



液体油との組み合わせにおける トリアシルグリセロールの結晶化挙動： 液体油の組成が与える影響

吉川 真一¹，金子 文俊²

1 不二製油グループ本社株式会社 未来創造研究所，2 大阪大学大学院 理学研究科

キーワード：トリアシルグリセロール，液体油，混合相挙動，結晶多形，時分割小角・広角 X 線散乱同時測定

1. 測定実施日

2018 年 7 月 31 日 BL8S3 (2 シフト)
2018 年 8 月 1 日 BL8S3 (2 シフト)
2018 年 11 月 9 日 BL8S3 (2 シフト)
2018 年 11 月 13 日 BL8S3 (2 シフト)

2. 概要

チョコレートの主原料油脂であるココアバターの結晶化挙動に及ぼす液体油の影響を調べるため、主要な高融点成分である 1,3-distearoyl-2-oleoyl-sn-glycerol (SOS) に各種低融点トリアシルグリセロール (TAG) を混合し、冷却・加熱過程における結晶化挙動を時分割小角・広角 X 線散乱同時測定により比較した。その結果、飽和脂肪酸を含有する *rac*-1-palmitoyl-2,3-dioleoyl-sn-glycerol (*rac*-POO) または *rac*-1-stearoyl-2,3-dioleoyl-sn-glycerol (*rac*-SOO) を混合すると、SOS の結晶化温度が低下して熱力学的に不安定な結晶を生成しやすくなることが明らかになった。また、このような低融点 TAG は SOS 結晶内に取り込まれるが、POO のように比較的融点が低いものは相分離を起こしやすく、SOO のように比較的融点が高いものは SOS 不安定結晶の安定化プロセスに関与する可能性が示唆された。

3. 背景と研究目的

油脂は、食品、化粧品、調合薬など広範の工業製品の原料として用いられている。主成分である TAG の化学構造はグリセロール骨格に 3 つの脂肪酸が結合し、脂肪酸の組み合わせや結合位置によって融点や結晶化挙動が異なる^[1]。これらの特性は TAG の組み合わせにより複雑に変化し、固化したときの構造や物性も大きく異なる。通常工業的に利用される油脂は複数の TAG を主成分とする多成分混合物であり、熔融液体状態から固化する結晶化プロセスを経て、独特の外観やテクスチャーを形成する。このように TAG の結晶化は油脂含有製品の品質に影響するため、これを制御する方法が長年研究されてきた。

これまで高融点成分に着目した研究が主流となっており、エステル交換による高融点成分の増加や、高融点の TAG、ワックス、乳化剤（ソルビタン脂肪酸エステル等）の添加が結晶化促進に有効な手段として報告されている^[2-5]。一方、結晶化プロセスで固化しない、あるいは高融点成分に遅れて固化する低融点成分に着目した研究は少ない。複数の多成分系油脂を組み合わせた場合において、低融点油脂の TAG 組成や配合量が高融点成分の結晶化挙動に影響する事象を報告した例^[6, 7]はあるものの、その要因を明らかにするための系統的な基礎研究は実施されていない。

そこで本課題では、高融点および低融点 TAG の各 1 成分からなる 2 成分 TAG 混合物をモデルに、冷却加熱過程で生成する結晶を構造化学的に評価することにより、低融点 TAG の種類が高融点 TAG の結晶化挙動に与える影響を調べることにした。TAG 結晶はスケールの大きく異なる周期構造を示し、結晶化、相転移、相分離、融解などの複雑な構造変化が短時間のうちに進行するため、時分割小角・広角 X 線散乱同時測定により構造解析を行なった。

4. 実験内容

2 成分 TAG 混合物の調製

チョコレートの主原料油脂であるココアバターには、高融点 TAG の主要な成分として SOS が約 27% 含まれる^[8]。SOS の結晶化挙動に及ぼす低融点 TAG の影響を調べるため、高純度試薬を加熱溶解混合することにより以下に示す 2 成分 TAG の等量混合物 (v/v) を調製した。各混合物は、窓剤にカプトンフィルム (東レ・デュボン) を用いて、厚さ 1.5mm のアルミ板に設けた直径 2mm の円孔に封入した。なお、記号 S, O, Li, P はグリセロール骨格の 1-3 位に結合する脂肪酸を表し、それぞれステアリン酸 (C18:0)、オレイン酸 (C18:1)、リノール酸 (C18:2)、パルミチン酸 (C16:0) を意味する。

①SOS/OOO = 1/1

②SOS/LiLiLi = 1/1

③SOS/*rac*-POO = 1/1

④SOS/*rac*-SOO = 1/1

SOS ; 月島食品工業、純度 99%

OOO ; Sigma-Aldrich、純度 $\geq 99\%$

LiLiLi ; Sigma-Aldrich、純度 $\geq 98\%$

rac-POO ; Toronto Research Chemicals、純度 99.83%

rac-SOO ; 月島食品工業、純度 99%

時分割小角・広角 X 線散乱同時測定

BL8S3 において、試料位置に設置した冷却加熱ユニット 1033L (Linkam) に各サンプルセルをセットし、60℃10 分保持→毎分 2℃冷却→-20℃→毎分 5℃加熱→60℃の温度変化を与えながら時分割小角・広角 X 線散乱同時測定を実施した。測定は X 線エネルギー 13.5keV (波長 0.092nm)、カメラ長 0.9711m、照射サイクル 6 秒 (露光時間 4 秒) で行い、小角および広角散乱の検出にはそれぞれ PILATUS 100K (Dectris) および Flat Panel を用いた。得られた回折像は FIT2D プログラムにて一次元化した。

5. 結果および考察

冷却により運動性が低下すると、TAG 分子は分子間相互作用により集合体 (クラスター) を形成し、一定の大きさを超えて結晶核となったものは結晶へと成長する。この過程において、分子内の疎水的相互作用により折りたたまれて異方性が大きくなった TAG 分子は平面内で秩序化し、複数の平面が積層したラメラ構造を構築する。その際、分子のパッキング様式に応じて、平面の厚さに依存する積層方向の長周期構造、および平面の水平方向における脂肪酸の配置と密度を反映した短周期構造が変化する (Fig.1)。このため TAG は、同一の化合物に対して複数の結晶構造が存在する多形性を示し、結晶形ごとに熱力学的安定性が異なる^[9]。SOS については、熱力学的に不安定な方から sub- α 、 α 、 γ 、 β' 、 β_2 、 β_1 の 6 つの結晶形が報告されており、それぞれの構造情報を Table 1 にまとめた^[10-12]。これらの情報を参考にして、結果の解析を行なった。

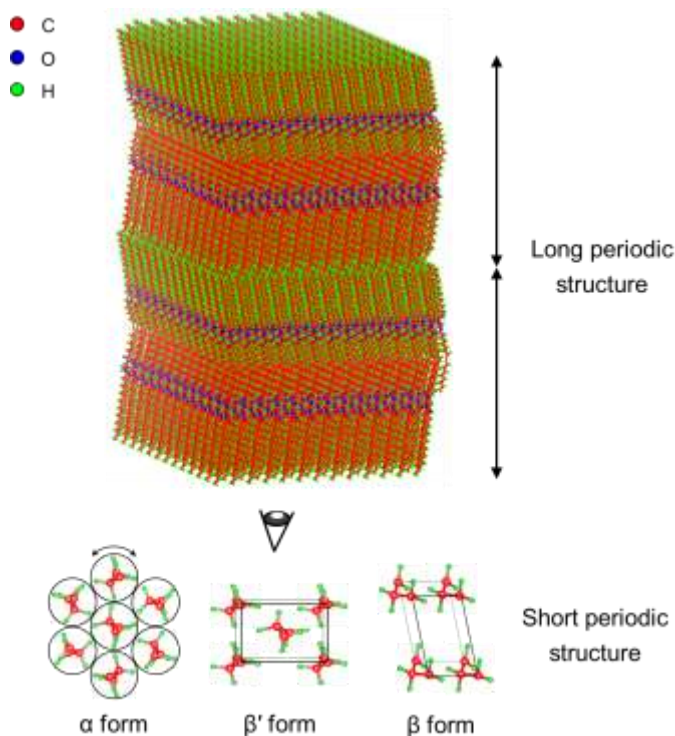


Fig.1 代表的な TAG 結晶構造

Table 1 SOS 結晶の多形と長周期・短周期構造における周期長 (nm)

Polymorphs	Long spacing	Short spacing
sub- α ^[10]	5.00, 2.50	0.42, 0.37
α	5.60 ^[10] (5.3, 5.0) ^[11] , 4.4 ^[11] , 2.80 ^[10]	0.41 ^[10, 11] (0.43, 0.42) ^[11]
γ	7.3 ^[11] , 3.70 ^[10]	0.47 ^[10, 11] , 0.45 ^[10] , 0.39 ^[10, 11]
β' ^[11]	7.1	0.45, 0.44, 0.42, 0.38
β_2 ^[11]	6.6	0.46, 0.40, 0.39, 0.38, 0.37
β_1 ^[12]	6.50	0.458, 0.402, 0.397, 0.385, 0.380

以下には、冷却過程の 25℃から加熱過程の 45℃にかけて 1℃毎に表示した、小角散乱 (SAXS) および広角散乱 (WAXS) のプロファイルを順に示す。TAG 結晶の長周期構造は SAXS 領域に、短周期構造は WAXS 領域に反映され、ピークの $|S|$ 値 ($|S| = q / 2\pi$) の逆数から周期長 d が求められる。

Fig.2 は SOS/000 = 1/1 の測定結果である。SAXS 領域では、冷却過程の 21℃から $|S| = 0.130, 0.276, 0.414 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 7.713, 3.628, 2.416 \text{ nm}$) の 3 ピークが現れ、高 $|S|$ 値側 (広角側) ヘシフトすることにより -20℃では $|S| = 0.145, 0.285, 0.429 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 6.896, 3.506, 2.330 \text{ nm}$) のピークとなった。続く加熱過程では、 $|S| = 0.147, 0.283, 0.425 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 6.806, 3.530, 2.351 \text{ nm}$) へのわずかなピークシフトを観測し、38℃で全てのピークが消失した。いずれのピークも SOS γ 型結晶に帰属され、ピーク強度比の一時的な変化は可逆的な構造変化の可能性を示唆する。加熱過程の -10~5℃付近に見られる $|S| = 0.233 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 4.285 \text{ nm}$) の微小なピーク (Fig.2 黄矢印) は、先行文献^[13]から 000 β_1 または β_2 型結晶の生成によるものと考えられる。WAXS 領域では、 $|S| = 2.130, 2.569 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 0.470, 0.389 \text{ nm}$) のピークに代表される SOS γ 型結晶に特徴的なピークのみを観測した。SOS/LiLiLi = 1/1 は LiLiLi 結晶のピークを示さなかったが、同様の SAXS・WAXS プロファイルを与えた (data not shown)。

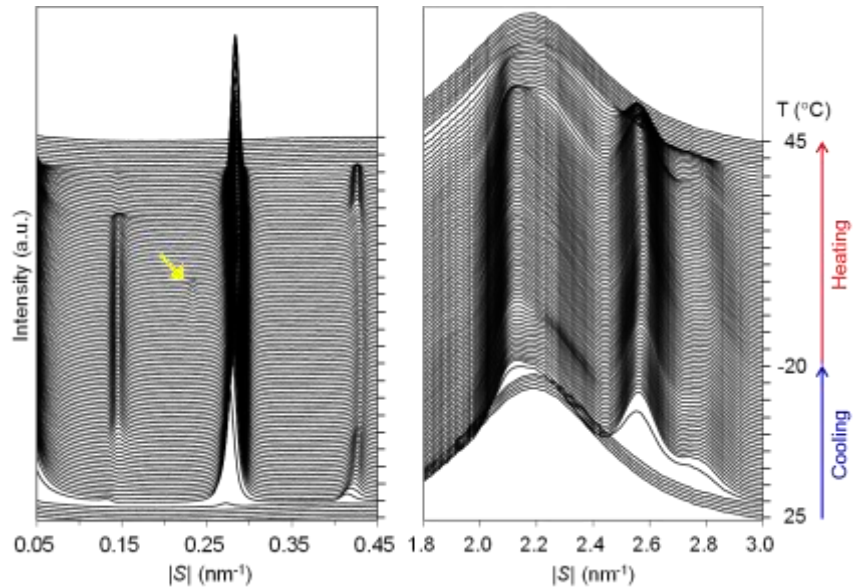


Fig.2 SOS/000 = 1/1 の SAXS (左)、WAXS (右) データ

Fig.3 は SOS/rac-POO = 1/1 の測定結果である。SAXS 領域では、冷却過程の 14℃で $|S| = 0.185, 0.370 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 5.395, 2.705 \text{ nm}$) の 2 ピークが現れ、減衰すると同時に $|S| = 0.274 \text{ nm}^{-1}$ ($d = 3.653 \text{ nm}$) のブロードピークが出現した。これは、SOS α 型結晶の発生とドメインサイズの小さな γ 型結晶への転移を示唆している。SOS/000 = 1/1 と比べて最初のピーク発生温度が 7℃も低いことから、SOS のステアリン酸と POO のパルミチン酸を介した分子間相互作用が SOS 分子のクラスター形成を妨げ、過冷却度の増大が α 型結晶の生成をもたらしたと考えられる。 γ 型結晶のドメインサイズが小さくなったのは、核形成速度の速い α 型結晶がマトリクス内に液体状態の POO を取り込み、そのまま転移したためと推察される。

冷却過程の -10°C から加熱過程の 5°C あたりにかけて $|S| = 0.141\text{ nm}^{-1}$ ($d = 7.084\text{ nm}$) のブロードピークが見られ、先行文献^[14]から POO β'_1 または β'_2 型結晶の生成によるものと思われる。加熱過程の 24°C からは、 $|S| = 0.410\text{ nm}^{-1}$ ($d = 2.439\text{ nm}$) のピーク出現とともに $|S| = 0.274\text{ nm}^{-1}$ のピークが著しく強度を増し、これらのピークは 37°C で消失するまで広角側へシフトした。この現象は、SOS γ 型結晶のマトリクスから融解した POO が排出され、構造の秩序化が進行した可能性を示唆する。WAXS 領域では、SOS γ 型結晶に帰属される $|S| = 2.189, 2.579\text{ nm}^{-1}$ ($d = 0.460, 0.389\text{ nm}$) のピークのほか、SOS α 型および POO β'_1 または β'_2 型結晶のものと思われるショルダーを $|S| = 2.4\text{ nm}^{-1}$ ($d = 0.42\text{ nm}$) 付近に観測した。

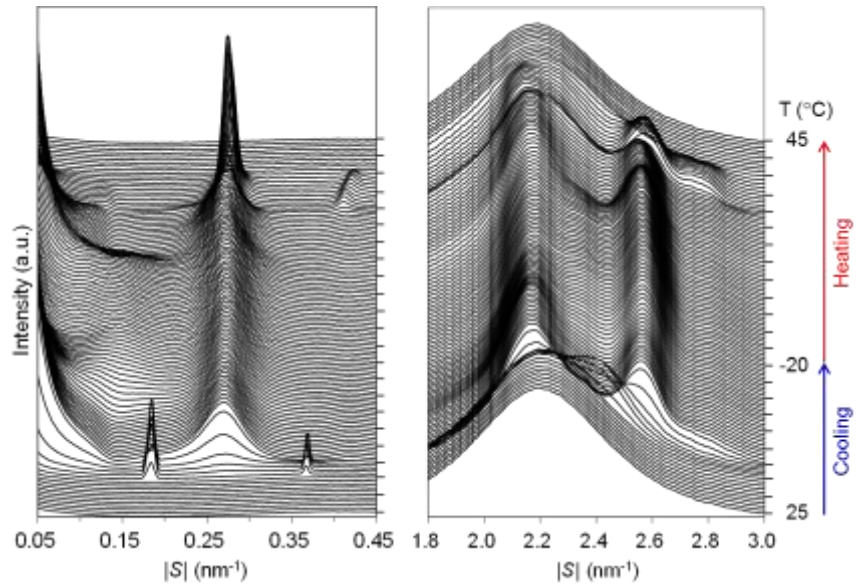


Fig.3 SOS/rac-POO = 1/1 の SAXS (左)、WAXS (右) データ

Fig.4 は SOS/rac-SOO = 1/1 の測定結果である。SAXS 領域では、のちに $|S| = 0.226, 0.266\text{ nm}^{-1}$ ($d = 4.431, 3.759\text{ nm}$) のピークとなる強度上昇を冷却過程の 16°C 付近で認め、最初に SOS α 型および γ 型結晶がほぼ同時に生成したと考えられる。 13°C を下回ると $|S| = 0.149, 0.299\text{ nm}^{-1}$ ($d = 6.718, 3.348\text{ nm}$) の2ピークが新たに出現し、先行文献^[10]から SOO β'_1 または β'_2 型結晶の生成によるものと思われる。加熱過程では、 18°C から 28°C あたりにかけて $|S| = 0.226\text{ nm}^{-1}$ のピークが減衰し、同時に $|S| = 0.149, 0.299\text{ nm}^{-1}$ のピークが強度を増した (Fig.5)。これは、周期構造が類似する SOO 結晶をテンプレートにして、SOS α 型結晶が β_2 型結晶へ転移したことを示唆している。続いて、SOS γ 型結晶の構造変化を示す $|S| = 0.266 \rightarrow 0.276\text{ nm}^{-1}$ のピークシフトが起こり、 36°C で全てのピークが消失した。WAXS 領域では、SOS γ 型結晶に帰属される $|S| = 2.203, 2.551\text{ nm}^{-1}$ ($d = 0.456, 0.392\text{ nm}$) のピーク、および SOO β'_1 または β'_2 型結晶に帰属される $|S| = 2.295, 2.551\text{ nm}^{-1}$ ($d = 0.434, 0.392\text{ nm}$) のピークを観測した。これらの結果から、SOO の影響は次のようにまとめられる。1) ステアリン酸を介した分子間相互作用により、POO 混合時とは異なる長周期構造の SOS α 型結晶が生成した、2) ステアリン酸を介した自己凝集により SOO はドメインサイズの大きな β'_1 または β'_2 型結晶を生成し、SOS の一部が SOO の影響を受けずに γ 型結晶を生成した、3) 上記 SOO 結晶が、SOS 結晶の $\alpha \rightarrow \beta_2$ 転移を誘導した。

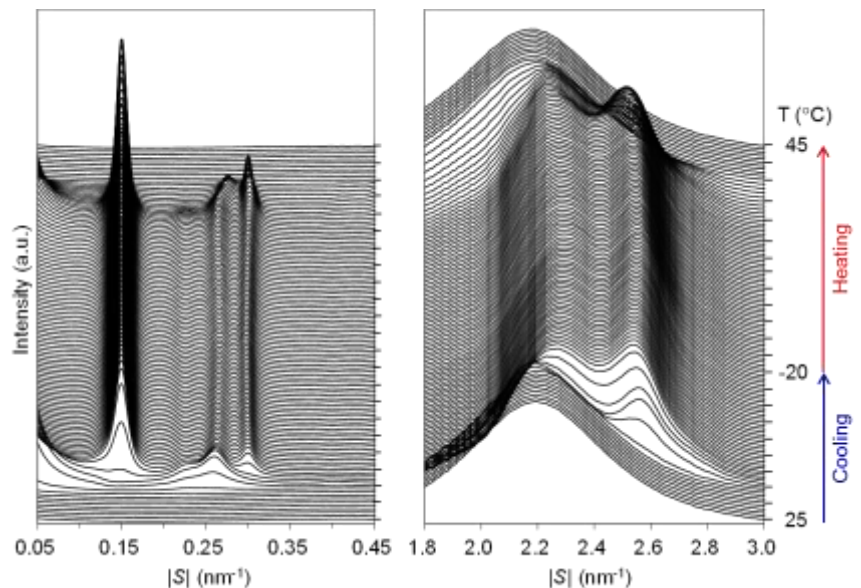


Fig.4 SOS/rac-SOO = 1/1 の SAXS (左)、WAXS (右) データ

6. 今後の課題

今後は、様々な TAG を組み合わせて混合比率や結晶化条件の影響を系統的に研究し、油脂の結晶化制御に有効な低融点 TAG と効果の発現に必要な要素を特定したい。通常工業的に用いられる油脂は複数の TAG を含有するため、将来的には第 3 成分としての TAG の影響も評価する必要がある。2 成分系以上に複雑かつ微小な構造変化が想定されるため、散乱 X 線検出器の高感度化にも期待したい。

実用化に際しては、工業プロセスで使用する多成分系油脂を用いた検証に加え、外観やテクスチャーなどの品質への影響を確認しなければならない。そのためには、スケールや体系の異なる分析手法による多角的な評価が望まれる。

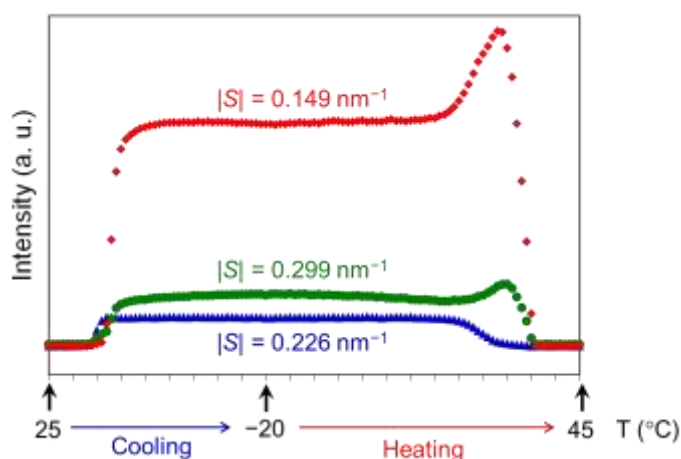


Fig.5 SOS/rac-SOO = 1/1 の SAXS ピーク強度推移

7. 参考文献

1. Marangoni, A. G. In *Structure-Function Analysis of Edible Fats* (ed. Marangoni, A. G.) 1–4 (AOCS Press, Urbana, 2012).
2. Zhang, Z., et al. Solid fat content and bakery characteristics of interesterified beef tallow-palm mid fraction based margarines. *RSC Adv.* **8**, 12390–12399 (2018).
3. Basso, R. C., et al. Tripalmitin and monoacylglycerols as modifiers in the crystallisation of palm oil. *Food Chem.* **122**, 1185–1192 (2010).
4. Kerr, R. M., et al. Crystallization behavior of anhydrous milk fat-sunflower oil wax blends. *J. Agric. Food Chem.* **59**, 2689–2695 (2011).
5. Masuchi, M. H., et al. Effects of sorbitan monostearate and monooleate on the crystallization and consistency behaviors of cocoa butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **91**, 1111–1120 (2014).
6. Danthine, S., et al. Crystallization behaviour of binary fat blends containing shea stearin as hard fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **117**, 1687–1699 (2015).
7. Rothkopf, I. & Danzl, W. Changes in chocolate crystallization are influenced by type and amount of introduced filling lipids. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **117**, 1714–1721 (2015).
8. Beppu, F., et al. Quantification of triacylglycerol molecular species in cocoa butter using high-performance liquid chromatography equipped with nano quantity analyte detector. *J. Oleo Sci.* **62**, 789–794 (2013).
9. Sato, K. In *Crystallization of Lipids* (ed. Sato, K.) 17–60 (Wiley-Blackwell, Oxford, 2018).
10. Zhang, S., et al. Thermal and structural properties of binary mixtures of 1,3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol (SOS) and 1,2-dioleoyl-3-stearoyl-*sn*-glycerol (*sn*-OOS). *J. Therm. Anal. Calorim.* **98**, 105–111 (2009).
11. Ueno, S., et al. Synchrotron radiation X-ray diffraction study of liquid crystal formation and polymorphic crystallization of SOS (*sn*-1,3-distearoyl-2-oleoyl glycerol). *J. Phys. Chem. B* **101**, 6847–6854 (1997).
12. Sato, K., et al. Polymorphism of POP and SOS. I. occurrence and polymorphic transformation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**, 664–674 (1989).
13. Bayés-García, L., et al. Crystallization and transformation of polymorphic forms of trioleoyl glycerol and 1,2-dioleoyl-3-*rac*-linoleoyl glycerol. *J. Phys. Chem. B* **117**, 9170–9181 (2013).
14. Bayés-García, L., et al. Phase behavior of binary mixture systems of saturated-unsaturated mixed-acid triacylglycerols: effects of glycerol structures and chain-chain interactions. *J. Phys. Chem. B* **119**, 4417–4427 (2015).