

## 의약품 중 성호르몬의 흡착벗김 전압-전류법 정량

김일광<sup>†</sup> · 천현자 · 장경선\*

원광대학교 자연대 화학과

\*동신대학교 한의대 한의학과

(1994. 2. 7. 접수)

### Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Sex Hormones in Medicines

Il Kwang Kim<sup>†</sup>, Hyun Ja Chun and Kyung Seon Jang\*

Dept. of Chemistry, Wonkwang University, I-ri, 570-749, Republic of Korea

\*Dept. of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju, 520-714, Republic of Korea

(Received Feb. 7, 1994)

**요약**:  $1.0 \times 10^{-2}$  M 수산화나트륨을 지지전해질로 하여 흡착벗김 전압-전류법으로 성호르몬의 분석을 흡착시간 240초, 흡착전위  $-0.80$  volts, 수은방울 크기 medium, 주사속도  $20\text{mV/sec}$ 의 조건에서 실시하였다. 검량선은  $5.0 \times 10^{-9}$  M에서  $8.0 \times 10^{-7}$  M 범위까지 직선성을 보여 주었다. 검출한계는 progesterone이  $8.0 \times 10^{-10}$  M이고 testosterone propionate는  $1.4 \times 10^{-9}$  M이었다. 또한 이 방법을 의약품의 성호르몬 분석에 응용한 결과, 다른 첨가제의 방해 없이 분리분석이 가능하였다.

**Abstract**: The determination of sex hormones by adsorptive stripping voltammetry in  $1.0 \times 10^{-2}$  M sodium hydroxide as supporting electrolyte has been investigated in the conditions as follows: 240sec. for deposition time,  $-0.80$  volts deposition potential, medium size mercury drop, and  $20\text{mV/sec}$  scan rate. Calibration curve has shown a linearity in the range of  $5.0 \times 10^{-9}$  M to  $8.0 \times 10^{-7}$  M and the detection limits have been  $8.0 \times 10^{-10}$  M for progesterone and  $1.4 \times 10^{-9}$  M for testosterone propionate.

This method has shown such a good sensitivity even in dilute solution that has been useful for analyzing sex hormones in medical supplies without interference of additives.

**Key words**: adsorption stripping voltammetry, corticosteroid hormones, voltammetric analysis.

#### I. 서론

성호르몬은 남성생식기 중 고환에서 분비되는 testosterone과 여성생식기 중 난소에서 분비되는 estrogen과 progesterone이 있다. Progesterone은 주로 자

궁에 작용하여 수정란을 받아들이는 데 필요한 변화를 일으키게 하고, 유방에 있는 유선에 작용하여 유즙 분비를 시작하게 한다. 또한 자궁의 수축을 조절하여 착상된 수정란이나 태아가 배출되는 것을 방지한다. Testosterone은 androgenic steroid로서 부신피질에서도

분비되지만 주로 고환에서 분비되며, 남성의 성적 특징을 발전시키는 작용을 한다. 특히 testosterone은 운동선수들의 힘과 체력의 증진을 목적으로 사용하는 anabolic steroid 중의 한 가지인데, anabolic steroid의 장기 복용은 간에 장애를 일으키며 여성의 남성화 등 치명적인 부작용을 가져오므로 이에 대한 사용 규제 및 정밀분석이 요구되고 있다.<sup>1,2</sup>

이들 steroids에 대한 전기화학적 연구는 Cox<sup>3</sup> 등이  $>C=C-C=O$  구조를 갖는 3-keto- $\alpha \cdot \beta$  불포화 ketone의 환원전위를 보고함으로써 시작되었으며, 이와 유사한 구조적 특징을 갖는 keto-steroids (progesterone과 testosterone)에 대하여 전기화학적 분석과 반응에 대한 연구가 진행되어 왔다.<sup>4,5</sup>

Hrdy<sup>6</sup>은 여러 종류의  $\Delta^4$ -3-keto steroid를 펄스차이 플라로그래피를 이용하여 연구하였고, Spahr<sup>7</sup>는 50% ethanol 용액에서 progesterone과 methyltestosterone의 반응기구에 관한 연구를 보고하였다. 또한 Opheim<sup>8</sup>은 펄스차이 플라로그래피로 알약에 존재하는 norentisterone을 정량하였으며, 그 검출한계는  $10^{-4} \sim 10^{-6} M$ 이었다.

한편, 흡착벚김 전압-전류법은 전기화학적으로 활성인 화합물의 분석에 매우 유용한 것으로 많이 보고되고 있으며<sup>9-12</sup>, 특히 극성기능기를 가지거나 전극흡착

성이 있는 유기물의 전기화학적 분석방법 중에 가장 감도가 뛰어난 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 이들 steroids (Scheme 1)가 강한 극성을 가지고 수은전극 표면에 흡착되는 성질을 이용하여 흡착벚김 전압-전류법으로 극미량의 성호르몬 정량을 시도하였다. 이를 위하여 먼저 지지전해질 종류, 흡착시간, 흡착전위, 수은방울 크기 등의 분석조건 변화에 따른 봉우리 전류값을 조사하여 최적 조건을 얻었다. 그리고 최적 조건하에서 시판되는 몇 가지 의약품 중의 성호르몬 정량에 응용하였다.

## II. 실험

### 1. 시약

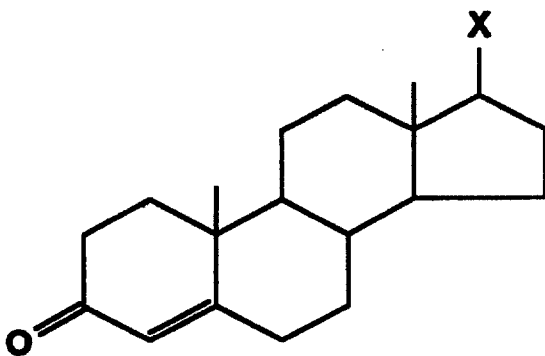
지지전해질인 수산화나트륨은 Aldrich제를 사용하였다. Progesterone, testosterone propionate는 표준시약(Sigma제)을 ethanol에 녹인 후 1차 증류수를 Milli-Q에 통과시킨 탈이온수로 희석하여 stock solution으로 만들어 사용하였다. 실험용액 속의 용존산소를 제거하기 위한 질소는 시판용을 구입하여 vanadous chloride 용액과 염기성 pyrogallol 용액, 그리고 증류수에 차례로 통과시킨 후 사용하였다.

### 2. 실험기기

EG & G PARC의 model 174A polarographic analyzer에 PARC mode 303A static mercury drop electrode (ohmic drop 보상을 위한 3전극형)와 PARC model RE-0074 X-Y recorder를 연결하여 전압-전류그림을 얻었다. Static mercury drop을 작업전극으로, Ag-AgCl 전극(PARC model G0159)을 기준전극으로, 백금선을 대조전극으로 사용하였다.

### 3. 실험방법

수산화나트륨으로 만든 지지전해질 10.0ml를 취하여 용기에 넣고 질소 분위기하에서 적절한 흡착환원전위를 선택하고 일정한 시간만큼 흡착을 실시한 다음 음전위쪽(환원)으로 주사하면서, 흡착벚김 전압-전류그림을 얻었다. 흡착시간, 흡착전위, 수은방울 크기, 주사속도 변화에 따른 전류값을 조사하여 최적 조건을 구하고 이 조건하에서 표준검량선을 작성하였다. 의약품으로는 성호르몬이 함유된 주사액을 시중에서 구입하여 희석한 후 최적 실험조건에 맞추어 흡착벚김 봉우



- |                            |  |
|----------------------------|--|
| 1. testosterone            | (X = -OH)  |
| 2. testosterone propionate | (X = -OOCCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )                               |
| 3. testosterone cypionate  | (X = -OOCCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -□)                             |
| 4. methyl testosterone     | (X = -CH <sub>3</sub> )  |
| 5. progesterone            | (X = $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{  }}{\text{C}}}-\text{CH}_3$ ) |

Scheme 1. The structure on the derivatives of sex hormone molecules.

리 전류를 측정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 지지전해질에 따른 봉우리 전류

서로 다른 지지전해질의 용액조건에 따른 progesterone의 봉우리 전류를 측정하여 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 다양한 염기성 전해질을 사용하여 본 결과 흡착전위는 거의 비슷하였으나 가장 높은 흡착전류값은 0.01N NaOH 용액에서 얻어졌으며 산성 용액을 사용할 경우에는 수소바탕전류가 시료들의 봉우리 전류를 방해하였으므로 이후의 실험은 0.01N NaOH를 기본으로 하여 진행하였다.

Table 1. Peak current of progesterone in various supporting electrolytes

supporting electrolytes	peak potential	peak current (nA)
Ammonium buffer	-1.42	50
Borate buffer	-1.44	70
Tris buffer	-1.35	12
0.005N NaOH	-1.43	65
0.010N NaOH	-1.42	98
0.050N NaOH	-1.43	75

progesterone concentration :  $5.0 \times 10^{-7}$  M

#### 2. 수산화나트륨 전해질에서 성호르몬 종류에 따른 봉우리 전류

서로 다른 성호르몬으로  $5.0 \times 10^{-7}$  M testosterone propionate와  $5.0 \times 10^{-7}$  M progesterone의 봉우리 전류값을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다. 같은 농도에서 progesterone의 봉우리 전류값이 높게 나타난 것은, 서로 다른 steroid의 상대적인 흡착 정도와 확산계수의 차이에 따른 것으로 A의 progesterone이 B의 testosterone propionate보다 상대적으로 확산속도와 흡착성이 크기 때문에 감도가 증가되는 결과로 보인다.

#### 3. 흡착전위의 영향

Fig. 2는  $5.0 \times 10^{-7}$  M 호르몬 표준용액에 대하여 흡착시간 240초로 하고 흡착전위를 -0.20 volts에서 -1.00 volts로 변화시키면서 얻은 봉우리 전류값을 나

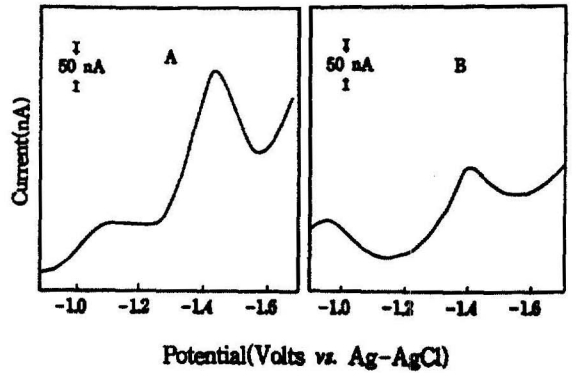


Fig 1. A Typical differential pulse ASV peak current for sex hormones : 240sec. deposition time, -0.8 volts deposition potential, 20mV/sec. scan rate.

A : progesterone  $5.0 \times 10^{-7}$  M  
 B : testosterone propionate  $5.0 \times 10^{-7}$  M

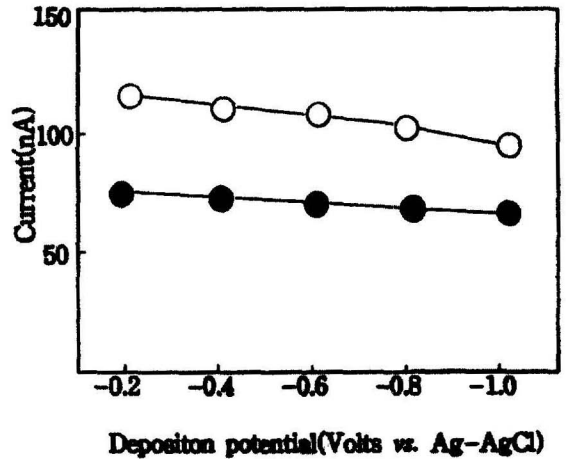


Fig 2. Effect of depotion on the differential pulse ASV peak current for sex hormones : 240sec. deposition time, 20mV/sec. scan rate,

○ : progesterone  $5.0 \times 10^{-7}$  M  
 ● : testosterone propionate  $5.0 \times 10^{-7}$  M

타낸 그림이다. Fig. 2에서 나타난 것처럼 흡착전위가 -0.20 volts에서 -1.00 volts로 변환에 따라 testosterone propionate의 봉우리 전류값은 거의 일정하지만 progesterone의 전류값은 서서히 감소함을 알 수 있다. 이것은 가해지는 벚김시간 동안에도 계속하여 전극 표면에 호르몬성분이 흡착되기 때문으로 생각된다.

다. 본 실험에서는 비교적 높은 감도를 유지하면서 범김주사속도를 단축하기 위하여 -0.80 volts를 흡착전위로 선택하였다.

4. 흡착시간의 영향

Fig. 3은  $5.0 \times 10^{-7}$  M 호르몬 표준용액에 대하여 흡착전위 -0.80 volts의 조건으로 흡착시간을 30초에서 600초로 변화시키면서 봉우리 전류값을 비교한 것이다. 흡착시간이 길어짐에 따라 전류값이 흡착등온선으로 증가함을 알 수 있다.

즉, 봉우리 전류값은 매달린 수은방울의 표면적에 흡착되는 양이 최대값이 될 때까지만 시간에 비례하기 때문이다. 본 실험에서는 실험하는 농도가 미량이 아닐 경우 석출시간이 짧아도 검출이 가능하므로 봉우리 전류값을 크게 유지하면서도 시간을 단축하기 위해 적절한 조건으로 240초를 선택하였다.

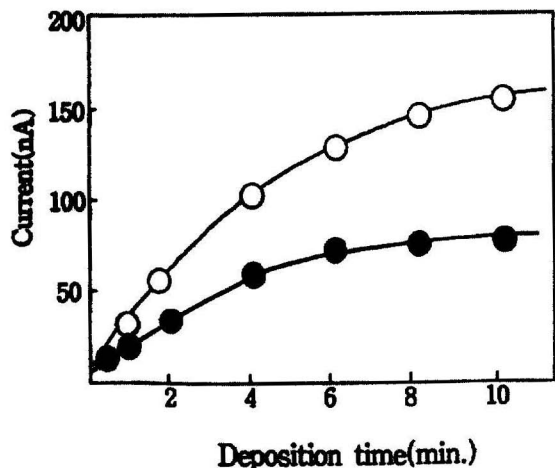


Fig. 3. Effect of deposition time on the difference pulse ASV peak current for sex hormones : -0.8 volts deposition potential, 20mV/sec. scan rate,

- : progesterone  $5.0 \times 10^{-7}$  M
- : testosterone propionate  $5.0 \times 10^{-7}$  M

5. 수은방울 크기와 주사속도의 영향

Fig. 4는  $5.0 \times 10^{-7}$  M 호르몬 표준용액에 대하여 흡착전위 -0.80 volts, 흡착시간 240초의 조건에서 수은방울의 크기를 변화시키면서 봉우리 전류값을 비교한 것이다. 수은방울의 크기가 small에서 medium, large로 됨에 따라 표면적 비는 1:1.6:2.5가 되는데<sup>13</sup>, 이에 따른 봉우리의 높이 전류값은 1:1.4:2.2로 증가되었

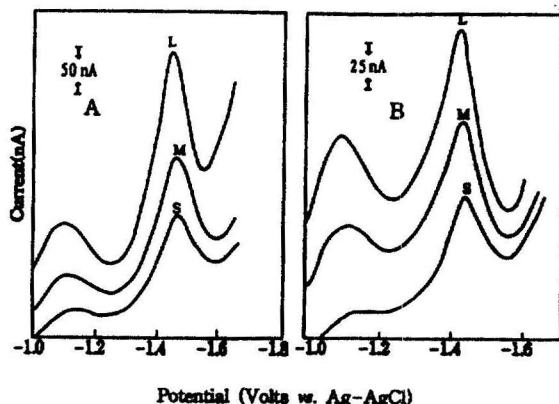


Fig 4. Effect of mercury drop size on the differential pulse ASV peak current for progesterone  $5.0 \times 10^{-7}$  M(A) and testosterone propionate  $5.0 \times 10^{-7}$  M (B) : -0.8 volts deposition potential, 240sec. deposition time, 20mV/sec. scan rate,

- S : small
- M : medium
- L : large

다. 이것은 작은 전극 부피에서 높은 감도가 얻어지는 산화법검측경과는 달리 흡착법검측정법은 전극 표면적에 비례하여 흡착되며 그에 따라 범김 봉우리 전류값이 증가하기 때문이다. 수은방울의 크기가 large인

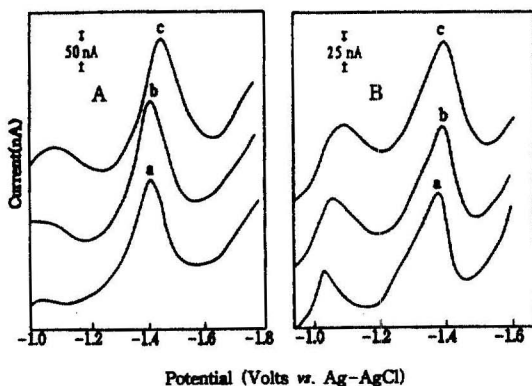


Fig 5. Effect of scan rate on the differential pulse ASV peak current for progesterone  $5.0 \times 10^{-7}$  M(A) and testosterone propionate  $5.0 \times 10^{-7}$  M (B) : -0.8 volts deposition potential, 240sec. deposition time, medium drop size.

- a : 5mV/sec
- b : 10mV/sec
- c : 20mV/sec

경우에 봉우리 전류값이 가장 높았으나 봉우리 모양이 불안정하여 보였으므로 본 실험에서는 medium의 수은방울을 선택하여 사용하였다.

Fig. 5는  $5.0 \times 10^{-7} M$  호르몬 표준용액에 대하여 흡착전위  $-0.80$  volts, 흡착시간 240초, 수은방울 크기가 medium의 조건에서 주사속도를 변화시키면서 봉우리 전류값을 비교한 것이다.  $10mV/sec$ 와  $20mV/sec$ 의 주사속도는  $5mV/sec$ 에서 얻어진 봉우리 전류값보다 약간의 증가를 보여 주었다. 따라서 본 실험에서는 감도와 분리능이 약간 높은 상태에서 분석시간을 단축하기 위한 조건으로  $20mV/sec$ 의 주사속도를 선택하였다.

**6. 호르몬 농도에 대한 표준검량곡선**

이제까지 선택된 흡착전위  $-0.80$  volts, 흡착시간 240초, 수은방울 크기 medium, 주사속도  $20mV/sec$ ,  $0.01N$  NaOH 용액의 조건에서 성호르몬 표준용액의 농도변화에 대한 봉우리 전류값을 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 6의 검량선은  $5.0 \times 10^{-9} M$ 와  $8.0 \times 10^{-7} M$ 의 범위에 걸쳐 좋은 농도비례를 보여 주었으며 검량선에서의 검량감도는 progesterone이 1.26이고 testosterone propionate의 경우는 1.05였다. 또한 이 조건에서 검출한계는 progesterone이  $8.0 \times 10^{-10} M$ 이고 testosterone propionate가  $1.4 \times 10^{-9} M$ 이었다. 이 검출한계

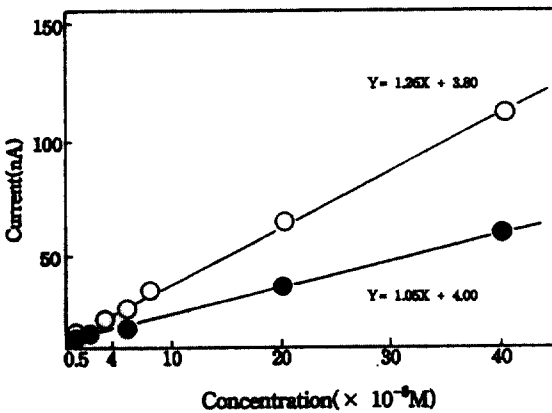


Fig 6. Calibration curve for the differential pulse ASV;  $-0.8$  volts deposition potential, 240sec. deposition time,  $20mV/sec$  scan rate, medium drop size.

- : progesterone
- : testosterone propionate

는 극미량의 성호르몬을 정량할 수 있을 정도이므로 전처리를 잘 할 수 있다면 혈액이나 요(尿) 같은 생체 시료의 성호르몬분석에 쉽게 이용할 수 있을 것이다. 여기에서는 우선 시료용액의 조성이 비교적 단순한 의약품 중의 성호르몬 정량에 응용하였다.

**7. 의약품 중의 성호르몬 함유량**

의약품 중의 성호르몬 함유량을 조사하기 위하여 시중에서 구입한 의약품을 ethanol에 녹인 후 회석하여 만들고 시료를  $20.0\mu l$ 와  $100.0\mu l$  범위에서 일정량을 취하여 전해질로  $10.0ml$  되도록 한 다음 표준용액의 최적 조건과 동일한 조건에서 전압-전류곡선을 얻었으며 미리 준비한 검량선과 비교하여 함유량을 환산하였다.

**1) Progesterone 주사액의 progesterone 함유량**

Fig. 7은 progesterone 주사액과 progesterone 표준용액의 흡착벚김 전압-전류곡선이다. a는  $2.8 \times 10^{-7} M$

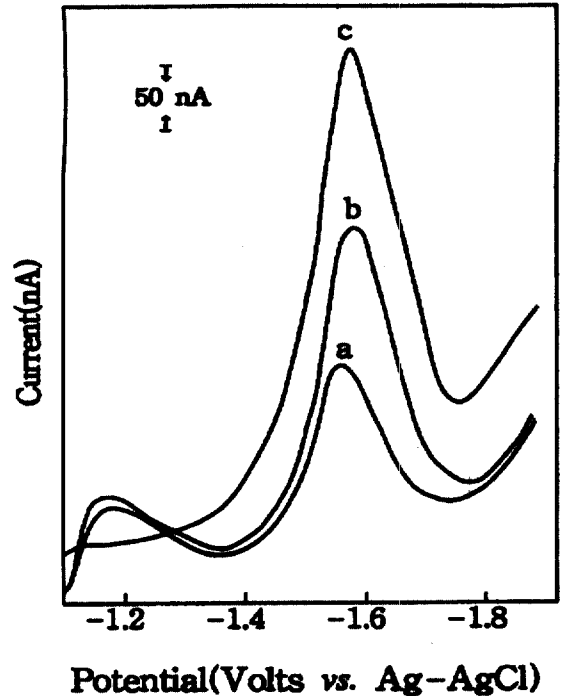


Fig 7. Differential pulse ASV determination of progesterone in a progesterone injection;  $-0.8$  volts deposition potential, 240sec. deposition time,  $20mV/sec$  scan rate.

- a : only an injection sample  $3.2 \times 10^{-7} M$
- b : added progesterone standard  $2 \times 10^{-7} M$  in a
- c : added progesterone standard  $2 \times 10^{-7} M$  in b

로 회석한 progesterone 주사액만의 ASV이며, b는 이 용액에 progesterone 표준용액을  $2.0 \times 10^{-7} M$  되도록 첨가한 것이고, c는 b 용액에 progesterone 표준용액을 더 가하여  $4.0 \times 10^{-7} M$  되도록 한 것이다. 이 그림은 progesterone 표준용액을 가함에 따라 흡착벚김전류가 같은 전위에서 농도에 잘 비례되는 것으로 보아 흡착벚김 전압-전류법을 의약품 중 성호르몬 분석에 적용할 수 있음을 보여 준다.

2) Testosterone 주사액의 testosterone 함유량

Fig. 8은 testosterone propionate 주사액 중 testosterone 함유량을 조사한 흡착벚김 전압-전류곡선이다. a는  $5.0 \times 10^{-7} M$  testosterone propionate 표준용액의 ASV이며, b는 이 용액에 표지의 표기상으로 일정 비율 회석된 testosterone propionate 주사액을  $2.5 \times$

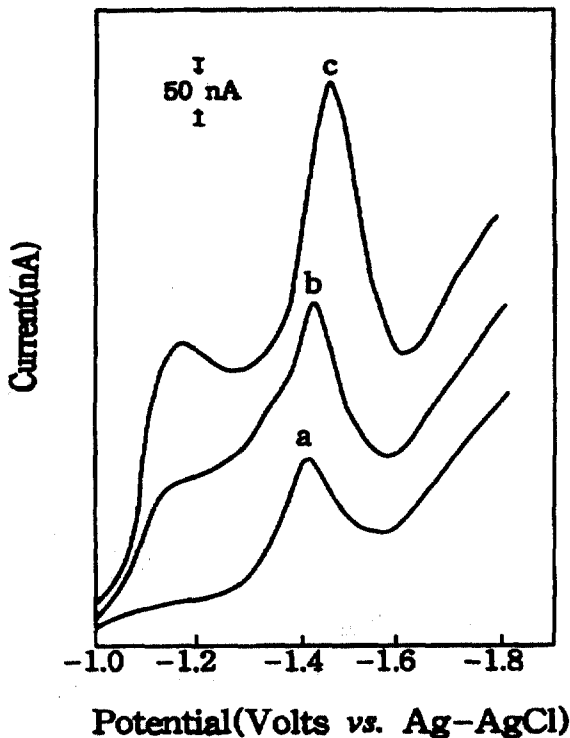


Fig 8. Differential pulse ASV determination of testosterone in a testosterone propionate injection;  $-0.8$ volts deposition potential, 240sec. deposition time,  $20mV/sec$  scan rate.

- a : only testosterone standard  $5.0 \times 10^{-7} M$
- b : added testosterone propionate injection sample  $2.5 \times 10^{-7} M$  in a
- c : added testosterone standard  $5.0 \times 10^{-7} M$  in b

$10^{-7} M$  되도록 첨가한 것이고, c는 b에 표준용액을 가하여  $1.0 \times 10^{-6} M$  표준용액이 되게 한 것이다.

Fig. 9는 methyl testosterone 성분과 다른 성분이 1:1로 포함되어 시판되는 액체약물의 흡착 벚김 전압-전류곡선이다. a는 표지의 표기상  $6.6 \times 10^{-6} M$ 로 회석한 액체약물의 ASV이고, b는 여기에 다시 같은 농도의 액체약물을 가한 것이며, c는 b에 testosterone 표준용액을  $5 \times 10^{-7} M$  되도록 가한 경우이다. a와 b의 경우에는 성호르몬의 전위인  $-1.48$  volts와 다른 성분의 전위인  $-1.28$  volts에서 모두 농도에 비례하여 전류값이 증가하였으며 c의 경우에는 성호르몬의 환원전위인  $-1.48$  volts의 봉우리 전류값만이 증가하였다. 이는 시판되는 약물 중에 dibucaine이 1:1로 혼합되어 있고 benzyl alcohol 등이 첨가되어 있어도 별다른 영향이나 방해 없이 용이하게 성호르몬을 분리정량할

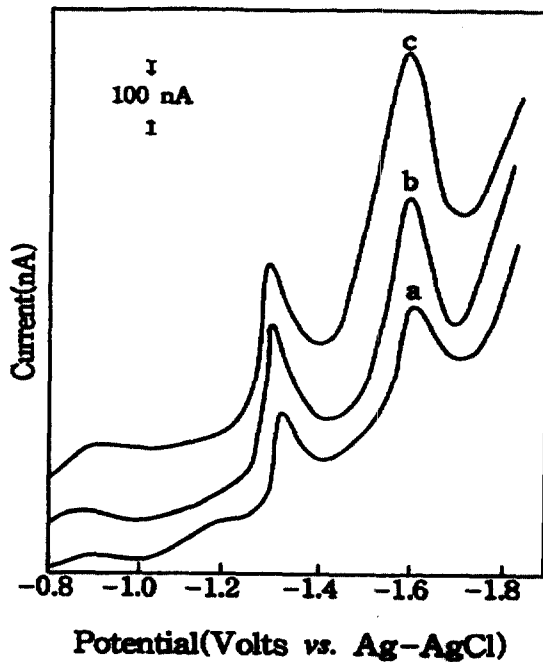


Fig 9. Differential pulse determination of testosterone in a methyl testosterone spraying liquid;  $-0.8$  volts deposition potential, 240sec. deposition time,  $20mV/sec$  scan rate.

- a : only the spraying liquid  $6.6 \times 10^{-6} M$
- b : added the spraying liquid  $6.6 \times 10^{-6} M$  in a
- c : added the methyltestosterone standard  $5.0 \times 10^{-7} M$  in b

수 있음을 의미한다.

이들 주사액이나 분무용 액체약품 중의 성호르몬 함량을 표준용액으로 미리 작성한 검량곡선의 기준에 맞추어 환산하였다.

**8. 의약품 중 성호르몬의 봉우리 전위의 변화**

Table 2는 성호르몬 표준용액과 의약품의 봉우리 전위값을 조사하여 나타낸 것이다. 성호르몬 표준용액과 의약품의 봉우리 전위값을 비교 조사해 본 결과, 표준용액에 비하여 의약품의 경우에 대략 0.1~0.2 volts 정도 음전위 이동되었다. 이것은 의약품 중에 함유되어 있는 벤질 알코올이나 유도체가 붙어 있는 호르몬 성분 자체의 구조적 효과에 의해 음전위 이동된 것으로 생각된다.

Table 2. Characteristics of the DPS peak potential for sex hormones and Medical supplies

Compounds	Peak potential
Standard progesterone	-1.42V
Progesterone injection	-1.56V
Standard testosterone propionate	-1.38V
Testosterone propionate injection	-1.48V
Testosterone cypionate injection	-1.48V
Methyl testosterone spraying liquid	-1.58V

**9. 의약품의 호르몬 순도 측정**

Table 3은 표지의 표기상으로 나타낸 의약품 중의 성

Table 3. Measurement of purity on hormones in medical products.

Compounds	Product's labelled purity(mol/L)	Experimental purity(mol/L)
Progesterone injection	$3.2 \times 10^{-7}$	$2.7 \times 10^{-7}$
Testosterone propionate injection	$7.3 \times 10^{-7}$	$3.3 \times 10^{-7}$
Testosterone cypionate injection	$6.1 \times 10^{-7}$	$3.3 \times 10^{-7}$
Methyl testosterone spraying liquid	$6.6 \times 10^{-6}$	$7.5 \times 10^{-7}$

호르몬의 순도를 확인하기 위하여 표기된 의약품을 일정 비율로 희석하여 봉우리 전류값을 측정 한 후, 표준용액의 검량선에 맞추어 실제 호르몬 농도로 계산한 것이다.

Table 3에서 보면 주사액의 경우에는 희석하여 취한 농도에 비하여 실험으로 얻어진 농도가 대략 비슷하여 그런대로 순도가 유지되는 것으로 나타났다. 분무용 액체의약품의 경우에는 표지 농도보다 실제 농도가 10 배 정도 묽은 상태로 나타났으며 차후 이에 대한 검증이 필요할 것으로 사료된다.

**IV. 결론**

$1.0 \times 10^{-2}$  M 수산화나트륨을 지지전해질로 하여 흡착법 전압-전류법으로 성호르몬의 분석을 석출시간 240초, 석출전위 -0.8 volts, 수은방울크기 medium, 주사속도 20mV/sec의 조건에서 실시하였다.  $5.0 \times 10^{-9}$  M에서  $8.0 \times 10^{-7}$  M 범위까지 검량선은 직선상을 보여 주었으며, 이 조건에서 검출한계는 progesterone 이  $8.0 \times 10^{-10}$  M이고 testosterone propionate는  $1.4 \times 10^{-9}$  M로 높은 감도를 보였다.

또한 이 방법을 의약품 중에 응용한 결과 보조제로 들어 있는 dibucaine, benzyl alcohol 등의 방해물 받지 않고 성호르몬에 대한 분리 분석이 가능하였다.

**감사의 글**

이 연구는 한국과학재단 특정기초 연구과제(91-03-00-08) 일부와 일반기초연구과제(911-0340-042-2)에 의해 이루어진 것으로 저자들은 이에 깊은 감사를 드립니다.

**Reference**

1. Wilson, T. A. Kaiser, D.L. and Carey, R.M., *J. Clin Endocrinol Metab.*, **57**, 200(1983).
2. A. C. Guyton, "Medical Physiology" 6th. W. B. Saunders Co., Philadelphia London Toronto, pp 992-1021(1981).
3. Adkins, H and Cox, F. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 1151(1938).
4. D. M. Robertson, *Biochem. J.*, **61**, 681(1938).
5. P. Kabasskalian and J. McGlotten, *J. Electrochem.*

- Soc., **105**, 261(1958).
6. O. Hrdy, *Collection Czech. Chem. Commun.*, **27**, 2447 (1962).
  7. J. L. Spahr and A. M. Knevel, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 1020(1966).
  8. L. N. Opheim, *Anal. Chim. Acta*, **89**, 225(1977).
  9. L. Gorton G. Johansson, *J. Electroanal. Chem*, **113**, 151(1980).
  10. T. M. Florence, *J. Electroanal. Chem*, **97**, 219 (1979).
  11. J. Wang, D. B. Luo, P. A. M. Farias and J. S. Mahamond, *Anal. Chem.*, **57**, 158(1985).
  12. J. Wang, P. A. M. Farias and J. S. Mahamond, *Anl. Chim, Acta*, **171**, 195(1985).
  13. EG & G, "Model 303A SMDE Instruction Manual" III-2(1984).