

김치의 挥發性 香味成分에 關한 研究

尹 珍 淑 · 李 惠 秀

서울大學校 家政大學 食品營養學科

(77년 2월 14일 수리)

A Study on the Volatile Flavor Components in Kimchis

by

Jin-Sook Yoon and Hei-Soo Rhee

Dept. of Food & Nutrition, College of Home Economics, Seoul National University.

(Received February 14, 1977)

Abstract

The volatile flavor components of Kimchis were identified and the volatiles of fermented Kimchis (1.29% NaCl and 4.89% NaCl) were compared with those of raw Kimchi (1.29% NaCl). After the existence of carbonyls and sulfur compounds were confirmed by precipitation method, vacuum distillation was carried out to collect the volatiles of Kimchis in traps submerged in ice+salt, dry ice-acetone and liquid N₂, respectively.

The volatile flavor components were identified by GLC.

The results were;

1. 17 volatile flavor components of Kimchis were identified by comparison of retention time with those of known compounds and acetaldehyde, acetone, ethanol, ethyl sulfide were positively identified by m.p., IR, UV, TLC, etc.
2. Ethanol was the most abundant volatiles of Kimchis and the content was much higher in fermented low salt Kimchi than in unfermented low salt Kimchi.
3. On the contrary, acetaldehyde and volatile sulfur compounds were reduced in fermented Kimchis, especially in fermented low salt Kimchi.

는 밝혀지지 않았다.

序 論

김치는 韓國人의 食生活에서 가장 큰 비중을 차지하는 副食으로서, 발효를 거친 후에는 酸味, 旨味, 芳香 등이 조화되어 독특한 맛을 이루고 있다.

이러한 김치 맛을 규명하기 위한 시도로서 熟成條件에 따른 酸味成分의 變化에 대해서는 金⁽¹⁾, 千⁽²⁾等이 보고한 바 있다.

揮發性 香味成分은 극히 미량으로서도 특징적인 맛을 좌우하는 중요한 요인이나 아직까지 김치에 대해서

배추에 존재하는 thioglucoside나 sulfoxide, sulfonium 化合物 등의 합유황물질로부터 생성되는 isothiocyanate, sulfide 등은 배추의 특징적인 맛과 관련되는 挥發性 香味成分들이며 그 밖에 carbonyl化合物들이나 alcohol 類도 배추의 挥發性 香味의 일부를 이루고 있다. ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ ⁽⁵⁾

한편 마늘, 파 등의 매운 맛을 이루는 성분은 S-allyl cysteine (+) sulfoxide에 기인한다. ^(6), 7)

McLeod等^{(8), 9), (10), (11)}은 조리 방법을 달리하거나 건조시켰을 때 배추가 갖는 挥發性 香味成分의 차이를 報告하였으며, 채소발효식품인 Sauerkraut나⁽¹²⁾ 오이 pickle

⁽¹³⁾, 발효된 olive⁽¹⁴⁾等의 挥發性 香味成分들에 관한 研究 결과에 의하면 熟成前後에는 成分上에 차이가 있음이 나타났다.

따라서 熟成된 김치에 있어서도 배추, 파, 마늘, 생강 등이 원래 갖는 挥發性 香味成分과는 많은 차이가 있으리라고 기대된다.

본 논문에서는 김치의 挥發性 香味成分을 밝힐에 있어서 鹽度에 차이를 두어 김치를 熟成시킨 후 날김치와 比較検索함으로써 挥發性 香味成分과 김치 맛과의 관련성을 알아보고자 하였다.

實驗方法

1. 標準김치의 製造

市場에서 當日에 구입한 재료로서 Table 1과 같은 비율로 김치를 製造하였다.

Table 1. Ingredients ratio of Kimchi (g)

Chinese Cabbage	100	Ginger	1
Leek	4	Red Pepper flour	2
Garlic	2	Sugar	1

배추를 다듬어 각 부위가 골고루 分配되도록 1kg 단위로 나눈 다음, 흐르는 물에 表面을 잘 씻고 挥發性 香味成分의 抽出이 잘 되도록 1×2cm 크기로 잘게 썰었다. 10% 및 25% 농도의 소금물을 각각 1l씩 취하여 2시간 절인 후, 5l의 물에 두번 행구어 물기를 빼고 다른 양념과 함께 버무려 유리병에 넣어 넣었다. 여기에 10% 및 25%의 소금물을 각각 100ml씩 더 加하고 20~22°C에서 熟成시켰다. 한편 숙성된 김치와 비교하기 위해서 10% 소금용액을 사용,同一한 方法으로 저염의 날김치를 제조하였다.

2. 酸度 및 鹽度測定

① 酸度 : 김치 100g에 80% ethanol 100ml를 加하여 磨碎한 후, Celite 545를 소량 혼합하고 Büchner깔때기上에서 吸引濾過하였다. 残渣에 80% ethanol 100ml를 더 加하여 250ml로 定溶하고 0°C에서 1일간 放置한 後, 5ml를 취하여 0.1% phenolphthalein indicator와 0.01N NaOH로 邁定하였다.

② 鹽度 : 80% ethanol 대신 종류수를 사용,同一한 방법으로 定溶하고 10% K₂Cr₂O₇ 및 0.1N AgNO₃溶液으로 邁定하였다.

3. 官能検査

김치가 알맞게 熟成되어 酸度가 동일하게 되었을 때, 각각의 김치에 대해 官能検査要員들이 官能検査를 실

시하였다.

熟成度, 짠 맛, 감칠 맛, texture, 쓴 맛, juiciness 등 6가지 項目에 대해서 descriptive analytical test method에 의해 3단계로 평가토록 하였다.

4. 挥發性 香味成分의 分離

(1) 沈澱反應(precipitation method)

Carbonyl化合物과 sulfide의 存在를 알기 위하여 Hing 등⁽¹⁵⁾의 방법을 따라 2,4-Dinitrophenyl hydrazine(2,4-DNP)용액 및 HgCl₂용액과의 沈澱反應을 실시하였다. 김치 1kg을 磨碎하여 2l round bottom flask에 넣고 증류수 500ml를 가한 후, 도세관을 통해 질소가스를 流入하면서 60°C에서 減壓蒸溜하였다. Trapping flask에 2,4-DNP용액 및 3% HgCl₂용액을 각각 30ml씩 가하고 응축액 내에 침전이 일어질 때까지 이 조작을 반복하였다.

① Carbonyl化合物 : 형성된 2,4-DNPs를 함께 모아 ethanol로 거듭 再結晶한 후 m.p., IR, UV, 등을 측정하여 標準化合物과 比較하였다.

② 含硫黃物質 : 3% HgCl₂용액과 형성된 침전의 일부에 대해서 4N HCl을 소량 가하고 硫黃의 냄새가 나는가를 確認한 후 etharol로 再結晶하여 m.p., UV, Mass Spectrum 等을 측정, 비교하였다.

(2) 挥發性 香味成分의 抽出

熟成適期의 김치 1kg을 2l round bottom flask에 넣고 증류수 100ml를 가한 후 20~22°C와 5mm Hg壓力下에서 Vacuum distillation하였다. ice+salt, dry ice-acetone, Liquid N 順으로 trap을 장치하고 4시간 동안 응축된 挥發性 香味成分들을 각 trap별로 소량씩 분류한 후, 시험관에 넣어 봉하고 냉장고에 보관하면서 분석에 사용하였다.

5. 標準化合物의 選定 및 合成

標準化合物은 배추, 마늘, 생강 等의 香味成分과 채소발효식품 중에서 確認되었던 成分들을 중심으로 20種을 선정하였으며, ethyl sulfide, methyl allyl sulfide, allyl disulfide, methyl disulfide, allyl cyanide 等은 商品으로서 구입할 수 없었던 관계로 McAllan⁽¹⁶⁾과 VOGEL⁽¹⁷⁾의 方法에 따라 合成하였다.

6. Gas Chromatography에 의한 分析

抽出된 증류액 1~2μl를 Hamilton 주사기로 취하여 직점 GC에 注入하였다. GC分析은 Table II와 같은 器機條件下에서 행하였다.

標準化合物들은 試料와 같은 濃度가 되도록 증류수로 회석하고 前記條件下에서 分離시킨 후 김치試料의 RT와 比較하였다. RRT를 測定하기 위해서 內標準液으로 2% allyl alcohol 및 n-heptanol의 混合液을 함께 注入

Table 2. Instrument condition for GC analysis

Instrument:	Hitachi K53-Gas Chromatography
Column:	stainless steel column (length; 2m, i.d.; 3mm) 20% Carbowax 20M on Chromosorb W (80/100 mesh)
Temp.(Programmed):	70~80°C, 4°C/min after 15 min
Carrier Gas:	He (30ml/min)
Detector:	FID
Injection temp:	180°C
Chart speed:	10mm/min

시켰으며, 15분前에 나타난 peak는 allyl alcohol을 基準으로, 그 以後에는 n-heptanol을 基準으로 RRT를 측정하였다. GC分析은 각 trap별로 行하였으며 trap에 따라 Sample의 量과 Attenuation을 조정하였다.

7. Thin Layer Chromatography에 의한 確認

Vacuum distillation을 통해 얻은 挥發性香味成分 中 Carbonyl化合物에 대해 Kami等⁽¹⁸⁾의 方法으로 TLC分析을 하였다. 2,4-DNPHs를 n-hexane; diethyl ether (1:1 mixture)를 溶媒로 하여 分離시킨 후 Rf值를 比較하였다.

結果 및 考察

1. 酸度 및 鹽度

酸度 측정결과, 低鹽김치는 46시간 후에 5.29meq/100g, 高鹽 김치는 69시간 후에 5.00meq/100g에 到達하였고, 鹽度는 각각 1.29% 및 4.89%였다.

2. 官能検査

官能検査 結果는 Table 3과 같다. 全般的으로 高鹽 김치는 低鹽김치에 비해서 매우 좋지 않은 결과를 보였으며 95%水準에서 意義있는 差異를 나타내고 있다. 鹽度의 差異가 발효에 미치는 영향에 대해서는 Sauerkraut에서도 鹽度를 높였을 때 色, 質, 맛이 좋지 않았음이 研究된 바 있다.

Table 3. Palatability test for Kimchis

Variety	Low salt Kimchi	High salt Kimchi
Aroma(Sourness)	2.85	1.45
Taste (")	2.55	1.85
Saltiness	2.60	1.25
Palatable taste	2.25	1.20
Bitterness	2.90	1.35
Texture	2.65	2.00
Juicyness	2.75	2.10

3. 挥發性 香味成分의 分離

(1) 沈澱反應: 반응결과, 2,4-DNP溶液內에서는 노란색沈澱이, HgCl₂溶液에는 灰色沈澱이 形成되었으므로 Carbonyl化合物과 sulfide의 存在가 입증되었다.

加溫下에서沈澱으로 쇠출된 2,4-DNPHs를 ethanol로 再結晶하고 m.p. IR. UV 등을 測定했을 때 acetone임이 確認되었다. 즉 반복된 再結晶 후에 얻어진 김치의 2,4-DNPHs는 IR spectrum에 순수한 acetone의 2,4-DNPHs와 同一하였고 ethanol을 溶媒로 했을 때 UV 358μm에서 最大吸收, 125~126°C의 m.p. 등은 acetone과 同一한 數值였다. 그러나 vacuum distillation에서 얻은 蒸溜液을 GC로 分離시켰을 때 나타난 peak를 보면 acetaldehyde가 오히려 더 많았고 acetone은 微量이었으며 同蒸溜液에 대해 2,4-DNPHs를 形成했을 때에도 m.p., IR UV 등은 acetaldehyde에 매우 近似하게 나타났다. 이런 差異는 前者의 경우 김치를 加溫하였기 때문에 생긴 것으로 추측된다. 한편 形成된 mercuric salt에 소량의 4N HCl을 加했을 때 硫黃의 냄새를 감지할 수 있었으며, UV는 210μm에서 最大吸收, m.p.는 200°C를 複雝 상회하였고 IR spectrum은 매우 mixture로 나타났다. Mass spectrum에서는 主化合物의 分子量이 90가량으로 나타났으나 확실히 어떤 化合物이라고 규정짓기 어려웠다. 그러나 Ethyl sulfide의 分子量과, GC에서 크게 나타난 peak의 RT이 Ethyl sulfide와一致하는 點, UV에서의 吸收 등으로 보아 Ethyl sulfide라고 추측할 수 있었다.

(2) 挥發性 香味成分의 抽出: 4時間동안 vacuum distillation하여 얻은 挥發性 香味成分들의 量은 ice+salt trap에서 110~150ml, dryice-acetone trap 0.5~4.5ml였고 liquid N trap에는 매우 微量만이 吸收되었으며 dryice-acetone trap이나 liquid N trap에는 물과 섞이지 않는 oil fraction이 少量 있었다. 그러나 전체적으로 볼 때는 수용성部分이 대부분이므로 서로 比較하는데는 수용성部分을 기준으로 하였고 oil fraction은 別途로 모아 分析하였다.

4. Gas Chromatography에 依한 分析

column충진물질로서 Carbowax 20M은 含硫黃物質이나 carbonyl의 分離에 適合하다고 한다⁽¹⁹⁾ 有機化合物의 分析에 널리 쓰이는 SE 30을 使用했을 때는 分離가 잘 안되었다.

Carbowax 20M을 충진제로 사용하고 column길이를 1m로 했을 때는 oven temp: 78°C injection temp: 138°C, flow rate: He 25ml/min의 條件下에서 60分間 실시했을 때 12個의 peak로 分離되었다. column길이를 2m로 하고 oven temp를 70°C로 했을 때는 前者보다 매우 良好한 결과를 보였으며, 여러가지 方法으로 progr-

Table 4. Identification and relative abundance of Kimchi volatiles

Peak No.	Standards	RRT	Raw Kimchi			High salt Kimchi			Low salt Kimchi		
			Ice	Dryice	Liquid N	Ice	Dryice	Liquid N	Ice	Dryice	Liquid N
1	Acetaldehyde	1.35	+	+	+	trace	+	++	+	+	++
2	Methyl sulfide	1.70	trace	-	-	-	trace	-	-	-	-
3	Propionaldehyde	2.10	trace	+	+	-	trace	+	-	trace	+
4	Acetone	2.30	trace	trace	+	trace	+	++	-	trace	+
(5)	Methyl ethyl sulfide	2.60	-	trace	+	-	trace	+	-	-	+
6	Butyraldehyde	3.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Methanol	3.30	-	trace	+	-	+	+	-	-	+
8, 9	*Ethyl sulfide, Methyl ethyl ketone	3.70	+	+	++	+	++	++	-	++	++
10	Ethanol	4.40	++	++	++	++	++	++	++	++	++
11	Diethyl ketone	5.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(12)	Methyl allyl sulfide	5.60	-	+	+	-	trace	-	-	-	-
12@	**?	6.50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(13)	**?	7.20	-	+	+	-	-	-	-	-	+
(14)	**?	8.30	-	+	trace	-	-	-	-	-	+
(15)	Methyl disulfide	10.70	-	+	+	-	-	+	-	-	+
14, 15	*Allyl alcohol, Allyl cyanide	12.60	-	+	-	-	-	-	-	-	+
(16)	*Allyl sulfide, Allyl disulfide	15.65	-	+	-	-	-	+	-	-	-
(17)	Allyl isothiocyanate	20.00	-	+	+	-	-	-	-	-	-
18@	**?	25.3	-	-	+	-	-	-	-	-	-
19	n-Hexanol	28.5	-	+	-	-	-	-	-	-	+
19	**?	32.3	-	-	-	+	-	-	-	-	-
20	n-Heptanol	33.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	**?	43.4	-	+	-	-	+	-	-	-	+

The presence of compound is indicated by

*: non separable peaks

**: peaks not identified

***: RRT: Relative retention time

The peak numbers are identical with those of Figure 2~6.

(1) -: absence

(2) +: presence

(3) ++: presence in high concentration

(4) trace: presence in trace

amming 해 본 결과, 처음 15分間은 70°C를 維持하다가 그 以後에는 4°C/min로 上昇시켜 180°C로 分析했을 때 가장 좋은結果를 얻었다. Chromatogram上에 나타난標準化合物 및 각 김치에 存在하는 挥發性 香味成分들의 RRT와 組成은 Table IV에 表示된 바와 같다.

각 trap별로 分類하여 比較했을 때, ice+salt trap에서는 날김치에서 6가지, 高鹽김치에서 5가지, 低鹽김치로부터 4가지 成分이 確認되었다. dryice-acetone trap에서는 低鹽날김치 16가지, 高鹽김치 14가지, 低鹽김치 10가지가 確認되었고 Liquid N trap에서는 低鹽날김치 11가지, 高鹽김치 11가지, 低鹽김치 9가지가 각각 確認됨으로써 전체적으로는 低鹽날김치에서 17가지, 高鹽김치에서 15가지, 低鹽김치에서 12가지 成分이 밝혀졌다. Fig.1, Fig.2, Fig.3은 각 trap별로 分類한 여러가지 김치의 挥發性 香味成分들이 나타내는 chromatogram

을 서로 비교해 본 것이다. (Table 4 參照)

確認된 化合物들은 carbonyl化合物로서 acetaldehyde, acetone, propionaldehyde, methyl ethyl ketone의 4가지 成分, mono sulfide인 methyl sulfide, ethyl sulfide, methyl ethyl sulfide, methyl allyl sulfide, allyl sulfide의 5가지, disulfide인 methyl disulfide, allyl disulfide, alcohol로서 ethanol, methanol, allyl alcohol, n-hexanol의 4가지 및 allyl cyanide, allyl isothiocyanate等이었다.

3가지 김치에 共通的으로 가장 많이 存在하는 成分은 ethanol이며 그 다음 Ethyl sulfide와 methyl ethyl ketone, acetaldehyde等이 비교적 많은 量이었으며 그 외의 成分들은 少量이거나 微量이었다. ethanol은 일반적으로 모든 채소에 共通的으로 存在하며 배추에 있어서도 상당량을 차지하는 成分임은 이미 알려진 바 있다.

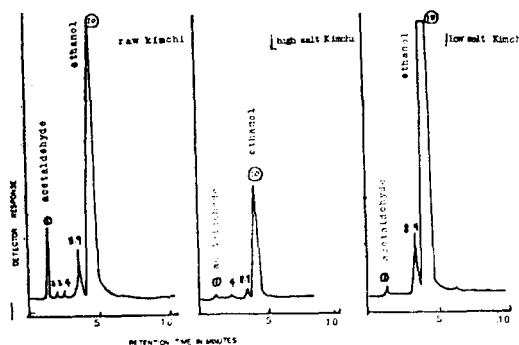


Table 5. Variations of volatile sulfur compounds in Kimchis

Sulfur compounds	Raw Kimchi			High salt Kimchi			Low salt Kimchi		
	Ice	Dryice	Liquid N	Ice	Dryice	Liquid N	Ice	Dryice	Liquid N
Methyl sulfide	trace	—	—	—	trace	—	—	—	—
Methyl ethyl sulfide	—	trace	+	—	trace	↙	—	—	↙
Methyl allyl sulfide	—	+	+	—	trace	—	—	—	—
Allyl sulfide, allyl disulfide	—	+	—	—	↙	—	—	—	—
Allyl isothiocyanate	—	+	+	—	+	—	—	—	—

—: absence

+: existence

↘: decrease

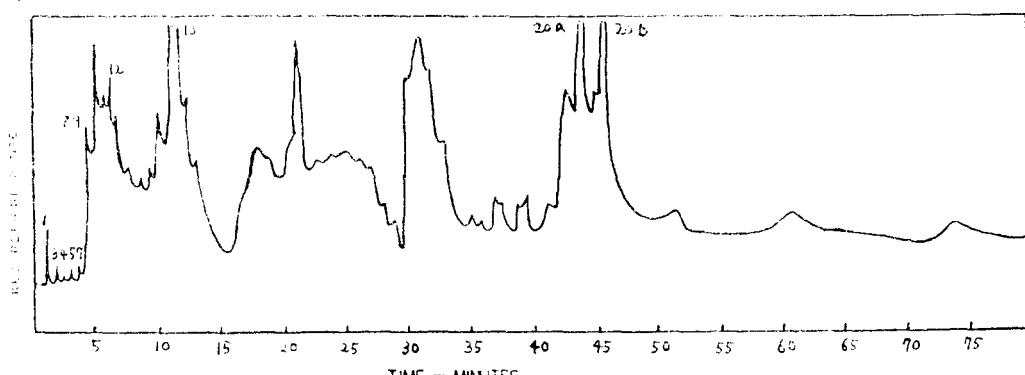


Fig.4. Typical gas chromatogram of volatiles from Kimchi oil fraction. (See Table 4)

低鹽김치에서는 없었고, 高鹽김치는 dryice-acetone trap에서만 나타났다. methyl allyl sulfide도 低鹽김치에는 없었으며 高鹽김치에서도 peak가 trace로 나타났을 뿐이다. 이러한 變化를 要約하면 Table 5와 같다.

이 결과는 Sauerkraut가 酸酵되면 含硫黃物質의 量은 현저히 減少하고 그 대신 酸酵產物이 生成됨으로써 맛이 緩和된다는 Pederson 等의 報告와 一致하는 結果이다.⁽²¹⁾ 한편 용축된 蒸溜液 중에서 oil fraction만을 따로 GC로 分析했을 때 Fig.4와 같은 chromatogram을 얻을 수 있었으며 40餘個의 peak로 分離되었다. RRT 40~50分 사이에 peak가 매우 크게 나타난 20(a), (b) 2 가지는 상당히 많은 量으로 보이며, 3 가지 김치의 수용성 部分에서 共通의 으로 나타난 12(b) 等과 함께 김치의 挥發性香味成分으로서 매우 重要하리라고 생각된다. 앞에서 言及한 sulfides나 allyl isothiocyanate도 熟成된 김치에서는 그 量, 種類가 減少하였기는 하나 odor threshold가 매우 낮은 物質들이라는 點을 감안하면 결코無視할 수 없는 成分들이라고 생각된다.

김치의 挥發性 香味는 어떤 特定된 한가지 物質보다는 여러가지가 混合되어 생긴 것이므로 이것을 完全히 紛明하기 위해서는 本實驗에서 밝혀내지 못했던 몇 가지 成分들과 oil fraction에 대해 앞으로도 계속

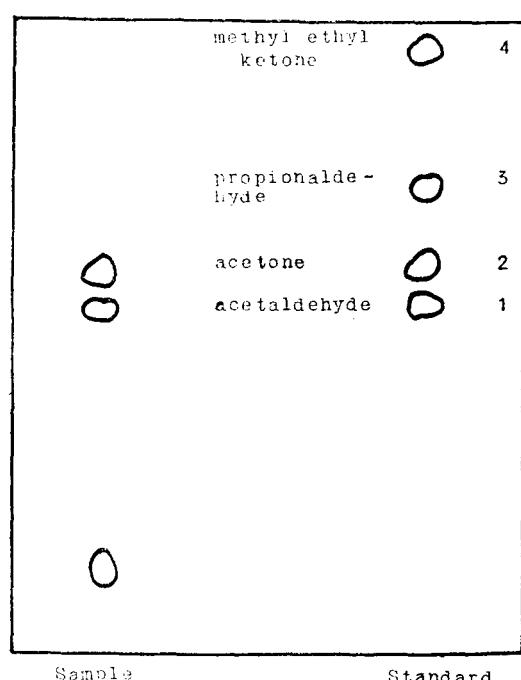


Fig.5. Thin layer chromatogram of 2,4-DNPHs from Kimchis

많은 研究가 必要하리라고 본다.

7. Thin Layer Chromatography에 의한 確認

揮發性 香味成分중 carbonyl化合物을 2,4-DNPHs로 만들고 n-hexane; diethyl ether (1:1 mixture)로 展開시켰을 때 3가지 spot로 分離되었으며 그 중 2가지는 acetone과 acetaldehyde임이 確認되었다. (Fig. 5)

IV. 要 約

김치의 挥發性 香味成分들에 관해서 確認하고 鹽度 및 熟成에 따른 差異를 比較해 보았다.

김치를 高鹽김치, 低鹽김치, 低鹽날김치로 区分하고 沈澱反應을 통해 carbonyl化合物과 含硫黃物質의 存在를 確認하였다. Vacuum distillation하여 얻은 蒸溜液을 ice+salt, dryice-acetone, liquid N trap에 각각 응축시킨 後. GC를 利用하여 分離, 確認함으로써 다음과 같은 結果를 얻었다.

① 날김치로부터 acetaldehyde, methylsulfide, propionaldehyde, acetone, methyl ethyl sulfide, methanol, ethyl sulfide, methyl ethyl ketone, ethanol, methyl allyl sulfide, methyl disulfide, allyl alcohol, allyl cyanide, allyl sulfide, allyl disulfide, allyl isothiocyanate, n-hexanol등 17가지를 잠정적으로 推定할 수 있었고, m.p. IR, UV, TLC, 官能検査를 통해서 acetaldehyde, acetone, ethanol, ethyl sulfide의 4가지를 同定하였다.

② 김치의 挥發性 香味成分으로서 가장 많은 量을 차지하는 것은 ethanol이며 低鹽김치가 高鹽김치나 低鹽날김치에 비해 월등히 많았다.

③ acetaldehyde는 高鹽날김치에는 상당량이 있었으나 熟成된 김치에서는 매우 減少하였다.

④ 含硫黃物質은 熟成된 김치에서는 그 種類가 減少하였으며 이런 경향은 低鹽김치에서 현저하였다.

⑤ 김치가 熟成되면 含硫黃物質이나 acetaldehyde는 減少하고 ethanol과 그밖의 酸酵產物이 增加하여 김치의 挥發性 香味를 이룬다고 생각된다.

參 考 文 獻

- (1) 金賢玉 · 李惠秀 ; 한국식품과학회지, 7(2), 74 (1975).

- (2) 千種姬 · 李惠秀 ; 한국식품과학회지, 8, 90 (1976).
- (3) Gerald, R. and Underkofer, L.A.; Flavors of the Cabbage Family: Enzymes in Food Processing. Academic Press, 379 (1966).
- (4) Bailey, S.D. Bazinet, M.L. Driscoll, J.L. and McCarthy, A.L.; *J. Food. Sci.* 26, 163 (1961).
- (5) Clapp, R.C., Long, L. Dateo, G.P. Bissett, F.H. and Hasselstrom, T.; *J. Am. Chem. Soc.* 81, 6278 (1959).
- (6) Michael, H.B., John V.P., and Derslice, L.V.; *J. Agr. Food. Chem.*, 19, 273 (1971).
- (7) Oaks, D.M. Hartman, H. and Dimick, K.P.; *Anal. Chem.* 36 (8), 1561 (1964).
- (8) MacLeod, A.J. and MacLeod, G.; *J. Food. Sci.*, 35, 739 (1970).
- (9) MacLeod, A.J. and MacLeod, G.; *J. Sci. Fd. Agric.*, 19, 273 (1968).
- (10) MacLeod, A.J. and MacLeod, G.; *J. Food. Sci.*, 35, 744 (1970).
- (11) MacLeod, A.J. and MacLeod, G.; *J. Food. Sci.*, 35, 734 (1970).
- (12) L.F.A. and Pederson, C.S.; *J. Food. Sci.*, 26, 569 (1961).
- (13) Aurand, L.W. Singleton, J.A., Bell, T.A. and Etchells, J.L.; *J. Food. Sci.*, 30, 288 (1965).
- (14) Fleming, H.P. Etchells, J.L. and Bell, T.A.; *J. Food. Sci.*, 34, 419 (1969).
- (15) Hing, F.S. and Weckel, K.G.; *J. Food. Sci.* 29, 149 (1964).
- (16) McAllan, D.T., Cullum, T.V., Dean, R.A. and Fidler, F.A.; *J. Am. Chem. Soc.* 73, 3627 (1951).
- (17) Vogel; A textbook of Practical Organic Chemistry. 3rd ed. Longmanns. 464
- (18) Kami, T. Nakayama, M. and Hayashi, S.; *Phytochemistry*, 11, 3377 (1972).
- (19) McNair, M.M. and Bonelli, E.J.; Basic Chromatography, Varian aerograph. (1969).
- (20) Lindsay, R.C. and Day, E.A.; *J. Dairy. Sci.*, 48, 863 (1965).
- (21) Pederson, C.S.; *Adv. Food Re.*, 10, 233 (1960).