

## 카제인의 탈인산화가 카제인 미셀의 에탄올 안정성에 미치는 영향

신원선 · 문태화\*

서울대학교 식품공학과

**초록 :** 탈인산화 정도를 달리한 전카제인 또는  $\beta$ - 및  $\kappa$ -카제인을 사용하여 여러 종류의 카제인 미셀계를 합성하여 탈인산화하지 않은 카제인으로 제조한 미셀계와 에탄올에 대한 안정성을 비교하였다. 탈인산화한 전카제인으로 만든 미셀은 천연 전카제인으로 제조한 인공 카제인보다 에탄올에 대한 안정성이 낮았으며, 탈인산화 정도가 클수록 에탄올 안정성이 낮게 나타났다. 탈인산화한  $\kappa$ -카제인을 사용하여 제조한 인공 카제인 미셀은 탈인산화하지 않은  $\kappa$ -카제인을 사용한 미셀보다 에탄올에 대한 안정성이 낮았고, 또한 탈인산화가 많이 된  $\beta$ -카제인으로 만든 미셀계일수록 에탄올 안정성이 낮았다. 탈지유의 에탄올에 대한 안정성은 탈인산화가 많이 될수록 감소하였으나 감소의 폭이 좁은 특징을 보였으며, 합성한 카제인 미셀계는 pH 6.3~7.2 범위에서 pH가 상승함에 따라 에탄올 안정성이 높아져 카제인의 인산기가 미셀의 안정성에 중요한 역할을 함을 시사하였다(1995년 2월 16일 접수, 1995년 6월 2일 수리).

### 서 론

카제인은 우유 단백질의 약 80%를 차지하며, 탈지우유를 20°C에서 pH 4.6으로 조절할 때 침전하는 인단백질로 정의되는데, 그 구성 단백질들의 1차구조가 밝혀짐에 따라  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ - 및  $\kappa$ -카제인의 4종류로 구분된다.<sup>1)</sup> 각 종류의 카제인은 post-translational phosphorylation이나 glycosylation의 정도 차이로 이질성(heterogeneity)을 나타내며 또한 아미노산 잔기의 치환이나 결실에 따른 유전적 다형태성(genetic polymorphism)을 나타낸다.<sup>2)</sup> 특히 카제인의 인산화는 생물학적 및 식품가공학적 측면에서 중요한데, 각 카제인의 인 함량은 크게 달라  $\alpha_{s1}$ -카제인은 9개,  $\alpha_{s2}$ -카제인은 13개,  $\beta$ -카제인은 5개 까지의 인산기를 가지나  $\kappa$ -카제인은 단 1개의 인산기를 함유하고 있다.<sup>1)</sup> 인산기는 주로 serine의 에스테르로서 존재하며 간혹 threonine의 에스테르로서 존재하기도 한다.

대부분의 카제인은 우유 중에서 미셀(micelle)의 형태로 존재하는데, 미셀의 평균 지름은 약 100 nm이며 그 분자량은 10<sup>8</sup> dalton정도이다.<sup>3)</sup> 또한 카제인 미셀은 단백질 1g당 약 3.7 g의 H<sub>2</sub>O를 함유하고 있어 수화도가 큰 다공성의 스폰지상 콜로이드 입자이다.<sup>4)</sup> 천연상태의 카제인은 안정성이 매우 커서 140°C에서 10~20분 동안 가열하여도 응고되지 않으며,<sup>3)</sup> 증발, 한외거르기(ultrafiltration), 초원심분리나 건조 등의 방법으로 농축하여도 쉽게 변화하지 않는다.<sup>5)</sup> 그러나 카제인 미셀은 pH를 카제인의 등전점인 4.6으로 낮추는 산성화, 칼슘 첨가, 알콜 첨가, 고온에서의 장시간 가열, 단백질 가수분해 효소에 의한  $\kappa$ -카제인의 분해, 냉동저장<sup>6)</sup> 등의 방법에 의하여 불안정하게 되어 응고하며, 이러한 현상은 여러

종류의 카제인 제품을 비롯한 유제품의 생산에 이용되고 있다.

우유에 알콜을 첨가할 때 카제인 미셀이 응고하는 현상은 우유 품질의 측정 방법 내지는 우유의 열안정성을 나타내는 지표로 한 때 이용되었으나, 원유의 품질이 향상되고 품질관리 방법이 개선됨에 따라 우유의 에탄올에 대한 안정성을 측정하는 방법은 대부분의 지역에서 더 이상 사용되고 있지 않다. 그러나 Ireland를 비롯한 일부 국가에서 알콜 함유 음료인 cream liquer 등에 사용되는 우유나 크림의 품질관리 수단의 하나로서 이 방법이 다시 사용되기 시작하였다.<sup>7)</sup> 아울러 우유나 카제인 미셀 시스템의 에탄올에 대한 안정성을 결정하는 원리에 대한 연구가 계속되어, 유청 단백질은 우유의 에탄올에 영향을 미치지 않으며 우유 serum중 가용성 칼슘이 주요 영향 요인이라고 보고되었고,<sup>8)</sup> 우유의 pH에 따라 에탄올 안정성이 변화하는 현상은 인산기의 이온화에 의해 Ca<sup>2+</sup> 농도가 감소되는 데 기인하는 것으로 제시되었으며,<sup>9)</sup> 에탄올은 카제인 미셀이 존재하는 용매의 유전상수(dielectric constant)를 낮추어 미셀 응고에 대한 energy barrier를 변화시키는 역할을 하는 것으로 제시된 바 있다.<sup>10)</sup> 카제인 또는 그 구성 단백질의 탈인산화(dephosphorylation)에 대해서는 미셀 형성,<sup>11)</sup> 칼슘 결합,<sup>12)</sup> rennet에 의한 커드 형성,<sup>13)</sup> syneresis<sup>14)</sup> 등에 미치는 영향에 관한 여러 연구가 이루어져 왔다. 이 연구에서는 카제인 미셀 시스템의 안정성에 관여하는 요인에 대한 이해를 증진시키기 위하여 카제인의 탈인산화가 카제인의 에탄올에 대한 안정성에 미치는 영향을 조사하였다.

찾는말 : 카제인, 탈인산화, 에탄올 안정성

\*연락처자

## 재료 및 방법

### 탈지우유의 제조

착유되어 냉각된 생우유(raw bulk milk)를 4°C, 1000×g에서 20분 동안 원심분리한 다음 크림층을 제거하여 탈지우유를 제조하였다.

### 전카제인(whole casein)의 제조

탈지우유를 20°C에서 1N HCl로 pH 4.6으로 조절하고 30분 동안 교반한 다음 1300×g에서 15분간 원심분리하여 침전물을 회수하였다. 이를 다시 중류수에 녹이고 재침전시켜 전카제인을 분리한 후 동결건조하였다.

### $\alpha_s$ -카제인의 제조 및 $\alpha_{s1}$ -카제인과 $\alpha_{s2}$ -카제인의 분리

$\alpha_s$ -카제인은 Thompson과 Kiddy의 방법<sup>15)</sup>에 따라 제조하였으며, Brignon 등의 방법<sup>16)</sup>으로  $\alpha_{s1}$ -카제인과  $\alpha_{s2}$ -카제인으로 분리하였다. 즉, 동결건조한  $\alpha_s$ -카제인 10g을 imidazole buffer(0.01 M imidazole, 3.3 M urea, 0.8% 2-mercaptoethanol, pH 7.0)에 녹인 다음 DEAE-cellulose (DE52, Whatman) column(5×50 cm)에서 3l의 imidazole buffer(0-0.3 M NaCl linear gradient)로 용출하였으며, 용출액의 유속은 120 ml/h이었고 10 ml/씩 분획하였다. 단백질 농도는 280 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였으며,  $\alpha_{s1}$ -카제인과  $\alpha_{s2}$ -카제인은 urea-polyacrylamide gel을 이용한 전기이동으로써 확인하였다.

### $\beta$ -카제인의 제조

$\beta$ -카제인은 산으로 침전시킨 전카제인으로부터 Hipp 등의 urea 분별법<sup>17)</sup>으로 제조하였다. 먼저 전카제인을 6.6 M urea에 녹인 다음 4.63 M urea가 되도록 희석하여  $\alpha$ -카제인을 제거하고, 상층액을 3.3 M urea가 되게 희석한 후 원심분리하여 침전을 제거하였다. 상층액의 urea 농도가 1.7 M 되게 희석하고 0.1 N HCl로 pH를 4.7로 조절하여 형성된 침전을 회수하여 4.63 M urea에 녹인 다음 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 이 상층액은 urea 농도가 3.3 M 되도록 조절하고 다시 원심분리하여 상층액을 취한 다음 1.7 M urea가 되게 희석하고 pH를 4.7로 조절함으로써  $\beta$ -카제인 희분을 분리하여 동결건조하였다.

### $\kappa$ -카제인의 제조

전카제인 350 g을 6.6 M urea 1l에 녹인 다음 3.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 200 ml를 더하고 중류수 2l를 첨가하여 2시간 동안 정치한 후 원심분리로 상층액을 회수하고 ammonium acetate를 1 M이 되도록 첨가하였다. 침전을 분리하여 pH 7.5에서 중류수에 녹인 후 투석하고 동결건조하여  $\kappa$ -카제인을 제조하였다.<sup>18)</sup>

### 카제인의 탈인산화

1% 카제인 용액(pH 7.0)에 카제인 1g당 25 mg의 potato acid phosphatase (Type II, 0.8 unit/mg solid, Sigma

Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.)를 사용하여 37°C에서 시간을 달리하여 반응시켜 탈인산화시켰다. 상대적인 탈인산화 정도는 효소반응 시간에 따라 각 카제인의 탈인산화 정도를 측정하여 최대 탈인산화 정도를 결정하고 이에 대한 백분율로 나타내었다.

### 인의 정량

시료 중의 인 함량은 Taussky와 Shorr의 방법<sup>19)</sup>을 일부 변경하여 측정하였다. 시료용액 0.5 ml에 12% trichloroacetic acid 용액 9.5 ml를 더하여 잘 섞은 후 실온에서 5분간 정치한 다음 원심분리하였다. 상층액을 ashless filter paper로 여과하여 얻은 여액을 일정량 취하여 ferrous sulfate-ammonium molybdate 시약을 사용하여 인의 함량을 측정하였다.

### 인공 카제인 미셀(artificial casein micelle)의 제조

미리 제조한  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ - 및  $\kappa$ -카제인 또는 탈인산화한 카제인을 사용하여 Schmidt 등의 방법<sup>20)</sup>에 따라 카제인 미셀을 합성하였다. 즉 비이커에 중류수 55 ml를 넣고 온도를 37°C로 유지하면서 6.3%(w/v) 전카제인 용액(pH 6.7) 또는  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ - 및  $\kappa$ -카제인 용액을 60 ml/h로, CaCl<sub>2</sub>와 MgCl<sub>2</sub>의 혼합액(63.1 g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O + 11.8 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O/l, pH 6.7), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>의 혼합액(23.9 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 31.3 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O/l, pH 6.7) 및 시트르산 용액(31.2 g citric acid monohydrate/l, pH 6.7)을 각각 10 ml/h의 속도로 1시간에 걸쳐서 교반하면서 첨가하였다. 이 때 pH는 0.8 N NaOH로 6.7이 유지되도록 하였으며 각 용액의 첨가가 끝난 후 30분 동안 pH를 조절하였다.

### 에탄올에 대한 안정성의 측정

카제인 용액 1ml씩을 일련의 시험관에 넣고, 적정량의 중류수로 희석하여 농도를 2% 간격으로 조절한 에탄올 1ml를 첨가하여 혼합한 다음, 응고물의 형성 여부를 혼합 직후와 실온에서 5분 동안 정치한 후에 조사하였다. 에탄올 안정성은 5분 동안 정치하였을 때 응고물을 형성시킨 에탄올의 최소 농도로서 표시하였다.<sup>21)</sup> 칼슘 농도는 카제인 용액 0.99 ml에 일정 농도(0.2~0.6 M)의 CaCl<sub>2</sub> 10 μl를 첨가하여 조절하였다.

## 결과 및 고찰

### 전카제인의 탈인산화가 인공 카제인 미셀계의 에탄올 안정성에 미치는 영향

천연 전카제인(native whole casein)과 탈인산화된 전 카제인(dephosphorylated whole casein)으로 각각 카제인 미셀을 합성하여 각 계의 에탄올에 대한 안정성을 측정하여 비교한 결과는 Fig. 1과 같다. 탈인산화된 전 카제인으로 만든 미셀은 phosphatase로 처리하지 않은 천연 전카제인으로 제조한 인공 카제인 미셀보다 에탄올에 대한 안정성이 낮았으며, 전카제인의 탈인산화 정도를 달리하여 카제인 미셀을 제조하였을 경우 탈인산

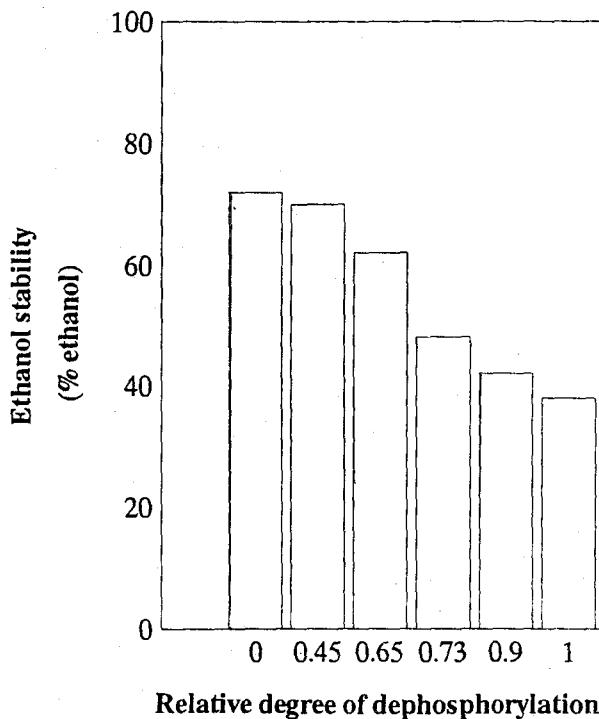


Fig. 1. Effect of dephosphorylation on the ethanol stability of artificial casein micelles

화의 정도가 커짐에 따라 인공 카제인 미셀계의 에탄올 안정성이 상당히 낮아졌다. 우유에서 카제인 미셀의 안정성은 카제인 조성, colloidal calcium phosphate의 함량, 미셀의 크기와 voluminosity,  $\text{Ca}^{2+}$  activity 등 여러 요인의 영향을 받는 것으로 알려져 있다.<sup>22)</sup> 또한 탈인산화된 전카제인으로 제조한 미셀은 천연의 전카제인으로 만든 미셀의 조성과 매우 달라, 탈인산화가 증대될수록 미셀 중의 칼슘, 마그네슘, 무기인 및 citrate의 함량이 증가하며 반대로 카제인의 비율은 감소된다는 것이 보고된 바 있다.<sup>23)</sup> 따라서 카제인의 탈인산화는 카제인의 net negative charge를 감소시켜 미셀 사이의 반발력을 감소시키며, 미셀 구조의 형성에 중요한 역할을 하는 colloidal calcium phosphate의 결합 양상을 변화시켜  $\text{Ca}^{2+}$ 의 농도가 달라짐으로써 합성한 카제인 미셀계의 에탄올에 대한 안정성을 저하시키는 것으로 생각된다.

#### $\kappa$ -카제인의 탈인산화가 인공 카제인 미셀계의 에탄올 안정성에 미치는 영향

Phosphatase로 처리하지 않은  $\kappa$ -카제인과 50% 탈인산화한  $\kappa$ -카제인을 써서  $\alpha_{s1^-}$ :  $\alpha_{s2^-}$ :  $\beta^-$ :  $\kappa$ -카제인의 비를 3:0.8:2.8:1로 하여 각각 인공 카제인 미셀을 제조하여 에탄올에 대한 안정성을 측정하였다. 그 결과 각 인공 카제인 미셀계의 에탄올 안정성은 54%와 40%로 나타나, 탈인산화된  $\kappa$ -카제인으로 만든 미셀의 에탄올에 대한 안정성이 탈인산화하지 않은  $\kappa$ -카제인으로 제조한 카제인 미셀계보다 뚜렷이 낮았다. 카제인 미셀의 구조는 아직 확립되어 있지 않으나 일반적으로 널리 받아들여

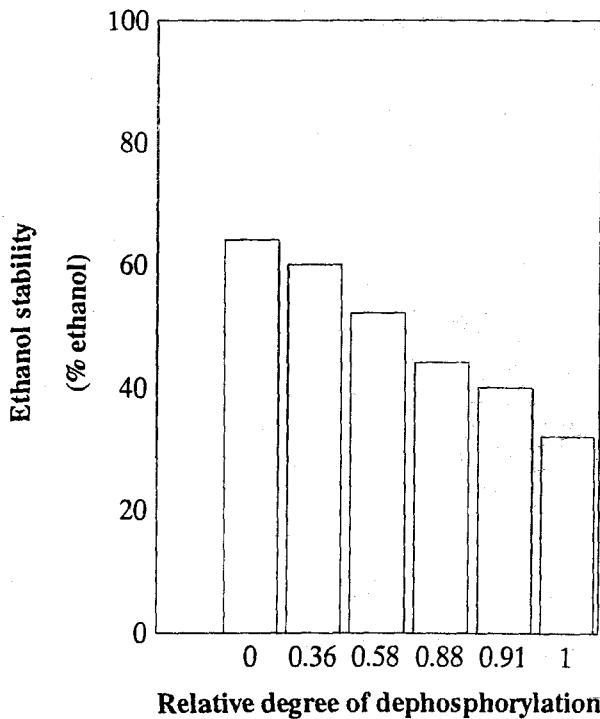


Fig. 2. Ethanol stability of artificial casein micelles containing dephosphorylated  $\beta$ -casein

지고 있는 submicellar model<sup>24,25)</sup>에 의하면 카제인 미셀은 분자량  $3 \times 10^5$  dalton, 지름 10 nm의 대략 구형인 submicelle들로 이루어져 있는데, submicelle을 구성하는 카제인의 함량은 submicelle에 따라 서로 다르며  $\kappa$ -카제인을 많이 함유한 submicelle은 주로 카제인 미셀의 표면에 위치하여 미셀에 안정성을 부여한다.  $\kappa$ -카제인은 N-말단쪽 2/3는 소수성을 띠며 C-말단 1/3은 친수성을 띠는데,<sup>26)</sup> 이 친수성 부분은 용매 쪽으로 돌출되어 있는 것으로 제시되고 있다.<sup>27,28)</sup> 따라서  $\kappa$ -카제인의 친수성 부위에 위치한 serine잔기로부터 인산기를 제거하면  $\kappa$ -카제인의 친수성이 감소되고 하전량의 감소로 인하여 에탄올에 대한 안정성이 낮아진 것으로 설명될 수 있다.

#### $\beta$ -카제인의 탈인산화가 카제인 미셀계의 에탄올 안정성에 미치는 영향

부분적으로 탈인산화한  $\beta$ -카제인과 전카제인을 혼합하여 카제인 미셀을 합성하여 탈인산화하지 않은  $\beta$ -카제인으로 제조한 인공 카제인 미셀의 에탄올에 대한 안정성을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 탈인산화한  $\beta$ -카제인으로 만든 카제인 미셀은 천연의  $\beta$ -카제인을 사용하여 제조한 미셀보다 에탄올 안정성이 낮았으며, 탈인산화가 많이 된  $\beta$ -카제인으로 제조한 미셀계일수록 에탄올에 대한 안정성이 낮았다. 카제인은 submicelle의 phosphoserine잔기에 colloidal calcium phosphate가 결합함으로써 서로 연결되어 미셀을 이루게 되는데<sup>5)</sup>  $\beta$ -카제인이 탈인산화됨에 따라 calcium phosphate와의 연결부위가 감소되고 그 결과 미셀의 구조와 조성이 달라

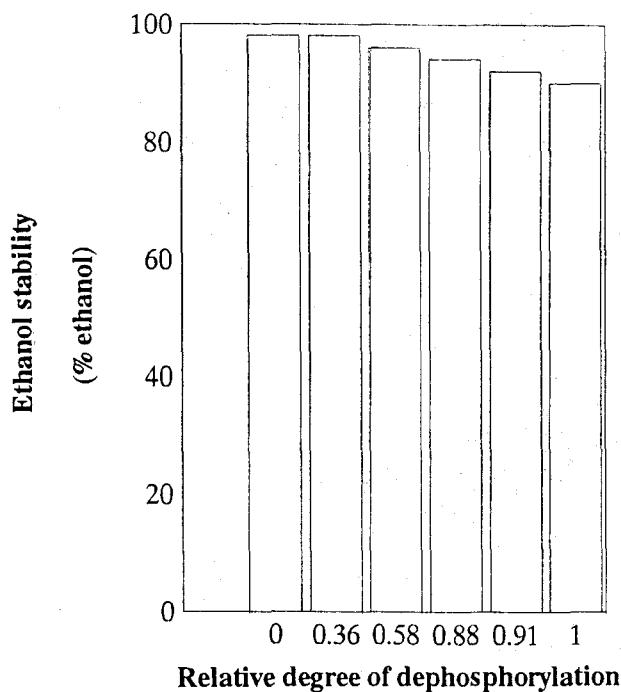


Fig. 3. Stability of dephosphorylated skim milk system towards ethanol

지면서 카제인 미셀의 안정성을 결정짓는 요인들이 변화하여 에탄올 안정성이 감소한 것으로 추정된다.

탈지유의 탈인산화가 에탄올 안정성에 미치는 영향 신선한 우유로부터 유지방을 제거하고 phosphatase로 처리하여 에탄올에 대한 안정성을 측정한 결과(Fig. 3), 탈인산화가 많이 이루어진 시료일수록 에탄올 안정성이 감소되는 경향을 보였으나, 구성 카제인을 분리하여 제조한 미셀계보다는 안정성 감소의 폭이 좁았다. 이것은 각종 이온 등 탈지유에 함유된 성분들이 효소작용을 저해하거나 천연 카제인 미셀 자체가 potato acid phosphatase에 의하여 쉽게 가수분해되지 않아 탈지유계의 탈인산화가 상대적으로 적게 이루어진 데 기인하는 것으로 보인다.<sup>13,29)</sup>

#### pH가 인공 카제인 미셀의 에탄올 안정성에 미치는 영향

천연 전카제인과 탈인산화된 전카제인을 사용하여 카제인 미셀을 각각 합성하고 pH를 조절한 다음 에탄올에 대한 안정성을 측정한 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

실험에서 사용한 pH 범위에서는 천연 전카제인을 사용하여 제조한 미셀이 탈인산화된 전카제인을 사용하여 합성한 미셀보다 에탄올 안정성이 커으며, 합성한 카제인 미셀계는 모두 pH가 높아짐에 따라 에탄올에 대한 안정성이 증대되었다. 이와 같이 pH가 6.0~7.2 범위에서 증가함에 따라 에탄올에 대한 안정성이 증대되는 현상은 탈지유계에 대해서 보고된 바 있다.<sup>9)</sup> 이 현상은 pH가 높아지면 인산기의 하전량이 증가하여 cal-

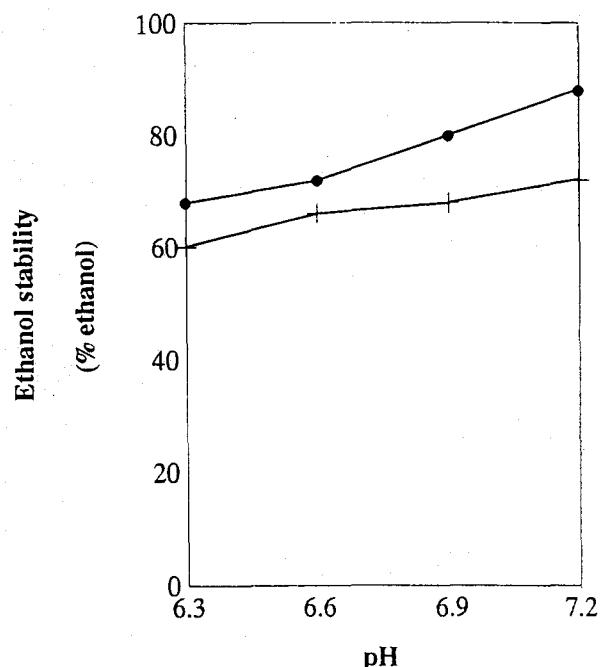


Fig. 4. Ethanol stability/pH profile of artificial casein micelles

cium phosphate 형성이 증대되고 free  $\text{Ca}^{2+}$ 이 감소됨에 따라 카제인에 결합되는  $\text{Ca}^{2+}$ 이 적어지며 또한 카제인의 serine phosphate의 이온화에 따른 음전하량 증가가 칼슘의 결합보다 빠르게 일어나므로 결국 카제인 미셀의 net negative charge가 증대되고 카제인 응고에 대한 energy barrier가 높아져서 높은 농도의 에탄올을 사용하여야만 응고를 유발할 수 있는 데 기인하는 것으로 설명되었다. 인공 카제인 미셀계의 에탄올 안정성도 이와 같이 설명될 수 있으며, 아울러 탈인산화된 전카제인은 탈인산화되지 않은 전카제인에 비하여 음전하를 적게 띠므로 상대적으로 응고에 대한 energy barrier가 낮아 더 낮은 농도의 에탄올에 의해 응고가 일어난 것으로 판단된다.

#### 참 고 문 헌

1. Eigel, W. N., J. E. Butler, C. A. Ernstrom, H. M. Farrell Jr., V. R. Harwalkar, R. Jenness and R. McL. Whitney (1984) Nomenclature of proteins of cow's milk; fifth revision. *J. Dairy Sci.* **67**, 1599-1631.
2. Swaisgood, H. E. (1982) In 'Developments in Dairy Chemistry-1 Proteins', Fox, P.F.(ed.), Chap. 1, Applied Science Publishers, London and New York.
3. Fox, P. F. and D. M. Mulvihill (1982) Milk proteins; molecular, colloidal and functional properties. *J. Dairy Res.* **49**, 679-693.
4. McMahon, D. J. and R. J. Brown (1984) Composition, structure, and integrity of casein micelles; a review. *J. Dairy Sci.* **67**, 499-512.
5. Schmidt, D. G. (1982) In 'Developments in Dairy Chemistry-1 Proteins', Fox, P. F. (ed.), Chap. 2, Applied Science

- Publishers, London.
6. Lonergan, D. A., O. Fennema and C. H. Amundson (1981) Stability of proteins in ultrafiltered, low-lactose milk concentrate during frozen storage. *J. Food Sci.* **46**, 1603-1611.
  7. Donnelly, W. J. and D. S. Horne (1986) The relationship between ethanol stability of bovine milk and natural variations in milk composition. *J. Dairy Res.* **53**, 23-33.
  8. Horne, D. S. and T. G. Parker (1981) Factors affecting the ethanol stability of bovine milk; I. Effect of serum phase components. *J. Dairy Res.* **48**, 273-284.
  9. Horne, D. S. and T. G. Parker (1981) Factors affecting the ethanol stability of bovine milk; II. The origin of the pH transition. *J. Dairy Res.* **48**, 285-291.
  10. West, D. W. (1986) Structure and function of the phosphorlated residues of casein. *J. Dairy Res.* **53**, 333-352.
  11. Bingham, E. W., H. M. Farrell and R. J. Carroll (1972) Properties of dephosphorylated  $\alpha_{s1}$ -casein; Precipitation by calcium ions and micelle formation. *Biochemistry* **11**, 2450-2454.
  12. Aoki, T., K. Toyooka and Y. Kako (1985) Role of phosphate groups in the calcium sensitivity of  $\alpha_{s2}$ -casein. *J. Dairy Sci.* **68**, 1624-1629.
  13. Yun, S.-E., K. Ohmiya and S. Shimizu (1982) Role of the phosphoryl group of  $\beta$ -casein in milk curdling. *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1505-1511.
  14. Pearse, M. J., P. M. Linklater, R. J. Hall and A. G. Mackinlay (1986) Effect of casein micelle composition and casein dephosphorylation on coagulation and syneresis. *J. Dairy Res.* **53**, 381-390.
  15. Thompson, M. P. and C. A. Kidd (1964) Genetic polymorphism in caseins of cow's milk. III. Isolation and properties of  $\alpha_{s1}$ -caseins A, B, and C. *J. Dairy Sci.* **47**, 626-632.
  16. Brignon, G., B. Ribadeau-Dumas and J.-C. Mercier (1976) Premiers éléments de structure primaire des caseines  $\alpha_{s2}$  bovines. *FEBS Lett.* **71**, 111-116.
  17. Hipp, N. J., M. L. Groves, J. H. Custer and T. L. McMeekin (1952) Separation of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -casein. *J. Dairy Sci.* **35**, 272-281.
  18. Zittle, C. A. and J. H. Custer (1963) Purification and some of the properties of  $\alpha_s$ -casein and  $\kappa$ -casein. *J. Dairy Sci.* **46**, 1183-1188.
  19. Taussky, H. H. and E. Shorr (1953) A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus. *J. Biol. Chem.* **202**, 675-685.
  20. Schmidt, D. G., J. Koops and D. Westerbeek (1977) Properties of artificial casein micelles; 1. Preparation, size distribution and composition. *Neth. Milk Dairy J.* **31**, 328-341.
  21. Samel, R., R. W. V. Weaver and D. B. Gammack (1971) Changes on storage in milk processed by ultra-high-temperature sterilization. *J. Dairy Res.* **38**, 323-332.
  22. Walstra, P. and R. Jenness (1982) *Dairy Chemistry and Physics*, p.235, John Wiley & Sons, New York, NY, U.S.A.
  23. Schmidt, D. G. and J. K. Poll (1989) Properties of artificial casein micelles; 4. Influence of dephosphorylation and phosphorylation of the casein. *Neth. Milk Dairy J.* **43**, 53-62.
  24. Shimmin, P. D. and R. D. Hill (1964) An electron microscope study of the internal structure of casein micelles. *J. Dairy Res.* **31**, 121-123.
  25. Slattery, C. W. and R. Evard (1973) A model for the formation and structure of casein micelles from subunits of variable composition. *Biochim. Biophys. Acta* **317**, 529-538.
  26. Swaisgood, H. E. (1973) The caseins. *CRC Crit. Rev. Food Technol.* **3**, 375-414.
  27. Holt, C. (1985) The size distribution of bovine casein micelles: a review, *Food Microstructure* **4**, 1-10.
  28. Horne, D. S. (1986) Steric stabilization and casein micelle stability. *J. Colloid Interface Sci.* **111**, 250-260.
  29. Lorient, D. and G. Linden (1976) Dephosphorylation of bovine casein by milk alkaline phosphatase. *J. Dairy Res.* **43**, 19-26.

---

#### **Effect of Casein Dephosphorylation on Stability of Casein Micelles towards Ethanol**

Weon Sun Shin and Tae Wha Moon\* (Department of Food Science and Technology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea)

**Abstract :** Various artificial casein micelle systems were prepared from dephosphorylated whole casein,  $\beta$ - or  $\kappa$ -casein and their stabilities towards ethanol were assessed. Ethanol stability was lower in the micelle systems with dephosphorylated whole casein as compared to the artificial micelles prepared from native whole casein, and the stability decreased with the extent of dephosphorylation. The casein micelles with partially dephosphorylated  $\kappa$ -casein had a lower ethanol stability than those with native  $\kappa$ -casein. Ethanol stability of the micelle system with dephosphorylated  $\beta$ -casein decreased as the degree of dephosphorylation increased. Progressive dephosphorylation of caseins in skim milk system resulted in a decrease of the stability towards ethanol. The decrease was less than that in the system with dephosphorylated individual caseins. Increase in pH of the artificial casein micelle systems in the range of 6.3~7.2 led to an increased ethanol stability manifesting that the presence of serine phosphates contributes significantly to the stability towards ethanol.

---

\*Corresponding author