

# カルシウム強化脱脂粉乳の調製法に関する研究

鹿児島大学農学部 教授 青木 孝良

## 要 約

脱脂粉乳の需要を拡大することを目的として、6種のカルシウム素材、炭酸カルシウム、乳清カルシウム、クエン酸カルシウム、乳酸カルシウム、グルコン酸カルシウムおよびカゼインホスホペプチドカルシウム塩（CPP）で強化した還元脱脂乳の特性、レンネット凝固性および脱脂乳の熱安定性を調べた。なお、カルシウムの強化レベルは還元脱脂乳100gに対して25、50および100mgとした。炭酸カルシウムと乳清カルシウムは還元脱脂乳中でほとんど溶解せず、カゼインミセルの特性に及ぼす影響も極めて小さかったが、カルシウム強化レベルとともに熱安定性を向上させた。クエン酸カルシウムも還元脱脂乳にほとんど溶解しなかったが、熱安定性の向上効果を示さなかった。グルコン酸カルシウムと乳酸カルシウムの強化は還元脱脂乳の可溶性カルシウム濃度を上昇させ、乳タンパク質の不溶化を引き起こし、25mgのカルシウム強化でもレンネット凝固および熱凝固を著しく促進した。CPPは還元脱脂乳中の溶解性が優れていたが、Solubility indexにほとんど影響を及ぼさず、カゼインミセルの特性に及ぼす影響も小さかった。また、CPPで25mgのカルシウムを強化した場合、レンネット凝固性や熱安定性に及ぼす影響は小さかった。

これらのことから、カルシウム素材の選択次第で、還元脱脂乳中での溶解性がよく、カゼインミセルを不安定化させないでカルシウム強化が可能であることが示唆された。

## 1. 目的

現在日本では脱脂粉乳の生産量が需要を上回り、過剰在庫が大きな問題になってきている。脱脂粉乳の在庫を減少させるためには、脱脂粉乳の需要を拡大することが不可欠であるが、需要拡大の一つの方策として脱脂粉乳に付加価値を付けることが上げられる。

日本人成人の1日のカルシウムの所要量は600mgとされているが、平成11年度に発表された第六次改訂日本人の栄養所要量によれば、生長期ではこれよりも多くの摂取が必要で、例えば12～14歳の男子では1日に900mg、15～17歳の男子では800mg以上の摂取が必要である<sup>1)</sup>。一方、国民栄養調査結果によると、日本人のカルシウム摂取量は飽食と言われるようになってからもその所要量を充足していない<sup>2)</sup>。1955年の日本人の1日当たりのカルシウム摂取量は約350mgであったが、戦後の経済発展とともに改善され、1970年頃には550mgまで増加した。しかし、その後他の栄養素の摂取量は増加したが、カルシウムの摂取量は横ばいでこれまでに一度も成人の所要量である600mgを満たしたことがない。カルシウムの摂取不足が叫ばれるようになって久しいが、カルシウムについては常に摂取を心掛けないと所要量を充足できないということであろう。

カルシウム不足は骨粗鬆症、骨折、そして寝たきりに繋がることから社会問題とさえ言われてい

る。牛乳はカルシウム含量が高いだけでなく、カルシウムの吸収率も高く<sup>3)</sup>、その生体利用性も優れている<sup>4,5)</sup>。脱脂粉乳の新規需要開拓の手段として、カルシウム強化脱脂粉乳が考えられる。しかし、どのような形態のカルシウム剤で強化するかが問題である。これまで様々なカルシウム素材が開発されており、これを利用したカルシウム強化乳が販売されている。しかし、添加されたカルシウム素材が牛乳中でどのような挙動をとり、牛乳に対してどのような影響を及ぼすのかは未だ十分に明らかにされていない。

本研究では、種々のカルシウム素材で強化した還元脱脂乳中のカルシウムや無機リン酸の挙動、カゼインの特性、レンネット凝固性および熱安定性を調べた。

## 2. 材料および方法

### 2.1. 材料

#### (1) 脱脂粉乳

南日本酪農共同組合株式会社（宮崎県都城市）から提供された生乳を25℃、1000×gで15分間遠心分離して得られた脱脂乳を凍結乾燥した。これを生脱脂粉乳（生脱粉）とした。mediumu heat タイプ脱脂粉乳（M脱粉）、high heatタイプ（H脱粉）は明治乳業株式会社で製造されたものを用いた。

#### (2) カルシウム素材

炭酸カルシウム、クエン酸カルシウム、グルコン酸カルシウムおよび乳酸カルシウムは、ナカライテスク株式会社製の特級試薬を用いた。乳清カルシウムはNZMP社（ニュージーランド）のALAMIN996を、ホスホペプチド（CPP）カルシウム塩は明治製菓株式会社のCPP-Ⅲを使用した。なお、乳清カルシウムおよびCPPのカルシウム含量はそれぞれ28.5%および4.55%であった。

#### (3) レンネット

クリチャンハンセン社（オーストラリア）製の液状のダブルストレングススタンダードカーフレンネット290（酵素活性：2901MCU）を用いた。

### 2.2. 実験方法

#### (1) 還元脱脂乳の調製

各種粉乳9.0 gを91.0 gの純水に溶解した。この還元脱脂乳100 gに対して各種カルシウム剤をカルシウムが25、50および100mgになるように添加して5℃で一夜攪拌して分散あるいは溶解させた。その後25℃で4時間保持し、分析に供した。

#### (2) 低速の遠心分離で沈降しないカルシウムの定量

カルシウム強化還元脱脂乳を3000rpm（1000×g）で15分間遠心分離し、上部層を分離し、そのカルシウムを原子吸光法<sup>6)</sup>で定量した。

#### (3) 還元脱脂乳の可溶性カルシウム、無機リンおよび可溶性カゼインの定量

還元脱脂乳を25℃で4時間保持した後、25℃、100,000×gで1時間超遠心分離した。上澄液に終濃度が12%トリクロロ酢酸（TCA）になるように15%TCAを加え、濾過した。得られた濾液を用いて、カルシウムを原子吸光法<sup>6)</sup>、無機リンをChen et al.の方法<sup>7)</sup>で定量した。

超遠心上澄液と非カゼイン態（pH 4.6で可溶）タンパク質をLowry法<sup>8)</sup>で定量した。両者の差を可溶性カゼイン量とした。

#### (4) カゼインミセルのHPLC

超遠心分離で得られたカゼインミセルを6M尿素と2-メルカプトエタノールで溶解還元後、溶離液として6M尿素を含む人工乳清（USMF）を用い、TSKgel G4000SWXLカラム（7.5mm×30cm）で分析した<sup>9)</sup>。試料は、上述の超遠心分離で得られたカゼインミセルをUSMFに溶解し、カゼイン濃度を2.4%に調整し、さらに10mMになるように2-メルカプトエタノールを添加して1夜25℃に保持した。カラムへの注入量は25μLとし、流速は0.5mL/mlで行った。

#### (5) Solubility index (SI) の測定

American Dairy Products Institute（American Dairy Milk Industry）Methodを一部修正して行った。300gの還元脱脂乳を60℃で1時間攪拌した後、室温まで冷却した。次いで25℃で1時間攪拌し、これを50mLずつ4本のSI用ガラス遠沈管に入れ、200×gで5分間遠心分離した。沈殿の上部2mL上までの沈殿物を含まない液を取り除き、25mLの純水を入れて沈殿物を分散させ、さらに50mLになるように純水を入れた後、再び200×gで5分間遠心分離した。沈殿物の容量（mL数）をSI値とした。

#### (6) レンネット凝固性の測定

30℃に保持した還元脱脂乳5mLに10倍希釈したレンネット溶液50μLを添加して、凝固物が肉眼的に観察されるまでの時間を測定した。測定は各試料について3回行い、その平均値で表示した。

#### (7) 熱安定性の測定

還元脱脂乳2.2mLを内径6mm、外径8mm、長さ12cmのガラス管に封入した。このガラス管を140℃の油槽中で1分間に8サイクルでロッキングさせ、ガラス管内の還元脱脂乳中に凝固物が肉眼的に観察されるまでの時間を熱凝固時間とした<sup>10)</sup>。測定は各試料について3回行い、その平均値で表示した。

## 4. 結果

### 4.1. カルシウム強化が還元脱脂乳の性状および特性に及ぼす影響

生脱粉から調製した還元脱脂乳100gに対して、炭酸カルシウム、乳清カルシウム、クエン酸カルシウム、乳酸カルシウム、グルコン酸カルシウムおよびCPPを用いて、カルシウムとして50mgおよび100mg強化して、カルシウムと無機リン酸の分布、可溶性カゼイン量およびカゼインミセル中のミセル性リン酸カルシウム（MCP）架橋カゼイン会合体量を調べた。

強化したカルシウム素材の還元脱脂乳における溶解・分散の状態を調べるために1000×gで沈降しないカルシウム濃度を測定した。水に対する溶解度の低い炭酸カルシウムおよび乳清カルシウムは、50mgおよび100mgのカルシウムを強化しても1000×gで沈降しないカルシウム濃度の増加は僅かであった（図1）。また、クエン酸カルシウムで強化した場合もこの増加は僅かであった。このことは、これらのカルシウム塩は還元脱脂乳中で溶解しないで沈殿していることを意味している。これに対して、乳酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、CPPによる強化では、強化したカルシウムは溶解し、1000×gで沈降しないカルシウムは強化量に対応して増加した。しかし、乳酸カルシウムおよびグルコン酸カルシウムで強化した還元脱脂乳のカルシウムも一部は沈殿となった。これは、後述するように、カゼインミセルが一部不安定化して沈殿したためである。CPP強化還元脱脂乳では、ほとんど全てのカルシウムが可溶化した。

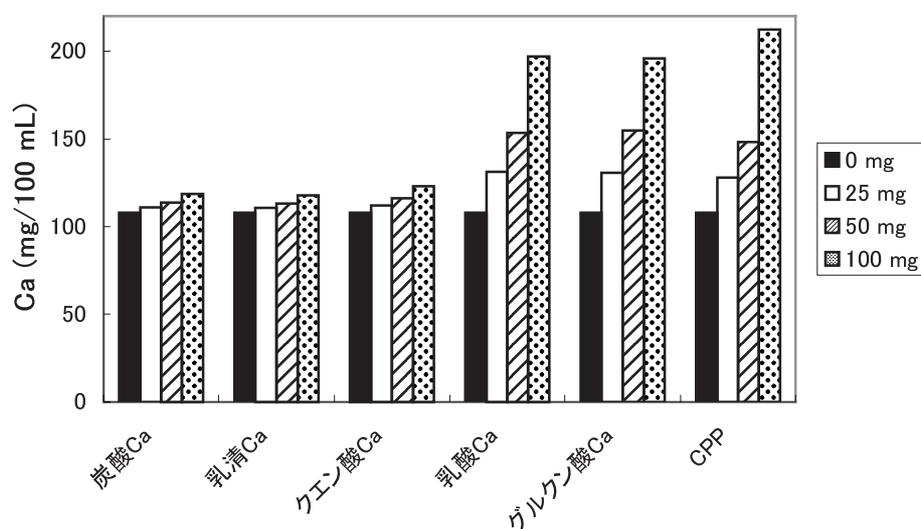


図1. カルシウム強化還元脱脂乳の1000×gで沈降しないカルシウム濃度

還元脱脂乳におけるカルシウムと無機リンの分布を調べるために、カルシウム素材で強化した還元脱脂乳を超遠心分離して上澄液（溶解相）とカゼインミセルとに分けた。生脱粉の還元脱脂乳100mLには112.2mgのカルシウムと60.5mgの無機リンが含まれていたが、溶解相のカルシウムと無機リン濃度はそれぞれ37.6mgと40.5mgであった（図2、3）。炭酸カルシウム、乳清カルシウムおよびクエン酸カルシウムで強化した還元脱脂乳では、溶解相のカルシウム濃度は未強化のそれと大差なかった。乳酸カルシウム、グルコン酸カルシウムおよびCPP添加還元脱脂乳ではカルシウムの強化量が多くなるとともに、溶解相のカルシウム濃度も高くなったが、その上昇はCPP強化還元脱脂乳で最も高かった。溶解相の無機リン濃度は、カルシウム素材の添加では低下したが、特にグルコン酸カルシウムと乳酸カルシウムの強化で顕著であった（図3）。この溶解相の無機リン酸の低下は、強化したカルシウムと還元脱脂乳中に存在していた可溶性の無機リン酸とが塩を形成しコロイド相に移行したためであると考えられる。

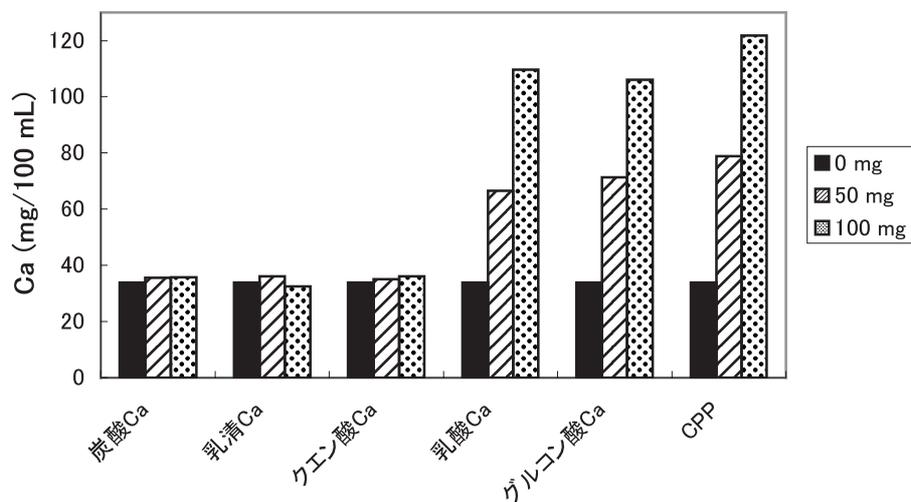


図 2. カルシウム強化還元脱脂乳の溶解相のカルシウム濃度

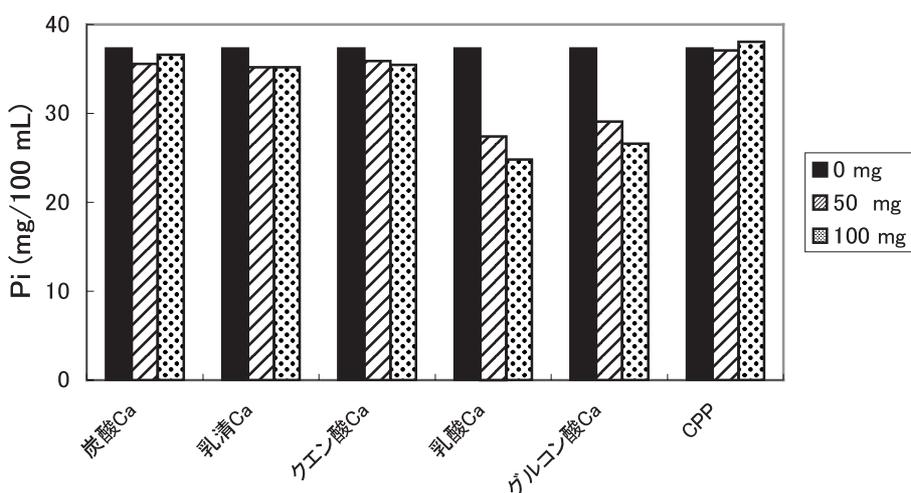


図 3. カルシウム強化還元脱脂乳の溶解相の無機リン (Pi) 濃度

生脱粉からの還元脱脂乳には100mL中に190mgの可溶性カゼインが含まれていた(図4)。炭酸カルシウムおよび乳清カルシウムによる強化は僅かに可溶性カゼイン量を増大させた。これはこれらに塩を強化することによりpHが僅かに増加したためと思われる。クエン酸カルシウムの強化は僅かに可溶性カゼインを減少させた。ガルコン酸カルシウムおよび乳酸カルシウムによる強化によって、可溶性カゼイン濃度が著しく減少した。これは溶解相のカルシウム濃度が高くなり、可溶性カゼインが会合しミセルへ移行したためである。CPP強化による可溶性カゼイン量の減少は、乳酸カルシウムおよびガルコン酸カルシウムによる強化の場合より小さかった。

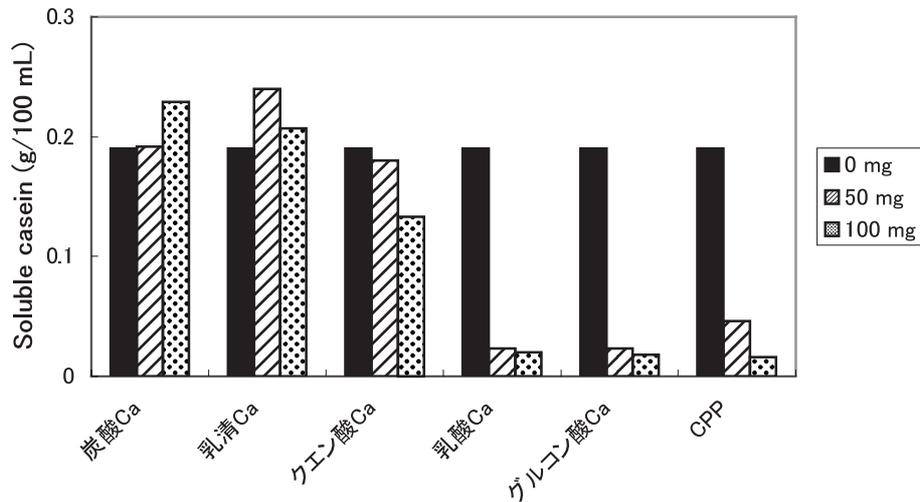


図4. カルシウム強化還元脱脂乳の可溶性カゼイン濃度

還元脱脂乳への各種カルシウム素材の強化がカゼインミセルに及ぼす影響を調べるため、カゼインミセルを6M尿素で解離後、溶離液としてUSMFを用いてゲル濾過モードHPLCを行った。図5に示すように、速く溶出するF1画分と遅く溶出するF2画分に分かれ、カゼインミセル溶液にEDTAを添加するとF1は消失した。F1はMCP架橋カゼイン会合体、F2はカゼインカルシウムの単量体から構成される<sup>9)</sup>。チャートのピーク面積からカゼインミセル中のF1含量を求めた。生脱粉からのカゼインミセルのF1含量は54.5%であった。炭酸カルシウム、乳清カルシウムおよびクエン酸カルシウムによる強化はF1の溶出パターンおよびF1含量に大きな影響を及ぼさなかったが、乳酸カルシウムおよびグルコン酸カルシウムで100mgのカルシウムを強化すると、F1含量はそれぞれ61.6%と61.1%へ増大した(図5 F、G)。これに対して、CPPで100mgのカルシウムを強化してもそのF1の溶出パターンの変化は小さかった(図5 H)。

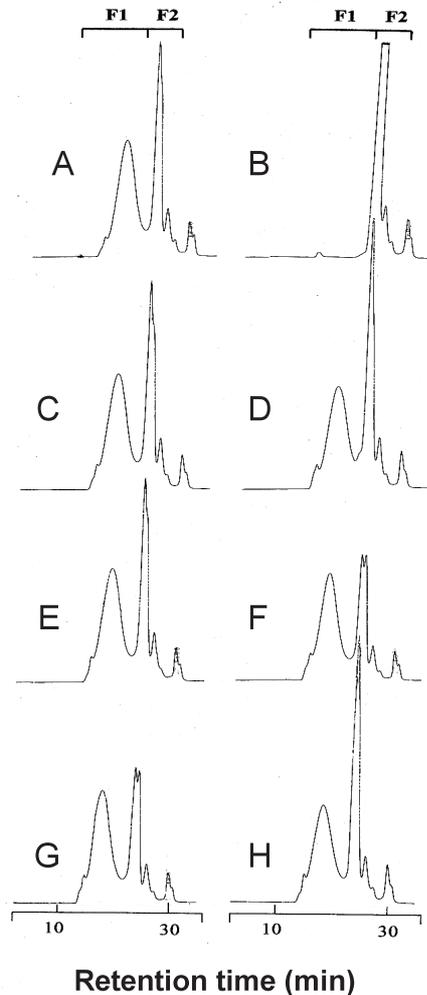


図5. カルシウム強化還元脱脂乳のカゼインミセルのHPLCパターン. A, Ca無強化; B, A+EDTA; C, 炭酸Ca; D, 乳清Ca; E, クエン酸Ca; F, 乳酸Ca; G, グルコン酸Ca; H, CPP.

## 4.2. Solubility index (SI)

図6に、各種カルシウム素材で強化したM脱粉の還元脱脂乳のSIを示した。SI値は沈殿あるいは不溶物のmL数で表されているので、この値が小さい程溶解性が優れていおり、この値が大きいものは溶解性が劣ることを示している。グルコン酸カルシウムと乳酸カルシウムで強化した還元脱脂乳のSI値はカルシウム強化量の増大とともに著しく増大した。この増大は乳タンパク質の不溶化によるものである。また、炭酸カルシウム、乳清カルシウムおよびクエン酸カルシウムの強化によってもSIがやや高くなっているが、この増大は強化したカルシウム素材の沈殿によるものと思われる。CPPで強化した場合は、SI値の増大はほとんど認められなかった。

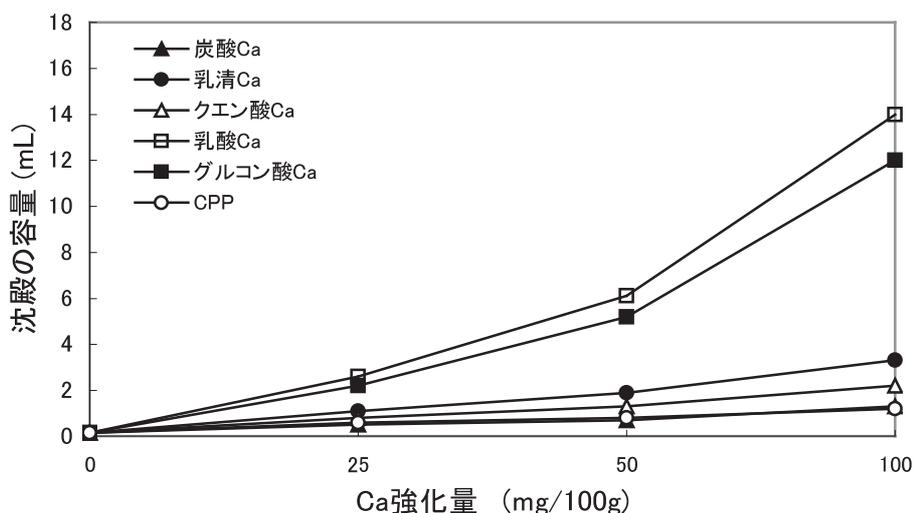


図6. カルシウム強化還元脱脂乳のSolubility Index

## 4.3. レンネット凝固性

各種カルシウム素材で強化したM脱粉およびH脱粉の還元脱脂乳のレンネット凝固性を図7に示した。カルシウムを強化していないM脱粉およびH脱粉の還元脱脂乳のレンネット凝固時間は、それぞれ16分59秒および55分41秒で、H脱粉の方がレンネット凝固時間が長かった。炭酸カルシウム、乳清カルシウム、クエン酸カルシウムの添加によってレンネット凝固時間がやや短くなったが、その程度は小さいものであった。また、これらカルシウム素材のレンネット凝固時間の短縮に及ぼす影響はMおよびH脱粉において同じような傾向を示した。乳酸カルシウムとグルコン酸カルシウムの添加は著しくレンネット凝固性を向上させた。CPPによる強化はMおよびH脱粉の還元脱脂乳のレンネット凝固時間を短縮させたが、凝固時間は25mg強化M脱粉で17分40秒、100mg強化で4分3秒であった。CPPによる強化が還元脱脂乳のレンネット凝固に及ぼす影響は比較的小さいものであった。

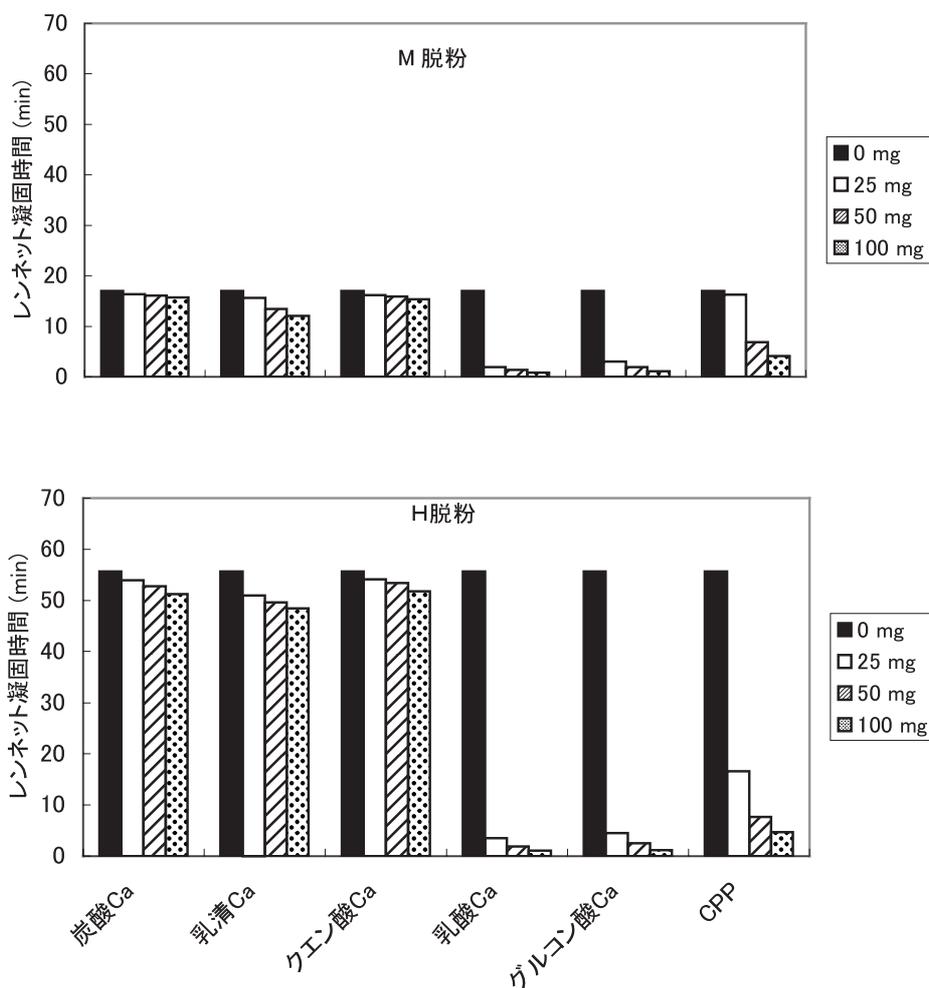


図7. MおよびH脱粉の還元脱脂乳のレンネット凝固時間

#### 4.4. 熱安定性

各種カルシウム素材で強化したMおよびH脱粉から還元脱脂乳を調製し、ガラス管に封入後、140℃の油槽中での凝固時間を測定することにより、熱安定性を測定した。Singh et al.<sup>11,12)</sup>によって報告されているように、H脱粉の還元脱脂乳はM脱粉のそれより熱安定性が高かった(図8)。炭酸カルシウムおよび乳清カルシウムによる強化は、還元脱脂乳の熱安定性を向上させたが、クエン酸カルシウムによる強化は、やや熱安定性を低下させた。乳酸カルシウムおよびガルコン酸カルシウムによる強化は著しく還元脱脂乳の熱安定性を低下させた。CPPによる25mgのカルシウム強化は、還元脱脂乳の熱安定性をそれほど大きく減少させなかったが、100mgのカルシウム強化では著しく熱安定性を低下させ、M脱粉の還元脱脂の熱凝固時間は32秒であった。

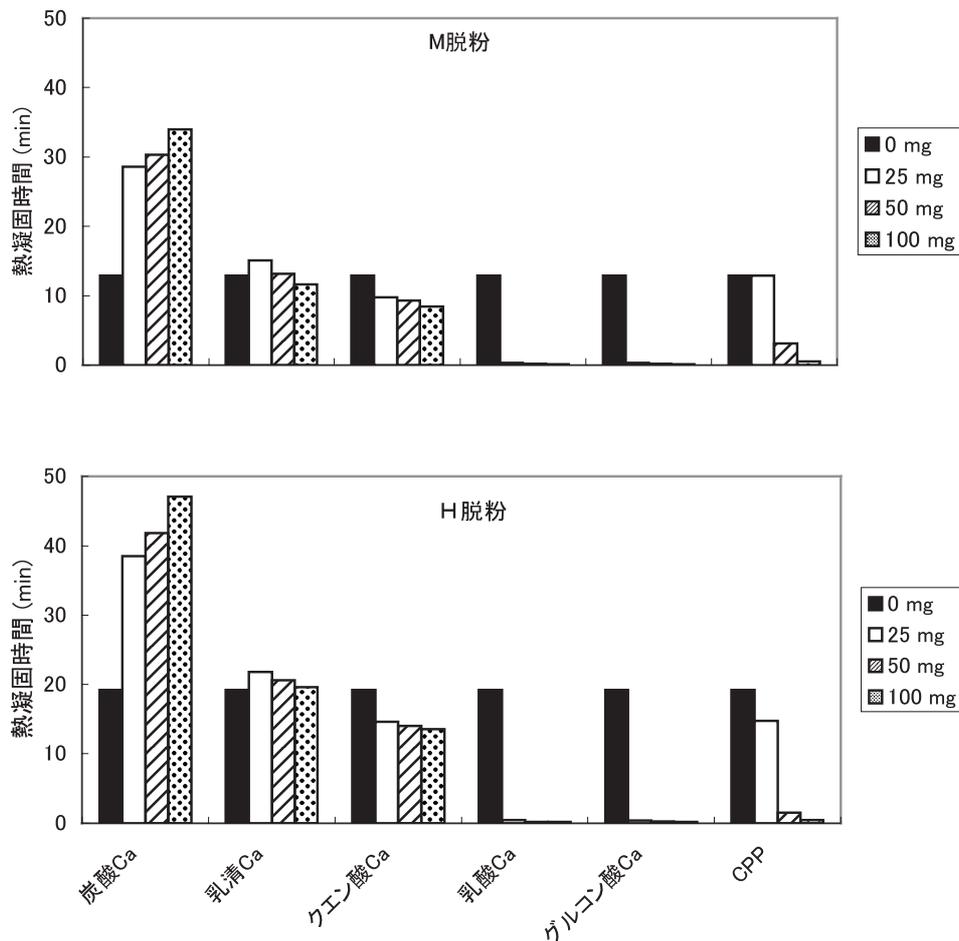


図 8. MおよびH脱粉の還元脱脂乳の熱凝固時間

## 5. 考察

牛乳中のカルシウムの約2/3、無機リン酸の1/2はカゼインミセル中に存在している<sup>13,14</sup>。牛乳中のカルシウムと無機リン酸は溶解度以上の濃度で存在しており、溶解度を越えたものはMCPとしてカゼインのリン酸基を介してカゼインと結合してカゼインミセル中に存在している<sup>15</sup>。カゼインミセル中のカルシウムと無機リン酸はコロイド相のカルシウムと無機リン酸とも呼ばれており、溶解相のそれとは平衡関係にある。溶解相の塩類間にも平衡関係があり、関係をさらに複雑にしている。溶解相のカルシウムの形態としては、Ca<sup>2+</sup>イオンの外にクエン酸カルシウムイオン、リン酸1水素カルシウムが存在し、Ca<sup>2+</sup>イオンの形で存在するのは、全カルシウムの1/10以下である<sup>16</sup>。牛乳のpHが低下すると、コロイド相のカルシウムと無機リン酸の一部は溶解相へと移行し、pHが上がると溶解相からコロイド相へ移行する。また、加熱すると溶解相のカルシウムと無機リン酸の一部はコロイド相へ移行するが、この変化は90℃程度までの温度であれば可逆的で冷却すると再び溶解相へ戻る<sup>17</sup>。

牛乳にカルシウムを添加すれば、塩平衡は変化するが、この変化は強化したカルシウム塩の種類に依存する。炭酸カルシウムや乳清カルシウムは溶解度が低いので、塩平衡に及ぼす影響も極めて小さい。クエン酸カルシウム (Ca<sub>3</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>2</sub>・4H<sub>2</sub>O) の水に対する溶解度は、25℃で95.9mg/100mL

であるが、牛乳中にはクエン酸カルシウムが存在するので、牛乳に強化しても溶解するものは極めて僅かである。したがって、カゼインミセルに及ぼす影響も小さく、MCP架橋カゼイン会合体含量も未強化のものほとんど変わらなかった。グルコン酸カルシウムおよび乳酸カルシウムは溶解度が高いので、これらを強化した還元脱脂乳では、溶解相のカルシウムも高くなったが、強化したカルシウムが全て溶解相に存在したのではなくて、一部はリン酸塩としてコロイド相に移行した。これらのカルシウムの強化はカゼインミセルの不溶化を引き起こし、強化によりSI値も極めて高くなった（図6）。本実験に使用したCPPはカルシウム塩であり、水に対する溶解度も高い。CPPでカルシウム強化した還元脱脂乳のカルシウムの溶解度は極めて高く、強化したカルシウムのほとんどが溶解していた。このことは強化したカルシウムがカゼインミセルを不溶化することなく、溶解していることを示唆している。強化したカルシウムはCPPのリン酸基と結合して、あまりイオン化しないで還元脱脂乳中に存在しているものと思われる。このことは、CPP強化還元脱脂乳では、MCP架橋カゼイン会合体含量の変化が僅かであることから窺える（図5H）。

牛乳にレンネットを添加すれば牛乳は凝固する。これは、レンネットに含まれる酵素キモシンによってカゼインミセルの安定化因子である $\kappa$ -カゼインが分解され、カゼインミセルからマクロペプチドが遊離するために起きる。溶解相のカルシウム濃度はレンネット凝固に影響を及ぼし、カルシウム塩の添加はレンネット凝固に著しい影響を及ぼす。溶解性の劣る炭酸カルシウムや乳清カルシウムの強化は還元脱脂乳のレンネット凝固性に及ぼす影響は小さかったが、グルコン酸カルシウムと乳酸カルシウムは溶解性が高く、還元脱脂乳のカルシウム濃度を上昇させたので、レンネット凝固時間も著しく短くした。

牛乳は比較的熱に安定であるが、高温で長時間加熱するとカゼインミセルが不安定化して凝固する。一般に牛乳（脱脂乳）の熱安定性は130～140℃において凝固物が観察されるまでの時間で表される。牛乳の熱凝固のメカニズムは完全に解明されているわけではないが、牛乳の熱凝固には、カゼインミセルからの $\kappa$ -カゼインの遊離<sup>18)</sup>、乳糖の分解による酸の生成およびそれに基づくpHの低下、カゼインの脱リン酸、乳清タンパク質の変性および $\kappa$ -カゼインとの相互作用、塩平衡の変化等の要因が複雑に関わっている<sup>19)</sup>。M脱粉の還元脱脂乳よりH脱粉の還元脱脂乳の方が熱安定性が高いのは、変性した $\beta$ -ラクトグロブリンと $\kappa$ -カゼインとの間でSS交換反応を通して複合体を形成することおよび加熱による溶解相のカルシウム濃度が若干減少すること等によるためと考えられている<sup>11,12)</sup>。グルコン酸カルシウムや乳酸カルシウムのように溶解性が良く、カルシウムがイオン化しやすい塩の添加は、カゼインミセルを不安定化させるので熱安定性を著しく低下させた（図6）。炭酸カルシウムの添加は還元脱脂乳の熱安定をむしろ向上させた。牛乳の加熱による酸の生成の結果pHが低下することは、熱凝固の一因である。炭酸カルシウムの強化により、生成される酸が炭酸カルシウムにより中和されることが還元脱脂乳の熱安定化の一因であると考えられる<sup>20)</sup>。同様に乳清カルシウムによる熱安定化も酸の中和によるものと思われる。

CPPは還元脱脂乳中で完全に溶解したにもかかわらずカゼインミセルに及ぼす影響は乳酸カルシ

ウムやグルコン酸カルシウムに比べると小さかった。CPPがレンネット凝固性や熱安定性に及ぼす影響も乳酸カルシウムやグルコン酸カルシウムのそれに比べると小さく、特に25mgのカルシウム強化ではその影響はあまり認められなかった。CPPはカルシウムの吸収促進機能も有しており、脱脂粉乳のカルシウム強化にも有用であると思われるが、コスト高となるのが問題点であろう。今後、牛乳中での溶解性に優れ且つカゼインミセルに及ぼす影響の小さいカルシウム素材の開発が望まれる。

## 5. 引用文献

- 1) 健康・栄養情報調査会編：「日本人の栄養所要量・食事摂取基準 第六次改訂」、p. 10-51 (2000).
- 2) 青木孝良：カルシウム素材としてのミセル性リン酸カルシウム. *New Food Industry*, **42**(3), 9-16 (2000).
- 3) 上西一弘・江澤郁子・梶本雅俊・土屋文安：日本人若年女性における牛乳、小魚（ワカサギ、イワシ）、野菜（コマツナ、モロヘイヤ、オカジキ）のカルシウム吸収率. *栄養と食糧*, **51**, 259-266 (1998).
- 4) 中島一郎・青江誠一郎・高田幸宏・加藤 健：牛乳カルシウムの生体利用性および骨代謝に及ぼす影響. *酪農科学・食品の研究*, **45**, 9-16 (1996).
- 5) Toba, Y., Kato, K., Takada, Y., Tanaka, M., Nakano, T., Aoki, T. and Aoe, S.: Bioavailability of milk micellar calcium phosphate-phosphopeptide complex in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **45**, 311-323 (1999).
- 6) Aoki, T. and Kako, Y.: Relation between micelle size and formation of soluble casein on heating concentrated milk. *J. Dairy Res.*, **50**, 207-213 (1983).
- 7) Chen, P.S., Toribara, T.Y. and Warner, H.: Microdetermination of phosphorus. *Anal. Chem.*, **28**, 1756-1758 (1956).
- 8) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 9) Aoki, T. and Kako, Y.: Separation of casein aggregates cross-linked by colloidal calcium phosphate from bovine casein micelles by high performance gel chromatography in the presence of urea. *J. Dairy Res.*, **53**, 53-59 (1986).
- 10) Aoki, T. and Kako, Y.: Influence of 2-mercaptoethanol on heat stability of concentrated whey protein-free milk and formation of soluble casein. *J. Dairy Res.*, **51**, 439-445 (1984).
- 11) Singh, H. and Creamer, L.L.: Heat stability of milk. In *Advanced Dairy Chemistry-1, Proteins*. P.F. Fox, ed. Blackie & Professional Publishers, New York, pp. 621-656 (1997).
- 12) Singh, H. and Newstead, D.F.: Aspect of proteins in milk powder manufacture. In *Advanced Dairy Chemistry-1, Proteins*. P.F. Fox, ed. Blackie & Professional Publishers, New York, pp. 735-

765 (1997).

- 13) 青木孝良：殺菌とミネラル. 乳技協資料、**41**, 27-38 (1991).
- 14) 青木孝良：牛乳・乳成分の新しい機能 (ミネラル等). 乳技協資料、**50**, 74-91 (2000).
- 15) Holt, C.: The milk salts: their secretion, concentration and physical chemistry. In Development in Dairy Chemistry-3, Lactose and Minor constituents. P.F. Fox , ed. Elsevier Applied Sci. Publ. Ltd. London, p.p. 143-182 (1985).
- 16) Aoki, T., Kako, Y. and Imamura, T.: Caseins are cross-linked by colloidal calcium phosphate through their phosphate groups. *Biochim. Biophys. Acta*, **911**, 238-243 (1987).
- 17) Pouliot, Y., Boulet, M. and Paquin, P.: Experiments on the heat-induced salt balance changes in cow's milk. *J. Dairy Res.*, **56**, 513-519 (1989).
- 18) Aoki, T. and Kako, Y.: Relation between micelle size and formation of soluble casein on heating concentrated milk. *J. Dairy Res.*, **50**, 207-213 (1983).
- 19) 青木孝良：殺菌による牛乳成分の変化と熱処理の評価. 農協乳業技術情報。No. 3. 1-39 (1997).
- 20) Vyas, H.K. and Tong, P.S.: Impact of source and level of calcium fortification on the heat stability of reconstituted skim milk powder. *J. Dairy Sci.*, **87**, 1177-1180 (2004).