

博士論文

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

令和3年3月

広島大学大学院生物圏科学研究科

生物機能開発学専攻

佐藤創平

# 目次

## 第1章 緒言

1.1	チョコレートと油脂 -----	1
1.1.1	チョコレートとココアバター	
1.1.2	ココアバターの分子構造	
1.1.3	ココアバターの結晶構造	
1.2	チョコレートの製造プロセス -----	10
1.3	チョコレートのブルーム -----	14
1.3.1	ファットブルーム	
1.3.2	シュガーブルーム	
1.4	ファットブルームの形成と影響を与える要因 -----	16
1.4.1	ファットブルームの原因	
1.4.2	ファットブルーム形成のメカニズム	
1.4.3	ブルーム形成に影響を与える要因	
1.5	ファットブルームの形態学的分類 -----	26
1.6	本研究の目的と論文構成 -----	30
	文献 -----	31

## 第2章 本研究で用いた試料および実験装置

2.1	試料 -----	41
2.1.1	ミルクチョコレート	
2.1.2	無糖ミルクチョコレート	
2.1.3	ミルクチョコレート中の油脂	
2.2	実験装置 -----	43
2.2.1	明視野／暗視野顕微鏡観察	
2.2.2	デジタル顕微鏡（マイクロスコープ）観察	

2.2.3	走査型電子顕微鏡観察 (Scanning Electron Microscopy: SEM)	
2.2.4	X 線回折測定 (X-ray Diffraction : XRD)	
2.2.5	蛍光顕微鏡観察 (Fluorescence Light Microscopy: FLM)	
2.2.6	偏光顕微鏡観察 (Polarized Light Microscopy: PLM)	
文献	-----	47

### 第3章 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

3.1	はじめに -----	48
3.2	実験試料および実験方法 -----	50
3.2.1	試料および試料調製方法	
3.2.2	温度処理条件	
3.3	結果 -----	53
3.3.1	処理温度とファットブルームの関係	
3.3.2	処理時間とファットブルームの関係	
3.3.3	ファットブルームの形態観察	
3.4	考察 -----	58
3.5	まとめ -----	60
文献	-----	60

### 第4章 ファットブルームの構造観察

4.1	はじめに -----	62
4.2	実験試料および実験方法 -----	63
4.2.1	試料および試料調製方法	
4.2.2	X 線回折測定 (XRD)	
4.2.3	走査型電子顕微鏡観察 (SEM)	
4.2.4	デジタル顕微鏡観察	
4.2.5	蛍光顕微鏡観察 (FLM)	
4.2.6	画像解析	

4.3	結果	67
4.3.1	ファットブルーム中のココアバターの結晶多形	
4.3.2	ファットブルームの表面構造観察	
4.3.3	ファットブルームの疑似断面構造観察	
4.4	考察	74
4.5	まとめ	76
	文献	76
<b>第5章</b>	<b>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</b>	
5.1	はじめに	78
5.2	実験試料および実験方法	79
5.2.1	試料および試料調製方法	
5.2.2	X線回折測定 (XRD)	
5.2.3	明視野／暗視野顕微鏡観察	
5.2.4	偏光顕微鏡観察 (PLM)	
5.3	結果	84
5.3.1	ファットブルーム形成過程におけるココアバターの結晶多形変化	
5.3.2	ファットブルーム形成過程におけるチョコレート表面の構造変化	
5.3.3	ファットブルーム形成過程におけるチョコレート疑似断面の構造変化	
5.3.4	ファットブルーム形成過程における油脂の結晶化挙動	
5.4	考察	93
5.5	まとめ	99
	文献	100
<b>第6章</b>	<b>総括</b>	<b>102</b>
	謝辞	103

# 第1章 緒言

## 1.1 チョコレートと油脂

### 1.1.1 チョコレートとココアバター

チョコレートは、消費者に最も好まれる嗜好性菓子の一つである。近年ではその主要原料であるカカオに含まれるポリフェノール等の機能性成分を中心に、健康志向食品としても注目を集めている<sup>1)</sup>。チョコレートにはポリフェノールの一種であるカテキン、エピカテキン、プロシアニジンなどのフラボノイドが豊富に含まれている<sup>2)</sup>。チョコレート、特にダークチョコレートは、循環器系障害や心臓病のリスクを軽減するなど精神的にも肉体的にもヒトにとって有益であることが認められている<sup>3-5)</sup>。チョコレート製品の国内消費は2008年から2018年の10年間で23.5%の増加を示している<sup>6)</sup>。近年ではチョコレート消費はより品質の高いものを求める方向へもシフトしており、例えば差別性のある香味を有するカカオの品種を用いたチョコレートへの関心が高まっている<sup>7)</sup>。特に高カカオ含有チョコレートは健康志向という面だけでなく、香味特性の面で高品質、高級市場においても注目されている分野である。

チョコレートには主にダークチョコレート、ミルクチョコレート、ホワイトチョコレートの3つのタイプがあり、その組成は様々である<sup>8)</sup>。ダークチョコレートは主に砂糖、ココアバター、カカオマスで構成され、ミルクチョコレートはさらに乳成分を含み、ホワイトチョコレートは砂糖、ココアバター、乳成分で構成されている。少量の乳化剤（レシチンなど）や香料（バニリンなど）なども、製造中の液状チョコレートの流動性の改善や、最終製品の風味の調節を目的として添加されている<sup>9)</sup>。チョコレートの構造は通常、ココアバター（およびミルクチョコレートの乳脂）を主体とした油脂の連続相中に砂糖やカカオマス、ミルクなどの約65~75g/100gの微細な固体粒子が分散した状態となっている（Fig. 1-1）<sup>1,10)</sup>。チョコレートにおける油脂の役割はその構造を形成する原料として必須であるだけでなく、チョコレートの製造工程での各種単位操作や出来上がった製品の品質、保存中の品質変化等もすべて油脂の物性が大きな影響を与えている。チョコレートを構成する油脂の主たる成分であるココアバターは、チョコレートのレオロジー的およびテクスチャー的特性を決定する上で最も重要な役割を果たしている<sup>11)</sup>。具体的には、成形性（収縮性）、表面の光沢、

風味の放出，口の中での滑らかな食感に関与している<sup>12)</sup>。チョコレートのココアバターに由来する重要な特徴の一つがその融解特性であり，室温（20～25℃）では固体のままであるが，喫食中に約 37℃の口の中で融け，舌に滑らかな感触を与えることができる<sup>10)</sup>。また本論文の主題であるファットブルームにもココアバターの挙動が大きく関与している。これらのことから，ココアバターの特性を理解し制御することは高品質のチョコレートを製造する上で非常に重要である。ココアバターの他に，ココアバターの代わりとなる植物性油脂を添加する場合もある。チョコレートの配合に使用される植物性油脂は，ココアバターとの相性に基づいて，CBS，CBE，CBR の 3 つに分類される<sup>11)</sup>。ココアバターは比較的高価であるため，これらの代替油脂は原材料のコストを削減するためにチョコレート製品に使用されることがある<sup>13)</sup>。

### 1.1.2 ココアバターの分子構造

ココアバターを含むすべての油脂はトリアシルグリセロール (Triacylglycerol: 以下，TAG と示す) の混合物である。TAG 分子はグリセロール分子に結合した 3 つの脂肪酸で構成されている<sup>14)</sup>。TAG の物性は，構成脂肪酸の種類とそれらが結合するグリセロール分子の OH 基の位置 (*sn*-位置: stereospecific numbering) によって決定される。例えば，パルミチン酸 (P)，ステアリン酸 (St)，オレイン酸 (O) の 3 つの脂肪酸がオレイン酸を *sn*-2 位としてグリセロールに結合すると，POSt (2-oleoyl-stearoylpalmitoylglycerol) 分子となる<sup>15)</sup>。このような TAG 分子の構造を，Fig. 1-2 に示す。ステアリン酸とオレイン酸が入れ替わると PStO となり，構成脂肪酸は同じだが全く異なる分子となる。ココアバター中には約 40～50 の TAG が存在するが，POSt，POP (1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol)，StOSt (1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol) の 3 種類の TAG が支配的であり，ココアバター中の全 TAG の約 80% を占めている<sup>16)</sup>。このような *sn*-2 位に不飽和脂肪酸を持つ一価不飽和 TAG は，SOS (S: 任意の飽和脂肪酸; O: オレイン酸) TAG とも呼ばれる。その他，3 つの飽和脂肪酸を含む SSS や 2 つのオレイン酸分子を含む SOO (多価不飽和) のような TAG もココアバター中に含まれるが，それぞれの含有率は約 1-2% および約 5-20% 程度である<sup>17)</sup>。SOO 分子は室温で液体状態であるのに対し，SSS 分子は SOS や SOO 分子よりも融点が高い<sup>17)</sup>。

### 1.1.2 ココアバターの結晶構造

ココアバターなどの油脂中の TAG は、結晶化する際に多形現象をとることが知られている。多形とは「同一の化学組成を持ちながら、異なる結晶構造をもち、異なる結晶形を示す現象」と定義される<sup>18)</sup>。Fig. 1-2 に示すような TAG 分子は、二鎖または三鎖の長さの配列で結合することができ、「椅子」構造のラメラを形成する。ラメラの層が積み重なってドメインを形成し、それがさらに結晶子に発達する。結晶子からなる結晶集団（クラスター）は最終的に相互作用により 3 次元の油脂微細構造を形成する（Fig. 1-3）<sup>19)</sup>。油脂の結晶内部では、TAG 内の炭化水素鎖同士がその分子間力や疎水性相互作用により互いに密に集まって秩序化された配列をとる。TAG 鎖の横方向のパッキングの違いと TAG の縦方向の積み重ねの違いによって異なる分子パッキング配列が形成され、様々なココアバター多形が形成される（Table 1-1）<sup>18,20-21)</sup>。多形はこの TAG 結晶のパッキング配列から決定され、この配列様式は副格子構造と呼ばれる。TAG でみられる副格子の結晶系は主に六方晶（ヘキサゴナル：H）、直方晶（O<sub>⊥</sub>）、三斜晶（T<sub>∥</sub>）であるが、油脂ではそれぞれ α 型、β' 型および β 型と呼ばれるのが一般的である。ココアバター結晶多形のナンバリングに関しては、油脂業界ではギリシャ文字（α、β' および β）が使用されるのに対し、チョコレート業界ではローマ数字（I から VI）が一般的に使用される<sup>10)</sup>。ローマ数字の場合、I から VI までの数字により多形安定性を表しており、I が最も安定性が低く、VI が最も安定性が高い<sup>22)</sup>。市販のチョコレートにおいては、全体的な表面の光沢、色、硬さ・パチンと割れるスナップ性、滑らかなくちどけ、および品質保存性において最も良好であることから、V 型であることが好ましい<sup>5)</sup>。ギリシャ文字でのナンバリングでは、熱力学的な安定性が上がっていく順に α、β'、β 型が用いられる。中には β<sub>1</sub> と β<sub>2</sub> のように、ほぼ同じ構造でありながら安定性に違いがあるものが存在する<sup>23)</sup>。このような場合、安定性の高い順に β<sub>1</sub>、β<sub>2</sub> と表現され、ココアバターでは VI 型と V 型に相当する。α、β'、β 型多形の結晶構造の側面図と端面図を Fig. 1-4 に示す<sup>10,17)</sup>。α 型のラメラはまっすぐに積み重なっており、端面から見ると脂肪酸鎖が六角形に存在し、鉛筆を束ねたような構造をしている。一方、β' 型の脂肪酸鎖は、末端メチル基面から見て角度があり、分子は直方晶（O<sub>⊥</sub>）の副格子構造を示す。分子末端面から見ると隣り合う脂肪酸鎖のジグザグ面が互いに垂直である。β 型も同様に末端メチル基面から見て角度があるが、分子鎖は三斜晶（T<sub>∥</sub>）の副格子構造を示し、隣り合う脂肪酸鎖のジグザグ面はお互いに平

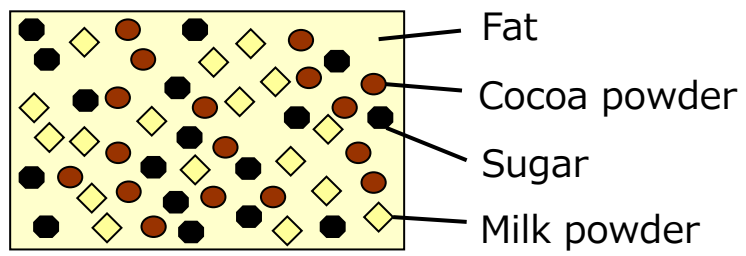
行である。ココアバターや TAG の多形の特定には X 線回折 (X-ray Diffraction : XRD) 技術が用いられる。Fig. 1-5 は主なココアバター多形の典型的な XRD 回折パターンを示している。

最安定の  $\beta$  型を除き、 $\alpha$  型、 $\beta'$  型などの準安定多形は安定多形へと経時的に変化する。ある多形から別の多形へと変化することを多形転移と呼ぶ。一般的に TAG においては、多形転移は  $\alpha$  型、 $\beta'$  型、 $\beta$  型の順で起き、不可逆である。ココアバターでは I~V 型が最安定の VI 型へと経時的に変化する。

なお、ココアバターの V 型は  $\beta_2$  型、 $\beta V$  型と同値であり、同様に VI 型は  $\beta_1$  型、 $\beta VI$  型とも表記される。本論文では、以降、それぞれ  $\beta V$  型、 $\beta VI$  型と表記することとする。



(a)



(b)

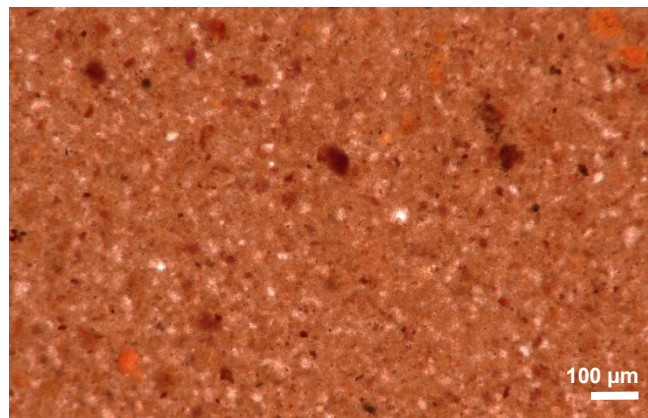


Fig. 1-1 (a) Schematic representation of structure of chocolate. (b) Microscopic image of melted chocolate.

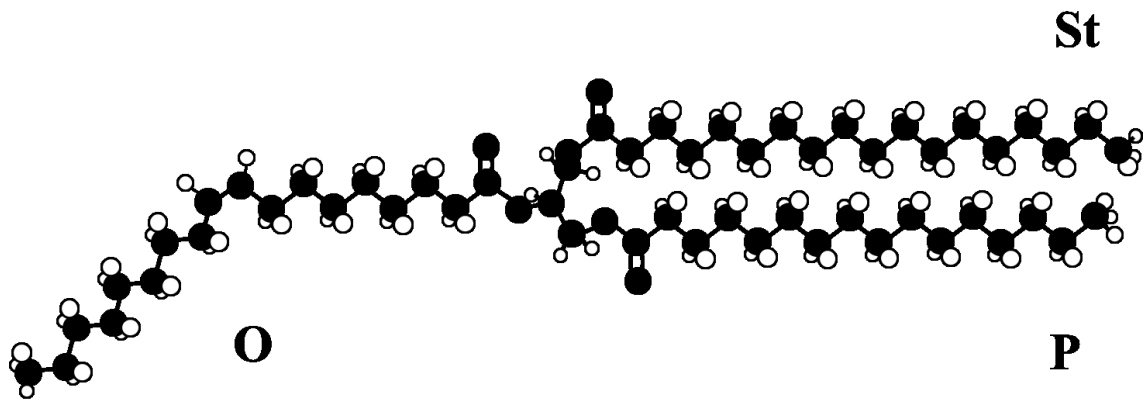


Fig. 1-2 Structure of POSt molecule.<sup>17, 24)</sup>

Table 1-1 Cocoa butter polymorphs and their properties.<sup>18, 22)</sup>

Polymorphic forms		Chain packing	Melting points (°C)
I	Sub- $\alpha$	Double	17.3
II	$\alpha$	Double	23.3
III	$\beta_2'$	Double	25.5
IV	$\beta_1'$	Double	27.5
V	$\beta_2$	Triple	33.8
VI	$\beta_1$	Triple	36.3

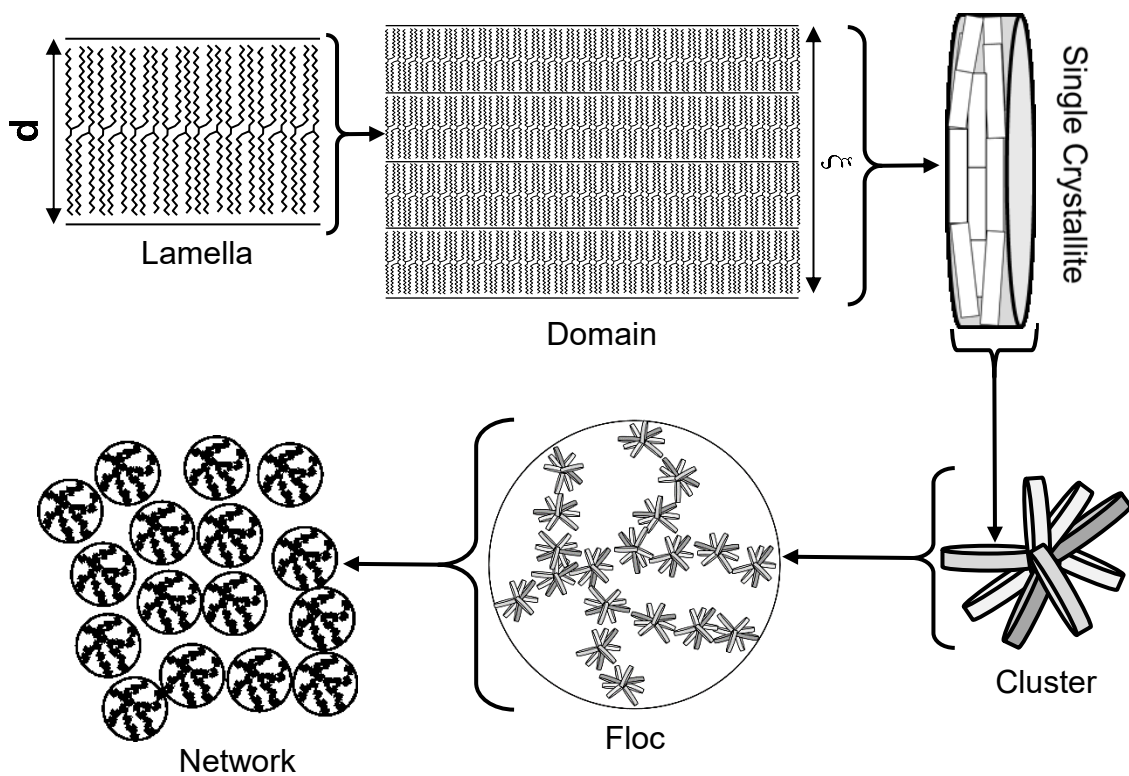


Fig. 1-3 Schematic representation of the different levels of structure in crystallized fats. A single crystallite may have one or more domains of a thickness  $\xi$ , composed in turn of several lamellae of thickness  $d$ . Each lamella is formed by TAG organized with a characteristic longitudinal stacking and lateral packing.<sup>19)</sup>

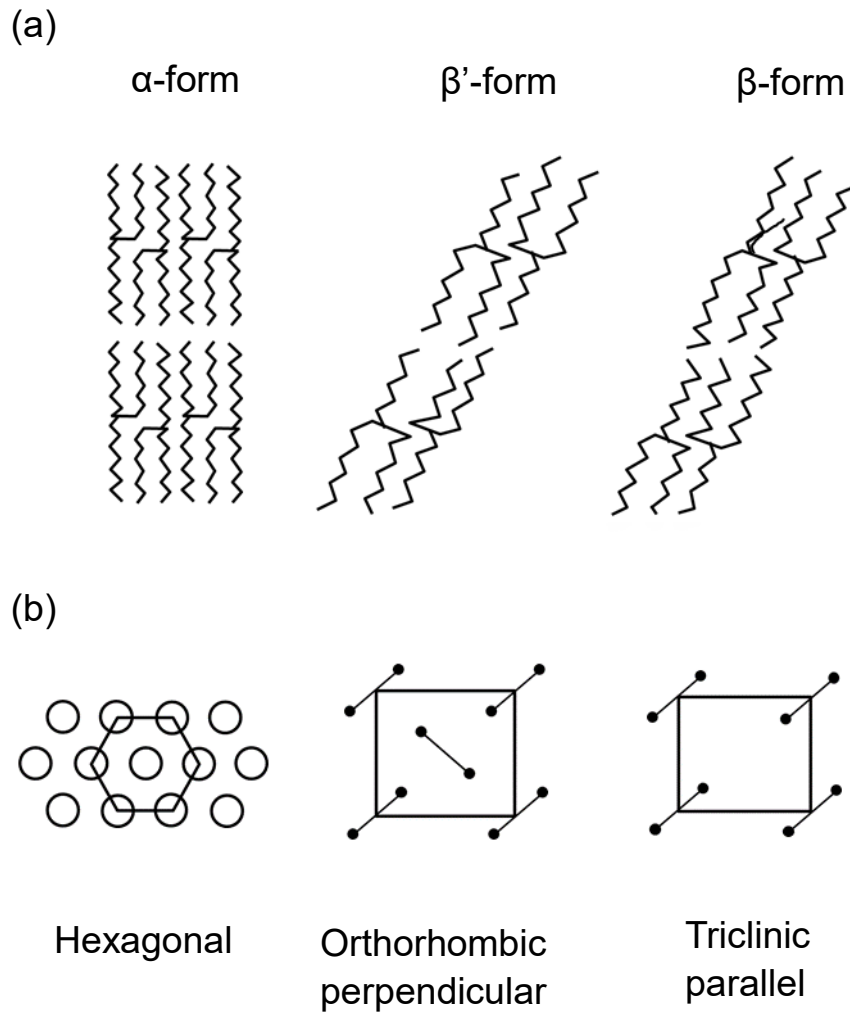


Fig. 1-4 Crystal packing of triacylglycerols. (a) Projection showing arrangement of alkyl chains for  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\beta'$  polymorphs. (b) Projection parallel to direction of alkyl chain.

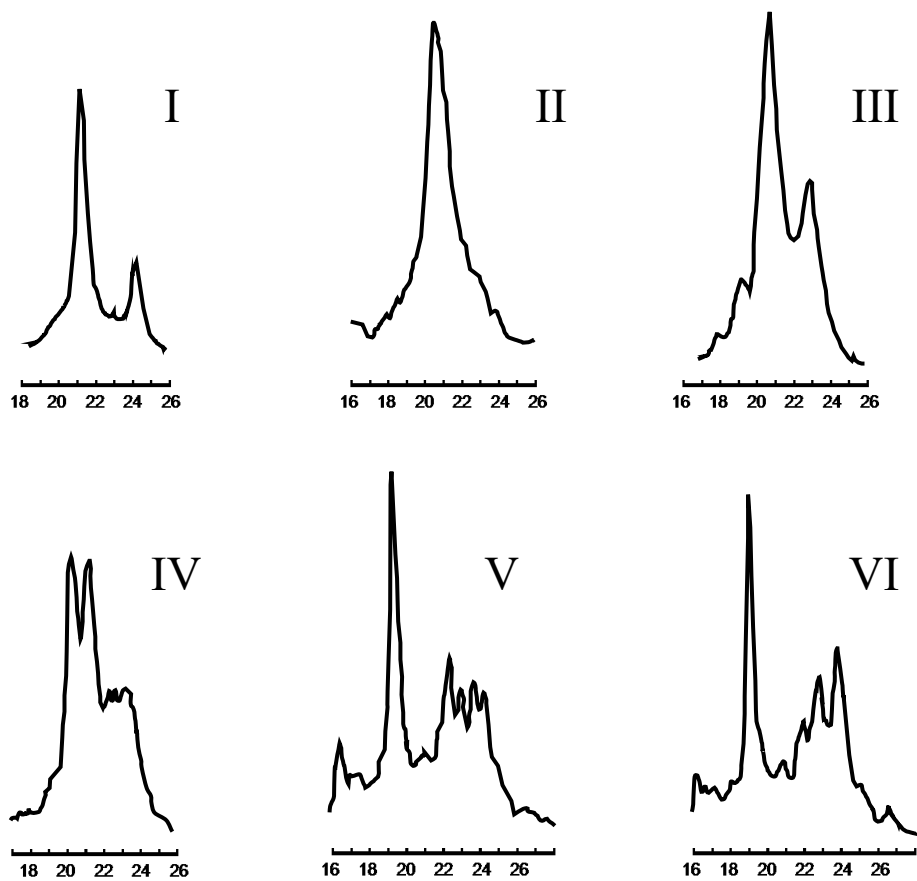


Fig. 1-5 XRD patterns of different cocoa butter polymorphs<sup>22, 25</sup>).

## 1.2 チョコレートの製造プロセス

工業的なチョコレート製造は、一般的に混合、レファイニング、コンチング、テンパリング、成型を含む工程から構成される<sup>1,26-28)</sup>。より詳細にはカカオ豆の収穫・発酵から焙炒・摩砕工程を経るプロセスを含むが、ここではカカオマス生産以降のプロセスについて述べる。

### 1) 混合

混合工程では原料となるカカオマスに、粉乳や砂糖、ココアバターなどをミキサーで混ぜ合わせる。

### 2) レファイニング

レファイニング工程では通常、2本ロールレファイナーを使用した予備レファイニングと、5本ロールレファイナーを使用したレファイニングから構成される<sup>17,27)</sup>。レファイニングの主な目的は、喫食時の口腔知覚（ざらつき）への影響を最小限にするために無脂固形分の粒子径を小さくすることである<sup>11)</sup>。本工程によりペーストは15~35ミクロンへ粉砕される。実際の粒子径は製造するチョコレートの種類に依存するが、液体状態での流動特性、口中での食感と味に大きな影響を及ぼす<sup>17)</sup>。

### 3) コンチング

コンチング工程では一般的にコンチェと呼ばれる機械で長時間かけて加熱・混合が行われる。ここでは二つの事象が生じているとされる。一つは香味発現であり、もう一つは粉状やフレーク状、固いペースト状のチョコレートを自由流動する液体へ変えることである。これは固体粒子を油脂で被覆することで粒子同士が移動できるようにするものである<sup>17)</sup>。粘度を変化させるためにレシチンやココアバターを添加することもある<sup>27)</sup>。

### 4) テンパリング

テンパリング、あるいは予備結晶化（pre-crystallization）は成型の前の最終段階である。本工程は油脂を望ましい結晶形として迅速に固化させるために、チョコレート中の少量の油

脂を予備結晶化させ結晶核を生成させるものである<sup>24)</sup>。前述の通り、ココアバターには6種類の結晶多形が存在するが、このうちチョコレート製品として望ましい結晶多形は $\beta V$ 型であり、チョコレート成型にあたってはチョコレート生地中存在するココアバターを $\beta V$ 型として結晶化させる必要がある。しかし、“安定多形ほど結晶化速度が遅い”という性質により、融かしたチョコレートを単純に冷却するだけではココアバターは $\beta V$ 型に結晶化しない<sup>18)</sup>。そのために“テンパリング”と呼ばれる予備結晶化工程により結晶多形の制御が行われる。良好なテンパリングとは、テンパリングの終了時にチョコレート中に望ましい形の結晶が可能な限り細かく数多く含まれている状態である<sup>20, 29)</sup>。適切なテンパリングは、望ましい特性と長寿命の保存性を持つ高品質のチョコレート製品を製造するために重要である。

工業的な予備結晶化工程として最も広汎に用いられている方法が、いわゆる“テンパリング法”である。テンパリング法は、機械的処理および熱処理を用いてココアバターを予備結晶化するために用いられる従来からの方法である<sup>30)</sup>。テンパリングプロセスの温度プロファイルの一例をFig. 1-6に示す。最初にチョコレートを完全に融解し既存の結晶履歴を消去する。次にチョコレートを冷却して目的の $\beta V$ 型結晶核の形成を開始する。このときIV型等の不安定多形も同時に生成される。最後にIV型などの不安定多形の融点よりもやや高い温度（約30°C）まで再加熱し、不要な多形結晶を融かす。このとき、一部の結晶は融液媒介転移により不安定多形から $\beta V$ 型に転移する<sup>18)</sup>。結晶多形はこのような温度管理に加えて、テンパリングがうまくいくかどうかはせん断による機械的なエネルギー印加も大きく関わっている<sup>25, 31)</sup>。

$\beta V$ 型の結晶を得るためのもう一つの方法として、シーディング法（種結晶添加法）がある。シーディング法とは、液状チョコレートに種結晶（例えば、 $\beta V$ 型の核）を加える方法である<sup>32)</sup>。種結晶は、懸濁液または固体の形態で添加され<sup>33)</sup>、例えばココアバター結晶懸濁液<sup>34)</sup>などが使用される。良好な結晶化のためには、ココアバター質量として0.1~1.15 g/100 gのシード濃度が推奨される<sup>35)</sup>。しかし、0.027 g/100 g<sup>36)</sup>または2~5 g/100 g<sup>20)</sup>といった値も提唱されており、研究者によりさまざまである。ココアバター以外では、例えばBOB（1,3-dibehenoyl-2-oleoylglycerol）の安定結晶粉末を用いたシーディング法が日本独自の技術として実用化されている<sup>37-39)</sup>。どのようなタイプの予備結晶化方法が使用されるかにかかわらず、液体チョコレート中のココアバターが冷却工程で $\beta V$ 型に結晶化するための核（種

結晶)の形成(または添加)が必要である<sup>11)</sup>.

#### 5) 成型

適切なテンパリングが行われた後,液体チョコレートは型に充填され,冷却により固化される.冷却によりチョコレート中のココアバターが適切に( $\beta V$ 型に)結晶化すると,チョコレートは十分に収縮し,簡単に脱型することができる.



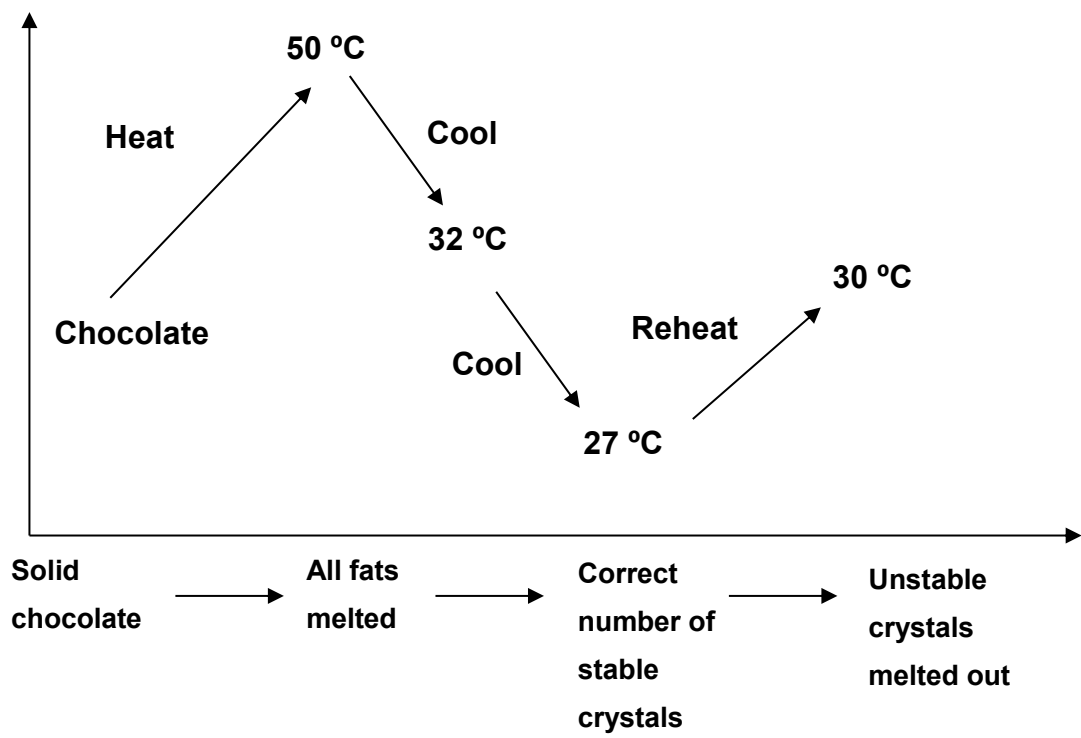


Fig. 1-6 Tempering sequence during fat crystallization in chocolate<sup>11)</sup>.

### 1.3 チョコレートのブルーム

一般的な用語としての「ブルーム」は、製造または保存での過失によって引き起こされるチョコレート表面の外観不良を定義するために使用されている<sup>40)</sup>。ブルームは、チョコレートの貯蔵寿命に影響を与える主要な問題の一つとして認識されている<sup>41)</sup>。ブルームは、チョコレート製品の種類、それが作られた加工条件およびその後の保存条件によって、さまざまな形態をとりうる<sup>20)</sup>。

#### 1.3.1 ファットブルーム

ファットブルームはチョコレート製品の主要な品質欠陥の一つである。この物理現象は、製造工程や保存中に主にチョコレート中のココアバター<sup>42)</sup>の構造変化によって生じる現象である。望ましくない白っぽい色または粉末状の表面の外観として現れ、味や外観などのチョコレートの官能特性に影響しチョコレートを消費者に受け入れられないものにさせるため、チョコレート製造者にとって非常に重要な問題である。チョコレート製品中のファットブルームは何十年にもわたって研究されており、さまざまなタイプのファットブルームが報告されている<sup>29,42-45)</sup>。そこには様々な関連要因が存在しており、いくつかの仮説が提案されているが、まだ完全な理解が得られていない部分が多く存在している<sup>20)</sup>。そのため、ファットブルーム現象のさらなる研究が不可欠である。この問題をより深く理解することは、チョコレート製品の保護と設計の両面で非常に価値のあることである。どのようにしてファットブルームが生じるのか、そしてそれがチョコレートの品質にどのように影響するのかを根本的に理解することで、研究者や食品メーカーは加工や保存条件を最適化し、適切な原料を選択することができるようになる。

#### 1.3.2 シュガーブルーム

ファットブルームの他に、シュガーブルームと呼ばれるブルームが存在する。シュガーブルームは一般的にチョコレート表面での糖の再結晶化が原因である<sup>46)</sup>。製造時の冷却温度や保存温度が不適切な場合、例えば寒すぎると、周囲の空気中の水分がチョコレート表面に結露することがある<sup>20)</sup>。結露した水分が糖を溶かし、その水分が蒸発すると糖の結晶が再結晶化する<sup>47)</sup>。チョコレートの表面に糖の結晶が付着すると、ファットブルームに似た白

っぽい外観になる<sup>8)</sup>。シュガーブルームは水やエタノールの移行に関連しており、冷却温度や保存温度、環境湿度、またはチョコレート製品の含水率を下げることで防ぐことができる。

## 1.4 ファットブルームの形成と影響を与える要因

### 1.4.1 ファットブルームの原因

ファットブルームはチョコレートの油脂相に直接関連しており、様々な異なる形態を持つ。それは表面の現象だけではなく、チョコレート全体で発生しているとされる<sup>41)</sup>。ファットブルーム形成のメカニズムは複雑であり多くの場合多様である。そのため、それらの要因を過不足なく網羅して分類することは困難であるが、ファットブルームの原因として、例えば以下の5つの事項が挙げられる<sup>20)</sup>。

#### 1) アンダーテンパリング/ $\beta$ V型種結晶の不足・消失

テンパリングに失敗すると $\beta$ V型の結晶の形成が不十分になり、チョコレートは結晶化後、不安定多形を形成する<sup>48)</sup>。この状態のチョコレートは、非テンパリング状態あるいはアンダーテンパー状態となっている。テンパリングが行われていない場合や固形チョコレートが高温で完全に融け、その後V型結晶核が存在しない状態で再結晶が行われた場合には、チョコレートは非テンパリング状態となる<sup>49)</sup>。この場合、冷却中に $\beta$ V型結晶核は存在せず、そのためゆっくりとした核形成が生じるが、結晶化の過程では不安定多形結晶が多く生じる。アンダーテンパーチョコレートは、 $\beta$ V型結晶核は存在するものの冷却時に良好な結晶化を保証するのに十分な濃度ではない場合に形成される<sup>15)</sup>。結晶化プロセスにも時間がかかり、その間に不安定な多形のココアバターが出現する。非テンパリングチョコレートやアンダーテンパーチョコレートは、短期間の保存後、ファットブルーム形成によって望ましくない鈍い茶色の塊になる<sup>32)</sup>。食感は悪く（パキッとしない）、粉っぽくざらざらした口当たりまたはテクスチャーを有している。

#### 2) オーバーテンパリング

オーバーテンパーチョコレートは、 $\beta$ V型の結晶核の濃度が高すぎてテンパリングがうまくいかない場合に生成される<sup>40)</sup>。これは、テンパリング時間が長すぎることや添加する結晶核の量が多すぎることに起因する。種となる結晶核が多すぎたり大きすぎたりすると、チョコレートの冷却固化中にブルームが発生する。このブルームはチョコレートの固化後に最大となり、時間の経過とともに変化することはない（ただし、どのようなチョコレートで

も後述の別の原因により時間の経過とともにブルームが発生することもある)。このブルームは粗大なココアバター結晶の形成の結果として引き起こされる光の散乱が原因であるとされ、表面の純粋な油脂結晶の存在によるものではない。テンパリング工程で形成された多数の粗大なココアバター結晶は、冷却固化中、その周辺の液体油脂を枯渇させ、亀裂や隙間のある粗い表面を形成する。入射光はこの粗い表面で（隙間と大きな結晶のために）散乱され、鈍く、白っぽい外観となる<sup>20)</sup>。

### 3) 保存による劣化

良好にテンパリングされたチョコレート製品において、保存中の劣化によって生じるファットブルームは、最も頻繁に報告されているブルームの形態であり、貯蔵ブルームと呼ばれることもある。目視では、針状またはフレーク状の小さな油脂結晶（5 μm 以上）の成長によりチョコレート表面に白っぽい霧がかかった状態で現れる<sup>20)</sup>。一般的に、貯蔵温度が低いほどブルームのリスクは低い。Cebula と Ziegleder<sup>50)</sup>は、18°C以下の低温で保存すると、チョコレートの貯蔵ブルームが1年以上抑制されることを報告している。ただし、保存温度が低くても1年以上経過するとチョコレートは灰色がかったくすんだ外観を呈し、ブルームが発生する可能性がある。ココアバターのβV型結晶の融点以下の温度範囲である18~30°Cの中温領域では、温度が高くなるほどこのブルームは早く発生する<sup>20)</sup>。一方、βV型結晶の融点を超える温度で保存した場合は、ココアバターの融解が生じ、異なる外観のファットブルームを形成する。

### 4) 不適切な温度条件下での保存

温度の変動は、ブルーム誘導時間を短くし、ブルーム形成率を高めることがよく知られており、小さな温度変化でもブルーム形成速度が増加する<sup>20,40)</sup>。ブルーム研究の分野では、ブルーム形成速度を加速するために温度サイクルがよく使用される。温度サイクルではチョコレートは高温と低温に交互にさらされるが、時間と温度のパラメーターは研究者によって異なる。低温は15~21°Cで、高温は25~32-38°Cでの報告があり、これらの温度での保持時間は6時間から24時間の間と様々である<sup>37,46,51-65)</sup>。これらの時間と温度のパラメーターは経験的に決定されているが、ココアバターの融解の影響を避けるためには、高温は

32°C以下で設定されるのが望ましい<sup>20)</sup>。各パラメーターの影響を明らかにした研究はなく、温度サイクルを用いたブルーム試験は未だ標準化されていない。

ココアバターが融解が始まる程度の高い温度条件下では、ファットブルームは急速に形成される。Hodge ら<sup>66)</sup>は原子間力顕微鏡を用いて、ミルクチョコレートの表面の粗さが温度サイクル中に増加することを発見した。彼らは、チョコレートを20°Cと32°C、33°Cまたは34°Cの間で24時間ごとに循環させたが、20°Cから32°Cのサイクル温度では、表面の粗さは目視で検出可能なブルームを引き起こさなかった。一方で、Kinta ら<sup>67)</sup>は、同様の温度サイクル条件下でダークチョコレートに広範囲にブルームが形成されたことを報告している。32-34°C以上の高温まで温度が上がると、ココアバターの融解が生じる。その後冷却すると、カカオバターは無秩序に結晶化し不安定な多形となる。これは、アンダーテンパーチョコレートや非テンパリングチョコレートの場合と同様に、種結晶の不足と不安定な多形の形成がブルーム形成の原因となっている。このような場合、結晶化後、比較的すぐに白い斑点状のブルームが見られる<sup>20)</sup>。

##### 5) 相溶性の低い油脂の移行

ファットブルームは、相溶性の低い油脂の存在により誘発されうる<sup>20)</sup>。これは2つの種類に分類することができる。1つ目はコンパウンドコーティング中の相溶性の低い油脂、2つ目はフィリングチョコレート中の液油の移行である。ココアバターの代替として使用される相溶性の低い油脂がココアバターに混合されると油脂は互いに分離する傾向があり、これはチョコレート表面のファットブルーム形成につながる<sup>68)</sup>。さらに、油脂混合物の液体油脂含有率(LFC: Liquid Fat Content)は、各々単体の油脂のLFCよりも高くなる<sup>42)</sup>。相溶性の低い油脂の移行は、チョコレートシェルがナッツペーストまたはフィリングチョコレートなどと直接接触している複合チョコレートにおいても一般的に見られる。このような複合チョコレートでは、フィリングからの「異質な」油脂(すなわち、相溶性の低い油脂)がチョコレートシェルに移行し、ココアバターがチョコレートからフィリングに拡散する。このような油脂移行プロセスは、油脂の溶解と製品の物理的特性の変化を伴い、チョコレートシェルの望ましくない軟化とフィリングの硬化を誘発する<sup>69-72)</sup>。

## 1.4.2 ファットブルーム形成のメカニズム

前節では、5つの異なるファットブルームの原因を紹介したが、その中には実際の状況では共存している可能性があるものもある。ココアバターは熱に敏感であり、チョコレート製品の組成は非常に複雑である。そのため、ファットブルームのプロセスの特徴を明らかにし、各タイプのブルームの根本的なメカニズムを理解することは困難である。実際、ほとんどのファットブルーム形成の正確なメカニズムはまだ完全には解明されていないが、以下のような理論で説明されている<sup>20,29)</sup>。

### 1) 多形転移

ココアバターは多形性を示し、結晶はより低いギブスエネルギーを持つ状態に向かう性質を持つ<sup>73,74)</sup>。このため、チョコレートにおいて、ココアバターの安定な多形を持つものがより安定でないものを犠牲にして成長し多形転移が生じる<sup>75)</sup>。多形転移には、一般的に固相転移と融液（溶液）媒介転移がある<sup>76,77)</sup>。固相転移は液化せずに直接的に起こる。液体媒介に比べて高い活性化エネルギーを必要とするため、比較的ゆっくりとしたプロセスである<sup>78)</sup>。液体を媒介とした転移は溶液相を介して起こる。これは結晶の「熟成」と同様である。Sato<sup>78)</sup>は融液媒介型、溶液媒介型の液体に関連した転移について報告している。融液媒介は、安定性の低い多形の融解によって起こるのに対し、溶液媒介は多形間の溶解度の差に基づくものである。温度の変動によりこの2つのプロセスは促進される。ココアバターの多形転移は、ファットブルーム形成のメカニズムを説明する主要なメカニズムの一つとして認識されている<sup>20)</sup>。

### βV型 → βVI型転移

多くの研究者は、適切にテンパリングされたチョコレートがファットブルーム形成を引き起こす原因はココアバターのβV型からβVI型へ転移することによるものであると考えている<sup>79,80)</sup>。この理論は、多くの事例でβVI型のココアバターがブルームしたチョコレートにおいて見出されたという事実に基づいており<sup>22,81)</sup>、これはファットブルーム形成がココアバターの多形転移に強く関連していることを示唆している。βVI型のココアバターは、より高い融点を有しており、これがブルームチョコレートの喫食時に経験されるドライな

口当たりとボソボソとした食感をもたらしている<sup>23)</sup>。しかし、幾名かの研究者<sup>75, 82)</sup>が指摘しているように、 $\beta V \rightarrow \beta VI$  転移がブルーム形成の直接的な原因なのか、それともココアバターの再結晶化の一側面に過ぎないのかはまだ不明である。表面のブルームが視覚的に現れるためには、転移による結晶の成長（サイズの変化）がもたらされなければならない<sup>77)</sup>。Bricknell ら<sup>83)</sup>は、チョコレートに目に見えるファットブルームが現れることなく  $\beta V \rightarrow \beta VI$  転移が生じることを発見したため、多形転移自体が目に見えるブルームを必ずしももたらさない可能性があると主張している。

#### IV 型 $\rightarrow$ $\beta V$ 型転移

Sato ら<sup>77)</sup>は、ファットブルームの原因となる結晶転移はココアバターの  $\beta V$  から  $\beta VI$  に限らず、不安定結晶から  $\beta V$  への転移の場合もあり、特定の結晶転移に依存するものではない、と述べている。IV 型のココアバターから  $\beta V$  型への転移は非（アンダー）テンパリングチョコレートでのファットブルーム形成の説明によく使用される<sup>40, 44, 48)</sup>。Afoakwa ら<sup>12)</sup>は熱分析を用いて、非テンパリングチョコレートのブルーム形成における  $IV \rightarrow \beta V$  多形転移を報告している。同様に、Zhao ら<sup>84)</sup>は X 線回折を用いて非テンパリングモデルチョコレートのブルーム形成における  $IV \rightarrow \beta V$  多形転移を報告している。

#### 2) 固相+液相を介した結晶の分離

適切にテンパリングされたチョコレートが 18°C 以下で保存されている場合、多形転移とブルーム形成の速度はともに遅くなる。しかし、チョコレートが高温や温度サイクル条件下で保存されている場合、ファットブルームの発生は加速される。

#### 温度による密度変化

ココアバターの密度は 15°C で 0.96-0.99 g/cm<sup>3</sup> であるが、30°C では約 0.915 g/cm<sup>3</sup> まで低下する<sup>8, 83)</sup>。これは、ココアバターの膨張効果もしくは部分的な融解によるものである。つまり温度サイクルにより周囲の温度が変動するとき、密度変化が起こる<sup>83, 85, 86)</sup>。ココアバターの溶融または再結晶化は体積変化を引き起こし、これは液状油の移行の駆動力として圧力駆動流を誘導する。これは「ポンピング」作用とも呼ばれる<sup>48)</sup>。温度が上昇すると、固体



脂は液相に溶けたり融解したりして体積膨張を起こし、内部の液状油脂を表面へと押しやる。温度が低下すると、油脂結晶相が冷却により収縮し、液状油脂の一部はチョコレートの中に引き戻されるが、一部は部分的に表面で結晶化する。

### 温度を介した相分離

相分離理論は、チョコレート表面の高融点（一価不飽和）TAG の再結晶化がブルーム形成の原因であるという Adenier らの研究<sup>82)</sup>に基づいている。液状油脂の表面への移動は、高融点 TAG が低融点（多価不飽和）TAG に溶解して、温度変動によって駆動力としての「ポンピング」作用や毛細管効果などの流体力学的変化が起こることで開始されるという仮説が立てられた<sup>20,51,87)</sup>。温度が低下すると、移行した油脂中の高融点 TAG の溶解度が低下し、その結果、高融点 TAG は表面で再結晶化する。温度が介在する密度変化は、このプロセスの一部である可能性がある。

### 3) 拡散

#### プレーンチョコレート中の拡散

拡散はもともとチョコレート中の濃度差によって起こると考えられていた<sup>80)</sup>。しかし、多形転移の節で述べたように、液体を媒介とした多形転移は多形間での拡散過程を伴う。Afoakwa ら<sup>15)</sup>はまた、テンパリングされていないダークチョコレートでは、油脂の再分配が毛細管作用によって開始され、拡散によって促進される可能性があることにも言及している。現在では、チョコレート中の拡散が局所的な濃度の TAG 勾配から生じ、TAG の再分配を引き起こすことが広く受け入れられている<sup>77)</sup>。

#### フィリングチョコレート中の拡散

フィリングチョコレートにおけるファットブルーム形成は、主にフィリングやナッツなどからチョコレートシェルへ油脂が移行することに起因する<sup>70)</sup>。拡散現象は、フィリングチョコレートにおいて広く研究され、議論されてきた。これまでのところ、フィリングチョコレートにおいて、拡散<sup>88)</sup>のメカニズムは TAG の濃度勾配<sup>35,83,89)</sup>が有力であると考えられている。フィリングから移行した油脂は、チョコレートシェルを介して拡散する際にココア

バターの溶媒として作用し、1.4.1 節で述べたようにチョコレートの特性を変化させる可能性がある。さらに、相間の油の移動には、プレーンチョコレートには存在しない物質移動機構が関与している<sup>77)</sup>。したがって、ココアバター中の移行分子の存在は、チョコレートに相変化または構造変化を引き起こす可能性があり、それはココアバターを介した油脂の拡散速度に影響を与えうる<sup>90,91)</sup>。

### 1.4.3 ブルーム形成に影響を与える要因

チョコレートの組成、微細構造および保存条件などの様々な要素がファットブルーム形成に影響を与える。

#### 1) 組成（ブルーム阻害剤）

チョコレートのブルーム形成を遅らせる組成因子については、いくつかの研究が行われている<sup>92,93)</sup>。特定の油脂、例えばココアバターの高融点画分、特定の TAG、または植物性油脂の特定の画分を添加することで効果が確認されている<sup>93)</sup>。ブルーム形成の阻害は、主に油脂の LFC、融点および多形転移に作用することによる。油脂成分の他に、各種乳化剤およびその他微量成分の添加によるブルーム形成阻害効果も数多く報告されている<sup>94,95)</sup>。また、上記のような成分の添加とは別に、大豆レシチンおよび乳脂のような一般的に配合される成分もまた、抗ブルーム効果を有するとされる。

砂糖の表面を被覆する大豆レシチンは、水分の侵入からチョコレートを保護することができる<sup>96)</sup>。レシチンはまた、結晶化の誘導時間を短縮するか、種結晶がない場合の核形成部位として作用することで、脂肪の結晶化に影響を与えることができる結晶修飾剤としても作用する<sup>97)</sup>。保存中、レシチンは、液体を媒介とした多形転移の過程で TAG 分子の移動度を制御することにより、多形転移を遅らせる<sup>94)</sup>。さらに、乳化剤として、大豆レシチンは、ブルーム形成中の液状油脂の動きを調節し、ブルーム形成の速度を変化させる<sup>96)</sup>。

乳脂の抗ブルーム効果は以前からよく知られている<sup>11,98)</sup>。この効果に関連する論文の数は非常に多い。長年にわたり、乳脂の抗ブルーム特性を理解し応用しようとする研究が試みられてきた。ダークチョコレートに対して 1~2%の乳脂を添加すると、ブルーム生成を遅延させることができる<sup>7)</sup>。また、乳脂そのものよりも乳脂の高融点画分の方が、ブルーム抑制

効果が高い<sup>51)</sup>。ただし、乳脂の高融点画分がブルームを阻害するとしても、関与する成分やメカニズムは不明である<sup>7)</sup>。乳脂がどのようにブルームを阻害するかに関しては、多くの説がある。乳脂がココアバターと共に結晶化し、乳脂に特徴的なトリグリセライドがココアバターの $\beta V$ 型から $\beta VI$ 型への転移を阻害、または遅延させるとの説がある<sup>29)</sup>。乳脂の存在によってチョコレートが緩慢に結晶化すると、微細な亀裂が生じにくくなるとの考えもある<sup>7)</sup>。Tietz と Hartel<sup>59)</sup>や Wright ら<sup>99)</sup>は、乳脂中の微量脂質成分がチョコレート中のココアバターと乳脂の結晶化に影響すること、そして微量脂質成分がココアバター結晶構造へ影響を与えることでブルーム生成を阻害するとしている。

## 2) 微細構造

食品の微細構造は、レオロジー的な挙動だけでなく、構造内での物質の輸送特性やテクスチャー特性にも大きく影響を与える。食品中の動的変化の大部分は、100  $\mu\text{m}$  未満のスケールで発生しており<sup>100)</sup>、チョコレート中のファットブルームもそのような現象の一つである。

微細構造の観点から、チョコレートは連続的なココアバターマトリックスに埋め込まれた無脂固形粒子の懸濁液と捉えることができる (Fig. 1-1)。ファットブルームの発生とチョコレートの微細構造を結びつけることの重要性を研究者たちは強調している<sup>48, 70)</sup>。例えば、微細構造は液状油の移行に対する抵抗力に影響を与える可能性がある<sup>48, 97, 100)</sup>。

## 3) 油脂ネットワーク

油脂ネットワークの性質は、組成、加工履歴および保存条件に大きく依存しており、これらはすべて、LFC、ココアバターの結晶サイズおよび多形などのブルーム関連因子に影響を及ぼしうる<sup>77)</sup>。

チョコレートの油脂移動は油相中で起こるため、油脂中の LFC はファットブルーム形成の要であり、初期 LFC と温度変化に伴う LFC の変化の両方が重要である。初期 LFC は、プレーンチョコレートのブルームのレベルと正の相関があることが判明しており<sup>87)</sup>、Afoakwa ら<sup>15)</sup>は、同じ温度条件下では、LFC が高いチョコレートの方がより顕著なブルームを形成したと述べている。LFC は温度に依存する。例えば、Beckett<sup>24)</sup>は、20°C から 29°C への温度上昇により、ココアバターの LFC が約 20% から 35% に上昇したことを示した。

油脂ネットワークのナノ構造は、フィリングチョコレートにおけるブルーム形成に影響を与えることが示されている。Maleky ら<sup>101)</sup>は、チョコレート中のオイルの移動に対するナノスケールの効果を研究し、「クリーム」層からの液体 TAG が 20°C でココアバター層を通過して拡散すると、ココアバター中のオイルの拡散性が減少し、油脂ナノ粒子が小さくなることを発見した。

#### 4) 粒子のサイズと形態

組成の違いに加えて、チョコレート中に含まれる粒子のサイズと形態性質も、ブルーム形成の速度論に関わる大きな要素である。

#### 粒子サイズ

市販のチョコレートに含まれる無脂固形粒子のサイズ範囲は一般的に約 15~30 $\mu\text{m}$  である<sup>11)</sup>。Aguilera ら<sup>88)</sup>は、チョコレートマトリックス中の液油の移動について、2つのレベルの毛細管を提案した。粒子間チャンネルと油脂結晶間の経路である。プレーンチョコレートでは、液体脂肪の移動に対する抵抗が少ない粒子間チャンネルが支配的な役割を果たしていると考えられるが、ナノスケールでの脂肪結晶間の経路は役割が限られる可能性がある。粒子間チャンネルの大きさは、無脂固形粒子の比率と粒子径分布によって決定される。Afoakwa ら<sup>102)</sup>は、高分解能偏光顕微鏡を用いて、予熱したガラススライド上の溶融ダークチョコレートの微細構造を観察した。チョコレートの微細構造は、サイズの小さい粒子ほど凝集し、粒子数が多くなり、粒子間の相互作用が増加した<sup>102,103)</sup>。Afoakwa ら<sup>12)</sup>はまた、小さな粒子サイズでは、アンダーテンパーのダークチョコレートではブルーム発生速度が遅いことを報告しているが、Altimiras ら<sup>83)</sup>は、砂糖をベースにしたチョコレートモデルを使用して、その逆の現象を見出している。したがって、ブルーム形成に対する粒子径の影響は不明なままである。

#### 粒子の形態

Bricknell ら<sup>51)</sup>は、結晶糖を配合したダークチョコレートではブルームの形成を観察したが、同じ保存条件で非晶糖を配合したチョコレートではブルームの形成は観察されなかつ

たと報告している。このブルーム形成の違いは、砂糖とレシチンの相互作用の違いによるものか、粒子の形態の違いによるものであると説明されている。その後、Liang ら<sup>93)</sup> は乳成分の異なるミルクチョコレートのブルーム形成を調査し、全粉乳をスプレードライまたはローラードライしたミルクチョコレートは、スプレードライ脱脂粉乳と無水乳脂肪を組み合わせたミルクチョコレートよりもブルーム耐性が低いことを発見した。遊離乳脂肪量の影響が少ないことから、乳粒子の性質がファットブルーム形成と大きく関係することが提唱されている。

## 5) 保存温度

先述の通り、チョコレートが適切にテンパリングされていても保存中にファットブルームが形成されるが、ブルーム形成のプロセスは温度およびその変動に依存する。一定の保存温度を用いた研究もあるが<sup>50, 52, 104-106)</sup>、多くの研究では温度サイクル下で保存することでブルーム形成を促進している<sup>20, 51, 83, 107, 108)</sup>。

チョコレートの保存温度は Lonchamp<sup>t</sup> らによって 18°C以下、18-30°C、32-34°Cの3つの温度範囲に分類されている<sup>20)</sup>。チョコレートを低温(18°C以下)で保存することで、数ヶ月から数年にわたってブルームを防ぐことができた。多くのファットブルーム研究においては、ブルーム形成を促進するために18~30°Cといった比較的高い温度での保存条件が使用される。チョコレート中の結晶は、32°C~34°Cを超える温度で熔融し冷却されると、テンパリングされていない(またはアンダーテンパーの)チョコレートに似た状態で油脂が結晶化するとされる。さらに、保存温度が高くなると油脂中のLFCが増加するため、ブルームの発生が促進され、毛細管移動、多形変態、または油の拡散に関連した脂肪の移動速度が変化する可能性がある<sup>68)</sup>。

先にも述べた通り、ブルームを促進する方法として、保存温度を低温と高温の間で循環させる方法があり、16~38°Cの範囲内で3~24時間ごとの循環条件が多く用いられている<sup>20, 37, 51, 87)</sup>。わずかな温度変化(例えば3°C)でもチョコレート表面の構造に影響を与える<sup>109)</sup>。温度変動は、温度が媒介する密度変化や相分離と密接に関係しており、それらの現象がブルーム形成を加速させる可能性がある。

## 1.5 ファットブルームの形態学的分類

これまで述べてきた多様なファットブルームについて、近年、Kinta らはその形態に応じた3つのタイプへの分類を提唱している<sup>43,110)</sup>。

### タイプ1

タイプ1は、いわゆる従来から広く受け入れられてきたタイプである。チョコレートの表面で油脂結晶が分離した形態であり、全体にぼんやりと白っぽい外観として現れる (Fig. 1-7a)。分離した油脂の結晶は針状、薄板状あるいは葉片状を示す。この形態のファットブルームは、ココアバターを融点を上回らない温度範囲で長期間保存したチョコレートやコンビネーションチョコレート (センターにフィリングやナッツなどを含む) において観察される。チョコレートでは、保存温度が高いほどファットブルームが早く発生するが、18 °C以下の温度条件では1年以上ブルームの発生を防止することができる<sup>50)</sup>。コンビネーションチョコレートの場合、主にセンター部分の液油がチョコレートに移行することで発生する<sup>20, 48, 111)</sup>。発生しやすい温度条件は、製品ごとに異なる。表面で分離した油脂結晶のサイズが10 μm程度<sup>82)</sup>になると、この分離した油脂が光を散乱させ、あるいは分離した油脂そのものが白いせいで、ブルームは白っぽく見える。チョコレート表面に分離した油脂自体の結晶型はβVIであるとの報告がある<sup>112)</sup>。この形態のファットブルームはこれまで多くの報告があり、発生頻度が高く、形態的にも区別しやすいため、広く受け入れられているタイプである。

### タイプ2

タイプ1が全体にぼんやりと白っぽいのに近いのに対し、タイプ2は、濃い茶色部分とそれよりも色の薄い茶色をしている部分がまだらに混在している形態を持つ場合が多い<sup>36, 49)</sup>。この濃い茶色部分は多くの場合球状の形態をしており、薄茶色部分はその隙間を埋めるように存在している。(Fig. 1-7b, c, d)。この濃い茶色部分のココアバターはβV型であるとの報告がある<sup>39)</sup>。薄茶色部分では明らかに濃い茶色部分に比べて油脂含量が低くなっており<sup>40)</sup>、このことが白っぽく見える原因となっている。このタイプでは表面に分離した針状などの油脂結晶は見られない。このタイプは、結晶核のない状態、例えばココアバターが溶けるような高温 (>32~34°C) にチョコレートがさらされた後に固化した場合、またはテン

パリング工程を経ない場合やテンパリングが不十分で  $\beta$  結晶核含有量が不足しているような場合に発生する<sup>20)</sup>。Kinta ら<sup>43,110)</sup>はこのブルームの発生機構について、まばらに形成された限られた  $\beta$  結晶核の周りに油脂結晶が成長することによるとしている。この結晶成長は体積の減少を伴う一方で、残りの周囲のマトリックス相の油脂含有量は低下し、薄茶色に変わる。薄茶色部分の中にできる球状の濃い茶色部分の大きさやファットブルームが発現するまでの時間は、中心となる  $\beta$  結晶核の数が影響する。結晶核の数が少ないほど球状部分は大きく成長し、結晶核の数が多いほど小さくなる<sup>36)</sup>。ココアバター結晶が完全に融解消滅した場合、温度低下により時間をかけてまばらに  $\beta$  結晶核が生成された後にその  $\beta$  結晶核を中心とした周りの油脂の結晶化とそれに伴う周囲の油脂含有量の減少が生じ、ブルームが発現する。一方、テンパリング不足など  $\beta$  結晶核がすでに存在している状態から発生する場合は、核形成が不要な上に  $\beta$  結晶核の存在によりそれを核とした結晶化の進行速度が高く、その結果ブルームの発生は早く、濃い茶色の球状部分は小さなサイズとなる。

この形態のファットブルームについて、Afoakwa ら<sup>15)</sup> や Zhao ら<sup>84)</sup>は非テンパリングのチョコレートやモデルチョコレートを用いて熱分析および X 線回折によりブルーム発生過程で IV $\rightarrow$  $\beta$ V 多形転移が生じていることを確認しており、ブルーム発生機構における結晶多形転移の関与の可能性について述べている。

### タイプ 3

タイプ 3 は、今までほとんど報告がされてこなかったような外観特徴を持つファットブルームである<sup>67)</sup>。タイプ 3 もタイプ 2 と同様に薄茶色の領域をもつが、形態が異なり、チョコレートの表面に流線模様を形成するか (Fig. 1-7 e)、または表面を完全に覆うような外観を示す (Fig. 1-7 f)<sup>67)</sup>。タイプ 3 のブルームは、ココアバターが完全に融解するほど高温ではないが部分的に融解する温度を上限とした温度サイクルを繰り返した場合が発生例として挙げられる<sup>43,110)</sup>。タイプ 3ブルームの結晶多形は  $\beta$ VI 型であることが報告されており、これは  $\beta$ V 型の融点 (33.8°C) に近い高温 (例えば 32°C) への温度サイクルにさらされるためである<sup>22,44,67)</sup>。温度サイクルによる油脂の部分融解と再結晶化の繰り返しが行われることによって、 $\beta$ V から  $\beta$ VI へのココアバター結晶転移以外に、TAG 組成分離すなわち高融点成分と低融点成分の分離と、それらに伴う油脂結晶組織の粗大化が助長されると考えら

れる。これらにより，分離した液油が増え，冷却結晶化の際にチョコレート中心部への移動性が高くなるとともに，液油の移動によりとり残される高融点骨格の光の散乱に影響を与える微細な粗さの度合いや多孔性が高まり，薄茶色化するのではないかと Kinta らは提唱している<sup>43,110)</sup>。つまりチョコレート表面の油分が中心に向かって移動すると， $\beta$ VI 型を含む高融点マトリックスが残り，チョコレート表面は薄茶色になるとしている<sup>67)</sup>。

この形態のファットブルームについては報告が少なく，メカニズムが提唱されているものの，その発生過程での具体的な構造変化は未だ明らかにされていない。



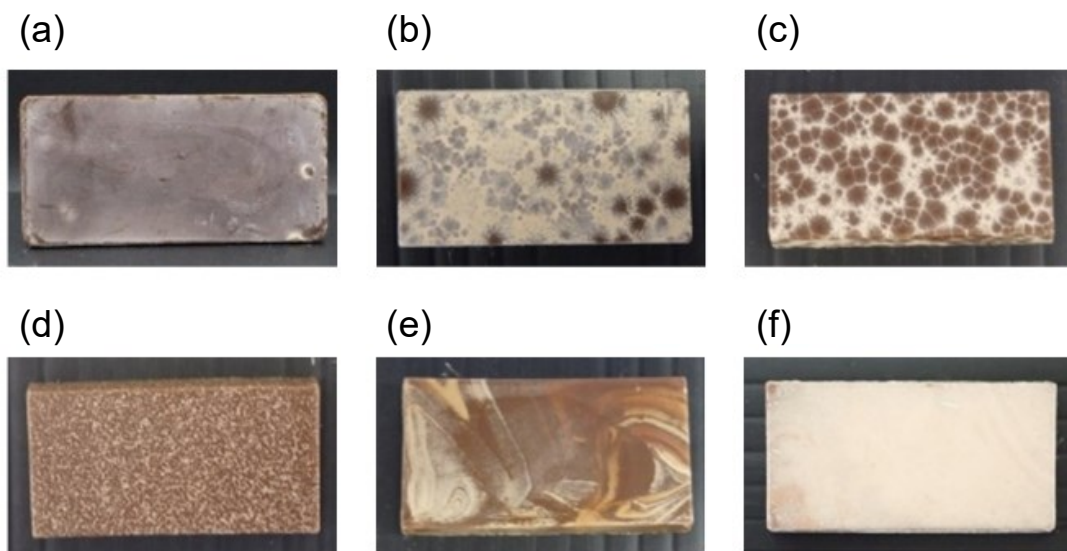


Fig. 1-7 Fat blooms in chocolate with different morphologies. (a) Fat bloom after long-term storage. (b, c, d) Fat bloom after high temperature exposure. The size of a dark brown sphere depends inversely on the number of  $\beta$  crystal nuclei. (e, f) Fat bloom after temperature-cycling storage. Various appearances can be obtained depending on the composition, temperature conditions, and storage term.

## 1.6 本研究の目的と論文構成

ここまで述べてきたように、チョコレート製造において良好な品質と保存性を担保するためにはココアバターの物理的特性を理解し制御することが求められる。特に長期保存や温度変動により TAG の物理的状态が変わって生じるファットブルームのような劣化現象は重要な課題であり、これまでも多くの研究がなされてきた。様々な温度条件の実験系を用いた研究を通じて多くの理論に基づく説明が試みられてきたが、未だに解明されている現象は限定的であり、これらの理論のみでは説明できない現象も多く残されている。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がもたらす光の回折／散乱であるが、そこには様々な関連要因が存在しており、その主要なもの全てがまだ完全に理解されているわけではない。

一方、市場背景としては、近年、流通の多様化や熱帯地域を含む海外への進出など、チョコレートをとりまく市場環境が大きく変わってきており、今まであまり着目されていなかった「耐熱温度を超える高温領域で生じるファットブルーム」が大きな課題の一つとなってきた。本論文における一連の研究の動機は、そのような高温への曝露を含む現象を研究する中で、チョコレートの表面を覆うようなブルームが発生する新たな温度条件が発見されたことにある<sup>96)</sup>。この温度処理条件下で形成されるファットブルームの外観は前述のタイプ3と同様であったが、温度サイクルや $\beta$ VI型への多形転移を伴わず、またごく短時間（数時間以内）の温度処理で真っ白なブルームが発生するなど、これまでの報告にはない特徴を持ったものであった。このようなファットブルームは、35～37°Cへの加温後、25～27°Cの予備冷却を経て、さらに20°Cへ冷却されるような温度処理条件において形成された<sup>96)</sup>。従来、ファットブルーム研究の分野では、ココアバター $\beta$ V型の融点以下の一定温度や室温下での長期保管および温度サイクル、あるいは $\beta$ V型結晶の不足・消失（非テンパリングや $\beta$ V型融点を超える温度での加温処理）状態から室温などへの単純冷却により発生するファットブルームについて多くの報告がされてきたが、上記のようなココアバター $\beta$ V型の融点（33.8°C）をわずかに超える温度への加温と2段階の冷却（徐冷）によるファットブルーム形成条件に関する報告はない。このような新たな特徴を持ったファットブルームを研究対象とすることで、まだ把握しきれていないブルーム形成機構の関連要因の解明につながる可能性が期待される。そこで本研究では、この新たな温度処理条件を用いて、これまでに明

らかになっていない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。このような温度条件下で形成され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可能性が高く、その発現機構を理解することは対策を講じる上で重要な意味を持つ。

本論文の構成は以下の通りである。第 2 章では本論文で取り扱った試料および実験手法の説明を行う。第 3 章ではココアバターの融点を超える温度への加熱と 2 段階の冷却から成る系を用いて得られるファットブルームの外観と温度や時間の影響について調査した。第 4 章では第 3 章で得られたファットブルームの表面構造について詳しく調べた。第 5 章では第 3 章で用いた系をもとに温度処理条件下で結晶多形や表面構造がどのように経時的に変化していくのかを観察した。さらに、第 3 章、第 4 章の結果を踏まえ、ファットブルームの発生機構を考察した。最後に、第 6 章では本研究を総括した。

## 文 献

1. 大澤俊彦, 木村修一, 古谷野哲夫, 佐藤清隆「チョコレートの科学」, 朝倉書店, 東京 (2015)
2. Steinberg FM, Bearden MM, Keen CL (2003) Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association*, **103**(2): 215-223.
3. Matsumoto C, et al. (2015) Chocolate consumption and risk of diabetes mellitus in the physicians' health study. *American Journal of Clinical Nutrition*, **101**(2): 362-367.
4. Latham LS, Hensen ZK, Minor DS (2014) Chocolate-Guilty pleasure or healthy supplement? *Journal of Clinical Hypertension*, **16**(2): 101-106.
5. Sikand G, Kris-Etherton P, Boulos NM (2015) Impact of functional foods on prevention of cardiovascular disease and diabetes. *Current Cardiology Reports*, **17**(6).
6. 日本チョコレート・ココア協会 資料「チョコレート製品国産・輸出入・消費推移」
7. Stephen T. Beckett, Mark S. Fowler, Gregory R. Ziegler 著, 古谷野哲夫, 佐藤清隆 訳「チョコレート製造技術のすべて」, 幸書房, 東京 (2020)
8. Beckett, ST (2009) *Industrial chocolate manufacture and use 4<sup>th</sup> edition*. Chichester, UK: John Wiley & Sons.

9. Glicerina V, et al. (2016) Microstructural and rheological characteristics of dark, milk and white chocolate: A comparative study. *Journal of Food Engineering*, **169**: 165-171.
10. Beckett ST, Fowler MS, Ziegler GR (2017) (Eds.) *Beckett's industrial chocolate manufacture and use, 5<sup>th</sup> edition*. Chichester, UK: John Wiley & Sons.
11. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M (2007) Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Trends in Food Science & Technology*, **18**(6): 290-298.
12. Chaiseri S, Dimick PS (1989) Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **66**(12): 1771-1776.
13. Jahurul MHA, et al. (2013) Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *Journal of Food Engineering*, **117**(4): 467-476.
14. Bloomer S, Adlercreutz P, and Mattiasson B (1990) Triglyceride interesterification by lipases. 1. Cocoa butter equivalents from a fraction of palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **67**(8): 519-524.
15. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J (2009) Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. *Journal of Food Engineering*, **91**(4): 571-581.
16. Schenk H and Peschar R (2004) Understanding the structure of chocolate. *Radiation Physics and Chemistry*, **71**(3-4): 829-835.
17. Stephen T Beckett 著, 古谷野哲夫 訳「チョコレート カカオの知識と製造技術」, 幸書房, 東京 (2015) pp. 79-96.
18. 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」丸善出版, 東京 (2011)
19. Campos R, Ollivon M, Marangoni AG (2010) Molecular Composition Dynamics and Structure of Cocoa Butter. *Crystal Growth & Design*, **10**(1):205-217.
20. Lonchamp P, Hartel RW (2004) Fat bloom in chocolate and compound coatings. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **106**(4): 241-274.
21. Loisel C, Keller G, Lecq G, Bourgaux C, Ollivon M (1998) Phase transitions and polymorphism

- of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **75**(4): 425-439.
22. Wille R, Lutton E (1966) Polymorphism of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **43**:491-496.
  23. Smith K (2009) Ingredient Preparation: The Science of Tempering. In: G. Talbot (Eds.), *Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products* (pp. 313-343) Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
  24. Beckett ST (2000) *The science of chocolate*. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
  25. 古谷野哲夫 「チョコレート結晶学」, 日本結晶学会誌, **56** (2014) pp. 319-322
  26. Afoakwa EO (2010) *Chocolate science and technology*. York, UK: Blackwell Publishing.
  27. Glicerina V, Balestra F, Rosa MD, Romani S (2015) Effect of manufacturing process on the microstructural and rheological properties of milk chocolate. *Journal of Food Engineering*, **145**:45-50.
  28. 日本チョコレート・ココア協会 資料「チョコレートができるまで」
  29. Ralph E. Timms 著, 佐藤清隆 監修, 蜂屋巖 訳「製菓用油脂ハンドブック」, 幸書房, 東京 (2015)
  30. Bolliger S, Breitschuh B, Stranzinger M, Wangner T, Windhab EJ (1998) Comparison of precrystallization of chocolate. *Journal of Food Engineering*, **35**(3):281-297.
  31. Stapley AG, Tewkesbury H, Fryer PJ (1999) The effects of shear and temperature history on the crystallization of chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **76**(6):677-685.
  32. Debaste F, Kegelaers Y, Hamor HB, Halloin V (2008) Contribution to the modelling of chocolate tempering process. *Journal of Food Engineering*, **88**(4):568-575.
  33. Maleky F, McCarthy KL, McCarthy MJ, Marangoni AG (2012) Effect of cocoa butter structure on oil migration. *Journal of Food Science*, **77**(3): E74-E79.
  34. Winkelmeyer CB, Peyronel F, Weiss J (2016) Monitoring tempered dark chocolate using ultrasonic spectrometry. *Food and Bioprocess Technology*, **9**(10): p. 1-14.
  35. Loisel C, Lecq G, Ponchel G, Keller G, Ollivon M (1997) Fat bloom and chocolate structure studied by mercury porosimetry. *Journal of Food Science*, **62**; 781-788.
  36. Kinta Y, Hartel RW (2010) Bloom formation on poorly-tempered chocolate and effects of seed

- addition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **87**:19–27.
37. Hachiya I, Koyano T, Sato K (1989) Seeding effects on solidification behavior of cocoa butter and dark chocolate. II. Physical properties of dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **66**(12):1763-1770.
  38. Hachiya I, Koyano T, Sato K (1989) Observation of Seeding Effects on Fat Bloom of Dark Chocolate, *Food Microstructure*, **8**(2) 257-261
  39. 蜂屋巖, 広島大学生物圏科学研究科, 博士論文 (1989)
  40. Lonchamp P, Hartel RW (2006) Surface bloom on improperly tempered chocolate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**:159-168.
  41. Delbaere C, Van de Walle D, Depypere F, Gellynck X, Dewettinck K (2016) Relationship between chocolate microstructure, oil migration, and fat bloom in filled chocolates. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **118**:1800-1826.
  42. Widlak NR, Hartel RW (2012) Causes and Best Manufacturing Practice to Minimize Bloom in Confections. In N. Garti & N. Widlak (eds), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 195–212). Urbana, IL: AOCS Press.
  43. Kinta Y, Hatta T (2012) Morphology of chocolate fat bloom. In: N. Garti & N. Widlak (eds), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 195–212). Urbana, IL: AOCS Press.
  44. Sato K, Koyano T (2001) Crystallization properties of cocoa butter. In: Garti N, Sato K (Eds.) *Crystallization processes in fats and lipid systems*. (pp. 429–456) New York, USA: Marcel Dekker.
  45. Kalnin D (2012) Methods of Studying Cocoa Butter and Bloom. In: N. Garti & N. Widlak (eds), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 307–337). Urbana, IL: AOCS Press.
  46. Cerbulis J (1969) The effect of various substances on the blooming of chocolate. *International Journal of Food Science & Technology*. **4**(2):133-140.
  47. Stortz TA, Marangoni AG (2011) Heat resistant chocolate. *Trends in Food Science & Technology*. **22**(5):201-214.
  48. Hartel RW (1999) Chocolate: fat bloom during storage. *Manufacturing Confectioner*, **79**(5):89–99.
  49. Kinta Y, Hatta T (2005) Composition and structure of fat bloom in untempered chocolate. *Journal*

- of Food Science*, **70**:S450–S452.
50. Cebula DJ, Ziegleder G (1993) Studies of Bloom Formation Using X-Ray Diffraction from Chocolates after Long-Term Storage. *Lipid / Fett*, **95**(9):340-343.
  51. Bricknell J, Hartel RW. (1998) Relation of fat bloom in chocolate to polymorphic transition of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **75**:1609-1615.
  52. Ali A, Selamat F, Che Man YB, Suria AM (2001) Effect of storage temperature on texture, polymorphic structure, bloom formation and sensory attributes of filled dark chocolate. *Food Chemistry*, **72**(4):491-497.
  53. Hachiya I, Koyano T, Sato K (1989) Seeding effects on Crystallization Behavior of Cocoa Butter. *Agricultural and Biological Chemistry*, **53**(2):327-332.
  54. Seguire ES (1991) Tempering — the inside story. *Manufacturing Confectioner*, **71**:117-125.
  55. Sato S, Hondoh H, Ueno S (2020) Fat Bloom Caused by Partial De-Oiling on Chocolate Surfaces after High-Temperature Exposure, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Accepted for publication. Doi: <https://doi.org/10.1002/aocs.12447>
  56. Hachiya I, Koyano T, Sato K (1989) Seeding effects on solidification behavior of cocoa butter and dark chocolate. I. Kinetics of solidification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **66**(12):1757–1762.
  57. Koyano T, Hachiya I, Sato K (1990) Fat polymorphism and crystal seeding effects on fat bloom stability of dark chocolate. *Food Structure*, **9**:231–240.
  58. Lohman M, Hartel R (1994) Effect of milk fat fractions on fat bloom in dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **71**:267–275.
  59. Tietz R, Hartel R (2000) Effects of minor lipids on crystallization of milk fat – cocoa butter blends and bloom formation in chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **77**:763–771.
  60. Easton N, Kelly D, Bartron L, Cross S, Griffin W (1952) The use of modifiers in chocolate to retard fat bloom. *Food Technology*, **6**:21–25.
  61. Andersson W (1963) Fat bloom and phase changes. *Revue Internationale de la Chocolaterie*, **18**:92–98.

62. DuRoss J, Knightly W (1965) Relationship of sorbitan monostearate and polysorbate 60 to bloom resistance in properly tempered chocolate. *Manufacturing Confectioner*, **45**:50–56.
63. Campbell L, Keeney P (1968) Developments in fat bloom research on dark chocolate coatings. *Manufacturing Confectioner*, **48**:77–82.
64. Campbell L, Keeney P (1968) Temper level effects on fat bloom formation on dark chocolate coatings. *Food Technology*, **33**:1150.
65. Jana A, Thakar P (1993) Fat bloom in chocolates and confectionery coatings – a review. *Indian Food Industry Mag*, **12**:33–39.
66. Hodge SM, Rousseau D (2002) Fat bloom formation and characterization in milk chocolate observed by atomic force microscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **79**(11):1115-1121.
67. Kinta Y, Hatta T (2007) Composition, structure, and color of fat bloom due to the partial liquefaction of fat in dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **84**:107–115.
68. Timms RE (2002) Oil and fat interactions. *Manufacturing Confectioner*, **82**(6):50-64.
69. Groves R (1999) Fat migration through chocolate. *Candy Industry*, **164**(3):28.
70. Ghosh V, Ziegler GR, Anantheswaran RC (2002) Fat, moisture, and ethanol migration through chocolates and confectionary coatings. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **42**(6):583-626.
71. Dahlenborg H, Millqvist-Fureby A, Brandner BD, Bergenstahl B (2015) Effect of shell microstructure on oil migration and fat bloom development in model pralines. *Food Structure*, **5**:51-65.
72. Ziegleder G (1997) Fat migration and bloom. *Manufacturing Confectioner*, **77**:43-44.
73. Le Révérend BD, Fryer PJ, Coles S, Bakalis S (2010) A Method to Qualify and Quantify the Crystalline State of Cocoa Butter in Industrial Chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **87**(3):239-246.
74. Brittain HG (2016) *Polymorphism in pharmaceutical solids*. Boca Raton, USA: CRC Press.
75. Rao MA, Hartel RW (1998) *Phase/state transitions in foods: chemical, structural and rheological changes*: Marcel Dekker Inc.



76. Cardew P, Davey R (1985) The kinetics of solvent-mediated phase transformations. In: *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. The Royal Society.
77. Ziegler GR (2009) Product design and shelf-life issues: oil migration and fat bloom. In: Talbot G (eds) *Science and technology of enrobed and filled chocolate, confectionery and bakery products* (pp. 185-210) Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
78. Sato K (1993) Polymorphic transformations in crystal growth. *Journal of Physics D: Applied Physics*, **26**(8B): B77.
79. Timms RE (1984) Phase behaviour of fats and their mixtures. *Progress in Lipid Research*. **23**(1):1-38.
80. Choi YJ, McCarthy KL, McCarthy MJ, Kim MH (2007) Oil migration in chocolate. *Applied Magnetic Resonance*. **32**(1-2): 205-220.
81. Sonwai S, Rousseau D (2006) Structure evolution and bloom formation in tempered cocoa butter during long-term storage. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**(9):735-745.
82. Adenier H, Chaveron H, Ollivon M (1993) Mechanism of fat bloom development on chocolate, In: Charalambous G (Eds.) *Shelf Life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects*. (pp. 353–389) Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
83. Altimiras P, Pyle L, and Bouchon P (2007) Structure–fat migration relationships during storage of cocoa butter model bars: Bloom development and possible mechanisms. *Journal of Food Engineering*, **80**: 600-610.
84. Zhao H., Young AK, James BJ (2018) Effects of fat polymorphic transformation and non-fat particle size distribution on the surface changes of untempered model chocolate, based on solid cocoa mass. *Journal of Food Science*, **83**:998-1004.
85. Rousseau D (2006) On the porous mesostructure of milk chocolate viewed with atomic force microscopy. *LWT - Food Science and Technology*. **39**(8):852-860.
86. Rousseau D, Sonwai S, (2008) Influence of the dispersed particulate in chocolate on cocoa butter microstructure and fat crystal growth during storage. *Food Biophysics*. **3**(2):273–278.
87. Jin J, Hartel RW (2015) Accelerated fat bloom in chocolate model systems: Solid fat content and

- temperature fluctuation frequency. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. **92**(10):1473-1481.
88. Aguilera JM, Michel M, Mayor G (2004) Fat migration in chocolate: Diffusion or capillary flow in a particulate solid?—A hypothesis paper. *Journal of Food Science*. **69**(7):167-174.
  89. Lencki RW, Craven RJ (2013) Negative pressure induced cavity formation during cocoa butter crystallization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. **90**(10):1509-1516.
  90. Aguilera J, Stanley D (1999) Microstructure and mass transfer: solid-liquid extraction, In: Aguilera J, Stanley D (Eds.) *Microstructural principles of food processing and engineering*. (pp. 325-372) New York, USA: Springer.
  91. Aguilera JM (2000) Microstructure and food product engineering. *Food Technology*, **54**(11):56-65.
  92. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J (2008) Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates. *Journal of Food Engineering*, **87**(2):181-190.
  93. Liang B, Hartel RW (2004) Effects of milk powders in milk chocolate. *Journal of Dairy Science*, **87**(1):20-31.
  94. Aronhime J, Sarig S, Garti N (1990) Emulsifiers as additives in fats: effect on polymorphic transformations and crystal properties of fatty acids and triglycerides. *Food structure*, **9**(4):1.
  95. Garti N, Aserin A (2012) Effect of Emulsifiers on Cocoa Butter and Chocolate Rheology, Polymorphism, and Bloom. In: N. Garti & N. Widlak (eds), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 275–305). Urbana, IL: AOCS Press.
  96. Hasenhuettl GL, Hartel RW (2008) *Food emulsifiers and their applications* (2nd ed.). New York, USA: Springer.
  97. Svanberg L, Ahrné L, Lorén N, Windhab E (2011) Effect of sugar, cocoa particles and lecithin on cocoa butter crystallisation in seeded and non-seeded chocolate model systems. *Journal of Food Engineering*, **104**(1):70-80.
  98. Hartel R (1996) Applications of milk-fat fractions in confectionery products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **73**:945–953.

99. Wright AJ, Hartel RW, Narine SS, Marangoni AG (2000) The Effect of Minor Components on Milk Fat Crystallization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **77**(5):463-475.
100. Aguilera JM (2005), Why food microstructure? *Journal of Food Engineering*, **67**(1–2):3-11.
101. Maleky F, Marangoni A (2011) Nanoscale effects on oil migration through triacylglycerol polycrystalline colloidal networks. *Soft Matter*, **7**(13):6012-6024.
102. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J (2009) Microstructure and mechanical properties related to particle size distribution and composition in dark chocolate. *International Journal of Food Science & Technology*, **44**(1):111-119.
103. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J (2009) Influence of tempering and fat crystallization behaviours on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. *Food Research International*, **42**(1):200-209.
104. Dahlenborg H, Millqvist-Fureby A, Bergenståhl B (2015) Effect of particle size in chocolate shell on oil migration and fat bloom development. *Journal of Food Engineering*, **146**:172-181.
105. Miquel ME, Carli S, Couzens PJ, Wille HJ, Hall LD (2001) Kinetics of the migration of lipids in composite chocolate measured by magnetic resonance imaging. *Food Research International*, **34**(9):773-781.
106. Khan RS, Rousseau D (2006) Hazelnut oil migration in dark chocolate – kinetic, thermodynamic and structural considerations. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**(5):434-443.
107. Sonwai S, Rousseau D (2010) Controlling fat bloom formation in chocolate – Impact of milk fat on microstructure and fat phase crystallisation. *Food Chemistry*, **119**(1):286-297.
108. Quevedo R, Brown C, Bouchon P, Aguilera JM (2005) Surface roughness during storage of chocolate: Fractal analysis and possible mechanisms. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **82**(6):457-462.
109. Rousseau D (2007) The microstructure of chocolate, In: McClements DJ (Eds.) *Understanding and controlling the microstructure of complex foods*. (pp. 648-690) Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
110. 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」 日本結晶

成長学会誌 Vol. 41, No. 4 (2014) pp. 194-204

111. Seguire E (2001) Diagnosing Chocolate Bloom. *Manufacturing Confectioner*, **81**:45-50.
112. Chapman GM, Akehurst EE, Wright WB (1971) Cocoa butter and confectionery fats. Studies using programmed temperature X-ray diffraction and differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **48**:824-830.

## 第2章 本研究で用いた試料および実験装置

### 2.1 試料

#### 2.1.1 ミルクチョコレート

本研究では一般的なミルクチョコレートを研究対象とした。チョコレートは主に砂糖、ココアバター、カカオマスで構成され、ミルクチョコレートはさらに乳成分を含む。その他に、少量の乳化剤（レシチンなど）が製造中の熔融チョコレートの流動性の改善を目的として添加される。カカオマス 20.0%、砂糖 40.0%、全粉乳 20.0%、ココアバター19.5%、レシチン 0.5%を含むミルクチョコレートを、ロールレファイナー (SDY200; Bühler, Uzwil, Switzerland) による粒径 20  $\mu\text{m}$  以下への粉砕とミキサー (5DM ; Dalton, Tokyo, Japan) による 1 時間の攪拌混合（コンチング）により作製した。このミルクチョコレートを 55°C のウォーターバス (T-N22 ; トーマス化学, 東京) で熔融した後、室温の水で 30°C まで水冷にて調温し、 $\beta$  型 StOSt の結晶を含有する市販のシード剤（チョコシード A, 不二製油 (株)）を用いてシーディングした。シード剤は 30°C に調温したチョコレートに油脂含有量の 0.5% の量になるように添加した。シーディングしたミルクチョコレートをポリカーボネート製の型（およそ 38 mm $\times$ 20 mm $\times$ 8 mm）に流し込み、13°C で 1 時間冷却した。得られたチョコレートを離型し、エージングのために 20°C で少なくとも 1 週間保存した後、各実験に供した。

#### 2.1.2 無糖ミルクチョコレート

ミルクチョコレートサンプルの他に、XRD 測定時の糖結晶による回折への影響を排除するために、カカオマス 39.1%、ミルクプロテイン濃縮物 (MPC4850; Fonterra, Auckland, New Zealand) 11.5%、無水乳脂肪 (AMF) 10.3%、ココアバター38.1%、レシチン 1.0% からなる糖類を含まないチョコレートを調製した。これらの成分の組成比率は 2.1.1 のミルクチョコレート中の組成比率に基づいている。糖類を含まないチョコレートは、2.1.1 のミルクチョコレートと同じ装置を用いて同じパラメーター条件にて作製された。ウォーターバスで 55°C で融解した後、室温の水で 30°C まで水冷にて調温し、市販のシード剤（チョコシード A, 不二製油 (株)）をそれぞれの油脂含有量の 0.5% の量で添加してシーディングし、各種実験装置に合わせた形状の容器に充填して 13°C で 1 時間冷却した。サンプルは 20°C の暗

所で1週間保管しエージングされたのち、各実験に供された。

### 2.1.3 ミルクチョコレート中の油脂

ミルクチョコレートおよび無糖ミルクチョコレートサンプルに加え、XRD 測定や偏光顕微鏡観察時の糖結晶による影響を排除するために、ミルクチョコレートの組成に基づいた油脂成分のみのサンプルを用意した。油脂成分サンプルは、ミルクチョコレート中の含有比率に基づいて、84.2%のココアバター、14.4%の無水乳脂肪 (AMF)、および1.4%のレシチンで構成された。ウォーターバスで55°Cで融解した後、各サンプルを30°Cに調温し、市販のシード剤（チョコシードA、不二製油（株））をそれぞれの油脂含有量の0.5%の量で添加してシーディングした。各種実験装置に合わせた形状の容器やスライドガラスにサンプルリングし、13°Cで1時間冷却した。各サンプルは20°Cの暗所で1週間保管しエージングされたのち、各実験に供した。

## 2.2 実験装置

### 2.2.1 明視野／暗視野顕微鏡観察

顕微鏡は、2枚あるいはそれ以上の凸レンズを組み合わせて、試料を拡大観察する装置である。顕微鏡には、試料や目的によって、様々な観察方法がある。

#### 明視野観察

明視野観察はもっとも基本的な観察法で、サンプルを均一な光で照らし、透過した光を観察する方法である。視野は明るく、染色したサンプルの微細構造の観察などに適している。

#### 暗視野観察

観察試料に斜めから光を当てて散乱光を観察することにより、高コントラスト・超微細構造の観察を行う技術である。特殊なコンデンサーを使用し、対物レンズには直接照明光を入れず試料からの散乱光のみで観察できるようにしている。

### 2.2.2 デジタル顕微鏡（マイクロスコープ）観察

一般的に光学顕微鏡は接眼レンズを覗いて肉眼で観察する顕微鏡を指す。一方、マイクロスコープには接眼レンズが無く、代わりにカメラを搭載してモニターに拡大像を写し出す形式をとる。一般的な光学顕微鏡に比べ、マイクロスコープは被写界深度が深いという利点を持つ。被写界深度とは、レンズで立体物を写した際のピントが合う幅のことを指す。被写界深度が深いと凹凸のある対象物を観察してもピントが合う範囲が広く、正確に全体を観察できる利点がある。

### 2.2.3 走査型顕微鏡観察（Scanning Electron Microscopy: SEM）

走査型電子顕微鏡（SEM）は電子線を試料に当てて表面を観察する装置である。電子銃で電子源から電子線を発生させて加速させ、集束レンズと対物レンズにより加速した電子線を試料上の電子スポットとして集束し、走査コイルによりこの電子スポットを深針（プローブ）として試料上を移動させる（電子線走査）。検出器は試料の電子線照射点から発生した信号電子を検出し、信号電子の量を各点の明るさとして表示したのがSEM像である。信号

電子の発生量は表面の凹凸構造で変化するため、SEM 像には試料の表面形態が映し出される。本論文中での観察は二次電子像の観察を行った。

#### 2.2.4 X 線回折測定 (X-ray Diffraction : XRD)

X 線とは、およそ 0.05~0.25nm の波長を有する電磁波であり、大きなエネルギーを持つ。結晶に X 線を照射すると、結晶中の各原子に属する電子により X 線が散乱される。このとき、Bragg の式 ( $2d\sin\theta=n\lambda$ ) を満たす条件において、電子からの散乱が強め合う (Fig. 2-1)。ここで、 $d$  は面間隔、 $\theta$  は入射角、 $\lambda$  は波長、 $n$  は整数である。すなわち、Bragg の式を満たす面間隔  $d$  は結晶の周期的な構造を反映する。X 線回折測定には、単結晶に X 線を照射し、結晶構造を決定する単結晶 X 線回折法と、多結晶体に対して X 線を照射することで、多結晶体の有する周期的な構造を知ることができる粉末 X 線回折法がある。油脂結晶における X 線回折測定とは、ほとんどが粉末 X 線回折法を指す。これは、単結晶 X 線回折法で解析するために必要な大きさの油脂の単結晶を育成することが困難であるためである。よって、本論文における X 線回折測定とは、以下、粉末 X 線回折法のことを指す。

油脂結晶における X 線回折測定では、油脂結晶の鎖長構造と副格子構造を知ることができる。多形を決定できる X 線回折測定は、融点やエンタルピーといった熱特性を求める DSC と並んで、油脂結晶の物性を評価する上で欠かせない手法である。回折角の小角側では調面間隔 (分子の長さ) に由来する回折ピーク、広角側では短面間隔 (炭化水素鎖間の長さ) に由来する回折ピークが出現する。すなわち、小角側の回折ピークから鎖長構造、広角側の回折ピークから副格子構造が分かる。油脂の結晶多形は副格子構造から決定され、広角側に出現する回折ピーク位置と回折ピークのパターンによって結晶多形を同定する。また、鎖長構造から結晶多形を同定することはできないが、鎖長構造も結晶多形を推測する手がかりとなる。これは、多形の違いによって鎖長構造が変化する TAG が存在することと、同じ鎖長構造であっても安定多形になるほど分子の傾きが大きくなり、長面間隔が短くなるためである。

本研究の第 4 章では粉末 X 線回折装置 (RINT-UltimaIII, (株) リガク) を用いた。また、第 5 章では中低温温度制御装置を搭載した粉末 X 線回折装置 (SmartLab, (株) リガク) を用いた。測定条件は以下の通りである。



[RINT-UltimaIII 測定条件]

- |      |                                       |        |                            |
|------|---------------------------------------|--------|----------------------------|
| • X線 | Cu-K $\alpha$ 線, $\lambda = 0.154$ nm | • 測定範囲 | $2\theta = 5 \sim 40$ deg. |
| • 出力 | 1.6 kW (40 kV, 40 mA)                 | • 測定温度 | 20°C (室温)                  |

[SmartLab 測定条件]

- |      |                                       |        |  |
|------|---------------------------------------|--------|--|
| • X線 | Cu-K $\alpha$ 線, $\lambda = 0.154$ nm | • 測定範囲 | $2\theta = 18 \sim 25$ deg.                |
| • 出力 | 9.0 kW (45 kV, 200 mA)                | • 測定温度 | 36°C $\rightarrow$ 26°C $\rightarrow$ 20°C |

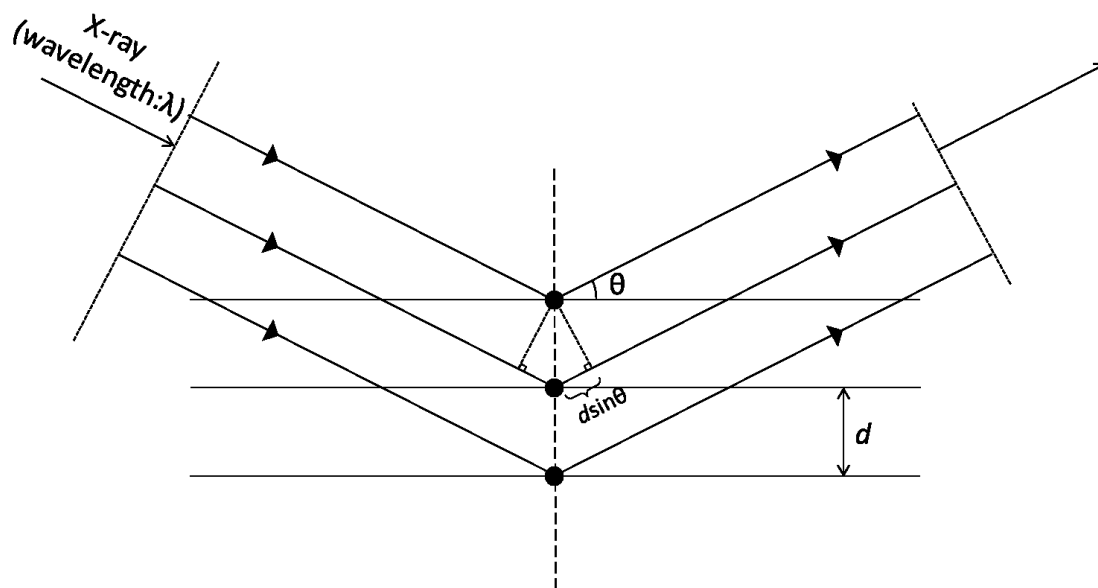


Fig. 2-1 Bragg's law

### 2.2.5 蛍光顕微鏡観察 (Fluorescence Light Microscopy: FLM)

蛍光とは、物質に外部から紫外線や X 線をあてたときに、特定の波長の光を出す現象である。物質に紫外線や X 線が照射されると、その物質の原子がそのエネルギーを吸収することによって電子が基底状態から励起状態に遷移し、その後安定を保てなくなった電子が、吸収したエネルギーを光として放出して再び基底状態に戻るのである。この性質を利用し、特殊な染色を施した試料に光をあてて試料から発せられる蛍光を観察するのが蛍光顕微鏡である。このときに照射する光のことを励起光と呼ぶ。蛍光顕微鏡は基本的には通常の生物顕微鏡に、落射蛍光照明装置を組み合わせた構成である。蛍光観察をするための標本を蛍光標本と呼ぶ。蛍光標本は細胞、染色体や生物組織の切片標本などを蛍光物質（蛍光試薬あるいは蛍光プローブと呼ぶ）で染色して作製したものである。ただし、染色するといっても目で見てわかるような色がつくわけではなく、蛍光試薬が分子単位で細胞などの特定な部位に結合している状態である。蛍光顕微鏡観察は、ある特定の部位のみを抽出して観察でき、また一般には暗い背景の中に目的物が光って見えるため検出感度が高いなどの特徴がある。

### 2.2.6 偏光顕微鏡観察 (Polarized Light Microscopy: PLM)

偏光顕微鏡は、集光レンズ系の部分にポラライザと呼ばれる偏光板（偏光子）を、対物レンズと接眼レンズの間にアナライザと呼ばれる偏光板（検光子）を備えた顕微鏡である。ポラライザは、光源から生じたあらゆる方向の光の振動を 1 つの方向（直線偏光）のみ透過させる偏光板であり、アナライザはポラライザを透過した光の振動方向に対して直交させた（90°回転した）直線偏光のみ透過させる偏光板である。なお、アナライザは 360°回転させることができるが、本研究ではポラライザに対して 90°回転させた状態（=クロスニコル）で使用した。すなわち、試料が何も存在しない場合、顕微鏡から覗いた像は真っ暗である。この真っ暗な状態において、複屈折を有する試料、つまり本研究では油脂結晶が存在する試料をポラライザとアナライザの間に置くと、一般的に結晶は白く光って観察することができる。油脂結晶は光学的に異方性のある結晶であり、光を入射させると、結晶中で振動面が直交した 2 つの屈折光に分かれる現象（複屈折）が見られる。この 2 つの屈折光はそれぞれ屈折率が異なるため、位相のずれ（位相差）が生じる。位相のずれた距離はレタレーション (R) と呼ばれ、 $R = d(n_1 - n_2)$  で表される (d: 試料の厚み,  $n_1$ : 速い光の屈折率,  $n_2$ : 遅い光

の屈折率). この位相差のある直交した2つの屈折光が再び合成されると, 直線偏光から一般的に楕円偏光あるいは円偏光へと変化する. 楕円偏光あるいは円偏光はアナライザを通過することができるため, 複屈折を有する結晶が存在する場合, 偏光顕微鏡で像として観察することができる.

## 文 献

1. 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」丸善出版, 東京 (2011) pp. 1-14.
2. Stephen T Beckett 著, 古谷野哲夫 訳「チョコレート カカオの知識と製造技術」, 幸書房, 東京 (2015) p. 79-96.
3. 栗屋裕「高分子素材の偏光顕微鏡入門」, アグネ技術センター, 東京 (2001) .
4. 野島博「顕微鏡の使い方ノート 光学顕微鏡から CCD カメラまで」, 羊土社, 東京 (1997)
5. 角戸正夫, 笹田義夫「X線回折入門 (第3版)」, 東京化学同人, 東京 (1993)
6. 山科正平, 高田邦昭「ライフサイエンス顕微鏡ハンドブック」, 朝倉書店, 東京 (2018)

## 第3章 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

#### 3.1 はじめに

チョコレートのファットブルームは、食感や外観などの感覚的な特性に影響を与える重要な問題である。この現象は、様々な温度条件にさらされた油脂結晶の構造変化により、チョコレートの粗面化した表面で光が乱反射することにより生じるとされている<sup>1)</sup>。通常の貯蔵、つまりチョコレートが融けない程度の温度での貯蔵により形成されるファットブルームは、「チョコレート表面で油脂の針状結晶が発達することで光の乱反射を引き起こし白っぽく見える」というメカニズムが提唱されており、広く受け入れられている。また、この機構に関連した表面への油脂の移行や表面での再結晶化・結晶成長に関する様々な関連メカニズムが提唱されているが、特に、ココアバターの結晶多形については、この針状結晶が  $\beta VI$  型であることが確認されていることから、 $\beta V$  型から  $\beta VI$  型に転移する際に結晶が粗大化しファットブルームが形成されるというモデルが最も広く浸透しており、多くの研究者がこの  $\beta VI$  型が主な原因であると考えている。一方で、この理論だけでは説明できないファットブルームも確認されており、未だ多くの疑問が残されている。例えば、非テンパリングチョコレートや高温にさらされたチョコレートのような  $\beta V$  型結晶の不足・消失が原因となり発生するファットブルームは、まばらに形成された少量の  $\beta$  結晶核の周りに油脂結晶が成長することにより周囲のマトリックス相の油脂含有量の低下を引き起こし薄茶色に変わるメカニズムが提唱されている。このとき  $\beta VI$  型は出現せず、 $IV \rightarrow \beta V$  多形転移が生じている。このようなことから、ファットブルームと称される現象全般に改めて目を向けると、そ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（平滑さが失われること）であると言えるが、そこには従来の理論だけでは説明できない様々な他の関連要因も存在しており、その主要なもの全てがまだ完全に理解されているわけではない。Kinta らはこれらの多様なファットブルームについて形態学的に3つのタイプへの分類を試みている<sup>2,3)</sup>。

本論文の一連の研究に先行し、チョコレートの表面を覆うようなブルームが発生する新たな温度条件が発見された<sup>4)</sup>。この温度処理条件下で形成されるファットブルームの外観は

Kinta ら<sup>2,3)</sup>の分類におけるタイプ3と同様であったが、温度サイクルや $\beta$ VI型への多形転移を伴わず、またごく短時間(数時間以内)の温度処理で真っ白なブルームが発生するなど、これまでの報告にはない特徴を持ったものであった。このようなファットブルームは、35~37°Cへの加温後、25~27°Cの予備冷却を経て、さらに20°Cへ冷却されるような温度処理条件において形成された<sup>5)</sup>。これまでココアバター $\beta$ V型の融点を超えない温度での穏やかな条件下での長期保管および温度サイクルといった保存条件下や非テンパリングチョコレートで発生するファットブルームの研究については多くの報告がなされている。しかし、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度(例えば35°C)で発生するファットブルームについては詳細な研究はほとんど行われていない。また、冷却に関してもこれまでの研究では温度サイクルや単純冷却が主であり、段階的な冷却については検討されていない。このような温度履歴を経て発生するファットブルームは日本の夏から秋にかけての暑い時期や熱帯気候の地域において実際の市場で発生する可能性が高いと考えられる。

そこで本章では、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度(35~37°C)への曝露後、2段階の徐冷によって形成されるファットブルームの形態学的特徴について把握するため、温度と時間との関係性を体系的に調べた。

## 3.2 実験試料および実験方法

### 3.2.1 試料および試料調製方法

本研究では一般的なミルクチョコレートを対象とした。チョコレートは主に砂糖、ココアバター、カカオマスで構成され、ミルクチョコレートはさらに乳成分を含む。その他に、少量の乳化剤（レシチンなど）が製造中の熔融チョコレートの流動性の改善を目的として添加される。カカオマス 20.0%、砂糖 40.0%、全粉乳 20.0%、ココアバター19.5%、レシチン 0.5%を含むミルクチョコレートを、ロールレファイナー（SDY200, Bühler, Uzwil, Switzerland）による粒径 20  $\mu\text{m}$  以下への粉碎とミキサー（5DM, (株)ダルトン）による1時間の攪拌混合（コンチング）により作製した。このミルクチョコレートを 55°Cのウォーターバス（T-N22, トーマス科学器械（株））で熔融した後、室温の水で 30°Cまで水冷にて調温し、 $\beta$  型 StOSt の結晶を含有する市販のシード剤（チョコシード A, 不二製油（株））を用いてシーディングした。シード剤は 30°C に調温したチョコレートに油脂含有量の 0.5%の量になるように添加した。シーディングしたミルクチョコレートをポリカーボネート製の型（およそ 38 mm $\times$ 20 mm $\times$ 8 mm）に流し込み、13°Cで1時間冷却した。得られたチョコレートを離型し、エイジングのために 20°Cで少なくとも1週間保存した後、さらなる実験に供した（Fig. 3-1）。

### 3.2.2 温度処理条件

プログラムエアインキュベーター（IJ300, ヤマト科学（株））を用いてファットブルームを発生させた。チョコレートサンプルはプラスチック製の板の上に載せた状態でインキュベーターの最下段中央に設置し、接地面である底面以外の上面と側面は開放状態とした。ファットブルーム発生のための温度条件は Fig. 3-2 に示す設定に従った。加熱温度（ $T_1$ ）を 35~37°Cに、予備冷却温度（ $T_2$ ）を 25~27°Cに設定し、加熱保持時間（ $t_1$ ）および予備冷却保持時間（ $t_2$ ）をそれぞれ 1~2 h に設定した。加熱・冷却速度は約 0.2°C/分とした。すべての実験において主冷却温度を 20°C に設定し、サンプル上部の表面温度をサーモレコーダー（TR-72U, (株)ティアンドデイ）で記録した。ブルームの外観の評価はチョコレートの上面の様子の目視観察により行った。観察は各温度処理直後 20°Cで1週間保存したサンプルを用いて実施した。チョコレートの調製とブルーム発生は各2回ずつ行い、再現性を確認し

た.

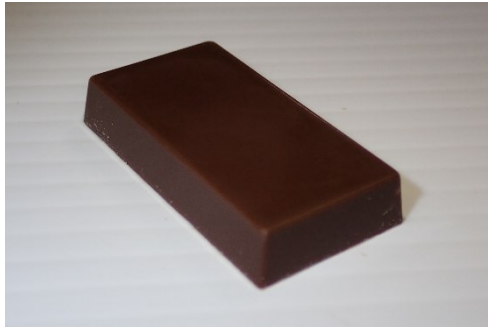


Fig. 3-1 Milk chocolate prepared for the bloom test.

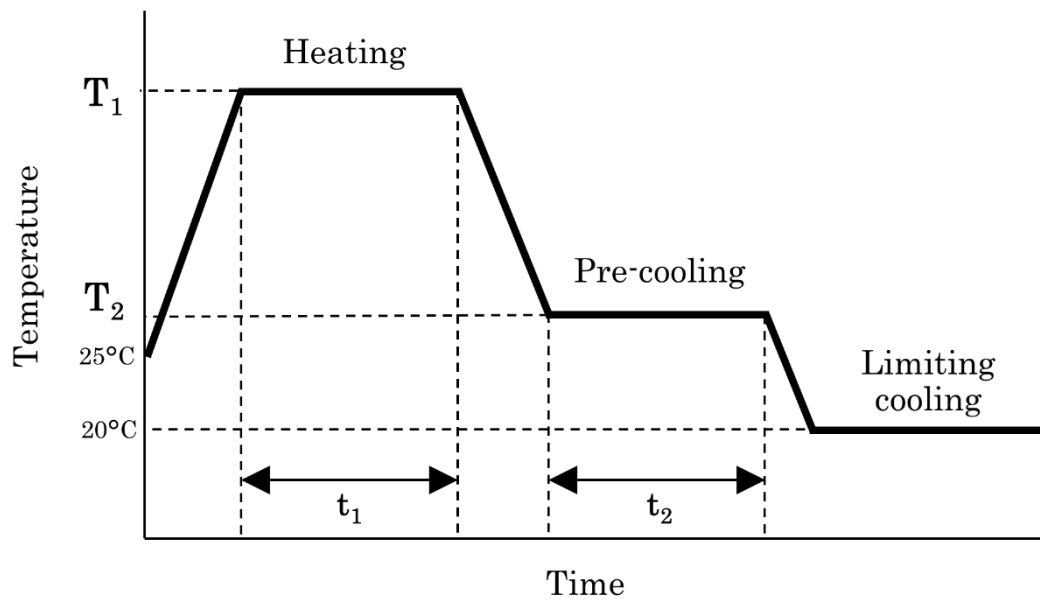


Fig. 3-2 Schematic image of thermal processing for fat bloom development. The heating and cooling rates were approximately 0.2 °C/min.



### 3.3 結果

#### 3.3.1 処理温度とファットブルームの関係

保持時間を  $t_1=2\text{ h}$  かつ  $t_2=2\text{ h}$  に固定した条件において、加熱温度 ( $T_1$ ) と予備冷却温度 ( $T_2$ ) の組み合わせによるファットブルームの外観への影響を確認した。Fig. 3-3 に温度処理前のコントロールの外観を、Fig. 3-4 に得られたファットブルームの外観を示す。  $T_1$  および  $T_2$  の組み合わせによって様々な異なる外観のファットブルームが得られた。  $T_1=35^\circ\text{C}$  では縞模様のような形状のファットブルーム外観が得られた一方 (Fig. 3-4 a, d, g),  $T_1=36^\circ\text{C}$  では薄い茶色のブルームが全体を覆うように発生する傾向が確認された (Fig. 3-4 b, e, h)。  $T_1=37^\circ\text{C}$  でも同様に薄い茶色のブルームが全体を覆うように発生する傾向が見られたが、  $T_1=36^\circ\text{C}$  の場合と比較するとブルーム部分の色合いはやや濃くなっていた (Fig. 3-4 c, f)。さらに  $T_1=37^\circ\text{C}$  かつ  $T_2=27^\circ\text{C}$  の場合には、試料の中で最も高温であるにもかかわらず、目視で判別できるファットブルームは確認されなかった (Fig. 3-4 i)。  $T_2$  については  $26^\circ\text{C}$  の場合が最もファットブルームの範囲が広がる傾向が見られ、温度が高くなっても低くなってもファットブルームの範囲は低減する傾向が見られた。これらのうち最も均一で明らかなファットブルームの外観を示した温度条件は  $T_1=36^\circ\text{C}$  かつ  $T_2=26^\circ\text{C}$  であった (Fig. 3-4 e)。

#### 3.3.2 処理時間とファットブルームの関係

3.3.1 の結果より、最も均一で明らかな薄い茶色を呈した温度条件 ( $T_1=36^\circ\text{C}$  かつ  $T_2=26^\circ\text{C}$ ) において、加熱保持時間 ( $t_1$ ) および予備冷却保持時間 ( $t_2$ ) の影響を確認した。Fig. 3-5 に結果を示す。ここでの Fig. 3-5 d は Fig. 3-4 e と同一である。  $t_1=2\text{ h}$  かつ  $t_2=2\text{ h}$  の場合に比べて  $t_1=1\text{ h}$  かつ  $t_2=2\text{ h}$  の場合は得られるファットブルームの程度が明らかに低減した (Fig. 3-5 c)。また  $t_2=2\text{ h}$  の場合、  $t_1=24\text{ h}$  まで長くしても外観は Fig. 3-5 d と同等であった (Fig. 3-5 e)。一方、興味深いことに、  $t_2=1\text{ h}$  の場合は  $t_1$  の値に関わらずファットブルームは出現しなかった。つまり予備冷却の保持時間が  $1\text{ h}$  以下の場合には、加熱保持時間に関わらずファットブルームは現れなかった。

#### 3.3.3 ファットブルームの形態観察

3.3.1, 3.3.2 で得られたファットブルームのうち最も均一で明らかな形態を示したファッ

トブルーム (Fig. 3-4 e もしくは Fig. 3-5 d) をナイフで慎重にカットし, 断面構造を確認した. ファットブルームが発生したチョコレートの断面では, 層状構造が観察され (Fig. 3-6), 濃い茶色の内層と厚さ約 100  $\mu\text{m}$  の薄い茶色の外層の 2 つの部分に分かれていた.



Fig. 3-3 The appearance of chocolate before the bloom test.

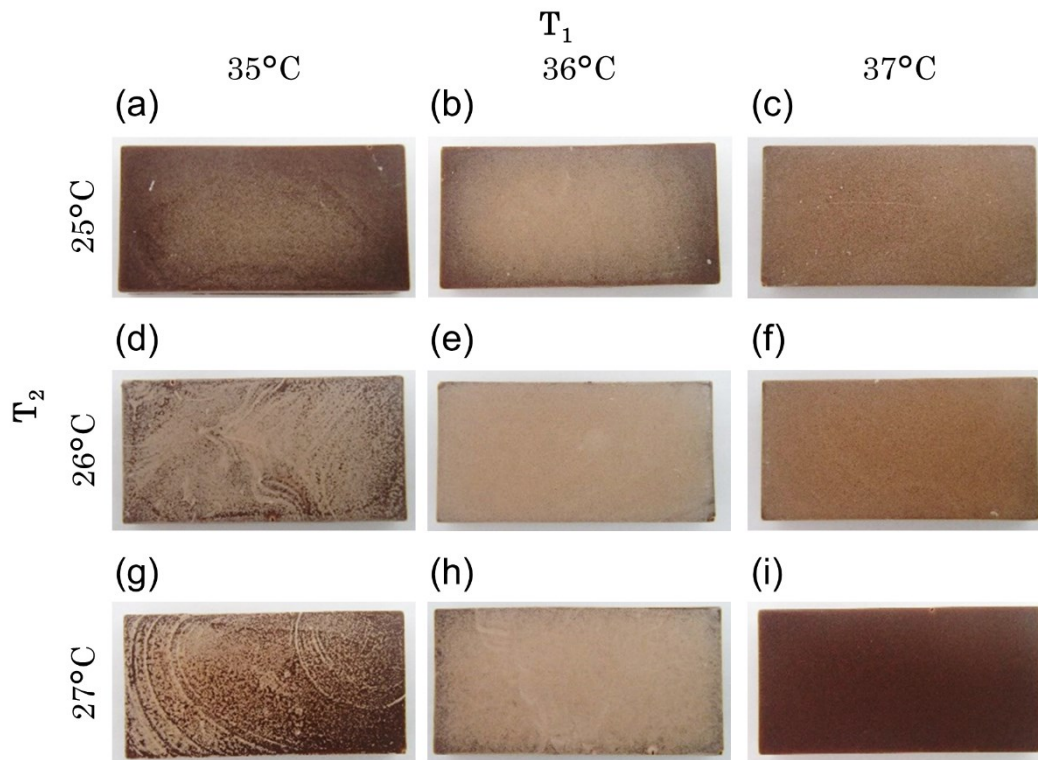


Fig. 3-4 The appearance of chocolate fat bloom with varying heating temperature ( $T_1$ ) and pre-cooling temperature ( $T_2$ ) combinations. The heating time ( $t_1$ ) and pre-cooling time ( $t_2$ ) were fixed at 2 hours respectively.  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $t_1$ , and  $t_2$  correspond to those shown in Fig. 3-2.

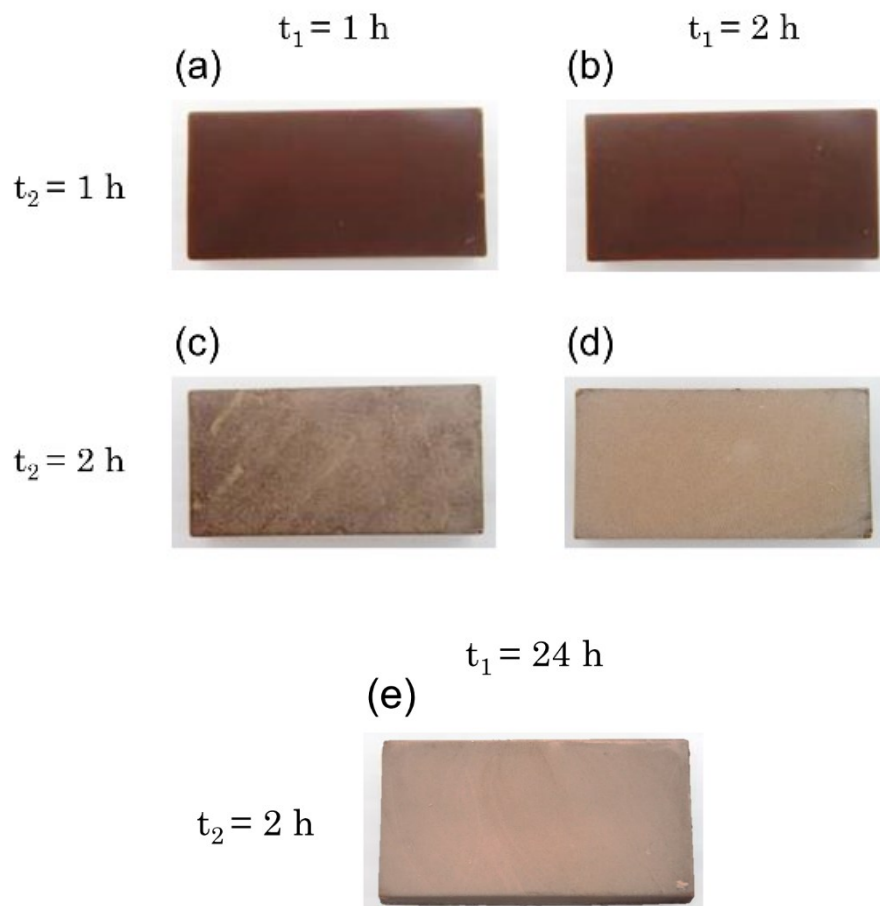


Fig. 3-5 The appearance of chocolate fat bloom with varying heating time ( $t_1$ ) and pre-cooling time ( $t_2$ ) combinations. The heating temperature ( $T_1$ ) and pre-cooling temperature ( $T_2$ ) were fixed at  $36^\circ\text{C}$  and  $26^\circ\text{C}$  respectively.  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $t_1$ , and  $t_2$  correspond to those shown in Fig. 3-2.

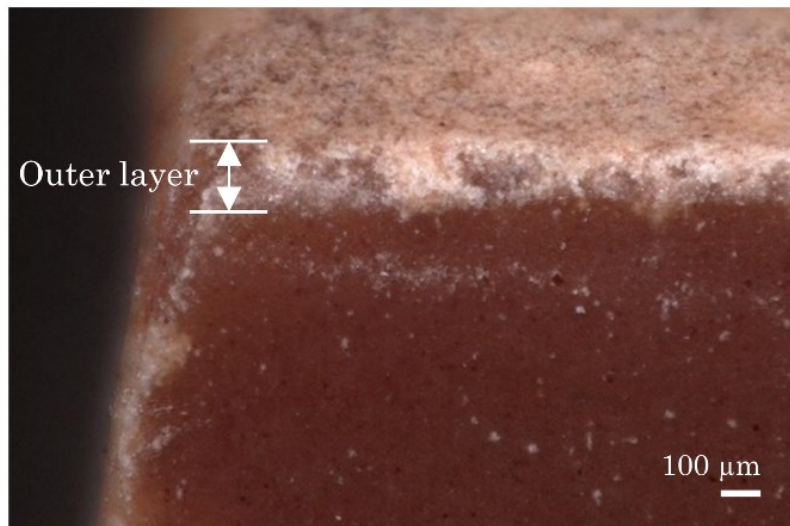


Fig. 3-6 A micrograph of the bloomed chocolate cut section from Fig. 3-4 e.

### 3.4 考察

本章では、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度(35~37°C)への曝露後、2段階の冷却(25~27°Cおよび20°C)によって形成されるファットブルームの形態学的特徴について把握するため、温度と時間との関係性を体系的に調べた。いくつかの温度や保持時間の組み合わせの実験を行い、ファットブルームの外観を確認したところ、条件によって程度や外観の異なる様々なファットブルームが得られることが明らかになった(Fig. 3-4, Fig. 3-5)。したがって、ファットブルームの発達は、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。また加熱ステップの保持時間が短くなるとファットブルームの程度は低減する傾向が見られた(Fig. 3-5)。このことは加熱ステップの高温保持時間の長さによりサンプル内部を含めた全体の品温が目的温度に到達するか否かが後に形成されるファットブルームの外観に影響している可能性を意味するものである。一定時間以上の保持では24hのように十分長くしても発生するファットブルームの外観にはほとんど変化が見られなかった(Fig. 3-5 e)。また、興味深いことに、予備冷却の保持時間が1h以下の場合には、加熱保持時間に関わらずファットブルームは現れなかった。この数時間の温度保持によりチョコレート内で何らかの構造変化が生じ、ファットブルームの発達に大きく影響していると予想される。また、最も均一で明らかな薄い茶色を呈したのは $T_1=36^\circ\text{C}$ かつ $T_2=26^\circ\text{C}$ の場合であった。最も高温の条件であったにもかかわらず、 $T_1=37^\circ\text{C}$ かつ $T_2=27^\circ\text{C}$ の場合には、目視で判別できるファットブルームは確認されなかった(Fig. 3-4 i)。

これまでにはココアバターの融点以上に晒されて発生するファットブルームについては多くの報告がある。種結晶が消失し、再結晶化の際に不足することで不安定結晶を介して発生し、製造工程でも種結晶の不足によるファットブルームの発生はアンダーテンパーとして良く知られている。一方、本章の試験系において、明らかに種結晶が消失する条件であるはずの高温での条件では、意外にも、ファットブルームの発生は見られなくなった。このことは、従来のココアバターの融点以上に晒されて発生するファットブルームとは全く異なるメカニズムであり、種結晶が消失することよりもむしろわずかに残存する結晶の存在がその後のファットブルーム形成に影響している可能性を示唆している。

また、形態学的にも従来の報告とは相違点が見られた。前述のような従来報告されているココアバターの融点以上に晒されて発生するファットブルームは、形態学的にはタイプ2に

分類される<sup>2,3)</sup>。タイプ2は、温度条件や発生の経過によって斑点の形や大きさが異なるものの、濃い茶色部分とそれよりも色のうすい茶色をしている部分がまだらに混在した外観特徴を示す場合が多い。本章で得られたチョコレートのファットブルームの形態学的特徴は、タイプ2よりもむしろタイプ3と一致していた<sup>2,3)</sup>。タイプ3は、チョコレートの油脂の部分的な液化によって引き起こされるファットブルームとして報告されている<sup>2,3)</sup>。ただし、タイプ3に関するこれまでの報告と本章で見出されたファットブルームの間には発生条件に大きな違いがある。これまでの報告では、1週間の温度サイクルを用いてブルームを誘導していたのに対し本研究では数時間後にファットブルームが発生しており、発生にかかる時間が大幅に短い。また、ブルーム形成条件の温度も異なっていた。先行研究ではタイプ3ブルーム形成時、チョコレートの加熱はココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)の直下(32°C)までであったのに対し、本研究では融点以上(35~37°C)に加熱している。

タイプ3のファットブルームに関する先行研究において、Kintaらは温度サイクルによる油脂の部分融解と再結晶化の繰り返しが行われることによって、 $\beta$ V型から $\beta$ VI型へのココアバター結晶転移、TAG組成分離すなわち高融点成分と低融点成分の分離とそれらに伴う油脂結晶組織の粗大化を提唱している<sup>2,4)</sup>。しかし、文献中で報告されているファットブルームは1週間の温度サイクルを経たものであり、その長い期間の間にいくつかの現象が複合的に生じている可能性は否定しきれず、それぞれのファットブルーム発生への寄与の程度は明らかになっていない。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、この系で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理解につながる可能性がある。

### 3.5 まとめ

本章では、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度への曝露後、2段階の徐冷によって形成されるファットブルームの形態学的特徴について把握するため、温度と時間との関係性を体系的に調べた。このような温度履歴を経て発生するファットブルームは日本の夏から秋にかけての暑い時期や熱帯気候の地域において実際の市場で発生する可能性が高いが、これまで詳細な研究はほとんど行われてきていない。調査の結果、このような条件下で発生するファットブルームは加熱および予備冷却の温度と時間に強く依存することが明らかになった。また、このようなファットブルームの外観特徴は、タイプ2ではなくむしろタイプ3と一致した。具体的には、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にも関わらず、従来報告されている $\beta$ V型結晶が消失することにより発生するファットブルームの形態(タイプ2)ではなく、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)の直下(32°C)までの長期の温度サイクルで発生することが報告されてきたファットブルーム(タイプ3)と同じ外観特徴を示した。このことは、従来提唱されているメカニズムのみでは説明しきれない現象を含んでおり、いままでの研究では解明しきれなかったメカニズムの研究の試験系として有用である可能性を示している。

## 文 献

1. Schlichter-Aronhime J, Garti N (1988) Solidification and polymorphism in cocoa butter and the blooming problems. In: N. Garti N, Sato K (Eds.) *Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids*. (pp. 363–393) New York, USA: Marcel Dekker.
2. 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」日本結晶成長学会誌 Vol. 41, No. 4 (2014) pp. 194-204
3. Kinta Y, Hatta T (2012) Morphology of chocolate fat bloom. In: N. Garti & N. Widlak (eds), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 195–212). Urbana, IL: AOCS Press.
4. Kinta Y, Hatta T (2007) Composition, structure, and color of fat bloom due to the partial liquefaction of fat in dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **84**:107–115.



5. Sato S, Hondoh H, Ueno S (2020) Fat Bloom Caused by Partial De-Oiling on Chocolate Surfaces after High-Temperature Exposure, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Accepted for publication. Doi: <https://doi.org/10.1002/aocs.12447>

## 第4章 ファットブルームの構造観察

### 4.1 はじめに

これまで、チョコレートのファットブルームの構造については様々な報告がされている。Hodge ら<sup>1)</sup>は原子間力顕微鏡を用いて、ミルクチョコレートの表面の粗さが温度サイクル中に増加することを見出した。同様にして、Smith や Sonwai らはチョコレートの保存中に内部から表面に液滴が噴出する様子を観察した<sup>2,3)</sup>。Dahlenborg らは共焦点ラマン顕微鏡観察を用いてチョコレートの表面直下に空隙の存在を確認し、ブルーム形成との関係性を議論した<sup>4)</sup>。このように、ファットブルームの構造観察は、その形態学的な特徴を捉えることで発生メカニズム解明と理解につながる、重要な実験プロセスである。

一般的に、ココアバターの  $\beta$ VI 型は針状の結晶を成長させることで表面の乱反射を引き起こし、ファットブルームの要因になることが広く認知されている。この理論は、多くの事例で  $\beta$ VI 型のココアバターがブルームしたチョコレートにおいて見出されたという事実に基づいている<sup>5,6)</sup>。前章では、ココアバター  $\beta$ V 型の融点 (33.8°C) をわずかに上回る温度への曝露と 2 段階の徐冷により形成されるファットブルームについて調査し、タイプ 3 の外観特徴を持つファットブルームが形成されることが明らかになった<sup>7)</sup>。そこで本章では、このファットブルームの構造特徴を XRD および各種顕微鏡観察により調べた。

## 4.2 実験試料および実験方法

### 4.2.1 試料および試料調製方法

本研究では一般的なミルクチョコレートを対象とした。チョコレートは主に砂糖、ココアバター、カカオマスで構成され、ミルクチョコレートはさらに乳成分を含む。その他に、少量の乳化剤（レシチンなど）が製造中の熔融チョコレートの流動性の改善を目的として添加される。カカオマス 20.0%、砂糖 40.0%、全粉乳 20.0%、ココアバター19.5%、レシチン 0.5%を含むミルクチョコレートを、ロールレファイナー (SDY200, Bühler, Uzwil, Switzerland) による粒径 20  $\mu\text{m}$  以下への粉碎とミキサー (5DM, (株) ダルトン) による 1 時間の攪拌混合 (コンチング) により作製した。このミルクチョコレートを 55°C のウォーターバス (T-N22, トーマス科学器械 (株)) で熔融した後、室温の水で 30°C まで水冷にて調温し、 $\beta$  型 StOSt の結晶を含有する市販のシード剤 (チョコシード A, 不二製油 (株)) を用いてシーディングした。シード剤は 30°C に調温したチョコレートに油脂含有量の 0.5% の量になるように添加した。シーディングしたミルクチョコレートをポリカーボネート製の型 (およそ 38 mm  $\times$  20 mm  $\times$  8 mm) に流し込み、13°C で 1 時間冷却した。得られたチョコレートを離型し、エージングのために 20°C で少なくとも 1 週間保存した後、さらなる実験に供した。ファットブルーム発生条件はプログラムインキュベーター (IJ300, ヤマト科学 (株)) を使用し、Fig. 3-2 の条件において  $t_1 = 2 \text{ h}$ ,  $t_2 = 2 \text{ h}$ ,  $T_1 = 36^\circ\text{C}$ ,  $T_2 = 26^\circ\text{C}$  を適用した。

また、ブルーム発生時の油の動きを観察するために、チョコレートの疑似断面を作成した。スライドガラスとカバーガラスの間に、厚さ 80  $\mu\text{m}$  のアルミ箔スペーサー (Fig. 4-1) を挟んで、シード剤入りの液体ミルクチョコレート 8  $\mu\text{L}$  を入れて円形に成型した。サンプルを 13°C で 1 時間冷却した後、20°C で少なくとも 1 週間保管しエージングした後、各測定を行った。プログラムインキュベーター (IJ300, ヤマト科学 (株)) を使用して、疑似断面チョコレートサンプルにブルームを発生させた。ブルーム発生の温度条件は、Fig. 3-2 において  $t_1 = 2 \text{ h}$ ,  $t_2 = 2 \text{ h}$ ,  $T_1 = 36^\circ\text{C}$ ,  $T_2 = 26^\circ\text{C}$  を適用した。

### 4.2.2 X 線回折測定 (XRD)

コントロールチョコレートとブルームチョコレートの表面のココアバター結晶の多形を分析するために、XRD 分析を実施した。XRD 測定中の糖結晶からの回折を排除するため、

Cebula らの手法を用いて次のようにサンプルを調製した<sup>9)</sup>。各チョコレートの表面サンプルをナイフでカットして、サンプルサイズを 0.5mm 未満にした。チョコレートを 4°C の Milli-Q 水（ミリポア，東京）500mL 中で攪拌し，4 時間保持して糖結晶を洗い流した後，ココアバターを含む水不溶性物質を，7 $\mu$ m の孔径の濾紙（5A; Advantec，東京）を用いて濾過し除去した。このサンプル前処理手順は，結晶多形の変化を防ぐために 4°C の雰囲気下で実施された。調製した試料を XRD 試料ホルダーにセットし，その回折パターンを RINT-UltimaIII（株）リガク）を用いて，40kV-40mA で 5~40°（2 $\theta$ ，Cu K $\alpha$ ，波長=0.15418nm）の間で測定した。XRD 測定はすべて 20°Cで行った。

#### 4.2.3 走査型電子顕微鏡観察（SEM）

走査型電子顕微鏡（SEM/VE-9800，（株）キーエンス）を使用して，コントロール/ブルームチョコレートの表面の詳細な構造を二次電子像により観察した。観察中にチョコレートサンプルが溶けないように，液体窒素に数秒間浸漬したのち，SEM ステージに直接チョコレートをセットして真空引きし，チョコレートの亀裂などの損傷が見られない部分の表面構造を観察した。

#### 4.2.4 デジタル顕微鏡観察

SEM と同視野でのチョコレート表面の観察は，砂糖粒子を観察視野の目印としてデジタルマイクロスコープ（VHX-1000，（株）キーエンス）を用いて行った。このとき，各顕微鏡観察の前後の表面損傷による構造変化は見られなかった。

#### 4.2.5 蛍光顕微鏡観察（FLM）

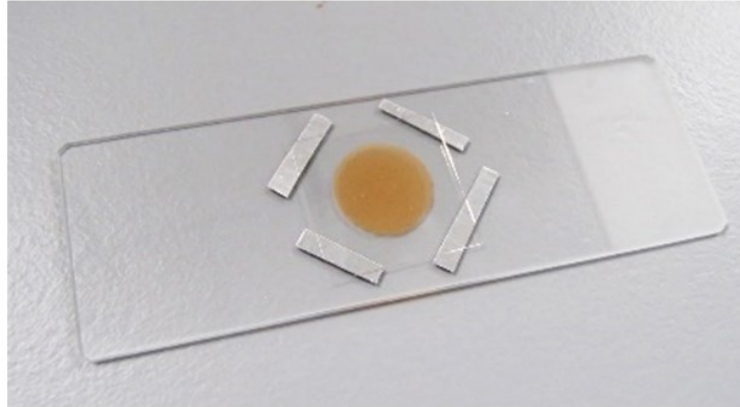
ブルームチョコレートの疑似断面のより詳細な構造分析のために，蛍光イメージングを用いた観察を実行した。観察には蛍光顕微鏡（Axio Imager 2，カールツァイス（株））を使用した。市販のキャノーラ油を Nile red（Sigma-Aldrich，St. Louis，MO，USA）で最終濃度 0.025%（w/w）で染色し，スライドガラスのチョコレートの界面部分に添加した<sup>10,11)</sup>。サンプルは，555 nm 励起の LED レーザー（43HE，カールツァイス（株））と Nile red に適したフィルターセット（ダイクロイックミラー波長：570 nm）を使用して，蛍光顕微鏡（Axio

Imager 2, カールツァイス (株)) で直ちに観察された。蛍光観察中, ペルチェ冷却加熱ステージ (Linkam model LTS120, Linkam Scientific Instruments Ltd., Tadworth, U.K.) を用いて温度を 20°C に維持した。透過光観察イメージは, モノクロカメラで記録した。

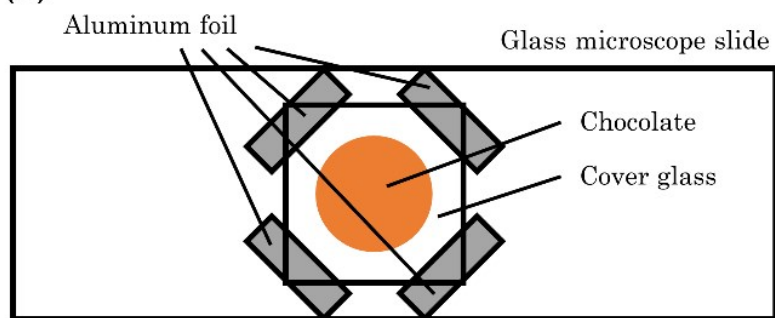
#### 4.2.6 画像解析

ブルーム発生前後の疑似断面の画像を顕微鏡 (VHX5000, (株) キーエンス) により取得し, Image-J<sup>12)</sup>を用いて, 全体の面積および 2 値化によりブルーム領域 (気泡を含む) の面積を解析した。ブルーム発生前には一部気泡が含まれるため, ブルーム発生後の値から差引いて正味のブルーム部面積を算出した。

(a)



(b)



(c)

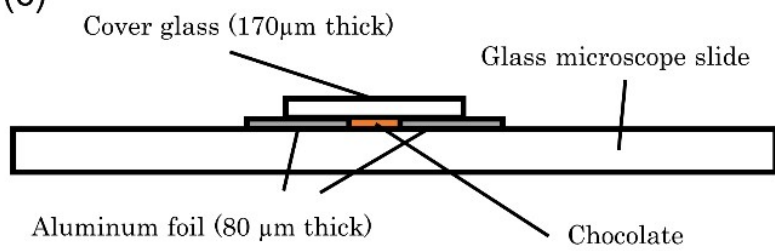


Fig. 4-1 (a) Experimental setup used to observe a cross section of chocolate. (b, c) The illustration of the top and side view.

## 4.3 結果

### 4.3.1 ファットブルーム中のココアバターの結晶多形

Fig. 3-2 の条件において  $t_1=2\text{ h}$ ,  $t_2=2\text{ h}$ ,  $T_1=36^\circ\text{C}$ ,  $T_2=26^\circ\text{C}$  の場合に発生するファットブルーム (Fig. 3-4 e もしくは Fig. 3-5 d) を対象とし、ブルームチョコレート表面の油脂結晶多形を XRD により調べた。Fig. 4-2 に示すように、ブルーム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ほぼ同じ  $\beta\text{V}$  型の XRD パターンを示した。この結果は、ファットブルームはタイプ 3 の外観を示したものの、ブルーム形成中に明らかな  $\beta\text{VI}$  への多形転移は発生しなかったということを示している。

### 4.3.2 ファットブルームの表面構造観察

Fig. 3-2 の条件において  $t_1=2\text{ h}$ ,  $t_2=2\text{ h}$ ,  $T_1=36^\circ\text{C}$ ,  $T_2=26^\circ\text{C}$  の場合に発生するファットブルーム (Fig. 3-4 e もしくは Fig. 3-5 d) を対象とし、ブルームチョコレートの表面を、SEM を用いてより高倍率で観察した。Fig. 4-3 は、各倍率でのコントロール (Fig. 4-3 a, c, e) およびブルームチョコレート表面 (Fig. 4-3 b, d, f) の SEM 画像を示している。コントロールチョコレートの表面は滑らかである一方、ブルームチョコレートは表面が粗い構造であった。高倍率 (1,000 倍) の画像では、ブルーム表面に多くの空隙があり、粗い表面が露出していた (Fig. 4-3 f)。表面構造をさらに観察すると、多孔質表面とブルームの間に重要な関係があることが示唆された。ブルームチョコレート表面上の対応する位置を SEM と光学顕微鏡を用いて比較し、チョコレート表面上の空隙の分布 (Fig. 4-4 a) とブルームした薄い茶色の領域 (Fig. 4-4 b) との相関関係をそれぞれ確認したところ、Fig. 4-4 a-c の白丸と黒丸で例示されるように、顕微鏡像の薄い茶色の部分 (白丸) は SEM 画像の空隙部分と同じ位置にあり、対照的に、濃い茶色の部分 (黒丸) は平滑な構造の位置にあることがわかる。

### 4.3.3 ファットブルームの疑似断面構造観察

Fig. 3-2 の条件において  $t_1=2\text{ h}$ ,  $t_2=2\text{ h}$ ,  $T_1=36^\circ\text{C}$ ,  $T_2=26^\circ\text{C}$  の場合に発生するファットブルーム (Fig. 3-4 e もしくは Fig. 3-5 d) を対象とし、チョコレート疑似断面でのファットブルームの構造を観察した。Fig. 4-5 は、温度処理前後でのチョコレート疑似断面の構造変化を示している。熱処理により、薄茶色の外層を有する層状構造体が形成された (Fig. 4-5

b). この薄茶色の層の厚さは約 100~500  $\mu\text{m}$  であった。ブルームチョコレートカット断面と同様の形態を持っていたため (Fig. 3-6), この疑似断面はブルーム形成中のチョコレート断面の構造変化を観察するのに適していると判断された。温度処理によりディスク状チョコレートの外周からチョコレートの内側に向かって白っぽい構造が現れた (Fig. 4-5)。空気と接触したチョコレートディスクの周辺のみが大きく形態を変え、内部はほとんど違いが見られなかった。さらに、ブルームチョコレートのサイズ変化 (ディスクの直径) はほとんど認められなかった (Table 4-1)。また、疑似断面の画像解析の結果、断面全体に対するブルーム部面積の比率は約 8.5%であった (Table 4-1)。疑似断面サンプルの厚みはスペーサーにより一定に保持されていることから、ブルーム部の体積分率もこれと近い値であるとみなすことができる。

Fig. 4-6 は、チョコレート疑似断面ディスク周辺の拡大画像を示している。肉眼では白っぽく見える界面付近のブルーム層構造は、入射光が散乱してレンズに到達しないため、透過型光学顕微鏡では暗く見える (Fig. 4-6 d)。このことから、チョコレート疑似断面ディスクの外周部には冷却時に形成された多数の気泡や空隙が存在し、ファットブルームを形成していることが予想された。そこで、チョコレート疑似断面ディスクの表面界面 (周辺部) に蛍光染料 Nile red を含む液体油 (キャノーラ油) を塗布した。蛍光試薬で染色されたキャノーラ油は、チョコレート周辺の暗い領域にすぐに侵入した (Fig. 4-6 e)。これはブルーム層の構造と一致した (Fig. 4-6 f)。一方、染色された油はコントロールチョコレート疑似断面ディスクには染み込まなかった (Fig. 4-6 a-c)。このことから、このファットブルームの構造は、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。



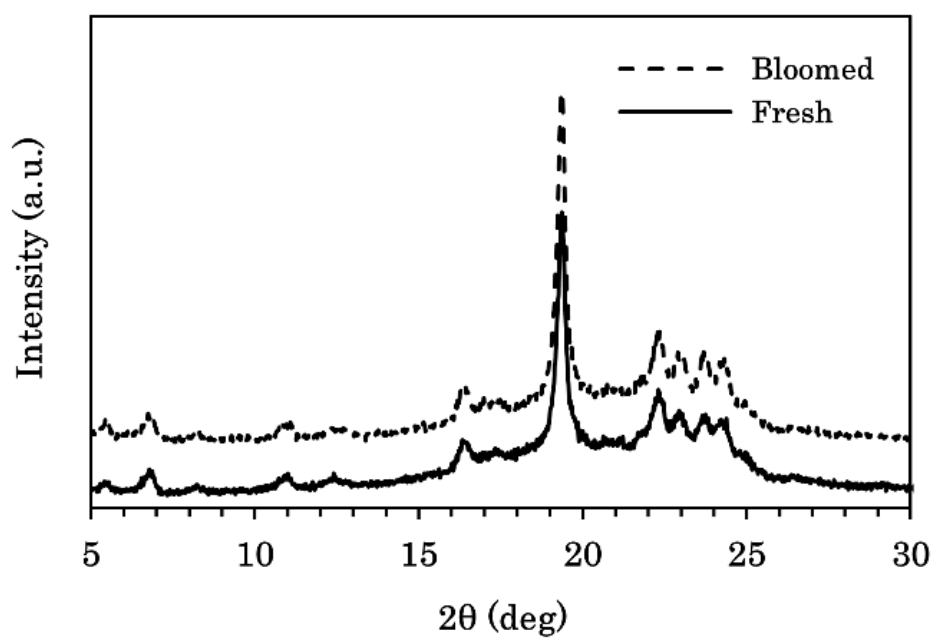


Fig. 4-2 XRD patterns of cocoa butter in fresh and bloomed chocolate. Solid line describes a pattern of cocoa butter in fresh chocolate while dashed line describes a pattern of cocoa butter in bloomed chocolate.

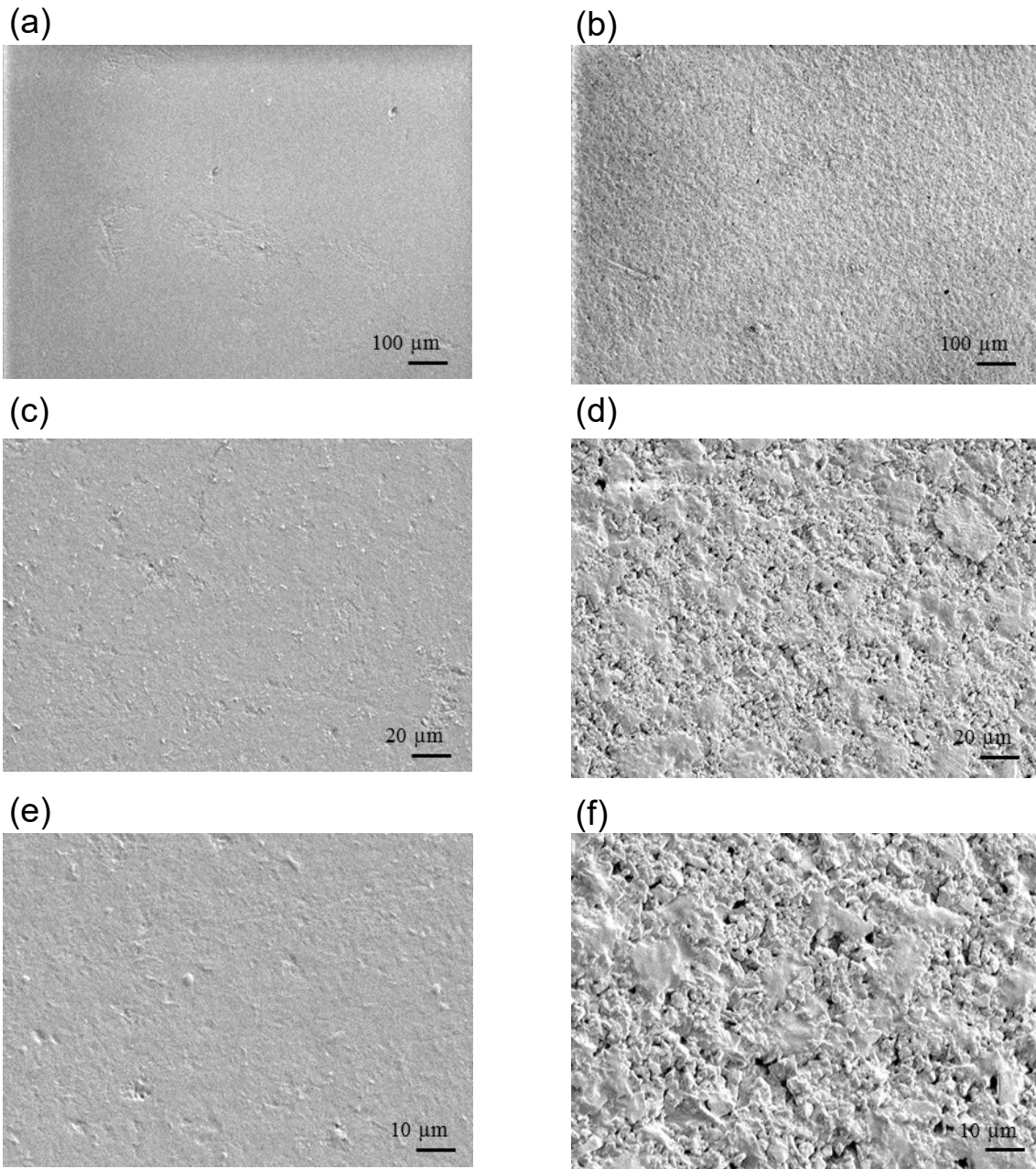


Fig. 4-3 SEM images of (a, c, e) fresh chocolate surface and (b, d, f) bloomed chocolate surface with 100x, 500x, and 1,000x magnification, respectively.

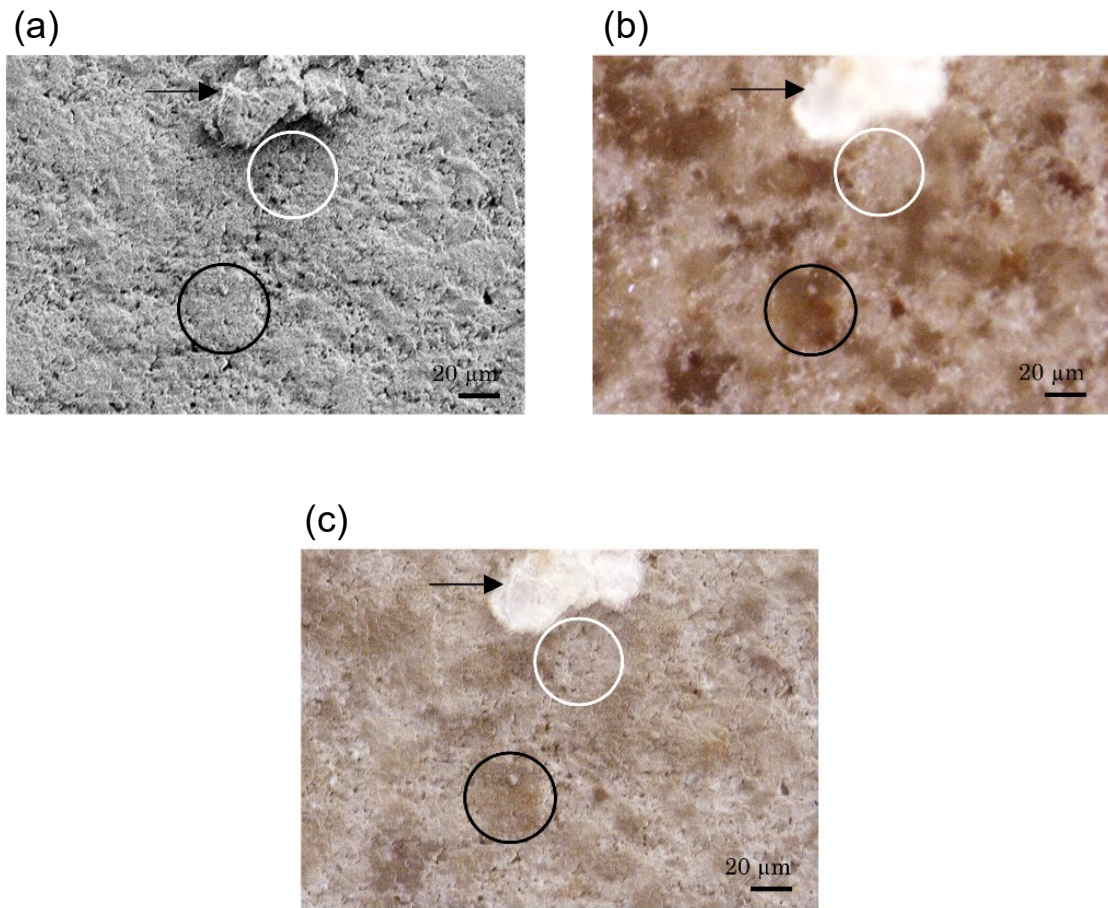


Fig. 4-4 (a) SEM images of bloomed chocolate surface with 500x magnification. (b) A microscopic image of bloomed chocolate surface. The image was obtained in the same field of view of (a) and (b) as confirmed by the position of the sugar crystal fragment (indicated by arrows). The white circles indicate the representative whitish bloom areas in (b) which overlaps the porous area of (a). The black circles indicate representative brown areas in (b) which overlaps the smooth structures in (a). (c) An overlay image of (a) and (b). The image was processed by overlaying a translucent (b) on (a).

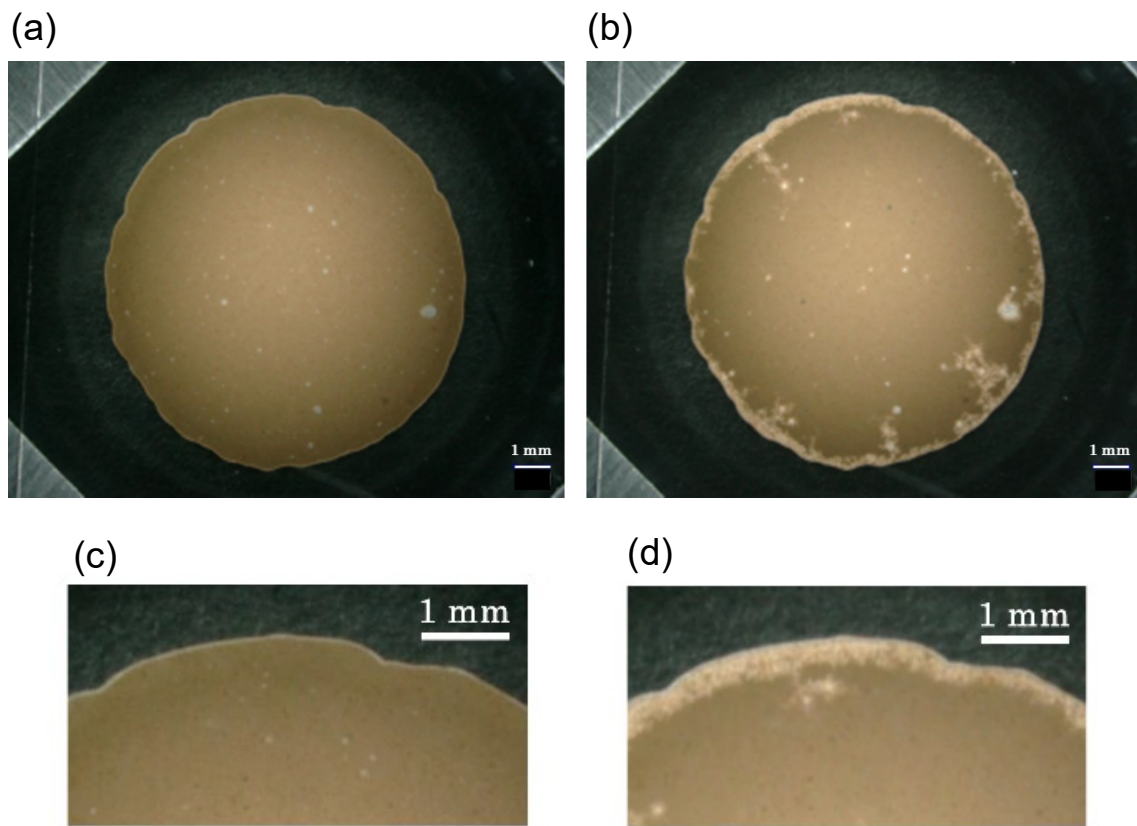


Fig. 4-5 Appearance of pseudo-cross section of chocolate between glass plates (a, c) before and (b, d) after blooming.

Table 4-1 Area measurements of pseudo-cross sections of fresh and bloom chocolates

Sample	Total area (mm <sup>2</sup> )	Bloom area including air bubbles (mm <sup>2</sup> )	Net bloom area (mm <sup>2</sup> )
Fresh chocolate	85.01	2.18	-
Bloomed chocolate	84.84	9.44	7.26



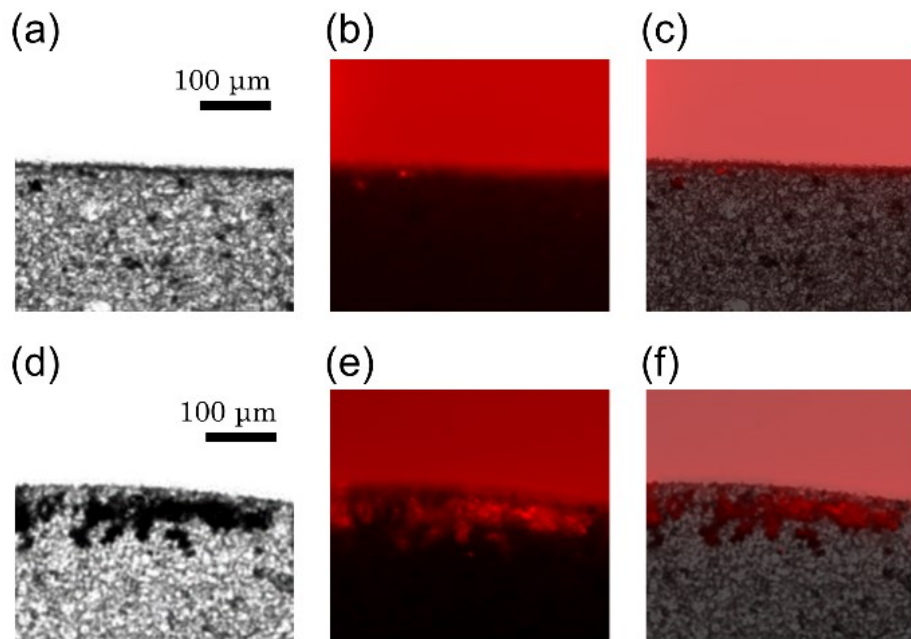


Fig. 4-6 Microscopic images of the chocolate pseudo-cross section before (a, b, c) and after (d, e, f) the bloom development; (a, d) optical microscopic images, (b, e) fluorescence microscopic images which indicates canola oil, (c, f) overlaid images of optical microscopic images and fluorescence microscopic images. Canola oil stained with Nile red was added to the interface of each sample. The overlaid images were processed by overlaying (b, e) a translucent fluorescence images on (a, d) corresponding optical microscopic images.

#### 4.4 考察

本章では前章で得られたタイプ3の外観<sup>7,8)</sup>を示すファットブルームの構造について詳しく調べた。これまでに、タイプ3のブルームチョコレートのココアバターにおいて、チョコレートの外側の薄い茶色部分(ファットブルーム部)と内側の濃い茶色部分の両方で $\beta$ VI型が示された事例が報告されている<sup>13)</sup>。一方、本研究におけるブルームチョコレート表面のココアバター結晶は、XRDの結果、コントロールチョコレートとほぼ同じ $\beta$ V型のXRDパターンを示した。この結果は、ファットブルームはタイプ3の外観を示したものの、ブルーム形成後に $\beta$ VI型への多形転移は発生していなかったことを示している。つまり、 $\beta$ VI型が存在しなくても明らかなタイプ3の外観を呈するファットブルームが発生しており、 $\beta$ VI型がタイプ3のファットブルーム形成に必須ではないことを示唆する結果が得られた。過去の報告ではタイプ3は1週間の温度サイクルにより発生したことが報告されている<sup>7,8)</sup>。ココアバターは温度サイクルにより $\beta$ V型から $\beta$ VI型への転移が促進されることが広く知られている。そのため、この $\beta$ VI型はタイプ3のファットブルーム形成に必須ではないものの、温度サイクルによって形成されたものが観察されたと考えられる。ただし、この結果は $\beta$ VI型のファットブルーム形成への寄与を完全に否定するものではない。ファットブルームの構造形成には本質的には必須ではないと考えられるものの、発生を促進する要因の一つである可能性は十分に想定される。

表面構造観察においては、多孔質表面とブルームの間に重要な関係があることが示唆された。ファットブルームは多孔質表面と同一の箇所に形成されていた。疑似断面観察でもこのことを裏付ける結果が得られ、ファットブルームの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。ブルームチョコレートの表面は光の散乱のために白く見えることが報告されている<sup>14)</sup>。本研究で対象としているファットブルームでは、チョコレートの表面に分布する空隙において光の散乱が生じるため、表面が白っぽく見えると考えられる。

形態学的にタイプ2に分類されるファットブルーム<sup>7,8)</sup>については、ファットブルームの白っぽい色の部分が油脂を含まず、糖分とココア粒子で構成されていることを調べた報告がある<sup>15)</sup>。これは本研究で対象としているタイプ3とは異なり、テンパリングされていないチョコレートや種結晶のないチョコレートに発生するタイプのファットブルームであり、

IV 型を介して発生する<sup>16,17)</sup>。一方、本研究で対象としたタイプ 3 については、これまで  $\beta$ VI 型を含む例が報告されており、 $\beta$ VI 型を含む高融点構造が液体油の移動によって残され、光散乱に影響を与える粗さ構造や多孔質性をもたらすメカニズムが提案されている<sup>13)</sup>。これは本章の考察と一部一致するが、ここでの結果はブルーム形成後に  $\beta$ VI 型への多形転移を示しておらず、ファットブルームの構造形成に本質的に寄与しているのは結晶多形転移以外の現象である可能性を示唆している。

## 4.5 まとめ

本章では、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度への曝露後2段階の徐冷によって形成されるタイプ3の外観を示すファットブルームの構造についてXRDおよび顕微鏡観察により詳しく調べた。XRDの結果、ブルーム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ほぼ同じ $\beta$ V型のXRDパターンを示したことから、 $\beta$ VI型への転移はタイプ3のファットブルーム形成に必須ではないことが示唆された。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。これは疑似断面観察でも同様の結果が得られ、ファットブルームの構造は空気を含む空隙から成り立っていることが示唆された。これらのことから、このファットブルーム形成の機構は、何らかの多形転移を必須としない要因により結晶粗大化や液状油の移動が生じて表面の液状油が枯渇し、チョコレート表面に細かな空隙が顕在化することでファットブルームの発生として現れると考えられる。

## 文 献

1. Hodge SM, Rousseau D (2002) Fat bloom formation and characterization in milk chocolate observed by atomic force microscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **79**(11):1115-1121.
2. Smith PR, Dahlman A (2005) The Use of Atomic Force Microscopy to Measure the Formation and Development of Chocolate Bloom in Pralines. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **82**:165-168.
3. Sonwai S, Rousseau D (2008) Fat Crystal Growth and Microstructural Evolution in Industrial Milk Chocolate. *Crystal Growth & Design*, **8**(9):3165–3174.
4. Dahlenborg H, Milliqvist-Fureby A, Brandner BD, Bergenstahl B (2012) Study of the porous structure of white chocolate by confocal Raman microscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **114**:919-926.
5. Wille R, Lutton E (1966) Polymorphism of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **43**:491–496.



6. Sonwai S, Rousseau D (2006) Structure evolution and bloom formation in tempered cocoa butter during long-term storage. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**(9):735-745.
7. 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」日本結晶成長学会誌 Vol. 41, No. 4 (2014) pp. 194-204
8. Kinta Y, Hatta T (2012) Morphology of chocolate fat bloom. In: N. Garti & N. Widlak (eds), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 195–212). Urbana, IL: AOCS Press.
9. Cebula DJ, Ziegleder G (1993) Studies of bloom formation using X-ray diffraction from chocolates after long-term storage. *Lipid / Fett*, **9**:340–343.
10. Marty S, Baker K, Dibildox-Alvarado E, Neves Rodrigues J, Marangoni AG (2005) Monitoring and quantifying of oil migration in cocoa butter using a flatbed scanner and fluorescence light microscopy. *Food Research International*, **38**, 1189–1197
11. Marty S, Baker KW, Marangoni AG (2009) Optimization of a scanner imaging technique to accurately study oil migration kinetics. *Food Research International*, 368–73.
12. Rasband W.S. (1997–2020). ImageJ. Bethesda, Maryland, USA: U.S. National Institutes of Health.
13. Kinta Y, Hatta T (2007) Composition, structure, and color of fat bloom due to the partial liquefaction of fat in dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **84**:107–115.
14. Schlichter-Aronhime J, Garti N (1988) Solidification and polymorphism in cocoa butter and the blooming problems. In: N. Garti N, Sato K (Eds.) *Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids*. (pp. 363–393) New York, USA: Marcel Dekker.
15. Lonchamp P, Hartel RW (2006) Surface bloom on improperly tempered chocolate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**:159-168.
16. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J (2009) Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. *Journal of Food Engineering*, **91**:571-581.
17. Zhao H., Young AK, James BJ (2018) Effects of fat polymorphic transformation and non-fat particle size distribution on the surface changes of untempered model chocolate, based on solid cocoa mass. *Journal of Food Science*, **83**:998-1004.

# 第5章 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

## 5.1 はじめに

前章までに、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度への曝露後2段階の徐冷によって形成される、タイプ3の外観<sup>1,2)</sup>を示すファットブルームの構造について調査し、ココアバターの $\beta$ VI型への転移はタイプ3のファットブルーム形成に必須ではないことが明らかになった。一方で、Satoら<sup>3)</sup>は、ファットブルームがフォーム $\beta$ Vでも発生する可能性があることを指摘している。この場合、油中のIII型およびIV型を犠牲にして成長することで、より大きな $\beta$ V型の結晶が形成されファットブルームが発生するとされる。このようなファットブルームは、テンパリングされていないチョコレートや種結晶のないチョコレートで発生することが報告されており、IV型を介する現象であることが証明されている<sup>4,5)</sup>。これらのファットブルームとの類似性を議論する上でファットブルーム形成過程におけるチョコレート中の油脂結晶多形の変化を追跡することは重要である。

また、これまでチョコレートのファットブルームの形成過程の観察については様々な報告がある。温度変動過程の各ステップにおける表面構造の変化を観察することは、ファットブルーム発生のメカニズムを理解し制御する上で重要な知見となりうる。しかし、その発生の瞬間を捉えた観察についてはほとんど報告がない。これは、ファットブルームは長期の保管に起因するものが多く、非常にゆっくりとした形態変化を伴う場合が多いからである。

本章では、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度への曝露後2段階の徐冷によって形成されるタイプ3の外観を示すファットブルームについて、ファットブルーム形成過程における動的な熱条件下でのココアバター結晶変化および表面構造の変化をXRDおよび各種顕微鏡観察により調べた。

## 5.2 実験試料および実験方法

### 5.2.1 試料および試料調製方法

本研究では一般的なミルクチョコレートを対象とした。チョコレートは主に砂糖、ココアバター、カカオマスで構成され、ミルクチョコレートはさらに乳成分を含む。その他に、少量の乳化剤（レシチンなど）が製造中の熔融チョコレートの流動性の改善を目的として添加される。カカオマス 20.0%、砂糖 40.0%、全粉乳 20.0%、ココアバター19.5%、レシチン 0.5%を含むミルクチョコレートを、ロールレファイナー (SDY200, Bühler, Uzwil, Switzerland) による粒径 20  $\mu\text{m}$  以下への粉碎とミキサー (5DM, (株) ダルトン) による 1 時間の攪拌混合 (コンチング) により作製した。このミルクチョコレートを 55°C のウォーターバス (T-N22, トーマス科学器械 (株)) で熔融した後、室温の水で 30°C まで水冷にて調温し、 $\beta$  型 StOSt の結晶を含有する市販のシード剤 (チョコシード A, 不二製油 (株)) を用いてシーディングした。シード剤は 30°C に調温したチョコレートに油脂含有量の 0.5% の量になるように添加した。シーディングしたミルクチョコレートをポリカーボネート製の型 (およそ 38 mm  $\times$  20 mm  $\times$  8 mm) に流し込み、13°C で 1 時間冷却した。得られたチョコレートを離型し、エージングのために 20°C で少なくとも 1 週間保存した後、さらなる実験に供した。

また、ブルーム発生時の油の動きを観察するために、チョコレートの疑似断面を作成した。スライドガラスとカバーガラスの間に、厚さ 80  $\mu\text{m}$  のアルミ箔スペーサー (Fig. 4-1) を挟んで、シード剤入りの液体ミルクチョコレート 8  $\mu\text{L}$  を入れて円形に成型した。サンプルを 13°C で 1 時間冷却した後、20°C で少なくとも 1 週間保管しエージングした後、各測定を行った。

### 5.2.2 X 線回折測定 (XRD)

ブルーム発生中のチョコレート中のココアバターの多形を決定するために、温度制御ステージを用いた XRD 測定を行った。ミルクチョコレートサンプルの他に、XRD 測定時の糖結晶回折をなくすために、砂糖を含まない油脂成分を用意した。油脂成分サンプルは、ミルクチョコレートの比率に基づいて、84.2% のココアバター、14.4% の無水乳脂肪 (AMF)、および 1.4% のレシチンで構成された。さらに、カカオマス 39.1%、ミルクプロテイン濃縮物 (MPC4850; Fonterra, Auckland, New Zealand) 11.5%、無水乳脂肪 (AMF) 10.3%、ココアバ

ター38.1%，レシチン 1.0%からなる糖類を含まないチョコレートを調製した。糖類を含まないチョコレートは、ミルクチョコレートと同じパラメーターで精製・コンチングすることにより調製された。ウォーターバスで 55°C で融解した後、各サンプルを 30°C に調温し、市販のシード剤（チョコシード A，不二製油（株））をそれぞれの油脂含有量の 0.5%の量で添加してシーディングした。シーディングされたサンプルを XRD 測定用のステンレス鋼サンプルパン（Fig. 5-1 a）に注ぎ、13°C で 1 時間冷却した。各サンプルは、さらなる実験に供される前に、20°C の暗所で 1 週間保管しエージングされた。調製したサンプルを XRD 用の温度制御ステージ（Fig. 5-1 b）にセットし、XRD（SmartLab，（株）リガク）を用いて 45 kV-200 mA で 18~25°（2 $\theta$ ，CuK $\alpha$ ）の回折パターンを取得した。温度プログラムは、Fig. 3-2 のブルーム発生条件に準じ、t1 = 2 h，t2 = 2 h，T1 = 36°C，T2 = 26°Cを適用した。

### 5.2.3 明視野／暗視野顕微鏡観察

ブルーム発生過程におけるチョコレート表面を、暗視野対物レンズ（MPLFLN20xBDP，オリンパス（株））を用いてラボで組み立てた暗視野顕微鏡で観察した。チョコレートをクールホットブロックバス（ASCH-201，アズワン（株））の加熱冷却プレート（ペルチェ素子）の上に置き、周囲を断熱材で囲み、観測中の周囲温度をコントロールした（Fig. 5-2）。温度プログラムは、ブルームの発生条件（36°C の加熱，26°C の予備冷却，および 20°C の主冷却）に基づいて設定された。エアインキュベーターとは加熱速度と冷却速度が異なる可能性があるため、加熱と予備冷却の合計インキュベーション時間は、温度変化の時間を含めてそれぞれ 180 分に設定した。また、観察中に画像の焦点が合わなくなることがあったため、周囲温度に応じて手動で焦点を調整した。

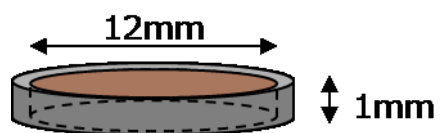
ブルーム発生時の油の動きを観察するために、チョコレートの疑似断面を作成し観察した。スライドガラスとカバーガラスの間に、厚さ 80  $\mu\text{m}$  のアルミ箔スペーサー（Fig. 4-1）を挟んで、シード剤入りの液体ミルクチョコレート 8  $\mu\text{L}$  を入れて円形に成型した。サンプルを 13°C で 1 時間冷却した後、20°C で少なくとも 1 週間保管しエージングした後、観察に供した。ペルチェ冷却加熱ステージ（Linkam model LTS120，Linkam Scientific Instruments Ltd.，Tadworth，U.K.）を用いて温度を制御し、ブルーム発生中のチョコレート疑似断面の構造変化の様子を顕微鏡（Axio Imager 2，カールツァイス（株））を用いて観察し、モノクロカメ

ラで記録した。温度プログラムは、Fig. 3-2 のブルーム発生条件に準じ、 $t_1 = 2 \text{ h}$ ,  $t_2 = 2 \text{ h}$ ,  $T_1 = 36^\circ\text{C}$ ,  $T_2 = 26^\circ\text{C}$ を適用した。

#### 5.2.4 偏光顕微鏡観察 (PLM)

ブルーム発生工程におけるミルクチョコレート中の油脂の結晶形態を観察するため、PLM 観察 (BX51, オリンパス (株)) を行った。試料はミルクチョコレートの組成に基づいた油脂成分のみのサンプルを用意した。油脂成分サンプルは、ミルクチョコレート中の含有比率に基づいて、84.2%のココアバター、14.4%の無水乳脂肪 (AMF)、および 1.4%のレシチンで構成された。ウォーターバスで  $55^\circ\text{C}$  で融解した後、各サンプルを  $30^\circ\text{C}$  に調温し、市販のシード剤 (チョコシード A, 不二製油 (株)) を油脂に対して 0.5%の量で添加してシーディングした。シーディングした油脂を  $10\mu\text{L}$ , 2 枚のカバーガラス ( $18 \times 18 \text{ mm}$ ) で挟み全体に広がった状態で  $13^\circ\text{C}$  で 30 分冷却し固化させたものを  $20^\circ\text{C}$  で 1 週間以上エージングし、観察に供した。試料の温度は顕微鏡用ペルチェ式冷却加熱ステージ (Linkam model 10021, Linkam Scientific Instruments Ltd., Tadworth, U.K.) を用いた。温度プログラムは、ブルーム発生条件 ( $36^\circ\text{C}$  の加熱,  $26^\circ\text{C}$  の予備冷却, および  $20^\circ\text{C}$  の主冷却) に基づいて設定された。

(a)



(b)

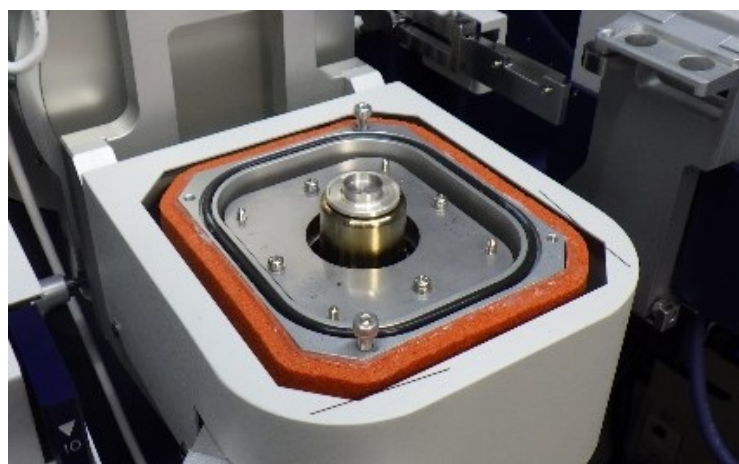


Fig. 5-1 (a) The illustration of the SUS pan for thermal XRD analysis. (b) Experimental setup for thermal XRD analysis.

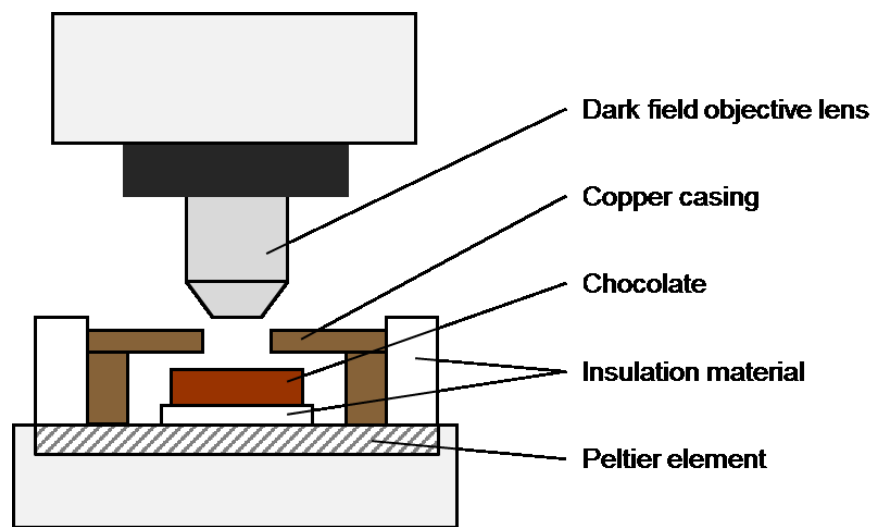


Fig. 5-2 The illustration of the experimental setup for dark-field microscopic observation of chocolate surface under temperature control.

## 5.3 結果

### 5.3.1 ファットブルーム形成過程におけるココアバターの結晶多形変化

Fig. 3-2 に示される熱条件のうち  $t_1=2\text{ h}$ ,  $t_2=2\text{ h}$ ,  $T_1=36^\circ\text{C}$ ,  $T_2=26^\circ\text{C}$  で設定されるブルーム発生条件を用いてブルーム形成中の温度処理条件下でのココアバター多形を XRD で調べた (Fig. 5-3). チョコレート中の油脂を用いた実験では,  $\beta\text{V}$  型結晶の XRD パターンは  $36^\circ\text{C}$  で加熱すると消失し, 2 段階の冷却により再結晶したが, その過程で不安定な多形の発生は見られなかった (Fig. 5-3 a).  $\beta$  型を特徴づけるピーク,  $d=0.458\text{ nm}$  は,  $26^\circ\text{C}$  での予備冷却中に確認された.  $26^\circ\text{C}$  では,  $\beta$  相は  $\beta'$  相が結晶化する前に溶融ココアバターから直接結晶化しないため<sup>6)</sup>, 検出不可能なレベルの結晶が加熱ステップ中に残り,  $\beta$  結晶化のための種結晶として機能していることが予想される. また, 砂糖を含まないチョコレートのココアバター結晶多形をブルーム形成の熱条件下で観察した (Fig. 5-3 b). 程度の違いはあるが, 砂糖を含まないチョコレートにおいても熱処理後に表面にブルームが確認された.  $\beta\text{V}$  型の典型的なパターンは  $36^\circ\text{C}$  に加熱すると消失し, 2 段階の冷却で再び現れたが, 不安定多形を表すパターンは示されなかった. この結果は油脂 (ココアバター混合物) の結果と似ていたが (Fig. 5-3 a),  $\beta$  型を表すピークは  $26^\circ\text{C}$  での予備冷却中にはるかに速く形成された. この結晶化速度の向上は, おそらくカカオ固形物などの粒子の存在による効果である<sup>7)</sup>. さらに, 砂糖を含むミルクチョコレートを用いて同様の実験を行った (Fig. 5-3 c).  $\beta$  型を表すピークは, 加熱ステップで変化しなかった糖結晶に由来する 2 つの高いピークの間で観察された. この  $\beta$  型のピークは  $36^\circ\text{C}$  まで加熱すると消失し, 2 段階の冷却により再び現れた.  $\beta$  再結晶の時間は, 砂糖を含まないチョコレートと同等であった. 以上より, Fig. 5-3 に示す通り, ココアバター多形はブルーム形成の一連の過程を通じて  $\beta\text{V}$  型であった. つまり, 安定性の低い多形を介した結晶多形転移は認められなかった.

### 5.3.2 ファットブルーム形成過程におけるチョコレート表面の構造変化

Fig. 3-2 に示される熱条件のうち  $t_1=2\text{ h}$ ,  $t_2=2\text{ h}$ ,  $T_1=36^\circ\text{C}$ ,  $T_2=26^\circ\text{C}$  で設定されるブルーム発生条件を用いて, 暗視野顕微鏡観察によりチョコレート表面にファットブルームが形成される様子をリアルタイムで捉えることに成功した. 熱処理前には, わずかに傷のある滑らかな表面が観察された (Fig. 5-4 a). 加熱すると, チョコレートは膨張・変形したため,



ピントや視野のずれが見られた。36°Cに加熱する過程で、油滴が表面に噴出した (Fig. 5-4 b)。これが油滴であることはその流動特性と三日月状に見える光反射特性により識別された。この油滴の形成は、融点が低い脂肪画分の部分熔融とそれがチョコレートの内側から放出されたことを反映している。温度を上げると、油滴の数が増え、その後、より大きな油滴に合体し、砂の上の水のようにチョコレートの表面に吸い込まれて目立たなくなった (Fig. 5-4 c)。温度が36°Cに達すると、チョコレートの表面についた油滴やもともとあった傷はすべて見えなくなった。この傷は、屈折率の異なる (空気と油脂) 粗い界面で光が散乱するため可視化していたと考えられる。固体脂肪と近い屈折率を持つ液体油で表面が覆われると、散乱が抑制される。したがって、表面の傷が消えたことからわかるように、液滴は表面から吸収されたものの、表面は液体油で濡れたような状態であると考えられる (Fig. 5-4 d)。36°Cでは、チョコレートは軟らかくなり、わずかに指で触れるほどの小さな力を加えると簡単に形を失う程度であった。続く26°Cへの予備冷却ステップ中に、チョコレートの表面粗さが増加した (Fig. 5-4 e)。この粗い構造はゆっくりと形成され、予備冷却過程を経てより目に見えるようになっていった (Fig. 5-4 f)。予備冷却後のチョコレートは固化したものの、熱処理前の最初のチョコレートと比較するとまだ軟らかかった。これは、油脂の一部だけが再結晶化し、ほとんどが未固化で液体のままであったことを示している。その後20°Cに冷却すると、ファットブルームの出現が視認された。20°Cに達してから数分以内に、薄茶色の斑点がランダムに現れ、チョコレートの表面に広がった (Fig. 5-4 g (被写界深度2 μm))。ここで、加熱ステップで生じた液滴の位置とブルーム形成との間には相関関係は見られなかった。またブルーム形成時、垂直方向の突出方向の構造的変化は見られなかった。最終的にブルームはチョコレートの表面全体に広がった (Fig. 5-4 h)。

### 5.3.3 ファットブルーム形成過程におけるチョコレート疑似断面の構造変化

Fig. 3-2 に示される熱条件のうち  $t_1 = 2 \text{ h}$ ,  $t_2 = 2 \text{ h}$ ,  $T_1 = 36^\circ\text{C}$ ,  $T_2 = 26^\circ\text{C}$  で設定されるブルーム発生条件について、この条件下で生じるファットブルームの形成過程におけるチョコレート表面部分の構造変化を疑似断面サンプルを用いて顕微鏡観察により確認した。第4章で確認された通り、肉眼では白っぽく見える界面付近のブルーム層構造は、入射光が散乱してレンズに到達しないため、透過型光学顕微鏡では暗く観察される (Fig. 4-6 d)。このよう

なブルーム層は 26°Cでの予備冷却後, 20°Cに主冷却する過程で形成された (Fig. 5-5). また, この構造はディスク状チョコレートの周辺部から内側方向へと発達していった.

### 5.3.4 ファットブルーム形成過程における油脂の結晶化挙動

Fig. 3-2 に示される熱条件のうち  $t_1 = 2 \text{ h}$ ,  $t_2 = 2 \text{ h}$ ,  $T_1 = 36^\circ\text{C}$ ,  $T_2 = 26^\circ\text{C}$  で設定されるブルーム発生条件について, この条件下で生じるファットブルームの形成過程におけるチョコレート中油脂の結晶化挙動を偏光顕微鏡観察により確認した. シーディングされたチョコレート中の油脂の混合物は, 温度処理前では細かい結晶が高密度に詰まった構造を示した (Fig. 5-6). これらの結晶は  $36^\circ\text{C}$ への加熱時にほとんど融解したが, 微量に融け残っている成分が存在した. しかし, その後の  $26^\circ\text{C}$ への冷却の過程では結晶の外観には全く変化が見られなかった (Fig. 5-7).  $26^\circ\text{C}$ 到達直後は特に見た目の変化は確認されなかったものの,  $26^\circ\text{C}$ 保持中に非常にゆっくりとした速度でわずかに結晶が成長していく様子が確認された (Fig. 5-8). この際, 高温処理で融け残っていた結晶性成分の位置とは無関係の箇所から結晶成長が確認され, 2 者の関係性は見出されなかった. さらに  $20^\circ\text{C}$ へ冷却すると,  $26^\circ\text{C}$ 処理時に成長した結晶を核として結晶成長と粗いネットワーク形成がみられた (Fig. 5-9). その後, 合間の未固化油脂が結晶化し, 凹凸のある構造になっていく様子が確認された. 冷却後に最終的に得られた結晶の構造は, 温度処理前の細かな結晶構造に比べると粗いネットワークを形成していた.

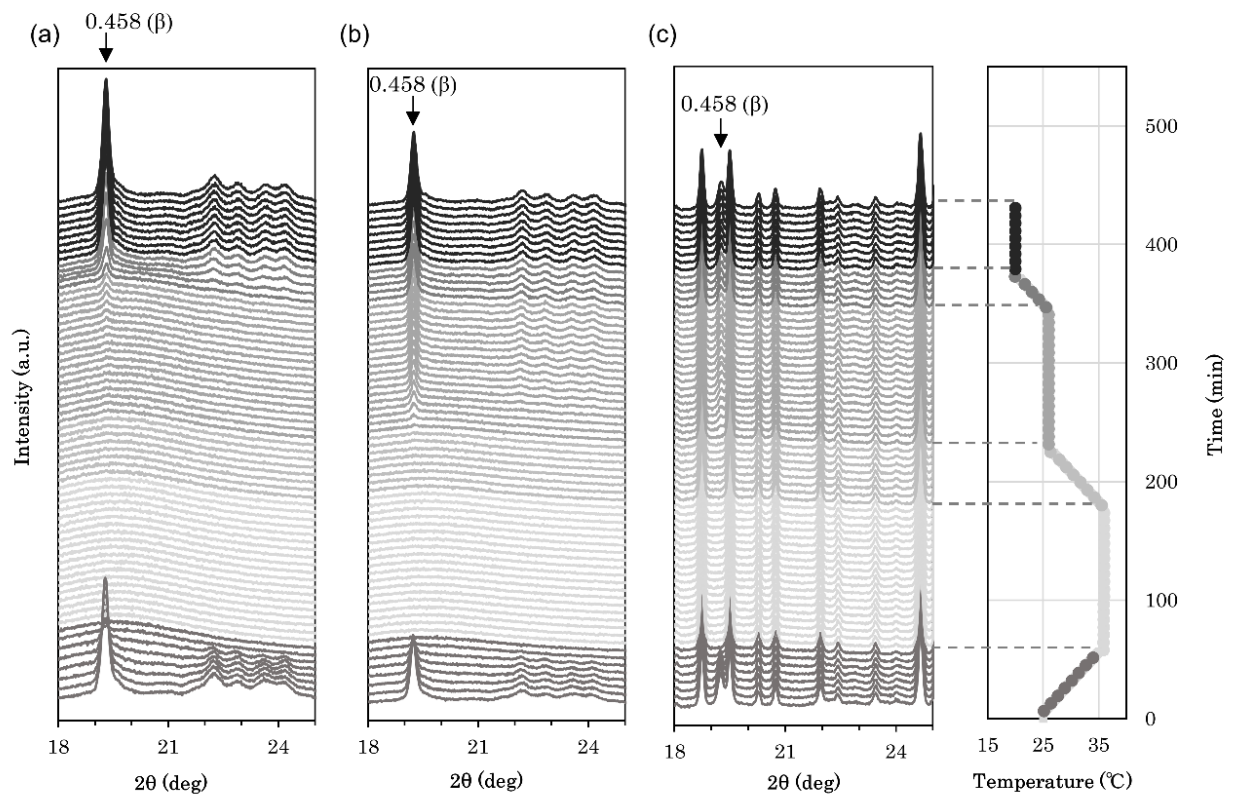


Fig. 5-3 XRD patterns of (a) cocoa butter containing AMF and lecithin, (b) sugar-removed milk chocolate, (c) milk chocolate corresponding to each time and temperature in dynamic thermal conditions. The arrows indicate the peak position that characterizes  $\beta$  form. Unit: nm.

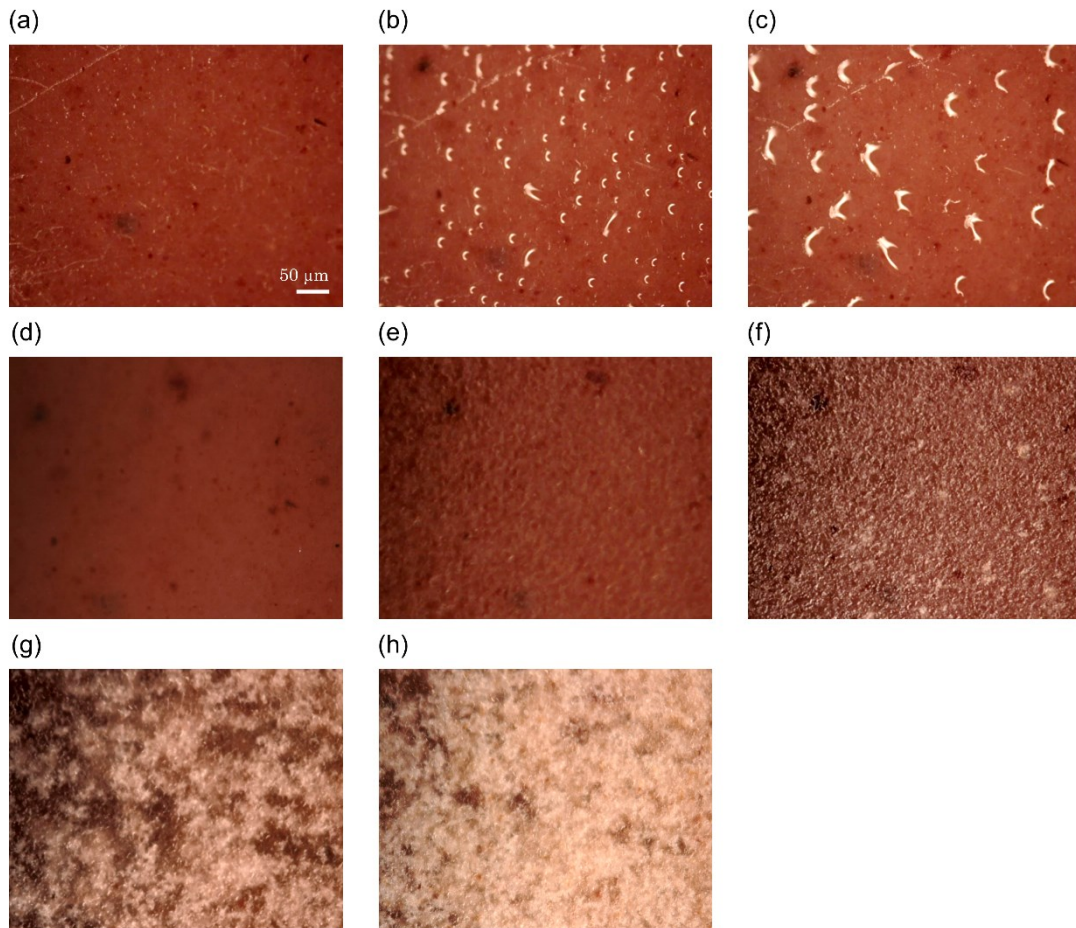


Fig. 5-4 Dark field microscopic images of structural changes on chocolate surface during the thermal processing: (a) at the start of processing (b) 5 min heating to 36 °C (c) 10 min heating to 36 °C (d) 180 min heating at 36 °C (e) 90 min pre-cooling at 26 °C, (f) 180 min pre-cooling at 26 °C (g) 10 min limiting cooling to 20 °C (h) 60 min limiting cooling to 20 °C. The crescent-shaped white areas in (b) and (c) represent the reflection of light.

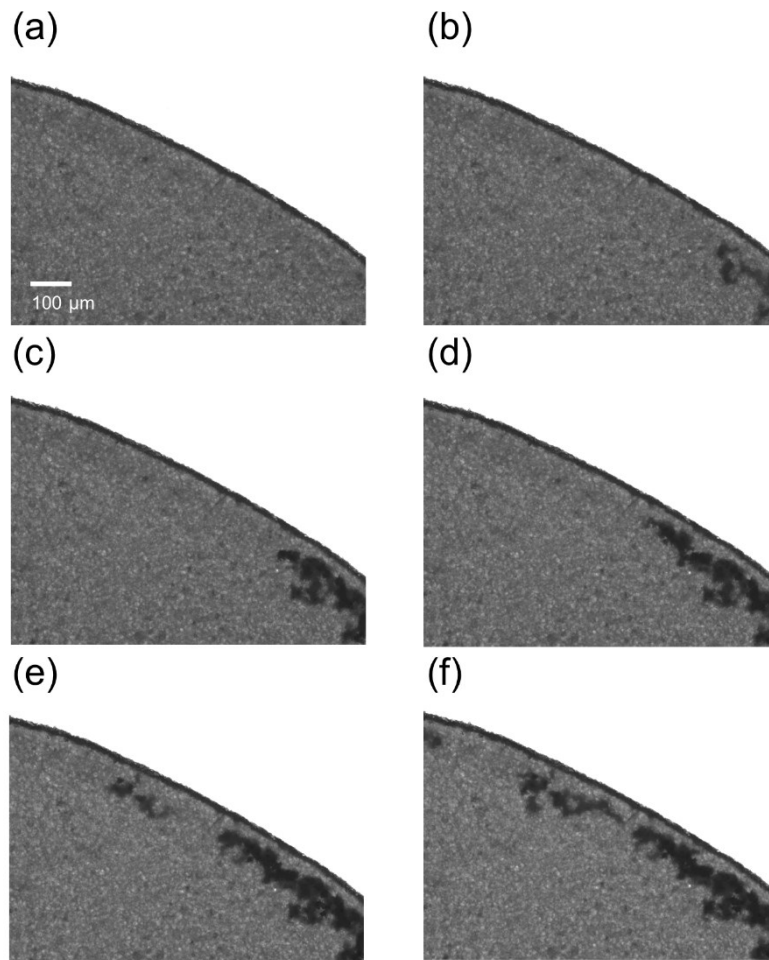


Fig. 5-5 Microscopic images of structural changes on pseudo-cross section of chocolate during the cooling from 25 °C to 20 °C at 0.2 °C/min: (a) 25 °C (b) 24 °C (c) 23 °C (d) 22 °C (e) 21 °C (f) 20 °C.



Fig. 5-6 A polarized light microscopic image of cocoa butter crystal containing AMF and lecithin before the thermal processing

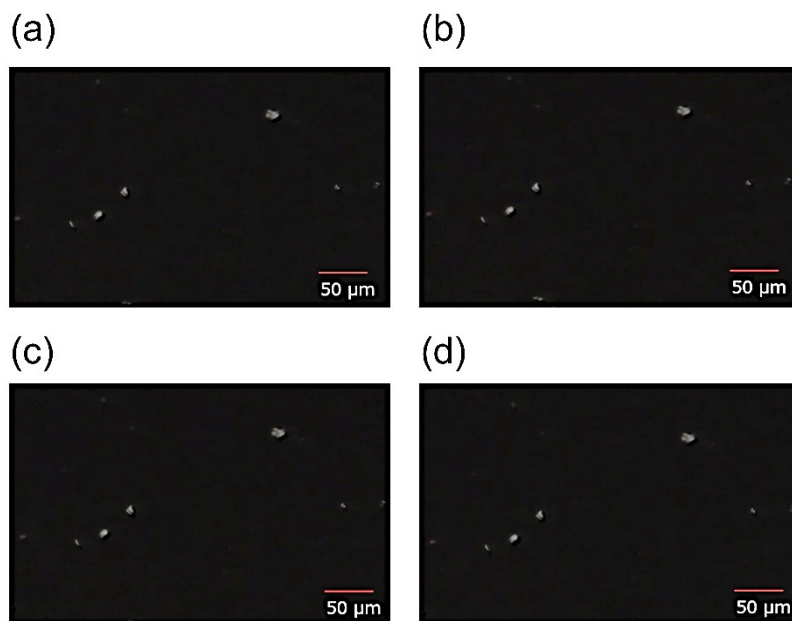


Fig. 5-7 Polarized light microscopic images of cocoa butter containing AMF and lecithin crystallization during cooling from 30 °C to 27 °C at 0.2 °C/min: (a) 30 °C (b) 29 °C (c) 28 °C (d) 27 °C.

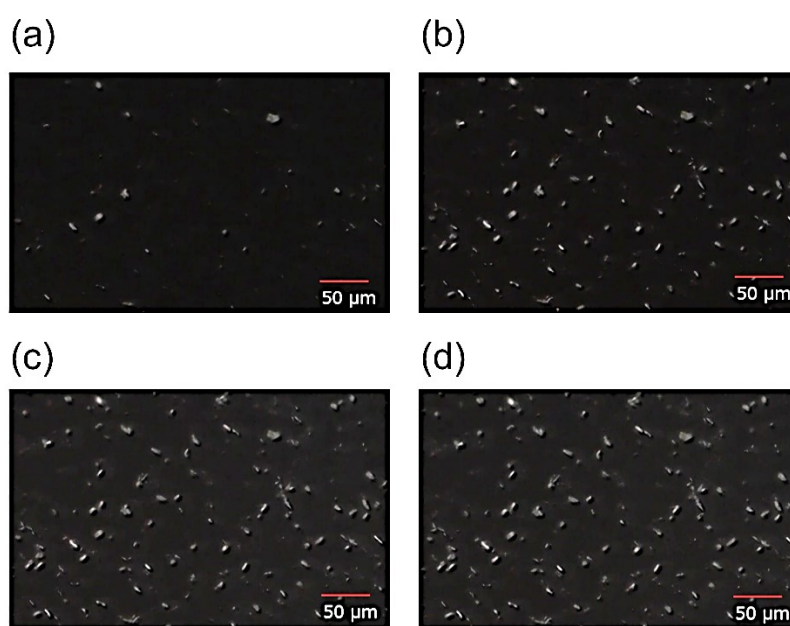


Fig. 5-8 Polarized light microscopic images of cocoa butter containing AMF and lecithin crystallization during holding at 26 °C for 0 min to 90 min: (a) 0 min (b) 30 min (c) 60 min (d) 90 min.



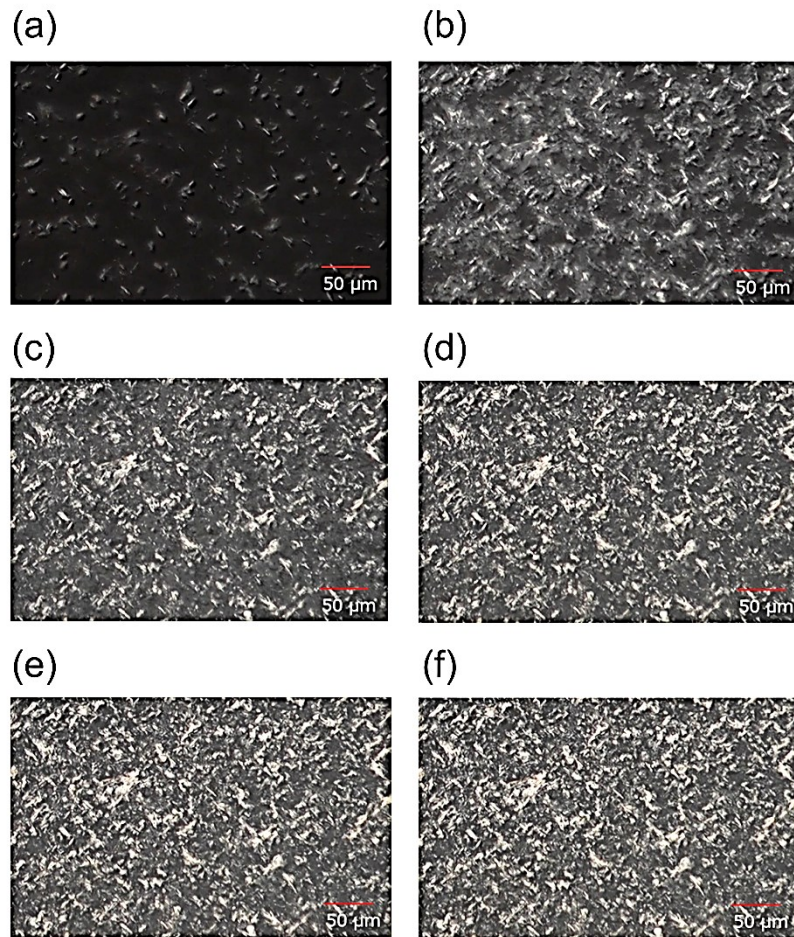


Fig. 5-9 Polarized light microscopic images of cocoa butter containing AMF and lecithin crystallization during holding at 20 °C for 0 min to 50 min: (a) 0 min (b) 10 min (c) 20 min (d) 30 min (e) 40 min (f) 50 min.



## 5.4 考察

本章ではコアバター $\beta$ V 型の融点 (33.8°C) をわずかに上回る温度への曝露後 2 段階の徐冷によって形成されるタイプ 3 の外観を示すファットブルームについて、XRD および各種顕微鏡観察手法を用いてファットブルーム形成過程におけるココアバター結晶変化および表面構造の変化を調べた。

XRD を用いた動的熱条件下でのココアバター多形の調査の結果、 $\beta$ V 型結晶の XRD パターンは 36°C で加熱すると消失し、2 段階の冷却により再結晶したが、その過程で  $\beta$ VI 型や不安定多形の発生は見られなかった。したがって Fig. 3-4 e もしくは Fig. 3-5 d に示すような外観のブルームの発現には実質的にココアバターの結晶多形転移は必須ではないことが明らかとなった。 $\beta$  型を特徴づけるピーク ( $d = 0.458$  nm) は 26°C での予備冷却中に再び出現することが確認された。26°C という温度では、 $\beta$  相は熔融ココアバターから直接結晶化しにくく  $\beta'$  相の結晶化が優先的に生じる<sup>6)</sup>。したがって、ここでは検出不可能なレベルの結晶が加熱ステップ中に残っており、 $\beta$  結晶化のための種結晶として機能していることが予想される。この現象は、ココアバターのいわゆる  $\beta$ -メモリー効果と関連している可能性がある。van Malssen らは、 $\beta$  相のココアバターを融点以上の温度で加熱して得られた熔融物から、25°C での直接的な  $\beta$  再結晶現象である  $\beta$ -メモリー効果について報告している<sup>8)</sup>。 $\beta$ -メモリー効果を狙った温度条件とそこで得られた XRD パターンは、本研究で得られたパターンと非常に似た挙動を示している。

チョコレート中油脂の結晶化挙動を偏光顕微鏡観察では、36°C 加熱後、予備冷却の 26°C 保持中に非常にゆっくりとした速度でわずかに結晶が成長していく様子が確認された (Fig. 5-8)。この際、36 °C の加熱時に微量に残っている結晶性成分の位置とは無関係の箇所から結晶成長が確認されたことから、ここでも検出限界よりも微量のレベルの結晶成分が存在しており、 $\beta$  結晶化のための種結晶として機能していると考えられる。偏光顕微鏡観察および暗視野顕微鏡観察の結果では、いずれも 26°C 保持中に結晶状態および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°C 保持中に結晶が形成されることが確認されており、いずれの結果も時間の経過とともに程度が増していったこと、また第 3 章の結果 (Fig. 3-5) より 26°C 保持の時間が短くなるとファットブルームを形成しなかったことから、予備冷却ステップの数

時間の保持によるこの構造形成はのちのファットブルーム形成との重要な因果関係を示している。さらに、暗視野顕微鏡観察およびチョコレートの疑似断面を用いた観察では、チョコレート表面にファットブルームが形成される様子を捉えることに成功したが、いずれもチョコレートの表層から内部方向への構造変化であり、外側方向への構造変化は確認されなかった。このことは第4章の結果 (Fig. 4-5) ととも一致しており、前章の結果を踏まえるところのステップで生じるファットブルームの本質的な構造は表層部における空隙の形成である。

本研究の一連の結果をもとに、次のようなファットブルーム形成モデルが考えられる (Fig. 5-10)。温度処理前の初期のチョコレートにおいて、ココアバターや乳脂肪などの油脂成分は適切にテンパリングされたチョコレート中に均一に分布している (Fig. 5-10 a)。加熱ステップ中に、低融点油脂画分がチョコレートの表面に現れ、油滴を形成する (Fig. 5-10 b)。その後、チョコレート中のほとんどのココアバターは融けるが、砂糖やカカオ粒子などの固形粒子に加えて固体脂がごく一部融け残るため、チョコレートはかろうじてその形状を維持する (Fig. 5-10 c)。このとき、XRDの結果 (Fig. 5-3) から推察されるように、チョコレートの内部には $\beta$ 型の種となる結晶が検出不能な程度の量融け残っている。その後の予備冷却では融けた油脂のうちの一部のみが結晶化し粗い油脂ネットワークを形成する。このネットワークは数時間の長い時間をかけてゆっくりと形成される。部分的な結晶化により予備冷却後のチョコレートは手で持てる程度の保形性を持つようになるが、温度処理前のチョコレートと比較するとずいぶん軟らかい。このことは、油脂の一部だけが再結晶化し、未固化油脂が多く残っていることを示している。最終的に、残りの未固化の液体油脂は、20°Cの主冷却ステップでチョコレート全体において収縮を伴いながら再結晶化する。その際、液体油脂の一部は、予備冷却ステップで形成された粗い油脂ネットワークによるチョコレート表面付近の骨格構造を取り残して、油脂のみが表面層から内部に移動する。その結果、チョコレートの表面近くで脱油が起こり、空隙の形成によりファットブルームが現れる (Fig. 5-10 e)。一連の温度処理過程における油脂結晶量の推移はXRDのピーク強度やピーク面積の推移からも読み取ることができる。チョコレート中の $\beta$ 型を特徴づけるXRDのピーク面積比 (Fig. 5-3 c) は、予備冷却後と主冷却後でそれぞれ初期の52.33%と80.34%であった。この数値は各ステップにおけるココアバター結晶量の初期値に対する相対的な数値と捉え

ることができ、予備冷却後では融解した油脂の一部のみが再結晶化したことを示唆している。文献値によると、ココアバターの密度は、15°Cで0.96~0.99 g/cm<sup>3</sup>から30°Cで約0.915 g/cm<sup>3</sup>まで低下し、液体状態では0.88~0.90 g/cm<sup>3</sup>となる<sup>9,10</sup>。これは、ココアバターの膨張効果または部分溶融によるものである。したがって、ココアバターの融解または再結晶化は体積変化を開始し、液体油脂の動きの推進力として圧力駆動流を誘発する可能性がある。興味深いことに、3章で得られた結果の通り、35~36°Cに加熱した後の予備冷却ステップ時間が1時間以下で20°Cまで冷却した場合には、視認できるファットブルームは現れなかった。したがって、油脂結晶ネットワークの発達とファットブルームの発生は、加熱ステップおよび予備冷却ステップの温度と時間に強く依存する。予備冷却ステップの介在により、数時間温度が保持されることで結晶ネットワークが形成され、固溶体の相図に沿ってゆっくりと組成が変化する。これにより、融点がやや高い脂肪組成物がゆっくりと再結晶することができる。このようにして、高融点および低融点のココアバター画分の分離が誘導され、緩いネットワークが形成される。対照的に、予備冷却がない場合、発達が不十分な結晶ネットワークと一緒に収縮し、目に見えるブルームは発生しない。それでも、予備冷却が含まれている場合にもかかわらず、37°Cの加熱と27°Cの予備冷却ステップの組み合わせでは、目に見えるファットブルームは見られなかった (Fig. 3-4)。恐らくこの条件の場合、加熱温度が高いため、β形多形の種として機能するのに十分な残留結晶が確保されない。また、予備冷却温度も油脂ネットワークの再結晶化には不十分である可能性がある。そのため、油脂は20°Cの主冷却ですぐに固化し、緩いネットワークを形成することができないであろう。

油滴の出現に関しては、チョコレートの保存中に内部から表面に液滴が噴出することが報告されている<sup>11,12</sup>。これらの報告によると、ブルームの成長は二段階のプロセスであり、最初は液滴が表面に形成され、そこからブルーム結晶が核を形成して成長していくことが示唆されている。チョコレート表面への油の移動は、拡散、毛細管流、および圧力駆動流によって発生することが提案されている<sup>13-15</sup>。これらの報告が対象としている現象は、ココアバターの融点よりも低い比較的穏やかな温度条件下の長期保管中に観察された。一方で、本研究で観察された現象の場合、昇温過程で液滴の出現が見られたが、その後、さらなる加熱により油が表面を覆うほど出てきた。したがって、これらの報告されたメカニズムは、我々の研究ではブルームの発生にほとんど寄与しないか、または加熱の初期段階で非常に短い

期間だけ発生する可能性がある。ここでの主なメカニズムは、加熱溶融による体積膨張によって引き起こされる圧力上昇による液状油の表面への押し出しであると考えるのが妥当である。実際のところ、油滴出現点とその後の薄い茶色が出現する点の間には位置的な相関関係は見られなかった。

油脂含有量が低いことで白化するファットブルームについては、過去にも報告例がある。Lonchamp<sup>16)</sup>らは、ブルームの明るい部分から採取した試料の糖分と油脂の融解エンタルピーから、白っぽい色の部分は油脂を含まず、糖分とココア粒子で構成されていることを報告している<sup>16)</sup>。彼らは、ココアバターが再結晶化し、その後、より安定した多形へと収縮することが、この種のブルーム形成の原因であると考えられていることを提案した。ただし、このようなファットブルームはテンパリングされていないチョコレートや種結晶のないチョコレートに発生することが報告されており、その形態はタイプ2に分類されている<sup>1,2)</sup>。またこの種のブルームは、IV型を介する現象であることが報告されている<sup>4,5)</sup>。一方、本研究で対象とした形態は、Fig. 3-6で示したように、タイプ3である<sup>1,2)</sup>。タイプ3については、Kinta<sup>17)</sup>らにより、液体油の移動によって残されたフォーム $\beta$ VIを含む高融点構造が光散乱に影響を与える可能性のある粗さおよび/または多孔質性をもたらすことが報告されている<sup>17)</sup>。この説明は本研究の結果と一部一致しているが、本研究ではブルーム形成中にはココアバターの $\beta$ VI型への多形転移や不安定多形は観察されなかった。したがって、本研究で明らかになったブルーム形成の本質的な発生機構は、結晶ネットワークの粗大化とその後の液状油の移動にあると考えられる。

本研究の結果では、一連の形成過程で外側方向への構造変化は確認されなかった。それにも関わらず、空隙から成る多孔質構造が表面から内側に向かって形成されたことを考えると、一見するとチョコレートのシステム内での空隙含有量の収支が合わないようにも思える。このことについては、チョコレートが微細な空隙を含む多孔質マトリックスであることから説明が可能である。Loisel<sup>18)</sup>らは水銀ポロシメトリーの手法を用いて、チョコレートが多孔質マトリックスであり、ココアバター液体画分が部分的に満たすようにして存在していることを明らかにした。31.9%のココアバターを含むチョコレートサンプルでは1~4%の範囲の空の空間が存在している<sup>18)</sup>。本研究においては、第4章の疑似断面観測の画像解析の結果、全体に対するブルーム面積の比率は約8.5%を占めていた (Table 4-1)。カカオマス

の油脂含有量が 55%であるため、チョコレート中のココアバターの総重量比は約 30%である。ブルーム部面積にはココアバター、砂糖、カカオ粒子がもともと含まれており、するとブルーム部面積に占めるココアバターの割合はブルーム面積の 30%となるはずである。したがって、ブルーム部のココアバターに該当するのはチョコレート全体の約 2.55%と推定される。これは、Loisel らのデータとよく一致している<sup>18)</sup>。したがって、これらのチョコレート内に多孔質マトリックスとして存在する空隙／間隙は、温度処理による溶融および再結晶の間にチョコレートの表面にチャネルを形成するように再配置されうるであろう。ココアバターの結晶ネットワークは、チョコレート中の再結晶を高密度に誘導する種結晶の役割を果たしている。油脂の結晶化はココアバター結晶の粗いネットワークを通じて全体に広がることになるため、結果的に表面の液状油の枯渇が発生する。液体油脂成分の表面から中心部への移動の証拠は、過去の研究の油脂含量分析でも示されている<sup>17)</sup>。

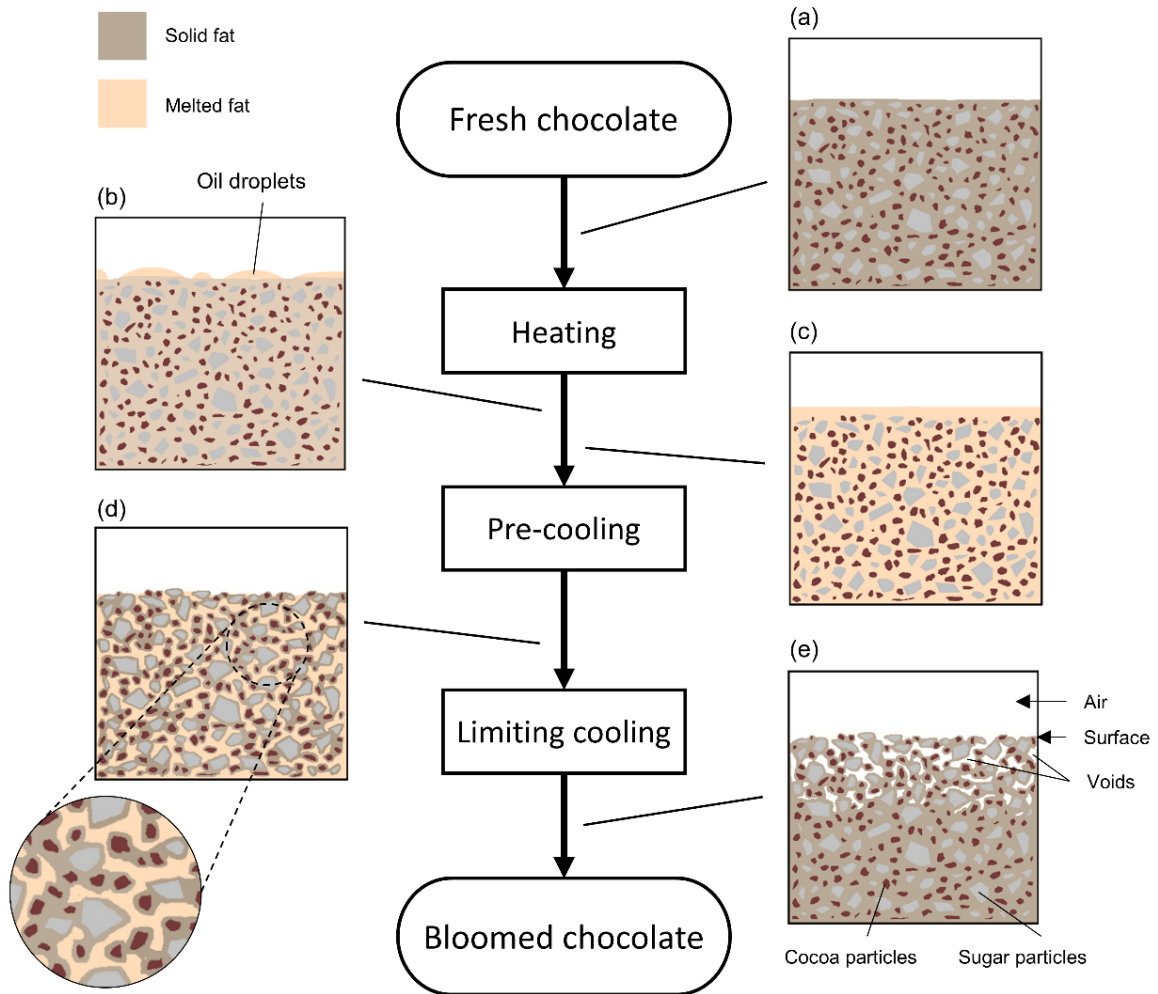


Fig. 5-10 Flowchart and diagram illustrating microstructural changes within chocolate during bloom formation; each image illustrates the cross section of chocolate (a) before heating, (b) at an initial phase of heating, (c) almost melted at heating step, (d) gained shape retention at pre-cooling step, (e) bloomed after limiting cooling. Milk solid particles are not shown.

## 5.5 まとめ

本章では、ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度への曝露後2段階の徐冷によって形成されるタイプ3の外観<sup>15,16)</sup>を示すファットブルームについて、温度処理条件下で結晶多形や表面構造の経時的変化をXRDおよび各種顕微鏡観察により確認した。XRDの結果より、ココアバター多形はブルーム形成の一連の過程を通じて $\beta$ V型であった。つまり、この種の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必須ではないことが明らかとなった。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°C保持中に結晶状態および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°C保持中に結晶が形成されることが確認されており、いずれの結果も時間の経過とともに程度が増していったこと、この時間が短くなるとファットブルームを形成しなくなることから、予備冷却ステップでのこの構造形成はのちのファットブルーム形成との重要な因果関係を示している。さらに、その後の暗視野顕微鏡観察およびチョコレートの疑似断面を用いた観察では、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。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、本質的には表層部における空隙の形成である。

また、第3章、第4章の結果を踏まえ、ファットブルームの発生機構を考察した。ココアバター $\beta$ V型の融点(33.8°C)をわずかに上回る温度への加熱によりチョコレート全体のほとんどのココアバターは融けるが、チョコレートはかろうじてその形状を維持しており、内部には $\beta$ 型の種となる結晶が検出不能な程度の量だけ残っている。その後の予備冷却では融けた油脂のうちの一部のみが粗い油脂ネットワークを形成する。残りの液体油脂画分は最終的に20°Cの主冷却で収縮を伴いながら再結晶化するが、その際に、予備冷却ステップで形成されたチョコレート表面の粗い油脂ネットワークによる骨格構造を取り残して表面から内部に移動する。その結果、チョコレートの表面近くで脱油が起こり、空隙の形成によりファットブルームが現れる。油脂結晶ネットワークの発達とファットブルームの発生は、加熱ステップおよび予備冷却ステップの温度と時間に強く依存する。

日本の夏の暑い気候のような環境では、チョコレートは市場において本章と同様或いは類似の温度条件に晒されうる。実際に類似した形態のファットブルームは市場でも確認さ

れており、このような品質劣化の低減に貢献するには、発生機構の理解と予防的な対策が必要である。工業的には、機能性油脂や乳化時の配合や生産プロセス、製品形態の工夫により油脂結晶化挙動を制御することで対策が可能であろう。そのためには発生機構の理解が必要不可欠である。本研究では、従来重要視されてきた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した。本研究の成果が基礎的知見となり今後の製菓業界や油脂業界のけるさらなる研究と技術開発への貢献につながることを願っている。

## 文 献

1. 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」日本結晶成長学会誌 Vol. 41, No. 4 (2014) pp. 194-204
2. Kinta Y, Hatta T (2012) Morphology of chocolate fat bloom. In: N. Garti & N. Widlak (Eds.), *Cocoa butter and related compounds*. (pp. 195–212). Urbana, IL: AOCS Press.
3. Sato K, Koyano T (2001) Crystallization properties of cocoa butter. In: Garti N, Sato K (Eds.) *Crystallization processes in fats and lipid systems*. (pp. 429–456) New York, USA: Marcel Dekker.
4. Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Vieira J (2009) Fat bloom development and structure-appearance relationships during storage of under-tempered dark chocolates. *Journal of Food Engineering*, **91**:571-581.
5. Zhao H., Young AK, James BJ (2018) Effects of fat polymorphic transformation and non-fat particle size distribution on the surface changes of untempered model chocolate, based on solid cocoa mass. *Journal of Food Science*, **83**:998-1004.
6. van Malssen K, Peschar R, Schenk H (1996a) Real-time X-ray powder diffraction investigations on cocoa butter. I. Temperature-dependent crystallization behavior. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **73**:1209-1215.
7. Bowser A (2006) Crystallization of cocoa butter. *Manufacturing Confectioner*, **86** (9):115–118.
8. van Malssen K, Peschar R, Brito C, Schenk H (1996b) Real-time X-ray powder diffraction investigations on cocoa butter. III. Direct  $\beta$ -crystallization of cocoa butter: Occurrence of a



- memory effect. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **73**:1225–1230.
9. Beckett ST, Fowler MS, Ziegler GR (2017) (Eds.) *Beckett's industrial chocolate manufacture and use, 5<sup>th</sup> edition*. Chichester, UK: John Wiley & Sons.
  10. Altimiras P, Pyle L, and Bouchon P (2007) Structure–fat migration relationships during storage of cocoa butter model bars: Bloom development and possible mechanisms. *Journal of Food Engineering*, **80**: 600-610.
  11. Smith PR, Dahlman A (2005) The Use of Atomic Force Microscopy to Measure the Formation and Development of Chocolate Bloom in Pralines. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **82**:165-168.
  12. Sonwai S, Rousseau D (2008) Fat Crystal Growth and Microstructural Evolution in Industrial Milk Chocolate. *Crystal Growth & Design*, **8**(9):3165–3174.
  13. Rousseau D, Smith P (2008) Microstructure of fat bloom development in plain and filled chocolate confections. *Soft Matter*. **4**:1706-1712.
  14. Dahlenborg H, Millqvist-Fureby A, Brandner BD, Bergenstahl B (2012) Study of the porous structure of white chocolate by confocal Raman microscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **114**:919-926.
  15. Dahlenborg H, Millqvist-Fureby A, Brandner BD, Bergenstahl B (2015) Effect of shell microstructure on oil migration and fat bloom development in model pralines. *Food Structure*. **5**:51-65.
  16. Lonchamp P, Hartel RW (2006) Surface bloom on improperly tempered chocolate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**:159-168.
  17. Kinta Y, Hatta T (2007) Composition, structure, and color of fat bloom due to the partial liquefaction of fat in dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **84**:107–115.
  18. Loisel C, Lecq G, Ponchel G, Keller G, Ollivon M (1997) Fat bloom and chocolate structure studied by mercury porosimetry. *Journal of Food Science*, **62**; 781-788.

## 第6章 総括

本研究では、ココアバターの特異点以上の温度にさらされた後、2段階の冷却により形成されるような全体的に薄い茶色を呈するチョコレートのファットブルームの構造的特徴を明らかにした。これは、熱帯気候または気温の高い夏季がある国や地域で発生する可能性が高い。観察の結果、薄い茶色の部分はチョコレート表面の多孔質構造によるものであり、この多孔質構造はチョコレートの表面から内部へ向かって形成されたものであった。さらに、この現象は、従来報告されていたココアバターの  $\beta$ VI 型への転移あるいは他の不安定結晶からの多形転移が認められないにもかかわらず発生していた。このようなファットブルームの主な機構としては、予備冷却プロセス中の粗いネットワークの形成および主冷却プロセス中の未固化油脂の収縮固化に伴うチョコレート内部への移動により、チョコレート表面層からの脱油が生じ、結果として生じた多孔質表面構造が光の乱反射を通じて白っぽく見えるようになることが考えられる。本研究はチョコレート内部への油脂の移動が、ココアバター結晶多形転移を伴うメカニズムとは無関係にファットブルームを引き起こす可能性があることを初めて示した研究である。このようなファットブルームの出現は、保管中の温度条件によって市場では一般적으로見受けられる。したがって、産業用途におけるチョコレートのファットブルームに関連するこのような品質劣化の低減のためには予防的な対策が急務であり、本研究の成果により、そのようなファットブルームの発生機構の理解および関連する今後の技術開発への貢献が期待される。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導とご高配を賜りました広島大学大学院生物圏科学研究科（現 統合生命科学研究科）上野聡教授，ならびに静岡県立大学食品栄養科学部 本同宏成准教授に厚く御礼申し上げます。研究生活面でもご協力いただきました広島大学食品物理学研究室の皆様および同研究室卒業生の皆様に御礼申し上げます。また，本研究実施の機会を与えていただき外部発表を許可いただきました株式会社明治 伊藤裕之専務取締役，同研究本部谷口茂本部長，同食品開発本部岡屋英二本部長，同生産本部伊田覚副本部長，同技術研究所佐藤祐幸所長に心より御礼申し上げます。最後に，本研究遂行に当たりご助言とご指導をいただき，見守って下さいました株式会社明治 三浦貴裕 G 長，小沢耕介課長，石田晶子 G 長，桧垣薫 G 長，ならびに古谷野哲夫博士に心より謝意を申し上げます。

2021 年 2 月 17 日