

## 学 位 論 文 の 要 旨

論文題目 温度変動によるチョコレートのファットブルーム発現機構の解明

広島大学大学院生物圏科学研究科

生物機能開発学 専攻

学生番号 D184493

氏 名 佐藤 創平

### 1. 背景・目的

ファットブルームとはチョコレートの品質劣化の一種である。これは製造工程や保管中に主にチョコレート中のココアバターの構造変化によって生じる現象である。白っぽい色または粉末状の表面の外観として現れ、味や外観などの官能特性に大きく影響するためチョコレート製造者にとって非常に重要な課題であり、これまでも多くの研究がなされてきた。ファットブルームの発生要因としてはココアバターの  $\beta V$  型から  $\beta VI$  型への結晶多形転移によるものであるという認識が広く受け入れられている。これは、ファットブルームが発生したチョコレートに  $\beta VI$  型のココアバターがしばしば見出されたという事実に基づいており、多形転移がファットブルーム形成に強く関連していることを示唆している。しかし、ファットブルームの根本的なメカニズムはチョコレート表面における凹凸形成であり、そこには様々な他の関連要因も存在するが、その主要なもの全てが理解されているわけではない。

本研究では、従来の温度サイクルや一定温度保管とは異なる温度処理条件を用いて、今まで明らかにされてこなかったファットブルームの発生機構を解明することを目的とした。この温度処理条件は、ココアバター  $\beta V$  型の融点 ( $33.8^{\circ}\text{C}$ ) をわずかに超える温度 ( $35\sim 37^{\circ}\text{C}$ ) への加熱保持の後、 $25\sim 27^{\circ}\text{C}$  で設定される予備冷却と  $20^{\circ}\text{C}$  で設定される主冷却の 2 段階の冷却から構成される。このような温度処理条件はこれまでに報告例がなく、本研究において新たに見出された条件である。またこのような条件下で発生するファットブルームは夏の暑い時期や熱帯気候の地域において発生するファットブルームを模している可能性が高いが、これまで詳細な研究は行われていない。

そこで本研究では、この温度条件を用いてこのようなファットブルームの発生機構を明らかにすることを目的として以下の 3 つの構成で実験を行った。【(1) チョコレートのファットブルーム発生条件とその形態学的特徴の観察】、【(2) ファットブルームの構造観察】、【(3) ファットブルーム形成過程におけるチョコレート及び油脂の構造変化観察】

### 2. 実験方法

#### (1) チョコレートのファットブルーム発生条件とその形態学的特徴

モデルチョコレートとして標準的なミルクチョコレートを用いた。プログラムエアインキュベーターを用いて各温度および時間を設定し、ファットブルームを発生させて外観を確認した。温度プログラムは加熱 ( $35, 36, 37^{\circ}\text{C}$ ) と予備冷却 ( $25, 26, 27^{\circ}\text{C}$ ) の組み合わせを、それぞれ 2h 保持の条件で設定した。また、最も顕著にファットブルームが発生した温度条件を用いて、各保持時間を短くした場合 (2h $\rightarrow$ 1h) の確認を行った。得られたファットブルームの断面構造を確認し、過去の報告のファットブルームとの形態学的な類似性を調べた。

#### (2) ファットブルームの構造観察

実験(1)で得られた最も顕著な外観のファットブルームについて、表面構造を光学顕微鏡観察および走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscopy : SEM) 観察により調べた。またファットブルーム表面のココアバター結晶の多形を分析するために X 線回折 (X-Ray Diffraction : XRD) 分析を実施した。さらに、より詳細にファットブルームの構造を観察するため、チョコレートの疑似断面構造を作製し同温度条件にてファットブルームを発生させ、ファットブルーム発生前後の形態を比較観察した。また、Nile red 染色したキャノーラ油を用いて、蛍光顕微鏡によりファットブルーム部の詳細な構造を観察した。

### **(3) ファットブルーム形成過程におけるチョコレート及び油脂の構造変化**

実験(1)で得られた最も顕著な外観のファットブルームについて、ファットブルーム発生の温度処理条件下における油脂およびチョコレートの構造変化を各種観察により調べた。ミルクチョコレートの表面構造の変化は暗視野顕微鏡により観察した。チョコレート中のココアバターの結晶多形の挙動を温度制御ステージ付きの XRD により観察した。サンプルには油脂およびミルクチョコレートの他、糖を除いたミルクチョコレートを用いた。疑似断面の構造変化をペルチェ冷却加熱ステージにて温度を制御しながら光学顕微鏡により確認した。さらに、チョコレート中の油脂結晶の形態変化については、同様にペルチェ冷却加熱ステージを用いて偏光顕微鏡により観察した。

## **3. 結果と考察**

### **(1) チョコレートのファットブルーム発生条件とその形態学的特徴**

35~37°Cの加熱と 25~27°Cの予備冷却の組み合わせにより出現するファットブルームの構造について調べたところ、加熱 36°Cと予備冷却 26°Cの組み合わせにより最も顕著なファットブルームが発生した。この温度の組み合わせにおいて保持時間をそれぞれ2時間から1時間に短くした場合、ファットブルームは出現しなくなる傾向が見られた。このことから本ファットブルームの発現は、加熱および予備冷却ステップの温度と時間に強く依存することが分かった。

また、このファットブルームは、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)を超える加熱を経て生じたファットブルームである。それにも関わらず、その外観特徴は Kinta (2014)らの分類に基づくと、融点を超える高温への曝露により得られるとされる「タイプ 2」ではなく、むしろ融点以下の温度サイクルにより得られるとされる「タイプ 3」と一致した。タイプ 2は斑点形状を示すファットブルームであり、タイプ 3は筋状あるいは全体的に薄茶色の形態を示すファットブルームである。このタイプ 3はココアバター $\beta$ V型の融点を超えない一週間の温度サイクル条件下での発生が報告されており、その結晶多形は $\beta$ VI型である。本章で得られたファットブルームは、タイプ 3と同様の外観を示しながらも数時間で発生したことから、この温度条件により生じるファットブルームの構造特長や発生過程を研究することで、より本質的なファットブルーム発生機構の解明につながる可能性が見出された。

### **(2) ファットブルームの構造観察**

XRDの結果、ファットブルーム形成チョコレート表面のココアバターはコントロールチョコレートと同じ $\beta$ V型のXRDパターンを示した。これはタイプ 3に分類される外観のファットブルームが $\beta$ VI型を示したという従来の報告とは異なる結果を示しており、本ファットブルームの発生にはココアバターの $\beta$ VI型への転移とは別のメカニズムが大きく関与している可能性が示唆された。表面構造観察においては、ファットブルームは多孔質表面に形成されていることが明らかになった。疑似断面観察でもこれと同様の結果が得られ、ファットブルームの本質的な構造は空気を含む空隙から成り立っていることが明らかになった。

### **(3) ファットブルーム形成過程におけるチョコレート及び油脂の構造変化**

温度処理条件下での XRD の結果より、ココアバター結晶の多形はファットブルーム形成の一連の過程を通じて $\beta$ V型であった。これは $\beta$ VI型への転移だけでなく、IV型のような不安定多形の発生も伴わなかった。このことから本ファットブルームの発現にはココアバターの結晶多形転移は本質的には必須ではないと言える。このような事例の報告は今までになく、新たな発見である。

また、偏光顕微鏡観察および暗視野顕微鏡観察の結果では、予備冷却の 26℃ 保持中に油脂の結晶状態や表面構造が非常にゆっくりとした速度で変化し、粗い結晶ネットワーク構造を形成する様子が確認された。XRD の結果からも 26℃ 保持中に結晶が形成されることが確認されており、いずれの結果においても時間の経過とともに結晶構造が徐々に形成されていったこと、またこの保持時間が短くなるとファットブルームが形成されなくなることから、予備冷却ステップにおけるこの構造形成はのちのファットブルーム形成と重要な因果関係を示すことが分かった。

さらに、チョコレート表面の暗視野顕微鏡観察と疑似断面の光学顕微鏡観察では、主冷却ステップでファットブルームが形成される様子を捉えた。このステップではいずれの観察でもチョコレートの表層から内部方向への構造変化が生じており、外側方向への構造変化は確認されなかった。この構造変化は、本質的にはチョコレートの表層部における内部方向に向かっての空隙の形成である。

以上の結果を踏まえ、ファットブルームの発生機構を考察した。本研究におけるファットブルーム形成の本質的な機構は、予備冷却中の粗い結晶ネットワーク構造の形成とそれに続く液状油の移動によりチョコレート内部の細かな空隙が再配置され、表面の液状油が枯渇した状態になることで凹凸が生じ、この構造による光の乱反射がファットブルームとして現れると予想される。この一連の発現機構にはココアバターの多形転移は必須ではない。

#### 4. 今後の課題

本研究の最たる成果は、ココアバターの結晶多形転移が伴わない場合でも明らかなファットブルームが形成されることを証明したことである。これはつまり、ココアバターの結晶多形転移以外のメカニズムにも目を向ける必要性を示すものである。これを突破口にチョコレート業界および油脂業界においてさらなる研究と技術開発が進むことを期待する。

また、本研究では一般的なミルクチョコレートを用いた。今後は乳成分を含まないダークチョコレートやカカオ固形分を含まないホワイトチョコレート、その他の配合の場合の現象の把握が必要である。さらには乳脂やココアバター、その他の固形分や粒子の配合とファットブルームへの影響を把握することで、技術的な対策の開発を進めていく必要がある。