



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	生乳乳質の凍結保存中における変化
Author(s)	三河, 勝彦; MIKAWA, Katsuhiko; 有馬, 俊六郎 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 11(4), 345-350
Issue Date	1979-11-12
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11929">https://hdl.handle.net/2115/11929</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	11(4)_p345-350.pdf



# 生乳乳質の凍結保存中における変化\*

三河 勝彦

(北海道大学農学部畜産食品製造学教室)

有馬 俊六郎

(北海道大学農学部酪農科学研究施設)

(昭和54年3月26日受理)

## Changes in Raw Milk Quality During Frozen Storage

(Studies on the effects of psychrotrophic bacteria on milk quality part III)

Katsuhiko MIKAWA and Shunrokuro ARIMA\*\*

(Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University; \*\*Institute of Dairy Science,  
Faculty of Agriculture, Hokkaido University,  
Sapporo, 060 Japan)

生乳を凍結保存すると、物理的变化に加えてフレーバーの変化することが知られており<sup>1)</sup>、これは濃縮乳でも広く認められている<sup>2~4)</sup>。DOAN and WARREN<sup>5)</sup>によれば、濃縮脱脂乳を $-10^{\circ}\text{F}$  ( $-23.3^{\circ}\text{C}$ )で24時間凍結の後、これを $+5^{\circ}\text{F}$  ( $-15^{\circ}\text{C}$ )または $-10\sim-15^{\circ}\text{F}$  ( $-26.1^{\circ}\text{C}$ )で保存した場合にはpH、酸度、アルコールテストの成績には変化が認められないという。これに対しSAITO and HASHIMOTO<sup>6)</sup>は生乳および生脱脂乳を $-10^{\circ}\text{C}$ で70日間保存すると、酸度がわずかに低下すると報告している。同様な結果はRAVENELら<sup>7)</sup>によって $-9^{\circ}\text{C}$ で生乳を200日余り保存した場合に得られている。しかしこの保存温度がさらに上昇して $0^{\circ}\text{C}$ 近くになれば、保存中に酸度の増加が起るのはさげられない<sup>7~9)</sup>。

牛乳中の窒素区分についてはYAMAUCHIら<sup>10)</sup>が生脱脂乳を $-7^{\circ}\text{C}$ と $-20^{\circ}\text{C}$ に120日まで保存し、NPNや非カゼイン態Nの量は変化しないけれども、遊離チロシンがわずかに増加すると発表している。温度が $0^{\circ}\text{C}$ になると160日間の貯蔵によって窒素の72%が可溶性になるともいわれている<sup>7)</sup>。

本報は凍結した生乳について細菌数の変化を観察した前報<sup>11)</sup>と同一試料の乳質変化を、タンパク質および脂肪の分解度を中心にして調べ、同時に酸度の変化をも測定

した結果である。

### 実験材料および実験方法

生乳は前報<sup>11)</sup>と同一の試料で、北海道大学附属農場生産の新鮮混合乳である。この生乳は無菌的に滅菌三角フラスコに100 mlずつ分注し、最高50日まで各種温度で保存した。試料は分析時点ごとに各温度から1個ずつとり出して各種測定に供した。

保存温度は前報<sup>11)</sup>と同じく $-25^{\circ}\text{C}$ 、 $-2^{\circ}\text{C}$ 、 $+2^{\circ}\text{C}$ 、 $-25^{\circ}\text{C}$ 5時間後 $-2^{\circ}\text{C}$ 、 $+2^{\circ}\text{C}$ 5日間後 $-25^{\circ}\text{C}$ 、 $+2^{\circ}\text{C}$ 10日間後 $-25^{\circ}\text{C}$ 、および $+2^{\circ}\text{C}$ 15日間後 $-25^{\circ}\text{C}$ の7種類である。なお乳質測定時には $30^{\circ}\text{C}$ のウォーターバスを用いて解凍を行った。

滴定酸度は試料に加水せずにN/10カセイソーダで滴定し、乳酸酸度(W/V%)で表示した。

乳タンパク質の分解を検出する方法は、試料に20%トリクロル酢酸(TCA)を等量加え、その濾液をアルカリ性にして1/3希釈Folin試薬で発色させ、660 nmの波長を用いて光電比色計でその吸光度( $A_{660}$ )を測定した。タンパク質分解が進み、小分子の窒素化合物になる程度を知るためには揮発性塩基態窒素(VBN)を、CONWAYの微量拡散法<sup>12)</sup>で定量した。この試料には $A_{660}$ 測定に

\* 「乳質におよぼす低温菌の影響に関する研究」第III報

用いた TCA 濾液を使い、5% ホウ酸に拡散吸収させた VBN を N/50 硫酸で滴定した結果を mg% で表示した。

バクテリアの生産するリパーゼによって脂肪の分解される割合は、FRANKEL and TARASSUK<sup>13)</sup>の方法による遊離脂肪酸(FFA)の定量から判定した。試料は 10 ml をフタ付遠沈管にとり、これに 10 ml の 95% エタノールを加えて攪拌し、さらに 15 ml の石油エーテル・エチルエーテル 6:4 混合物を加えて振とうの後、1,500 rpm で 3 分間遠沈した。続いてその上澄 5 ml にフェノールフタレンを含むエタノール 15 ml を加え、N/40 の KOH エタノール溶液で滴定した。滴定に際しては終点の赤色が褪せしやすいため、次のような補正を行なった。

褪色の度合いを光電比色計(波長 550 nm)で読みとると、時間に対してはほぼ直線的に吸光度が減少する。一方、一たん色の消えたものに再び KOH の 0.14 ml を加えると、操作中に再褪色する割合を計算に入れて吸光度が 0.030 増加する。この着色関係が正比例であるとすれば次の式が成立する。

$$Y = \frac{0.14}{0.03} \times A \quad (1)$$

ここで Y は KOH の ml 数、A は吸光度の読みである。上の吸光度の時間に対する減少の割合は 60 秒間に 0.013 であるので、この数値を(1)式の A に代入すると Y=0.06067 となり、10 秒間では約 0.010 となる。つまり滴定に要する時間が 10 秒異なる毎に滴定値に 0.01 ml の差が生じることになる。実施にあたっては、滴定時間の標準を 30 秒間と見なし、実際に滴定に要した時間との差を 5 秒単位で測り、上の値を用いて滴定値の補正を行なった。なお、結果は 100 g の脂肪を含む牛乳のエーテル層の滴定に必要な 1 N の KOH エタノール溶液の ml 数で表わした。

## 結果および考察

酸度は乳質の判定にしばしば利用されるけれども、牛乳中で主として低温菌が繁殖する場合には一般に酸度の上昇は少なく、このため菌数の増大と酸度の増加との間にはあまり関係がないとされている<sup>14)</sup>。

生乳を -25°C または -2°C で保存した本実験の結果は、+2°C で 15 日間保存後に -25°C に移した試料を除き、いずれも厚生省令におけるボーダーライン 0.18% を越えなかった(Table 1)。中でも -2°C の 40 日目、+2°C 10 日間で -25°C で凍結した 15、20 および 30 日目の試料では低温菌数<sup>11)</sup>がいずれも 10<sup>7</sup>/ml を越えているにもかかわらず、その酸度はゼロ日試料が 0.135% であるのに対し、それぞれ 0.126%、0.144%、0.143%、および 0.131% とあまり変化を示さなかった。Table 1 のデータを全体で見ると酸度が増加しないというばかりでなく、むしろ僅かながら低下が認められ、こうした傾向は前野<sup>15)</sup>や SAITO and HASHIMOTO<sup>6)</sup>や RAVENEL ら<sup>7)</sup>の結果とよく一致している。+2°C で連続保存した生乳の場合には、10 日目までは殆んど酸度が増えないのに対し、20 日目を過ぎると 0.2% を越えており、0.18% を越えるのは +2°C 15 日保存後 -25°C で凍結した試料からも判るように、保存 15 日目前後であろうと推察される。酸度の上昇は菌叢に大きく左右されるものであるが、0.18% 以上になるのは前報<sup>11)</sup>と対応させてみると低温菌数または標準平板菌数 10<sup>8</sup>/ml 以上となる。

牛乳タンパク質の分解度を調べるために測定した、TCA 濾液-Folin 呈色の吸光度(A<sub>660</sub>)および揮発性塩基態窒素(VBN)を Table 2 と 3 に示した。+2°C に保存した生乳では 10 日間で A<sub>660</sub> が 0.2 を越え、VBN が 0.8mg% を上廻っている。この値は著者が統報<sup>16)</sup>で

Table 1. Acidity of frozen stored raw milk (%)

Days of storage	Storage temperature							
	+2°C	-2°C	-25°C	-25°C $\xrightarrow{5h}$ -2°C	+2°C $\xrightarrow{5d}$ -25°C	+2°C $\xrightarrow{10d}$ -25°C	+2°C $\xrightarrow{15d}$ -25°C	
0	0.135	—	—	—	—	—	—	—
5	0.135	0.131	0.124	0.122	—	—	—	—
10	0.140	0.120	0.126	0.122	0.126	—	—	—
15	—	—	—	—	—	0.144	—	—
20	0.243	0.134	0.131	0.126	0.134	0.143	0.191	—
30	0.292	0.124	0.130	0.112	0.124	0.131	0.166	—
40	0.378	0.126	0.127	0.125	0.126	0.138	0.179	—
50	0.348	—	0.130	0.122	0.131	—	0.183	—

**Table 2.** Colorimetric analysis of proteolysis in frozen stored raw milk ( $A_{660}$ )

Days of storage	Storage temperature							
	+2°C	-2°C	-25°C	-25°C $\xrightarrow{5h}$ -2°C	+2°C $\xrightarrow{5d}$ -25°C	+2°C $\xrightarrow{10d}$ -25°C	+2°C $\xrightarrow{15d}$ -25°C	
0	0.163	—	—	—	—	—	—	—
5	0.175	0.162	0.146	0.152	—	—	—	—
10	0.212	0.163	0.158	0.178	0.179	—	—	—
15	—	—	—	—	—	0.225	—	—
20	0.474	0.163	0.150	0.157	0.162	0.219	0.694	—
30	2.068	0.177	0.153	0.179	0.163	0.200	0.565	—
40	3.750	0.171	0.157	0.169	0.180	0.223	0.643	—
50	7.536	—	0.155	0.163	0.161	—	0.540	—

**Table 3.** Volatile basic nitrogen (VBN) of frozen stored raw milk (mg %)

Days of storage	Storage temperature							
	+2°C	-2°C	-25°C	-25°C $\xrightarrow{5h}$ -2°C	+2°C $\xrightarrow{5d}$ -25°C	+2°C $\xrightarrow{10d}$ -25°C	+2°C $\xrightarrow{15d}$ -25°C	
0	0.66	—	—	—	—	—	—	—
5	0.72	0.62	0.47	0.56	—	—	—	—
10	0.87	0.75	0.59	0.69	0.66	—	—	—
15	—	—	—	—	—	1.06	—	—
20	3.44	0.56	0.62	0.50	0.59	0.91	1.66	—
30	9.46	0.72	0.62	0.84	0.72	1.00	1.91	—
40	17.02	0.94	0.72	0.75	0.75	1.25	2.16	—
50	13.74	—	0.81	0.81	0.66	—	1.56	—

示す生乳における風味変化の推定限界値  $A_{660}$ : 0.25 および VBN: 0.60~0.75 mg % に近い値である。+2°C で 5 日間保存後 -25°C で凍結した試料では、ほぼ最初の  $A_{660}$  レベルが持続している。一方、同じく +2°C で 10 日間または 15 日間保存後に -25°C へ移した試料の  $A_{660}$  はすべて 0.2 を越えているが、このうち前者の場合は 0.200~0.225 と上述の推定限界値よりも低い。しかし同試料の VBN (Table 3) を見ると、いずれも推定値上限の 0.75 mg % を上廻っている。従って本実験条件においては、+2°C で風味変化を起さずに生乳を保存することの可能な保存期間は 5~10 日間であると推察できる。本試料のゼロ日の菌数<sup>11)</sup> は低温菌<sup>17)</sup> で  $15 \times 10^4$ /ml であるから、最初の菌数がこれよりも多い場合には、保存性がより悪くなるものと考えられる<sup>18)</sup>。

凍結保存試料の場合、+2°C で 10~15 日間保存の後 -25°C で凍結したものを除き、 $A_{660}$  の値はいずれも目

立った増加を示さなかった。これに対し VBN では、+2°C 10~15 日間の保存後に凍結した試料はもちろん、さらに -2°C 40 日間、-25°C 50 日間、-25°C 凍結後 -2°C 保持で 30 日間、および +2°C 5 日間後 -25°C 凍結で 40 日間、最初からそれぞれ経過した試料が、いずれも 0.75 mg % 以上の値を示した。なお、-2°C 10 日間の試料にも 0.75 mg % の VBN が認められた。凍結乳でアンモニアが増加する現象は矢野ら<sup>19)</sup> も発表しており、これがカゼインフラクシオン由来のものであろうと推定している。タンパク質分解過程において、その分解産物のうち、高分子フラクシオンよりも VBN で代表される低分子区分の方が、低温保存中の生乳に早くから見出しされ、フレーバーとの関係で求められた推定限界値<sup>16)</sup> に達していることは、 $A_{660}$  よりも VBN を測定することによって乳質の変化をより敏感に捕捉できることを示唆するものである。これと類似の結果は、保存温度の違い

**Table 4.** Free fatty acidity (FFA) of frozen stored raw milk (ml alkali/100 g fat)

Days of storage	Storage temperature							
	+2°C	-2°C	-25°C	-25°C <sup>5h</sup> →-2°C	+2°C <sup>5d</sup> →-25°C	+2°C <sup>10d</sup> →-25°C	+2°C <sup>15d</sup> →-25°C	
0	0.53	—	—	—	—	—	—	—
5	1.51	1.41	1.32	1.28	—	—	—	—
10	1.15	1.45	1.63	1.89	1.70	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—	—	—
20	9.80	0.49	0.44	1.02	0.69	0.74	1.67	—
30	10.51	0.53	0.61	1.61	0.82	0.88	2.05	—
40	19.18	1.69	1.08	1.95	1.04	1.48	1.32	—
50	21.45	—	0.67	0.98	0.89	—	1.07	—

はありながらポーランドの KACZOREK ら<sup>20)</sup> によっても得られ、5°C で生乳を保存する場合、その biological age を表わすには、種々のテストのうちで NH<sub>3</sub> 含量が最もよいという。プロテアーゼが氷点下の温度においても作用することはよく知られているが<sup>21,22)</sup>、上の事実は endopeptidase よりも exopeptidase や deaminase, aminohydrolyase, amidohydrolyase の類が凍結温度で活性が低下し難く、-25°C においても長期保存の場合には酵素作用の行なわれることを示唆している。

脂肪分解の度合を示す遊離脂肪酸 (FFA) は +2°C で 20 日間以上保存した場合に急激な増加を見せたが、それ以外の試料では多いものでも最初の 3~4 倍に留まった (Table 4)。リパーゼが氷点下の温度で活性を示すのはプロテアーゼと同様、よく知られた事実である<sup>21~23)</sup>。ALFORD and PIERCE<sup>24)</sup> は *Ps. fragi* など細菌やカビ、コウボから調製した粗リパーゼが -29°C の低温でもロード、コーンオイル、ココナツオイルを加水分解することを報告している。今回の実験では低温における脂肪分解により FFA が増加することは明らかではあるけれども、その値は +2°C で 20 日間以上保存した試料を除き、殆んどが 2 (ml アルカリ/100 g 脂肪) 以下であり、しかも測定値のばらつきが多い傾向を示した。A<sub>660</sub> や VBN の測定値がそれぞれの風味変化に対応する推定限界値を越えている試料においても、FFA の値はなお低く、その推定限界値<sup>16)</sup> 3.3~3.7 には達していない (Table 4)。このことは即ち、凍結乳の場合には FFA の測定値から乳質の変化やフレーバーの変化を推測することが不可能であることを意味している。

同様な傾向は酸度についても認められた (Table 1)。全体でみると本実験で行なった 4 種類のテストのうちで

は VBN が最も敏感であると言えよう。この観点から本実験の結果を眺めると (Table 3)、+2°C では 5 日間、-2°C では 30 日間、-25°C では 40 日間、-25°C 5 時間凍結後 -2°C 保存の試料では 20 日間、また +2°C 5 日間保存後 -25°C で凍結したものでは 30 日間まで、それぞれ風味変化を推定させる限界値以下の VBN レベルに保たれた。なお、+2°C で 10 または 15 日間保存後に -25°C で凍結した試料では、A<sub>660</sub> および VBN のいずれの場合も凍結直前の値が実験終了までつづいた。

## 要 約

凍結条件下における生乳の乳質変化を調べるため、生化学的観点から酸度、タンパク質分解度 (A<sub>660</sub>)、揮発性塩基態窒素 (VBN)、および遊離脂肪酸 (FFA) を測定した。保存条件は -25°C、-2°C、+2°C、-25°C で 5 時間凍結後 -2°C、+2°C で 5、10、15 日間保存後 -25°C 凍結の以上 7 通りで、最終保存期間はすべて 50 日間である。

その結果、酸度および FFA は +2°C で 20 日間以上保存した際に急激な増加を示したが、他の保存条件では顕著な変化は認められなかった。A<sub>660</sub> は +2°C で 20 日間保存した時点および +2°C で 15 日間保存後に -25°C で凍結した試料において、フレーバー変化に対応する推定限界値<sup>16)</sup> を越えたが、他の保存条件では吸光度の増加は殆んど観察されなかった。

一方、VBN は 4 種類の乳質検査法のうち最も敏感で、フレーバー変化の推定限界値に最も短時間で到達した。VBN の測定結果によれば、+2°C では 5 日間、-2°C では 30 日間、-25°C では 40 日間、-25°C 5 時間凍結後 -2°C 保存では 20 日間、+2°C 5 日間保存後 -25°C で凍結保存した試料では 30 日間まで、それぞれ限界値以下

のレベルを保つことができた。なお +2°C で 10 または 15 日間保存後に -25°C で凍結した試料では A<sub>660</sub> および VBN のいずれの場合も凍結直前の値が実験終了までつづいた。

本研究を行なうにあたり有益なご指導、ご助言をいただいた安井勉教授に感謝の辞を表します。

### 引用文献

- SAMUELSSON, E. -G., THOMÉ, K. E., BORGSTROM, G. and HJÄLMDAHL, M.: The manufacture and storage of frozen milk and cream—Part I, *Dairy Sci. Abstr.*, **19**: 875-890. 1957
- BELL, R. W.: Effects of the cold storage temperature, heat treatment, and homogenization pressure on the properties of frozen condensed milk, *J. Dairy Sci.*, **22**: 89-100. 1939
- CORLEY, R. T. and DOAN, F. J.: A study of concentration and freezing as a means of preserving fluid whole milk, *Food Res.*, **5**: 369-378. 1940
- BELL, R. W. and MUCHA, T. J.: Stability of milk and its concentrates in frozen storage at various temperatures, *J. Dairy Sci.*, **35**: 1-5. 1952
- DOAN, F. J. and WARREN, F. G.: Observations on the instability of the protein phase of frozen concentrated milk, *ibid.*, **30**: 837-848. 1947
- SAITO, Z. and HASHIMOTO, Y.: Studies on frozen milk with special reference to denaturation of milk proteins, *J. Facul. Agr. Hokkaido Univ.*, **52**: 162-185. 1962
- RAVENEL, M. P., HASTINGS, E. G. and HAMMER, B. W.: The bacterial flora of milk held at low temperatures, *J. Inf. Diseases*, **7**: 38-46. 1910
- PENNINGTON, M. E.: Bacterial growth and chemical changes in milk kept at low temperatures., *J. Biol. Chem.*, **4**: 353-393. 1908
- FOTER, M. J. and RAHN, O.: Growth and fermentation of bacteria near their minimum temperature, *J. Bacteriol.*, **32**: 485-497. 1936
- YAMAUCHI, K., CHEN, C. -Mo and TSUGO, T.: Studies on destabilization of caseinate complex during frozen storage of milk; Part I. Destabilization of caseinate complex and some associated changes during frozen storage of skim milk, *Agr. Biol. Chem.*, **31**: 581-588. 1967
- 三河勝彦・有馬俊六郎：凍結保存中における生乳および殺菌クリームの細菌数変化，北大農邦文紀，**11**: 336-344. 1979
- 厚生省編：食品衛生検査指針 (I), p. [I]-IV 13-16. 協同医書出版, 1959
- FRANKEL, E. N. and TARASSUK, N. P. An extraction-titration method for the determination of free fatty acids in rancid milk and cream, *J. Dairy Sci.*, **38**: 751-763. 1955
- 小川益男：牛乳の低温菌に関する衛生学的研究，東京農工大農学部報告，No. **11**: 1-88. 1968
- 前野正久：牛乳の凍結防止と凍結乳の処理・濃縮，畜産の研究，**8**: 124-126. 1954
- 三河勝彦・有馬俊六郎：低温保存生乳の風味変化と各種乳質検査法との関係，北大農邦文紀，**11**: 351-359. 1979
- American Public Health Association: Standard methods for the examination of dairy products, 11th ed., p. 47-82. APHA, New York, 1960
- 有馬俊六郎・三河勝彦・橋本吉雄・遊佐孝五・森本 明・大浦義教：生乳の低温保存と風味について，畜産の研究，**19**: 1515-1516. 1965
- 矢野信礼・鈴木一郎・石井徳藏・加藤真雄：牛乳中の遊離アミノ酸の加熱および冷凍・冷蔵保存による変化，日本畜産学会 62 回大会講演要旨，p. 81. 1973
- KACZOREK, W., MOLSKA, I. and PIJANOWSKI, E.: Some proteolytic and microbiological changes in cold stored raw milk, *Roczniki Technologii Chemii Zywnosci.*, **23**: 107-117. 1973  
——— *Dairy Sci. Abstr.*, **36**: [1591]. 1974
- BALLS, A. K. and LINEWEAVER, H.: Action of enzymes at low temperatures, *Food Res.*, **3**: 57-67. 1938
- SIZER, I. R. and JOSEPHSON, E. S.: Kinetics as a function of temperature of lipase, trypsin, and invertase activity from -70 to 50°C, *ibid.*, **7**: 201-209. 1942
- NASHIF, S. A. and NELSON, F. E.: The lipase of *Pseudomonas fragi*; III. Enzyme action in cream and butter, *J. Dairy Sci.*, **36**: 481-488. 1953
- ALFORD, J. A. and PIERCE, D. A.: Lipolytic activity of microorganisms at low and intermediate temperatures; III. Activity of microbial lipases at temperatures below 0°C, *J. Food Sci.*, **26**: 518-524. 1961

### Summary

Changes in raw milk quality during frozen storage were estimated by measuring acidity, proteolysis ( $A_{660}$ ), volatile basic nitrogen content (VBN) and free fatty acidity (FFA). Raw milk samples were stored for 50 days under 7 temperature conditions as described below: at  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $-2^{\circ}\text{C}$ ,  $+2^{\circ}\text{C}$ ,  $-2^{\circ}\text{C}$  after 5 hr-storage at  $-25^{\circ}\text{C}$ ; and at  $-25^{\circ}\text{C}$  after 5 day-, 10 day-, or 15 day-storage at  $+2^{\circ}\text{C}$ .

The results indicated that the significant increase in acidity and FFA was observed only on the samples stored at  $+2^{\circ}\text{C}$  for longer than 20 days. However, in the case of proteolysis,  $A_{660}$  of the sample stored at  $+2^{\circ}\text{C}$  exceeded the critical value<sup>(6)</sup>, which may reflect the flavor deterioration, at the 20 th-day storage and increased thereafter. No

increase of  $A_{660}$  was observed under the other storage conditions. On the other hand, the VBN test was found to be the most sensitive among 4 tests used in this experiment, and its value increased at the fastest rate to the critical level for off-flavor. VBN data showed that VBN of raw milk samples could remain at lower levels than the critical one for off-flavor under the following storage conditions: 5 day-storage at  $+2^{\circ}\text{C}$ , 30 day-storage at  $-2^{\circ}\text{C}$ , 40 day-storage at  $-25^{\circ}\text{C}$ , 20 day-storage at  $-2^{\circ}\text{C}$  after 5 hr-storage at  $-25^{\circ}\text{C}$ , and 30 day-storage at  $-25^{\circ}\text{C}$  after 5 day-storage at  $+2^{\circ}\text{C}$ .

Freezing the samples at  $-25^{\circ}\text{C}$  after 10 day- and 15 day-storage at  $+2^{\circ}\text{C}$  kept  $A_{660}$  or VBN value unchanged over the rest of the storage period of time.