



Discrimination of Geographic Origin by Trace Elements Contents in *Rehmannia Radix Preparat* using X-ray Fluorescence Analysis

Hey-Ree Bae · Si-Kyung Lee · In-Jae Whang · Jeong-Mi Kang · Jin-Ho Lee · Jeong-Han Kim*

X선 형광 분석방법을 이용한 숙지황의 무기원소 함량분석과 지리적 특성 규명

배혜리 · 이시경 · 황인재 · 강정미 · 이진호 · 김정한*

Received: 31 May 2015 / Accepted: 29 August 2015 / Published Online: 31 December 2015
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2015

Abstract Dried *Rehmannia Radix Preparat*, produced in different geographic origins of Korea and China, were investigated for the trace element contents using X-ray fluorescence spectrometry. When the estimated data for 35 kind of elements including K, P, S, Cl, Si, Al, Fe, Sn, etc on 143 samples were analyzed by canonical discrimination technique, the average classification correct rate was 92.3% and the significance was less than 0.0001. In case of reducing the number of elements for statistic analysis from 35 to 8 and to 3, the correct rates were also reduced to 88.1% and to 84.6%. The correct rate for Chinese samples ranged from 94.6–96.0%, while those for Korean ranged from 72.5–89.9%.

Keywords discrimination · geographic origin · *Rehmannia Radix Preparat* · XRF

H.-R. Bae · I.-J. Whang · J.-M. Kang · J.-H. Lee
National agricultural products quality management service, Gyeongbuk 740-220, Republic of Korea

H.-R. Bae · J.-H. Kim
Department of agricultural Biotechnology, Seoul national university, Seoul 151-742, Republic of Korea

S.-K. Lee · I.-J. Whang
Graduate school of agriculture & animal science, Konkuk university, Seoul 143-701, Republic of Korea

*Corresponding author (J.-H. Kim : kjh2404@snu.ac.kr)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

숙지황(熟地黃, *Rehmannia Radix Preparat*, prepared *Rehmannia root*)(Fig. 1)은 중요 한약재 50종의 하나로서 현삼과에 속한 다년생 초본인 지황(*Rehmannia glutinosa*)의 근경(根莖)를 증숙하여 건조한 것을 말하며, 날것을 생지황, 말린 것을 건지황이라고 하고 특히 술에 담갔다가 찌서 말리기를 9번 되풀이하여 만든 것은 구지황이라 하여 그 약효를 으뜸으로 친다. 숙지황의 맛은 달면서도 쓴맛이 돌고 따뜻한 성질이 있어 혈을 보(補)하고 정(精:생명이 발생하고 활동하는 데 기본이 되는 물질)을 보충해서 허리와 무릎이 시리고 아픈 증상이나 월경이상, 어지럼증 등을 치료하고 머리를 감게 하는 효능이 있다고 한다. 또한 각종 만성병에 널리 쓰일 뿐 아니라 암세포 성장저해, 혈당강화 및 혈압조절(ACE 활성 저해), 조혈작용(Jeong과 Seo, 2001) 등을 하는 것으로 보고되었다. 또한 숙지황은 국내생산량이 많은 10대 한약재로 관리하고 있는데(Food and Drug statistical year book, 2014) 연간 국내생산량은 400톤 수준으로 10,000원/kg 내외로 유통되는데, 지황 또는 숙지황으로 수입된 물량은 700톤 수준으로 조사되었다. 2013년도 한약재의 연간 수입규모는 112,392천달러로 알려졌는데, 이중 중국이 차지하는 비중이 60,580천달러(약 620억원)로 식물성 한약재의 대부분을 차지하고 있다. 한약재의 국내시장 규모는 70,000톤 수준으로 알려져 있는데 지황은 10% 정도를 차지하는 것으로 추정된다. 한국산 숙지황의 경우는 중국산에 비하여 2–4배 정도 가격이 높아서 중국 중국산과 한국산의 판별이 요구된다. 농산물의 원산지판별은 시장 등 단속현장에서 적용할 수 있는 오감(五感, 시각, 청각, 촉각, 미각, 후각)에 의한 관능분석방법을 기본으로, N-H, O-H, C-H, S-H 등의 유기물질 함량차이로 판별하는 근적외선 분광분석법(near infrared spectrometry) (Kim 등, 2003; Lee 등, 2006; Hyan Y 등, 2007), 휘발성 향 성분 차이를 활용한



Fig. 1 Representative shape of *Rehmannia Radix Preparat* (Left-Korean, Right-Chinese) (National agricultural quality management service).

전자코(e-Nose) 분석법(Lim 등, 2008; Son 등, 2009; Choi 등, 2012), neutron activation analysis (Camargo 등, 2010), 동위원소분석기 등을 활용한 원소량 차이에 의한 분석법(Franke 등, 2008), ICP-MS, XRF 등 무기원소 함량분석법(Kang 등, 2001; Kaoru 등, 2004; Galgano 등, 2008; Pilgrim 등, 2010; Otaka 등, 2014), 유리아미노산 분석법 (Campo 등, 2009), 동위원소 비율에 의한 분석법(Fortunato 등, 2004) 등과 XRF에 의한 무기원소의 종류와 함량차이를 이용한 판별법(Jeong과 Lee, 2008; Kara, 2009; Moon 등, 2012)이 보고되고 있다.

본 연구는 한약재 원료로서 소비량이 많고 증속 가공 과정을 거침에 따라 국가간 이동으로 가격차가 많이 발생할 수 있는 숙지황에 잔류하는 미량무기원소의 종류와 함량의 차이를 이용하여 원산지 판별을 시도하였는데, 실리콘 여기 검출기 (Silicon Drift Detector)를 장착한 에너지 분산형 X-선 형광분석기(ED-XRF, energy dispersive x-ray fluorescence spectrometer, S2 RANGER, Bruker, Germany)를 활용하여 무기원소의 종류별 함량을 분석하고, 정준판별분석(canonical variate analysis)법으로 다변량 통계처리하여 원산지 판별 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

숙지황 산지 및 주요 유통시장 관할 시·군에서 관할지역 담당자를 통하여 표시 확인된 한국산 숙지황 69점과 중국산 숙지황 74점을 수집하여 100 g씩 칭량접시에 담고 열풍건조기 (JEIOTECH, Korea)로 40°C에서 3일간 건조하여 수분함량을 10% 이하로 만들었다. 건조된 숙지황을 절단하여 Food Mixer (MCH-602, 220V, J-one corporation, Korea)로 1분간 분쇄하여 분말로 만들었다. 알루미늄 시료컵(i.d. 33 mm)에 4.0 g을 칭량하여 담고 시편(pellet) 제작기(Press 3630 X-Press, Germany)로 30톤의 압력으로 0.3분간 눌러 시편을 제작하여 분석에 사용하였다.

ED-XRF (S2 RANGER, Bruker)로 X-ray가 tube에서 생성되어 시료 중의 무기원소를 여기 시켜서 방출되는 형광에너지를 검출기로 측정하였다. 각 무기원소의 에너지 준위보정을 위하여 측정에 앞서 구리 시편(LOT 204680, Bruker)으로 구리의

특성 X-선의 $K\alpha_1$ 의 에너지 값(8.04 keV)이 정확히 검출되는지 확인하였다. 측정이 완료되면 Cu의 형광 피크가 계산되고 이 구리의 $K\alpha_1$ 의 에너지 값을 기준으로 검출기가 교정되며, 이를 참고 물질 시편(BAXS-S2, Bruker)으로 원소별 검출기 감도를 확인하였다. 측정 가능한 총 69종의 원소를 측정하였을 때 숙지황에서 검출되는 주요 무기원소를 선정하여 통계프로그램 Unistat (Ver 5.6., Unistat Ltd., UK)의 다변량분석 프로그램 (multiple discriminant analysis) 중 정준판별분석을 이용하여 판별정확도를 산출하였다. 지리적 원산지 판별분석을 위하여 한국산에는 1, 중국산은 2를 집단요인값으로 임의로 부여하였고 통계분석에서 요인수를 달리하였을 때의 차이를 알아보기 위하여 검출량을 고려하여 원소수를 달리 선별하고 1차 통계분석과 동일한 방법으로 통계처리하여 비교하였다.

결과 및 고찰

한약재 식물은 토양, 수질 등에서 생장을 위해 필수원소를 비롯한 다양한 무기화합물을 흡수하므로 원산지별 재배지 토양의 무기원소 함유량과는 연계성이 있고 비료나 기후, 수확시기 등 재배환경에 따라 흡수되는 무기영양 성분의 차이가 있는 것으로 알려져 있다(Kim 등 1996; KIOM, 1998; Park 등, 2005). 일반적으로 다양한 무기원소를 동시분석하기 위해서는 ICP-AES나 ICP-MS를 사용하고 있지만 이를 위해서는 질산 등의 유해한 화학물질을 이용한 산분해과정이 반드시 선행되어야 하므로 숙련된 인력이 요구되고 시간과 비용이 추가적으로 요구되는 문제점이 있다. 반면에 XRF는 ICP-AES나 ICP-MS만큼 감도가 높지 않다는 단점도 있지만(Vandecasteele와 Block, 1993), 시료를 건조하여 분말화한 후 5 mm 내외의 디스크형 시편으로 만들거나 용기에 담아 측정하면 되므로 소량의 시료로도 측정이 가능하다는 장점이 있다. 예를 들어 방풍, 시호, 천궁, 황기 등 4종의 한약재에서 ED-XRF를 사용하여 P, S, K, Ca 등 4종의 원소로 원산지를 판별분석하였는데 전체 판별정확도는 87.5–98.8%로 나타났으며(Jeong과 Lee, 2008), 황금에서 Ca, K, S, P, Zn, Cu, Fe, Mn, Cl 등 9종 원소를 측정하여 원산지 판별하였을 때 95.2%의 정확도를 나타냈다(Moon 등, 2012).

따라서 본 실험에는 실온 근처에서도 이상적인 감도를 보이고 실험실 환경에 의한 영향이 적으면서 유도체화나 산분해 등의 별도의 전처리 과정이 필요 없이 간단 건조하여 측정이 가능한 ED-XRF로 무기원소 함유량을 분석하였다. 총 69종의 원소(Ag, Al, As, Au, Ba, Bi, Br, Ca, Cd, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Hg, Ho, I, In, Ir, K, La, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Nd, Ni, Os, P, Pb, Pd, Pr, Pt, Rb, Re, Rh, Ru, S, Sb, Sc, Se, Si, Sm, Sn, Sr, Ta, Tb, Te, Th, Ti, Tl, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr)를 시료로부터 방출되는 형광의 감도가 높은 진공상태에서(Kim 등, 2011) 측정하였다(Table 1).

무기 원소의 측정. 측정 가능한 69종의 원소 중에서 Ag, Al, Au, Bi, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, K, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Pt, Rb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Te, Th, Ti, Tl, U, Y, Zn, Zr 등 35종의 무기원소가 숙지황에서 검출되었다. 검출된 원소 35종 중 0.01% (100 µg/g) 이상 함유되는 주요 다량 성분은 Al, Cl, Fe, K, P, S, Si, Sn 등 8종으로 분석되었는데, Al, P, S는 한국산이 중국산에 비해 많은 것으로 나타났으며,

Table 1 Instrumental conditions

Voltage	Current	Beam filter	Live time	Limit
20 kV	250 μA	None	100 s	50 kcps
40 kV	250 μA	Al 500 μm	100 s	50 kcps
50 kV	250 μA	Cu 250 μm	100 s	50 kcps

Table 2 Amount of 8 macro elements in *Rehmannia Radix Preparat* (Unit: μg/g)

Element	Korean		Chinese	
	Mean	Range	Mean	Range
Al	733	214-2,175	698	199-4,804
Cl	2,175	925-3840	2,687	844-9,484
Fe	299	68-1,096	351	130-2,836
K	12,291	8,800-16,317	12,663	9,222-15,563
P	3,040	2,028-4,118	2,045	1,524-3,646
S	1,207	762-1,813	1,100	688-2,402
Si	1,208	295-4,841	1,492	527-12,304
Sn	75	69-86	75	68-88

Si, Cl, K, Fe는 한국산에 비해 중국산이 많은 것으로 나타났는데 Sn은 생산지와는 관계없이 비슷하게 존재하는 것으로 나타났다(Table 2).

정준판별분석을 활용한 다변량 분석. 35종 원소를 이용하여 정준판별분석을 활용하여 다변량 분석을 하였을 때 판별정확도는 92.3%로 나타났고 한국산은 1.5668이 평균값으로, 중국산은 -1.4609가 평균값으로 산출되어 두 집단간 평균값의 차이 집단간 거리는 3.0276으로 산출되었다(Table 3). 35종 원소의 측정치를 2개의 집단으로 분류하기 위해 통계프로그램이 처리한 행렬의 고유벡터의 집단간 제곱합을 집단내 제곱합으로 나눈 것이 판별함수 eigenvalue로 계산되는데, 이 수치가 클수록 분류가 잘되는 것을 의미하며, 집단간의 거리 또한 동일한 의미를 갖는다고 볼 수 있다. 미량원소에 의한 영향과 비교하기 위하여 속지황에서 0.01% 이상 검출된 다량원소 8종의 분석결과를 활용한 판별분석결과에서는 판별정확도는 88.1%였으며 한국산은 -1.2205, 중국산은 1.138이 평균값으로 산출되었으며 두 집단값의 차이는 2.3586으로 나타났다. 양분과 식물체 중 모두 다

량원소로 검출된 3종의 원소를 이용한 경우의 판별정확도는 84.6%였으며 한국산은 1.1107이 평균값으로, 중국산은 -1.0357이 평균값으로 산출되어 두 집단값의 거리는 2.1464로 나타났다. K, P, S 3종류 원소의 통계처리 결과에서 한국산과 중국산과의 정준판별분석의 유의수준은 모두 0.0001보다 작은 것으로 나타났다. 또한, XRF를 이용한 다른 한약재의 원산지판별 분석결과와 비교해 볼 때, 황기에서의 2.1154 (Jeong과 Lee, 2008)보다 집단값의 차이가 커 잘 판별될 수 있을 것으로 기대되었다. 원산지별 판별 정확도는 한국산의 경우 35종, 8종, 3종의 원소를 이용한 경우 각각 89.9, 79.7, 72.5%로 감소하는 것으로 나타났고, 중국산의 경우에는 94.6, 96.0, 96.0%로 전반적으로 크게 변화가 없는 것으로 나타났다. 한국산이 중국산에 비하여 판별정확도가 낮은 것은 한국산의 경우 생산지별 토성이 다양하고 가공조건이 차이가 있어 미량성분에 의한 영향을 많이 받지만 중국산은 수입량이 규모화되어 일정 규격을 통과한 제품이 수출되어 다량원소의 차이가 국산에서의 차이보다 적기 때문인 것으로 판단되었다. 전체적인 판별정확도는 84.6–92.3% 수준으로 나타나 유통되는 속지황의 원산지 판별에 활용할 수 있을 것으로 기대되었다. 시료의 특성이 중국산에 가까운 한국산인 경우 35종 원소분석에서는 중국산으로 가까웠으나 8종, 3종 원소분석에서 중국산으로의 경향치가 더 낮아진다면 이는 한국산인 것을 유추할 수 있을 것이다(Table 3). 또한 동일 시료를 이용한 분석결과라 하더라도 통계분석에 사용되는 요인수(원소수)를 달리하여 비교함으로써 분석결과가 달라짐을 확인할 수 있었으며 전체 판별정확도는 35종을 활용한 것이 더 높게 나타났는데 이는 미량원소의 검출패턴이 통계적 판별가능성을 높이기 때문으로 해석된다. 따라서 동일한 품목을 다른 장비로 분석한 결과가 있다면 판별정확도를 높이기 위하여 통계처리에 요인(측정항목)으로 반영하는 방법도 사용할 수 있을 것으로 판단되었다. 또한 표본의 정확도를 높이는 방법도 특이값을 나타내는 시료(outlier)는 가공방법이 다르거나 품질이 불량한 시료인 경우도 있으므로 생산이력을 추적하여 대표성이 낮은 시료는 판정대상에서 배제하는 것도 고려할 필요가 있다. XRF에 의한 분석법은 검출 성분의 함량비에 의한 정량방법(Jeong과 Lee, 2008; Moon 등, 2012)이 주로 사용되므로 기기상의 검출한계, 원소 파장간의 분해능을 점검할 수 있도록 농식품에 존재하는 무기원소 10–20종과 유해무기원소 10종 등 20–30종의 성분을

Table 3 Canonical discrimination analysis of elements in *Rehmannia Radix Preparat*

Statistic values	35 kinds of element (Ag, Al, Au, Bi, Br, Ca, Cd, Cl, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, K, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Pt, Rb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Te, Th, Ti, Tl, U, Y, Zn, Zr)			8 kinds of element (Al, Cl, Fe, K, P, S, Si, Sn)	3 kinds of element (K, P, S)
	Eigenvalue		2.3213		1.4087
Correlation		0.836		0.7647	0.7338
DoF		35		8	3
Significance		<0.0001		< 0.0001	< 0.0001
Canonical Discriminant Function	Korean (1)	1.5668		-1.2205	1.1107
	Chinese (2)	-1.4609		1.1380	-1.0357
	Distance (1-2)	3.0276		2.3586	2.1464
Classification	Korean (%)	62/69 (89.9%)		55/69 (79.7%)	50/69 (72.5%)
	Chinese (%)	70/74 (94.6%)		71/74 (96.0%)	71/74 (96.0%)
	Correct rate(%)	132/143 (92.3%)		126/143 (88.1%)	121/143 (84.6%)

포함하는 참조표준시료 (certified reference material)를 2–3가지 농도로 제작하여 각각의 측정구에 포함하여 분석함으로써 분석의 정도향상을 도모하는 방법도 필요한 것으로 판단되었다.

농식품의 원산지판별분석의 어려운 점은 생산지를 대표하는 표본시료를 수집하여 지속적으로 분석자료를 축적하는 것이다. 따라서 매년 산지가 정확한 품목별 100점 내외의 시료를 수집하여 기존의 자료를 검증하고 보완함으로써 판별정확도를 높여 신뢰도를 유지할 수 있도록 하는데 관계기관의 협력이 필요한 것으로 판단되었다.

초 록

한국산 및 중국산 숙지황(Dried *Rehmannia Radix Preparat*)의 지리적 원산지에 따른 특성을 알아보기 위하여 X-선 형광분석기(X-ray fluorescence spectrometry)를 이용하여 미량 원소 함량을 측정하였다. 143종의 시료에서 검출된 K, P, S, Cl, Si, Al, Fe, Sn 등 35종의 원소를 정준판별분석한 결과 평균 판별 정확도는 92.3%로 나타났으며, 유의수준(p)은 0.0001 미만으로 나타났다. 통계분석에 사용하는 원소수를 35종에서 8종, 3종으로 줄였을 때 판별정확도는 각각 88.1, 84.6%로 감소하는 것으로 나타났다. 중국산내에서의 판별정확도는 94.6–96.0%였으나 한국산내에서의 판별정확도는 72.5–89.9%로 나타났다.

Keywords 숙지황 · 원산지 · 지리적 · 판별 · 형광분석기

References

- Camargo AB, Resnizky S, Marchevsky EJ, and Luco JM (2010) Use of the Argentinean garlic (*Allium sativum* L.) germplasm mineral profile for determining geographic origin. *J Food Compos Anal* **23**(6), 586–91.
- Campo CP, Garde-Cerdan T, Sanchez AM, Maggi L, Carmona M, and Alonso GL (2009) Determination of free amino acids and ammonium ion in saffron (*Crocus sativus* L.) from different geographic origins. *Food Chem* **114**(4), 1542–8.
- Choi JY, Bang KH, Han KY, and Noh BS (2012) Discrimination analysis of the Geographical origin of Foods. *J Food Sci Technol* **44**(5), 503–25.
- Food and Drug statistical year book (2014) Ministry of Food and Drug Safety, Korea.
- Franke BM, Hadorn R, Bosset JO, Gremaud G, and Kreuzer M (2008) Is authentication of their geographic origin of poultry meat and dried beef improved by combining multiple trace element and oxygen isotope analysis? *Meat Sci* **80**(3), 944–7.
- Galgano F, Favati F, Caruso M, Scarpa T, and Palma A (2008) Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance. *LWT - Food Science and Technology* **41**(10), 1808–15.
- Hayan Y, Ying Z, Xianping F, Lijuan X, and Yibin Y (2007) Discrimination between chinese rice wines of different geographic origins by NIRS and AAS. *Eur Food Res Technol* **225**, 313–20.
- Jeong DJ and Seo YB (2001) Experimental studies on the haematoporetic effects of the *Rehmannia Radix Preparat*. *Kor J Herbology* **16**(1), 73–89.
- Jeong MS and Lee SB (2008) Discrimination of geographical origin for herbal medicine by mineral content analysis with energy dispersive X-ray fluorescence spectrometer. *Korean J Food Sci Technol* **40**(2), 135–40.
- Kang MR, Lee IH, Jun H, Kim YS, and Lee SJ (2001) Elemental analysis in *Astragalus Radix* by using ICP-AES and determination of the origin agricultural place of oriental medicine by using a chemometrics. *Analytical Sci & Technol* **14**(4), 311–6.
- Kaoru A, Hiroshi H, and Akemi Y (2004) Chemometric technique on inorganic elements composition for the determination of the geographic origin of welsh onion. *Anal Sci* **20**, 871–7.
- Kara D (2009) Evaluation of trace metal concentrations in some herbs and herbal teas by principal component analysis. *Food Chem* **114**(1), 347–54.
- Kim EY, Kim JH, Lee NY, Kim SJ, and Rhyu MR (2003) Discrimination of Geographical Origin for *Astragalus Root (Astragalus membranaceus)* by Capillary Electrophoresis and Near-Infrared Spectrometry. *Korean J Food Sci Technol* **35**(5), 818–24.
- Kim NJ, Sim SB, Ryu JW, Kim JW, and Hong ND (1996) Studies on contents and elution of metals from crude drugs. *J Kyung Hee Univ Med Cent* **12**, 105–13.
- Kim SS, Youn SL, Kim DY, and Ko DS (2011) Study for Enhancement of the Detection Sensitivity in Hand-Held X-Ray Fluorescence Device. *Journal of the Korean vacuum society* **20**(6), 409–15.
- KIOM (1998) Studies on security of Quality Control and Safety in Traditional Medicine Herbs. *Korean Institute of Oriental Medicine*, Korea.
- Lee NY, Bae HR, and Noh BS (2006) Discrimination of Geographical Origin of Mushroom (*Tricholoma matsutake*) using Near Infrared Spectroscopy. *Korean J Food Sci Technol* **38**(6), 835–7.
- Lim CL, Son HJ, Hong EJ, and Noh BS (2008) Discrimination of Geographical Origin of Beef Using Electronic Nose Based on Mass Spectrometer. *Korean J Food Sci Technol* **40**(6), 717–20.
- Moon JY, Lee YJ, Kang JM, Cho SJ, and Noh BS (2012) Discrimination of geographical origin for *Scutellaria baicalensis* Using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometer. *Korean J Food Sci Technol* **44**(4), 484–7.
- Otaka A, Akiko H, and Izumi N (2014) Determination of trace elements in soybean by X-ray fluorescence analysis and its application to identification of their production areas. *Food chem* **147**, 318–26.
- Park MK, Lee HJ, and Moon YS (2005) The correlation of heavy metal contents in herbal medicines and their soils at north Gyeongbuk area. *J Environ Sci* **14**, 185–92.
- Pilgrim TS, Waltingm RJ, and Grice K (2010) Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (*Camelliasinensis*) samples. *Food chem* **118**(4), 921–6.
- Son HJ, Kang JH, Hong EJ, Lim CL, Choi JY, and Noh BS (2009) Authentication of Sesame Oil with addition of perilla oil using Electric Nose Based on Mass Spectrometry. *Korean J Food Sci Technol* **41**(6), 609–14.