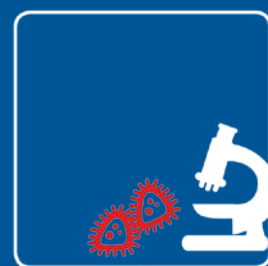


Calcium i mælk. Proteinbindingens fysisk-kemiske og teknologiske betydning



Calcium i mælk. Proteinbindingens fysisk-kemiske og teknologiske betydning

Projektleder:

Leif Skibsted, professor, Institut for Fødevarevidenskab, Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer, Københavns Universitet, Rolighedsvej 30, 1958 Frederiksberg C. Tlf. 3533 3221, fax 3533 3344, e-mail: ls@life.ku.dk

Projektdeltagere:

Vibeke Orlien, lektor
Jes Knudsen, lektor
Merete B. Munk, forskningsassistent
Martina Vavrusova, forskningsassistent / ph.d. studerende
Riikka Raitio, forskningsassistent
Bente Danielsen, laborant
alle samme adresse som projektleder.

Projektperiode:

2006-2010

Finansiering:

Mejeribrugets ForskningsFond, 50%
Det Strategiske Forskningsråd, Teknik og Produktion 50%

Ph.d.-studium for Martina Vavrusova udover projektperioden finansieres gennem et KU-LIFE stipendium.

1. Sammendrag

Calcium findes i naturen især som tungtopløselige salte. Vi behøver lettilgængeligt calcium. I mælk er calcium (og fosfat) gjort tilgængeligt gennem proteinbinding. Calcium bindes i mælk også til mindre molekyler. Med henblik på at udpege de aminosyresekvenser, der termodynamisk set afgør calciumbinding, er binding af calcium til udvalgte aminosyrer og peptider bestemt elektrokemisk med en calcium-elektrode. Det er således vist, at aspariginsyre-glutaminsyre dipeptidet binder calcium med dobbelt styrke sammenlignet med glutaminsyre-glutaminsyre dipeptidet og igen langt stærkere end de frie aminosyrer. Sådanne kompleksbindinger er med til at kontrollere koncentrationen af frit calcium i mælk og i mejeriprodukter og har derfor betydning for teknologiske egenskaber som gel-dannelse og smelteegenskaber. Den frie calcium påvirkes af mælkenes ionsstyrke, så calcium-aktiviteten er endnu mindre. Calcium-aktiviteten har afgørende betydning for mælkenes teknologiske egenskaber, og ændring af pH og temperatur, og dannelse af peptider og carboxylsyrer ved syring og modning påvirker koncentration af frit calcium. Høje hydrostatiske tryk blev anvendt som en skånsom ydre påvirkning, og tryk på 4000 atm. næsten fordobler koncentrationen af frit calcium. Efter trykudligning bindes calcium igen, men i en langsom proces. For at måle calcium-koncentrationen under tryk og ikke kun efter trykudligning, er udviklet en optisk metode med fiber-optik og safir-vindue i selve tryk-kammeret.

Calcium bindes også til hydroxycarboxylater som lactat, gluconat og lactobionat. Gluconat binder calcium stærkere end lactobionat og især stærkere end lactat og afhængig af ionstyrken, og udfra bindingskonstanter for disse komplekser kan også den lave calcium-aktivitet i opløsninger af salte til calcium-berigelse forklare. Natriumgluconat anvendes i øvrigt til at forhindre udfældning af calciumlactat i cheddaroste, selvom calciumgluconat er tungere opløseligt (3 g/l) end calciumlactat (9 g/l). Det blandede salt "calciumlactatgluconat" anvendes til calciumberigelse af drikke på grund af langt højere opløselighed end calciumgluconat og calciumlactat separat. En teori om specifik calcium-binding i blandede lactat/gluconat komplekser kunne ikke bekræftes eksperimentelt, og der arbejdes videre med en kinetisk forklaring på disse ejendommelige fænomener.

Calcium danner såkaldt "sæbe" med fedtsyrernes anioner. Calciumpalmitat er tungtopløseligt og er interessant for vores calciumudnyttelse. Udfældning af calciumpalmitat sker især ved kombinationer af planteolie og calcium. Også udfældning af calciumpalmitat blev for overskud af calcium, som det forekommer ved hydrolyse af lipid, fundet overraskende langsom, og meget tyder på, at et blandet salt, Ca(OH)palmitat, er det umiddelbare bundfald for pH som i tarmen. Opløseligheden af calciumpalmitat, som det udfældes fra neutral til svagt basisk opløsning, er nu karakteriseret ved det termodynamiske opløselighedsprodukt bestemt for betingelser, hvor palmitat er i overskud.

Calcium-fordeling i mælk er af betydning for mælkenes forarbejdning og ernæringsværdi. Under mælkenes forarbejdning ændres fordelingen af calcium. Overmætningsfænomener, kompleksbinding og langsom ligevægtsindstilling giver nye teknologiske muligheder. Opløselighed af sammensatte calcium-salte er en vigtig parameter for vores optagelse af calcium.

2. Project resume

Calcium in milk. Physicochemical and technological aspects of protein binding.

Calcium is found in Nature mainly as salts of low solubility. Milk has a high concentration and availability of calcium (and phosphate) due to protein binding. Calcium is in milk also associated to smaller molecules. Binding to amino acids has been determined in order to identify the amino acid-sequences of thermodynamic importance for calcium-binding. For example, calcium is associated to the aspariginat-glutaminat dipeptide significantly stronger than to the glutaminat-glutaminat dipeptide and especially compact to the free amino acids. Such association determines the concentration of free calcium in milk and in dairy products and is of importance for technological properties like gelling and melting. Free calcium is further under the influence of the ionic strength, and the calcium activity is even smaller. Calcium-activity is a key parameter, and change in pH and temperature and formation of peptides and hydroxycarboxylic acid during fermentation and maturation has influence on the concentration and activity of calcium. High hydrostatic pressure has been used to perturbate calcium distribution and a static pressure of 4000 atmosphere almost increased calcium-concentration by a factor of two after pressure release. After release of pressure, calcium again associates with the proteins but in a slow process. An optical method was developed which allowed the free calcium concentration to be monitored during pressurization and not only following pressure release.

Calcium also binds to hydroxycarboxylate and stronger to gluconate than to lactobionate and especially lactate. Sodium gluconate finds use as an additive to cheddar cheese to prevent precipitation of calcium lactate despite calcium gluconate is less soluble than calcium lactate. The mixed salt "calcium lactate gluconate" is far more soluble than each of the two components. A hypothesis of specific calcium-binding in mixed lactate/gluconate complexes could not be confirmed and an explanation of this unusual phenomenon based on precipitation kinetics is now under further investigation.

Calcium forms "soaps" with the anions of fatty acids. Calcium palmitate is sparingly soluble and may lower our calcium absorption when formed during digestion. Calcium palmitate seems to precipitate as a mixed hydroxy salt for conditions like those in our gut. The solubility of calcium salts of palmitic acid was characterized thermodynamically as the solubility product.

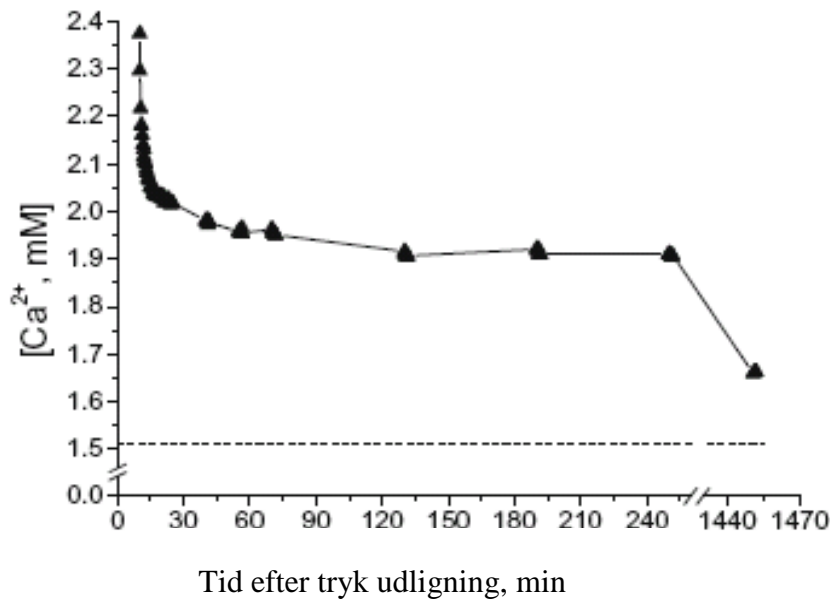
The distribution of calcium in milk is of importance for processing of milk and the nutritive value of dairy products. Supersaturation phenomena, complex formation and slow equilibration for calcium binding are all important both technological and in relation to nutrition.

3. Calcium i mælk

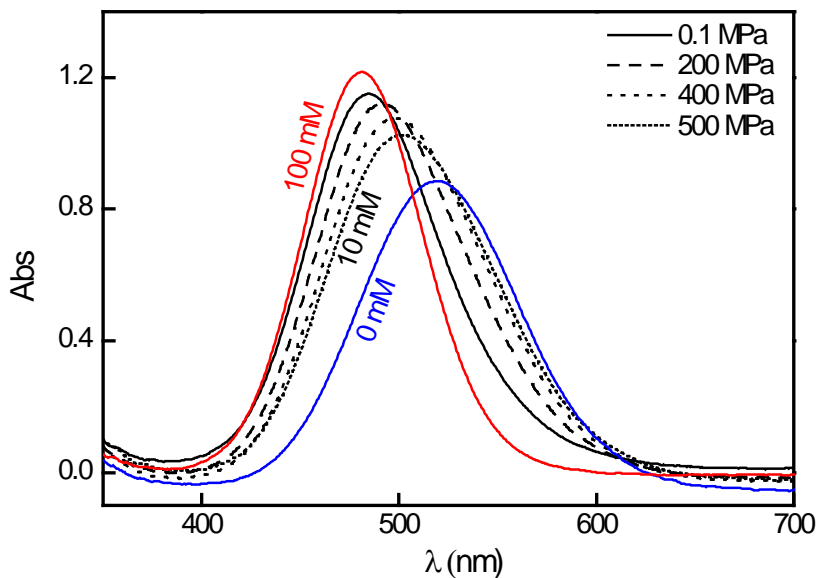
Projektet havde til formål at karakterisere de molekulære mekanismer, der kontrollerer koncentrationen af frie calcium ioner i mælk og calcium-ion aktiviteten ud fra en formodning om, at et mere detaljeret kendskab til især de kinetiske aspekter af ligevægtsindstilling mellem bundet og frit calcium i mælk kan danne baggrund for ny udvikling af mejeriprodukter og en bedre forståelse af calcium-optagelse i relation til ernæring.

3.1. Koncentration og aktivitet af calcium

Mælk indeholder 1,2 g calcium/l, det svarer til en calcium-koncentration på 30 mM. Koncentrationen af calcium, som den måles med en specifik elektrode, er derimod kun 1,5 mM, og forskellen skyldes binding af calcium og phosphat i casein. Det frie calcium påvirkes af mælkens ionstyrke, så selve calcium-aktiviteten er endnu mindre end koncentrationen. Forskel mellem koncentration og det termodynamiske begreb aktivitet skyldes elektrostatiske skærmning af de enkelte ioner. Calcium-aktivitet (a_w) snarere end koncentrationen af frit calcium har betydning for mælkens teknologiske egenskaber, og ændring af pH og temperatur og dannelse af peptider og carboxylsyrer ved syring og modning påvirker koncentrationen af det frie calcium og dermed calcium-aktiviteten. Høje hydrostatiske tryk er som noget nyt blevet anvendt som en skånsom ydre påvirkning, idet tryk ikke som varme medfører bruningsreaktioner. Tryk frigiver calcium fra caseinerne og ved kort tids statisk tryk på 4000 atmosfære næsten fordobles koncentrationen af det frie calcium, som det er vist i Figur 1. Efter trykkudligning bindes calcium igen, men i en langsom proces. For at måle calcium-aktiviteten under tryk og ikke kun efter tryk-udligning, som det er muligt med en calcium-elektrode, blev udviklet en optisk metode, hvor fiber-optik og et safir-vindue giver et direkte "spektrofotometrisk kik" ind i trykkammeret. En velegnet calcium-indikator er fundet efter nogen søgen, og metoden, der bygger på tetramethyl(murexid) som calcium-indikator, er nu klar til anvendelse ved optimering af højtryksteknologi til ændring af mælks proces-egenskaber. Ændring af calcium-aktivitet påvirker geldannelse og smelteegenskaber, og tryk er "grøn teknologi" og ofte nemmere at styre end varme.



Figur 1. Højt hydrostatisk tryk, her 4000 atmosfære, frigør calcium fra casein. Calcium binder sig efter udligning af tryk igen til casein, men meget langsomt. Den stiplede linje angiver mælkens calcium i ligevægt. (J.C. Knudsen & L.H. Skibsted: Food Chemistry 119, 2010, 202).

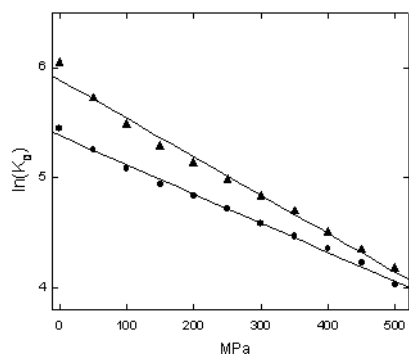


Figur 2. Tetramethyl(murexid) binder calcium og dissociationen er følsom for tryk. Disse spektre er optaget ved hjælp af fiberoptik og et safir-vindue i trykkammeret. 100 mM og 0 mM angiver henholdsvis mætning af indikator med Ca²⁺ og indikatoren uden bundet calcium. For 10 mM Ca²⁺ er vist, hvordan øget tryk medfører dissociation af Ca²⁺.

Ud fra spektrene i Figur 2 kan binding af calcium til indikator ved forskellige tryk karakteriseres ved reaktions-rumfanget, ΔV :

$$\ln K(P) = \frac{-\Delta V}{RT} \cdot P + C$$

$\Delta V = 8,9$ ml/mol for den valgte indikator sammenlignet med $\Delta V = 6,7$, ml/mol for murexid, som normalt anvendes til calcium-bestemmelse.



$$\ln K(P) = \frac{-\Delta V}{R \cdot T} \cdot P + C$$

$$\Delta V_{\text{tetramethylmurexide}} = 8.9 \text{ ml} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\Delta V_{\text{murexide}} = 6.7 \text{ ml} \cdot \text{mol}^{-1}$$

● = Murexide ▲ = Tetramethylmurexide

Figur 3. Bestemmelse af reaktionsrumfang for calcium-indikatoren til anvendelse ved karakterisering af calcium-binding under høje tryk.

3.2 Binding af calcium til peptider

Mælks calcium-aktivitet og dermed koncentration af frit calcium i mælk er fastholdt af binding af calcium i forskellige typer af komplekser. For at forstå binding af calcium til proteiner og mindre molekyler i mælk er bindingskonstanter for en række aminosyrer, peptider og hydroxycarboxylater blevet bestemt ved måling af calcium-aktivitet elektrokemisk og ved opløselighedsbestemmelse af det tungtopløselige calciumiodat i nærvær af kompleksdannere. Det er vist, at aspariginsyre-glutaminsyre dipeptidet binder calcium med dobbelt styrke sammenlignet med glutaminsyre-glutaminsyre dipeptidet og igen langt stærkere end kombinationer af de frie aminosyrer. Ønsket er at udpege de aminosyresekvenser i mælkeproteinerne, der termodynamisk set afgør calcium-binding. I Tabel 1 er vist eksempler på bestemmelse af bindingskonstanter.

Tabel 1. Komplekskonstanter udfra måling med calcium-elektrode.

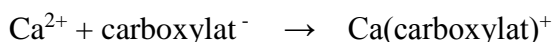
$$\text{Ca}^{2+} + \text{L}^- \rightleftharpoons \text{CaL}^+ \quad K_{\text{ass}} = [\text{CaL}^+]/[\text{Ca}^{2+}][\text{L}^-]$$

| Ligand | Ionstyrke[M] | Ligand [M] | Kass [M ⁻¹] |
|-----------------------|--------------|------------------|-------------------------|
| Glutamat ⁻ | 0.2 | 10 ⁻¹ | 3.6 ± 0.4 |
| | 1.0 | 10 ⁻¹ | 2.0 ± 0.4 |
| Aspartat ⁻ | 0.2 | 10 ⁻¹ | 6.24 ± 0.04 |
| | 1.0 | 10 ⁻¹ | 3.7 ± 0.1 |
| Asp-Glu | 0.08 | 10 ⁻² | 233 |
| | 0.2 | 10 ⁻¹ | 33 |
| Glu-Glu | 0.08 | 10 ⁻² | 107 |
| | 0.2 | 10 ⁻¹ | 13 |

[Ca²⁺]₀ = 1.10⁻³ mol/l, pH= 6.9±0.1, 25 °C

3.3 Binding af calcium til hydroxylcarboxylater

Ligevægt for kompleksdannelse er også undersøgt for hydroxycarboxylater som lactat, gluconat og lactobionat (carboxylat⁻) af relevans for mejeriprodukter:



Gluconat binder calcium stærkere end lactobionat og især stærkere end lactat og afhængig af ionstyrken, som det fremgår af Tabel 2. Udfra disse bindingskonstanter kan også den lave calcium-aktivitet i opløsninger af salte til calcium-berigelse forklares. Natriumgluconat anvendes til at forhindre udfældning af calciumlactat i cheddaroste, selvom calciumgluconat er tungere opløseligt (3 g/l) end calciumlactat (9 g/l). Det blandede salt "calciumlactatgluconat" anvendes til calciumberigelse af drikke på grund af høj opløselighed i vand (50 g/l), langt højere end calciumgluconat og calciumlactat separat. En teori om specifik calcium-binding i blandede lactat/gluconat komplekser kunne ikke bekræftes eksperimentelt (se Tabel 2). Der arbejdes nu videre med en kinetisk forklaring på dette ejendommelige fænomen. Disse calcium-salte virker som calcium-buffere, som det fremgår af Figur 4, der er baseret på iterative beregninger indenfor Debye-Hückel formalismen, hvor calcium-koncentration korrigeres til calcium-aktivitet under hensyntagen til kompleksdannelse sammenlignet med ukorrigeret. Calcium-aktiviteten bliver næsten uafhængig af den totale koncentration af calciumgluconat, og gradienten for udfældning forsvinder og gør udfældningen yderst langsom. Vi nærmer os her tilsyneladende forklaringen på de langsomme ligevægtsindstillinger, der mere generelt involverer calcium i mælk. En mere detaljeret forståelse af disse "overmætnings-fænomener" vil formodentlig kunne hjælpe med til at udpege alternativer til smeltesalte i osteindustrien og til at anviser metoder at kontrollere udfældning af calciumsalte i oste og andre mejeriprodukter. Den langsomme ligevægtsindstilling for binding af frigjort calcium efter trykbehandling (Figur 1) kan ligeledes udnyttes teknologisk, idet mælken kan få et tidsvindue med højere calciumaktivitet.

Tabel 2. Kompleks-konstanter ud fra måling med calcium-elektrode.

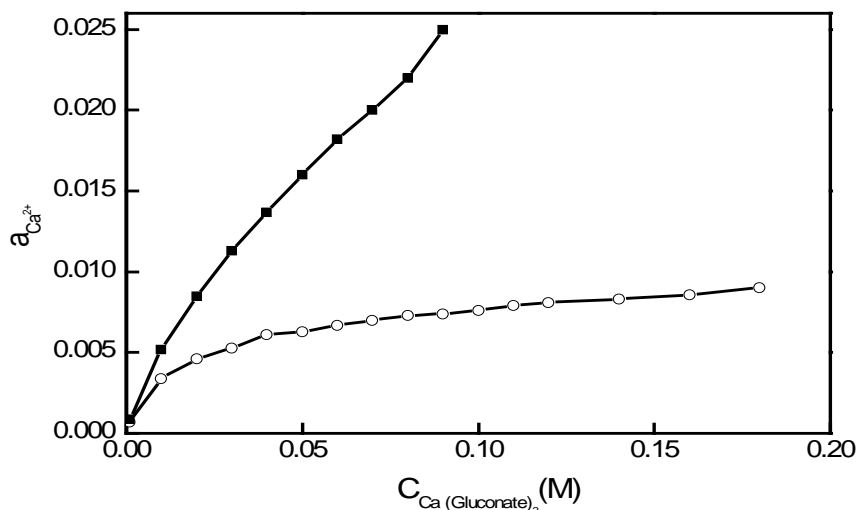
$$\text{Ca}^{2+} + \text{L}^- \rightleftharpoons \text{CaL}^+$$

$$\text{Kass} = [\text{CaL}^+] / [\text{Ca}^{2+}][\text{L}^-]$$

| Ligand | Ionstyrke[M] | Ligand [M] | Kass [M ⁻¹] |
|------------------|--------------|----------------------|-------------------------|
| L-Lactat | 0.2 | 10 ⁻¹ | 15 ± 2 |
| | 1.0 | 10 ⁻² | 10.3 ± 0.1 |
| | 1.0 | 10 ⁻¹ | 8.0 ± 0.7 |
| D-Gluconat | 0.2 | 10 ⁻¹ | 34 ± 3 |
| | 1.0 | 10 ⁻² | 14 ± 5 |
| | 1.0 | 10 ⁻¹ | 14 ± 1 |
| L-Lac. + D-Gluc. | 0.08 | 2 · 10 ⁻² | 12.6 ± 0.2* |
| | 0.2 | 2 · 10 ⁻¹ | 43 ± 2 |
| | 1.0 | 2 · 10 ⁻² | 12 ± 2 |
| | 1.0 | 2 · 10 ⁻¹ | 18 ± 1 |
| Lactobionat | 0.08 | 10 ⁻² | 21.1 ± 0.2 |
| | 0.2 | 10 ⁻¹ | 52 ± 1 |
| | 1.0 | 10 ⁻² | 10.2 ± 0.1 |
| | 1.0 | 10 ⁻¹ | 11 ± 3 |

[Ca²⁺]₀ = 1 · 10⁻³ mol/l, pH = 6.9 ± 0.1, 25 °C

*Opløselighedsbestemmelse af Ca(IO₃)₂ gav værdien 13 ± 1 M⁻¹.



Figur 4. Overmætning af calcium salte af hydroxycarboxylsyre som mælkesyre, lactobionsyre og gluconsyre (fra GDL) skyldes binding af calcium til syrernes anion som calcium komplekser. Forventet calcium-aktivitet i vandig opløsning af calciumgluconat (■) bliver meget mindre (○), når der korrigeres for denne effekt, og forklarer de holdbare overmættede opløsninger. Måling med calcium-selektiv elektrode har bekræftet denne hypotese.

3.4 Calcium og lipid

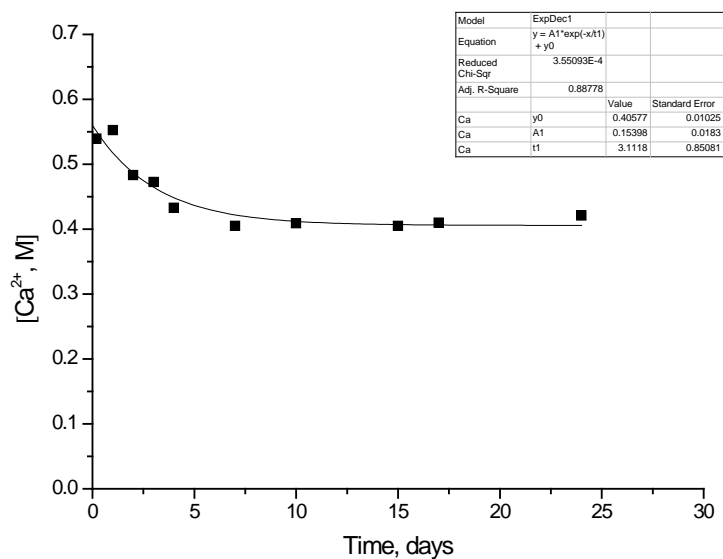
Calcium danner såkaldt "sæbe" med fedtsyrenes anioner. Calciumpalmitat er tungtopløseligt og er interessant for vores calciumudnyttelse. I tarmen hydrolyseres triglycerider enzymatisk til 2-monoacylglycerol og to frie fedtsyrer fra position sn-1 og sn-3 i triglyceriderne (sn= stereospecifik nummerering). Animalsk fedt er forskelligt fra planteolie, idet de mættede fedtsyrer som mælkens palmitinsyre er mere jævnt fordelt mellem de tre positioner i glycerol, mens de i planteolie især sidder i position sn-1 og sn-3. Udfældning af calciumpalmitat sker således især ved kombinationer af planteolie og calcium. Også udfældning af calciumpalmitat blev for overskud af calcium, som det forekommer ved hydrolyse af lipid, fundet overraskende langsom, og meget tyder på, at et blandet salt er det umiddelbare bundfald (karakteriseret ved Röntgen-pulverdiffraktometri) for pH som i tarmen



Dette hydroxypalmitat omdannes langsomt til $\text{Ca}(\text{palmitat})_2$ under frigivelse af hydroxid. Opløseligheden af disse salte er bestemt ud fra måling af calcium-aktivitet i opløsninger, mens saltene fælder ud. En sådan kinetisk beskrivelse af udfældning af calcium er ny, og resultaterne bør kunne udnyttes til at udvikle mejeriprodukter, hvor calcium nedsætter fedtabsorptioner fra blandingsprodukter, men også til at udvikle fødevarer med optimal calcium-tilgængelighed. Opløseligheden af calciumpalmitat, som det udfældes fra neutral til svagt basisk opløsning, er nu karakteriseret ved det termodynamiske opløselighedsprodukt bestemt for betingelser, hvor palmitat er i overskud. Det fremgår af beregninger i Tabel 3, at K_{sp} bliver konstant for forskellige koncentrationer og pH, hvilket understøtter den foreslåede sammensætning af bundfaldet dannet ud fra calcium og palmitat. Udfældning af calciumpalmitat er en overraskende langsom proces som det fremgår af Figur 4, hvor calcium ion koncentration er fulgt elektrokemisk under udfældning for overskud af calcium.

Tabel 3. Opløselighedbestemmelse: Calciumhydroxypalmitat, 25 °C ved forskellige ionstyrke. K_{sp} beregnet for det "blandede salt". Palmitatkoncentrationen er 0,0010M.

| Ionic strength [M] | $[\text{Ca}^{2+}]_0$ [M] | pH | K_{sp} [M^{-3}] | $[\text{Ca}^{2+}]_0$ [M] | pH | K_{sp} [M^{-3}] |
|--------------------|--------------------------|-----|------------------------------|--------------------------|-----|------------------------------|
| 0.08 | $5 \cdot 10^{-4}$ | 8.5 | $3 \cdot 10^{-16}$ | $1 \cdot 10^{-4}$ | 9.0 | $3 \cdot 10^{-16}$ |
| 0.16 | $5 \cdot 10^{-4}$ | 8.4 | $1 \cdot 10^{-16}$ | $1 \cdot 10^{-4}$ | 8.7 | $9 \cdot 10^{-17}$ |
| 0.5 | $5 \cdot 10^{-4}$ | 8.0 | $2 \cdot 10^{-15}$ | $1 \cdot 10^{-4}$ | 8.0 | $2 \cdot 10^{-15}$ |
| 1.0 | $5 \cdot 10^{-4}$ | 7.8 | $2 \cdot 10^{-15}$ | $1 \cdot 10^{-4}$ | 7.8 | $1 \cdot 10^{-15}$ |



Figur 4. Udfældning af calciumpalmitat er en langsom proces. Oprindelig koncentration: $[Ca^{2+}] = 6 \cdot 10^{-4} M$, $(Palm^-) = 4 \cdot 10^{-4} M$. Kurven er en eksponentialfunktion svarende til en "halveringstid" på ca. 3 dage. 25 °C, måling med calcium-elektrode, ionstyrke 0,16 (fysiologisk ionstyrke).

3.5 Referencer

G. Gerstner: Calcium Lactate Gluconate – the innovative solution for extra calcium. Innovation in Food Technology, 16, 2002, 1-3.

G. Kilde: Bestimmung der Calciumionenkoncentration. II. Bestimmung der Dissociation des Calciumlactates. Z. Anorg. U. Allg. Chem. 229, 1936, 321-336.

N. Kubantseva, R.W. Hartel & P.A. Swearingen: Factors Affecting Solubility of Calcium Lactate in Aqueous Solution. J. Dairy Sci, 87, 2004, 867-863.

L. Metzger & C. Phandugath: The Efficiency of Sodium Gluconate as a Calcium Lactate Crystal Inhibitor in Cheddar Cheese. Midwest Dairy Food Research Center, report, 2009.

R.D. Vold & G.S. Hattiangdi: Characterization of Heavy Metal Soaps by X-Ray Diffraction: Ind. Eng. Chem. 41, 1949, 2311-2320.

4. Publikationer fra projektet

4.1 Videnskabelige publikationer

Jes Knudsen & Leif H. Skibsted: High pressure effects on the structure of casein micelles in milk as studied by cryo-transmission electron microscopy. Food Chem., 119, 2010, 202-208.

4.1 Planlagte videnskabelige publikationer

Supersaturation phenomena of aqueous solutions of calcium hydroxycarboxylates:

Milchwissenschaft (indsendes medio 2011).

Solubility of calcium palmitate and mixed calcium hydroxide/palmitate: Food Chemistry (indsendes medio 2011).

Calcium binding to amino acids and peptides combining electrochemical calcium measurements and measurement of solubility of $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2$ (planlagt).

Method for in situ measurement of free calcium at high hydrastatic pressure: Int. Dairy J. (indsendes ultimo 2011).

4.3 Populærvidenskabelige publikationer

Vibeke Orlien & Leif H. Skibsted: Calcium i mælk – proteinbindingens teknologiske og ernæringsmæssige betydning. Mælkeritidende, 119, 2006, 371-373

Leif H. Skibsted: Calcium fra mælk til os. Mælkeritidende, 2011

4.4 Forskeruddannelse

Projektet begyndte i 2006 og har af forskellige personalemæssige årsager fået en længere projektperiode end oprindeligt planlagt, idet projektet først sluttede med udgangen af 2010. Medarbejdere ved projekter har i forskellige perioder været lektor Vibeke Orlien (oprindeligt som post doc., forskningsassistent Merete B. Munk, lektor Jes Knudsen, forskningsassistent Riikka Raitio, laborant Bente Danielsen og forskningsassistent Martina Vavrusova, der sidst i projektperioden blev indskrevet som ph.d. studerende. Martina Vavrusova er nu supplerende tildelt et KU-LIFE stipendium for at afslutte arbejdet og ph.d.studiet igangsat under det oprindelige projekt. Merete B. Munk er erhvervsforsker i samarbejde med Palsgaard A/S, Juelsminde.

5. Konklusion

Projektet var i sit oplæg meget ambitiøst, idet udgangspunktet var, at et bedre kendskab til termodynamikken bag binding af calcium til proteiner og mindre molekyler i mælk og mejeriprodukter, og som noget nyt også til kinetikken bag ligevægtsindstilling, kunne danne grundlag for bedre forarbejdningsprocesser. De anførte eksempler vedrørende den langsomme ligevægtsindstillinger efter højtryksbeholdning og udfældning af calcium-salte i ost og erstatning af smeltesalte viser, at en bedre forståelse af calcium-bindingens kinetik i mælk lader sig udnytte i praksis. Calciums udfældning med mættede fedtsyrer er nu beskrevet mere kvantitativ og er af betydning for udvikling af ernæringsmæssigt optimerede mejeriprodukter. Disse resultater kan med fordel følges op i nye projekter. Calcium-fordeling i mælk er af betydning for mælkenes forarbejdning og ernæringsværdi. Under mælkenes forarbejdning ændres fordelingen af calcium. Overmætningsfænomener, kompleksbinding og langsom ligevægtsindstilling giver nye teknologiske muligheder. Opløselighed af sammensatte calcium-salte er et vigtigt parameter for vores optagelse af calcium.