

Casein micelle의 構成成分, 性狀 및 構造

高麗大學校農科大學: 金 榮 教

우유 단백질은 우유의 주요성분의 하나로서 Casein과 乳清단백질로 대별되며 Casein은 총 단백질의 약 80%를 차지한다. Casein은 일종의 燐단백질이며, 그 종류로서는 α_s -Casein, β -Casein, κ -Casein, 및 γ -Casein등이 알려지고 있다. 또 각 Casein에는 그 종류에 따라서 2~수종의 遺傳的變異體(genetic variants)의 존재가 알려지고 있다(28, 31).

우유에서 Casein은 칼슘 및 燐과 결합해서 複合體를 형성해서 특이한 球狀의 Colloid상태로 분산되고 있으며, 이 Colloid를 케이신粒子(Casein particle) 또는 Casein micelle이라 부르고 있다^{28, 34}).

본고에서는 Casein micelle을 중심으로 Casein micelle의 安定性이 乳製品에 미치는 영향, Casein micelle의 構成成分, 性狀, 및 그 構造등에 대해서 지금까지 많은 연구자에 의해서 밝혀진 결과에 대해서 간단히 알아보고자 한다.

1. Casein micelle의 安定性과 乳製品

市乳 및 乳製品을 가공하는데 있어서 제품의 종류에 따라서 차이는 있지만 Casein micelle(또는 Casein Calcium-phosphate phase)의 安定性은 제품의 품질유지와 밀접한 관계가 있다. 그러나 加工處理工程에서 임의 또는 불가피하게 일어나는 酸生成, pH變化, 鹽濃度의 變化, 加熱, 均質, 乾燥, 凍結, 酵素作用등에 의해서 Casein micelle은 不安定化 되거나 때에 따라서는 그 安定性이 파괴될 때가 있다.^{20, 28} 예를 들면,

市乳: 현재의 殺菌處理方法으로 수일간은 Colloid의 安定性이 유지되나, 때로는 이 기간에 gel을 형성해서 문제될 때가 있다.

乳飲料: 상쾌한 맛을 주기위하여 酸性으로 조정하기 때문에 침전물이 형성되기 쉬우며 Colloid의 安定性이 요구된다.

치스: 치즈製造工程중 酵素(rennet 등) 처리는 필수적인 과정이며, Colloid의 조절여부는 제품의 조직과 품질에 중요한 영향을 미친다.

煉乳: 製造工程중 우유의 농축에 의해서 일어나는 鹽濃度의 變化는 製品의 濃厚化現象을 야기시켜 상품가치를 저하시킨다.

粉乳: 乾燥에 의한 Colloid층의 변화는 粉乳의 溶解速度와 溶解度에 영향을 미친다.

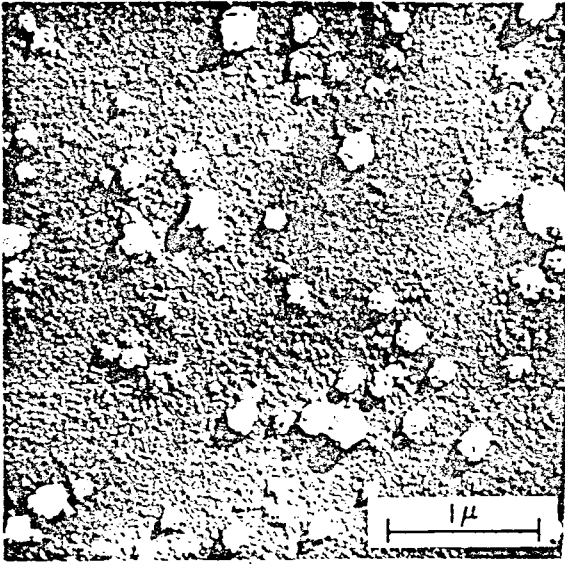
凍結乳 또는 凍結濃縮乳飲料: 凍結에 의한 장기저장을 시도하고 있으나, 凍結過程에서 일어나는 Casein calcium-phosphate층의 불안정때문에 성공하지 못하고 있다.

Casein의 Colloidal phase (Casein micelle)에 관해서는 지금까지 많은 연구가 이루어지고 있으나^{5, 6, 7, 21, 22, 28, 29, 30} 현재까지 Casein micelle의 구조를 상세히 규명하지 못하고 있으며, 또한 Casein micelle의 겔화, 응고, 수화등을 기술적으로 조절할 수 있는 단계에 이르지 못하고 있다.

Casein micelle, 즉 Casein calcium-phosphate phase의 安定性에 영향을 미치는 가장 기본적인 요인은 수화의 정도와 Casein micelle표면의 電荷조건인데, 이 요인은 여러가지 요인에 의해서 변화됨으로 Casein micelle의 安定性問題는 단순하지가 않고 상당한 복잡성을 띠고 있다. 즉 Casein micelle은有機 및 無機成分의 특이한 複合體이므로 이에 관여하는 많은 성분이 그 安定性에 영향을 미치게 된다. 따라서 이 모든 成分이 상호간에 적당한 농도로 균형형 이를때 micelle의 安定性은 높아지고 반대로 그 농도가 높아지거나 불균형을 이룰때 그 安定性은 저하되어 겔화, 또는 응고현상을 일으키게 된다^{20, 28}).

2. Casein micelle의 形態 및 構成成分

일반적으로 많은 단백질시스템 (Protein system)

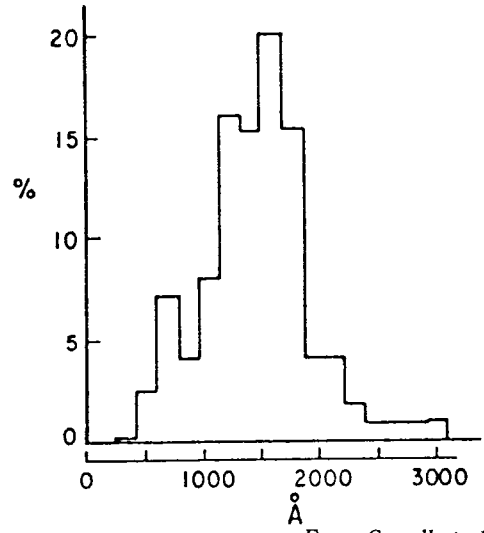


From Parry and Carroll (28)

Fig. 1. Electron microscope picture of skim milk micelles. Glutaraldehyde fixed and shadowed with platinum

에서는 最小單位体(monomeric subunit)가 서로 조합해서 큰 凝集体를 형성한다. 이 凝集体는 일정한 구조를 하고 있다. Subunit의 수도 일정하게 제한되고 있다(25). 그러나 Casein micelle은 다음과 같은 두가지 측면에서 일반 단백질체와는 特異하다고 할 수 있다. 첫째로 Casein micelle은 顯微鏡의 球狀의 構造를 하고 있으나 그 크기에는 상당히 큰 차이가 있다. 작은 것은 직경이 약 50nm로서 약 450개의Submicelle을 함유하고 있으나^{1, 25, 26} 큰 Micelle은 직경이 300nm이상으로서 10,000개이상의 Submicelle로 構成되어 있다^{21, 25, 26} 둘째로 Casein micelle을 構成하고 있는 Submicelle은 주로 α_s -casein, β -casein 및 κ -casein을 주성분의 구성되어 있으나 그 含量과 含有率은 Casein micelle의 크기에 따라서 다르다^(25, 26, 28). 이상과 같이 Casein micelle의 크기는 50~300 nm로서 광범위하나 대부분은 120~150nm이며, 분자량은 $10^7 \sim 10^8$ 인 것으로 알려지고 있다^(25, 26). 또 우유 1 ml에는 Casein micelle이 $5 \sim 15 \times 10^{12}$ 존재한다^(12, 25, 26).

Casein micelle은 탈지유를 超遠心分離해서 채취하는데 그 構成成分의 組成은 Casein 93.4 %, 칼슘 2.98%, 마그네슘 0.11%, 소듐 0.11%, 포타슘



From Carroll et al. (2)

Fig. 2. Relative frequency of occurrence of casein micelles versus size in raw milk.

0.26%, 유기인 2.26%, 무기인 2.84%, 구연산 0.4%이다^(25, 26). 그러나 전술한 바와 같이 Casein micelle은 크기의 범위가 크므로 成分組成率에도 차이가 있을 것이다. 다음에 표시한 Table 1은 본 실험실에서 超遠心分離에서 重力(G)과 遠心分離時間을 달리했을 때 沈澱되는 단백질량을 측정한 결과이다.

Rose등⁽²⁷⁾에 의하면 Casein micelle은 크기에 따라서 α_s -Casein, β -Casein 및 κ -Casein의 함유율이 다른 것으로 알려지고 있다. 또 Casein micelle은 Table 2에 표시된 바와 같이 遠心分離時間과 速度를 일정하게 유지하고 溫度를 달리했을 때 沈澱되는 Casein micelle의 量에 差異가 있음을 알 수 있다. 특히 低溫(40C)에서 沈澱되는 Micelle 量은 현저히 감소하고 있다. 이와 같은 결과는 Casein micelle의 溫度依存性을 나타내는 것이며, 특히 β -Casein은 4°C에서 Monomer로 존재한다는 사실이 알려지고 있다⁽¹²⁾

3. Casein의 構造와 性質

Casein micelle을 구성하고 있는 Casein은 전술한 바와 같이 單一 단백질이 아니고 수종의 단백질의 集合体이다. 1939년 Mellander^(28, 29)에 의해서 電氣泳動的으로 Casein을 α -, β -, 및 γ -Casein 으로

Table 1. Precipitated casein micelle by centrifugation.

xG	Time (min.)	T (°C)	Ppted casein(%)	Casein in supernatant (%)
100,000	30	20	1.26	1.54
100,000	60	20	1.72	1.08
100,000	90	20	2.24	0.56
200,000	60	20	2.66	0.14
200,000	60	4	1.77	1.03

Protein : 3.47%, Casein : 2.80%

Whey protein : 0.67%

Time(min) : Centrifugal time

Table 2. Effect of temperature on centrifugal precipitation of casein micelle

xG	T (°C)	Time (min.)	Total casein (%)	Casein (%)	
				Ppted	Non-ppted
200,00	4	60	2.82	1.63	1.19
200,000	8.5	60	2.82	2.25	0.57
200,000	13.5	60	2.82	2.28	0.54
200,000	18	60	2.82	2.55	0.27
200,000	30	60	2.82	2.45	0.37

Protein : 3.50%, Casein : 2.82%

Whey protein : 0.68%

분리한 이래, 최근에는 Casein의 동정, 분리등에 Starch gel과 Polyacrylamide gel 電氣泳動法이 많이 사용되고 있으며, Casein의 연구에 많은 공헌을 하고 있다. Casein의 종류 및 Casein의 遺傳的變異體의 발견은 주로 각 Casein의 電氣泳動移動度에 의한 것이다. Casein의 이동순위와 이동도는 Fig. 3과 Table 3과 같다.

다음에는 주요 Casein의 構造와 性質에 대해서 알아보기로 한다.

1) α_s -Casein

α_s -Casein은 주성분인 α_s -Casein과 수종의 微量成分(α_{s1} , α_{s2} , α_{s3} , α_{s4} , α_{s5} 및 α_{s6} -C-

asein)으로 구성되어 있으며, 총 우유단백질의 45~55%를 차지한다^(1, 2). 또 α_s -Casein에는 4종의 遺傳的變異體인 A, B, C, D가 알려지고 있다. 각 遺傳的變異體의 分子量은 α_s -A : 22,068, α_s -B : 23,613, α_s -C : 23,541, α_s -D : 23,723 이다^(2, 3) 최근 Ribadeau-Dumas등^(4, 5)에 의해서 α_s -Casein의 一次構造가 밝혀졌는데 α_s -B의 경우 199개의 아미노酸殘基와 8개의 燐으로 구성되어 있다. 각 아미노酸殘基數는 Asp7, Asn8, Thr5, SerP8, Glu25, Gln4, Pro17, Gly9, Ala9, Vall11, Met5, Ile11, Leu17, Tyr10, Phe8, Lys14, His5, Trp2, Arg6이다.

遺傳的變異體의 아미노酸配列은 α_s -B를 기준으

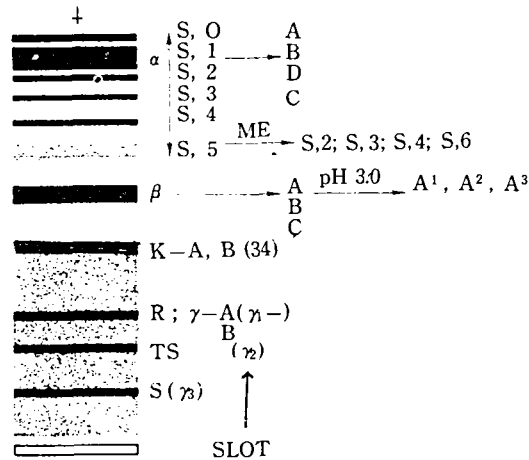


Fig. 3. Schematic representation of zone electrophoresis at alkaline pH of whole casein from of *Bos taurus*. The relative positions shown for the zones are only approximate and may depend appreciably on the compositions of the gel and buffer (12).

Table 3. Relative mobilities of $\alpha_{s,1}$ - and β - casein variants by starch-gel and polyacrylamide-gel electrophoresis (12)

Variant	Starch	Acrylamide
$\alpha_{s,1}$ -A	1.18	1.22
$\alpha_{s,1}$ -D	1.13 ^c	1.15 ^a
$\alpha_{s,1}$ -B	1.10	1.13
$\alpha_{s,1}$ -C	1.07	1.10
$\alpha_{s,2}$ -(zone 1.04)	1.04	1.03
$\alpha_{s,3}$ -(reference zone)	1.00	1.00
β -A ^b	0.80	0.65
β -B	0.76	0.61
β -D		0.58
β -C	0.70	0.54

로 해서 $\alpha_{s,1}$ -C는 B의 N-末端으로부터 192번째의 Glutamic acid가 Glycine으로 치환되어 있고, $\alpha_{s,1}$ -D는 53번째의 Alanine이 Threonine-P으로 치환되어 있다. $\alpha_{s,1}$ -A는 B의 14~26번 사이의 13개의 아미노산殘基가 결여되어 있다^(19, 21, 24)

$\alpha_{s,1}$ -Casein의 아미노산配列에서 199개의 아미노산殘基중 Proline은 17개 (8.5%)로서 비교적 골고루 분포되어 있는 것으로 봐서 $\alpha_{s,1}$ -Casein에는 α -Helical구조가 거의 없다는 것을 예측할 수 있다고 한다⁽²⁵⁾ 한편 $\alpha_{s,1}$ -Casein에 함유되어 있는 8개의 燐중 7개와 12개의 Carboxylate를 함유하고 있는 40개의 아미노산殘基는 강한 酸性펩타이드로서 실제로 $\alpha_{s,1}$ -Casein의 전체의 電荷를 나타내고 있고, 나머지 부분은 電荷가 거의 零이거나 Nonpolar side chain으로 되어 있어서 $\alpha_{s,1}$ -Casein이 완전히

Random Coil로 존재할 수 없다는 것을 뜻한다⁽²⁵⁾ 또 $\alpha_{s,1}$ -Casein의 결합성에 있어서 5mM이하의 칼슘농도에서는 溶解性を 유지하나, 5mM이상의 칼슘농도에서는 溶解性を 상실하여 沈澱하는 것은 電荷를 갖고 있는 酸性펩타이드부분과 관련이 있는 것으로 생각되고 있다^(25, 26)

2) β -Casein

β -Casein함량은 총 우유 단백질의 25~35%이며, β -A¹, β -A², β -A³, β -B, β -Bz, β -C, β -D 및 β -E의 遺傳的變異체가 존재한다. 각 遺傳的變異體의 分子量은 β -A¹ : 24,020, β -A² : 23,980, β -A³ : 23,971, β -B : 24,089, β -C : 23,939, β -E : 23,979이다⁽²⁷⁾

β -Casein의 一次構造는 Ri badeau-Dumas 등⁽¹⁹⁾

에 의해서 밝혀졌다. β -Casein A 의 경우, 209개의 아미노酸殘基로 구성된 단일 Polypeptide 鎖이며 5개의 燐을 Phosphoserine 상태로 함유하고 있다.

각 아미노酸殘基數는 Asp4, Asn5, Thr9, Ser11, Ser P5, Glu17, Gln22, Pro35, Gly5, Ala5, Val 19, Met6, Ile10, Leu22, Tyr4, Phe9, Trp1, Lys11, His5. 및 Arg4 이다^{19, 21)}

β -Casein의 遺傳的變異體의 아미노酸配列은 β -Casein A²를 기준으로 해서, β -A¹은 β -A²의 N-末端으로부터 67번째의 Proline이 Histidine으로 치환되어 있고, β -A³는 106번째의 Histidine이 Glutamine으로 치환되어 있다. β -B는 67번째의 Proline이 Histidine으로, 122번째의 Serine이 Arginine으로 두곳에서 치환되고 있다. β -C는 67번째의 Proline이 Histidine으로, 37번째의 Glutamic acid가 lysine으로, 35번째의 Phosphoserine이 Serine 으로 새곳에서 치환되고 있다. β -E는 36번째의 Glutamic acid가 Lysine으로 치환되어 있다^{19, 21)}.

β -Casein은 α_s -Casein에 비해서 덜 연구가 되어 있으며, 그 性質을 분석하는데 어려운 점이 많다. β -Casein의 아미노酸配列結果는 Random C il 構造의 가능성을 배제하고 있으며, 209개의 아미노酸殘基중 35개(16.7%)의 Proline殘基는 비교적 골고루 분포되어 있어서 α -Helix 구조를 방해하는 것으로 나타나고 있다. β -Casein에 결합하고 있는 5개의 燐은 거의 N-末端쪽에 집중되어 있고, β -Casein의 電荷는 N-末端쪽의 25개의 아미노酸殘基와 거기에 위치하고 있는 4개의 燐, 7개의 Carboxylae에 의한 것으로 나타나고 있다. 또 β -Casein은 α_s -Casein보다 疎水性이 강하고 그 疎水性은 C-末端쪽이 더 강해서 β -Casein 내부에 존재하여 단단한 疎水性結合을 하고 있는 것으로 추측되고 있다²¹⁾. 그러나 Rose²²⁾는 β -Casein은 긴棒과 같은 rod-like polymer를 형성하여 α_s -Casein과 결합하고 있는 것으로 그의 Casein micelle 모델에서 추측하고 있다.

한편 β -Casein은 溫度 및 濃度 存性이 큰 것으로 알려지고 있다. 4°C, pH7.5에서는 β -Casein은 Monomer로 존재하나, 8.5°C에서는 22개의 Monomer로 된 Ploymer가 형성되어 Monomer와 공존한다. Monomer와 Polymer의 混合比는 濃度依存性이 높고, 濃度の 增加와 더불어 Monomer의 비율은 減少한다. 또 β -Casein은 溫度上昇에 따라서 凝集

하는 성질이 있으나 그 원인은 확실치 않으며 β -Casein내의 疎水性基의 相互作用에 의한 것으로 생각할 수 있다¹⁷⁾

3) Kappa의略-Casein

κ -Casein은 총 우유 단백질의 8~15%이며, 遺傳的變異體에는 κ -A 및 κ -B가 있다²¹⁾ κ -Casein의 一次構造는 Mercier 등^(19, 21)과 Jollies 등⁽²¹⁾에 의해서 밝혀졌으며, κ -Casein B는 196개의 아미노酸殘基로 구성되어 있고, 分子量은 19,005 (κ -A의 分子量은 19,037)이다. 각 아미노酸殘基數는 Asp4, Asp4, Asn7, Thr14, Ser12, SerP1, Pyroglu 1, Glu12, Gln14, Pro20, Gly2, Ala15, 1/2 Cys2, Met2, Lle13, Leu8, Tyr9, Phe4, Lys9, His3, Trp1, 및 Arg5 이다.

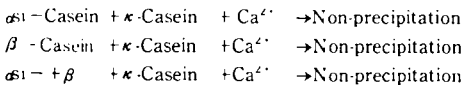
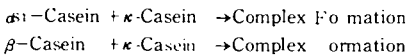
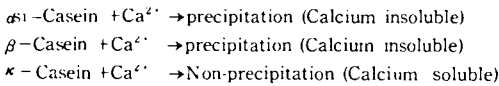
κ -Casein A는 κ -casein B의 136번째의 Isoleucine 이 Threonine으로, 148번째의 Alanine이 Aspartic acid 로 치환되어 있다.

κ -Casein이 α_s -Casein과 β -Casein에 비해서 특이한 점은 첫째로 2개의 Cysteine殘基를 함유하고 있어서 Disulfide bond의 결합에 의해서 Polymer 상태로 존재 한다^(19, 21). 둘째로 칼슘과 결합은 하지만, 溶解狀態로 존재 한다^(19, 21). 셋째로 Casein은 렛닌(Chymosin) 작용 초기에 κ - 105번째의 Casein의 P-phenylalanine 殘基와 106번째의 Methionine 殘基사이의 결합이 가수분해되어 그 결과 不溶性인 Para- κ -Casein(1~105까지)과 可溶性인 Macropeptide (또는 Glycomacropeptide라고도 함)를 생성한다^(21, 22) 이 Glycomacropeptide에는 N-Acetylneuraminic acid, Galactose, Galactasamine 등이 결합되고 있는 것으로 알려지고 있고^(21, 22), κ -Casein의 아미노酸과의 결합부위는 131번째⁽²¹⁾ 또는 133번째⁽¹⁹⁾의 Threonine인 것으로 보고 되고 있다. 한편 필자는 Glycomacropeptide를 수개의 fraction으로 분별한 결과 펩타이드의 반이상을 차지하는 fraction 1에도 糖이 함유되어 있지않고 fraction 2, 3, 4 순으로 당함량이 많다는 사실을 알았다⁽¹⁾. 이와같은 사실은 κ -Casein의 분별에 있어서도 나타나고 있는데 糖이 함유되지 않은 κ -Casein도 α_s -Casein의 安定化작용에는 糖을 함유한 κ -Casein과 별다른 차이가 없다고 한다^(19, 22). 한편 κ -Casein의 C-末端쪽의 약 50개의 아미노酸殘基중 약 반은 Serine, Threonine, Aspartic acid 및 Glutamic acid의 잔기로서 陽電荷

를 띤기가 없으며, 따라서 C-末端은 親水性인 것으로 알려지고 있다⁽²⁹⁾.

4. Casein micelle의 構造維持와 각 成分間의 相互作用

Casein micelle은 전술한 바와 같이 Casein Submicelle의 集合體이며, Submicelle은 α_s , β - 및 κ -Casein, 칼슘, 인산, 및 구연산등으로 구성되어 있다. 그러나 Casein micelle은 칼슘 존재없이 형성되지 않으나 칼슘농도에 따라서 α_s , 및 β -Casein은 溶解狀態에서 沈澱狀態로 변한다.^(29, 30) 그러나 κ -Casein이 共存할 때에는 칼슘에 의한 α_s -Casein과 β -Casein의 沈澱은 일어나지 않고 α_s -Casein, 또는 β -Casein과 κ -Casein은 複合體를 형성하여 안정화 된다. 즉 κ -Casein은 α_s -Casein 및 β -Casein과 相互作用(成分間의 Interaction)을 하는 동시에 α_s -Casein과 β -Casein의 安定性을 보호하는 역할을 한다.^(17, 29) 이와같은 관계를 요약하면 다음과 같이 표시할 수 있다.^(17, 29, 31)



1) Casein과 칼슘의 相互作用

α_s -Casein과 칼슘의 결합은 칼슘농도가 5mM까지는 溶解狀態로 결합하나, 5mM이상에서는 α_s -Casein은 급격히 沈澱한다.^(29, 30, 31) α_s -Casein의 칼슘과의 결합 및 결합部位에 대해서는 많은 연구가 있다.^(29, 30, 31, 32)

α_s -Casein에 대한 칼슘의 결합량은 沈澱직전의 5mM칼슘농도에서는 α_s -Casein 1分子당 약 7개의 칼슘이 결합한다고 하며, α_s -Casein과 칼슘의 결합부위는 주로 $-PQ^2$ 및 $-COO^-$ 인 것으로 추정되고 있다.^(29, 31) 그러나 $-PQ^2$ 와 칼슘과의 결합은 1~2mM의 칼슘농도로 포화되며, $-COO^-$ 와의 결합은 0~3nm의 범위에서는 직선적으로 增加하나 3mM이상에서의 결합은 완만하게 일어난다고 한다⁽³³⁾. 超遠心分析의 結果에서도 α_s -Casein은 0~1

mM의 칼슘존재하에서는 沈澱係數의 變化는 인정되지 않으나 1~3mM에서는 沈澱係數는 약간 상승하고 3mM이상에서는 급격한 상승이 인정되었다고 한다^(34, 35). 이상의 결과는 α_s -Casein은 $-PO_4^{2-}$ 이 칼슘으로 포화되는 과정에서는 솟음은 일어나지 않은 것이라 볼수있고, 또한 α_s -Casein의 沈澱도 생성되지 않는다. 이와같이 α_s -Casein은 비침전단계 를 경유해서 침전단계로 이르게 되는데 α_s -Casein의 沈澱에 영향을 미치는 요인은 무 일까. 이에 관한 연구중 가장 신빙성이 있다고 생각되는 것은 α_s -Casein의 重合體(Polymerization)는 이온강도, 온도등의 영향을 많이 받으나 α_s 은 N-末端部分(1~40)이 疎水性이 매우 강하며, 칼슘에 의한 α_s -Casein의 沈澱形成에는 이 부위를 통한分子間 疎水結合이 관여하고 있는 것으로 할 수 있다.^(29, 30)

β -Casein도 칼슘에 의해서 沈澱되는데 이에 관한 연구는 충분치 못하여 α_s -Casein에 비해서 설명하기가 어려운 실정이다. 전술한 바와같이 β -Casein의 電荷는 N-末端으로 25번째의 아미노酸殘基까지 나타내는데 여기에 β -Casein의 5개의 燐 중 4개가 함유되어 있고, β -Casein을 脫燐하면 칼슘에 의한 沈澱性이 상실된다고 하므로 그 沈澱機作은 α_s -Casein과는 다를 가능성도 있을 수 있다^(32, 33).

2) κ -Casein의 安定化作用

κ -Casein의 α_s -Casein에 대한 安定化作用은 Waugh등^(19, 29, 30)에 의해서 처음으로 밝혀졌으며, κ -Casein이 共存하지 않을때 α_s -Casein은 低이온강도(5×10^{-4})와 低이온칼슘농도에서 Colloid 크기의 球狀의 粒子를 형성한다. 이 粒子는 遠心分離에 의해서 不可逆的으로 엉킨다. 한편 칼슘 농도가 0.01M일때 α_s -Casein은 급격히 침전한다. 한편 우유중의 칼슘농도는 약20mM이므로 이 濃度에서 Casein micelle의 주성분인 α_s -Casein 및 β -Casein은 침전되어 安定된 Colloid용액은 될 수 없을 것이다. 그러나 κ -Casein이 적당량 공존할 때 Colloid 용액은 안정화된다. 이것을 칼슘에 의한 α_s -Casein의 침전에 대한 κ -Casein의 安定化作用 또는 보호 작용이라 말한다.

실제로 우유의 Casein micelle을 遠心力에 의해서 펠렛(Pellet)으로 침전시켜 이것을 上澄液에 再分散시키고 또 0.07 Mcacl₂에 의해서 沈澱시키고 다음에 0.01 M~0.02 M Cacl₂에서 再分散시킬때 Casein micelle은 매우 안정한 상태로 존재한다. 이와

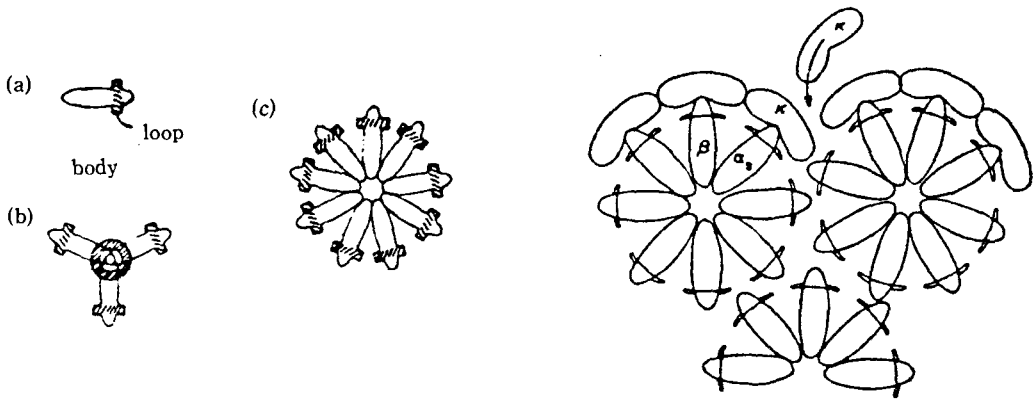


Fig. 4. Waugh's proposed model for the casein micelle : a. monomer model of α_{s1} - or β -casein with charged loop ; b. a tetramer of α_{s1} -casein monomers ; c. planar model of a core polymer of α_{s1} - and β -caseins. The lower portion shows how κ -casein might coat core polymers. Adapted from Rose (23, 29).

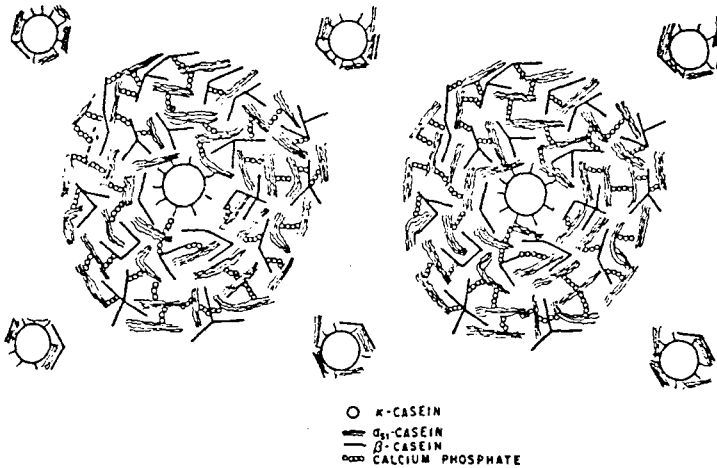


Fig. 5. Casein micelle model proposed by Parry & Carroll (16), depicting the location of κ -casein in the micelle.

같은 사실은 κ -Casein이 Casein micelle 표면에 존재하여 Casein micelle을 보호하는 작용을 하는 것이라 생각할 수 있다.^(19, 20) 그러나 어떤 Casein micelle 모델에서는 이와같은 추측을 부정하고 있다.^(19, 26)

5. Casein micelle의 構造

지금까지 Casein micelle의 構造와 그 모델에 관한 많은 연구가 알려지고 있으나 그 내용은 가양각색으로 Casein micelle의 복잡성을 나타내고 있다
(1 → 149 189 179 189 215 239 249 259 269 309 339).

Casein micelle 구조의 모델을 조립할 경우 먼저 Casein 각 성분이 Micelle 어느부위에 위치하고 있는

나가 문제되는데 지금까지 제안된 Casein micelle의 모델을 構造上的 類型別로 보면 1) Coat-core 모델 2) Internal structure 모델, 3) Subunit 모델로 대별할 수 있을 것이다.

1) Coat-core 모델

대표적인 것은 Waugh 등^(23, 29)에 의해서 제안된 모델로서 Casein micelle의 表層에는 α_s - κ -Casein 複合體 또는 β - κ -Casein 複合體가 존재하며 내부에 존재하는 α_s -Casein 또는 β -Casein과 칼슘이 결합해서 형성된 凝集體를 膜과 같이 둘러싸서 安定한 Micelle을 형성한다는 설이다(Fig. 4). 이 모델은 Casein micelle의 특징, 예를 들면 Casein micelle

의 크기가 작을수록 κ -Casein 함량이 많은 점이라든지, 렌닌작용에 의한 Micelle의 응고등을 잘 설명할 수가 있고 또 Casein micelle의 構成成分間の 相互作用의 특성을 모순없이 설명할 수 있다는 점에 서 높은 평가를 받았다.

한편 Parry 및 Carroll^(19, 20)은 Waugh등에 의해서 제안된 모델의 표층에 κ -Casein의 존재여부를 실험한 결과 Casein micelle의 표층에는 κ -Casein이 거의 없다는 사실을 밝히고 κ -Casein은 Micelle 중심부에서 核形成의 역할을 하고 칼슘에 의한 不溶性 Casein은 그 주위에 모여 Colloidal Calcium Phosphate에 의해서 안정화되는 것으로 생각했다^(21, 22).

Waugh와 Parry의 두 모델경우, Waugh의 모델에서는 α_s -및 β -Calcium Caseinate가 Micelle의 Core를 이루고, Parry의 모델에서는 κ -Casein이 Core를 이룬다는 것인데, 두 모델은 Casein 구성 성분간에 化學量論的인 결합이 없음을 보여주고 있다. 또 현시점에서 볼때 Casein micelle은 Submicelle의 集合體로 알려지고 있는데^(23, 24)이점에 대해서 언급이 없는 것은 Coat-Core모델의 결점이라 하지 않을 수 없다.

2) Internal structure 모델

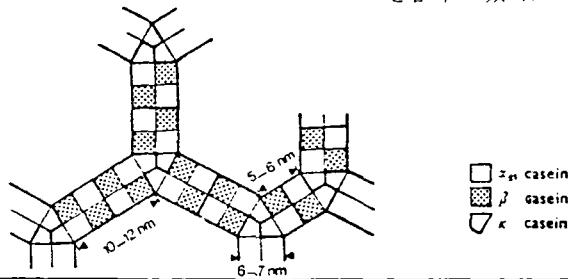


Fig. 6. Structure of the repeating unit of the casein micelle adapted from Garnier & Ribadeau-Dumas (7, 8).

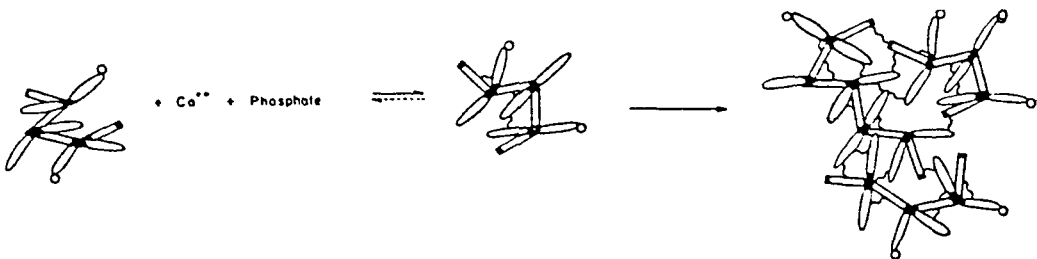


Fig. 7. Schematic representation of the formation of a small casein micelle. The rods represent β -casein, the more elliptical rods represent α_{s1} -casein and S-shaped lines depict apatite chain formation. The circles represent κ -casein. Adapted from Rose (23).

이에 속하는 Casein micelle 모델은 이미 분리되어 많이 연구된 Casein 성분들의 성질을 바탕으로 해서 본질적인 Casein micelle의 구조를 논하고 있다. Garnier 및 Ribadeau-Dumas⁽⁹⁾에 의해서 제안된 모델은 Casein micelle 구조의 핵심을 κ -Casein에 두고 있다. 이 모델을 Y형 구조로서 세개의 κ -Casein monomer에 α_s -및 β -Casein이 결합되어 있다. 그러나 문제점은 κ -Casein이 Helical 구조 또는 2次構造를 하고 있느냐 하는 점과, 만일 κ -Casein이 Disulfide 결합에 의해서 Trimer가 형성된다면 κ -Casein은 凝集体를 형성할 것이라는 점이다. 또 이 모델은 칼슘과 Casein의 相互作用에 대해서 분명치 않으며, Micelle의 安定性에 기여하는 Colloidal Calcium Phosphate에 대한 설명이 불충분하다.

한편 Rose⁽²³⁾가 제안한 Casein micelle의 모델은 β -Casein에 기초를 두고, β -Casein monomer 자체의 솟음에 의해서 사슬(Chain)과 같은 Polymer를 형성하고 여기에 κ -Casein과 결합된 α_s -Casein이 결합한다는 설이다. 그리고 Micelle이 형성되었을 때 Colloidal Calcium Phosphate는 Micelle의 網狀構造 내부에 결합되어 안정화작용을 한다는 것이다. 이 모델에서 모든 Casein 성분은 化學量論的으로 결합되고 있다. 그러나 이 모델의 결점은 첫째

로 α_s -Casein과 β -Casein은 상호작용에 의해서 Polymer를 형성할 수 있다는 사실, 둘째로 β -Casein은 溶液중에서는 일정한 구조가 없으며, 셋째로 β -Casein이 없어도 α_s -Casein과 K-Casein만으로 인위적인 Micelle을 합성시킬수 있다는 점을 충분히 설명할 수 없다

3) Subunit 모델

Casein micelle의 Subunit(Submicelle)은 EDTA,Urea, Sodium Laury Sulfate, Sodium Fluoride 등의 처리 또는 물에 대한 투석등에 의해서 電子顯微鏡으로 관찰할 수 있다^{25, 26}.

Morr⁽¹⁴⁾에 의해서 제안된 이 모델은 α_s - β - 및

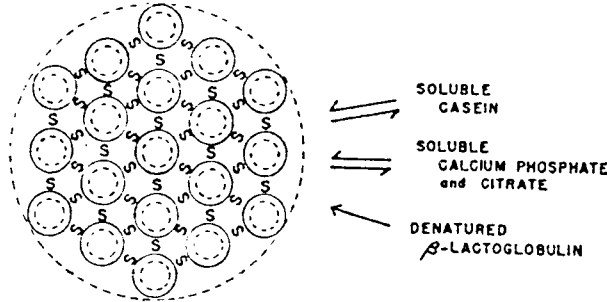


Fig. 8. Structure of the casein micelle after Morr (14). The S-shaped lines represent calcium phosphate linkages between small spherical complexes of the α_{s1} , β - and κ -caseins.

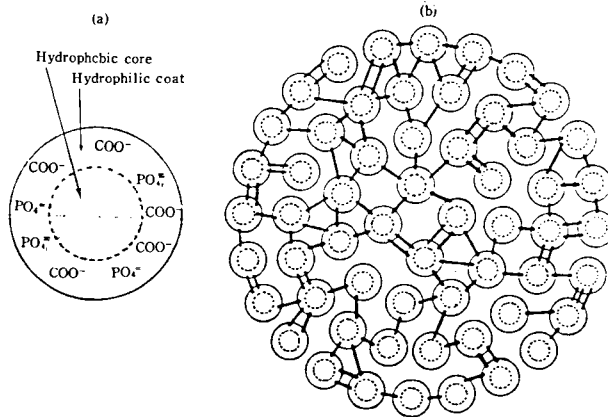


Fig. 9. Schematic picture of the casein micelle. (a) Sub-micelle; (b) sub-micelles linked by colloidal Ca phosphate (from Schmidt and Payens, 24)

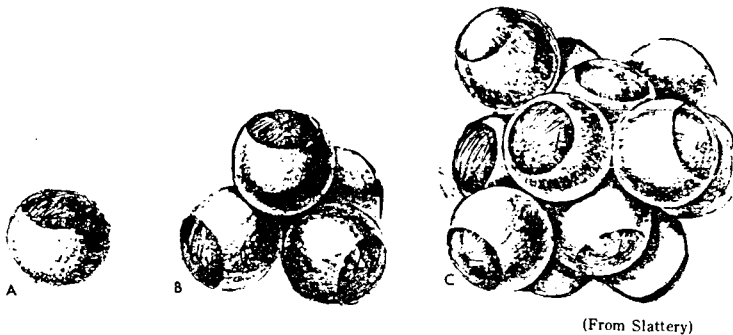


Fig. 10 Artist' conception of amphiphilic casein submicelles and the initial aggregates. (A) A single submicelle with part of its surface hydrophilic (dark) and part hydrophobic (lighter). (B) A tetrahedral aggregate of four submicelles. (C) A larger aggregate of minimum micelle size containing fourteen submicelles (25)

κ -Casein이 칼슘에 의해서 凝集되어 작은 Submicelle을 구성하고 이것이 다수 집합하여 Casein micelle을 구성한다는 설이다. 이 모델은 Waugh⁽²⁹⁾에 의해서 제안된 Coat-core說에 Subunit를 도입한 것에 불과하다. Submicelle의 직경은 약 30nm이며, 疎水性結合과 칼슘이온 또는 칼슘-인이온이 Casein의 有機磷에스텔과 架橋를 형성해서 Micelle을 안정화시킨다는 것이다. 이 설은 모든 Submicelle의 표면의 κ -Casein량은 거의 일정하며 실제로 Micelle은 크기에 따라서 α_s - β -및 κ -Casein량의 구성비가 다르므로⁽²³⁾이에 대한 설명과, 또 Casein micelle의 크기를 억제하는 기작에 대해서도 설명할 수 없다.

한편 Schmidt 및 Payens⁽²⁴⁾에 의해서 새로운 모델이 제안되고 있으나 Morr⁽¹⁴⁾ 및 Rose⁽²⁵⁾의 모델의 원리와 근본적으로 다른 점은 없다.

많이 제안된 모델중에서 Slattery 및 Evard⁽²⁵⁾에 의해서 제안된 모델은 현재로서는 많은 사람들에 의해서 가장 높이 평가되고 있다. 이 모델은 Casein micelle은 兩親媒性構造(Amphiphilic structure)를 하고 있다는 것이 특징적이다. Submicelle은 糖을 함유한 K-Casein이 많은 親水性部分(모델그림중 黑色部分)과 칼슘과 결합한 α_s - 및 β -Casein이 多量存在하는 疎水性部分(모델그림중 白色部分)으로 구성되어 있어서 그 직경은 약 10nm이며, 이 Submicelle은 疎水性部分을 통해서 重合한다는 것이다. 이 모델의 또 하나의 특징은 각 Submicelle의 크기는 일정하지 않고 親水性 및 疎水性의 부분비율이 다르며, 처음에는 疎水性部分이 큰 Micelle이 舍合하고 다음에 그 주위에 疎水性部分이 작은 Micelle이 舍合해서 결국 Casein micelle은 일정한 크기로 제한되어 安定된 Micelle이 구성된다는 설이다. 그러나 Submicelle의 兩親媒性構造, κ -Casein의 함유량이 다른 Submicelle의 존재에 관한 실험적증명은 아직 없으므로 이 모델이 완전한 것이라고는 할 수 없으며 계속적인 연구가 기대된다.

이상과 같이 Casein micelle의 構成成分, 性状 및 構造에 대해서 지금까지 알려진 연구결과를 극히 한정된 범위내에서 요약해 보았다. 한가지 부언하고 싶은 것은 Casein micelle구조에 관한 연구에서 α_s -Casein의 微量成分, γ -Casein등의 역할과 기작에 대해서는 거의 알려지지 않았으며, 또 Casein micelle과 밀접한 관계에 있는 無機質에 대해서도 앞으로 보다 상세한 연구가 필요할 것으로 본다.

1. Bloomfield, V. A. and C. V. Morr (1973) Structure of casein micelles : Physical methods Neth. Milk Dairy J. 27: 100~120
2. Carrol, R. J. and M. P. Thompon (1971). Gelation of concentrated skimmilk : Election mycroscopic study. J. Dairy Sci. 54 1245~1252
3. Dalgleish, D. G. and T. G. Parker (1980). Binding of calcium ions to bovine asl-casein an precipita bility of the protein-calcium on complexes. J. Dairy Res. 47:113-112.
4. Færrel, H. M. , Jr. & M. P. Thompson (1971). Biological significance of milk protein polymorphism. J. Dairy Sci. 54 : 1219 - 1228
5. Farrel, H. M. , Jr (1973). Models for casein micelle formation. J. Dairy Sci. 56 : 1195-1206
6. Fox, P. F. & P. A. Morrissey (1972). Casein micelle structure: Location of κ -casein. J. Dairy Res. 39 : 387-394.
7. Garnier, J. (1973). Models of casein micelle structure. Neth. Milk Dairy J. 27 : 240-248.
8. Garnier, J. and B. Ribadeau-Dumas (1976). Structure of the casein micelle : A proposed model. J. Dairy Res. 37 : 493-504.
9. Green, M. (1982) Mode of binding of ionic materials to casein micelles. J. Dairy Res. 49 : 99-105.
10. Jolles, P. and A. M. Fiat (1979). The carbohydrate portions of milk glycoproteins. J. Dairy Res. 46 : 187-191.
11. Kim, Y. K. (1971). Fractionation of k-casein macropeptides. Korean J. Ani. Sci. 13 : 82-86.

12. Mckenzie, H. A. (1971).
Milk proteins II.
AP. New York and London.
13. Mercier, J. C. , B. Ribadeau-Dumas and F. Grosclaude (1973).
Amino acid composition and sequence of bovine k-casein.
Neth. Milk Dairy J. 27 : 313-322.
14. Morr, C. V. (1967).
Effect of oxalate and urea upon ultracentrifugation proterties of raw and heated skim milk casein micelles.
J. Dairy Sci. 50 : 1744-1751.
15. Noble, R. W. Jr., and D. F. Waugh (1965).
Casein micelle : Formation and structure I.
J. Amer. Chem. Soc.
16. Parry, R. M., Jr., and R. Carroll (1969).
Location of k-casein in milk micelles.
Biochem. Biophys. Acta 194 : 138~150
17. Payens, T. A. J. (1966).
Association of caseins and their possible relation to structure of the casein micelle.
J. Dairy Sci. 49 : 1317-1324.
18. Payens, T. A. J. (1979).
Casein micelles : The colloid-chemical approach.
J. Dairy Res. 46 : 291-306.
19. Ribadeau-Dumas, B., J. C. Mercier and F. Grosclaude (1973)
Amino-acid composition and sequence of bovine α s 1-and β -casein.
Neth. Milk Dairy J. 27 : 304-312.
20. Rose. D. (1965).
Protein stability problems., J. Dairy Sci. 48 : 139-146.
21. Rose. D. and J. R. Colvin (1966).
Internal structure of casein micelles from bovine milk.
J. Dairy Sci. 49 : 351-355.
22. Rose, D., D. T. Davis and M. Yaguchi (1969).
Quantitative determination of the major components of casein mixture by column chromatography on DEAE-cellulose.
J. Dairy Sci. 52 : 8-11.
23. Rose, D. (1969).
Casein micelle structure : An examination of a proposed model of micelle structure in bovine milk.
Dairy Sci. Astr. 31 : 171-175.
24. Schmidt, D. & T. A. J. Payens (1976).
Colloidal aspects of casein. In surface and colloid science.
vol. 9 (Ed. E. Matijevic.)
New York, Wiley & Sons Inc. (cited from payens. (1979). J. Dairy Res. 46 : 291-306).
25. Slattery, C. W. (1976).
casein micelle structure : An examination of models (Review).
J. Dairy Sci. 59 : 1547-1556.
26. Thompson M. P. and H. M. Farrell, Jr. (1973).
The casein micelle-The forces contributing to its integrity.
Neth. Milk Dairy J. 27 : 220-239.
27. Trau, V. D. & B.E. Baker (1970).
Casein I : Carbohydrate moiety of k-casein.
J. Dairy Sci. 53 : 1009-1012.
28. Webb, B. H. ,Johnson, A. H. and Alford, J. A. (1974).
Fundamentals of Dairy Chemistry.
AVI. Westport Connecticut.
29. Waugh, D. F. in : H. A. McKenzie (Ed.) (1971).
Milk proteins II. P. 57
Academic press, New York and London.
30. Waugh, D. F. and R. W. Noble, Jr. (1965).
Casein micelle : Formation and structure II.
J. Amer. Chem. Soc. 87 : 2246-2256.
31. Whitney, R. M., J. R. Brunner, K. E. Ebner, H. M. Farrel, Jr., R. V. Josephson, C. V. Morr and H. E. Swaisgood (1976).
Nomenclature of the proteins of cow milk : Fourth revision.
J. Dairy Sci. 59 : 795-815.
32. Yamauchi, K., S. Takemoto and T. Tsugo (1967).
Calcium-binding property of dephosphorylated caseins.
Agr. Biol. Chem. 31 : 54-63.
33. 上野川修(1978). カゼインミセル—ゾの構造と横成成分間の相互作用. 化学と生物. 16 : 556-564.
34. 김영교, 김영주, 김현욱(1981).
우유와 유제품의 과학.
신진문화사.