

남해안 해조류의 지방산 조성

최 선 남 · 최 강 주^{*}, †

군산대학교 식품공학과

*한국인삼연초연구원

Fatty Acid Compositions of Sea Algae in the Southern Sea Coast of Korea

Sun-Nam Choe and Kang-Ju Choi^{*,†}

Dept. of Food Science and Technology, Kunsan National University, Kunsan 573-702, Korea

*Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Daejeon 305-345, Korea

Abstract

Lipid contents and fatty acid compositions of 16 kind sea algaes in the southern sea coast of Korea were analyzed to evaluate nutrient significance of total polyene, n-3 polyenes and n-6 polyene fatty acids. Total lipid contents were 0.58~3.00% in 9 kinds of brown algaes, 0.47~2.16% in 5 kinds of red algaes and 0.55~2.99% in 2 kinds of green algaes. N-3 polyenes and n-6 polyenes of the fatty acid compositions were 1.46~25.67% and 0~48.51% in the brown algaes, 1.17~21.91% and 0.28~29.35% in the red algaes, and 3.67%~10.61% and 4.10~8.66% in the green algaes, respectively. The fatty acid contents and compositions of n-3 polyenes and n-6 polyenes, monoenes and saturates were vary different in the algae groups and sepecies.

Key words : Korean sea algaes, fatty acid compositions, n-3 polyenes, n-6 polyenes.

서 론

우리나라는 일본과 더불어 세계에서도 해조류를 많이 복용하는 해조 이용국으로 알려졌으며, 이들 해조류는 식용, 흐료, 약용, 사료, 비료, 해조공업 원료 등으로 널리 이용하여 왔다. 특히 우리나라는 삼면이 바다이고 난, 한류가 교류하기 때문에 해조류의 종류도 다양하고 자원량도 매우 풍부하여 연안에 생육하는 해조의 종류는 약 1천종이 넘을 것으로 추정된다.¹⁾ 특히 최근에는 식량자원뿐 아니라 독특한 향이나 맛을 갖는 저칼로리 다이어트(diet) 건강식품으로, 또는 생리활성물질의 공급원으로 각광을 받게 되어 그 이용율도 크게 증가될 것으로 전망된다.

해조류(海藻類)중 우리나라에서 식용으로 사용되

고 있는 해조류는 건조품 기준으로 볼 때 단백질은 6~42%였고 탄수화물은 6~74% 수준으로 단백질과 당질의 함량이 풍부한 식품소재²⁾로 무기질 성분중 나트륨, 칼륨, 칼슘, 인의 함량과 비타민중 β -carotene, vitamin C, niacin 등의 함량이 매우 풍부한 것으로 보고되었다.²⁾ 특히 요오드 함량이 풍부하게 함유되어 성장기의 어린이와 산모에게는 필수적인 식품으로 애용되어 왔다. 최근 식생활의 패턴이 점차 서구화 되어 가는 추세로 인한 육류의 섭취량이 현저하게 증가되어 어감에 따라 n-6 와 n-3계열 불포화지방산의 불균형적인 섭취는 심장혈관계질환, 혈전증, 고혈압, 자가면역 기능 손실, 신경계작용 이상 등의 질병을 일으키는 원인으로 작용하는 것으로 보고되고 있다.^{3,4)}

한편 지방산의 영양학적인 의의를 고찰해 볼 때 n-6

^{*} Corresponding author : Kang-Ju Choi

계열의 필수지방산 중심으로 linoleic acid와 arachidonic acid의 영양학적인 필요성이 강조되어 왔으나, 최근 n-3 지방산은 생체 membrane 조직의 필수인자로서 체내대사에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다.⁵⁾ 특히 n-3 계열의 불포화지방산 중 eicosapentaenoic acid(C 20:5)과 docosahexaenoic acid(C 22:6)는 동·경화 및 혈전 등과 같은 심장질환의 예방과 치료에 효과가 있는 것으로 보고^{6,7)} 되어 주목을 끌고 있으며 현재에도 많은 연구들이 진행중에 있다. 일반적으로 해조류에는 고도불포화지방산 중 n-3계열과 n-6계열의 불포화지방산의 조성비율이 높고 다양하게 함유되어 있는 것으로 보고^{8~10)} 되고 있으나, 이들 지방산들에 대한 체계적인 연구는 매우 미미한 실정이다. 따라서 본 연구는 우리나라 남해안 해조류의 지방산을 조사하여 기능성 식품으로써 활용가치를 재조명 해보기 기능성 식품의 소재로 그 의의를 모색하기 위하여 우리나라 남해안 진도 근해에 자생하는 조류중 이용노가 높은 갈조류 9종, 홍조류 5종 및 녹조류 2종의 지방산 조성을 GLC로 분석하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 해조류는 전라남도 완도에서 자생하는 조류중 식용, 한천 및 호료 등 제조에 이용되고

있는 해조류 16종을 채취하여 통상적인 해조류 건조 방법에 따라 일건시켜 건조시킨 다음 시료로 사용하였다.

2. 지질의 추출 및 정제

시료중의 지질 추출은 건조된 시료를 컷팅밀을 사용 2mm로 분쇄시킨 다음 Kates의 방법¹¹⁾을 참조하여 클로로포름: 메탄올(8:4, v/v) 혼합용매로 반복 추출하여 여과한 다음 Folch방법¹²⁾으로 정제하여 상층인 물층에 비지질 성분을 이행시켜 제거하고 하층인 클로로포름층과 메탄올 혼합용매층 분획을 분리한 후 감압농축시켜 용매를 제거한 다음 총지질을 얻었다.

3. 지방산의 분석

각 시료에서 분리한 총지질을 Metcalf¹³⁾ 방법에 따라 $\text{BF}_3\text{-methanol}$ 을 사용하여 methyl ester화 시킨 다음 GLC로 분석하였다. 분석기기는 검출기로서 FID가 부착된 Hewlett packard(HP) 5890 series II terminal과 HP 3396 series II integrator를 사용하였다. Column은 supelcowax 10 fused silica capillary column(30m, 0.25mm ID)를 사용하였고 oven 온도는 180°C에서 1분간 유지시킨 후 2°C/min.씩 승온시켜 240°C 및 250°C로 하였고 carrier gas는 N_2 gas를 1.0ml/min.으로 하였으며 split ratio는 50 : 1로 하였다. 지방산 표준품은 지방산메틸에스터 표준품(Sigma Chemical CO.)을 사용하여 분석하였다.

Table 1. Total lipid contents of Sea algae in the southern coast of Korea

Classification	Scientific name	Korean common name	Total lipids(%)
Brown Algae	<i>Sargassum horneri</i>	Goangsangi-mojaban	1.04
	<i>Pelvetia siliquosa</i>	Tum-bugi	1.09
	<i>Chorda filum</i>	Gun-mal	0.58
	<i>Sargassum thunbergii</i>	Jichung-i	1.00
	<i>Ishige okamurae</i>	Pae	3.00
	<i>Hizikia fusiformis</i>	Tot	0.77
	<i>Laminaria japonica</i>	Dasim-a	0.43
	<i>Hizikia fusiformis</i> (Young leaf)	Tot-yuep	0.95
	<i>Sargassum serratifolium</i>	Tobni-mojaban	2.41
Red Algae	<i>Gloiosiphonia capillaris</i>	Sil-pul	2.16
	<i>Gracilaria incurvata</i>	Gobul-gosiraegi	0.47
	<i>Carpopeltis affinis</i>	Cham-kamaksal	0.28
	<i>Gelidium amansii</i>	Umug-gasari	0.72
	<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	Cham-dobag	0.54
Green Algae	<i>Codium fragile</i>	Cheong-gak	2.99
	<i>Uvia pertusa</i>	Gumung-galparae	0.55

결과 및 고찰

1. 총지질 함량

남해안 진도지방에서 자생하는 해조류 16종의 총지질 함량(Table 1)은 갈조류(brown algae)는 0.58~3.00%, 홍조류(red algae)는 0.47~2.16%, 녹조류(green algae)는 0.55~2.00%로 이를 해조류 그룹별 지질함량은 큰 차이가 없었다. 그러나 갈조류중 패(3.00%) 및 톱니모자반(2.41%), 홍조류중 실풀(2.15%), 녹조류중 청각(2.99%)을 제외하고는 총 지질 함량이 0.28~0.09% 수준으로 매우 낮아 해조류는 지질의 함량이 매우 낮은 식품임을 알 수 있었다.

2. 갈조류의 지방산 조성

갈조류의 지방산(Table 2) 분석결과 일반적으로 조

류^{2,8~10}에 함유된 18종의 지방산이 주로 동정되었으며, 지방산 종류별 함량조성은 갈조류의 종류에 따라 매우 다르게 나타났다. 총 polyenes 3.88~57.57%으로 갈조류의 종류에 따라 함량 차이가 현저하였으며 내용 면에서 볼 때 n-3 polyenes는 1.46~25.67%, n-6 polyenes는 4.59~46.81%로 갈조류 종류에 따라 함량 차이가 현저하였다.

특히 생리적으로 중요한 의의를 갖는 n-3 polyenes 5~7)의 함량은 지충이(St)와 뜬유엽(Hf)중 함량이 높았으며 linoleic acid(18:3, n-3)는 15.30% 및 12.95%, eicosapentaenoic acid(20:5, n-3)는 7.70% 및 7.25%, stearidonic acid(18:4, n-3)는 2.49% 및 5.02%로 정량되었으며, n-6 polyenes는 linoleic acid(18:2, n-6) 및 arachidonic acid(20:4, n-6)가 주요 지방산으로 정량되었다.

Table 2. Fatty acid composition of brown algae in the southern coast sea of Korea

Fatty acids	Sh ¹⁾	Ps ²⁾	Cf ³⁾	St ⁴⁾	Io ⁵⁾	Hf ⁶⁾	Lj ⁷⁾	Hfy ⁸⁾	Ss ⁹⁾
14:0	5.33	3.61	3.34	4.01	4.20	7.78	21.80	3.30	4.81
15:0	0.40	0.41	0.19	0.39	0.36	0.72	2.24	0.28	0.39
16:0	36.54	21.37	70.89	26.48	22.73	57.69	56.33	26.92	38.74
17:0	0.19	0.34	0.59	0.12	0.44	0.28	1.67	0.14	0.22
18:0	0.89	2.28	3.94	0.92	1.55	1.87	3.08	0.73	1.03
20:0	0.49	0.52	0.35	0.35	0.54	0.95	1.28	0.36	0.49
Saturates	43.84	28.53	79.30	32.27	29.82	69.29	86.40	31.73	45.68
16:1	6.05	0.97	3.99	8.81	1.07	2.93	—	4.51	3.72
18:1	11.24	11.2	8.51	7.61	11.49	7.04	0.75	8.41	10.87
20:1	2.90	tr	2.16	1.70	0.06	4.46	8.97	2.17	3.44
Monoenes	20.19	12.21	14.66	18.12	12.62	14.43	9.72	15.09	18.03
18:2(n-6)	6.02	27.35	1.34	7.06	28.38	2.56	—	5.18	6.24
18:3(n-6)	0.54	1.02	0.37	0.42	1.51	—	—	0.33	0.54
18:3(n-3)	4.54	4.14	—	15.30	2.72	3.55	—	12.95	6.96
18:4(n-3)	3.01	2.22	—	2.49	1.17	0.73	1.34	5.02	2.81
20:2(n-6)	0.27	0.54	tr	0.31	0.44	0.45	—	0.17	0.39
20:3(n-6)	0.73	0.62	0.37	0.58	1.11	0.26	—	0.61	0.70
20:4(n-6)	15.89	17.28	2.51	15.57	17.07	5.65	—	21.54	15.86
20:5(n-3)	4.60	6.09	0.76	7.70	4.96	1.41	—	7.25	2.44
22:6(n-3)	0.36	—	0.70	0.18	0.21	1.68	2.54	0.13	0.35
T- polyenes	35.96	59.26	6.05	49.61	57.57	16.29	3.88	53.18	36.29
n-6 Polyenes	23.45	46.81	4.59	23.94	48.51	8.92	—	27.83	23.73
n-3 Polyenes	12.51	12.45	1.46	25.67	9.06	7.37	3.88	25.35	12.56

※ tr : trace amount(<0.1).

¹⁾ Sh : *Sargassum horneri*

²⁾ Sf : *Sargassum fulvellum*

³⁾ Ps : *Pelvetia siliquosa*

⁴⁾ St : *Sargassum thunbergii*

⁵⁾ Io : *Ishige okamurae*

⁶⁾ Hf : *Hizikia fusiformis*

⁷⁾ Lj : *Laminaria japonica*

⁸⁾ Hfy : *Hizakia fusiformis(young leaf)*

⁹⁾ Ss : *Sargassum serratifolium*

N-3 polyenes의 조성이 높은 해조류는 Table 2에서 와 같이 지충이(St), 톳유엽(Hf), 톱니모자반(Ss), 광생이 모자반(Sh), 뜰부기(Ps), 패(Io) 및 톳(Hf)⁹⁾의 순이었고, 다시마(Lj) 및 끈막(Cf)은 그 함량이 매우 낮았다. 한편 n-6 polyenes의 조성이 높은 해조류는 패(Io), 뜰부기(Ps), 톳유엽(Hf), 톱니모자반(Ss), 광생이모자반(Sh), 톳(Hf), 끈막(Cf)의 순이었고, 다시마(Lj)에서는 n-6 지방산은 검출되지 않았고 n-3 polyenes⁹⁾의 함량도 매우 낮은 점이 특징적이었다. 그외에 갈조류에서 검출되는 미량 polyenes 지방산으로는 linoleic acid(18:3, n-6), eicosadienoic acid(20:2, n-6), eicosatrienoic acid(20:3, n-6) 및 docosahexaenoic acid(22:6, n-3)¹⁰⁾이 검출되었다.

한편 monoenes 지방산으로는 oleic acid(18:1), palmitoleic acid(16:1) 및 eicosenoic acid(20:1)⁹⁾ 함량이 9.72~20.19%로 정량되었다. Saturates는 palmitic acid(16:0)과 myristic acid(14:0)가 주된 지방산이었으며, 그 외에 pentadecanoic acid(15:0), heptadecanoic acid(17:0), stearic(18:0) 및 arachidonic acid(20:0)가 미량으로 정량되었으며 총포화 지방산은 갈조류의 종류에 따라 28.53~86.40%로 정량되었다.

3. 홍조류의 지방산 조성

홍조류의 지방산 (Table 3)종류도 일반적으로 조류^{2,8~10)}에 함유된 18종의 지방산이 주로 동정되었으나, 지방산 종류별 함량 조성은 홍조류의 종류에 따라 매우 다르게 나타났다. Polyenes 1.35~39.75%로 홍조류 종류에 따라 함량차이가 현저하였으며 내용면에서 볼 때 n-3 polyenes는 1.17~21.91%, n-6 polyenes는 0.28~29.35%로 홍조류 종류에 따라 함량 차이가 현저하였다. 특히 n-3 polyenes의 함량을 보면 실생(Gc), 꼬불꼬시래기(Gi), 참우뭇가사리(Ga)중 함량이 높았으며 주요 지방산은 eicosapentaenoic acid(20:5, n-3), docosahexaenoic acid(22:6, n-3)였고 linoleic acid(18:3, n-3) 및 stearidonic acid(18:4, n-3)는 홍조류 종류에 따라 미량 들어있거나 검출되지 않았다.

한편 n-6 polyenes는 꼬불꼬시래기(Gi) 및 참우뭇가사리(Ga)중 arachidonic acid(20:4, n-6)의 함량이 높았으며, 그 외에 linoleic acid(18:2), linolenic acid(18:3), eicosadienoic acid(20:2) 및 eicosatrienoic acid(20:3)의 함량은 적은 것으로 나타났다. Monoenes 지방산으로는 oleic acid(18:1), palmitic acid(16:1) 및 eicosenoic acid(20:1)가 정량되었으나 그 함량이 2.99~13.79%로 함량이 매우 낮았다. 반면에 saturates는 50.92~95.66%로 그 함량이 매우 높았으며, 특히 호료로 사용되는 참

Table 3. Fatty acid composition of red algae in the southern coast sea of Korea

Fatty acids	Gc ¹⁾	Gi ²⁾	Ca ³⁾	Ga ⁴⁾	Pe ⁵⁾
14:0	2.39	6.57	14.36	6.08	10.81
15:0	1.15	0.69	1.18	0.43	1.13
16:0	34.46	42.74	71.29	43.81	81.83
17:0	4.50	0.17	0.68	0.30	0.46
18:0	15.52	0.65	3.02	2.55	1.43
20:0	0.38	0.10	0.42	0.16	—
Saturates	58.40	50.92	90.95	53.33	95.66
16:1	16:1	3.37	0.19	1.10	1.10
18:1	18:1	5.75	1.09	6.43	6.43
20:1	20:1	0.21	2.75	0.59	0.59
Monoenes	13.79	9.33	4.03	8.12	2.99
18:2(n-6)	1.36	1.60	1.29	0.90	—
18:3(n-6)	0.43	0.64	—	0.47	—
18:3(n-3)	2.34	0.14	tr	0.11	0.31
18:4(n-3)	1.17	—	0.65	—	—
20:2(n-6)	2.09	0.12	0.20	0.13	—
20:3(n-6)	0.27	0.73	tr	0.50	—
20:4(n-6)	1.76	23.65	0.83	27.35	0.18
20:5(n-3)	6.46	12.75	0.38	9.09	—
22:6(n-3)	11.94	0.12	1.68	tr	0.86
T-Polyenes	27.82	39.75	5.30	38.55	1.35
n-6 Polyenes	5.91	26.74	2.32	29.35	0.28
n-3 Polyenes	21.91	13.01	2.71	9.2	1.17

* tr : trace amount (<0.1).

¹⁾ Gc : *Gloiosiphonia capillaris* ²⁾ Gi : *Gracilaria incurvata*

³⁾ Ca : *Carpopeltis affinis* ⁴⁾ Ga : *Gelidium amansii*

⁵⁾ Pe : *Pachymeniopsis elliptica*

까드살(Ca)과 회벽의 결착제 원료로 사용되는 참도박(Pe)은 palmitic acid(16:0)함량이 71.29% 및 81.83%로 그 함량이 매우 높은 점이 특징적이었다.

4 녹조류의 지방산 조성

녹조류의 지방산 (Table 4)의 경우도 일반적으로 조류^{2,8~10)}에 함유된 18종의 지방산이 주로 동정되었다. 총 polyenes는 7.76~19.27%으로 녹조류 종류에 따라 함량 차이가 현저하였으며 내용면에서 볼 때 n-3 polyenes는 3.67~10.61%, n-6 polyenes는 4.10~8.66%로 녹조류 종류에 따라 함량 차이가 현저하였다.

특히 n-3 polyenes의 함량을 보면 청각(Cf)의 linoleic acid(18:3, n-3)의 함량이 8.85%였고 그 외에 stearidonic acid(18:4, n-3), eicosapentaenoic acid(20:5, n-3) 및

**Table 4. Fatty acid composition of green algae
in the southern coast sea of Korea**

Fatty acids	Cf ¹⁾	Up ²⁾
14:0	4.27	1.92
15:0	0.23	0.74
16:0	56.71	80.37
17:0	0.26	0.84
18:0	2.64	1.41
20:0	0.96	0.25
Saturates	65.07	85.53
16:1	2.63	0.51
18:1	11.85	0.96
20:1	1.17	5.23
Monoene	15.64	6.70
18:2(n-6)	4.61	1.71
18:3(n-6)	1.05	0.90
18:3(n-3)	8.85	—
18:4(n-3)	0.29	0.73
20:2(n-6)	0.30	0.78
20:3(n-6)	0.65	—
20:4(n-6)	2.05	0.71
20:5(n-3)	0.85	2.94
22:6(n-3)	0.62	tr
T-Polyenes	19.27	7.76
n-6 Polyenes	8.66	4.10
n-3 Polyenes	10.61	3.67

* tr : trace amount (< 0.1)

¹⁾ Cf : *Codium fragile* ²⁾ Up : *Ulva pertusa*

docosahexaenoic acid(22:6, n-3)의 함량은 0.29~0.85% 정도로 매우 낮았다.

한편 n-6 polyenes는 청각(Cf)중 linoleic acid(18:2, n-6)의 함량이 4.61%였으나 그외에 linolenic acid(18:3), eicosadienoic acid(20:2), eicosatrienoic acid(20:3) 및 eicosatetraenoic acid(20:4)가 정량되었으며 이들 함량은 0.65~2.05%로 매우 낮았다. 참 흙파래(Up)의 n-3 및 n-6 polyenes는 지방산 종류에 따라 함유되지 않거나 그 함량이 매우 낮았다. 또한 monoenes 지방산으로 oleic acid(18:1), palmitic acid(16:1) 및 eicosenoic acid(20:1)의 함량을 볼 때 청각(Cf)은 15.64%, 참 흙파래(Up)는 6.70%로 그 함량이 낮았다. 포화지방산(saturates)함량을 보면 palmitic acid(16:0)가 주된 지방산으로 청각(Cf)은 56.71% 참 흙파래(Up)는 80.37% 함유하고 있었으며 그외에 포화지방산의 함량은 매우 낮았다.

요약

우리나라 남해안 완도지역에 자생하는 해조류 중 갈조류 9종, 홍조류 5종, 녹조류 2종의 지질합량을 조사하고 지방산조성을 GLC로 분석하였다. 총지질 함량을 볼 때 갈조류 9종은 0.58~3.00%, 홍조류 5종은 0.47~2.16%, 녹조류 2종은 0.55~2.00%로 매우 낮았다. 지방산 성분중 생리적으로 의의가 큰 n-3계열 지방산은 linoleic (18:3), stearidonic (18:4), eicosapentaenoic(20:5) 및 docosahexaenoic (22:6), n-6계열 지방산은 linoleic(18:2), linolenic(18:3), eicosadienoic (20:2), eicosatrienoic(20:3) 및 arachidonic acid(20:4) 등이 각각 정량되었다. 총 n-3 및 n-6 지방산 조성을 보면 갈조류는 1.46~25.67% 및 0~48.51%, 홍조류는 1.17~21.91% 및 0.28%~29.35%, 녹조류는 3.67~10.61% 및 4.1~8.66%였다. 해조류는 갈조류, 홍조류 및 녹조류의 종류에 따라 n-3계열 불포화지방산과 n-6계열 지방산 함량 조성이 매우 상이하였으며, 특히 영양학적인 측면에서 볼 때 지중이, 톳유액 및 실풀 외에도 광생이모자반, 뜰부기, 톱니모자반, 꼬불꼬시래기 등은 n-3 polyenes의 조성비율이 높은 기능성 식품으로 활용가치가 높은 것으로 고찰되었다.

감사의 글

본 연구는 2001년 군산대학교 수산과학연구소 지원에 의해 이루어진 연구결과로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 이인규, 강계원 : 한국조류학회지 **1**, 311 (1986).
2. 오창근 : 식품성분표(제 5개정판), 농촌진흥청 농촌생활 연구소, 상록사, 수원, P. 300~309 (1996).
3. Simopoulos, A. P. : Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development, *Am. J. Clin. Nutr.*, **54**, 438-463 (1991).
4. Newton, I. and Snyder, D. : Nutritional aspects of long chain omega-3 fatty acids and their use in bread enrichment, *Cereal Foods World*, **42**, 126-131 (1997).
5. 이양자 : 유기영양의 문제점과 개선방향. *식품과학과 산업*, **23**, 13 (1990).
6. Bang, H. O., Dyerberg, J. and Sinclair, H. M. : The composition of the Eskimos food in North West Greenland, *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2657 (1980).
7. Dyerberg, J. : Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids

- and prevention of atherosclerosis, *Nutr. Rev.*, **44**, 125 (1986).
8. 홍재식, 권영주, 김영희, 김명곤, 박일웅, 강귀환 : 미역과 파래의 지방산조성, *한국영양식량학회지*, **20**(4), 376~380 (1991).
9. Choi, K. J., Nakhost, Z., Barzana, E. and Korel, M. : *Food Biotechnology*, **1**(1), 117~128 (1987).
10. 鹿山光 : 總合脂質科學, 恒星社厚生閣, p.750~830 (1989).
11. Kates, M. : *Techniques of Lipidology*, American Elsevier Publishing Co. INC., New York, p. 349~350 (1975).
12. Folch, J., Lee, M. and Sloane Stanly, G. H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
13. Metcalf, L. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. : *Anal Chem.*, **38**, 514 (1966).

(2002년 2월 20일 접수)