

レオロジーとラマン分光法を用いたココアバターの結晶化調査

著者

Nathan C. Crawford and Mohammed Ibrahim
Thermo Fisher Scientific
Madison WI, USA

キーワード

ココアバター、結晶化、ラマン分光法、レオロジー、RheoRaman、貯蔵弾性率 G' 、損失弾性率 G''

当社のソリューション

- HAAKE MARS 60レオメーター
- DXR3 Flexラマン分光装置
- RheoRaman Module for Haake MARSレオメーター
- OMNICラマンイメージングソフトウェア

アプリケーションの利点

レオロジーとラマン分光法 (RheoRaman) の同時測定を使用して、ココアバター (CB) の等温結晶化を調査しました。その結果、CBはまず非晶質固体として固化した後、形態が変化して結晶質固体を形成することが確認されました。2つの分析手法を組み合わせることで、非晶質固体から結晶質固体への変化を観察することが可能となります。各手法は単独では単一段階のプロセスを示唆しますが、レオロジーとラマン分光法を組み合わせることで、多相結晶化プロセスが明らかとなり、本技術の優れた分析能力をさらに裏付けています。

はじめに

CBはカカオ豆から抽出される食用植物性脂肪であり、家庭用およびパーソナルケア製品 (軟膏やローションなど) によく使用されます。また、CBはチョコレートの主要成分として、チョコレート菓子内の連続相を形成し、チョコレートの食感、弾力、光沢、溶解性、およびファットブルームに対する耐性に関与しています。これらの物理的特性は、CBに含まれるトリアシルグリセロール (TAG) 組成および全体的な結晶構造に直接依存しています。

一般的に、TAG分子は音叉構造をとり、これらのTAGフォークが集まって結晶格子構造を形成します。結晶化中、CBオイルが冷えるとTAG分子の速度が遅くなり、TAGは互いに接触して静止し、サブ結晶セルと呼ばれるものを形成します¹。

サブ結晶セルが形成されると、それらは熱力学的に駆動されて凝集し、より大きく安定した結晶構造へ発展します²。サブ結晶セル構造の自己組織化とそれらのさらなる凝集は、分子内および分子間の相互作用のバランスによって決まります。分子レベルのパッキングと配向に応じて、CBはさまざまな種類の結晶格子構造 (または多形) を形成できます。一部の結晶構造は他の結晶構造よりも望ましい性質を示すことがあります。総じて、CBの結晶化は非常に複雑な多段階プロセスであり、CBの等温結晶化挙動を理解することは、チョコレート製造プロセスを改善し、製品の品質を維持するために不可欠です。

このアプリケーションノートでは、レオロジーとラマン分光法を組み合わせ、CBの等温結晶化を調査しました。ラマン分光法は、感度が高く、比較的高速で、非破壊的な手法であり、液体と固体、両方のTAGアセンブリーの分子構造と構造、およびTAG内とTAG間の相互作用を調べられます。ラマンスペクトルとレオロジーデータを同時に測定することで、分子レベルの相互作用と構造変化がバルクレベルの粘弾性特性の変化と直接関連していることが分かり、CBの多面的な結晶化挙動に関する独自の知見が得られました。

材料と方法

材料

市販のオーガニックCBは、Inesscents Aromatic Botanicals (米国オレゴン州アッシュランド) から入手しました。

ラマン分光法

ラマン分光測定は、Thermo Scientific™ DXR™3 Flexラマン分光装置を使用して実施しました。サンプルでは532 nmレーザーを使用し、レーザー出力は10 mWとしました。スペクトル範囲は50 ~3,500 cm^{-1} でした。スペクトルは、2秒の露出時間と繰り返し測定で収集しました。データの取得と処理は、Thermo Scientific™ OMNIC™ラマンイメージングソフトウェアを使用しました。ここで取得されたデータについては、本ソフトウェアの時系列収集機能を使用して、所定の時間枠で連続ラマンスペクトル (レオロジー測定と並行して) を収集しました。

レオロジー

レオロジー測定は、ギャップ高さ1 mmの直径35 mmセレイテッドプレートを使用しThermo Scientific™ HAAKE™ MARS™ 60レオメーターを使用して実施しました。セレイテッドプレートは、サンプルとプレートとの界面での滑りを防ぐためのものです。

測定は全て周波数1 Hz、ひずみ 0.1%の振動モードで実施しました。CBサンプルは60 °Cでレオメーターにセットし、セットした際による結晶構造やせん断履歴を消去するために10分間の待機時間を設けました。待ち時間後、温度は10 °C/分の速度で60 °Cから22 °Cに急速冷却しました。その後、温度は22 °Cで120分間一定に保ち、10秒ごとにデータを収集しました。

RheoRamanカップリング

Thermo Scientific™ HAAKE™ MARS™ RheoRamanシステムは、DXR3 Flexラマン分光装置とHAAKE MARS 60レオメーターをThermo Scientific™ RheoRamanモジュールを介して結合した構造です (図1)。DXR3 Flexラマン分光装置は、一連のミラーによって入射レーザーをRheoRamanモジュールへ導く光学トレインを備えており、自由空間結合によりレオメーターと接続されています (図1)。モジュール内では、ミラーによりレーザービームを20倍の対物レンズに導き、レーザー光はサンプルに焦点を合わせました (流れまたは渦面に対して垂直方向)。散乱ラマン光は同じ20倍の対物レンズを使用して収集され、入射レーザーと同じ光学トレインを使用して分光計に導かれ、最終的に分光計内の分光器に到達します (図1)。

サンプルは、サンドブラスト加工されたガラス底板と35 mmセレイテッドプレートの上にセットされ、サンプルとプレートのインターフェースでの滑りを防ぐためのプレートを使用しています。RheoRamanモジュール内の電気加熱によってサンプルの下側から温度制御され、電気フードによって上からも同時に温度制御されることで、サンプル内の温度勾配の可能性を排除しました。サンプルの冷却は、サーキュレーターを用いて実施しました。

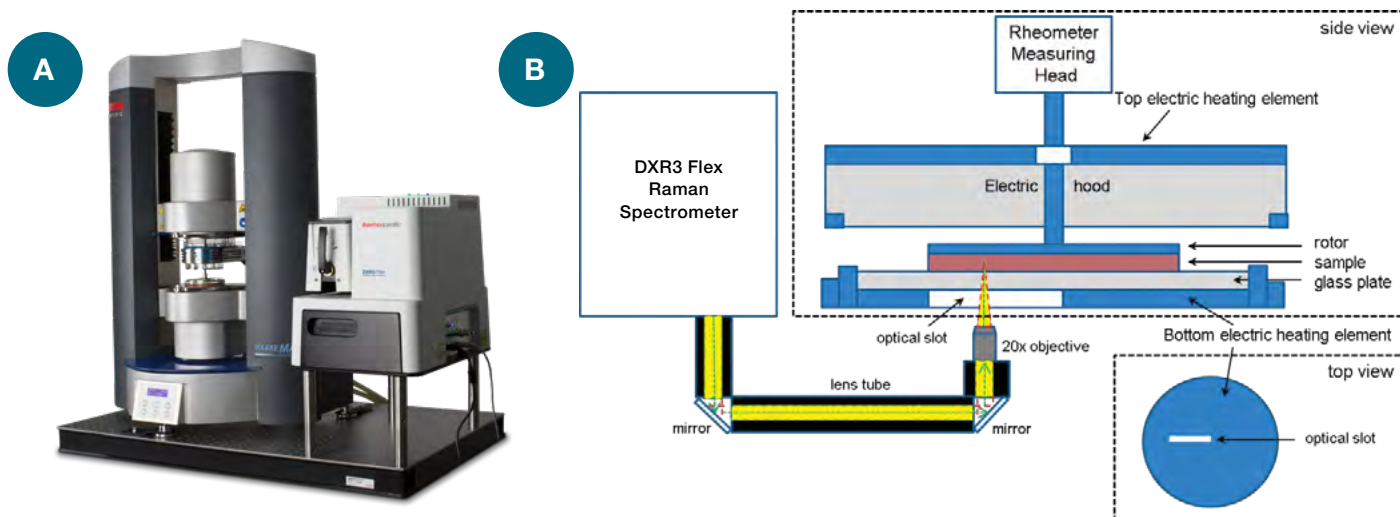


図1. (A) MARS RheoRamanシステム用のRheoRamanモジュール (B) HAAKE MARS RheoRamanシステムの概略図 (レオメーターのサンプルステージの側面図と上面図を表示)

DXR3 Flexラマン分光装置は、レンズチューブとミラーを使用してMARS 60レオメーターに自由空間で結合され、光を20倍の対物レンズに導きます。対物レンズは、入射レーザー (緑の破線) を集光し、レオメーターのステージの上にあるサンプルから出る後方散乱ラマン光 (黄色) を収集します。

結果と考察

ラマン分光法：CB結晶化

500～3,000 cm^{-1} の範囲における液相CB溶融体と結晶固体CBのラマンスペクトルを図2に示します。顕著なラマン特性は、C-H伸縮領域 (2,700～3,050 cm^{-1}) とフィンガープリント領域 (1,000～1,800 cm^{-1}) の両方で観察されました。より具体的には、低ラマンシフト特性にはカルボニル (C=O) が含まれます。

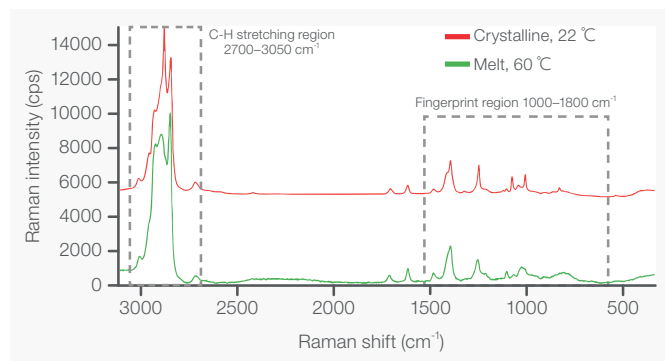


図2. 溶融CBと結晶CBの完全なラマンスペクトル

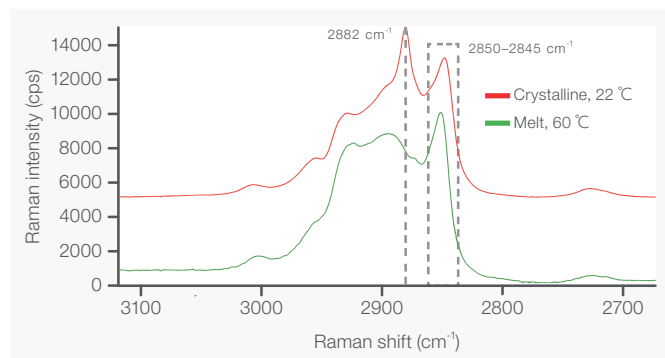


図3. 溶融CBと結晶CBのC-H伸縮領域 (2,700～3,050 cm^{-1}) のラマンスペクトル

C-H伸縮領域ほど強度は高くないですが、指紋領域 (1,000～1,800 cm^{-1} 、図4) では約8つの固有のスペクトル特性が確認されました。CB溶融状態を結晶相と比較すると、最も顕著な変化はC-C伸縮領域 (1,000～1,200 cm^{-1}) で観察されました。伸縮領域 (1,700～1,800 cm^{-1})、約1,655 cm^{-1} のオレフィン (C=C) バンド、CH₃およびCH₂変形 (それぞれ約1,460および1,440 cm^{-1})、CH₂ねじれ領域 (1,250～1,300 cm^{-1})、およびC-C伸縮領域 (1,000～1,200 cm^{-1}) でした。

溶融および固化したCB試料のC-H伸縮領域が図3に強調して表示しています。約2,850 cm^{-1} と2,882 cm^{-1} に2つの強いピークが観測されましたが、これはそれぞれ対称および非対称CH₂伸縮によるものです²。2,850 cm^{-1} の対称振動モードは液体 (溶融) 相で優勢でしたが、2,882 cm^{-1} の非対称振動は固体相で優勢でした。

したがって、2,850 cm^{-1} および2,882 cm^{-1} のバンドは、それぞれ非晶質および結晶質含有量の強力な指標です³。その後、 I_{2882}/I_{2850} ピーク強度比を使用して、RheoRaman測定中に結晶形成を動的に追跡しました。

凝固プロセス中に、1,130 cm^{-1} と1,063 cm^{-1} に2つの明確な特徴が現れました。これは、それぞれ対称および非対称CC伸縮に由来します^{4,5}。溶融段階では、メチルゴーシュ立体配座の無秩序効果により、全てのC-C伸縮バンドは比較的弱く、幅が広くなりました。

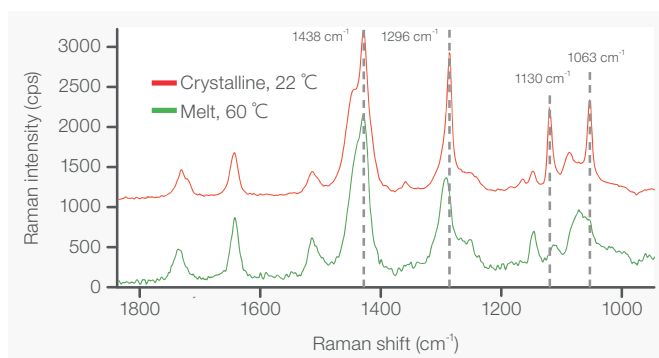


図4. 溶融CBと結晶CBの1,000～1,800 cm^{-1} ラマンスペクトル範囲

しかし、CBが固化すると、バックボーンのメチル基はトランス構造に整列し、1,130 cm^{-1} にピークが現れました。そのため、 I_{2882}/I_{2850} ピーク強度比に加えて、 I_{1130}/I_{2850} スペクトルも使用して、CB内の結晶相転移をRheoRaman測定で追跡しました。

レオロジーとラマン分光法の同時測定 (RheoRaman)

CBの溶融から固体への相転移は、小振幅振動せん断測定を使用してレオロジー的に調べました (図5A)。ここでは、貯蔵弾性率 G' と損失弾性率 G'' が、一定温度22 $^{\circ}\text{C}$ での時間の関数として測定しました。 G' と G'' は、それぞれ材料の弾性挙動と粘性挙動の尺度です。液体のような材料は弾性よりも粘性が高く (粘性優位)、その結果、 G'' は G' よりも大きくなります。反対に、固体のような材料は、粘性挙動よりも弾性挙動 (弾性優位) を示し、 G' は G'' よりも大きくなります。 G' と G'' の全体的な大きさ、およびそれらの大きさの相対的な差 (G''/G' の比率として報告されることが多い) によって、特定の材料の一般的な粘弾性と全体的な変形抵抗が決まります。

G''/G' (図5aの右側のy軸にプロット) の比率は、材料の粘弾性を追跡するために一般的に使用されます。

$$\frac{G''}{G'} = \tan(\delta),$$

ここで、 δ は振動せん断測定中の入力ひずみと出力の応力正弦波 (またはその逆) 間のシフトまたは遅れとして定義される位相角です。「 $\tan(\delta)$ 」という用語は、損失係数または減衰係数と呼ばれることがよくあります。 $\tan(\delta)$ の値が1未満の場合は、弾性が優位 (固体のような) な動作を示し、1より大きい場合は、粘性が優位 (液体のような) な動作を示します。

個々の弾性率とは異なり、 $\tan(\delta)$ は材料の全体的な脆さを定量化するために使用でき、ガラス転移挙動を評価するためによく使用されます。一般に、 $\tan(\delta)$ が小さくなると、 G' が G'' から大きく外れ、材料はより脆くなります (またはガラス状になります)。

22 °Cでの等温保持の初期部分0分から5分の間 (温度が60 °Cから22 °Cに急激に低下した直後)、CBが熔融液体から柔らかい半固体に変化するにつれて、 G' と G'' の両方が増加しました (図5A)。この初期の弾性率の増加は、設定温度とロードされたサンプルの内部温度との間の遅延によるものと考えられます。サンプルが熱平衡に達し、等温設定点22 °Cになると、弾性率は10分から25分まで比較的安定しました。ただし、25分から50分にかけて、 G' と G'' の両方が徐々に増加し始め、50分から80分にかけて弾性率は急速に増加し、 G' と G'' はそれぞれ約5桁、4桁増加しました。弾性係数の急激な増加は凝固プロセスを示しており、CBは柔軟な半固体からより強固な固体に変化します。80分以降、弾性係数の増加は鈍化し、最終的に横ばい状態になり、100分以降はそれ以上大きな変化は見られませんでした。ただし、粘性係数は80分から100分にかけてわずかに横ばい状態になり、100分以降は徐々に減少し始めました。

G' と G'' が増加した際、約65分以降に損失係数 $\tan(\delta)$ の急激な減少が観察されました (図5A、右のy軸)。損失係数の減少は、 G' と G'' の全体的な大きさの偏差を示しています。CBが硬化するにつれて、 G' の増加が G'' の増加を上回り、 $\tan(\delta)$ の減少を引き起こしました。120分間の等温試験の終了時には、 G' は G'' よりも1桁以上大きく、損失係数は0.01に近づき、CBが脆いガラスのような固体に変化したことを示しています。

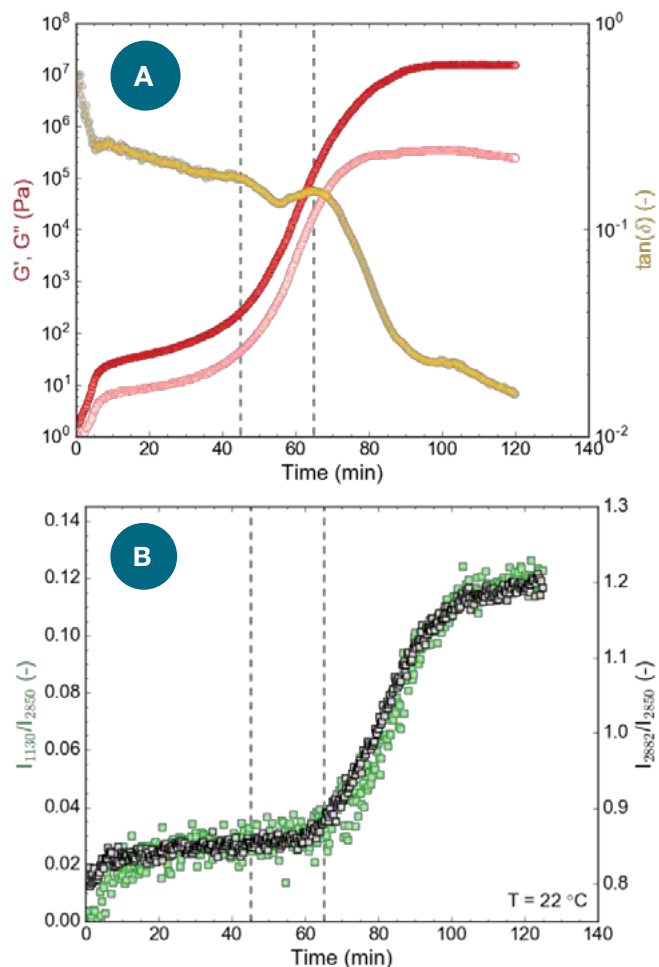


図5. (A) レオロジー： G' および G'' (それぞれ黒丸と白丸、左y軸にプロット) および $\tan(\delta)$ (右y軸にプロット)、および (B) ラマン：22 °Cでの等温結晶化中のCBの I_{1130}/I_{2850} (左 y 軸、緑) および I_{2882}/I_{2850} (右y軸、黒) ピーク強度比

45分での垂直破線は G' および G'' の増加を示し、65分での破線は $\tan(\delta)$ の減少とラマン比の増加を示します。

観察されたレオロジー挙動は、レオロジーとラマン分光法を同時に用いたことでさらに明らかにされました (図5B)。最初は、等温研究の最初の約65分間、 I_{1130}/I_{2850} および I_{2882}/I_{2850} ピーク強度比は両方とも変化しませんでした。その後、約65分で I_{1130}/I_{2850} および I_{2882}/I_{2850} 比の急激な増加が始まり、CB内に結晶構造が形成されたことを示しています。CBがさらに結晶化するにつれて、両方のスペクトルは65分から100分まで増加し続けました。100分を超えると、両方のラマン特性の増加は穏やかになり、ピーク強度比は安定し始めました。

全体的に、 $1,130\text{ cm}^{-1}$ および $2,882\text{ cm}^{-1}$ スペクトル比の増加率は、 G' および G'' の両方の変化率と類似しており、同様の傾きで増加しました。ただし、 G' および G'' の顕著な上昇とラマン強度比の増大との間には、15～20分の顕著な遅れが見られました。 G' および G'' の急激な上昇は、変形に対する抵抗の増加、すなわちCBのバルク固化を示しており、凝固プロセスの開始を意味します。一方、ラマンスペクトルマーカーは、結晶形成の指標と考えられます。したがって、レオロジープロファイルとラマンプロファイル間の時間遅延は、CBが最初に非晶質固体に固化し、その後、非晶質から結晶質固体に変化することを示唆しています。この形態学的変化は、結晶CB構造 ($1,130\text{ cm}^{-1}$ および $2,882\text{ cm}^{-1}$ ピーク) に対応するラマンバンド強度のその後の増加として観察されました。レオロジープロファイルとラマンスペクトルプロファイルの時間的分離は、CBのバルク硬化と結晶ドメインの形成が明確に区別されていることを示しています。

さらに興味深いことに、ラマンスペクトル特性の増加 (I_{1130}/I_{2850} および I_{2882}/I_{2850}) は、観測された $\tan(\delta)$ の減少と直接関連していました (図5)。損失係数は材料の脆さの指標であり、結晶構造は一般に脆いことが知られています。したがって、分子レベルでの結晶ドメインの形成 (ラマンで示される) がCBの全体的な脆さと一致することは理にかなっています。このことから、損失係数は、 G' および G'' 単独よりもバルクCB結晶化のより明確な指標となる可能性があります。

まとめ

レオロジーとラマン分光法の同時測定を使用して、CBの等温結晶化を調べました。このマルチモーダル分析技術により、CBのバルクの機械的特性 (G' 、 G'' 、および $\tan(\delta)$) を分子レベルの構造変化 ($2,882\text{ cm}^{-1}$ の $\nu_s(\text{CH}_2)$ モードおよび $1,130\text{ cm}^{-1}$ の $\nu_s(\text{C-C})$ モード) とリアルタイムで直接関連させることが可能となりました。急速冷却 ($10\text{ }^\circ\text{C}/\text{分}$) 後、一定温度 $22\text{ }^\circ\text{C}$ では、レオロジー応答 (G' および G'') とラマンスペクトルプロファイルの間に明確な時間差が観察されました。この時間差は、CBが最初に非晶質固体に硬化して結晶化したことを示しています。これは、 G' および G'' の急激な増加によって示されました。一方ラマン特性は変化しませんでした。

その後、非晶質固体は形態変化を起こして結晶固体を形成し、これは結晶CB構造に関連するラマン特性の増加 ($1,130$ および $2,882\text{ cm}^{-1}$) によって示されました。もしこれら2つの分析技術を単独で用いた場合、この非晶質から結晶質への転移過程は検出されなかったと考えられます。すなわち、各手法単独では、単一段階のプロセスは示唆されますが、2つの手法を組み合わせることで初めて、多相結晶化プロセスを明瞭に捉えることが可能となりました。この実験はCBの等温結晶化に焦点を当てていますが、ここで適用された基本原理は、ゲル化、重合、硬化挙動、およびその他のせん断誘起現象を含む幅広い材料プロセスへの適用が期待されます。

参考文献

1. K. Sato, Crystallization of Lipids: Fundamentals and Applications in Food, Cosmetics, and Pharmaceuticals. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2018.
2. S. Bresson, D. Rousseau, S. Ghosh, M. El Marssi, and V. Faivre, Raman spectroscopy of the polymorphic forms and liquid state of cocoa butter, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 113, 992–1004, 2011.
3. R. G. Snyder, H. L. Strauss, and C. A. Elliger, C–H stretching modes and the structure of n-alkyl chains. 1. Long, disordered chains, J. Phys. Chem. 86, 5145–5150, 1982.
4. R. J. Meier, Studying the length of trans conformational sequences in polyethylene using Raman spectroscopy: A computational study, Polymer. 43, 517–522, 2002.
5. M. Zheng and M. Du, Phase behavior, conformations, thermodynamic properties, and molecular motion of multicomponent paraffin waxes: A Raman spectroscopy study. Vib. Spectrosc. 40, 219–224, 2006.

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/Raman または thermofisher.com/rheology

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2025 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc MC513-A25120B

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

お問い合わせはこちら thermofisher.com/contact

thermo scientific