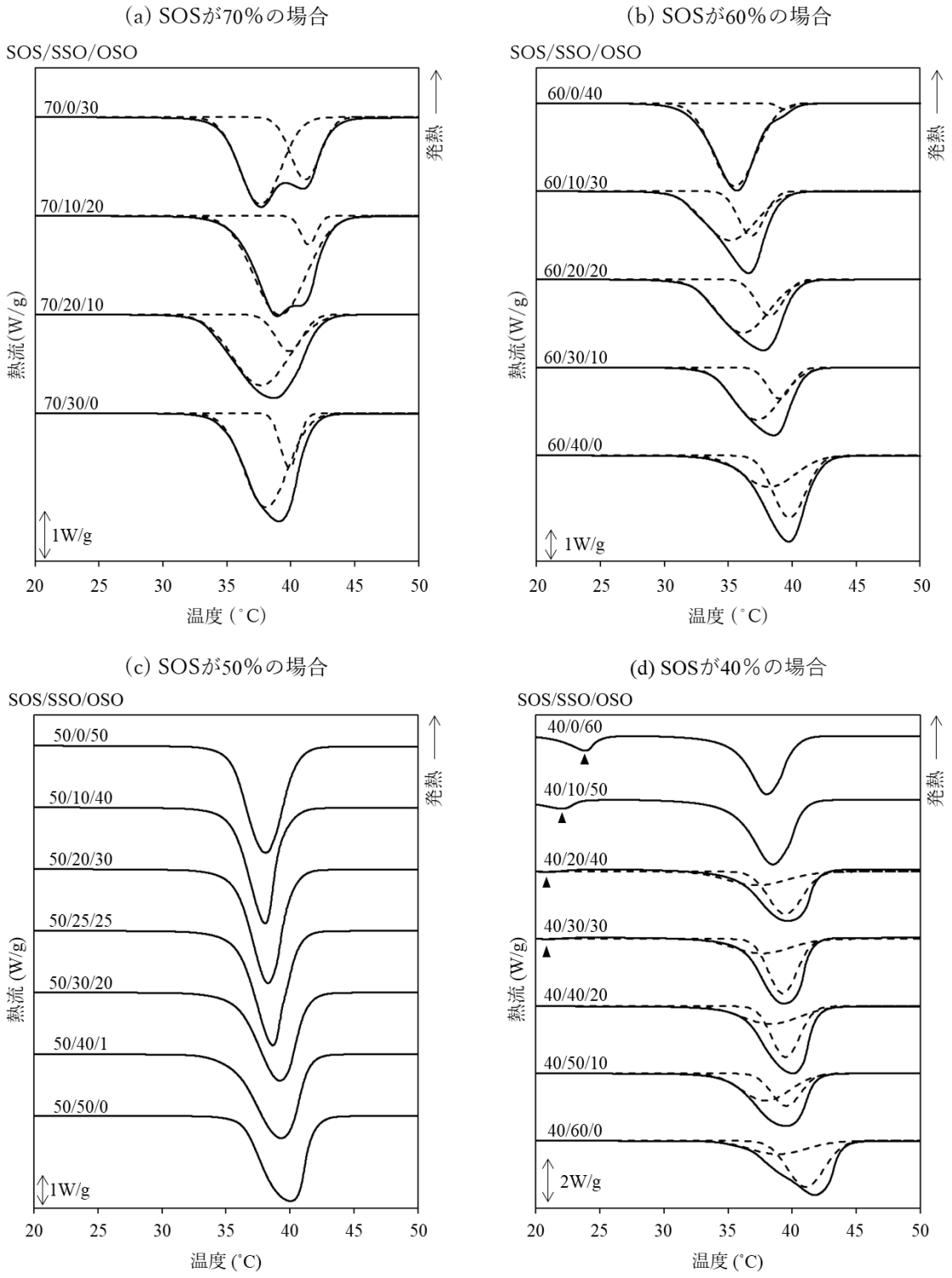


図 2-1　28℃10 日間で熟成処理した(a) SOS70%、(b) SOS60%、(c) SOS50%、および(d) SOS40%の 3 成分混合物の昇温過程における融解ピーク（実線：実測融解ピーク、点線：デコンボリューション結果、測定条件；20℃→50℃、2℃/min）

表 2-2　3 成分混合物の融解開始温度（Tm）と対応する油脂及び結晶多形

SOS が 50%の場合

混合比	Tm(℃)	融解結晶とその多形
50/0/50	35.3	$MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2
50/10/40	35.5	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
50/20/30	35.8	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
50/25/25	36.2	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
50/30/20	36.3	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
50/40/10	35.7	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
50/50/0	36.6	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ β-2

SOS が 70%の場合

混合比	Tm(℃)	融解結晶とその多形
70/0/30	34.5	$MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2
	38.9	SOS β-3
70/10/20	35.2	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
	40.2	SOS β-3
70/20/10	33.3	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
	37.8	SOS β-3
70/30/0	34.7	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ β-2
	38.5	SOS β-3

表 2-2 続き　3 成分混合物の融解開始温度（Tm）と対応する油脂及び結晶多形

SOS が 60%の場合

混合比	Tm(℃)	融解結晶とその多形
60/0/40	32.1	$MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2
	38.4	SOS β-3
60/10/30	31.0	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
	34.8	SOS β-3
60/20/20	32.1	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
	36.1	SOS β-3
60/30/10	33.6	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
	37.1	SOS β-3
60/40/0	34.2	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ β-2
	37.3	SOS β-3

表 2-2 続き　3 成分混合物の融解開始温度（Tm）と対応する油脂及び結晶多形

SOS が 40%の場合

混合比	Tm(℃)	融解結晶とその多形
40/0/60	20.8	OSO β-3
	35.7	$MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2
40/10/50	18.0	OSO β-3
	37.2	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
40/20/40	15.3	OSO β-3
	32.6	n.i.
	36.9	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
40/30/30	33.3	SSO β'-3
	36.5	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
40/40/20	33.9	SSO β'-3
	37.3	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
40/50/10	34.2	SSO β'-3
	37.3	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混晶 β-2
40/60/0	34.5	SSO β'-3
	38.2	$MC_{SOS/SSO=1/1}$ β-2

n.i.; Not identified

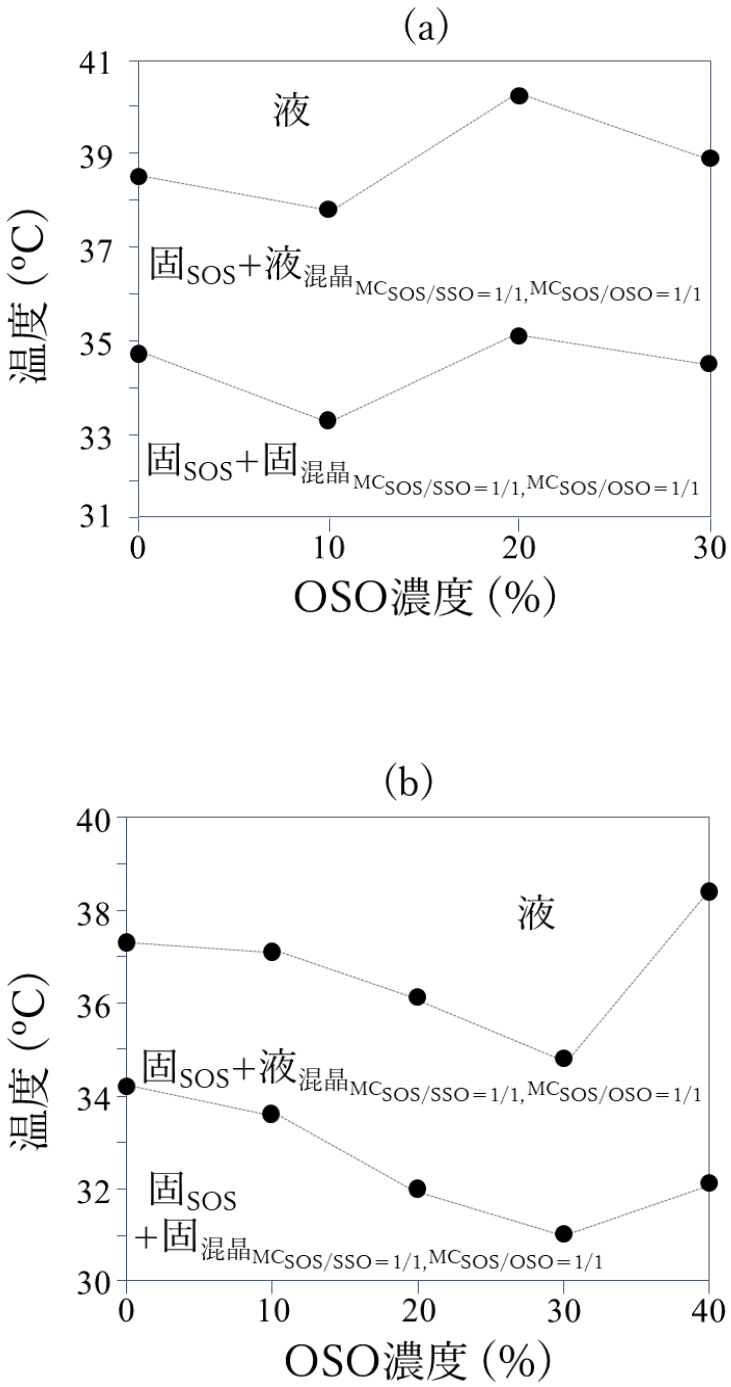


図 2-2　28℃10 日間で熟成処理した 3 成分混合系の融解挙動解析結果および XRD 解析結果より描写した状態図　(a) SOS70%の混合物、(b) SOS60%の混合物、(c) SOS50%の混合物および(d) SOS40%の混合物

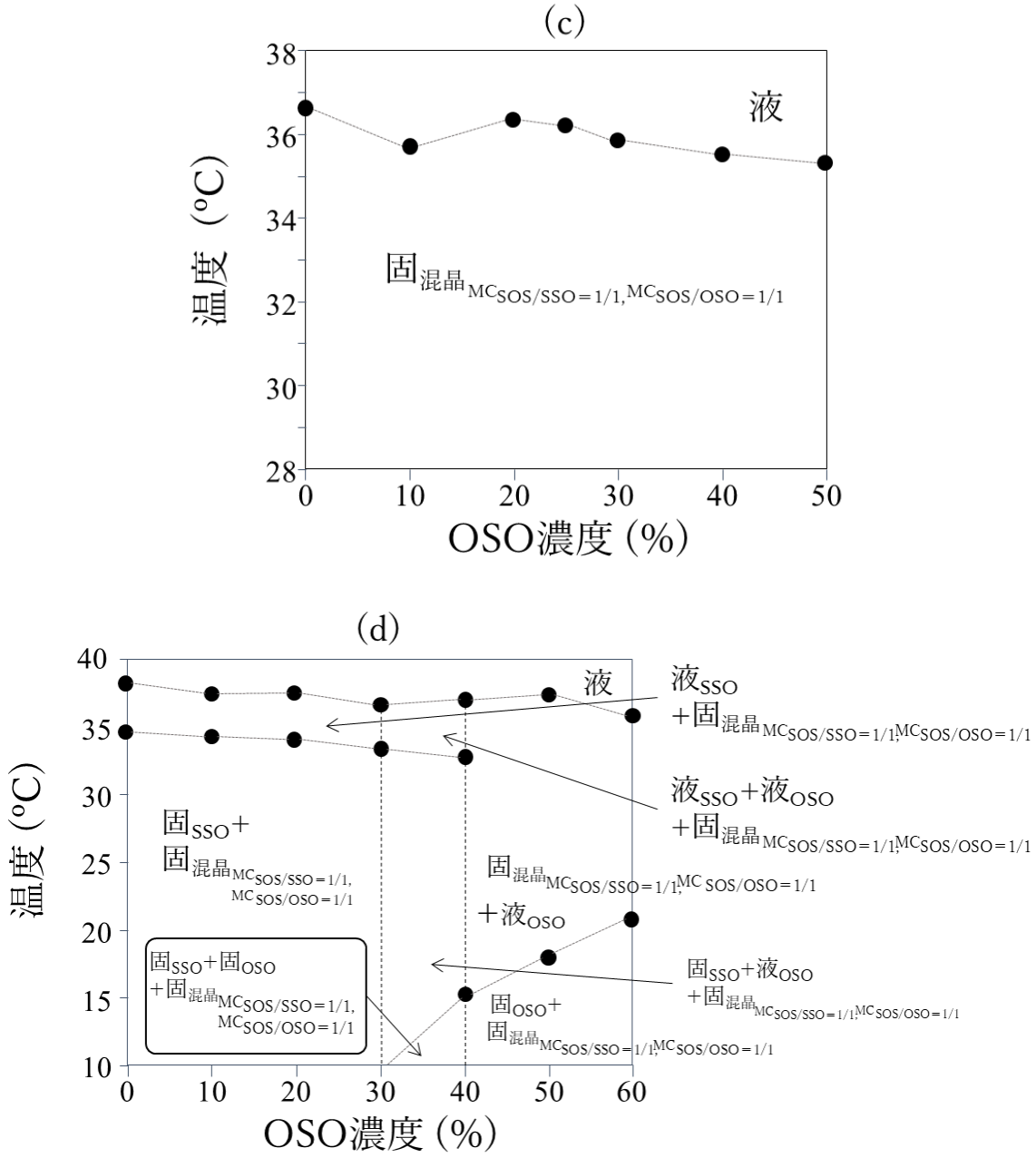


図 2-2 の続き　28℃10 日間で熟成処理した 3 成分混合系の融解挙動解析結果および XRD 解析結果より描写した状態図　(a) SOS70%の混合物、(b) SOS60%の混合物、(c) SOS50%の混合物および(d) SOS40%の混合物

表 2-3　28℃10 日間で熟成処理した 3 成分混合物 SOS50%/SSO/OSO の融解ピークにおけるピークトップ温度とオフセット温度（測定条件；20℃→50℃、2℃/min）

SOS/SSO/OSO	ピークトップ温度 (℃)	オフセット温度 (℃)
50/0/50	38.1	40.6
50/10/40	38.2	40.8
50/20/30	38.3	41.2
50/25/25	38.6	41.6
50/30/20	39.2	42.1
50/40/10	39.4	42.2
50/50/0	39.9	43.0

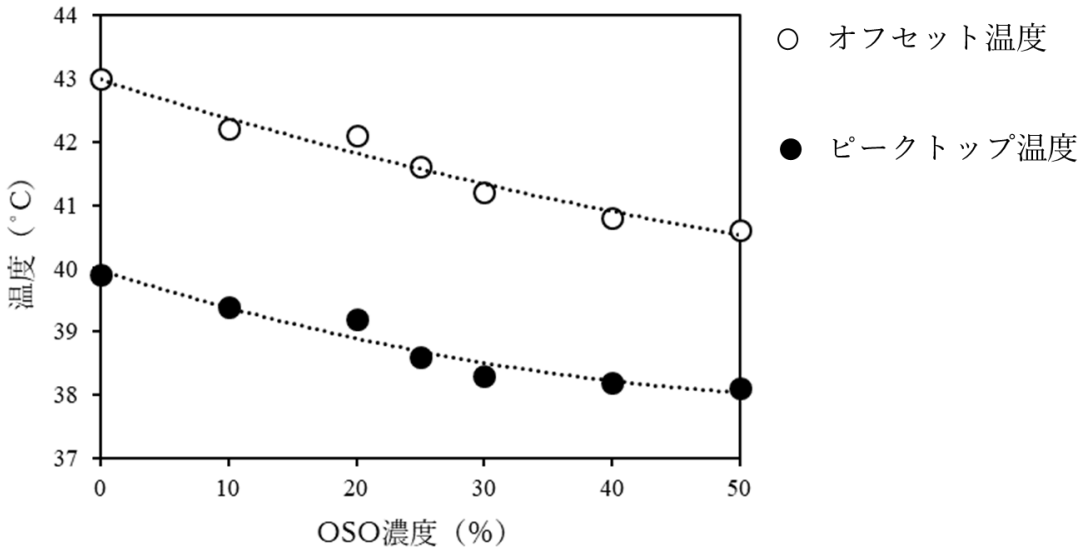


図 2-3　28℃10 日間で熟成処理した 3 成分混合物 SOS50%/SSO/OSO の融解ピークにおけるピークトップ温度とオフセット温度（測定条件；20℃→50℃、2℃/min）

第 2 項　最安定型の XRD 測定による結晶構造解析

図 2-4 は、SOS 濃度が 70、50、40%の場合での SSO、OSO 濃度が異なる 3 成分混合物 SOS/SSO/OSO の 20℃における最安定多形の XRD パターンを示している。全ての混合物の広角散乱領域に 0.46 nm と 0.37 nm の回折ピークを認めたことから、結晶多形は β 型であると判断された。一方、小角散乱領域の XRD パターンでは SOS が 70%および 40%の混合物と、50%の混合物では異なる挙動を示した。まず SOS50%の混合物では 4.6 nm と 1.5 nm の回折ピークが観察された。これらの回折ピークは MC の β 型結晶の 2 鎖長構造の長面間隔の 001 および 003 反射に対応することから、SOS が 50%の場合の 3 つの混合物では 2 鎖長 β 型構造（β-2）が形成されていると推察された。また、SOS が 70%と 40%の混合物では、前述の 2 鎖長構造に由来する回折ピーク（4.6 nm と 1.5 nm）に加えて 3.2 nm にピークが認められた。この 3.2 nm のピークは SOS もしくは OSO の β 型 3 鎖長構造（β-3）の長面間隔（6.5 nm）または、SSO の β'型 3 鎖長構造（β'-3）の長面間隔（6.5 nm）の 002 反射に対応する。現時点では、このピークがいずれの TAG に対応するかは判別不能であるものの、いずれの場合でも β-2 型および 3 鎖長構造体の小角 X 線回折（SAXD）ピークが共存していることより、SOS が 70%および 40%の 3 成分混合物は共晶を形成しているものと判断され、図 2-1 の DSC 測定による融解挙動解析結果とも一致する結果であった。

次に 3 成分混合系の最安定多形の融解挙動を詳細に明らかにするために、熟成処理をした SOS/SSO/OSO が 50/25/25 の混合物について、10℃から 45℃付近までの昇温過程における XRD パターンを観察した。図 2-5(a)には、昇温過程における回折パターンの変化を示し、図 2-5(b)には、2 鎖長構造に由来する 4.6 nm の回折ピークの回折強度推移を、温度を横軸に描写したグラフを示している。その結果、4.6 nm の SAXD ピーク強度が表 2-2 の Tm 値に極めて近似した 37℃付近

で減衰を開始する様子を確認した。この結果は、本混合物の安定型は MC の β-2 型のみであることを示している。図 2-6 は熟成処理をした SOS/SSO/OSO が 40/40/20 の混合物の XRD 測定結果を示している。2 鎖長構造由来の 4.6 nm の SAXD ピークの減衰開始温度は 37℃付近であったが、3 鎖長構造由来の 3.2 nm の SAXD ピークの減衰開始温度は 35℃付近であった。前者のピークは MC の β-2 型の融解に対応し、後者は 3 鎖長構造を有する TAG 結晶の融解に対応することから、MC 結晶を形成する SOS/SSO/OSO の 3 成分混合物の β-2 型は 37℃付近で融解を開始、β'-3 型 TAG は 35℃付近で融解を開始したと結論付け、共晶を形成する TAG は SSO と推測した。これらの結果は、DSC 測定で得られた結果と一致する（表 2-2)。ここまでの SOS/SSO/OSO の 3 成分混合物の最安定多形に対する DSC 測定による融解挙動解析および XRD 解析の結果を表 2-2 にまとめて示した。SOS が 50%の 3 成分混合物では MC の β-2 型が混晶を形成し、SOS を 70%、60%および 40%含む混合物では 3 成分からなる MC と MC を形成しなかった過剰な TAG が共晶を形成していると結論付けられた。

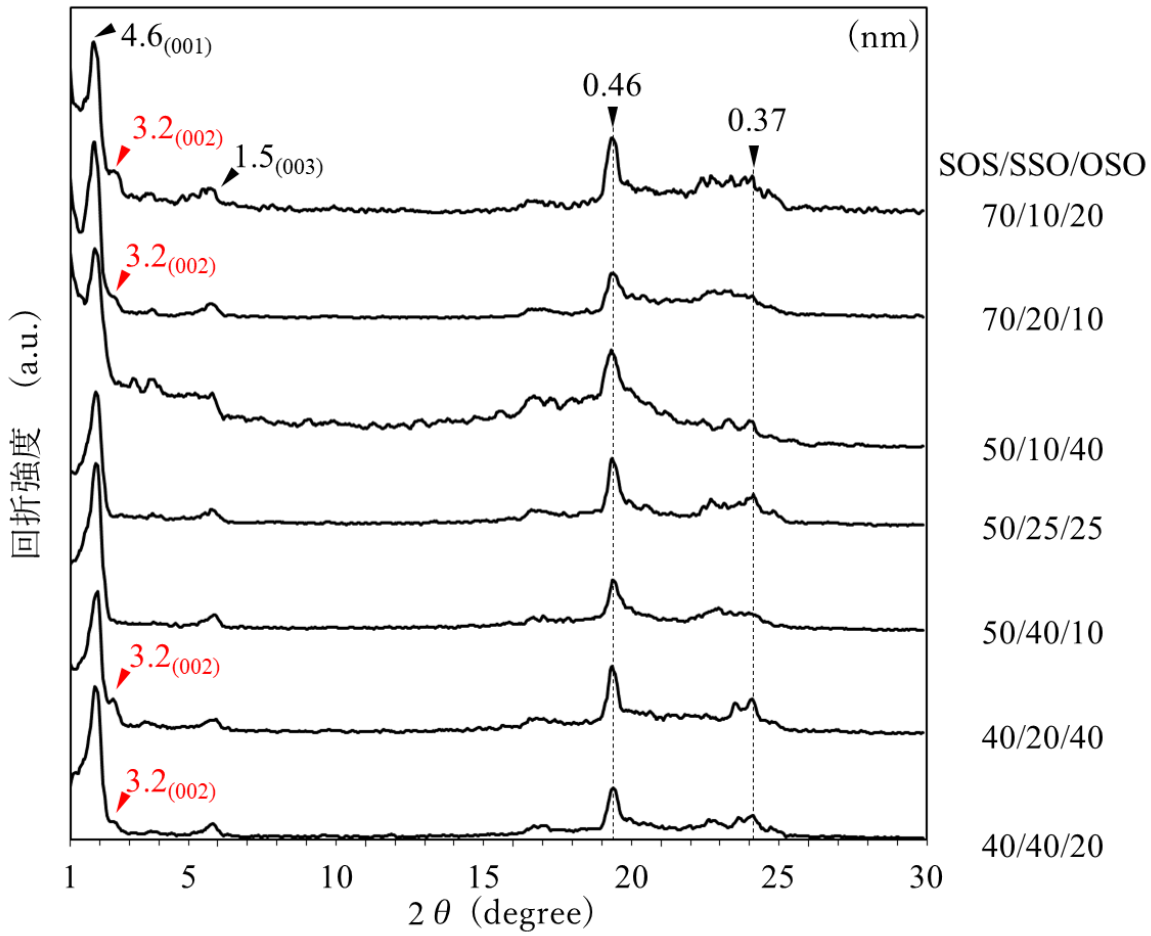
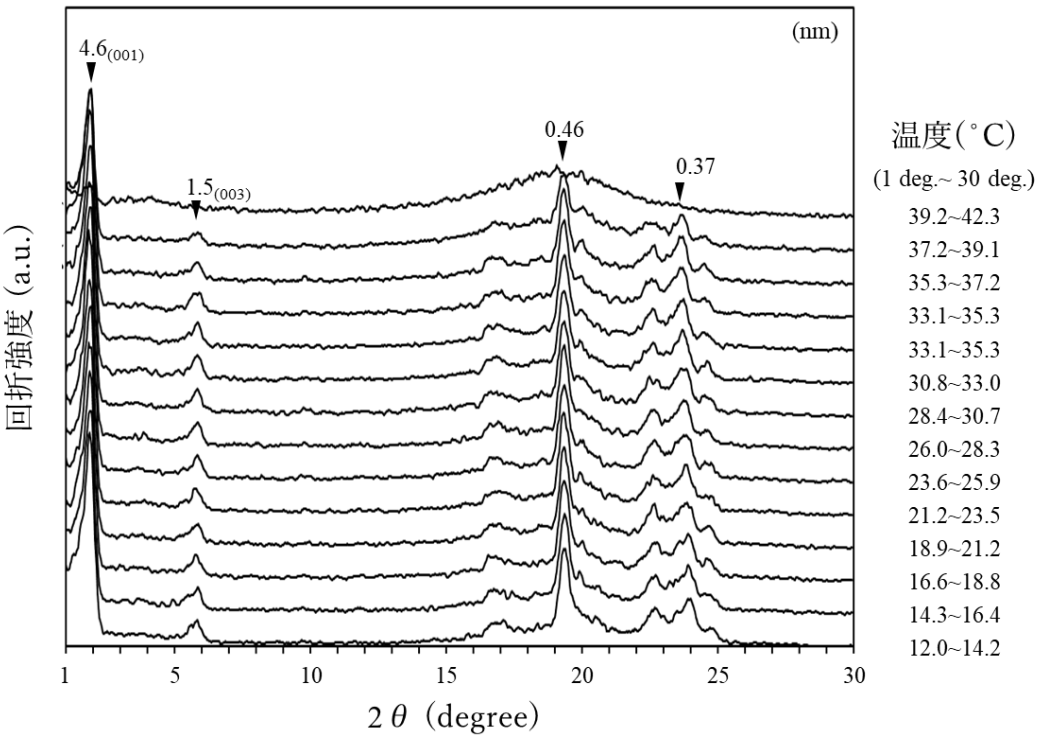


図 2-4　3 成分混合物 SOS/SSO/OSO の 20℃における最安定多形の X 線回折パターン

小角散乱領域において、SOS70%及び SOS40%の混合物は 2 鎖長構造に由来する回折ピークと、3 鎖長構造に由来する回折ピークが認められ、共晶を形成していると判断した。一方、SOS50%では 2 鎖長構造に由来する回折ピークのみが認められたことから混晶を形成していると推察した。

(a) 昇温過程における回折パターンの推移



(b) 4.6 nm 回折ピークの温度依存的な回折強度の推移

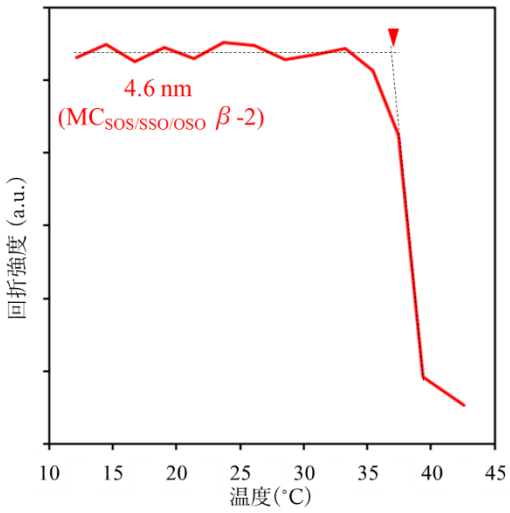
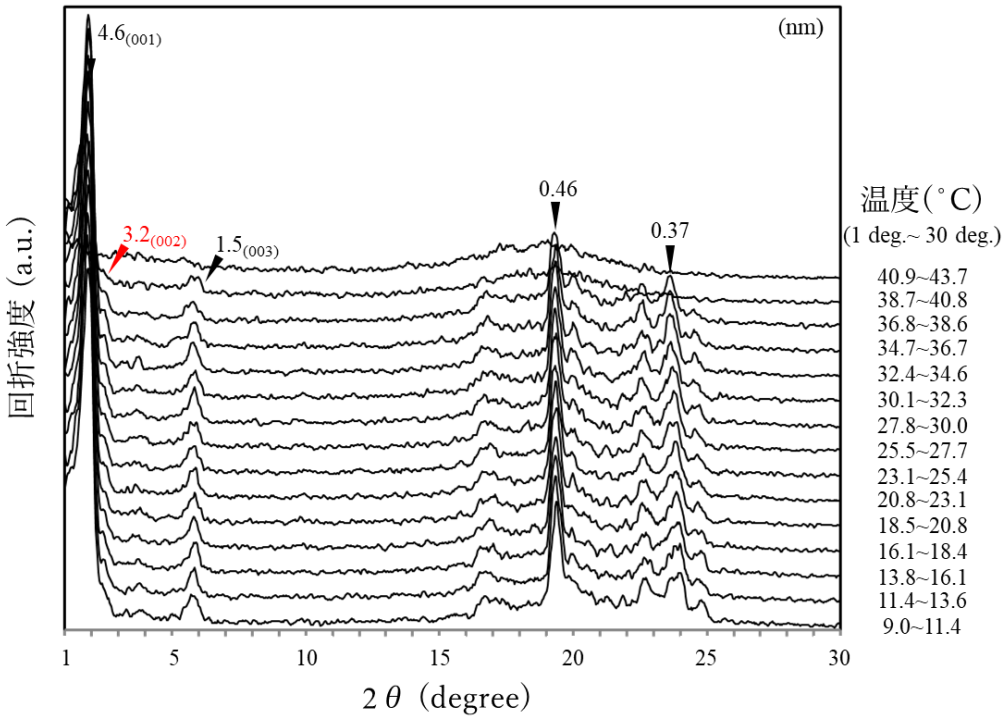


図 2-5　SOS/SSO/OSO が 50/25/25 の(a)最安定多形の昇温過程（10℃→45℃、2℃/min）における XRD 回折パターン、および(b)4.6 nm の回折ピークの強度推移（1degree から 30degree までの約 1 min のスキャン中も 2℃/min の速度で温度が変化）

(a) 昇温過程における回折パターンの推移



(b) 4.6 nm および 3.2 nm 回折ピークの温度依存的な回折強度の推移

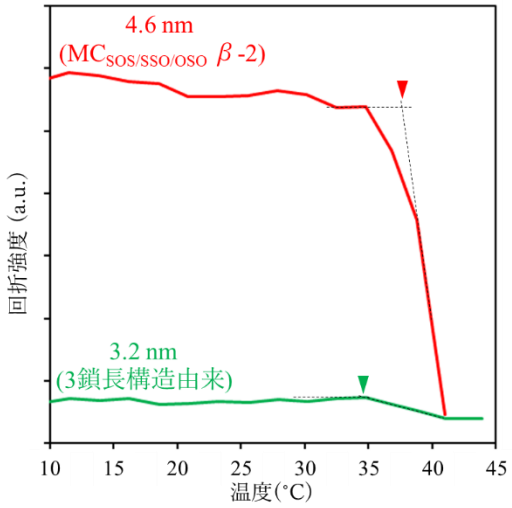


図 2-6　SOS/SSO/OSO が 40/40/20 の(a)最安定多形の昇温過程（10℃→45℃、2℃/min）における XRD 回折パターン、および 4.6 nm と 3.2 nm の回折ピークの強度推移（1degree から 30degree までの約 1min のスキャン中も 2℃/min の速度で温度が変化）

第 3 項　SR-XRD と DSC の同時測定による、動的相挙動の解析

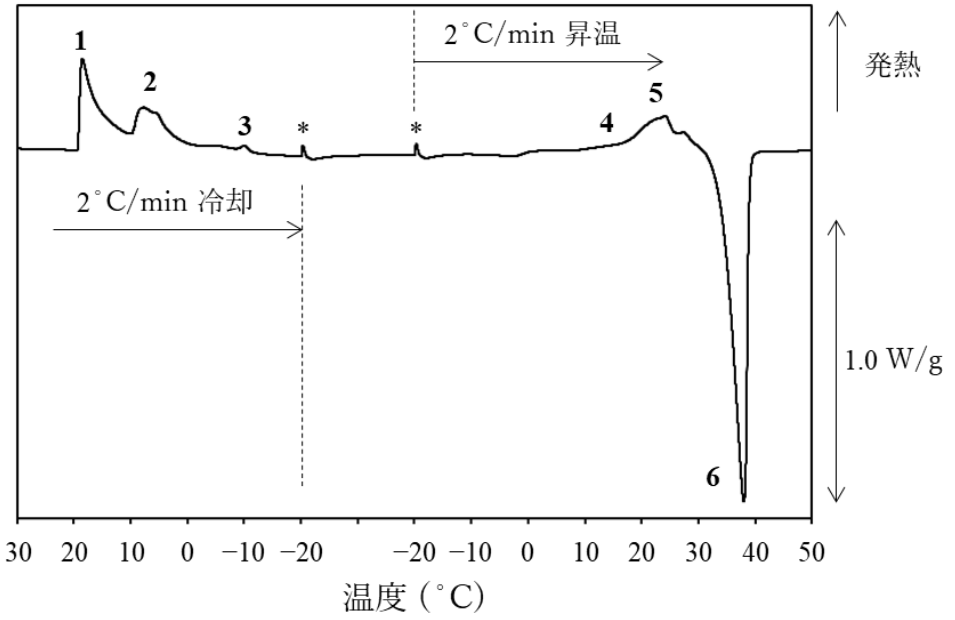
混晶の形成を示す特異的濃度である SOS50%の 3 成分混合物 SOS/SSO/OSO について、結晶化や多形転移の速度論的解析を SR-XRD と DSC の同時測定により実施した。SOS/SSO/OSO が 50/20/30 の解析結果を図 2-7 に示す。図 2-7(a)の DSC 測定における冷却過程（50℃→－20℃、2℃/min）では、21℃付近（ピーク **1**）、8℃付近（ピーク **2**）そして－8℃付近（ピーク **3**）で発熱ピークが認められた。他方、加熱過程（－20℃→50℃、2℃/min）では、15℃付近と 27℃付近にて発熱ピーク（ピーク **4** および **5**）、そして 38℃での鋭い吸熱ピーク（ピーク **6**）が認められた。図 2-7(b)は、図 2-7(a)で示した DSC 測定と同時に測定した SR-XRD パターンである。冷却過程にて 21℃で α-2 型に対応する 5.30 nm（001 反射）と 2.66 nm（002 反射）の SAXD ピーク、および 0.41 nm の WAXD ピークが出現した（図 2-7(c)の **A**）。さらに冷却すると 8℃付近で 5.13、4.45、3.36、2.62、1.45 nm の 5 つの SAXD ピークと、0.46、0.42、0.37 nm の 3 つの WAXD ピークが現れた（図 2-7(c)の **B**）。この複雑な SAXD ピークについては、5.13、4.45、2.62、1.45 nm のピークが 2 組の 2 鎖長構造のピークとして識別され、また 0.46 nm は β 型、0.42 nm と 0.37 nm は sub-α 型に対応する典型的な WAXD ピークであることから [61]、冷却過程における SOS/SSO/OSO が 50/20/30 の混合物は β-2 型と sub-α-2 型が共存している判断された。続いて、試料を－20℃から加熱すると、27℃で 5.13、4.45、2.62、1.45 nm に SAXD ピーク、0.46 nm と 0.41 nm に WAXD ピークが現れた（図 2-7(c)の **C**）。これは、図 2-7(c)の **A** および **B** と類似しており、β-2 型と α-2 型の共存状態であると考えられた。最終的に β-2 型の典型的な 4.45 nm と 1.45 nm に SAXD ピーク、0.46 nm と 0.38 nm に主要な WAXD ピークを示し（図 2-7(c)の **D**）、これらは 38℃で消失した。図 2-7(a)に示している DSC 測定結果については、MC に関する先行研究 [30, 32] から以下のように考察した。冷却過程では、結晶化ピーク **1** は $MC_{SOS/SSO=1/1}$

の α-2 型の結晶化に対応しており、ピーク **2** は $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α 型から sub-α 型への多形転移と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化に対応している[30]。$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化は、β-2 型の結晶化が α-2 型に比べて速い[32]知見と一致する。ピーク **3** は対応する SR-XRD の変化を認めることができず、同定できなかった。昇温過程では、ピーク **4** は $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の sub-α 型から α 型、ピーク **5** は $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α 型から β 型への転移によるものであり、大きな吸熱ピーク **6** は、2 種の MC の β 型の混晶の融解であると考察される。以上の結果、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の両者が、冷却初期では共晶の形成に関わり、次いで $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α-2 型から β-2 型への転移と同時に 2 つの MC（$MC_{SOS/OSO=1/1}$ と $MC_{SOS/SSO=1/1}$）の β-2 型が混晶状態となって、38℃で融解したと考察している。また、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ は準安定多形の β'-2 型を有するが、α 型から β 型への転移過程に β'-2 型は確認できなかった。これはすでに析出している $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型を鋳型とし析出したためと推察した。同様の解析を SOS/SSO/OSO が 50/40/10 の混合物においても実施した。図 2-8(a)の冷却過程（50℃→－20℃、2℃/min）での 23℃（ピーク **1**）では、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α-2 型の結晶化が生じ、それに続く 10℃（ピーク **2**）では $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α 型から sub-α 型への多形転移と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化が生じたと推測された。SOS/SSO/OSO が 50/40/10 の混合物の冷却過程における結晶化及び多形転移は、SOS/SSO/OSO が 50/20/30 の混合物のそれらより数度高い温度にて開始することが明らかとなり、SSO 濃度依存的に結晶化温度が上昇することが推察された。昇温過程は 14℃（ピーク **4**）にて $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の sub-α 型から α 型への多形転移が起こり、27℃（ピーク **6**）にて $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α-2 型が融解し、その後の発熱ピーク（ピーク **7**）にて $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の β-2 型へと転移と同時に 2 つの MC（$MC_{SOS/OSO=1/1}$ と $MC_{SOS/SSO=1/1}$）の β-2 型が混晶状態となって、38℃（ピーク **8**）で融解した。

20℃の発熱ピーク（ピーク **5**）は、図 2-8(b)に示した SR-XRD の結果と鑑みると、3 鎖長構造に由来する 3.31 nm の SAXD ピークが消失していることから、SOS もしくは SSO の β'-3 型が融解したものと推察した。

本解析では、油脂を含有する多くの食品が非平衡状態である事実 [4–7] を鑑み、3 成分混合物 SOS/SSO/OSO の結晶化、多形転移および融解挙動などの速度論的な解析を実施し、2 種の MC の β-2 型の混晶の形成過程を明らかとした。その結果、冷却過程では、2 種の異なる MC である $MC_{SOS/SSO=1/1}$ 及び $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が共晶を形成し、その後の昇温過程にて 2 種の MC の β-2 型の混晶を形成することを確認した。類似した MC の形成機構について、Nakanishi らにより POP と OPO の 2 成分混合物により形成される $MC_{POP/OPO=1/1}$ について報告されている [41]。POP/OPO が 1/1、および POP/PPO が 1/1 の 2 成分混合物は、最安定状態で MC の β-2 型を形成し [33–35]、さら溶媒中に分散した極めて濃度が低い状態でも MC 結晶は形成できることが報告 [86, 88] されており、構成分子間の非常に強い分子間力もしくは熱力学的に強力な駆動力を得て形成されることが推測される。しかし Nakanishi らは、マーガリンの製造工程を想定した極めて速い冷却速度での冷却条件下では、MC が結晶化初期には形成されず、冷却過程で POP と OPO の準安定型が析出して共晶を形成し、昇温過程にて POP と OPO の準安定型から $MC_{POP/OPO=1/1}$ の β-2 型へと転移することを明らかとし、$MC_{POP/OPO=1/1}$ の β-2 型形成以前の POP と OPO の共晶状態の制御がマーガリン品質に重要であることを説明している [41]。多形転移と同時並行的に生ずる MC の形成機構の完全な解明にはさらなる詳細な検証が必要であるが、Nakanishi らの報告した現象と類似した現象が $MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の 2 種の MC の混合物でも現れることが明らかとなり、SOS/SSO/OSO から成る 3 成分の混合物を製品へと活用する場面では、これら 2 種の MC の混合物の準安定な挙動を制御することが重要と推察された。

(a)SOS/SSO/OSO＝50/20/30の冷却・昇温過程におけるDSC解析



(b) SOS/SSO/OSO＝50/20/30の
冷却・昇温過程におけるSR-XRD解析

(c) 矢印AからDで示した
温度での回折パターン

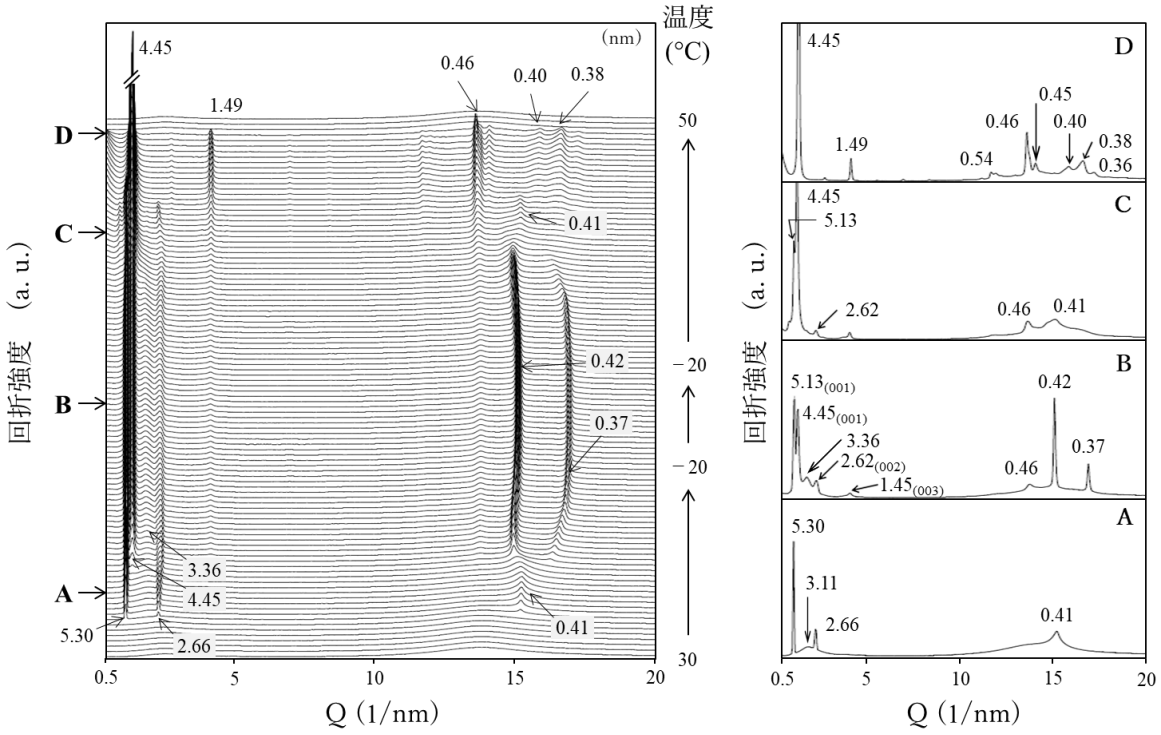


図 2-7　SOS/SSO/OSO が 50/20/30 の冷却・昇温過程における速度論的解析、(a)DSC 測定による融解挙動解析、(b)SR-XRD 全体の回折パターン、(c)矢印 **A** から **D** で示した温度での回折パターン（図 2-7(a)中の * 印は温度切り替え時に生じたピーク。**A**：20℃、**B**：−20℃、**C**：15℃、**D**：36℃）

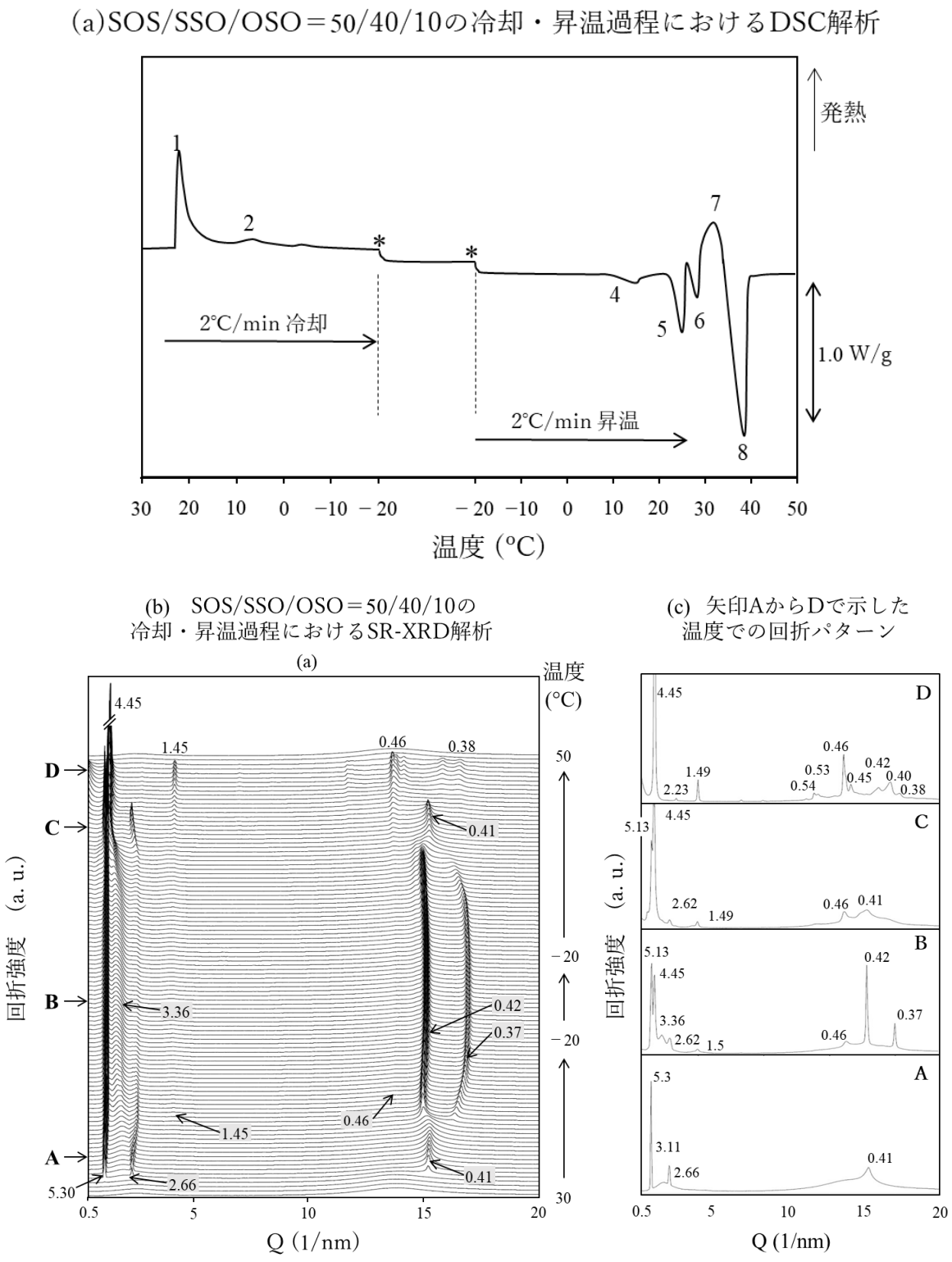


図 2-8　SOS/SSO/OSO が 50/40/10 の冷却・昇温過程における速度論的解析、(a)DSC 測定による融解挙動解析、(b)SR-XRD 全体の回折パターン、(c)矢印 **A** から **D** で示した温度での回折パターン（図 2-8(a)中の ＊ 印は温度切り替え時に生じたピーク。**A**：20℃、**B**：－20℃、**C**：27℃、**D**：36℃）

第 4 項　SOS/SSO/OSO の 3 成分混合物の相挙動

SOS が 30 から 70%でかつ異なる濃度の SSO および OSO を含む混合物を用いて、SOS/SSO/OSO の 3 成分混合物の相挙動の解析を行った。これまでに検討した結果を図 2-9 に三角グラフを用いて示す。SOS/SSO と SOS/OSO の 2 成分混合物の混合相挙動については、これまでの報告[30–32, 72)]をもとに図示した。本検討より SOS が 50%でかつ異なる濃度の SSO と OSO の 3 成分混合物では、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の 2 種の MC の β-2 型の混晶のみが形成されることを明らかとした（図中○）。この 2 種の MC の β-2 型の混晶は、冷却過程で共晶状態にあった $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が、昇温過程で $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の α-2 型から β-2 型への多形転移した後に形成されることも確認された。一方、SOS が 50%濃度域から逸脱すると、2 種の MC の β-2 型の混晶と MC を形成できなかった過剰の TAG が共晶を形成することが確認された（図中●）。

図 2-10 に、$MC_{SOS/SSO=1/1}$、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型と、これら 2 種の MC の β-2 型の混晶、SOS および OSO の β-3 型、そして SSO の β'-3 型の構造モデルを図示した。これらのモデルは、脂肪族鎖パッキング、グリセロールの立体配座、およびメチル基末端の積層構造といった 3 つの構造安定化要因を踏まえモデル化されたものである[30–32, 72, 89)]。図 2-10(a)の SOS、SSO、OSO について、矢印で示すグリセロールの立体配座によりステアリン酸鎖およびオレイン酸鎖の横方向のパッキングが決定され、その結果、対称型 TAG の最安定な立体配置は音叉型となり、非対称型 TAG は椅子型となる[30–32, 72, 89)]。分子間では安定構造をとるために、ステアリン酸鎖とオレイン酸鎖は別々のリーフレットに充填される。図 2-10(b)の $MC_{SOS/SSO=1/1}$ および $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の構造モデルは、以前の報告により次のように議論されている[30–32, 72)]。SOS/OSO=1/1 の混合物では、両 TAG は音叉型をとり、オレイン酸鎖とステアリン酸鎖はそれぞれ別々のリーフレットを形成し、安定化する。

SOS/SSO=1/1 の混合物の場合も SOS/OSO=1/1 の混合物と同様に、両 TAG は音叉型とり、一方のリーフレットはステアリン酸鎖のみで占有され、安定化する。なお、他方のリーフレットはステアリン酸鎖とオレイン酸鎖が混在するため、図 2-10 中に点線四角で示す箇所に立体障害が生じ、エネルギー的に不安定化されるが、グリセロール間およびステアリン酸側鎖間の相互作用による安定化エネルギーが上回り、MC 全体として不安定化のエネルギーは打ち消されるものと考えられている。さらに、これら 2 つの安定化相互作用以外にも、オレイン酸の β_1 型[90]で明らかなように、ステアリン酸鎖-オレイン酸鎖リーフレットにおいてオレイン酸鎖の分子コンフォメーションが屈曲型から直線型に変化する可能性も考えられる。以上の $MC_{SOS/OSO=1/1}$ と $MC_{SOS/SSO=1/1}$ を安定化させるメカニズムは SOS/SSO/OSO の 3 成分混合物の MC の形成および安定化にも適用できる。図 2-10(c)および(d)に示すように、ステアリン酸率の増加に伴い不安定化は促進され、安定化は遅延されることが推察される。一例に、ステアリン酸鎖-オレイン酸鎖リーフレットにおけるステアリン酸/オレイン酸比率を見ると、SOS/SSO/OSO=50/20/30 では 2/13、SOS/SSO/OSO=50/40/10 では 4/11 であり、SOS/SSO/OSO=50/40/10 がより安定化が遅延されることが推測される。一方、安定構造をとることが報告[30]されている $MC_{SOS/SSO=1/1}$ のステアリン酸鎖-オレイン酸鎖リーフレットにおけるステアリン酸/オレイン酸比率は、図 2-10(b)に示すように 1/2 であり、安定化の遅延はより大きいと推測される。安定化速度の遅速は、実製品の物性及び保存性に大きく関わる因子であることから、より実際に近い評価系にてその影響度を評価する必要があると考えられる。

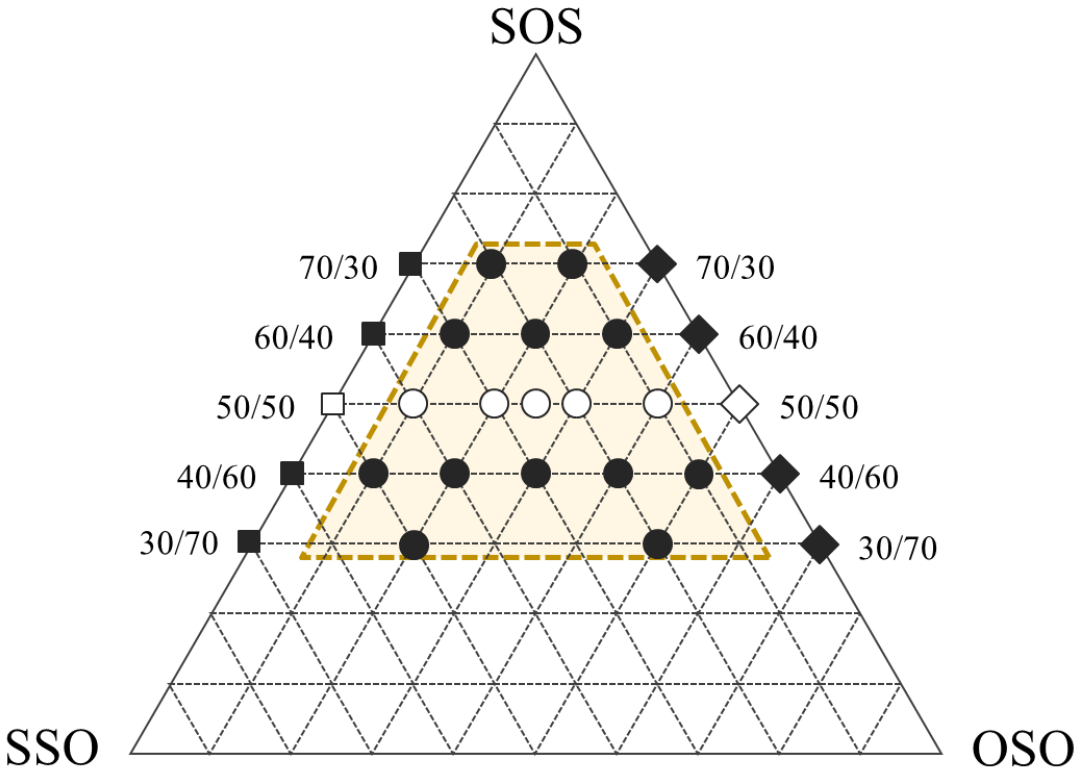


図 2-9　SOS/SSO/OSO の 3 成分混合系の相図（白：β -2 型の MC 結晶のみを認めた混合物、黒：MC 結晶と成分 TAG が共晶を形成した混合物）

○および●は図 2-1、表 2-2 の結果をもとに記載。また□および■は参考文献 30、◇および◆は参考文献 32 の報告をもとに記載。

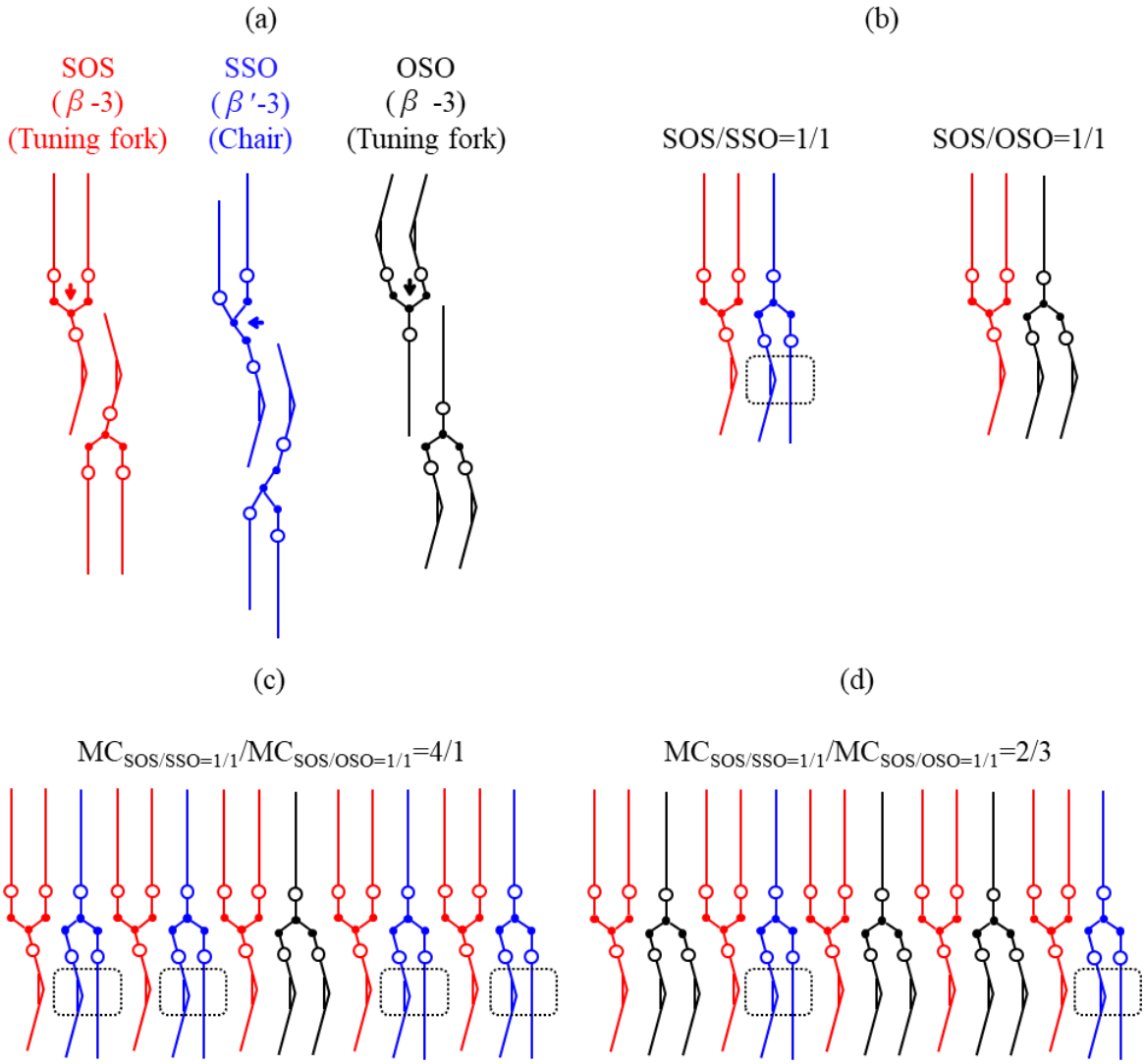


図 2-10　最安定多形の結晶構造モデル　(a)単一 TAG、(b)$MC_{SOS/SSO=1/1}$ および $MC_{SOS/OSO=1/1}$、(c) SOS/SSO/OSO=50/20/30、(d) SOS/SSO/OSO=50/40/10

図中点線四角はオレイン酸鎖とステアリン酸鎖による立体障害が生じていると推定される。

第 4 節　　小括

The phase behavior of a ternary triacylglycerol (TAG) mixture of 1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol (SOS), 1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol (SSO) and 1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol (OSO) was examined using X-ray diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC) and synchrotron radiation XRD (SR-XRD). Ternary TAG mixtures having SOS concentrations of 70, 60, 50, and 40% were prepared by blending with SSO and OSO in 10% increments. The DSC thermograms acquired during heating of the annealed TAG mixtures showed a single, sharp exothermic peak for the mixture containing 50% SOS with different concentrations of SSO and OSO, whereas multiple or broad exothermic peaks were observed for the other mixtures excepting SOS = 50% due to their obvious eutectic nature. In order to determine the mixing phase behavior of the most stable form of the ternary TAG mixtures having a SOS concentration of 50%, phase diagrams were constructed using the onset melting temperature from the endothermic peaks. The onset melting temperature from the endothermic peaks of the mixtures of SOS/SSO/OSO having a SOS content of 50% increased with increasing SSO ratio. This result suggests that the ternary TAG mixtures comprising 50% SOS with different concentrations of SSO and OSO exhibited miscible mixing behavior. XRD analysis also revealed the mixing and polymorphic behavior of the mixtures. The XRD patterns of the annealed ternary mixtures clearly showed that the ternary mixtures with a SOS concentration of 50% formed the β -polymorph with a double chain-length (DCL) structure (β -2), which consisted of molecular compound (MC) crystals of SOS/SSO = 1/1 and SOS/OSO = 1/1. On the other hand, the ternary TAG mixtures with SOS contents other than 50% consisted of two crystals: miscible crystals of the β -2 form of

$MC_{SOS/SSO=1/1}$ and $MC_{SOS/OSO=1/1}$ and crystals having a triple chain-length structure (TCL) comprising the TAG. Based on these results, newly formed miscible crystals consisting of $MC_{SOS/SSO=1/1}$ and $MC_{SOS/OSO=1/1}$ having the β -2 structure were found in the mixture of SOS/SSO/OSO containing 50% SOS. The formation of the newly found miscible crystal consisting of $MC_{SOS/SSO=1/1}$ and $MC_{SOS/OSO=1/1}$ was clarified through SR-XRD analysis during cooling and subsequent heating. Crystallization of the α -2 phase of $MC_{SOS/SSO=1/1}$ was observed during the cooling process, followed by crystallization of the β -2 form of $MC_{SOS/OSO=1/1}$. In the subsequent heating process, miscible crystals of the β -2 form of $MC_{SOS/SSO=1/1}$ and $MC_{SOS/OSO=1/1}$ were formed after the melt-mediated transformation of $MC_{SOS/SSO=1/1}$ from α -2 to β -2. Based on these results, it is expected that the ternary fat mixture of SOS/SSO/OSO with an SOS concentration of 50% can be applied to confectionery products as a new type of cocoa butter alternative (CBA) that forms stable polymorphic structures through simple cooling processes.

第 3 章 カカオ脂/1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol を配合したノーテンパリングチョコレートの機能評価

第 1 節　　はじめに

カカオ脂は他の天然油脂と比較して特徴的な TAG 組成を有し、チョコレートの“おいしさ”の主体である硬さや、スナップ性、口腔内での素早い融解等の物理的性質の発現に寄与する[42,43,91]。しかし、カカオ豆の生産に関する深刻な課題や、チョコレートの世界的な需要の高まりにより、カカオ原料の価格は過去に類を見ないほどの急激な上昇を見せている[47–52,92,93]。そのため製菓業界では、チョコレートの製造コスト低下を目指した CBA の開発と利用を進められている[53–55,94]。さらに近年では、チョコレートの喫食場面や形態の多様化が進んだことにより新たな嗜好が生まれており、このための物理的・化学的にチョコレート改変する機能が CBA に求められている。例えば、熱帯・亜熱帯地域や温帯地域の夏季には、耐熱性を有した CBA が必要となる[95]。またチョコレート被覆製品において、油脂移行による外観および品質の劣化は製造者にとって大きな懸念事項である[96]。また、低カロリー油脂[97]やトランス脂肪酸や飽和脂肪酸含量を低減した CBA[98,99]は心血管疾患リスクの低減が期待される機能性油脂と言える。さらに、チョコレートに保存安定性を付与することは、おいしさ維持および食品ロス削減の観点から特に重要視されている。

CBA を活用したチョコレートを含む多くの油脂含有食品の油相は、多様な TAG 種により構成されることから、ほとんどの場合は共晶を形成する[4–7,9,56,100]。したがって製造直後は均質な混合相を形成するものの、長期保存時に相分離が進行し、新たに形成された結晶相はより安定状態へと転移する[6,7,56,100]。その結果、外観劣化や内部組織劣化といった品質変化が生じ、これらは避けられない課題となってい

る[6, 7, 56]。現在講じられている対策の多くは、転移遅延効果を期待した油脂組成の改変[62–65, 101,102]や添加剤の使用[61, 103–105]に留まっており、製造後に特別な熟成工程やテンパリングを実施する[44]か、種結晶を製造中に添加する[106, 107]などの煩雑な生産工程を経る以外に完全な解決には至っていない。

第 2 章において、SOS、SSO および OSO の 3 成分混合物に対して系統的な混合相挙動の解析を実施し、SOS が 50%でかつ異なる濃度の SSO および OSO を含む場合に、この 3 成分混合物が熱力学的に安定な MC の混晶を形成することを明らかにすることができた。そこで本章では、SOS の類似構造 TAG を豊富に含むカカオ脂と、SSO、OSO の 3 成分混合物からなるチョコレートの機能評価を実施し、3 成分混合油脂 SOS50%/SSO/OSO の実製品への展開可能性を検証することを目的とした。本検討により実用面で利用可能性の高い以下の機能を備えた油脂素材の開発が期待される。まず SOS50%、SSO および OSO からなる混合油脂が混晶を形成することから、煩雑な工程を経ずとも高い保存性を有する油脂素材の開発が期待できる。さらに、Koyano らは、カカオ脂/OSO＝50/50 により調製したチョコレートが興味深いことに柔らかく可塑性を発現することを報告[87]したが、一般的なチョコレートにはスナップ性を発現する硬さが要望されていることから、3 成分混合油脂カカオ脂/SSO/OSO に物性面で改善された油脂素材の開発が期待できる。これらに加えて、TAG の 2 成分混合物にて形成する MC を食品へ活用した例は報告がある[40, 41, 87]ものの、2 種の MC を同時に活用した例はないことから、MC の新たな展開可能性に関して知見の蓄積が期待される。

第 2 節　　材料および方法

第 1 項　SSO 脂および OSO 脂の調製

SSS を豊富に含む完全水素添加菜種油（不二製油㈱、大阪、SSS 含量；約 75%）、オレイン酸（不二製油㈱、大阪、オレイン酸含量；約 89%）を反応基質とし、*Rhizomucor miehei* 由来の 1,3 位特異的リパーゼ（Lipozyme® RMIM, Novo Nordisk Bio industrials Inc.（コペンハーゲン））を用いて 1,3 位での酵素エステル交換反応を実施した（酵素濃度対油 1%、反応温度 50℃、反応時間 72hrs）（図 3-1）。反応終了後、濾別にて酵素を分離除去し、回収した反応油脂を蒸留にして遊離脂肪酸を留去した（蒸留温度 235℃、蒸留時間 90 min）。得られた油脂画分は、アセトンを用いた 2 段溶剤分別（1 段分別条件：分別原料；30 wt.%-酵素反応油脂/アセトン、攪拌速度；100 rpm、温度；40℃→30℃, 平均冷却速度 2℃/min、達温後すぐに濾別を実施。2 段分別条件：分別原料；20 wt.%-1 段分別軟質側の油脂/アセトン、攪拌速度；100 rpm、温度；40℃→0℃, 平均冷却速度 2℃/min、達温後 30 min 間 0℃で保持後、濾別を実施により SSO に富む画分と OSO に富む画分に分画した。得られた各画分を脱溶剤後、精製して試験試料とした。調製した SSO 脂および OSO 脂の製造スキームを図 3-1 に示した。組成は次項の方法により分析した（表 3-1、表 3-2）。

第 2 項　メチル化による脂肪酸組成分析

脂肪酸組成は、日本油化学会制定「基準油脂分析試験法 2.4.1.2 メチルエステル化法（三フッ化ホウ素メタノール法）」に従って脂肪酸メチルエステルを調製し、日本油化学協会制定「基準油脂分析試験法 2.4.2.3 脂肪酸組成（キャピラリーガスクロマトグラフ法）」に準じて測定を行った。分析条件は以下のとおりである。

［ガスクロマトグラフ（GC）分析条件］

GC system	GC-2010（㈱島津製作所、京都）
Column	TC-70（GL サイエンス㈱、東京）、60 m×0.25 mm×0.25 μm
Oven	180℃ constant
Carrier Gas	Helium
Sample	1.0 μL,
Injection	250℃, Split ratio 1:150
Detection	FID, 250℃

第 3 項　高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による TAG 組成分析法

TAG 組成の測定は、日本油化学会制定‘基準油脂分析試験法 2.4.6.2 トリアシルグリセリン組成（高速液体クロマトグラフ法）’に準じて実施した。分析条件は以下のとおりである。

［HPLC 分析条件］

Mobile phase	アセトン/アセトニトリル＝80/20 (v/v)（キシダ化学㈱、大阪）
Degasser	DGU-20A3R（㈱島津製作所、京都）
Pump	LC20AD（㈱島津製作所、京都）、(0.9 mL/min, isocratic)
Injection	1.5% 10 μL
Auto sampler	SIL-20AC（㈱島津製作所、京都）、40℃
Column oven	CTO-20A（㈱島津製作所、京都）、25℃
Column	LiChrosorb RP-18（メルク㈱、ダルムシュタット）10×4.6 mm I.D., Guard Cartridge LiChrosorb RP-18（メルク㈱、ダルムシュタット）250×4.6 mm

I.D., 5 μm

YMC-Pack ODS-A,（㈱YMC、京都） 250×4.6 mm I.D., 5 μm.

Detector RID-20A（㈱島津製作所、京都）, 30°C

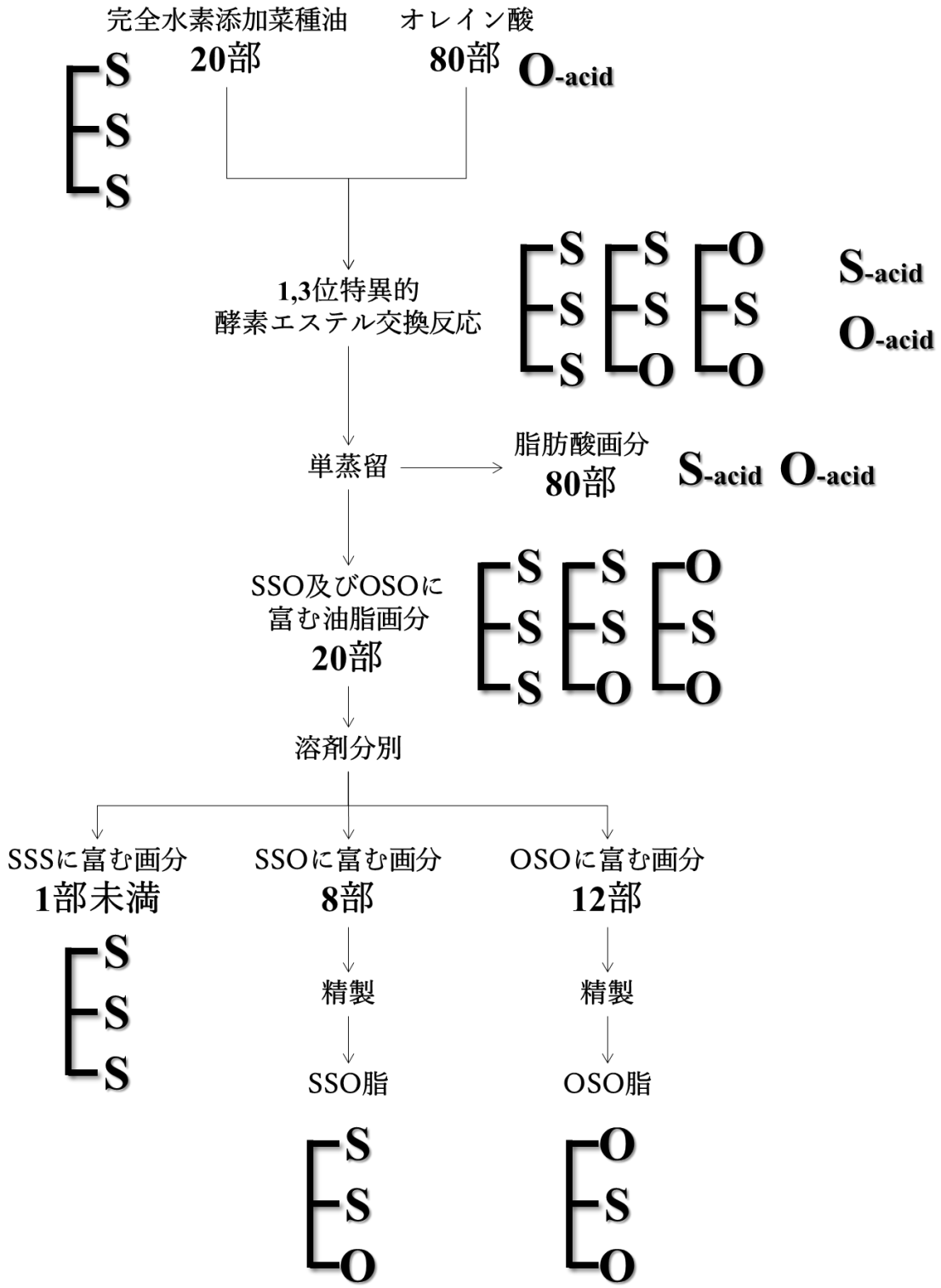


図 3-1　SSO 脂と OSO 脂の調製の流れ

SSS：tristearoylglycerol、SSO：1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol、

OSO：1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol、O-acid：オレイン酸、S-acid：ステアリン酸

表 3-1　カカオ脂、SSO 脂および OSO 脂の脂肪酸メチルエステル組成

	カカオ脂	SSO 脂	OSO 脂
C14:0（ミリスチン酸）	0.1	n.d.	n.d.
C16:0（パルミチン酸）	25.6	4.6	1.7
C18:0（ステアリン酸）	36.4	59.4	32.3
C18:1（オレイン酸）	33.3	32.2	61.8
C18:2（リノール酸）	2.6	1.1	3.6
C20:0（アラキジン酸）	1.2	1.5	n.d.
C22:0（ベヘン酸）	0.2	1.2	0.7
その他	0.7	0.0	0.0

n.d.; Not detected.

表 3-2　カカオ脂、SSO 脂および OSO 脂の TAG 組成

	カカオ脂		SSO 脂		OSO 脂
POS	35.3	SSO	63.7	OSO	75.0
SOS	25.8	PSO	11.1	OSL	8.7
POP	15.6	OSO	6.3	PSL	2.3
SOO	3.0	ASO	4.3	OOO	1.8
POO	2.9	SSL	2.7	PSO	1.3
PLS	2.9	BSO	2.5	SSO	1.1
その他	14.5	その他	9.3	その他	9.8
$S_{at}US_{at}$ 型 TAG	85.0	$S_{at}US_{at}$ 型 TAG	n.d.	$S_{at}US_{at}$ 型 TAG	n.d.
$S_{at}S_{at}U$ 型 TAG	n.d.	$S_{at}S_{at}U$ 型 TAG	85.9	$S_{at}S_{at}U$ 型 TAG	5.4
$US_{at}U$ 型 TAG	n.d.	$US_{at}U$ 型 TAG	7.0	$US_{at}U$ 型 TAG	84.2

n.d.；Not detected、POS；1-palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoylglycerol、SOS；1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol、POP；1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol、SOO；1-stearoyl-2,3-dioleoylglycerol、POO；1-palmitoyl-2,3-dioleoylglycerol、PLS；1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-stearoylglycerol、SSO；1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol、PSO；1-palmitoyl-2-stearoyl-3-oleoylglycerol、OSO；1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol、ASO；1-arachidoyl-2-stearoyl-3-oleoylglycerol、SSL；1,2-distearoyl-3-linoleoylglycerol、BSO；1-behenoyl-2-stearoyl-3-oleoylglycerol、OSL；1-oleoyl-2-stearoyl-3-linoleoylglycerol、OOO；trioleoylglycerol、S_{at}；パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸およびベヘン酸を含む飽和脂肪酸、U；オレイン酸およびリノール酸を含む不飽和脂肪酸、$S_{at}US_{at}$ 型 TAG；1,3 位ジ飽和脂肪酸 2 位不飽和脂肪酸結合 TAG、$S_{at}S_{at}U$ 型 TAG；1,2 位ジ飽和脂肪酸 3 位不飽和脂肪酸結合 TAG、$US_{at}U$ 型 TAG；1,3 位ジ不飽和脂肪酸 2 位飽和脂肪酸結合 TAG

第 4 項　混合試料の調製

SSO 脂、OSO 脂およびカカオ脂は以下の方法で混合した。カカオ脂中の 1,3 位ジ飽和脂肪酸 2 位不飽和脂肪酸結合 TAG（$S_{at}US_{at}$ 型 TAG）は全て MC を形成する [87]。同様に SSO 脂中の 1,2 位ジ飽和脂肪酸 3 位不飽和脂肪酸結合 TAG（$S_{at}S_{at}U$ 型 TAG）、OSO 脂中の 1,3 位ジ不飽和脂肪酸 2 位飽和脂肪酸結合 TAG（$US_{at}U$ 型 TAG）もまた MC の形成が予想される。したがって、混合試料の調製は表 3-2 に示したカカオ脂中の $S_{at}US_{at}$ 含量、SSO 脂中の $S_{at}S_{at}U$ 含量および OSO 脂の $US_{at}U$ 含量を基準に重量基準で混合した。第 2 章で明らかにしたように、SOS 濃度が 50% の 3 成分混合物においては熱力学的に安定な MC の形成が認められたことから、本研究においても $S_{at}US_{at}/(S_{at}S_{at}U + US_{at}U)$ が 50/50 として、$S_{at}S_{at}U$ と $US_{at}U$ 濃度比の異なる混合物を調製した。本研究で検討した 6 種の試料の TAG 組成を表 3-3 に示した。

表 3-3　混合試料調製におけるカカオ脂、SSO 脂、OSO 脂の混合割合（%）と、混合後の $S_{at}US_{at}$、$S_{at}S_{at}U$ および $US_{at}U$ 型 TAG の組成割合

試料	カカオ脂、SSO 脂、OSO 脂の混合割合			混合油脂中の組成割合		
	カカオ脂	SSO 脂	OSO 脂	$S_{at}US_{at}$	$S_{at}S_{at}U$	$US_{at}U$
S-a	52.2	47.8	0.0	50.0	46.2	3.8
S-b	52.1	40.8	7.2	50.0	40.0	10.0
S-c	51.9	29.6	18.5	50.0	30.0	20.0
S-d	51.7	18.6	29.7	50.0	20.0	30.0
S-e	51.5	7.6	40.9	50.0	10.0	40.0
S-f	51.3	0.0	48.7	50.0	3.0	47.0

S_{at}；飽和脂肪酸（パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸)、U；不飽和脂肪酸（オレイン酸、リノール酸）

第 5 項　混合油脂の DSC 測定

混合試料の結晶化および融解挙動解析は、第 2 章第 2 節第 2 項と同様の方法で DSC 測定を行った。測定手順は、混合試料を 60℃で 10 min 加熱して完全融解させたのち、2℃/min で 5℃まで冷却し、30 min 保持することにより結晶化挙動を観察した。次いで、2℃/min で 60℃まで加熱することで融解挙動を観察した。また、安定多形の融解挙動を解析するために、混合試料を 60℃にて 30 min 保持して完全融解させ、5℃で 30 min 冷却後、20℃にて 7 日間保持し、熟成処理試料を調製した。

第 6 項　混合油脂の XRD 測定

混合試料の XRD 測定は、第 2 章第 2 節第 3 項に記載した方法にて実施した。融液試料を 5℃で 30 min 冷却固化した後に 20℃にて静置させ、1 hr、7 日および 30 日後に XRD 測定を行った。

第 7 項　混合油脂の固体脂含量の測定

固体脂含量（SFC）はパルス NMR 分光光度計（Minispec mq20 Bruker、東京）を用いて AOCS Official Method Cd 16b-93 に記載の内容で実施した。なお、混合試料は専用ガラス管に約 5 g 充填し、80℃で 30 min 保持して完全に溶解させた。その後は AOCS 法に準じて 26℃で 40 hrs 保持するテンパリング処理を行った。SFC 測定は 10、20、25、30、35、40℃で 60 min 保持した後に行った。

第 8 項　チョコレートの調製

チョコレート生地は、カカオマス 27.8%、砂糖 49.5%、油相 22.7%、大豆レシチン 0.4%で調製した。チョコレート生地中の油脂組成は、カカオマス由来のカカオ

脂（カカオマス中の 55%）がチョコレート組成に加算されることを考慮して、油相のカカオ脂、SSO 脂および OSO 脂の混合割合を調整した。最終的なチョコレート中の油脂組成を表 3-4 に示す。チョコレート試料は次の手順で冷却、成形し調製した。チョコレート生地を 55℃で 30 min 溶解し、40℃まで冷却後、プラスチックモールド（59 × 27 × 7 mm^3 ）に充填し、5℃の冷蔵庫にて 60 min 冷却した。また、カカオ脂のみを配合した対照試料は、テンパリング工程後に同様の固化・成形を実施した。成型後、モールドより離型し 20℃にて 1 週間熟成させた。

表 3-4　カカオ脂、SSO 脂、OSO 脂のチョコレート油相中の混合割合、チョコレート試料中の割合、チョコレート試料中の $S_{at}US_{at}$、$S_{at}S_{at}U$ および $US_{at}U$ 型 TAG の存在割合（%）

試料	チョコレート油相中の 3 種の油脂の混合比率			チョコレート試料中の 3 種の油脂の割合			チョコレート試料中の構造油脂の存在割合		
	カカオ脂	SSO 脂	OSO 脂	カカオ脂	SSO 脂	OSO 脂	$S_{at}US_{at}$	$S_{at}S_{at}U$	$US_{at}U$
s-A	15.1	84.9	0.0	49.7	50.3	0.0	50.0	46.2	3.8
s-B	14.2	72.4	13.4	49.0	43.0	7.9	50.0	40.0	10.0
s-C	12.6	52.6	34.8	48.1	31.3	20.7	50.0	30.0	20.0
s-D	11.1	55.9	33.0	47.1	19.6	33.3	50.0	20.0	30.0
s-E	9.6	13.5	76.9	46.1	8.0	45.9	50.0	10.0	40.0
s-F	8.6	0.0	91.4	45.4	0.0	54.6	50.0	3.0	47.0

S_{at}；飽和脂肪酸（パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸)、U；不飽和脂肪酸（オレイン酸、リノール酸）

第 9 項　チョコレートの硬さの評価

チョコレート試料の硬さは、RHEONER II RE2-33005C（株式会社山電、東京）に、200 N のロードセルと直径 3 mm のプランジャーを装着し、試料台に乗せたチョコレート試料を 1 mm/sec の速度で移動させて測定した。硬さ(N)は試料を貫通させるのに必要な最大応力値とし、3 回測定の平均値をその試料の硬さとした。スナップ性や耐熱性を評価するために、測定前にチョコレート試料を 22℃、26℃および 30℃の温調庫で 2 hrs 温調した。

第１０項 チョコレートの保存性評価

チョコレート試料は、25℃の一定温度条件下と 17℃/12 hrs 保持↔28℃/12 hrs 保持および 20℃/12 hrs 保持↔30℃/12 hrs 保持のサイクル温度条件下で保存した。ファットブルームの観察は、モールド成形面を目視で定期的に評価した。また保存 1 年を経過した時点での表面状態を電子顕微鏡（SU3500、㈱日立製作所、東京）により観察した（加速電圧；1.0 kV、真空度 20 Pa、観察倍率は 100 倍および 500 倍）。

第 3 節　　結果と考察

第 1 項　混合油脂の物性および結晶多形解析結果

図 3-2 は、6 種類の混合試料（s-a から s-f）の DSC 測定結果である。図 3-2(a)から明らかなように、発熱ピークの開始温度は $S_{at}S_{at}U$ 濃度の上昇、$US_{at}U$ 濃度の低下に依存して上昇した。第 2 章第 3 節第 3 項にて、3 成分混合物 SOS50%/SSO/OSO の SR-XRD 解析より明らかとなった、SSO 濃度の増加に伴い結晶化温度が上昇する結果と一致する結果であった。その後の昇温過程で観察された吸熱ピーク形状は、図 3-2(b)に示すように $S_{at}S_{at}U$ 濃度の増加にしたがいブロードな形状（試料 s-c と s-d）もしくは複数の分離したピーク形状（試料 s-a と s-b）となった。第 2 章第 3 節第 4 項にて、3 成分混合物 SOS50%/SSO/OSO 中の $MC_{SOS/SSO=1/1}$ 比率が上昇することに伴って、MC 構造中のステアリン酸鎖-オレイン酸鎖リーフレットにおける立体障害頻度が上昇し、その結果、MC の不安定化が促進される可能性を考察していたが、その考察と一致する結果であり、$S_{at}S_{at}U$ 濃度の増加に伴い準安定型としての結晶化の促進と、安定型への転移の抑制が生じた結果、複雑な融解挙動が発現したと考察した。図 3-2(c)に示すように、熟成処理試料の吸熱ピークはいずれもシャープな形状を示し、融解開始温度は $S_{at}S_{at}U$ 濃度の増加とともに上昇した。これは熟成処理により熱力学的に安定な方向へと多形転移が進行したためであると考えられた。

図 3-3 は 5℃で固化後、20℃で 1 hr、7 日間、30 日間保持後に測定した XRD パターンである。小角散乱領域より全ての試料に共通して長面間隔が 4.6 nm（001 反射）と 1.5 nm（003 反射）であり、全ての試料が 2 鎖長構造のみを形成することが確認され、MC を形成していることが示唆された。一方、広角散乱領域では 2 つの異なる多形が観察された。試料 s-c から s-f において保存 7 日目以降で β 型相当の 0.46 nm、0.39 nm および 0.38 nm のピークが観察され、特に試料 s-d、s-e、s-f で

は、冷却直後の 20℃保持 1 hr 後ですでにβ型を形成することが示された。一方、試料 s-a と s-b では 30 日間保存品においてもβ'型に対応する 0.43 nm と 0.37 nm のピークが観察された。以上の結果より、$US_{at}U$ 濃度の増加は MC の β 型構造形成を誘発し、$S_{at}S_{at}U$ 濃度の増加は MC の β'型構造形成を誘発することが示唆され、第 2 章での 3 成分混合物 SOS/SSO/OSO と同様の結果がカカオ脂/SSO/OSO においても得られた。

6 種類の混合試料の固体脂含量（SFC 値）を図 3-4 に示す。SFC 値は、$S_{at}S_{at}U$ 濃度の低下、$US_{at}U$ 濃度の増加に伴い減少する傾向であった。試料 s-a と s-b の SFC 値は、室温以下（10 から 25℃）でカカオ脂と同等であるが、体温付近（25 から 35℃）で高くなり、口どけが悪い可能性が示唆された。試料 s-c の SFC 挙動は試験群の中で最もカカオ脂と類似していた。試料 s-d、s-e、s-f では、全温度域でカカオ脂と比較して SFC 値は低くなった。以上より試料 s-c が混合試料中で最もカカオ脂に近似した混合物であったことから、試料 s-c と試料 s-d の間にはさらにカカオ脂に近似した融解挙動を持つ混合物組成が成立する可能性が示唆された。

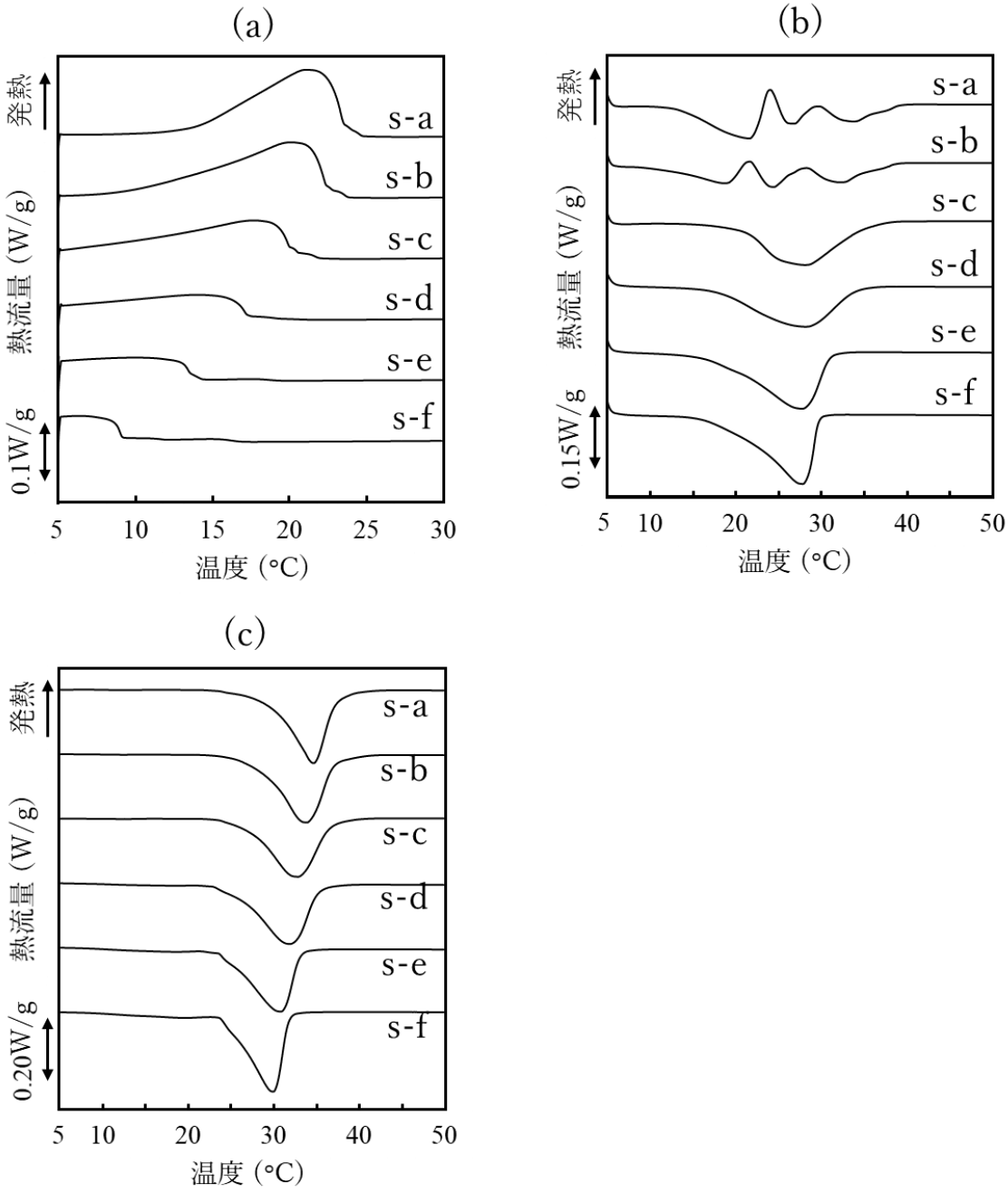


図 3-2　混合油脂 s-a から s-f（表 3-3）の DSC 測定結果（(a)冷却過程（60℃→5℃、2℃/min）、(b)その後の昇温過程（5℃→60℃、2℃/min）、(c)熟成（20℃で 1 週間）後の昇温過程）

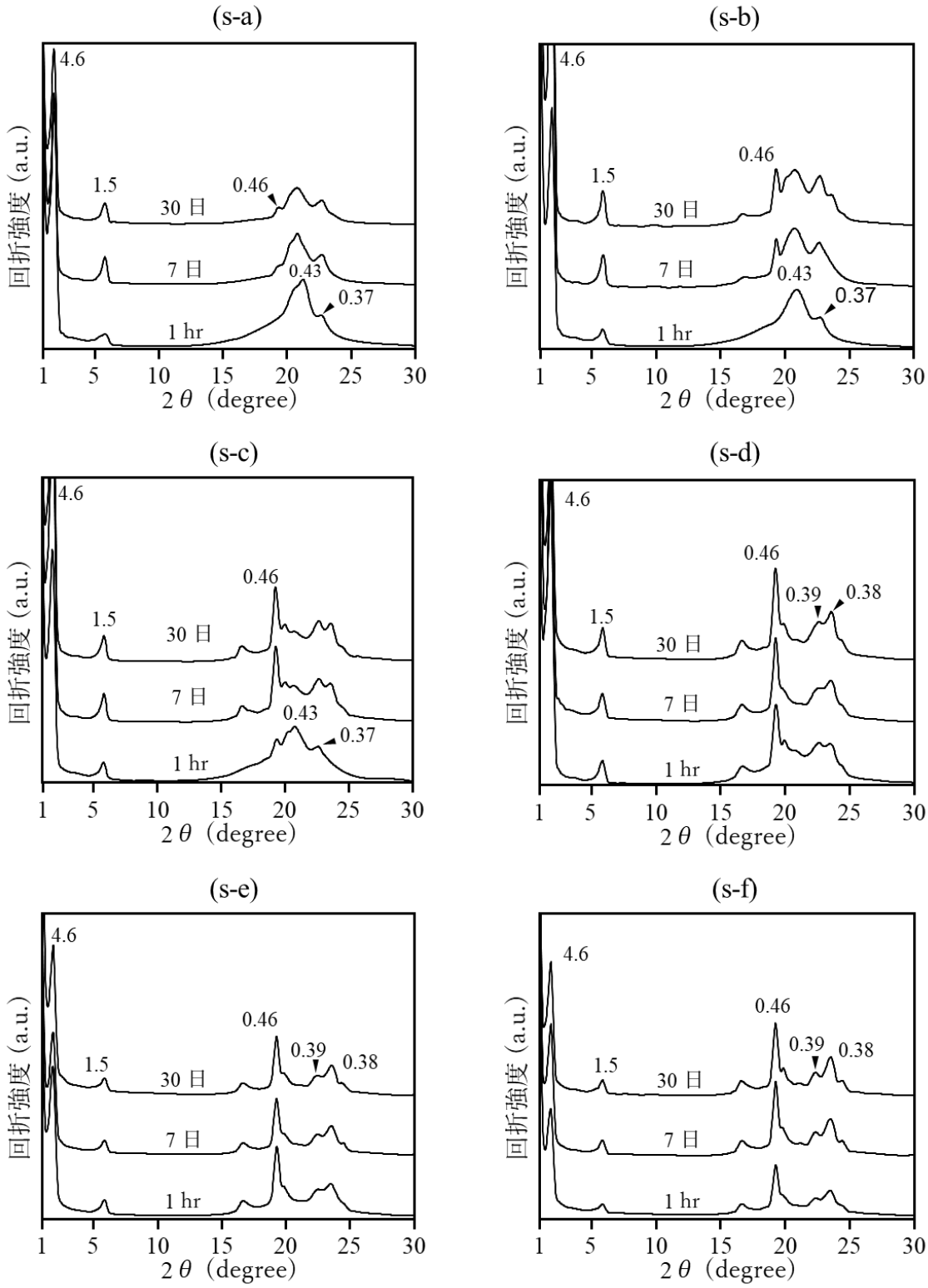


図 3-3　20℃で 1 hr、7 日間、30 日間保持後に得られた混合油脂（s-a から s-f（表 3-3））の 20℃における X 線回折パターン

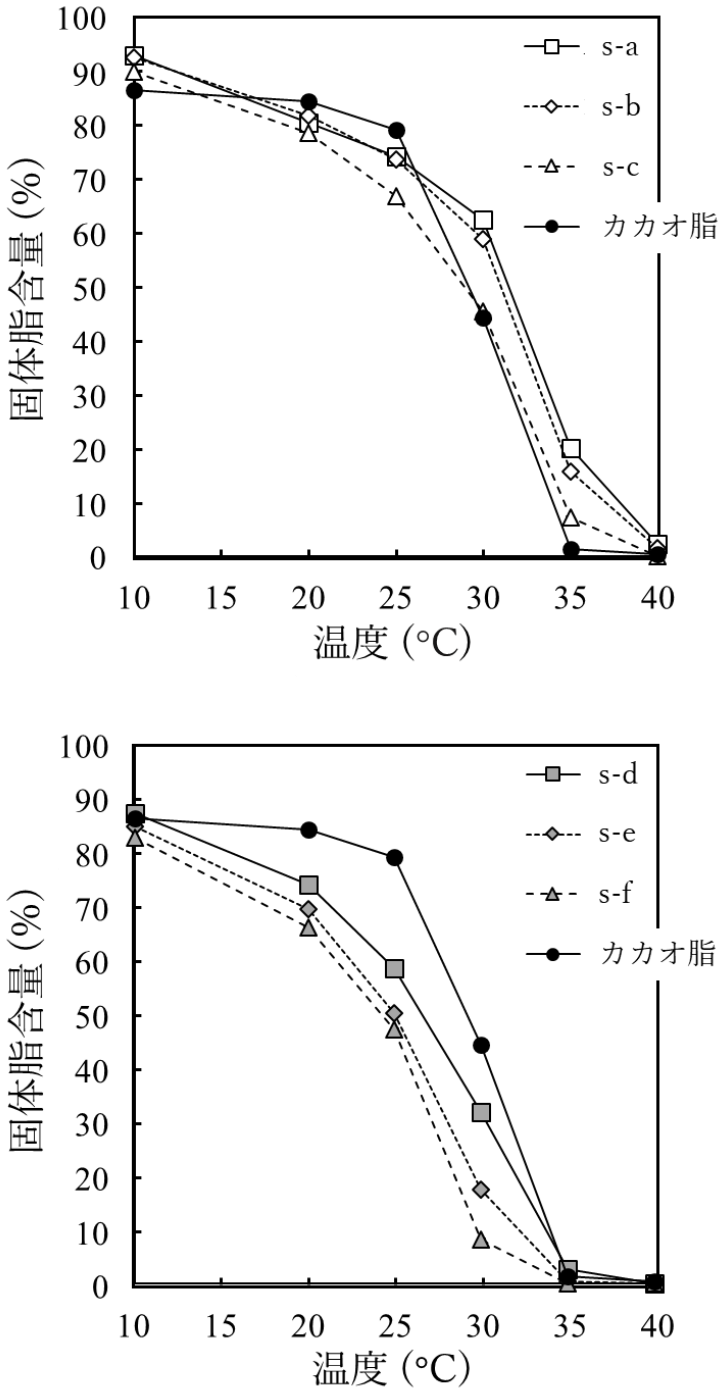


図 3-4　カカオ脂と 6 種類の混合物（s-a から s-f）の固体脂含量（SFC）（%）

第 2 項　チョコレートの硬さの比較

カカオ脂、SSO 脂、OSO 脂を配合したチョコレートの食感評価および耐熱性評価のために、硬さの測定を実施した。図 3-5 は、各温度におけるチョコレート試料 s-A から s-F およびカカオ脂ベースのチョコレート試料の最大応力値を示したものである。硬さは $S_{at}S_{at}U$ 濃度の増加、$US_{at}U$ 濃度の減少とともに徐々に増加した。試料 s-A、s-B、s-C および s-D の硬さは 22℃ではカカオ脂ベースのチョコレートと同等以上であり、良好なスナップ性を発現することが示唆された。一方、試料 s-E、s-F は同等以下の硬さであった。さらに、s-E および s-F は 30℃では応力値は測定されず、耐熱性が低いことが推察された。全温度帯をカカオ脂ベースのチョコレートと比較すると、試料 s-C と s-D はカカオ脂ベースのチョコレートとほぼ同じ硬さであり、カカオ脂ベースチョコレートと同等の物性品質であると判断された。

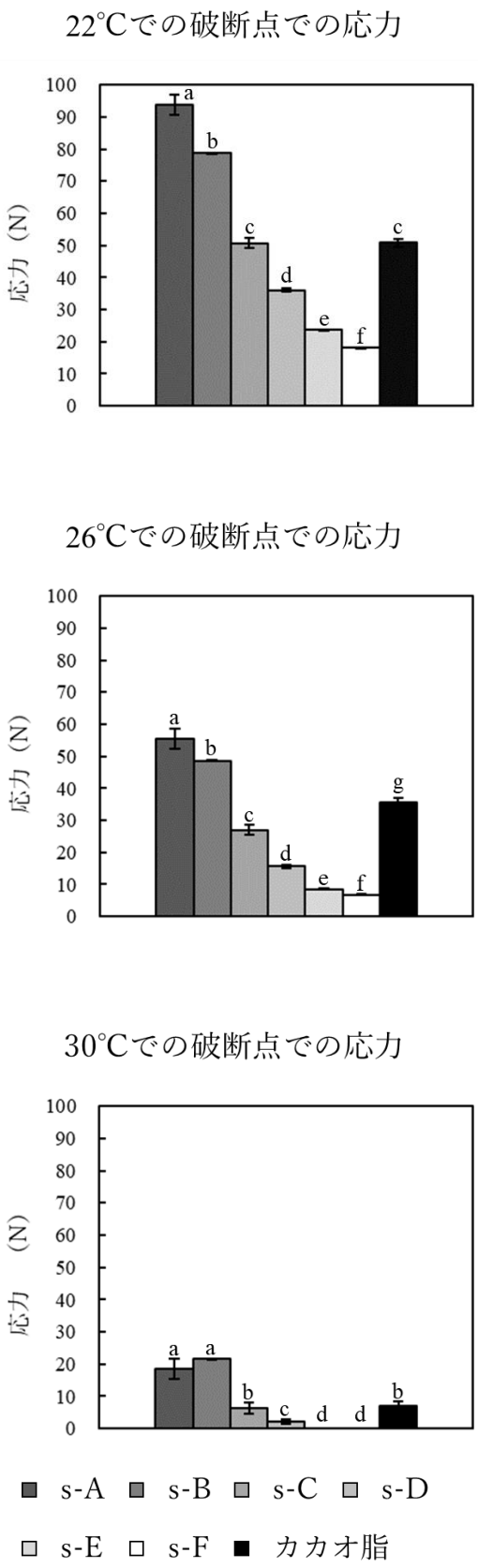


図 3-4　カカオ脂、SSO 脂、OSO 脂濃度の異なる 6 種類のチョコレートの破断点での応力値（n =3、平均値±SD、Tukey's HSD、異種記号間で有意差あり、$p < 0.05$）

第 3 項　チョコレートの保存性評価

表 3-5 に一定温度およびサイクル温度条件下の保存試験における外観評価結果をまとめた。25℃の等温条件下では、$US_{at}U$ 濃度が高い s-D、s-E、s-F において外観劣化は観察されなかった。一方、試料 s-A および s-B は、保存開始後 2 週間でファットブルームが発現しはじめ、その後ファットブルームはさらに悪化した。試料 s-C は、2 週間後にわずかにファットブルームが認められたが、その後の 1 年間でファットブルームの悪化は認められなかった。17↔28℃および 20↔30℃の温度サイクル保存では、試料 s-D および s-E は 1 年以上ファットブルームが発現しなかった。試料 s-C の場合、温度サイクル条件下でわずかなブルームを認めたが、1 年以上経過してもファットブルームは悪化しなかった。試料 F では 17↔28℃の温度サイクル条件下ではブルームは認められなかったが、20↔30℃の温度サイクル条件下では深刻なファットブルームが観察された。耐熱性評価において、試料 s-F は 30℃で耐熱性がないことが明らかとなっており（図 3-4)、したがって、試料 s-F ではサイクル保存中に融解と再結晶が繰返され、その結果チョコレート表面が変質したものと推察された。

20℃で 1 年以上保存した試料 A から F の電子顕微鏡画像を図 3-5 に示した。試料 C、D、E の表面は、試料 A、B、F の表面よりも明らかに滑らかであった。試料 F の表面には多くの穴が観察されたが、針状やその他のタイプのファットブルームは観察されなかった。試料 E の表面は、ほとんどの部分が滑らかであったが、ごくわずかに針状や草状のファットブルームが観察され、$S_{at}S_{at}U$ 濃度の増加とともに増加した。以上を踏まえると、高いファットブルーム耐性を有するのは試料 s-D、s-E であると判断された。図 3-3 に示した XRD 測定の結果より、単純冷却にて β 型で結晶化する傾向が最も強いものは試料 s-F であるが、チョコレート表面の状態は試料 s- F と比較して試料 s-D および s-E が良好である。これは、図 3-2(a)の DSC

測定結果を勘案すると以下のように考察できる。$MC_{SatUSat/SatSatU=1/1}$ を含む試料 D および E は固化の過程で結晶化の早い $MC_{SatUSat/SatSatU=1/1}$ の微細な結晶核が生成することで核形成が支配的となるため、その後の $MC_{SatUSat/USatU=1/1}$ 結晶の粗大化が抑制された結果、微細結晶での均質な組織が形成されたものと考えられた。一方、$MC_{SatUSat/USatU=1/1}$ が大部分を占める試料 s-F は固化が極めて遅いことから、固化時に結晶成長が支配的となることで粗大結晶が形成され、均質性を失ったものと考えられた。以上のことから $S_{at}S_{at}U$ 含量すなわち $MC_{SatUSat/SatSatU=1/1}$ 量の過多は均質組織の形成やブルーム耐性に負の影響を与えるため、$S_{at}US_{at}/US_{at}U/S_{at}S_{at}U$ が 50/30~20/20~30 程度が両因子を兼備した最適チョコレート混合比であると結論付けられた。

表 3-5 チョコレート保存試験結果

	25°C 一定保存					17↔28°C 温度サイクル保存				
保存期間	1 週間	5 週間	9 週間	18 週間	52 週間	1 週間	5 週間	9 週間	18 週間	52 週間
s-A	1	3	3	3	3	1	3	3	3	3
s-B	1	2	2	3	3	1	2	2	3	3
s-C	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
s-D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
s-E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
s-F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	20↔30°C 温度サイクル保存				
保存期間	1 週間	5 週間	9 週間	18 週間	52 週間
s-A	1	2	3	3	3
s-B	2	2	2	3	3
s-C	1	1	1	1	1
s-D	0	0	0	0	0
s-E	0	0	0	0	0
s-F	0	2	3	3	3

0：ブルームは認められない

1：わずかにブルームが認められる

2：ブルームが認められる

3：激しいブルームが認められる

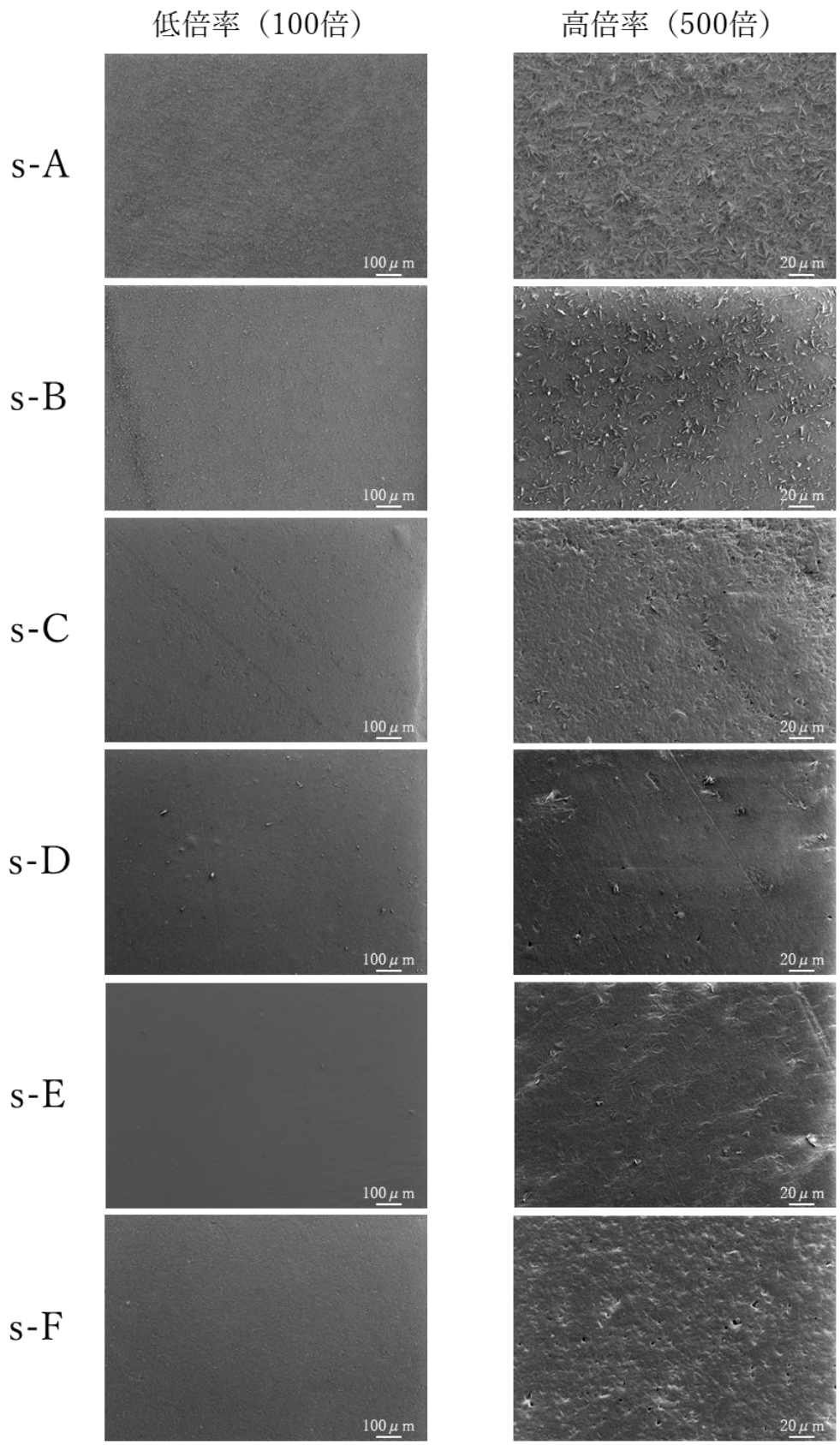


図 3-5　20℃で 1 年間保存した s-A から s-F のチョコレート試料（表 3-4 参照）の電子顕微鏡観察画像（低倍率（左）と高倍率（右））

第 4 節　　小括

The physical properties of ternary fat mixtures of cocoa butter (CB), SSO-fat, and OSO-fat were examined. The fat-bloom stability of chocolate containing these ternary fat mixtures was also evaluated. SSO-fat and OSO-fat were prepared as follows: After the 1,3 stereospecific acidolysis of fully hydrogenated rapeseed oil and oleic acid, subsequent distillation afforded an SSO- and OSO-rich glyceride fraction. Two-step solvent fractionation of the glyceride fraction afforded two fat fractions rich in SSO and OSO. These fat fractions were refined to obtain the test samples (SSO-fat and OSO-fat). The ternary fat mixtures were prepared by blending CB, SSO-fat, and OSO-fat so that the ratio of symmetrical saturated-unsaturated TAG ($S_{at}US_{at}$) to the sum of asymmetrical saturated-unsaturated TAG ($S_{at}S_{at}U$) and symmetrical unsaturated-saturated TAG ($US_{at}U$) was 1:1. The polymorphic structure of the ternary fat mixtures was examined using XRD. The XRD patterns of the fat mixture show that all the ternary fat mixtures of CB/SSO-fat/OSO-fat with a ratio of $S_{at}US_{at}/(S_{at}S_{at}U + US_{at}U)$ = 1:1 formed MC crystals having a double chain-length structure. For the $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ = 50/0/50–50/20/30 mixtures, the most stable β -2 form was observed after solidification. On the other hand, formation of the metastable β'-2 form after solidification and polymorphic transformation of the β'-2 to the β -2 form during 1 month of storage were observed in the mixtures of $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ = 50/30/20–50/50/0. These results suggest that increasing the blending ratio of OSO-fat increases the occurrence of stable forms, consistent with the results in Chapter 2. The melting behavior of the ternary fat mixture was evaluated by solid fat content (SFC) measurement. With increasing OSO concentration, the SFC profiles of the ternary

fat mixtures showed sharp melting profiles in the range of 30–40 °C. Among the mixtures, the SFC profiles of the ternary mixtures of $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ with ratios of 50/20/30 and 50/30/20 were similar to that of CB. Based on these results, the ternary fat mixture of $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ with a ratio of 50/20/30 is expected to exhibit desirable physical properties and high fat-bloom stability. To evaluate the physical properties and fat-bloom resistance of chocolate made with the CB/SSO-fat/OSO-fat ternary fat mixtures, six chocolate samples were prepared with the CB, SSO-fat, and OSO-fat. In the hardness measurement, the snapping property of the chocolate samples with the $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ ternary fat mixture in a 50/50/0–50/20/30 ratio was comparable to that of the pure chocolate samples. Furthermore, in the hardness measurement of the chocolate samples at 30 °C, the stress could not be measured for the chocolate sample with the fat mixtures of $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ = 50/0/50 and 50/10/40, indicating that these chocolates have no heat resistance. The fat bloom was evaluated under isothermal conditions at 15, 20, and 25 °C and after thermal cycling between 15 and 25 °C for 1 yr. Serious fat bloom was observed on the surface of the chocolate made with the ternary fat mixtures of $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ = 50/50/0 and 50/40/10 under all storage conditions. In contrast, no fat bloom was observed in the chocolate made with the ternary fat mixtures of $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ = 50/10/40 and 50/20/30 under all storage conditions. Overall, chocolate prepared with a $S_{at}US_{at}/S_{at}S_{at}U/US_{at}U$ fat ratio of 50/20-30/30-20 is the most attractive chocolate due to its preferable physical properties and high fat-bloom resistance.

第 4 章 trilauroylglycerol/1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol の 3 成分混合相挙動の解析

第 1 節　　はじめに

第 3 章までに明らかにしたように、チョコレートの物理的性質を決定するのはカカオ脂であるが、その供給は不安定であり価格も高騰しているのが現状である[93]。そのため、化学的組成や物理的性質をカカオ脂に近似した CBA の利用が急務とされる。世界で広く利用される CBA は、パーム核油等のラウリン酸型油脂を分別・水素添加を組み合わせて製造され CBS である[110,111]。典型的な CBS での主な TAG は、ラウリン酸（L、C12:0）とミリスチン酸（M、C14:0）を構成脂肪酸とした LLL、1,2-dilauroyl-3-myristoylglycerol（LLM）、および 1-lauroyl-2,3-dimyristoylglycerol（LMM）である[27,54,55,94,112–114]。これらは融液から単純冷却にて β'-2 型で結晶化し、熱力学的な安定性が高く、カカオ脂に類似した融解挙動を示す[27,112,113]。したがって、CBS を基調としたチョコレートの製造においてテンパリング工程は不要となる[27,54,55,110]。しかし、CBS 中の LLL 等は、長期保存にて安定な β-2 型へと多形転移し、ファットブルームを誘発することが課題である[113–115]。さらに、CBS チョコレートにカカオ原料を配合した場合、短期間で極めて激しいファットブルームが発現する[116]。これは、カカオ原料中のカカオ脂と CBS の相溶性の悪さが原因と考えられている[54,55,110,117]。油相中のカカオ脂含量が 5%未満であれば CBS とカカオ脂の混合物は β'-2 型の固溶体を形成するが、5%以上では CBS とカカオ脂混合物は β'-2 型の CBS とⅣ型(β'-2 型)のカカオ脂に相分離する[27,54,55]。この相分離を契機に、CBS は β'-2 型から β-2 型へ、カカオ脂はⅣ型からⅤ型(β_2-3 型)へと多形転移するため、深刻なファットブルームが発現する[27,54,55]。近年 Koizumi らは、CBS を特殊な温度条件で固化することで CBS 結晶内の格子欠陥（歪み）を

抑制し、多形転移を遅延させることが可能なことを報告している[118,119]が、本研究での 3 成分混合物における挙動については未だ不明である。

前章までの結果、SOS50%/SSO/OSO の 3 成分混合物が $MC_{SOS/SSO=1/1}$ の β-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の混晶を形成することを明らかとした(図 2-9)。さらに、本混合系をチョコレートに適応した場合、カカオ脂/SSO/OSO が 50/20/30 から 50/30/20 にて高い保存性と良好な物性を発揮することが認められ（表 3-5)、新たな CBA として提案することができた。3 成分混合物のカカオ脂/SSO/OSO のブルーム耐性発現には、3 成分混合物中の $MC_{カカオ脂/SSO=1/1}$ と $MC_{カカオ脂/OSO=1/1}$ の量比が重要と考える。すなわち、$MC_{カカオ脂/SSO=1/1}$ 単独ではファットブルームを発現するが、$MC_{カカオ脂/OSO=1/1}$ の共存によってカカオ脂/SSO/OSO の混合物全体が冷却直後から最安定の β-2 型へと誘導されるため（表 3-5)、高いブルーム耐性の発現に繋がったものと推察される。また、$MC_{カカオ脂/OSO=1/1}$ 単独では結晶化速度が遅く、そのため組織の均質性は十分でなく、その結果、硬さおよび耐熱性が十分でないことが認められたが、$MC_{カカオ脂/SSO=1/1}$ が共存することにより、結晶化速度を改善し、組織が均質となり、硬さや耐熱性を付与することができたものと推察される。本知見によると、MC 形成は CBS とカカオ脂の混合挙動や結晶多形制御に対しても効果を発揮する可能性がある。そこで本章ではこの仮説を実証するために、まず CBS とカカオ脂を代表する TAG として LLL と SOS を選択し、LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物での混合相挙動を検討した。

第 2 節　　材料および方法

第 1 項　試料の調製

LLL（純度 99%以上）は Sigma-Aldrich 社（米国）から、SOS および OSO（ともに純度は 99%以上）は月島食品工業㈱（東京）から購入した。3 種の TAG を LLL/SOS/OSO が 100/0/0、90/5/5、80/10/10、67/16/16、50/25/25、40/30/30、33/33/33、20/40/40、11/44/44、0/50/50（重量基準）となるようにバイアル瓶に秤量し、60℃にて融解後、混合して測定試料を調製した。表 4-1 に、LLL、SOS、OSO、および $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の多形結晶構造に関する基本特性[19, 27, 31, 120-122)]を示す。

表 4-1　LLL[27, 120]、SOS[19, 121]、OSO[122]および $MC_{SOS/OSO=1/1}$[31]の結晶多形構造

	結晶多形	長面間隔（nm）	短面間隔（nm）
LLL[27, 120]	α-2	3.53	0.413
	β'-2	3.27	0.423、0.390
	β_2-2	3.16	0.535、0.522、0.457、0.441、0.390、0.382
	β_1-2	3.15	0.537、0.523、0.462、0.457、0.442、0.389、0.378
SOS[19]	α-2	4.83	0.421
	γ-3	7.05	0.472、0.450、0.388、0.363
	β'-3	7.00	0.430、0.415、0.402、0.395、0.383、0.370
	β_2-3	6.50	0.458、0.400、0.390、0.375、0.367、0.357
	β_1-3	6.50	0.458、0.402、0.397、0.385、0.380、0.365
OSO[122]	α-2	5.20	0.405
	β'-2	4.50	0.412、0.385
	β-3	6.50	0.528、0.452、0.377
$MC_{SOS/OSO=1/1}$[31]	β-2	4.50	0.467、0.452、0.405、0.387

第 2 項　SR-XRD 測定

結晶化、多形転移および融解挙動の速度論的な解析は、高エネルギー加速器研究機構内の放射光施設（フォトンファクトリー、筑波）で実施した。測定試料は両面をポリイミドフィルムで封印したアルミニウムセル（内径 2.0 mm の円型穴, 厚さ 1.5 mm)に封入した。測定温度は Linkam 10002L（ジャパンハイテック㈱、福岡）で制御し、初期温度は 80℃、その後 15℃まで 2℃/min の速度での冷却し、30 min の保持後、80℃まで 5℃/min の速度で昇温した。その他の条件は以下のとおりである。

[SR-XRD 測定条件]

ビームライン	BL6A	X 線波長	0.15 nm
エネルギー	8.27 keV	カメラ長	0.929 m
検出器	PILATUS 1 M および PILATUS 100 K（Dectris Ltd.、スイス）		

第 3 項　DSC 測定

DSC（Discovery DSC 2500, TA Instruments Japan Inc., 東京）により混合試料の結晶化および融解挙動を解析した。混合試料を 80℃にて完全融解させ、十分に攪拌後、専用アルミセルに 3.0 ± 0.5 mg 秤量して DSC 測定用試料とした。測定手順は、混合試料を 80℃まで加熱して完全融解させたのち、2℃/min で 15℃まで冷却し、30 min 保持することにより結晶化挙動を観察した。次いで、5℃/min で 60℃まで加熱することで融解挙動を観察した。なお、空のアルミセルを対照として DSC 測定を行った。

第 4 項　偏光顕微鏡観察（Polarized Optical Microscopy（POM））

冷却過程にて析出した TAG の結晶形態について、デジタル顕微鏡（VHX-600, キーエンス㈱、大阪）を用いて偏光顕微鏡観察を実施した。融解状態の試料（4 μL）を厚さ 0.13 から 0.17 mm のガラス板上に滴下し、カバーガラスで覆い観察試料とした。冷却条件は SR-XRD（第 2 項）と同じであり、測定温度は Linkam 10021（ジャパンハイテック㈱、福岡）で制御した。

第 3 節　　結果と考察

第 1 項　SR-XRD による LLL/SOS/OSO の 3 成分混合相の挙動の解析

図 4-1 は LLL の SR-XRD 測定結果を 3 次元表面プロットと投影図で示したものである（表示範囲；30℃（冷却時）から 60℃（昇温時），XRD パターン間隔；冷却昇温過程は 1℃毎、15℃で等温保持中は 1 min 毎。以後の結果もすべて同様)。図中の数値は、回折ピークより算出した面間隔である。冷却過程では 25℃において、LLL の β'-2 型に対応する 3.27 nm の SAXD ピークと 0.423 nm と 0.390 nm の 2 つの WAXD ピークが出現し、15℃までそれら強度は増大した。15℃での等温過程の途中から、β'-2 型に対応するこれらの WAXD ピークは徐々に減少し、新たに LLL の β_2-2 型に対応する 0.535、0.522、0.457、0.441、0.390 および 0.382 nm の WAXD ピークが増大し、並行して SAXD 領域では LLL の β'-2 型由来の 3.27 nm のピークが 3.16 nm のピークにシフトした。これらは、LLL の β'-2 型から β_2-2 型への多形転移を示唆する変化[27,120]であり、加熱過程での 36℃まで継続した。その後の昇温過程では、0.390 nm と 0.382 nm の WAXD ピークの強度が増大し、0.457 nm の WAXD ピークは強度の増大とともに、0.457 nm と 0.462 nm にスプリットした。一方、3.16 nm の SAXD ピークは強度が増大し、かつ 3.15 nm の位置へとシフトした。これらの 36℃以降の回折ピークパターンの挙動は、LLL/SOS が 95/5 の混合物[27]および LLL/cholesterol が 96/4 の混合物[123]の相挙動の解析においても認められた挙動であり、LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への多形転移であると推定された。その後、全てのピークは 48℃から減弱し、57℃にて完全に消失した。以上のことから、本冷却・昇温条件で LLL は、25℃にて β'-2 型で結晶化を開始し、15℃保持中に β_2-2 型へと多形転移し、その後 36℃にて β_1-2 型へと多形転移後、48℃で融解を開始したものと推察された。

図 4-2 は SOS/OSO が 50/50 の SR-XRD パターンを示している。SOS/OSO の

2 成分混合物では $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型に由来する 4.50 nm の SAXD ピークと 0.465 nm の WAXD ピークが 17℃で出現し、その後の昇温過程で WAXD ピークがわずかにシフトしながら 29℃から 45℃にかけて減弱した。また極めて小さなピークであるが、冷却中の 17℃で 3.76 nm の SAXD ピークと 0.384 nm の WAXD ピークが現れたことから、部分的に SOS が相分離し、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化と同時に SOS の γ-3 型として結晶化したことが示された。この SOS の γ-3 型に由来する回折ピークは 15℃での等温過程で減衰・消失したことから、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ を形成したものと推察された。このように SOS/OSO の等モル混合物が冷却過程にて $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型を形成した結果は、他の報告[31, 32]や、構造が類似した TAG の 2 成分混合物である POP/OPO からなる MC の形成に関する報告[41]と類似した挙動であった。

図 4-3 に LLL/SOS/OSO が 80/10/10 の SR-XRD パターンを示した。LLL 単独の挙動（図 4-1）と比較して、LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物では LLL の β'-2 型から β_2-2 型への多形転移が大きく促進される特徴が確認された。LLL の β'-2 型の結晶化は、3.25 nm の SAXD ピークと 0.421 nm と 0.384 nm の WAXD ピークの出現より冷却中の 19℃で開始したと推測し、LLL 単独の挙動と比較して結晶化開始温度が 6℃低下していた。一方、SOS および OSO については、15℃到達後に 2 鎖長構造に相当する 4.43 nm の SAXD ピークと、β 型に相当する 0.465 nm の WAXD ピークが出現した。SOS および OSO の β 型は、表 4-1 に記載の通り 3 鎖長構造を形成することから、この回折ピークは各 TAG が個別に結晶化したのではなく、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型として結晶化したと判断した。また SOS/OSO 混合物の挙動（図 4-2）と比較して、結晶化開始温度が低下していた。そして注目すべき特徴として、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化直後に LLL の β'-2 型に由来する 3.25 nm の SAXD ピークが 3.13 nm へとシフトし、0.421 nm の WAXD ピークが消

失する挙動が認められた（図中赤矢印)。これらは、LLL のβ'-2 型が β_2-2 型へ転移したことを示しており、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の結晶化がβ'-2 型の LLL に影響を及ぼして β_2-2 型へと多形転移を誘発し、進行させた可能性が考えられた。この新たな結晶多形制御機構については、本章本節第 5 項にて考察する。その後の等温過程後の加熱では、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ-2 型は 23℃から 36℃にて融解し、34℃から 43℃にて LLL は β_2-2 型から β_1-2 型へと多形転移し、44℃から 51℃にて LLL の β_1-2 型が融解することが明らかとなった。

図 4-4(a)は、LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の量比を変えた LLL/SOS/OSO が 50/25/25 の SR-XRD パターンを示している。冷却過程では 16℃にて LLL のβ'-2 型の結晶化（3.31 nm の SAXD および 0.424 nm と 0.384 nm の WAXD）と SOS の γ-3 型の結晶化（3.64 nm の SAXD）が認められ、その直後に $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ-2 型の結晶化が確認された（4.40 nm の SAXD および 0.457、0.384、0.374 nm の WAXD)。この時、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ-2 型の析出と同時に LLL のβ'-2 型に由来する 3.31 nm の SAXD ピークが 3.15 nm へとシフトし、そして 0.424 nm の WAXD ピークは消失した。(図 4-4(a)赤矢印参照)。この結果から、LLL/SOS/OSO が 50/25/25 の 3 成分混合物においても、LLL/SOS/OSO が 80/10/10（図 4-3）の場合と同様に、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ-2 型の結晶化をきっかけに、LLL のβ'-2 型が β_2-2 型への素早い多形転移が生じたと推察した。この特異な挙動は、LLL のβ'-2 型の 3.31 nm、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ-2 型の 4.40 nm、LLL の β_2-2 型と β_1-2 型の 3.15 nm の SAXD ピーク強度と温度-時間変化の関係からも明らかである（図 4-4(b))。すなわち、LLL のβ'-2 型のピーク強度は等温過程直後から増加し、その後 $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のピーク強度は増加し、等温過程の間に最大に達した。これと並行して、LLL のβ'-2 型ピーク強度の減少と、β_2-2 型 ピーク強度の増加が認められた。この結果からも $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ-2 型の結晶化と LLL のβ'-2 型から β-2 型への多形転移が同時

に進行したことが明確に理解でき、この 2 つの現象間に強い因果関係があることを示している。図 4-4(a)および図 4-4(b)に示すように、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型は昇温過程の 28 から 39℃で融解し、LLL は 33℃から 43℃にて β_2-2 型から β_1-2 型へ転移、その後 44 から 47℃で β_1-2 型が融解した。

図 4-5 には LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の量比を逆転させた LLL/SOS/OSO が 20/40/40 の SR-XRD パターンを示した。冷却時の 15℃において、3.18 nm の SAXD ピークの出現より LLL の β_2-2 型が、そして同時に 4.50 nm の SAXD ピークの出現より $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が結晶化したと判断した。特に LLL が β'-2 型を経由せず直接 β_2-2 型にて結晶化した結果は、他の報告 [27] の LLL/SOS が 20/80 の 2 成分混合物を同様の冷却過程に供した場合でも LLL は β'-2 型として結晶化したことを鑑みると、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化が LLL の β-2 型の結晶化に強く関与していると推察された。さらに 15℃にて等温保持開始直後に微小な 3.69 nm の SAXD ピークと 0.471 nm の WAXD ピークが観察され、表 4-1 の結晶多形構造情報から、SOS の γ-3 型が結晶化したものと推察した。図 4-2 にて示した SOS/OSO が 50/50 の冷却挙動では、SOS の γ-3 型は認められなかったことから、結晶化以前の融液の状態で LLL の共存により微量の SOS が OSO との MC を形成せず、単独で SOS の γ-3 型として結晶化した可能性が考えられた。SOS の γ-3 型は、その後等温保持中および、昇温過程における 26℃から 38℃の間で融解し、さらに、31℃から 42℃にかけて $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が融解、LLL の β_2-2 型が β_1-2 型へと転移後に融解する挙動が観察された。

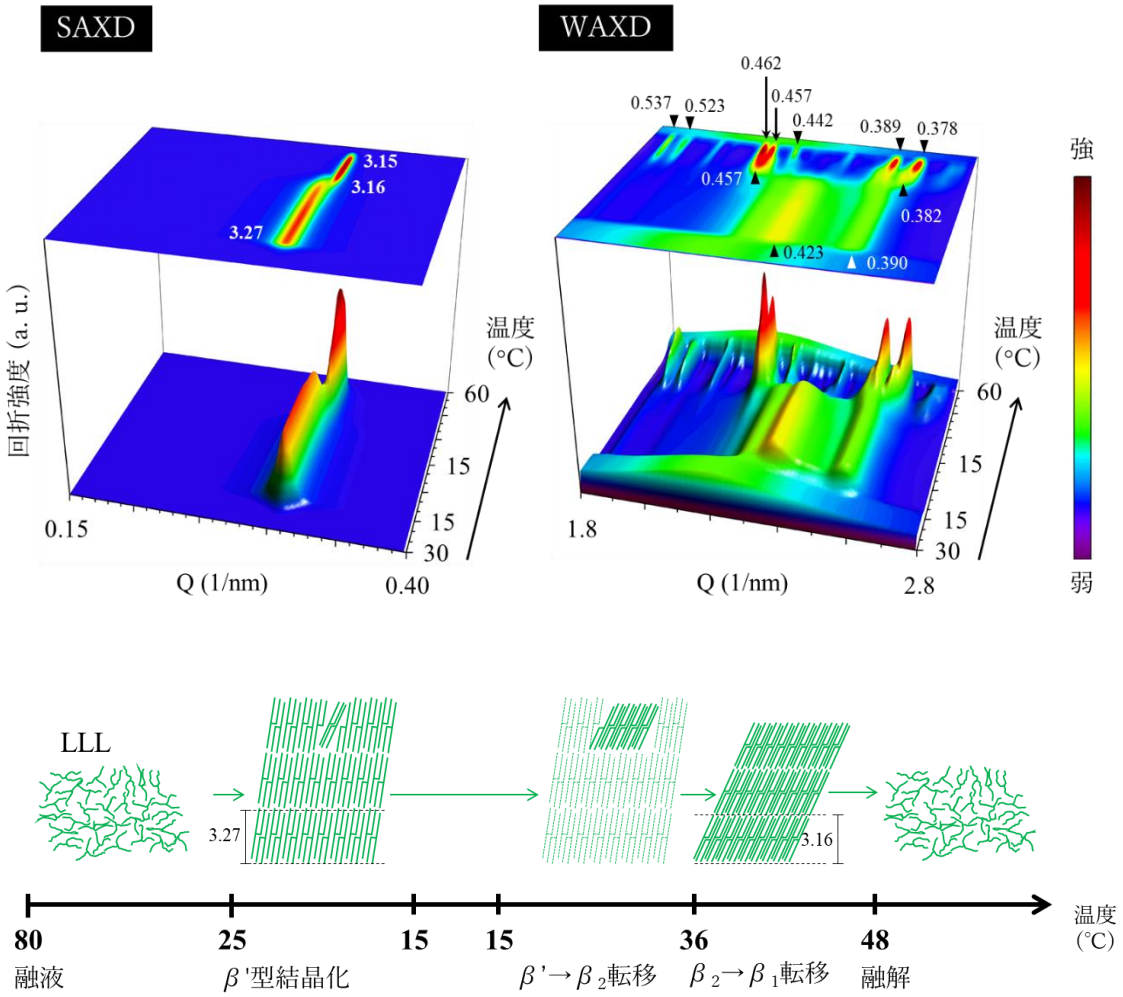


図 4-1　LLL の SR-XRD データの 3 次元表面プロットと投影図および冷却昇温過程の結晶構造モデル

冷却過程の 25℃より β'-2 型で結晶化を開始し、そして 15℃保持中 β'-2 型から β_2-2 型へと多形転移し、その後、昇温過程の 36℃にて β_2-2 型から β_1-2 型へ多形転移後、48℃で融解を開始した。

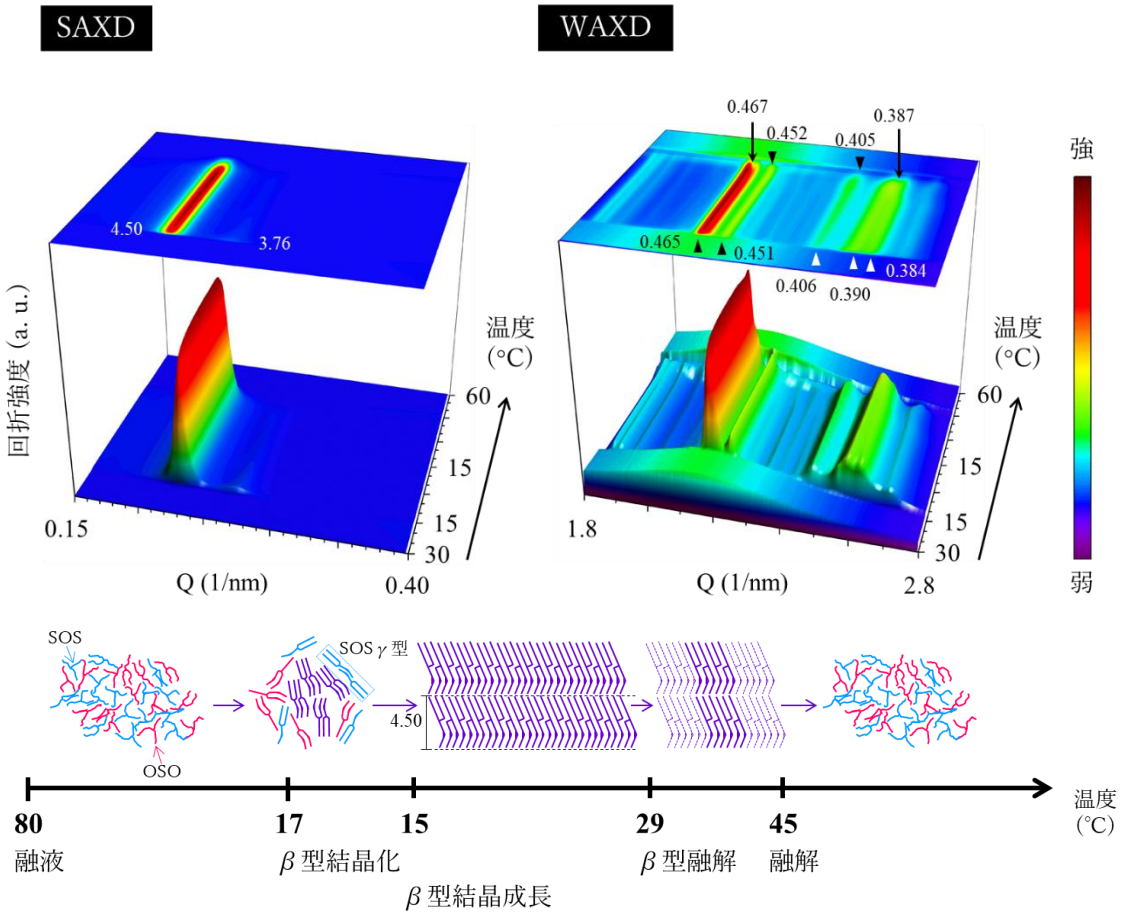


図 4-2　SOS/OSO が 50/50 の SR-XRD データの 3 次元表面プロットと投影図および冷却昇温過程の結晶構造モデル

冷却過程における 17℃で $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型として結晶化し、その後は大きな構造変化なく、昇温過程の 29℃から融解を開始した。

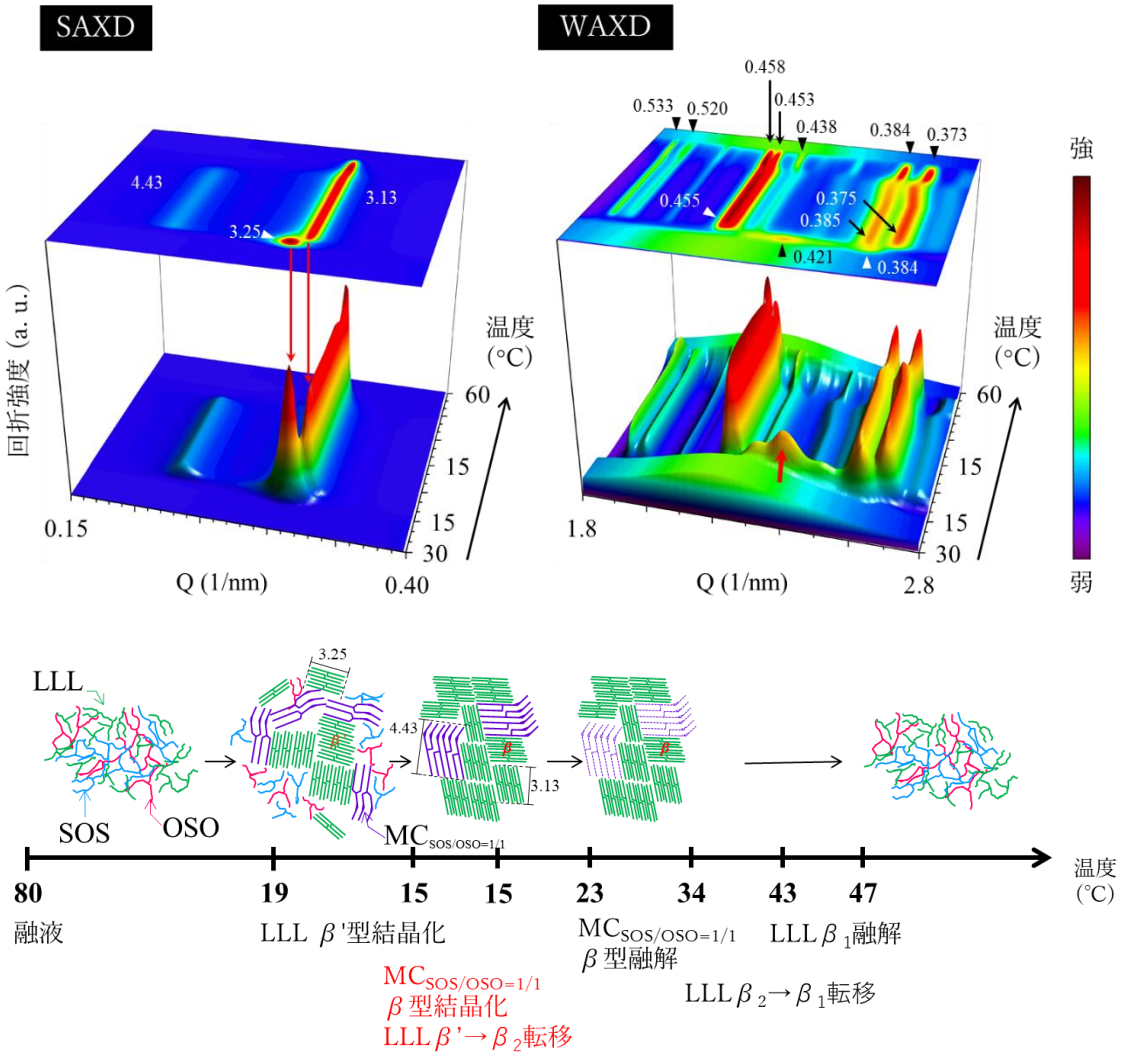
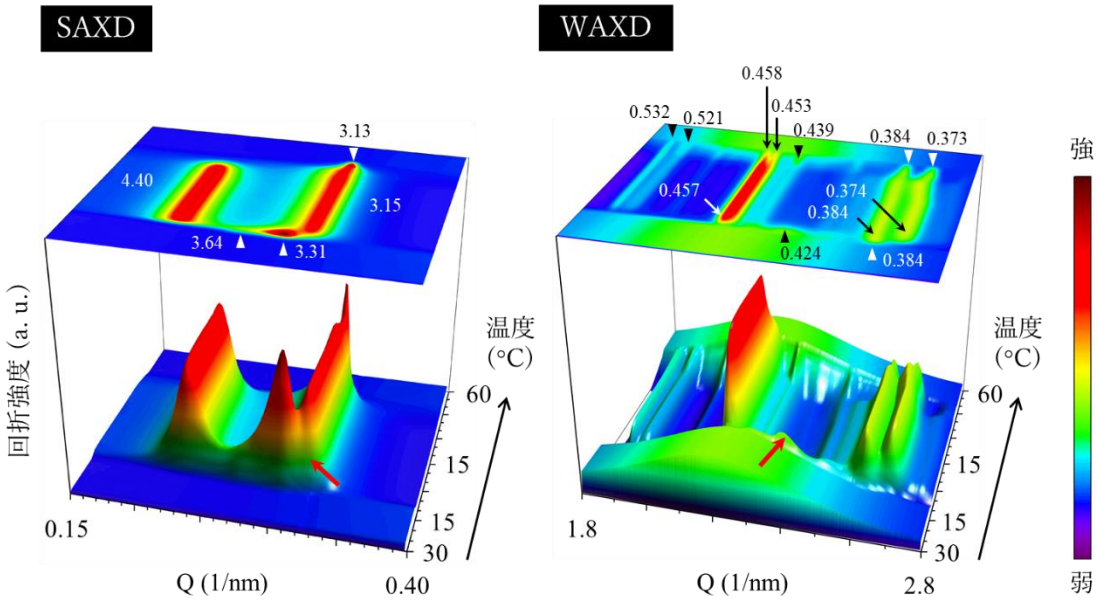


図 4-3　LLL/SOS/OSO が 80/10/10 の SR-XRD データの 3 次元表面プロットと投影図および冷却昇温過程の結晶構造モデル

3 次元表面プロット中の赤矢印は、LLL の β'-2 型から β_2-2 型への多形転移に由来した SAXD ピークのシフトを示している。冷却過程における 19℃にて LLL が β'-2 型で結晶化を開始し、15℃の等温保持中に $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が結晶化すると同時に LLL は β'-2 型から β-2 型へと多形転移し、その後、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ は 23℃より融解を開始し、LLL は 34℃にて β_2-2 型から β_1-2 型へ多形転移後、43℃で融解を開始した。

(a) 3 次元表面プロットと投影図



(b)主要回折ピークの強度変化

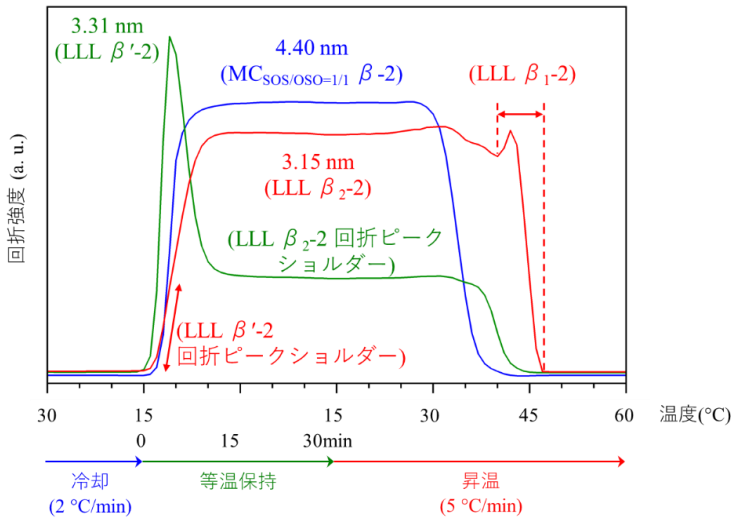


図 4-4　(a)LLL/SOS/OSO が 50/25/25 の SR-XRD データの 3 次元表面プロットと投影図(b)図 4-4 の主要な小角 X 線回折ピークの温度および時間経過に伴う強度変化

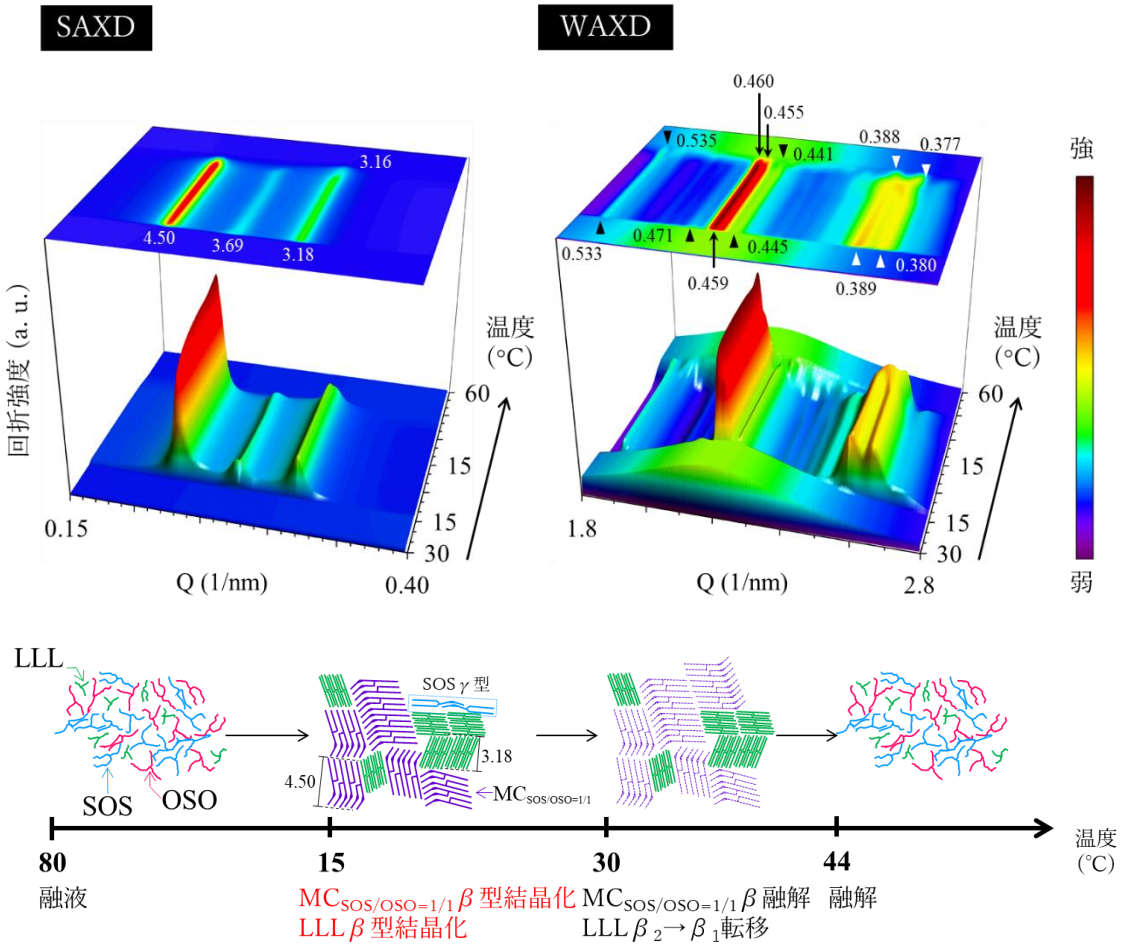


図 4-5　LLL/SOS/OSO が 20/40/40 の SR-XRD データの 3 次元表面プロットと投影図および冷却昇温過程の結晶構造モデル

冷却過程の 15℃において $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化と LLL の β-2 型が結晶化し、その後は大きな構造変化がなく昇温過程でそれぞれ融解した。

第 2 項　DSC による 3 成分混合相挙動の解析

SR-XRD にて測定した 3 成分混合物の結晶化と融解挙動（図 4-1 から図 4-5）について、DSC 測定により熱力学的側面からさらに解析した。図 4-6 は LLL、SOS/OSO が 50/50 および LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物の冷却、等温保持、昇温過程の DSC 曲線を示し、図中の温度は全て該当するピークのピークトップ温度を示したものである。融解および結晶化に関わる各吸熱/発熱ピークを SR-XRD 測定の結果（図 4-1 から図 4-5）に基づいて帰属し、表 4-2 にその結果をまとめた。LLL 単独試料は、冷却過程の 20.4℃での発熱ピークはβ'-2 型の結晶化に伴う発熱ピークと推定し、加熱過程の 27.8℃での発熱ピークは LLL のβ'-2 型から β_2-2 型への多形転移に伴う発熱ピークと推定した。さらに 46.9℃での吸熱ピークは β_1-2 型の融解に伴う吸熱ピークと推定した。SR-XRD 測定にて観測された約 40℃での β_2-2 型から β_1-2 型への転移（図 4-1）は、熱流が大きい β_1-2 型融解の吸熱ピークに吸収されたため、検出されなかったと推測した。

SOS/OSO が 50/50 の 2 成分混合試料では、15℃での等温過程にて主に $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化と推測される発熱ピークが認められた。SR-XRD 測定の結果（図 4-2）には、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の結晶化と同時に SOS γ-3 型の結晶化が認められていたため、この発熱ピークには SOS の γ-3 型の結晶化に関わる発熱ピークも含まれている可能性が考えられた。SOS の γ-3 型については SR-XRD 測定の結果（図 4-2）より、15℃保持中に緩やかに融解する挙動が認められたが、DSC 曲線においてはその挙動が確認できなかった。加熱過程の 36.2℃では融解に伴う吸熱ピークが得られた。

LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物においては、SR-XRD 測定で示された結晶化過程での LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の相互作用（図 4-3、図 4-4 および図 4-5）が DSC 測定においても認められた（図 4-6）。LLL/SOS/OSO が 80/10/10 では、15℃達温直

後に 2 つの発熱ピークが認められ、SR-XRD 測定の解析結果（図 4-3）から、前者を LLL の β'-2 型結晶化に伴う発熱ピーク、後者を $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型結晶化と LLL の β'-2 型から β_2-2 型への連続的な転移に起因する発熱ピークと推定した。加熱過程では、2 つの小さな吸熱ピークと大きな吸熱ピークが認められ、それぞれ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の融解、LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への転移、そして LLL の β_1-2 型の融解による吸熱ピークと推定した（図 4-7）。

LLL/SOS/OSO が 50/25/25 混合物では、15℃での等温過程におけるブロードな発熱ピークを除外すると、LLL/SOS/OSO が 80/10/10 混合物の DSC 測定結果と類似した DSC 曲線が得られた。なお、ブロードな発熱ピークは、SR-XRD 解析の結果（図 4-4）、LLL の β'-2 型と SOS の γ-3 型の結晶化、その後の $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化と LLL の β'-2 型から β_2-2 型への多形転移などが連続的に生じた結果であると考えられる。

LLL/SOS/OSO が 20/40/40 の混合物については、5℃での等温過程における鋭い発熱ピークとして観察され、他と同様 LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の相互作用的に結晶化したと推定されるが、SR-XRD 測定の結果（図 4-5）を鑑みると、LLL は β'-2 型ではなく、β_2-2 型で直接結晶化したと推定され、SOS の γ-3 型の結晶化も同時に起こっていること推定された。このため、昇温過程では 34.6℃にて $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の融解、LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への多形転移と LLL の β_1-2 型の融解の 3 つの現象が重なった吸熱ピークが観察された（図 4-6）。

以上の DSC 解析結果のうち、結晶化過程に関して LLL 濃度横断的に比較すると、LLL/SOS/OSO が 100/0/0、80/10/10、50/25/25 の 3 種の 3 成分混合物では、SOS/OSO 濃度依存的に結晶化温度が低下し、LLL/SOS/OSO が 50/25/25、20/40/40、0/50/50 では SOS/OSO 濃度依存的に結晶化開始温度が速くなる傾向（図 4-6 中の点線）であり、この現象は他の報告と類似の傾向 [27, 29]であることか

ら、LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が典型的な共晶（図 1-6(b)）を形成することが示唆された。このことは LLL/SOS/OSO が 100/0/0、80/10/10、50/25/25 の融解挙動において、複数の分離した融解ピークが認められたことからも推察できる。LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混合相については本章本節第 4 項でより詳細に考察する。一方、LLL/SOS/OSO が 50/25/25、20/40/40、0/50/50 の融解挙動に関して、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ 濃度の上昇に伴い各成分の融解挙動が近接し、ピーク形状が鋭くなる傾向が認められ、チョコレートとして望ましい喫食特性（鋭い融解と冷感の発現）が期待できる挙動であった。

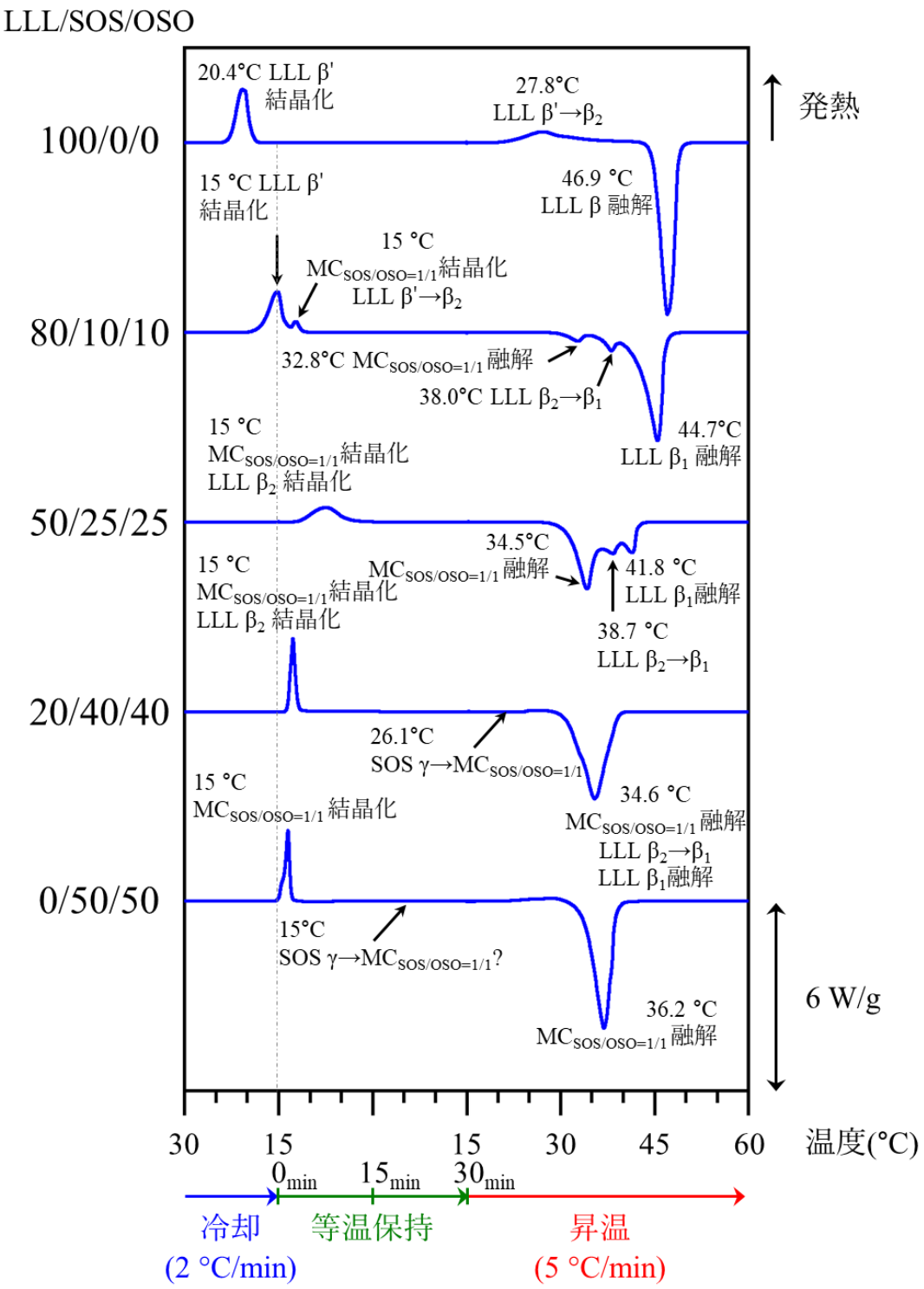


図 4-6　LLL/SOS/OSO 混合物の DSC 曲線（図 4-1 から図 4-5 の結果に対応、冷却過程：80℃→15℃、2℃/min、等温過程：15℃　30 min、昇温過程：15℃→80℃、5℃/min）

表 4-2　LLL/SOS/OSO 3 成分混合物の発熱ピークと吸熱ピークのピークトップ温度

LLL/SOS/OSO	冷却過程	等温過程	昇温過程
100/0/0	20.4℃ LLL β'-2 (C)		27.8℃ LLL β'-2→β_2-2 (T) 46.9℃ LLL β_1-2 (M)
80/10/10		0.2 分 LLL β'-2 (C) 3.0 分 $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (C) LLL β'-2→β_2-2 (T)	32.8℃ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (M) 38.0℃ LLL β_2-2→β_1-2 (T) 44.7℃ LLL β_1-2 (M)
50/25/25		7.5 分 LLL β'-2 (C) SOS γ-3 (C) $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (C) LLL β'-2→β_2-2 (T)	34.5℃ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (M) 38.7℃ LLL β_2-2→β_1-2 (T) 41.8℃ LLL β_1-2 (M)
20/40/40		2.5 分 $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (C) LLL β_2-2 (C) SOS γ-3 (C)	26.1℃ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (C) 34.6℃ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (M) LLL β_2-2→β_1-2 (T) LLL β_1-2 (M)
0/50/50		1.6 分 $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (C) SOS γ-3 (C)	28.8℃ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (C) 36.2℃ $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2 (M)

C；結晶化、T；多形転移、M；融解

各ピークは SR-XRD の結果より関与 TAG と挙動を帰属した。

冷却過程：80℃→15℃、2℃/min

等温過程：15℃　30 min

昇温過程：15℃→80℃、5℃/min

第 3 項　偏光顕微鏡による結晶形態観察

図 4-7 は LLL/SOS/OSO の 3 種の 3 成分混合物を 2℃/min で冷却し、その後 15℃で保持した際に得られた偏光顕微鏡観察像である。図から明らかなように、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の発生が LLL の多形転移を促進し、そして結晶形態に影響を与えていることが視覚的にも明らかである。すなわち LLL/SOS/OSO が 80/10/10 では、冷却過程の 21℃で結晶化が観察され、18℃では直径が 70 μm から 230 μm の球晶に成長した（図 4-7(a)左側写真)。さらに冷却すると、球晶は直径が 160 μm から 350 μm に成長し、球晶の周辺部にも微小な結晶（＜5 μm）の集合体が発生した（図 4-7(a)中央写真)。その後、球晶と微細結晶の集合体は形態を変えずに輝度を増加させた（図 4-7(a)右側写真)。図 4-3 の SR-XRD 解析結果に基づくと、LLL/SOS/OSO3 成分混合物の一連の結晶化過程の挙動は以下のように説明できる：(i) LLL の β'-2 型の結晶化（図 4-7(a)左側写真)、(ii) LLL の β'-2 型の成長および $MC_{SOS/OSO}$ の β-2 型の微細結晶化（図 4-7(a)中央写真)、(iii) $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化に誘発された LLL の β'-2 型から β_2-2 型への多形転移および $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型のさらなる結晶化（図 4-7(a)右側写真)。

図 4-7(b)は、LLL/SOS/OSO が 50/25/25 の 15℃保持中での結晶化過程における連続画像を示しており、図 4-4 に示した SAXD ピーク強度変化に基づいて次のように解釈することができる。図 4-7(b)左側には、15℃での等温開始 2 分後に取得した針状結晶からなる変形球晶（直径 40 μm から 220 μm）を示しており、冷却中に 16.1℃で最初に観察された核から成長した結晶である。この段階では図 4-4 の SR-XRD の結果より、LLL の β'-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が共存しており、相対濃度は LLL の β'-2 型が高いと推察される。4 分後には、LLL の β'-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型がさらに結晶化したことにより球晶サイズが大きくなり、さらに矢印で示すように球晶の中央の輝度が増加した（図 4-7(b)中央写真)。これ

らの変化は LLL の多形転移によるものと推察され、その後の 15℃保持中に多形転移は観察視野全体に及んだ（図 4-7(b)右側写真)。

図 4-7(c)は、LLL/SOS/OSO が 20/40/40 の 15℃等温過程における連続画像である。図 4-7(c)左側では、15℃等温過程の 2 分後に変形した球晶と直径 10 μm から 40 μm のマルテスクロスパターンをもつ球晶が観察された。どちらの球晶も冷却過程の 16.5℃で初めて発生し、その後の 15℃等温過程でされに成長した（図 4-7(c)中央写真および右側写真)。さらに、その後の昇温過程で複屈折マルテスクロスパターンを持つ球晶は 38.8℃で消失し、変形した球晶は 42.6℃で消失した。これらの結果と SR-XRD の結果（図 4-5）を合わせると、変形した球晶中には LLL の β_2-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が共存しており、マルテスクロスパターンを持つ球晶は SOS の γ-3 型であると推定された。

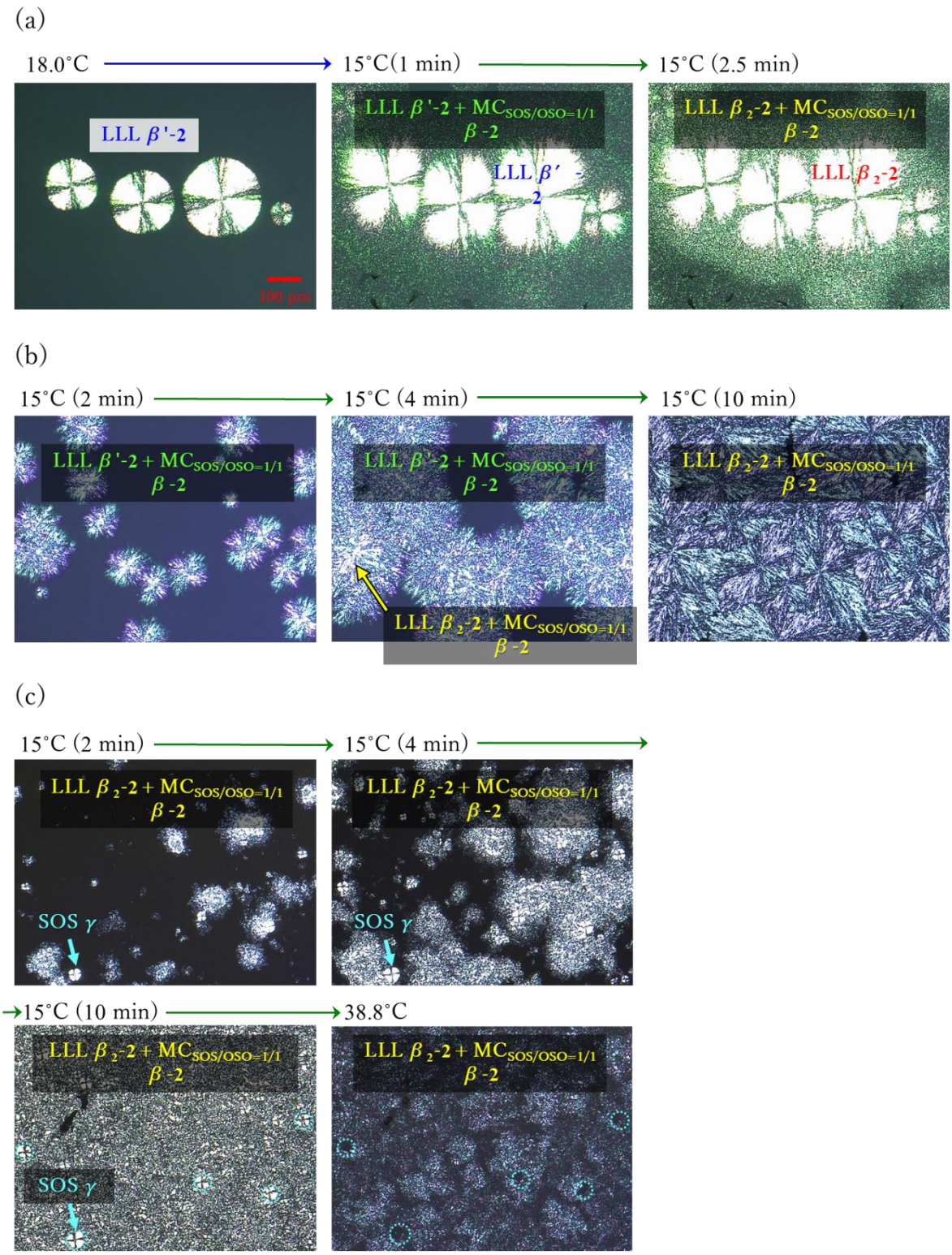


図 4-7　LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物の冷却過程における偏光顕微鏡画像

第 4 項　LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物の相図

図 4-8 に LLL/SOS/OSO 混合物中で形成された TAG 結晶の結晶相および多形転移をまとめた相図を示した。本相図は 3 成分混合物中の $MC_{SOS/OSO=1/1}$ 割合を横軸として、表 4-2 にまとめた DSC 昇温過程における融解挙動のピークトップ温度と、追加で実施した LLL/SOS/OSO が 90/5/5、80/20/20、40/30/30、33/33/33、および 20/40/40 の混合物の DSC 昇温過程における融解挙動のピークトップ温度データも加えている。図 4-8 中の 3 つの異なる記号は、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の融解ピークトップ温度（□）、LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への多形転移に伴う吸熱ピークのピークトップ温度（▲）、および LLL の β_1-2 型の融解ピークのピークトップ温度（●）を示している。

まず、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が豊富な混合物（LLL50%以下）において、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が 50%から 89%の範囲における $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型融解ピークのピークトップ温度（図 4-8 中の□）および、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が 60%から 89%の範囲における LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への転移に伴う吸熱ピークのピークトップ温度（図 4-8 中の▲）、そして LLL の β_1-2 型融解ピークのピークトップ温度（図 4-8 中の●）はほぼ一定であった。従って図 4-8 中では、これらの記号を実線で結んでいる。しかしながら、図 4-9 に示すように、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が 60%、67%の混合物では融解ピークの高温側にショルダーが認められた（図 4-9　▲印)ことから、LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への多形転移と LLL の β_1-2 型の融解という 2 つの相挙動は、ピークトップ温度より高温側で起こった可能性がある。このことから、LLL の 2 つの相挙動を示す予想線は、実測値に基づいて図示した実線より高温側に存在する可能性があり、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が 50%と 80%の対応する記号を点線で結んだ予想線を作図した。

一方、LLL が 50%以上の 3 成分混合物の融解挙動は、図 4-6 中の LLL/SOS/OSO が 80/10/10 や 50/25/25 に認められるように、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の融解、LLL

の β_2-2 型から β_1-2 型への多形転移、そして LLL の β_1-2 型の融解といった 3 つの挙動に対応する 3 つの吸熱ピークを認めることができ、図 4-8 中ではそれぞれの挙動毎にピークトップ温度を実線でつないだ相図を作図できた。得られた相図より、LLL の β_1-2 型融解のピークトップ温度は $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が増加するにつれて直線的に減少することが認められた。一方、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型融解のピークトップ温度を繋いだ実線と、LLL の β_2-2 型から β_1-2 型への多形転移による吸熱ピークのピークトップ温度を繋いだ実線は、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が減少するにつれてわずかに減少することが明らかとなった。

以上の結果を統合すると、LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物としての融解挙動は、LLL の β_1-2 型融解の線と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型融解の線を統合した線となり、その結果、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ が 80%でピークトップ温度が最小となる凹形状の挙動を示すことが明らかとなり、これらの LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が典型的な共晶を形成することが明らかとなった。

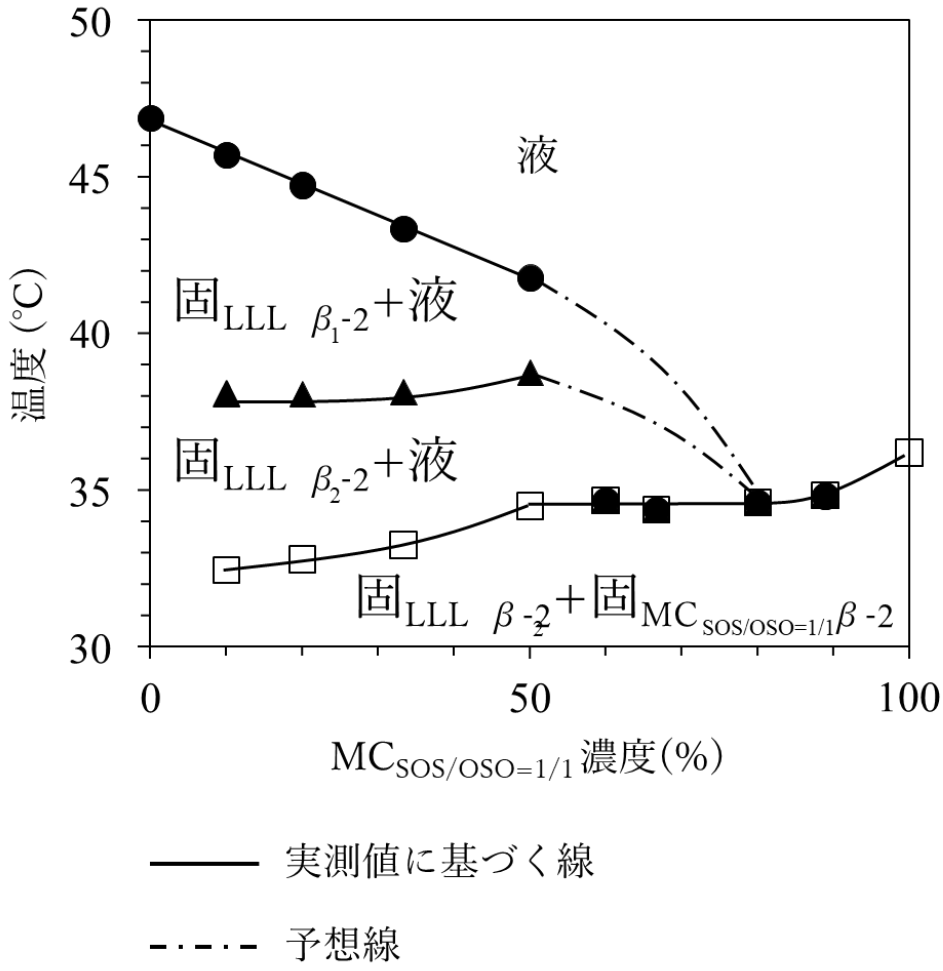


図 4-8　DSC 測定結果より作図した LLL/$MC_{SOS/OSO=1/1}$ 混合物の相図($MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 融解(□)、LLL の β_2-2 から β_1-2 転移(▲)および LLL の β_1-2 融解(●))

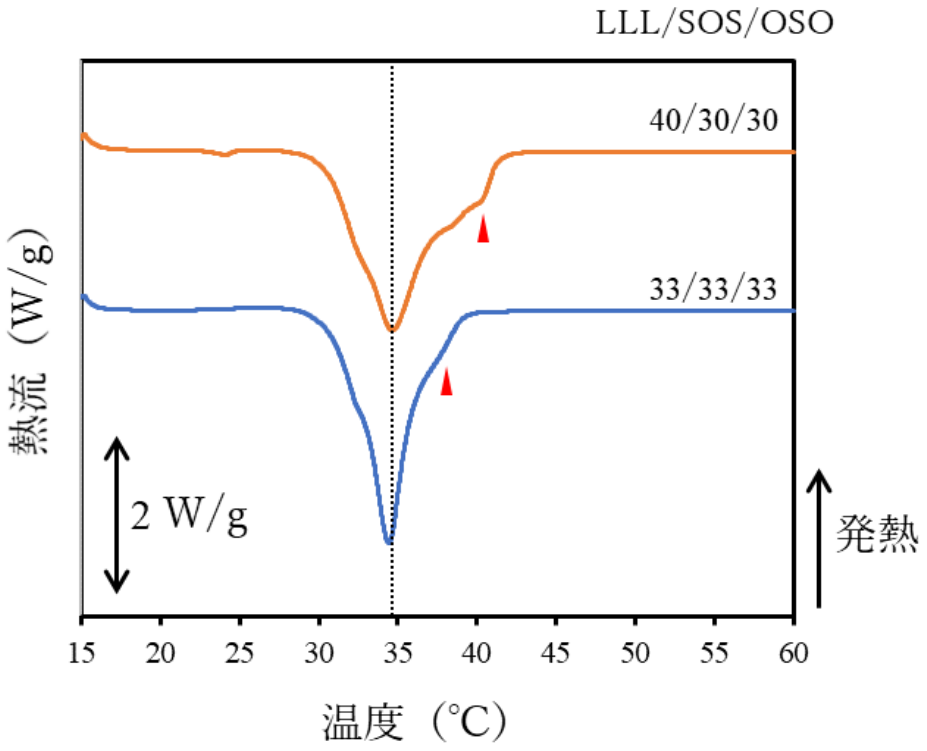


図 4-9　LLL/SOS/OSO の混合比が 40/30/30 と 33/33/33 の混合物の、昇温過程における DSC 曲線（冷却過程：80℃→15℃、2℃/min、等温過程：15℃　30 min、昇温過程：15℃→80℃、5℃/min）

第 5 項　結晶間相互作用による多形転移促進現象のメカニズムの推察

本研究により、冷却処理のみで LLL/SOS/OSO において LLL が安定な β_2-2 型で結晶化することを明らかとした（図 4-3 から図 4-5）。このような結晶化は LLL 単独系および LLL/SOS の 2 成分混合系 [27] では確認されず（図 4-1）、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化の影響を受けた混合系で初めて認められた現象である（図 4-3 から図 4-5）。この結晶間相互作用による多形転移促進現象の特徴的を要約すると以下の 3 つとなる。(i) LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ は共晶を形成した。(ii)LLL/SOS/OSO が 80/10/10 および 50/25/25 では、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型が結晶化した直後に LLL の β'-2 型が β_2-2 型へと転移した。(iii) LLL/SOS/OSO が 20/40/40 では、LLL の β_2-2 型と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型がほぼ同時に結晶化した。この結晶間相互作用による多形転移促進現象が生じるメカニズムは、次の三つが考えられる。一つ目は熱的影響である。$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化時に発生した結晶化熱が LLL の β'-2 型から β_2-2 型への融液媒介転移を促進した可能性がある。しかしながら $MC_{SOS/OSO=1/1}$ 濃度が低い場合、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の結晶化熱が LLL の β'-2 型を融解させるために十分でない可能性もあり、また発生した熱が冷却過程でも放散される可能性もあることから、現状では熱的効果によるものと断言できない。二つ目のメカニズムとして、LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ とのエピタキシャル効果が挙げられる。$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の β-2 型の副格子構造が、LLL の β'-2 型から β_2-2 型の副格子構造へ転移を誘起する可能性がある。Mahisanunt らは、α 型、β' 型および β 型に調製した高融点 TAG（PPP および SSS）を、ラウリン酸を主要な構成脂肪酸とするヤシ油と混合し、ヤシ油の結晶化挙動を観察した [124]。その結果、全ての結晶多形の PPP および SSS はヤシ油の β' 型の結晶化を促進したが、特に強力に β' 型結晶化を促進したのは β' 型の PPP および SSS であることを報告した。カカオ脂のシードテンパリング時に用いられる種結晶添加法 [8] に代表される一般的な結晶化促

進効果は、種結晶と標的油脂間の長面間隔の近似によるテンプレート効果と言われている[125-127]。しかし、ヤシ油のβ'型結晶の長面間隔と、これら高融点 TAG の結晶の長面間隔は近似しない（長面間隔（nm） ヤシ油 β'-2 型；3.39、PPP β'-2 型；4.16、SSS β'-2 型；4.62）。このことから、PPP や SSS のβ'型が強力にヤシ油の結晶化を促進した機構はテンプレート効果ではなく、種結晶と標的油脂間の副格子構造の一致による種結晶表面上でのエピタキシャルな成長によるものと考察している。エピタキシャル成長においては長面間隔が異なる場合でも、炭化水素鎖面の表面で強い相互作用が発揮される[104, 124]ことから、本研究の LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ 間の相互作用による多形転移促進現象もまたエピタキシャル効果によるものである可能性が考えられる。注意すべき点として、本研究で認められた現象は、一般的なテンプレート効果や他報告のエピタキシャル成長が、種結晶もしくは先に結晶化した高融点結晶による結晶化促進や転移促進であるのに対し、本研究で認められた現象は先に結晶化した LLL のβ'型結晶の結晶多形を、後に結晶化した $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型結晶が制御するという点で大きな差異がある。この点を鑑みるとエピタキシャルな相転移促進効果と呼ぶことがより正確な表現と考えられる。想定されるメカニズムの最後の可能性は、機械的刺激や急速加熱の熱刺激により、準安定な多形がより安定な形態に変化するマルテンサイト変態が考えられる[128]。Kaneko らは、ペトロセリン酸の結晶多形と固相転移を分光学的に調査した結果、高融点相への固相転移には 2 つの機構があることを報告し、一方は外部より緩やかに熱を加えることで促進し、他方は瞬間的な機械的・熱的刺激にて促進されることを観察した[128]。本研究では外部より機械的刺激は付与していないため、熱的刺激による多形転移促進に該当する可能性があり、一つ目の想定メカニズムと現象としては同じとみなせ、可能性は低いと考えられる。今後は、LLL/$MC_{SOS/SSO=1/1}$ や LLL/OOO、また trimyristoylglycerol (MMM)/$MC_{SOS/OSO=1/1}$ などの混合物に対して同様の検討を実

施するとともに、LLL/$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の混合物に対しては冷却過程におけるマイクロビーム SR-XRD 解析での結晶の配向性を調査することにより、結晶間相互作用による多形転移促進現象機構の全容解明を進める計画である。

本研究により、MC 形成に関与しない TAG である LLL と、MC 形成が報告されている SOS および OSO の 3 成分混合物に関して、混合相挙動や結晶多形制御の解析を実施することにより極めて興味深い二つの知見を得るに至った。まず一つ目に、LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物中であっても $MC_{SOS/OSO=1/1}$ は形成され、β 型として結晶化することが明らかとなった。本結果は多様な TAG の混合物である実製品においても β 型の MC が形成されることが強く期待される結果であった。特にカカオ脂が SOS を始めとした対称型 TAG を豊富に含む点で、カカオ脂を含む実製品への応用が期待される。二つ目に、β 型として結晶化した $MC_{SOS/OSO=1/1}$ が MC 形成に関与しない TAG を熱力学的により安定な結晶相へと速やかに転移させることが明らかとなった。製品保存中の油脂結晶の多形転移は、その外観や内部組織の劣化を誘発することから、製造者にとって究極の課題であった。従って構成 TAG を特別な冷却操作を実施せずとも安定相へと速やかに転移できることは、その後の品質安定性を大きく改善することが期待される。第 5 章では、これらの効果を実製品にて検証する。

第 4 節　　小括

The crystallization kinetics and phase behavior of trilauroylglycerol (LLL), $MC_{SOS/OSO=1/1}$, and ternary TAG mixtures of LLL/$MC_{SOS/OSO=1/1}$ were examined using DSC and SR-XRD. SR-XRD analysis revealed that pure LLL crystallized in the metastable β'-2 form around 25 ℃ during the cooling process, followed by a gradual polymorphic transformation from the metastable β'-2 form to the stable β_2-2 form during the isothermal and heating processes. Thereafter, the β_2-2 form underwent polymorphic transformation to the β_1-2 form, and finally, the β_1-2 form of LLL completely melted around 57 ℃. Similar to the binary mixture of SOS and OSO with a mixing ratio of 1:1, direct crystallization of the most stable form (β-2) was observed at 17 ℃ during the cooling process. As reported previously, this can be attributed to the formation of the β-2 phase of the $MC_{SOS/OSO=1/1}$ crystal. In the heating process, a single melting peak of the β-2 phase of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ was observed around 36 ℃. These results indicate that the crystallization process for LLL differs from that of $MC_{SOS/OSO=1/1}$. SR-XRD and DSC analysis of the ternary TAG mixture of LLL/$MC_{SOS/OSO=1/1}$ unveiled a unique polymorphic transformation of LLL from the metastable β'-2 form to the stable β_2-2 form, triggered by the crystallization of the β-2 from of $MC_{SOS/OSO=1/1}$. As shown in the SR-XRD patterns of the ternary TAG mixture of LLL/SOS/OSO with mixing ratios of 80/10/10 and 50/25/25, for the series of samples, the β'-2 form of LLL and β-2 form of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ were generated, with a concurrent quick polymorphic transformation of the β'-2 form of LLL to the β_2-2 form, accompanied by the formation of the β-2 form of the $MC_{SOS/OSO=1/1}$ crystal. Furthermore, for the ternary TAG mixture of LLL/SOS/OSO = 20/40/40, simultaneous crystallization of the β-2 form of LLL

and β-2 form of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ was observed at the end of the cooling process. The phase transition of the β'-2 form of LLL to the β-2 form and direct crystallization of the β-2 form of LLL seemed to be influenced by crystallization of the β-2 form of $MC_{SOS/OSO=1/1}$. Consistent with the other results, polarized optical microscopy (POM) observation also indicated that the phase transition of the β'-2 form to the β_2-2 form of LLL was influenced by the crystallization of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ β-2. In the POM observation of the ternary TAG mixture of LLL/SOS/OSO = 80/10/10 during the cooling process, the spherulites that grew after crystallization of the β'-2 form of LLL appeared brighter, accompanied by crystallization of the β-2 form of $MC_{SOS/OSO=1/1}$. This change in the brightness of the spherulites was attributed to the structural transitions of LLL from the β'-2 form to β_2-2 form; thus, it was inferred that the crystallization of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ is strongly involved in the structural transition of LLL. The mechanism of this newly found polymorphic transition between LLL and $MC_{SOS/OSO=1/1}$ is discussed hereinafter. The heat of crystallization of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ can be assumed to be a factor influencing the polymorphic transition of LLL. The heat generated during crystallization of $MC_{SOS/OSO=1/1}$ may have promoted the melt-mediated polymorphic transformation from the β'-2 form of LLL to the β_2-2 form. Epitaxial effects may also affect the polymorphic transition of LLL, triggered by the crystallization of $MC_{SOS/OSO=1/1}$. Further research is required to clarify the overall mechanism of this polymorphic transition between $MC_{SOS/OSO=1/1}$ and LLL or other TAGs. Furthermore, blending MC with CBS-based compound chocolate is expected to solve the issue of fat-bloom formation.

第 5 章 CBS/カカオ脂/OSO 脂を配合したノーテンパリングチョコレートの機能評価

第 1 節　　はじめに

CBS は、パーム核油やヤシ油を原料として、分別・水素添加等の油脂加工技術を利用して製造される CBA である [54, 55, 58, 94, 116]。CBS を配合したコンパウンドチョコレートはピュアチョコレートと比較して安価であり、温調操作（テンパリング）せずとも素早く固化し、優れた光沢とカカオ脂と類似した物理的性質（食感や口どけ）を示す。CBS は、LLL、LLM、LMM、MMM 等のラウリン酸やミリスチン酸が結合した TAG に富み [114, 116, 118, 119]、融液から単純冷却にて比較的安定な β'-2 型で固化する [116, 118, 119]。そのため、CBS を基調としたコンパウンドチョコレートの製造において、テンパリング操作は不要とされる [54, 55]。しかしながら CBS の TAG のうち LLL や MMM などの単一酸型 TAG はより安定な β-2 型へと多形転移し、ファットブルームの発生によって商品価値が大いに低下してしまう [113, 118, 119]。また、コンパウンドチョコレートには、好ましい香気を付与する目的でカカオ固形分や乳固形分を配合する場合があるが [54, 55, 58, 129]、CBS は配合されたカカオ脂や乳脂と共晶を形成するため、SFC の低下やチョコレート製品の軟化を引き起こす [115, 130]。さらに深刻な影響として、カカオ脂が CBS から相分離し、その後多形転移するため、やはりファットブルームが発生する [116, 118]。このファットブルームの発生は、チョコレート油相中のカカオ脂濃度が約 5%を超えると短期間で起こることが報告されている [27, 131]。このことから、CBS を配合したコンパウンドチョコレートでは、カカオ固形分や乳固形分の配合量が制限されることになり、風味に欠けてしまうという課題がある。この問題を解決するために、TAG の多形転移を遅延させる乳化剤の使用 [61]、高融点トリ飽和 TAG の配合 [59]、他油脂とのブレンディングや、

油脂のエステル交換技術を用いた新しい CBS の開発[62–65]などが検討されている。しかしながら、これらの技術を活用してもなお、CBS を配合したコンパウンドチョコレートでのファットブルームの発生を完全に止めることはできていないのが現状であった。

第 4 章での LLL、SOS および OSO の 3 成分混合系の結晶化挙動の解析によって、$MC_{SOS/OSO}$ の β-2 型の結晶化によって LLL の β'-2 型から β-2 型への多形転移が促進されることが判明した。本結果は、CBS と $MC_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ を混合した油脂では結晶化過程で最安定な β-2 型で結晶化するため、固化後の多形転移によってファットブルームの発生が抑制される可能性を示唆している。そこで、第 5 章では CBS/カカオ脂/OSO 脂からなるコンパウンドチョコレートを調製し、コンパウンドチョコレートとして要求される様々な物性を評価するとともに、最大の課題である保存安定性について検討を行った。

第 2 節　　材料および方法

第 1 項　試料の調製

CBS としての完全水素添加パーム核ステアリン、およびカカオ脂は不二製油㈱より入手した。OSO 脂は、第 3 章にて調製した油脂を使用した。調製した油脂は第 3 章第 2 節第 3 項での HPLC による TAG 組成分析法に従って組成分析を実施した（表 5-1）。

表 5-1　CBS、カカオ脂、OSO 脂の TAG 組成（%）。

CBS		カカオ脂		OSO 脂	
LLL	26.3	POS	35.5	OSO	61.8
LLM	23.3	SOS	25.6	OSL	14.1
LMM+LLP	14.5	POP	15.2	SSL	3.2
MMM	9.1	SOO	3.2	PSO	1.1
C10LL	6.1	PLS	2.8	その他	19.8
その他	20.7	POO	2.7		
		その他	14.5		

脚注：LLL；trilauroylglycerol、LLM；1,2-dilauroyl-3-myristoylglycerol、LMM；1-lauroyl-2,3-dimyristoylglycerol、LLP；1,2-dilauroyl-3-palmitoylglycerol、MMM；trimyristoylglycerol、C10LL；1-capryl-2,3-dilauroylglycerol、POS；1-palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoylglycerol、SOS；1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol、POP；1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol、SOO；1-stearoyl-2,3-dioleoylglycerol、POO；1-palmitoyl-2,3-dioleoylglycerol、PLS；1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-stearoylglycerol、OSO；1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol、OSL；1-oleoyl-2-stearoyl-3-linoleoylglycerol、SSL；1,2-distearoyl3-linoleoylglycerol、PSO；1-palmitoyl-2-stearoyl-3-oleoylglycerol

第 2 項　チョコレートの調製

コンパウンドチョコレート試料の生地は、植物油脂、砂糖、カカオマス、ココアパウダーそして大豆レシチンを原材料として、表 5-2 に記載の内容に従って調製した。植物油脂部において、A 群は CBS とカカオ脂の 2 つの油脂から、B 群は CBS とカカオ脂、そして OSO 脂の 3 つの油脂から構成される。さらに、この植物油脂部は以下の 2 点を満たすよう配慮し、混合割合を決定した。（ｉ）ファットブルームの発現に対するカカオ脂濃度の影響を系統的に評価するために、A および B 両群にチョコレート油相中カカオ脂濃度が 10%、15%、20%および 25%となる試験区を設定した。なお、カカオ脂は全てカカオマス（カカオ脂含量 55.0%）とココアパウダー（同 11.0%）由来である。（ii）OSO 脂を含む B 群のうち、試料 B1 から B4 ではチョコレート油相中のカカオ脂/OSO 脂比が 50/50 となるよう調製した。また試料 B5 および B6 ではカカオ脂/OSO 脂比が 50/50 ではない場合の影響を観察するために混合割合を設定した（チョコレート油相中のカカオ脂/OSO 脂比 B5；3/2、B6；4/1)。各チョコレート試料 A1 から A4 および B1 から B6 のチョコレート油相中の CBS、カカオ脂および OSO 脂の割合は表 5-3 のとおりである。

コンパウンドチョコレート生地を 55℃、30 min で溶解し、攪拌下で 40℃まで冷却後、プラスチックモールド（59×27×7 mm^3）に充填し、15℃で 60 min 冷却固化した。固化後は離型し、20℃で 1 週間熟成させた後に試験に供した。

表 5-2　コンパウンドチョコレート試料 A1 から A4（OSO 脂無添加）および B1 から B6（OSO 脂添加）の原料配合割合（カカオマスおよびココアパウダー中のカカオ脂量をカッコ内に示した）

	A1	A2	A3	A4
カカオマス	3.7 (2.0)	7.5 (4.2)	11.4 (6.3)	15.3 (8.4)
ココアパウダー	16.7 (1.8)	14.7 (1.6)	12.7 (1.4)	10.8 (1.2)
CBS	34.7	32.7	30.8	28.9

	B1	B2	B3	B4	B5	B6
カカオマス	3.7 (2.0)	7.5 (4.2)	11.4 (6.3)	15.3 (8.4)	7.5 (4.2)	11.4 (6.3)
ココアパウダー	16.7 (1.8)	14.7 (1.6)	12.7 (1.4)	10.8 (1.2)	14.7 (1.6)	12.7 (1.4)
OSO 脂	3.8	5.8	7.7	9.6	3.8	1.9
CBS	30.8	27.0	23.1	19.3	28.9	28.9

表 5-3　コンパウンドチョコレート試料 A 群および B 群（表 5-2）のチョコレート油相中の CBS、OSO 脂、カカオ脂の相対組成割合

試料	CBS	カカオ脂	OSO 脂
A1	90	10	0
A2	85	15	0
A3	80	20	0
A4	75	25	0
B1	80	10	10
B2	70	15	15
B3	60	20	20
B4	50	25	25
B5	75	15	10
B6	75	20	5

第 3 項　コンパウンドチョコレートの品質安定性評価

20℃にて 1 週間熟成させたコンパウンドチョコレート試料を、15℃、20℃、25℃の一定温度条件下、および 15℃/12 hrs 保持↔25℃/12 hrs 保持のサイクル温度条件下で 6 ヶ月間保存し、品質安定性を評価した。試験の条件は、Smith らの報告[116]を参考に設定した。1 週間に 1 度、モールドより離型した面のファットブルームを目視で評価した。また定期的にデジタルマイクロスコープ（VHX-1000；キーエンス社製、大阪）を用いてチョコレート表面の拡大画像（10 倍）を得た。

第 4 項　コンパウンドチョコレートの冷却挙動の解析

コンパウンドチョコレートの冷却挙動は、MultiTherm™ TC（BÜHLER, Germany）を用いて、Zeng らの方法[132]を改変して実施した。50℃で溶解した試料をアルミ製試料カップに約 13 g 充填し、直ちに 15℃に設定された MultiTherm™ TC 内の冷却セルにセットし、試料温度の変化を記録した。

第 5 項　コンパウンドチョコレートの硬さの評価

コンパウンドチョコレートの硬さの評価は、第 3 章第 2 節第 9 項と同様に行った。成形後、20℃で 1 週間熟成した試料の硬さと 15℃/12 hrs 保持↔25℃/12 hrs 保持のサイクル温度条件下で 6 ヶ月間保存した試料の硬さを測定することにより、製造直後および長期保存後の硬さを評価した。なお、長期保存試料は測定前に 20℃で 2 hrs 静置し、試料品温を 20℃とした。

第 6 項　混合油脂の SFC 測定

コンパウンドチョコレートの融解挙動および結晶化挙動を評価するために、CBS、カカオ脂および OSO 脂を表 5-3 記載の A1 から A4 および B1 から B4 の比率で混

合した油脂試料 a1 から a4 および b1 から b4 を調製した。なお、各油脂試料は同一アルファベット表記のチョコレート試料中の油相組成を反映している。各油脂試料を SFC 測定専用のガラス試験管に約 5 g 充填し、第 3 章第 2 節第 7 項と同様に、パルス NMR 分光光度計（Minispec mq20 Bruker）を用いて実施した。

融解挙動の評価は、第 3 章第 2 節第 7 項と同様の方法により評価した。測定試料は CBS/カカオ脂の 2 成分混合系および CBS/MC $_{カカオ脂/OSO=1/1}$ の 3 成分混合系のいずれも CBS 濃度を 10%間隔で調製した試料を用いた。さらに、得られた SFC 値を用いて CBS/カカオ脂の 2 成分混合系および CBS/MC $_{カカオ脂/OSO=1/1}$ の 3 成分混合系の等固体線図を作成し、混合相挙動を確認した。

15℃における結晶化挙動の測定手順は、各油脂試料 a1 から a4 および b1 から b4 を充填したガラス試験管を 80℃にて 15 min 保持して油脂を溶解させ、その後 15℃に温調したアルミニウムブロックに移し、増加する SFC 値を経時的に測定した。測定は 3 回実施し、その平均値を時間に対して図示した。

第 7 項　混合油脂の XRD 測定

結晶多形挙動の解析は、第 2 章第 2 節第 2 項に記載の方法にて実施した。測定試料は、CBS/カカオ脂の 2 成分混合油脂および CBS/MC $_{カカオ脂/OSO 脂=1/1}$ の 3 成分混合油脂のいずれにおいても CBS が 80%、70%、60%および 50%の混合物を測定試料とした。この調製試料を 60℃で 30 min 溶解し、専用セルに 5 μL 滴下後、15℃で 30 min 静置して結晶化させた後に 20℃で 1 週間熟成させた試料と、6 ヶ月間保管した試料を測定試料とした。

第 3 節　　結果と考察

第 1 項　コンパウンドチョコレートの保存性評価結果

表 5-4 は保存期間 3 週目と 15 週目におけるコンパウンドチョコレートの外観観察結果をまとめたものである。その結果、以下の知見を得た。

（1）OSO 脂を含まない A1 から A4 において、15℃、20℃、25℃の一定温度条件下では、いずれの温度帯においても 3 週間保存で一部にファットブルームが認められ、15 週間保存では全てにおいて顕著なブルームが認められた。一方、サイクル温度条件下（15℃↔25℃）では、保存期間 3 週目ではファットブルームは認められなかった。サイクル温度条件下でファットブルームの発生が認められなかったのは、チョコレート油相の相分離によりチョコレート表面に現れた油脂結晶が、高温暴露により溶解し、チョコレートの細孔を介してチョコレート内部に移動したためと推測された。

（2）カカオ脂/OSO 脂が 50/50 の油脂を含む B1～B4 試料では、一定温度条件下ならびにサイクル温度条件下のいずれもファットブルームは全く認められなかった。

（3）カカオ脂/OSO 脂が 50/50 から外れた混合油脂を含む B5、B6 では、A1～A4 と同様の外観変化を辿った。

図 5-1 は、ブルーム形状の異なる 3 種のコンパウンドチョコレート A2、A3 および A4 と、それらに対応する B 群のチョコレート試料 B2、B3 および B4 の 3 週間、7 週間および 15 週間保存後の表面状態を示したものである。油相中カカオ脂含量が 15%の試料 A2 では、25℃保存にて霧状ブルームが発現し、経時的に成長する様子が観察された。このブルームは、CBS を基調としたコンパウンドチョコレートの典型的な LLL の β'-2 型→β-2 型転移に由来するファットブルームと報告されている[118, 119]。油相中カカオ脂含量が 25%の試料 A4 では、15℃保存後に

白点模様が観察された。このブルームは、常温付近で観察される典型的なファットブルームとして知られている[118]。ブルーム部を組成分析した結果、POP や POS 等のカカオ脂由来の TAG に富む組成であった（表 5-5）。以上の結果より、従来ではカカオ脂添加限界が 5%であったのに対し、OSO 脂をカカオ脂と等量混合することでチョコレート油相中 25%までカカオ脂を添加してもファットブルームの形成が抑制されることが初めて明らかとなった。

表 5-4　10 種類のコンパウンドチョコレートを 3 週間および 15 週間各種保存温度条件下で保存した後のファットブルーム発生の評価

	15℃保存		20℃保存		25℃保存		15↔25℃保存※	
	3 週間	15 週間	3 週間	15 週間	3 週間	15 週間	3 週間	15 週間
A1	+	3+	+	2+	no	2+	no	+
A2	+	3+	+	2+	no	2+	no	+
A3	+	3+	+	2+	+	2+	no	+
A4	+	3+	+	2+	+	2+	no	+
B1	no	no	no	no	no	no	no	no
B2	no	no	no	no	no	no	no	no
B3	no	no	no	no	no	no	no	no
B4	no	no	no	no	no	no	no	no
B5	+	3+	+	2+	no	2+	no	+
B6	+	3+	+	2+	+	2+	no	+

※15↔25℃保存：8 時から 20 時までの 12 時間を 15℃で保存し、20 時から 8 時までの 12 時間を 25℃で保存した。

no ;　ファットブルームは認められない

+ ;　ファットブルームがわずかに認められる

2+ ;　ファットブルームが認められる

3+ ;　激しいファットブルームが認められる

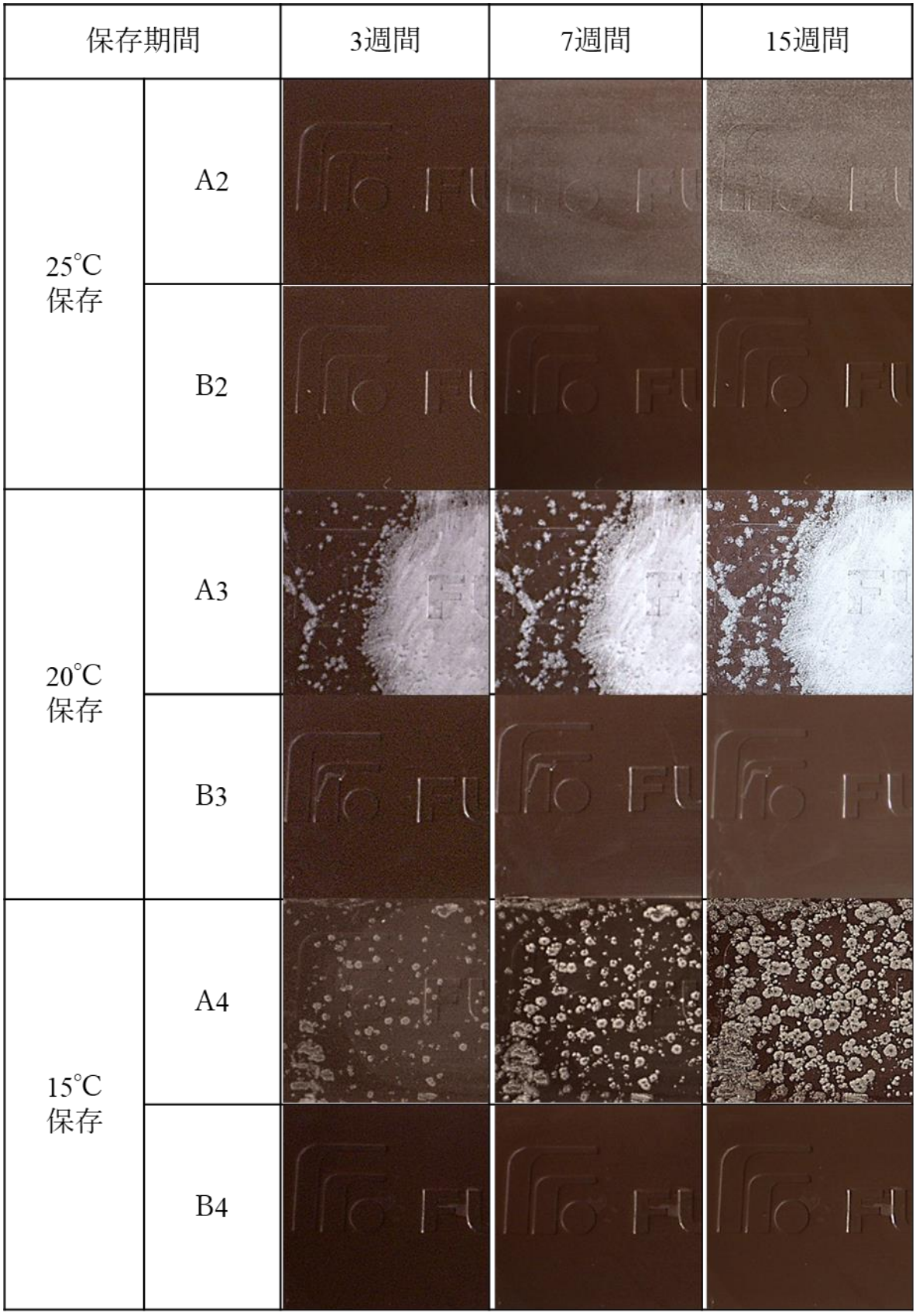


図 5-1　デジタルマイクロスコープによる 3 週間、7 週間および 15 週間保存時のコンパウンドチョコレートの外観比較

表 5-5　試料 A4（カカオ脂含量が油相中 25%）の油相の油脂組成と、15℃で 15 週間保存後に認められたファットブルーム部の TAG 組成の比較

	チョコレート中油脂部	ファットブルーム部
LLC10	4.6	4.3
LLL	19.7	13.6
LLM	17.5	7.5
POP	3.8	12.9
POS	8.9	34.3
SOS	6.4	17.9
他	39.2	9.5

第 2 項　コンパウンドチョコレートの冷却挙動評価結果

図 5-2(a)および(b)にコンパウンドチョコレート試料 A1 から A4、B1 から B4 の冷却曲線を示す。試料温度は徐々に低下し、その後 29℃前後で結晶化熱により数度上昇した後、再び低下する挙動を示した。冷却曲線が上昇に転じた点を結晶化温度と定義してその挙動を比較した。その結果、図 5-2(c)および表 5-6 に示すように、結晶化温度は OSO 脂の有無にかかわらず CBS 含量の減少に伴い直線的に低下した。CBS 含量が等しいコンパウンドチョコレートの結晶化温度を OSO 脂の有無で比較すると（図 5-2(c)）、A 群と B 群の結晶化温度の差は CBS 含量の低下に伴い大きくなるが、CBS 含量が 80%以上ではその差は僅かであった。このことは、CBS 含量が 80%以上であれば OSO 脂を配合したコンパウンドチョコレートでも十分に早い固化特性を有することを強く示唆するものである。

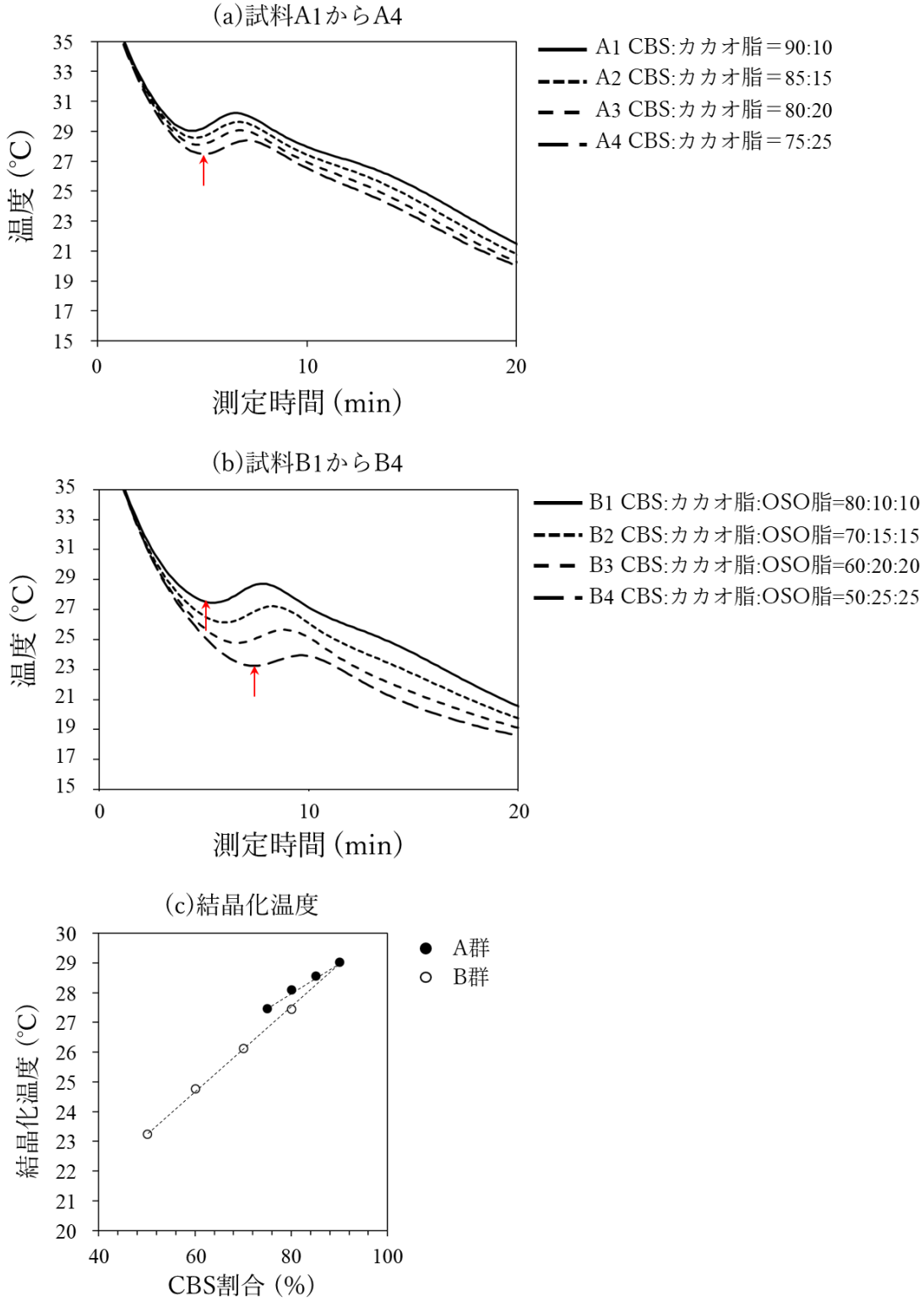


図 5-2　コンパウンドチョコレート(a)試料 A1 から A4、(b)試料 B1 から B4 の冷却曲線と、(c) コンパウンドチョコレートの結晶化温度比較（●：CBS/カカオ脂からなる A 群、○：CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ からなる B 群）

表 5-6　CBS/カカオ脂の 2 成分混合物、および CBS/カカオ脂/OSO 脂の 3 成分混合物からなるコンパウンドチョコレート試料の結晶化温度

	コンパウンドチョコレート			
	油相中の油脂配合			結晶化温度
試料	CBS	カカオ脂	OSO 脂	(°C)
A1	90	10	−	29.0
A2	85	15	−	28.6
A3	80	20	−	28.1
A4	75	25	−	27.5
B1	80	10	10	27.5
B2	70	15	15	26.2
B3	60	20	20	24.8
B4	50	25	25	23.3

第 3 項　コンパウンドチョコレートの硬さ評価

図 5-3 は、1 週間の熟成後および長期保存後のコンパウンドチョコレートの硬さを測定した結果を示したものである。試料 A および B ともに、カカオ脂もしくは MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の増加に伴い破断点における最大応力は減少した。これは、CBS とカカオ脂または CBS と MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の共晶混合挙動によるものと推察した。試料 B1 から B4 の保存前後の最大応力値の差は、試料 A1 から A4 よりも小さい傾向があり、OSO 脂を配合することで長期保存においても食感変化は小さいと推察された。

図 5-3(b)および(c)に、油相中 CBS 含量がともに 80%である試料 A3 と B1 の応力-歪み率の関係を示す。試料 A3 は長期保存により破断点に最大応力が増加するとともに破断歪み率が大きく低下した。この結果は組織が硬く脆い組織へと大きく変化したことを示唆している。一方、試料 B1 は試料 A3 と比べて破断荷重が小さく歪み率が大きいことから、ソフトで滑らかなテクスチャーであることが示唆された。加えて、長期保存後でもこの性質は大きく変化しなかった。

以上より、CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ を含む CBS コンパウンドチョコレートは、CBS/カカオ脂配合コンパウンドチョコレートと比較して経時的な食感変化が小さいことが推察された。製造者にとって保存時の食感変化は外観劣化とともに大きな懸念事項であり、CBS に MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ を配合することによりこれらの品質劣化を抑制できることが大いに期待される。

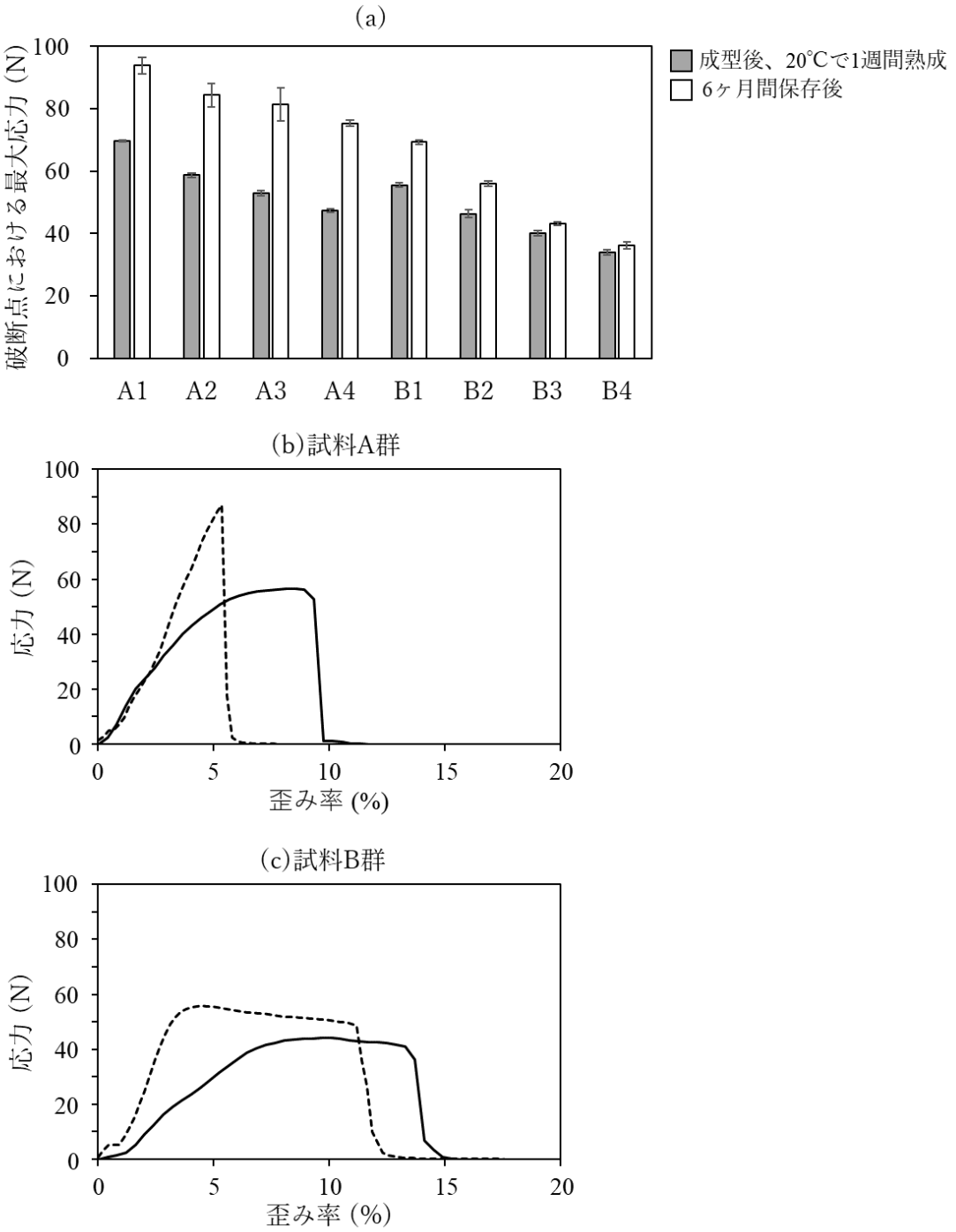


図 5-3　(a)CBS/カカオ脂からなる試料 A1 から A4 および CBS/MC $_{\text{カカオ脂/OSO 脂=1/1}}$ からなる試料 B1 から B4 のコンパウンドチョコレート試料の破断点における最大応力に及ぼす長期保存の影響および、(b)A3 および(c)B1 チョコレート試料の長期保存前（黒線）および後（点線）の荷重-歪み率曲線

第 4 項　コンパウンドチョコレート油相の融解挙動と等温結晶化挙動

CBS/カカオ脂の 2 成分混合系である a1 から a4 および CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の 3 成分混合系である b1 から b4 の融解挙動を評価した結果を図 5-4(a)および(b)に示す。いずれの群においても SFC 値は CBS 含量の減少に伴い低下した。これは CBS とカカオ脂もしくは CBS と MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ が共晶を形成するためである（図 5-4(c)および(d)の等固体線図)。CBS 含量が 80%を超える範囲では、いずれの群も類似した融解挙動を示し、CBS 含量が 80%である a3 と b1 は同等の融解挙動を示した。しかしながら、CBS 含量が 80%未満では CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の 3 成分混合系の SFC 値は CBS/カカオ脂の 2 成分混合系の SFC 値と比較して急激に低下した。以上の結果は、CBS 含量が 80%以上のコンパウンドチョコレートの融解挙動は OSO 脂配合にかかわらず同等であることを示唆している。

図 5-4(e)および(f)は、油脂試料を 15℃で等温結晶化させた際の SFC 増加挙動を示している。いずれの試料も、試験開始後 10 分以内にほぼ平衡に到達し、早い結晶化挙動を示した。60 分後の SFC 値は、カカオ脂または MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=50/50}$ 含量の増加とともに直線的に減少した。また、CBS 含量が等しい a3 と b1 の間では、60 分後の SFC 値は同等であったことから、MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ はカカオ脂と同様に CBS の結晶化を大幅に遅延させないと判断された。

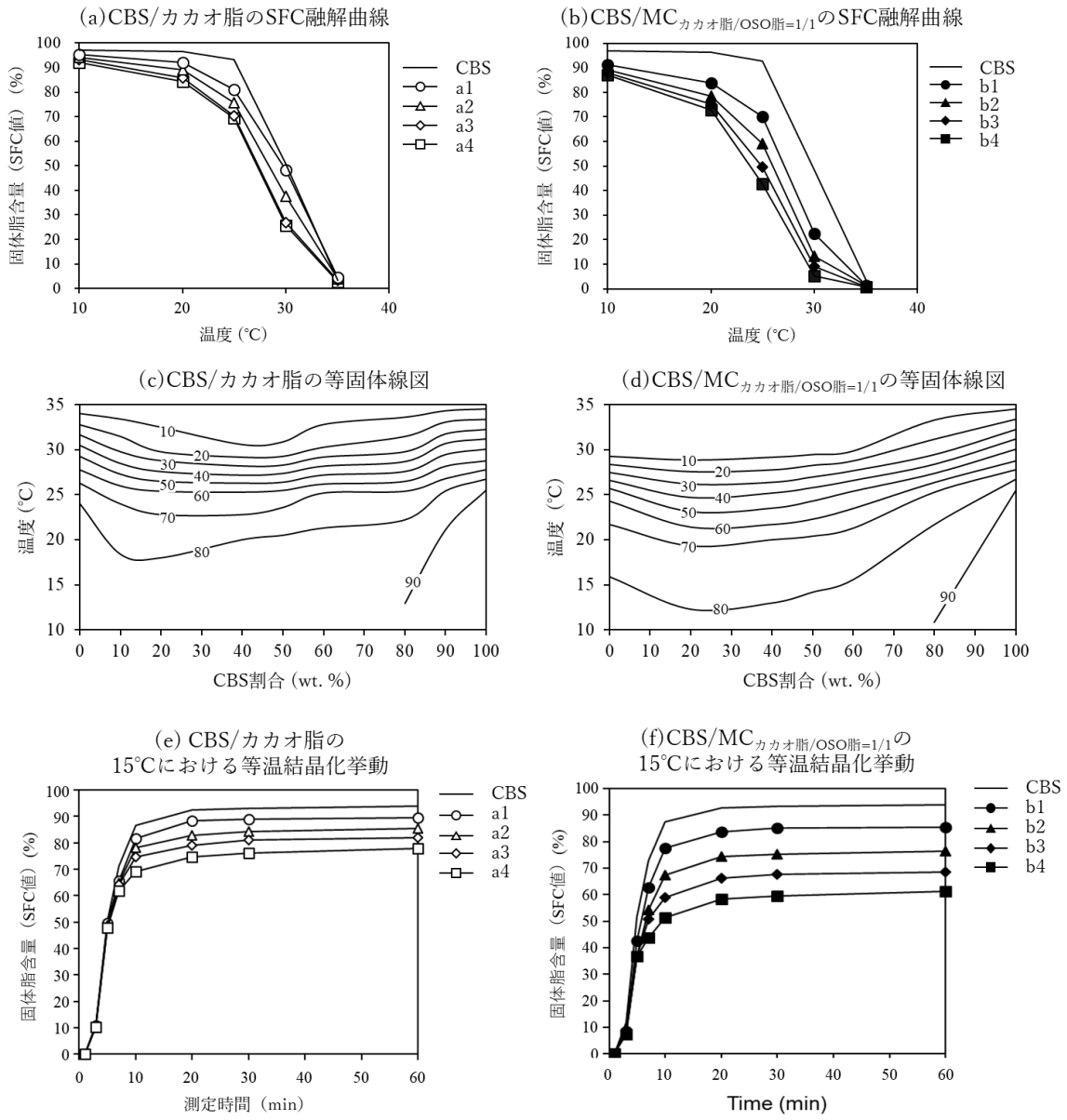


図 5-4　CBS/カカオ脂および CBS/MC $_{\text{カカオ脂/OSO 脂=1/1}}$ の SFC 融解挙動（(a)および(b)）、等固体線図（(c)および(d)）、ならびに 15℃における等温結晶化挙動（(e)および(f)）

第 5 項　コンパウンドチョコレート油相の結晶多形評価結果

図 5-5 は、CBS/カカオ脂および CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の混合試料を 20℃で 1 週間または 6 カ月間保存した後の XRD パターンを示している。図 5-5 において CBS/カカオ脂の 2 成分混合試料は全て、1 週間保存後に 0.42 nm および 0.38 nm の 2 つの回折ピークを示し、β'型であった。しかしながら、6 ヶ月保存後には、CBS/カカオ脂が 70/30、60/40、50/50 の混合試料において回折パターンは大きく変化し、0.46、0.42、0.40、0.38 nm の回折ピークが認められた。0.46 nm および 0.38 nm は β 型に対応することから、カカオ脂/CBS 混合物中の一部の TAG が β'型から β 型に多形転移したことが示唆された。CBS/カカオ脂が 80/20 の混合試料では、6 ヶ月間保存後も β'型の回折ピークのみであったが、ファットブルームが発現した結果やチョコレートの最大応力が大きく上昇した結果と合わせると、β型の多形転移は進んでいるものと考えられる。従って、β 型の回折ピークが β'型の回折ピークと重なったため検出できなかったものと推察された。

CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の 3 成分混合試料では、1 週間保存後は β'型と β 型の両方を示し、6 カ月保存後もこのパターンはほとんど変化しなかった（図 5-5)。この結果は、CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の 3 成分混合試料の多形構造は固化直後から CBS/カカオ脂多形構造とは異なることを示唆しており、長期保存を経ても多形構造は変化しないことを強く示唆する結果であった。

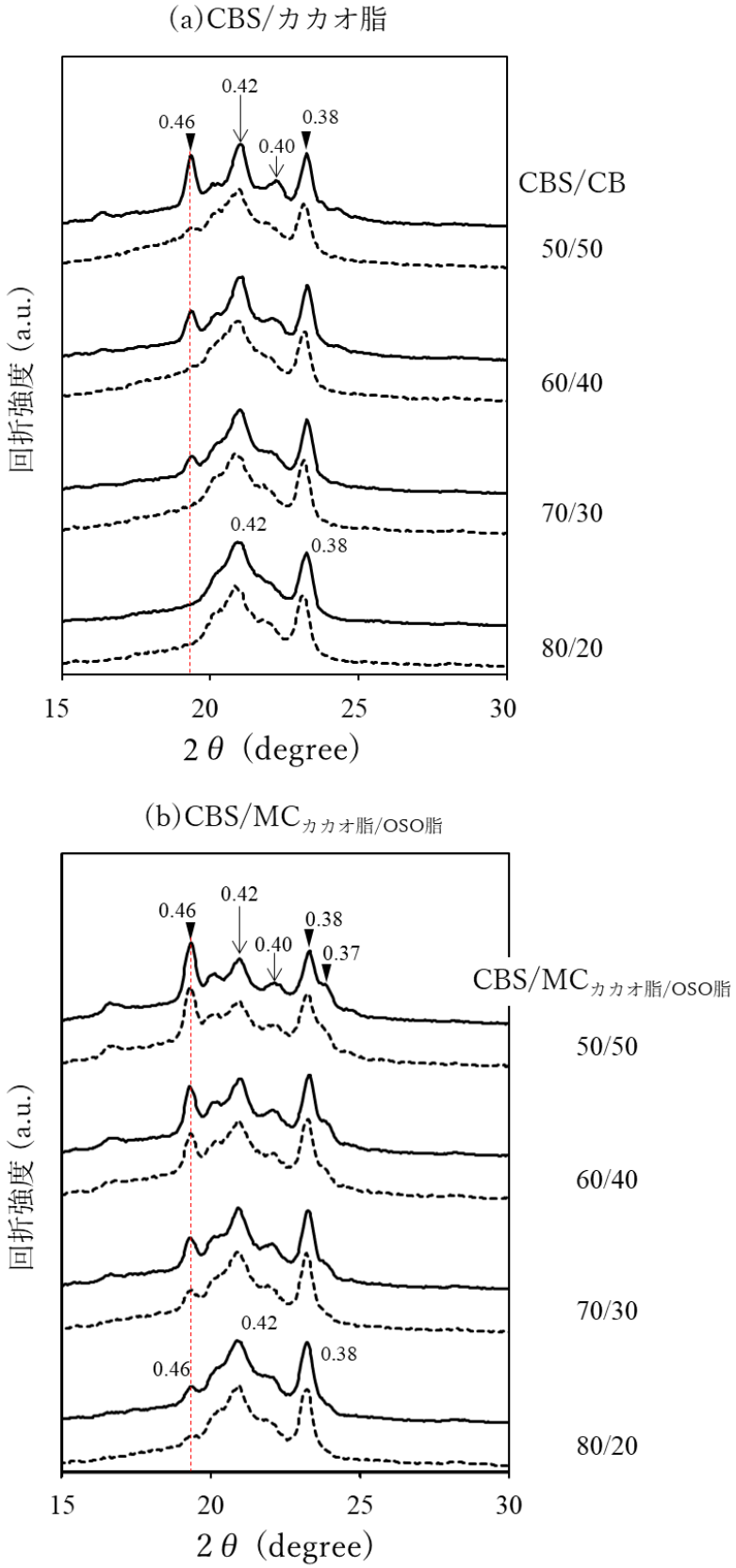


図 5-5　CBS/カカオ脂および CBS/MC $_{カカオ脂/OSO\ 脂=1/1}$ の 20℃で 6 ヶ月保存前（点線）と保存後（黒線）の X 線回折パターン（単位：nm）

第 6 項　ファットブルーム抑制機構

これまでの知見に基づき、CBS/カカオ脂/OSO 脂からなるコンパウンドチョコレートにおけるファットブルーム抑制のメカニズムについて以下のように考察した。すなわち、

（1）CBS を基調としたコンパウンドチョコレートは、長期保存により LLL や MMM など単一脂肪酸結合 TAG が β'型から β 型へと多形転移し、ファットブルームを発現すること[113]、また L と M の混酸型 TAG である LLM や LMM にも β 型が存在すること[114]が報告されており、近年 Koizumi らもまた、市販の CBS を 55℃で融解後に 10℃にて冷却固化すると、CBS が β'型として結晶化し、その後 20℃で 7 週間保存することにより β 型（$\beta_{CBS\text{-}1}$ と $\beta_{CBS\text{-}2}$）と β'型の 3 つの画分に相分離した結果を示すことにより、CBS が 2 つの β'型→β 型転移を示す画分（β 型傾向）と、保存中も準安定な β'型を維持する画分（β'型傾向）の 3 つの画分により構成され、CBS を基調としたコンパウンドチョコレートのファットブルームの起源は、この β 型傾向を示す画分である可能性を報告している[118,119]。ファットブルーム発現抑制の観点から鑑みると、これら報告にある β 型傾向の CBS 画分を冷却直後にそれぞれ β 型として結晶化できれば、単純冷却固化時からファットブルームの発生が抑制できると考えられる。

（2）CBS を基調としたコンパウンドチョコレートに含まれるカカオ脂は、コンパウンドチョコレート油相中 5%を超えた場合、経時的に CBS 相から相分離し、β'型（IV型）から β 型（V型）へと多形転移することでファットブルームを発現する。この一連の挙動の一方もしくは両方を抑制することにより、カカオ脂由来のファットブルームを抑制することができると考えられる。

（3）第 4 章において SOS と OSO が β-2 型の MC（$MC_{SOS/OSO=1/1}$）を形成し、単純冷却でも β 型に結晶化されることが判明した。また、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ は単純冷却

過程で LLL の β'-2 型から β-2 型への多形転移を促進する現象も確認された。これらの結果より、以下の仮説が提示できる。すなわちカカオ脂は、カカオ脂/OSO 脂の混合比が 50/50 の場合、冷却過程で β 型を形成するため、その後の多形転移を受けなかったものと判断される。さらに、LLL や MMM のような CBS 中の β 型傾向の TAG 画分は、MC $_{\text{カカオ脂/OSO 脂=1/1}}$ との相互作用的な結晶化により、冷却過程で β 型に結晶化し、その結果、β 型傾向のカカオ脂および CBS 画分の多形転移に由来するファットブルームの発生は、OSO の混合により完全に抑制されたのではとの考察に至った。

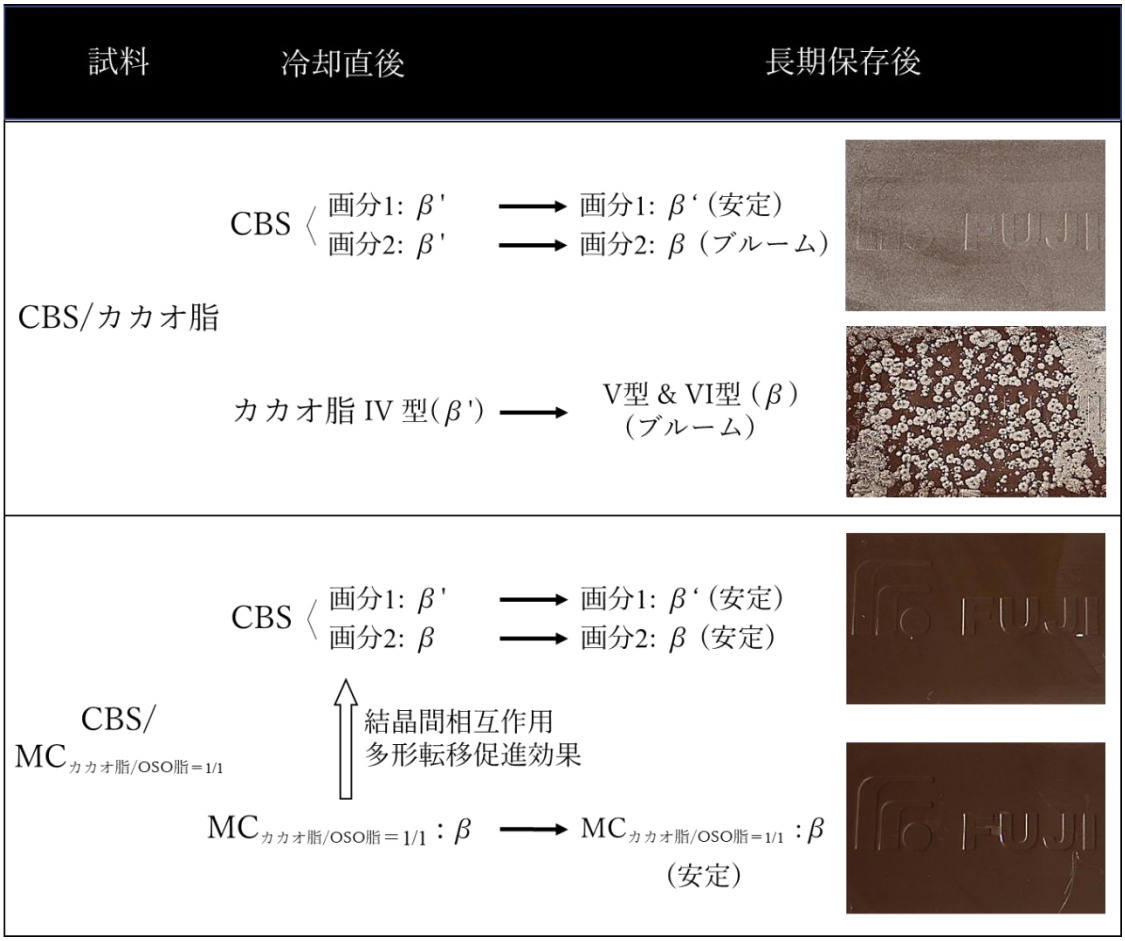


図 5-6　CBS/MC $_{カカオ脂/OSO脂=1/1}$ を配合したコンパウンドチョコレートのブルーム抑制機構。

第4節　小括

The physical properties and fat-bloom resistance of CB-based compound chocolate made with cocoa butter substitute (CBS), CB, and OSO-fat were examined. The CBS-based compound chocolate samples were prepared by blending CBS, CB, and OSO-fat, where the ratio of the fat phases in the chocolate samples was 80/10/10, 70/15/15, 60/20/20, and 50/25/25. Prior to analysis of the fat-bloom stability, compound chocolate samples were prepared by solidification at 15 ℃ for 60 min, demolded, and annealed at 20 ℃ for 1 week. Evaluation of the fat bloom showed serious fat bloom in the CBS-based chocolate without OSO-fat. Two types of fat bloom, white-spotted and mist-like fat bloom, were observed in the chocolate samples without OSO-fat. The white-spotted fat bloom observed at 15 ℃ is thought to consist of CB TAG derived from phase separation from the CBS fat phase, followed by polymorphic transformation from the IV form to the V form. The other mist-like fat bloom observed at 25 ℃ is known to arise from the polymorphic transformation of the metastable β'-2 form of CBS TAG to the stable β_2-2 form. On the other hand, as expected from the experimental results in Chapter 4, no fat bloom was observed in the compound chocolate sample made with ternary fat blends of CBS/CB/OSO-fat under all storage conditions up to 6 months. These results indicate that formation of the two types of fat bloom could be completely prevented by blending OSO-fat into CBS-based compound chocolate. Textural changes in CBS-based compound chocolate during storage are known to be a serious issue. Texture analysis of the compound chocolate samples showed that the hardness and brittleness of the compound chocolate without OSO-fat increased drastically after long-term storage, suggesting that the internal structure of the compound chocolate

changed as a result of multiple concurrent occurrences of phase separation of CB from the CBS fat phase, formation of granular crystals, and polymorphic transformation from the metastable form to the stable form. On the other hand, the change in texture of the compound chocolate during long-term storage was suppressed by blending with OSO-fat. Plausibly, blending the compound chocolate with OSO fat suppressed the formation of fat bloom and deterioration of the internal structure of the CBS-based compound chocolate. The polymorphic features of ternary fat blends of CBS/CB/OSO-fat were examined using XRD to clarify the mechanisms of preventing fat-bloom formation and texture deterioration in CBS-based chocolate containing OSO-fat. The XRD analysis clearly showed no polymorphic transformation in the fat blends of CBS/$MC_{CB/OSO=1/1}$ during 6 months of storage, whereas the polymorphic transformation of the β'-2 form to the β-2 form was observed in the fat blends of CBS/CB. Given that the fat bloom of CBS-based chocolate is caused by polymorphic transformation of CB TAGs and mono-acid TAGs such as LLL in CBS, the mechanisms underlying fat-bloom inhibition in CBS-based chocolate made of CBS/CB/OSO-fat are assumed to be as follows: (1) Blending OSO-fat with CBS-based chocolate leads to crystallization of the stable β-2 form of $MC_{CB/OSO=1/1}$. (2) TAG fractions with a tendency for transformation to the β form in the CBS, such as LLL, may crystallize into the β form during the cooling process due to the strong interaction between the MC crystals and these TAGs. Further study is needed to understand the precise mechanisms underlying fat-bloom inhibition due to the addition of OSO-fat for developing effective methods of producing OSO-fat.

第 6 章 総括

第 1 章　緒論

油脂は食品や化粧品、医薬品に配合され、あらゆる物理的品質に大きく関与している。これらの製品の油脂は、熱力学的に準安定状態であり、長期保存もしくは不適切な温度で保管された場合にさらに安定な状態へと転移し、外観や物理的性質が変化し、製品価値は著しく低下する。したがって、油脂の物理的性質の制御は製造者にとって重要な課題である。油脂は複数の TAG から構成されており、これらによって油脂の物理的性質は決定する。したがって、単一の TAG の物理化学的性質や、複数の TAG の混合相挙動を理解することが最終製品の物理的性質の制御の第一歩となる。

近年、カカオ豆の生産は解決困難な様々な課題に直面しており、持続可能性が極めて低い状況である。他方、チョコレートの需要は世界的に高まっており、その結果、チョコレート産業界はカカオ原料の需給バランスの崩壊という深刻な課題に直面している。そのため、カカオ原料の代替技術の開発と利用推進が急務であり、カカオ脂においても化学的組成や物理的性質が近似した CBA の開発が推進されている。加えて以前から CBA には、チョコレート製品の製造時および長期保存時に発生する課題の解決や、最終製品の使用用途の拡大や、製品形態の多様化に対する顧客要望の実現も期待され、多種多様なチョコレート菓子製品群の開発に貢献してきた。

カカオ脂に豊富に存在する SOS 等の 1,3 位ジ飽和脂肪酸 2 位不飽和脂肪酸型 TAG（$S_{at}US_{at}$）は、1,2 位ジ飽和脂肪酸 3 位不飽和脂肪酸型 TAG（$S_{at}S_{at}U$）や 1,3 位ジ不飽和脂肪酸 2 位飽和脂肪酸型 TAG（$US_{at}U$）と等モルで MC を形成する。興味深いことに MC は、それを構成する TAG とは全く異なる性質を有しており、冷却固化時に温調操作を実施せずとも熱力学的に比較的安定な結晶多形で結晶化

し、また早い結晶化速度を有する事が報告されている。このように実用的な展開が期待される性質を有している一方で、MC に対する研究の多くが基礎的な内容に留まっており、一部のチョコレートやマーガリンへの利用検討がなされてきたのみであった。そこで本研究では MC を活用した新たな CBA の開発を目指した検討を実施した。

第 2 章　1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol/1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol の 3 成分混合物の特性解析

MC を活用した CBA の開発に先駆けて、カカオ脂に豊富に含まれる TAG である SOS と、SOS と MC 形成が報告されている SSO および OSO を混合した 3 成分混合物を 10%間隔で網羅的に調製し、得られた 3 成分混合物 SOS/SSO/OSO を熟成処理した後に、DSC 測定および XRD 測定により安定相の挙動を解析した。その結果、SOS が 50%でかつ異なる濃度の SSO と OSO の 3 成分混合物は、単一の融点を有したβ-2 型構造の混晶を形成することを認めた。他方、SOS が 40%、60%および 70%では、β-2 型構造を有する結晶と、3 鎖長構造を有する結晶が共晶を形成し、複数の融点を有することを明らかとした。観察された 2 鎖長構造の結晶と 3 鎖長構造の結晶について、これまでの報告をもとに推定した結果、2 鎖長構造の結晶は、2 種の MC 結晶（$MC_{SOS/SSO=1/1}$ および $MC_{SOS/OSO=1/1}$）が混晶を形成した結晶と推定し、3 鎖長構造の結晶は、MC を形成できなかった SOS、SSO もしくは OSO であると推定した。次に、2 種の MC 結晶の混晶の形成過程に関する速度論的な解析を実施するために、SOS が 50%でかつ異なる濃度の SSO と OSO の 3 成分混合物の結晶化および融解挙動の解析を SR-XRD を用いて実施した。融液からの冷却過程では、$MC_{SOS/SSO=1/1}$ の不安定多形が結晶化し、続いて $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型が結晶化することを認め、冷却直後は 2 種の MC が共晶を形成していると判断した。

冷却過程に続いて観察した昇温過程では、$MC_{SOS/SSO}$ の不安定多型が融解し、その直後に $MC_{SOS/SSO=1/1}$ のβ型が析出し、それと同時に 2 種の MC のβ型の混晶が形成された。この 2 種の MC のβ型の混晶はその後の 38℃付近で鋭い吸熱ピークを示し融解する様子が確認された。最後に、SOS50%/SSO/OSO の 3 成分混合物にて形成される 2 種の MC のβ型の混晶について、結晶構造モデルを用いて構造安定化要因について議論した。2 種の MC のβ型の混晶の 2 鎖長構造のうち、ステアリン酸のみで占有されるリーフレットは、整列した直鎖の炭化水素鎖の相互作用により安定化することが推測された。一方、ステアリン酸とオレイン酸が混在するリーフレットでは、二重結合による立体的な屈曲構造、ステアリン酸の直鎖の炭化水素鎖との間に形成される立体障害が構造安定性を低下させる可能性が推察された。2 種の MC のβ型の混晶における SSO/OSO 比率がその構造安定性に重要性である推察を得たことから、第 3 章にて、チョコレートを用いて検証することとした。

第 3 章　カカオ脂/1,2-distearoyl-3-oleoylglycerol/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol を配合したノーテンパリングチョコレートの機能評価

第 2 章にて 3 成分混合物の SOS50%/SSO/OSO がβ-2 型の混晶を形成することを明らかとし、MC を活用した新たな CBA の創出が期待された。そこで第 3 章では SOS をカカオ脂に置換した 3 成分混合物カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂を調製し、結晶多形解析、油脂物性評価、そして本混合物を油相とするチョコレートの品質評価を進めた。SSO 脂および OSO 脂は、SSS に富む菜種極度硬化油とオレイン酸の混合油脂を初発原料とした 1,3 位酵素エステル交換反応と溶剤分別により調製した。またカカオ脂、SSO 脂および OSO 脂を用いた 3 成分混合物の調製は、第 2 章の結果を受け、1,3 位ジ飽和脂肪酸 2 位不飽和脂肪酸結合型 TAG である $S_{at}US_{at}$ と、1,2 位ジ飽和脂肪酸 3 位不飽和脂肪酸結合型 TAG である $S_{at}S_{at}U$、そして 1,3 位ジ

不飽和脂肪酸 2 位飽和脂肪酸結合型 TAG である $US_{at}U$ の和が 50/50 となるように調製した。まず、調製した 3 成分混合物を熟成処理した後に、DSC 測定および XRD 測定により安定相の挙動を解析した。その結果、全ての混合物にて β-2 型構造のみを認めたことから、カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂の 3 成分混合物もまた 2 種の MC（$MC_{カカオ脂/SSO=1/1}$ と $MC_{カカオ脂/OSO=1/1}$）の混晶を形成すると判断した。一方で、DSC 測定による結晶化挙動の解析や、XRD 測定による固化後の経時的な結晶多形の観察により非平衡状態の評価を実施した結果、カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂が 50/50/0 から 50/30/20 の混合物では、単純冷却により不安定多形が析出し、経時的に安定多形へと転移することを認めた。他方、カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂が 50/20/30 から 50/0/50 の混合物では、単純冷却直後から最安定の β 型構造を取り、結晶構造の経時的な変化も認められず、高い保存安定性が期待された。第 2 章にて SSO/OSO 比率が高いほど 2 種の MC（$MC_{SOS/SSO=1/1}$ および $MC_{SOS/OSO=1/1}$）の β 型の混晶の構造安定化が遅延される考察と一致する結果であった。次に、2 種の MC の β 型の混晶の温度依存的な固体脂含量の推移（SFC 挙動）を評価したところ、SSO 脂比率の増加に伴い SFC 挙動は上昇する傾向が確認でき、またカカオ脂/SSO 脂/OSO 脂が 50/20/30 から 50/30/20 の混合物がカカオ脂と同等の SFC 挙動を示すことが明らかとなった。最後に、カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂を油相とするチョコレート生地を調製し、温調操作を実施せずに成型し、保存安定性を評価した。その結果、SSO 脂比率の増加に伴いファットブルームが激しくなる傾向が認められ、経時的に結晶多形が転移する XRD の結果と一致する結果であった。一方 OSO 脂比率の最も高い混合物カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂が 50/0/50 を油相とするチョコレートは、高温保存において激しいブルームが認められ、耐熱性が十分でないことが認められた。1 年間の保存試験を通して、カカオ脂/SSO 脂/OSO 脂が 50/10/40 から 50/20/30 の混合物を油相とするチョコレートにはファットブルームが確認されず、高い保存性

を有することが判明した。以上の結果より、SSO 脂比率の上昇（OSO 脂比率の低下）は物性面で望ましい効果を付与する一方で、保存安定性を低下させることが明らかとなり、物性および保存性を両立させる CB/SSO 脂/OSO 脂比率は 50/0/50 から 50/20/30 であると結論付け、本配合を新たな CBA として提案した。

第 4 章　trilauroylglycerol/1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol/1,3-dioleoyl-2-stearoylglycerol の 3 成分混合相挙動の解析

ラウリン酸を豊富に含む油脂を原料に製造される CBS は、取り扱いの容易さと価格の低さから世界中で利用される CBA である一方で、深刻なファットブルームを短期間で発現し製品価値が低下する課題がある。このファットブルームは、CBS 中のβ'型からβ型へと多形転移する TAG が長期保存を経て多形転移し発現するファットブルームと、CBS と共晶を形成するカカオ脂が、保存中に CBS の油相から相分離し、その後多形転移することで発現するファットブルームの 2 種が知られており、両者ともに解決が望まれる。我々は第 3 章までの研究より、カカオ脂に豊富に含まれる $S_{at}US_{at}$ 型 TAG と、$S_{at}S_{at}U$ 型 TAG、$US_{at}U$ 型 TAG が形成する MC が、高い保存安定性を有することを認め、その機構は MC 形成による速やかな安定化であることを認めた。この機能を鑑みると、CBS を基調としたチョコレートにおいても MC が結晶多形を制御し、保存安定性を向上することが期待された。そこで CBS に豊富な LLL と、分子間化合物として等モル混合した SOS および OSO を用いて 3 成分混合物 LLL/SOS/OSO を調製し、DSC と SR-XRD を用いて結晶化挙動を中心とした混合相挙動の解析を実施し、偏光顕微鏡により冷却過程の結晶形態観察を実施した。まず、LLL 単独では冷却過程にてβ'型で析出し、その後の昇温過程の 28℃付近にてβ'型からβ型転移を示した後に融解する挙動を確認した。一方 LLL/SOS/OSO の 3 成分混合物のうち、その比率が 80/10/10 および

50/25/25 では、冷却過程において LLL のβ'型が結晶化した後に、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型が結晶化し、同じタイミングで LLL のβ'型がβ型へと速やかに転移する現象を確認した。さらに LLL/SOS/OSO が 20/40/40 では、LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ がいずれもβ型で同時に結晶化することを確認した。以上の SR-XRD による冷却過程の結晶化挙動の解析の結果、SOS と OSO は異種 TAG である LLL と共存する場合でも $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型として結晶化し、さらに $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型結晶化により LLL のβ'型→β型転移が促進されることが確認された。偏光顕微鏡観察では、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型結晶化による LLL のβ'型→β型転移の促進効果が、視覚的にも認められる興味深い結果を得た。LLL/SOS/OSO が 80/10/10 の混合物において、冷却過程でまず LLL のβ'型の球状の結晶が析出・成長し、その周囲に微細な $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型が徐々に結晶化する様子が認められた。微細な $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型の析出がある程度進行した後に、LLL のβ'型の球状の輝度が高まり、β型へと転移したと推測された。本解析により明らかとなった $MC_{SOS/OSO=1/1}$ による LLL 結晶の多形制御現象の発現機構は、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ の結晶化に伴う発熱により、LLL の多形転移が促進される可能性と、エピタキシャル様の結晶配向成長効果により、$MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型副格子が LLL の副格子構造の変化を促進した可能性が考えられたが、今後さらなる検証により機構解明を進めることとした。以上の解析の結果、LLL と $MC_{SOS/OSO=1/1}$ を混合し冷却固化することにより、冷却操作のみで混合油脂全体を最安定のβ型として析出させることが可能となった。MC の活用により CBS を基調としたコンパウンドチョコレートの保存安定性を向上することが期待された。

第 5 章　CBS/カカオ脂/OSO 脂を配合したノーテンパリングチョコレートの機能評価

第 4 章で認められた $MC_{SOS/OSO=1/1}$ のβ型結晶化による LLL のβ'型からβ型への転移促進効果により、CBS を基調としたコンパウンドチョコレートにおける CBS のβ型転移画分や CBS より相分離したカカオ脂が多形転移することにより発現するファットブルームを一挙に抑制できる可能性が示された。そこで第 5 章では CBS/カカオ脂/OSO 脂を油相とするコンパウンドチョコレート生地を調製し、製造特性に関する解析や、温調操作をせず成型したコンパウンドチョコレートの保存性を評価した。さらに、CBS/カカオ脂/OSO 脂の 3 成分混合油脂を調製し、SFC 挙動や結晶多形解析を実施した。まず、コンパウンドチョコレートの保存安定性の評価結果では、OSO 脂を含まないコンパウンドチョコレート試料が、15℃保存にてカカオ脂由来の白い斑点模様ファットブルームを発現し、25℃保存にて CBS 由来のチョコレート全体に広がる霜状のファットブルームを発現したのに対し、OSO 脂を配合した試料は、あらゆる保存条件でファットブルームが一切発現しなかった。加えて XRD 測定により結晶多形の解析を実施した結果、CBS/カカオ脂の混合物の結晶多形が固化直後はβ'型を示し、6 ヶ月保存後はβ型へと転移していたのに対し、CBS/カカオ脂/OSO 脂の 3 成分混合物の結晶多形は固化直後からβ型を認め、6 ヶ月保存後も大きな変化が認められなかった。以上より、OSO 脂を配合したコンパウンドチョコレートの高い保存安定性の要因は、第 4 章で新たに見出した現象と同様の現象が関与している、すなわち $MC_{カカオ脂/OSO脂=1/1}$ のβ型結晶化によるカカオ脂の多形転移抑制と、$MC_{カカオ脂/OSO脂=1/1}$ のβ型結晶化よる CBS のβ型転移画分の多形転移促進現象が関与していると考察した。次にコンパウンドチョコレートの物性を評価した。まず製造適正を評価するために冷却時の固化特性を評価した結果、カカオ脂/OSO 脂混合油脂の配合比率の上昇に伴い結晶化は遅延した。CBS/カカオ脂配合試料と比較した場合、CBS/カカオ脂/OSO 脂が 80/10/10 程度の試料であれば十分な固化特性を有すると判断した。さらにコンパウンドチョコレー

トの硬さについて評価したところ、OSO 脂を配合したコンパウンドチョコレートは OSO 脂を配合しないチョコレートと比較して硬さが低下していた。一方、長期保存後は OSO 脂を含まないコンパウンドチョコレートが硬く脆い食感へと変化したのに対し、OSO脂配合試料では製造直後から大きな変化は認められず、内部組織の劣化が抑制されていることが示唆され、OSO 脂を配合することにより、長期保存時に内部組織の劣化を抑制出来、食感変化を抑制できることが明らかとなった。以上より、CBS を基調としたコンパウンドチョコレートに対して OSO 脂を配合することにより外観劣化および内部組織劣化が抑制でき、保存安定性が大幅に改善ですることを認めた。

以上、本研究により MC を活用した新たな結晶制御技術を見出すに至り、さらに、本技術を活用した CBA は、カカオ脂代替油脂としての十分な物理的性質を備えてかつ保存安定性が大幅に向上したものであることが、チョコレート試験にて確認され、実利用性の極めて高い技術であることが確認された。本結晶制御技術は、製造工程の冷却・昇温操作中に、MC が共存する他の油脂を最安定型へと誘導する革新的な技術であり、チョコレートに留まらず他の油脂食品や化粧品、医薬品などへの展開も大いに期待される技術である。今後、本素材が世界中で活用されることが期待される。

謝辞

本学位論文を作成するにあたり、終始変わらぬご懇意な御指導、御鞭撻を賜りました九州大学大学院農学研究院　生命機能科学部門　食料化学工学講座　松井利郎　教授に感謝の意を表します。

本論文の審査にあたり、御校閲の労をお取りくださいました福岡女子大学　国際文理学部食・健康学科　石川洋哉　教授、九州大学大学院農学研究院　生命機能科学部門　食料化学工学講座　田中充　准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、御鞭撻をくださいました広島大学大学院　生物圏科学研究科　佐藤清隆　名誉教授に厚く御礼申し上げます。

さらに、本研究にあたりご助言とご支援を賜りました不二製油グループ本社株式会社　上席執行役員　中村彰宏 CTO、未来創造研究所　辻井設夫所長、不二製油株式会社開発統括部門　足立典史部門長（当時新素材新技術創出前グループリーダー)、不二製油グループ本社株式会社　CSO 油脂事業部門有島俊治部門長（当時不二製油株式会社研究開発本部食品素材研究所油脂開発室室長)、不二たん白質研究振興財団　木田晴康常務理事、不二製油グループ本社株式会社未来創造研究所新素材創出グループ　吉川真一チームリーダー、不二製油株式会社開発統括部門　基盤新技術開発部　芦田祐子様、未来創造研究所新素材新技術創出グループの皆様をはじめ、不二製油株式会社の皆様に感謝の意を表します。

最後に、今日に至るまで支え励まし、温かく応援してくれた家族に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. 日本油化学会編，第 2 版 油化学辞典，丸善，東京，p.570（2006）.
2. 納庄康晴．*オレオサイエンス*，21(7)，pp. 269–273（2021）.
3. 佐藤清隆，上野聡．脂質の機能性と構造・物性　分子からマスカラ・チョコレートまで，丸善，東京，pp. 1–14（2011）.
4. 上野聡，矢野淳子，佐藤清隆．食用固体脂の物性　その分子構造とカイネティックス，*日本食品科学工学会誌*，*45*(10)，579–588（1998）.
5. 松村康生．乳化系食品における品質制御要因の解明（平成 30 年度日本食品科学工学会学会賞），*日本食品科学工学会誌*，*66*(8)，271–289（2019）.
6. 金田泰佳，八田珠郎．チョコレートにおける結晶成長とファットブルーム（<特集> 食品科学と結晶成長），*日本結晶成長学会誌*，*41*(4)，194–204（2015）.
7. 塩田誠．パーム油配合マーガリン類の粗大結晶の構造について　（<特集> 食品科学と結晶成長），*日本結晶成長学会誌*，*41*(4)，212–220（2015）.
8. Koyano, T.; Hachiya, I.; Sato, K. Fat polymorphism and crystal seeding effects on fat bloom stability of dark chocolate. *Food Structure*, *9*(3), 6 (1990).
9. 有馬哲史．油脂結晶とエマルション物性，*オレオサイエンス*，*16*（9），433–441（2016）.
10. 岡田正和．分子性結晶　直鎖状分子の結晶多形，幸書房，pp. 157–184（1975）.
11. 佐藤清隆，上野聡．脂質の機能性と構造・物性　分子からマスカラ・チョコレートまで，丸善，東京，pp. 15–18（2011）.
12. Goto, M.; Kodali, D. R.; Small, D. M.; Honda, K.; Kozawa, K.; Uchida, T. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *89*(17), 8083–8086 (1992).

13. Vand, V.; Bell, I. P. *Acta Crystallographica*, *4*, 465–469 (1951).
14. Skoda, W.; Hoekstra, L. L.; Van Soest, T. C.; Bennema, P.; Van den Tempel, M. *Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere*, *219*, 149–156 (1967).
15. Larsson, K. *Ark. Kemi*, *23*, 1–15 (1964).
16. Jensen, L. H.; Mabis, A. J. *Nature*, *197*, 681–682 (1963).
17. Jensen, L. H.; Mabis, A. J. *Acta Crystallographica*, *21*(5), 770-781 (1966).
18. Engström, L. *Lipid/Fett*, *94*(5), 173–181 (1992).
19. Sato, K.; Arishima, T.; Wang, Z. H.; Ojima, K.; Sagi, N.; Mori, H. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *66*, 664–674 (1989).
20. Arishima, T.; Sagi, N.; Mori, H.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *68*(10), 710–715 (1991).
21. 佐藤清隆，上野聡．脂質の機能性と構造・物性 分子からマスカラ・チョコレートまで，丸善，東京，pp. 108–111（2011）.
22. Yano, J.; Sato, K.; Kaneko, F.; Small, D. M.; Kodali, D. R. *Journal of Lipid Research*, *40*(1), 140–151 (1999).
23. ラルフ・E. ティムス．製菓用油脂ハンドブック，幸書房，東京，pp. 24–31（2010）.
24. 古谷野哲夫，加藤由基雄，蜂屋巌，梅村玲子，田村幸一，田口信夫．*油化学*，*42*(6)，pp. 453–457（1993）.
25. Ghazani, S. M.; Marangoni, A. G. *Crystal Growth & Design*, *19*(2), 704–713 (2018).
26. Rousset, P.; Rappaz, M.; Minner, E. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(7), 857–864 (1998).
27. Yoshikawa, S.; Watanabe, S.; Yamamoto, Y.; Kaneko, F. *Molecules*, *25*(22),

5313–5332 (2020).

28. Lutton, E. S. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *32*(2), 49–53 (1955).
29. Minato, A.; Ueno, S.; Yano, J.; Wang, Z. H.; Seto, H.; Amemiya, Y.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *73*, 1567–1572 (1996).
30. Takeuchi, M.; Ueno, S.; Sato, K. *Food Research International*, *35*(10), 919–926 (2002).
31. Engström, L. *Lipid/Fett*, *94*(5), 173–181 (1992).
32. Koyano, T.; Hachiya, I.; Sato, K. *The Journal of Physical Chemistry*, *96*(25), 10514–10520 (1992).
33. Minato, A.; Ueno, S.; Smith, K.; Amemiya, Y.; Sato, K. *The Journal of Physical Chemistry B*, *101*(18), 3498–3505 (1997).
34. Minato, A.; Yano, J.; Ueno, S.; Smith, K.; Sato, K. *Chemistry and Physics of Lipids*, *88*(1), 63–71 (1997).
35. Minato, A.; Ueno, S.; Yano, J.; Smith, K.; Seto, H.; Amemiya, Y.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *74*, 1213–1220 (1997).
36. Zhang, L.; Ueno, S.; Sato, K.; Adlof, R.; List, G. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *98*(1), 105–111 (2009).
37. Zhang, L.; Ueno, S.; Miura, S.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*, 219–227 (2007).
38. Bayés-García, L.; Calvet, T.; Cuevas-Diarte, M. À.; Ueno, S.; Sato, K. *The Journal of Physical Chemistry B*, *119*(12), 4417–4427 (2015).
39. Bayés-García, L.; Fukao, K.; Konishi, T.; Sato, K.; Taguchi, K. *Crystal Growth & Design*, *23*(4), 2870–2881 (2023).

40. Sibbald, A. N.; Carney, J. R.; Marangoni, A. G. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 93*(11), 1441–1452 (2016).
41. Nakanishi, K.; Mikiya, Y.; Ishiguro, T.; Ueno, S. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 95*(1), 51–59 (2018).
42. 佐藤清隆，上野聡．脂質の機能性と構造・物性 分子からマスカラ・チョコレートまで，丸善，東京，pp. 137–147（2011）.
43. Bettina Wolf. *第11 章　チョコレートの流動特性*，チョコレート製造技術のすべて，第 5 版，（Stephen T. Beckett.; Mark S. Fowler.; Gregory R. Ziegler 編）幸書房，東京，pp. 232–252（2020）.
44. Erich J. Windhab. *第13 章　テンパリング*，チョコレート製造技術のすべて，第 5 版，（Stephen T. Beckett.; Mark S. Fowler.; Gregory R. Ziegler 編）幸書房，東京，pp. 266–302（2020）.
45. Sasaki M.; Ueno S.; Sato K. *Polymorphism and Mixing Phase Behavior of Major Triacylglycerols of Cocoa Butter in Cocoa Butter and related compounds*. (N. Garti.; N. R. Widlak. eds.), AOCS Press, Urbana, pp. 151–172 (2012).
46. Stephen T. Beckett. *第1 章　伝統的なチョコレートの製造法*，チョコレート製造技術のすべて，第 5 版，（Stephen T. Beckett.; Mark S. Fowler.; Gregory R. Ziegler 編）幸書房，東京，pp. 1–7（2020）.
47. Mark S. Fowler.; Fabiien Coutel. *第２章　カカオ豆：木から工場まで*，チョコレート製造技術のすべて，第 5 版，（Stephen T. Beckett.; Mark S. Fowler.; Gregory R. Ziegler 編）幸書房，東京，pp. 8–17 (2020).
48. 佐藤清隆．チョコレートを極める 12 章，初版，幸書房，pp. 29–69 (2024).
49. Antonie C. Fountain,; Friedel Huetz-Adams. Market Developments in Cacao

barometer 2022. Available at https://voicenetwork.cc/wp-content/uploads/2022/12/Cocoa-Barometer-2022.pdf.（2024 月 4 月 29 日）.

50. Christian Bunn, M.; Lundy, P.; Läderach, F. Castro. Global climate change impacts on cocoa. International Symposium on Cocoa Research (ISCR), Lima, Peru, 13–17 November 2017.
51. Frimpong, A. Insects, Pests and Diseases Threaten Cocoa Production Industry. Available at: https://www.modernghana.com/news/458640/insects-pests-and-diseases-threaten-cocoa-production-indust.html.（2013 年 4 月 15 日）.
52. Alternatives to Cocoa Butter: The outlook for CBEs, CBSs and Exotic Fats. LMC International Ltd., Oxford. (2021)
53. Nakanishi Y. *Journal of Japan Oil Chemists' Society, 19*(8), 722–733 (1970).
54. ラルフ・E. ティムス，製菓用油脂ハンドブック，幸書房，東京，pp. 224–241 (2010).
55. Geoff Talbot. *第 7 章　ココアバターと植物油脂の性質*，チョコレート製造技術のすべて，第 5 版，（Stephen T. Beckett.; Mark S. Fowler.; Gregory R. Ziegler 編）幸書房，東京，pp. 127–154 (2020).
56. Lonchampt P,; Hartel RW. *European Journal of Lipid Science and Technology, 108*:159–168 (2006).
57. Hartel, R. W. *The Manufacturing Confectioner 79*(5), 89–99 (1999).
58. Wang, F.; Liu, Y.; Shan, L.; Jin, Q.; Wang, X.; Li, L. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 87*, 1137–1143 (2010).
59. Arishima, T.; McBrayer, T. *The Manufacturing Confectioner, 82*(6), 65–76 (2002).
60. Lonchampt, P.; Hartel, R.W. *European Journal of Lipid Science and*

Technology, *106*, 241–274 (2004).

61. Buscato, M. H. M.; Hara, L. M.; Bonomi, É. C.; de Andrade Calligaris, G.; Cardoso, L. P.; Grimaldi, R.; Kieckbusch, T. G. *Food Chemistry*, *256*, 390–396 (2018).
62. Biswas, N.; Cheow, Y.L.; Tan, C.P.; Siow, L.F. *LWT-Food Science and Technology*. *82*, 420–428 (2017).
63. Biswas, N.; Cheow, Y.L.; Tan, C.P.; Kanagaratnam, S.; Siow, L.F. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *94*, 235–245 (2017).
64. Ornla-ied, P.; Tan, C.P.; Wang, Y.; Sonwai, S. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *98*, 53–64 (2021).
65. Ornla-ied, P.; Podchong, P.; Sonwai, S. *Journal of the Science of Food and Agriculture. 102*, 1619–1627 (2022).
66. De Graef, V.; Vereecken, J.; Smith, K. W.; Bhaggan, K.; Dewettinck, K. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *114*(5), 592–601 (2012).
67. Gregersen, S. B.; Miller, R. L.; Hammershøj, M.; Andersen, M. D.; Wiking, L. *Food Structure*, *4*, 2–15 (2015).
68. Marangoni, A. G.; Narine, S. S. Physical properties of lipids. Marcel Dekker, New York, NY, pp. 63–217. (2002).
69. Sato, K.; Bayes-Gracia, L.; Calvet, T.; Cuecas-Diarte, M. A.; Ueno, S. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *115*:1224–1238 (2013).
70. Sato, K.; Ueno, S. *Physical properties of fats in food in Fats in food technology*. (K. S. Rajah eds.), Wiley, Chichester., pp. 1–38 (2014).
71. Lutton, E. S. *Journal of the American Oil Chemists Society*, *27*(7), 276–281 (1950).

72. Lutton, E. S. *Journal of the American Chemical Society*, *73*(12), 5595–5598 (1951).

73. Boodhoo, M. V.; Bouzidi, L.; Narine, S. S. *Chemistry and Physics of Lipids*, *160*(1), 11–32 (2009).

74. Kellens, M.; Meeussen, W.; Riekel, C.; Reynaers, H. *Chemistry and Physics of Lipids*, *52*(2), 79–98 (1990).

75. Kellens, M.; Meeussen, W.; Gehrke, R.; Reynaers, H. *Chemistry and Physics of Lipids*, *58*(1–2), 131–144 (1991).

76. Kellens, M.; Meeussen, W.; Hammersley, A.; Reynaers, H. *Chemistry and Physics of Lipids*, *58*(1–2), 145–158 (1991).

77. Ueno, S.; Minato, A.; Seto, H.; Amemiya, Y.; Sato, K. *The journal of Physical Chemistry B*, *101*(35), 6847–6854 (1997).

78. Takeuchi, M.; Ueno, S.; Flöter, E.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *79*, 627–632 (2002).

79. Macridachis, J.; Bayés-García, L.; Calvet, T. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *24*(6), 3749–3760 (2022).

80. Macridachis, J.; Bayés-García, L.; Calvet, T. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *148*(23), 12987–13001 (2023).

81. Loisel, C.; Keller, G.; Lecq, G.; Bourgaux, C.; Ollivon, M. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *75*, 425–439 (1998).

82. Chong, C. L.; Kamarudin, Z.; Lesieur, P.; Marangoni, A.; Bourgaux, C.; Ollivon, M. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *109*(4), 410–421 (2007).

83. Higami, M.; Ueno, S.; Segawa, T.; Iwanami, K.; Sato, K. *Journal of the*

American Oil Chemists' Society, *80*, 731–739 (2003).

84. Sonoda, T.; Takata, Y.; Ueno, S.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *81*, 365–373 (2004).
85. Arima, S.; Ueno, S.; Ogawa, A.; Sato, K. *Langmuir*, *25*(17), 9777–9784 (2009).
86. Ikeda, E.; Ueno, S.; Miyamoto, R.; Sato, K. *The Journal of Physical Chemistry B*, *114*(34), 10961–10969 (2010).
87. Koyano, T.; Hachiya, I.; Sato, K. *Journal of Japan Oil Chemists' Society*, *42*(3), 184–189 (1993).
88. Ikeda-Naito, E.; Hondoh, H.; Ueno, S.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *91*, 1837–1848 (2014).
89. Van Langevelde, A.; Van Malssen, K.; Driessen, R.; Goubitz, K.; Hollander, F.; Peschar, R.; Zwart, P,; Schenk, H. *Structural Science*, *56*(6), 1103–1111 (2000).
90. Kaneko, F.; Yamazaki, K.; Kitagawa, K.; Kikyo, T.; Kobayashi, M.; Kitagawa, Y.; Matsuura, Y.; Sato, K.; Suzuki, M. *The Journal of Physical Chemistry B*, *101*(10), 1803–1809 (1997).
91. Campos R.; Marangoni, A. G. *Molecular composition and dynamics and structure of Cocoa Butter in Cocoa Butter and related compounds.* (N. Garti.; N. R. Widlak eds.), AOCS Press, Urbana, pp. 103–150 (2012).
92. Afoakwa, E. O. *World cocoa production, processing and chocolate consumption pattern in Chocolate Science and Technology.* (E. O. Afoakwa eds.), *Wiley & Blackwell.* West Sussex, UK, pp. 17–48 (2016).
93. Statistics - International Cocoa Organization (icco.org). Available at: https://www.icco.org/statistics/（2024 年 4 月 29 日）
94. Smith, K. W. *Confectionery Fats in Cocoa Butter and related compounds.* (N.

Garti,; N. R. Widlak eds.), *AOCS Press*, Urbana, pp. 475–495 (2012).

95. Stortz, T. A.; Marangoni, A. G. Heat resistant chocolate. *Trends in Food Science & Technology*, *22*(5), 201–214 (2011).
96. Maleky, F. *Oil migration through fats – Quantification and its relationship to structure in Structure-Function Analysis of Edible Fats.* (A. G. Marangoni eds.), *AOCS Press*, Urbana, pp. 241–266 (2018).
97. Arishima, T.; Tachibana, N.; Kojima, M.; Takamatsu, K.; Imaizumi, K. *Journal of Food Lipids*, *16*(1), 72–88. (2009).
98. Brouwer, I. A.; World Health Organization. Effect of trans-fatty acid intake on blood lipids and lipoproteins: a systematic review and meta-regression analysis (2016).
99. Briggs, M. A.; Petersen, K. S.; Kris-Etherton, P. M. *Healthcare* Vol. 5, No. 2, p. 29. MDPI. (2017)
100. 佐藤清隆，上野聡．脂質の機能性と構造・物性 分子からマスカラ・チョコレートまで，丸善，東京，pp. 159–193 (2011).
101. Gregersen, S. B.; Miller, R. L.; Andersen, M. D.; Hammershøj, M.; Wiking, L. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *117*(11), 1782–1791 (2015).
102. Mokbul, M., Cheow, Y. L.; Siow, L. F. *Food Chemistry Advances*, *3*, 100515 (2023).
103. Yuki, A.; Matsuda, K.; Nishimura, A. *Journal of Japan Oil Chemists' Society, 39*, 236 (1990).
104. Ishibashi, C.; Hondoh, H.; Ueno, S. *Crystal Growth & Design, 17*, 6363–6371 (2017).
105. Yoshikawa, S.; Kida, H.; Matsumura, Y.; Sato, K. *European Journal of Lipid*

Science and Technology, 118, 1007–1017 (2016).

106.Hachiya, I.; Koyano, T.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *66*(12), 1757–1762 (1989).

107.Hachiya, I.; Koyano, T.; Sato, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *66*, 1763–1770 (1989).

108.Zhang, L.; Ueno, S.; Sato, K. *Journal of Oleo Science*, *67*(6), 679–687 (2018).

109.Bayés-García, L.; Sato, K.; Zhang, L.; Yoshikawa, S.; Kaneko, F.; Yamamoto, Y.; Watanabe, S.; Taguchi, K. *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 101(1), 79–93 (2023).

110.Talbot, G. *Vegetable Fats In Industrial Chocolate Manufacture and Use.* (Beckett, S. T. eds.), John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, pp 415–433 (2008).

111.Rossell, J. B. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62, 385–390 (1985).

112.Akhter, S.; McDonald, M. A.; Marriott, R. *Scientific Reports*, 6, 32050 (2016).

113.Gibon, V.; Blanpain, P.; Norberg, B.; Durant, F. *Bulletin des sociétés chimiques belges, 93*, 27–34 (1984).

114.van Mechelen, J. B.; Peschar, R.; Schenk, H. *Acta Crystallographica Section B*, B64, 240–248 (2008).

115.Williams, S. D.; Ransom-Painter, K. L.; Hartel, R. W. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *74*, 357–366 (1997).

116.Smith, K. W.; Cain, F. W.; Talbot, G. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52*, 5539–5544 (2004).

117.Sato, K. *Introduction: Relationships of Structures, Properties, and Functionality in Crystallization of Lipids: Fundamentals and Applications in Food, Cosmetics, and Pharmaceuticals.* (Sato, K., eds.), John Wiley & Sons,

Ltd.: Chichester, pp 1–15 (2018).

118.Koizumi, H.; Takagi, M.; Hondoh, H.; Michikawa, S.; Hirai, Y.; Ueno, S. *Crystal Growth & Design, 22*(12), 6879–6885 (2022).

119.Koizumi, H.; Kimura, K.; Takagi, M.; Michikawa, S.; Hirai, Y.; Sato, K.; Ueno, S. *CrystEngComm, 25*(32), 4562–4567 (2023).

120.Kaneko, F.; Yamamoto, Y.; Yoshikawa, S. *Molecules*, *25*(20), 4786–4799 (2020).

121.Sato, K.; Arishima, T.; Wang, Z.; Ojima, K.; Sagi, N.; Mori, H. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66, 664–674 (1989).

122.Kodali, D. R.; Atkinson, D.; Redgrave, T. G.; Small, D. M. *Journal of Lipid Reserch*, 28, 403–413 (1987).

123.Allais, C.; Keller, G.; Lesieur, P.; Ollivon, M.; Artzner, F. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, *74*, 723–728 (2004).

124.Mahisanunt, B.; Hondoh, H.; Ueno, S. *Crystal Growth & Design*, *20*(8), 4980-4990 (2020).

125.Sato, K. *Chemical Engineering Science, 56*, 2255–2265 (2001).

126.Beckmann, W. *Organic Process Research & Development, 4*, 372–383 (2000).

127.Hondoh, H.; Ueno, S.; Sato, K. *Fundamental aspects of crystallization of lipids in Crystallization of Lipids.* (Sato, K., eds), Wiley: Hoboken, pp. 105–142 (2018).

128.Kaneko, F.; Kobayashi, M.; Sato, K.; Suzuki, M. *The Journal of Physical Chemistry B*, *101*(2), 285–292 (1997).

129.Schmelzer, J. M.; Hartel, R. W. *Journal of Dairy Science*, *84*(2), 332–344 (2001).

130.Gordon, M. H.; Padley, F. B.; Timms, R. E. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, *81*(3), 116–121 (1979).

131.Laustsen, K. *The Manufacturing Confectioner*. *71* (5), 137–144 (1991).

132.Zeng, Y.; Braun, P.; Keller, J.P.; Paggios, K.; Jacob, J.; Pirhalla, S. *INFORM 3 2*(2), 24–29 (2021).