

산란 노계육에서 추출한 염용성 단백질의 열변성에 관한 연구

이성기 · 장호선 · 김희주*

강원대학교 축산가공학과, *한국식품개발연구원

Heat-Induced Denaturation of Salt Soluble Protein Extracted from Spent Layer Meat

Sung-Ki Lee, Ho-Sun Chang and Hee-Ju Kim*

Department of Animal Food Science and Technology, Kangwon National University

*Korea Food Research Institute

Abstract

Effects of protein concentration, ionic strength, pH, and temperature range on the heat-induced denaturation of salt soluble protein extracted from spent layer meat were investigated. Viscosity of salt soluble protein heated at 65°C for 30 min began to increase sharply above 7 mg/ml of breast protein concentration, and above 21 mg/ml of leg protein concentration, respectively. Both turbidity and viscosity showed the highest value in cooked protein solution with pH 6.0 and 1% NaCl. The turbidity of salt soluble protein started to increase continuously from 40°C to 80°C. The viscosity increased rapidly from 45°C to 60°C in breast protein, and increased from 50°C to 55°C in leg protein, respectively, and then kept relatively constant. Breast protein had higher viscosity than leg protein during heat-induced gelation. Therefore, salt soluble protein from spent layer meat was associated with denatured protein (turbidity change) prior to gelation (viscosity change) during heating. Breast protein showed lower thermal transition temperature, and better gel formation than leg protein during heating.

Key words: salt soluble protein, spent layer meat, viscosity, turbidity, protein denaturation, gelation.

서 론

노계육은 결체조직과 지방이 다량 함유되어 있고, 단백질과 수분함량은 상대적으로 적은 편이다. 축산농가에서 대량 출하되고 있는 산란노계가 저급 육가공용 원료로 이용되고 있지만, 일반 육계에 비해 가공적성이 떨어진다고(1). 가장 중요한 가공적성중에 하나인 육단백질의 gel은 추출된 염용성 단백질의 열변성에 의해 형성된다. 단백질의 gel화된 정도는 육제품의 조직감과 다즙성을 결정하는 중요한 품질지표이기도 하다. 육계에서도 나이가 들수록 단백질의 gel 특성이 변하는 것으로 알려지고 있다.

이 등(1995)(2)에 의하면 4주와 8주된 영계보다 24개월된 종계가 gel 형성에 많은 량의 단백질이 필요하며, 또 동일한 단백질 농도에서는 노계일수록 gel 형성이 잘 되지 않는다고 보고하였다.

육단백질이 초기에 열을 받으면 변성온도(T_d)보다 낮은 온도에서 단백질과 단백질간 상호작용에 의하여 응집(aggregation)되기 시작한다. 가열에 의해 변성되기 시작하는 myosin이나 actomyosin 결합 정도는 흡광도에 의한 탁도(turbidity)로 측정할 수 있다. 보통 육단백질의 결합현상(탁도증가)은 gel 형성전 온도에서 일어나 응집된다(3). 이어서 열에 의해 단백질이 변성 또는 개화(unfolding)로 말미암아 응집된 후 상호 교차결합으로 matrix가 형성되어 gel이 완성된다(4). 대부분 myosin과 actomyosin으로 조성된 염용성 단백질의 gel

Corresponding author : S.K. Lee, Department of Animal Food Science and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Kangwondo, Korea.

화 특성은 품종, 근육의 부위에 따라^(5,6), 또는 추출 용액의 단백질 농도나 pH, 염용액의 이온강도, 가열조건에 따라 각각 다르다^(7,8). 또한 가금육의 백색근에서 추출한 염용성 단백질이 적색근보다 더 높다고 여러 연구자들이 보고하고 있다^(9,10). Dudziak와 Foegeding(1988)⁽¹¹⁾은 칠면조 고기의 가슴 염용성 단백질이 다리보다 더 낮은 단백질 농도에서도 안정한 gel이 형성된다고 하였고, Foegeding(1987)⁽⁴⁾도 가슴에서 추출한 염용성 단백질이 다리보다 안정적인 gel이 형성되며, pH 6.0에서 가장 강도가 높았다고 하였다.

이와 같이 가공적성이 낮은 산란노계를 효과적으로 활용하기 위해 추출한 육단백질의 응집과 gel 형성과 같은 열변성에 관한 정보가 필요하다. 따라서 노계 가슴육과 다리육에서 추출한 염용성 단백질의 농도, 추출이온 강도, pH 및 가열온도 세기에 따라 단백질의 열변성 정도를 구명하기 위하여 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

시 료

사용된 계육은 72주된 산란노계(White Leghorn, Spent Layer)로서 도살후 0~2℃에서 24시간이 경과한 다음 가슴부위와 다리부위로 분리하여 과도한 지방과 결체조직을 제거하고 직경 6 mm plate를 통해 2회 분쇄한 뒤 염용성 단백질을 추출하였다.

염용성 단백질의 추출

염용성 단백질 추출은 Foegeding(1987)⁽¹²⁾의 방법을 약간 수정하여 Fig. 1과 같이 실시하였다. 즉, 분쇄된 원료육과 20 mM EDTA(pH 7) 용액을 1:2(w/v)로 혼합하여 waring blender에 넣고 2,500 rpm에서 6분간 혼합하였다. 이 혼합물을 원심분리기(Beckman, J2-21, rotor JA-10)에 넣고 2,500 rpm에서 20분간 원심분리시켰다. 상등액을 버리고 침전물에 1:2(w/v) 비율로서 19 mM pentasodium tripolyphosphate, 0.5M NaCl 용액을 넣고 원심분리, 여과, 회석, 재원심분리 과정을 거친 다음 침전시켜 회수하였다.

단백질 농도별 열변성 시험

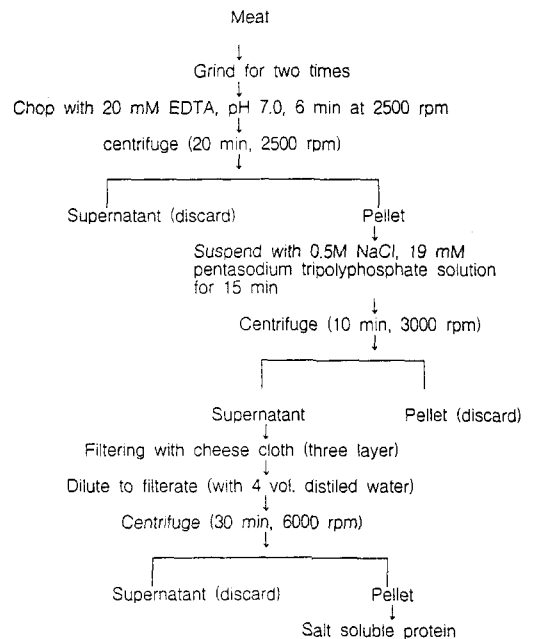


Fig. 1. Flow diagram for salt soluble protein preparation.

부위별 추출 근원섬유 단백질 용액을 내직경 10 mm 유리관에 5 ml를 넣고 25℃ 항온수조에 옮겨 15분간 정치시킨 후 분당 1℃의 가열속도로 가열하여 65℃에 도달 후 30분간 가열한 뒤 0℃ 얼음물에 1시간 냉각시켰다. 단백질과 단백질간 상호작용에 의하여 응집(aggregation) 정도를 확인하는 탁도(turbidity)는 1~6.5 mg/ml, gel 형성 정도를 확인하는 점도(viscosity)는 1~35 mg/ml의 농도에서 측정하였다.

pH별 단백질 용액의 점도

0.5M NaCl 용액에서 10 mg/ml의 단백질이 함유된 가열하지 않은 구와 65℃에서 30분간 가열한 구에서 pH에 따라 점도를 측정하여 비교하였다.

가열단계별 열변성 시험

단백질 용액을 내직경 10 mm 시험관에 5 ml를 넣고 25℃에서 15분간 정치시킨 후 분당 1℃의 속도로 가열하여 5℃간격으로 80℃까지 탁도와 점도를 측정하였다. 각 온도에 도달한 단백질 용액은 즉시 0℃ 얼음물에 옮겨 냉각시

킨 상태에서 시험에 이용하였다. 탁도는 pH 6.0, pH 7.0 및 pH 8.0에서 단백질 2 mg/ml 용액으로 실시하였고, 점도는 NaCl 0.1M, 1.0M 및 2.0M에서 단백질 10 mg/ml 용액으로 측정하였다.

분석방법

일반성분 분석은 A.O.A.C(1990)⁽¹³⁾법으로 실시하였다. pH 측정은 염용성 단백질 용액을 수소이온농도 측정기(Horiba F-12, Japan)로 측정하였다. 점도(viscosity)는 Brookfield digital viscometer(model DV-II)를 사용하여 내직경 10 mm 시험관에 넣고 spindle number 64, 12 rpm에서 측정하였다. 점도는 shear stress(dynes/cm²)/shear rate(sec⁻¹)×100으로 계산된 cps(centipoise 또는 mili-Pascal-second)로 표시하였다. 탁도(turbidity)는 가열한 염용성 단백질 용액을 냉각시킨 후 660 nm에서 흡광도로 측정하였다. 추출한 염용성의 단백질 농도는 Gornall 등(1949)⁽¹⁴⁾의 buiret 반응에 의하여 측정하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 실시하였다.

결과 및 고찰

육단백질이 열을 받아 단백질과 단백질간 결합이나 응집이 일어나는데 이와 같은 변성정도를 보통 탁도(turbidity)로 측정하고 있다⁽¹⁵⁾. Fig. 2에서 보는 바와 같이 노계육에서 추출한 염용성 단백질을 65℃에서 30분간 가열처리하였을 때 농도증가(1 mg/ml~6.5 mg/ml)에 따라 탁도가 증가하는 경향을 보였다. 열에 의한 염용성 단백질 용액의 탁도 증가는 그 만큼 단백질과 단백질간의 개화 또는 결합이 강하게 이루어지고 있음을 의미한다. 부위별로 보면 전 농도구간에 모두 가슴육이 다리육보다 탁도가 높았다(P<0.05). 이것은 가슴육 단백질이 열에 의해 더 응집이 강하게 이루어지고 있음을 말해준다. 이와 같이 부위별 단백질 용액의 탁도 차이는 근육 부위별 pH, 염용성 단백질의 추출량과 용해성의 차이가 있기 때문인 것으로 사료된다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 추출된 염용성 단백질의 농도별 gel 형성을 점도 변화로 나타내고 있다. 가슴에서 추출한 염용성 단백질의 점

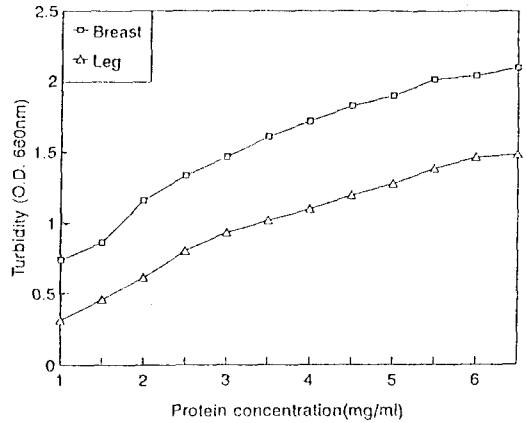


Fig. 2. Effects of protein concentration on turbidity of salt soluble protein extracted from breast and leg meat (Heated at 65℃ for 30 min and then cooled immediately in ice water for 1 hr. Viscometer ran at a setting of 12 rpm. Salt soluble protein was extracted with 0.5M NaCl at pH 7.0).

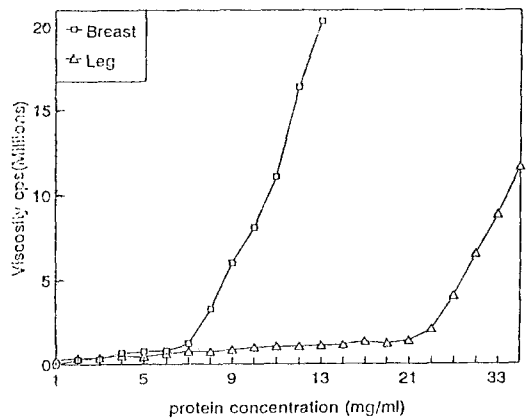


Fig. 3. Effects of protein concentration on viscosity of salt soluble protein extracted from breast and leg meat (Heated at 65℃ for 30 min and then cooled immediately in ice water for 1 hr. Viscometer ran at a setting of 12 rpm. Salt soluble protein was extracted with 0.5M NaCl at pH 7.0).

도는 7 mg/ml부터 증가하여 13 mg/ml일때 20×10⁶cps까지 급증하였다. 반면 다리에서 추출한 염용성 단백질은 21 mg/ml부터 점도가 증가하였다. 이와 같이 추출 단백질이 열에 의

해 gel화 되는데 가슴부위가 다리보다 적은 량의 단백질로도 gel이 형성됨을 알 수 있었다. 단백질 농도가 증가할수록 gel의 강도가 증가한다는 유사한 보고는 많다. O'Neill 등(1993)⁽¹⁶⁾은 토끼로부터 추출한 actomyosin은 단백질 농도가 ml당 30 mg에서 60 mg까지 증가할수록 stress나 stress energy가 증가하였다고 하였고, Xiong과 Brekke(1989)⁽¹⁷⁾는 닭고기 근원섬유 단백질을 20 mg/ml을 70°C에서 20분간 가열한 후 4°C에서 저장한 결과 다리육보다 가슴육에서 추출한 단백질이 gel의 penetration force가 더 높았다는 보고한 바 있다. 이와 같이 노계육 단백질에 있어서도 가슴육이 다리육보다 gel 형성이 유리하기 때문에 조직감을 살리는 가공제품의 원료로 사용할 경우 더 가치가 있다고 판단된다.

염용성 단백질 10 mg/ml이 함유된 용액에 pH를 조절하였을 때 가열여부에 따른 점도 변화는 Table 1과 같다. 비가열 단백질 용액에서는 pH가 증가할수록 점도가 약간 증가하는 경향을 보였을 뿐 처리구간 유의적인 차이가 없었다. 그러나 가열처리를 하였을 때 gel화 된 단백질의 점도는 pH가 증가할수록 증가하기 시작하여 pH 6.0에서 최대로 나타났다. 가열한 다리육의 단백질도 pH 6.0에서 최대의 점도를 나타내었으나 가슴육에 비해 월등히 낮은 수준을 보였다. 가열한 단백질의 점도가 변하는 이유는 육단백질이 열을 받으면 gel화 되는데 처음에는 분자가 개화(unfolding)되고 이어서 분자간 결합이 진행되어 gel 형성에 필요

Table 1. Effect of pH on viscosity¹⁾ of breast and leg protein²⁾ from spent layer meat (cps, millions)

pH	Raw		Cooked	
	Breast	Leg	Breast	Leg
4.5	0.22 ^a	0.05 ^b	5.8 ^c	0.35 ^c
5.0	0.30 ^a	0.15 ^b	6.7 ^b	0.60 ^b
6.0	0.48 ^a	0.28 ^b	11.4 ^a	1.50 ^a
7.0	0.63 ^a	0.30 ^b	9.1 ^b	1.14 ^{ab}
8.0	0.63 ^a	0.50 ^a	7.3 ^b	0.63 ^b

¹⁾ Ran the viscometer at 12 rpm

²⁾ Salt soluble protein(10 mg/ml protein) was extracted by 0.5M NaCl solution

^{a,b,c} Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$) within a column.

한 3차원 구조의 그물망이 형성되었기 때문이다⁽¹⁸⁾. Gel의 형성은 단백질과 단백질의 결합에 의한 열변환(thermal transition)과 관련되며 단백질 종류나 pH, 온도 영역에 따라 각각 다른 특성을 나타낸다. Xiong(1992)⁽¹⁹⁾은 닭에서 추출한 염용성 단백질을 pH 6.0으로 조절하였을 때 47~65°C에서 DSC상에 나타난 주요 변환점은 3개였다고 보고한 바 있다. 닭고기와 칠면조 고기에 있어서 단백질의 gel 강도가 pH 6.0에서 가장 높았다는 여러 학자들의 보고^(10,12)가 있지만, O'Neill 등(1993)⁽¹⁶⁾은 토끼에서 추출한 actomyosin 50 mg/ml을 70°C에서 30분간 가열하였을 때 pH 5.5에서 압착강도(compressive strength)가 가장 강했다는 다소 다른 보고도 있다. 이와 같이 pH 변화에 따른 gel 강도의 차이가 왜 일어나는지 명확한 작용기작은 알려지지 않았지만, actomyosin의 열안정성이 육의 등전점으로 갈수록 매우 감소되어⁽²⁰⁾ 압착강도를 증가시킬 것으로 설명되기도 한다. pH가 등전점에서 벗어날수록 단백질간 결합보다는 단백질 분자간 반발작용에 의해 단백질과 물간의 결합이 더 강하게 일어난다고 사료된다.

온도증가에 따른 탁도는 Fig. 4와 같다. 가슴육 단백질은 40°C에서 급격히 흡광도가 증가하기 시작하여 55°C~60°C 이후는 완만히 증가하

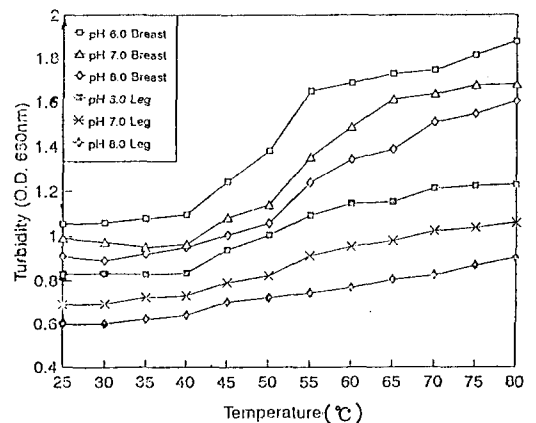


Fig. 4. Changes in turbidity of breast and leg protein by gradual heating at different pH (Viscometer ran at a setting of 12 rpm. Salt soluble protein was extracted with 0.5M NaCl at pH 7.0).

였다. pH에 따른 전 온도구간 혼탁 정도를 보면 pH 6.0 용액이 가장 높았고, pH 8.0이 가장 낮았다($P < 0.05$). 특히 가슴육 단백질의 탁도 증가는 다리육에 비해 pH에 따라 온도영역에서 변환되는 형태가 비교적 명확한 편이고, 전 pH 구간에서 높은 수준을 나타내고 있다($P < 0.05$). 다리육 단백질구도 가열온도가 40℃ 이후부터 탁도가 서서히 증가하지만 pH 6.0 용액에서만 변환온도가 어느 정도 명확할 뿐 pH 7.0과 pH 8.0은 명확치 않았고, 전반적인 탁도가 월등히 낮은 경향을 보였다($P < 0.05$). 이와 같이 단백질의 탁도가 낮은 것은 다리육 단백질간 결합정도나 응집정도가 가슴육에 비해 약하게 이루어지고 있음을 시사하고 있다. 열에 의한 단백질간의 결합은 gel 형성 전에 일어나므로 본 실험의 혼탁도가 40℃~45℃부터 시작된 것은 gel 형성 전에 단백질 결합이 이루어진다는 것을 의미하는 것이다. Foegeding 등 (1986)⁽³⁾도 열에 의해 탁도가 급증하는 현상은 근원섬유 단백질이 서로 결합 및 응집된 것이 지 침전되거나 gel화된 것은 아니라고 보고한 바 있다. Xiong과 Brekke(1990)⁽¹⁸⁾에 의하면 닭고기 단백질인 경우 48℃에서 탁도가 급증하였다고 하였다고 보고한 바 있다.

온도증가에 따른 산란노계육 단백질의 점도 변화는 Fig. 5와 같다. 점도의 증가수준과 급증 영역이 노계육의 부위에 따라 다소 차이가 있었다. 가슴 단백질의 점도는 45℃에서 60℃ 영역에서 급증하였고, 다리 단백질의 점도는 50℃에서 55℃ 영역에서 급증하였다. 대표적인 근원섬유 단백질인 myosin은 35~45℃에서 급격히 개화가 이루어지지만, gel은 보통 40~50℃에서 급격히 일어나서 60~70℃에서 일정해 진다고 한다^(21,22). 이와 같이 육단백질에서 gel 형성 개시온도가 다른 것은 육단백질의 열변환점의 특성, 축중에 따른 근원섬유 단백질의 열안정성, 근원섬유 아미노산의 말단기 구조 등에 따라 영향을 받는 것으로 생각된다.

노계육 부위별로 비교해 보면 50℃이후부터 가슴육 단백질의 점도가 다리육보다 월등히 높은 수준을 나타내었다($P < 0.001$). 이것은 염용성 단백질의 추출량과 순도 때문인 것으로 생각되는데, 닭고기 가슴육이 다리육보다 더 많은 근원섬유 단백질이 추출된다고 알려져 있다⁽²³⁾. 또한 적색근(다리육)은 M-line이 존재

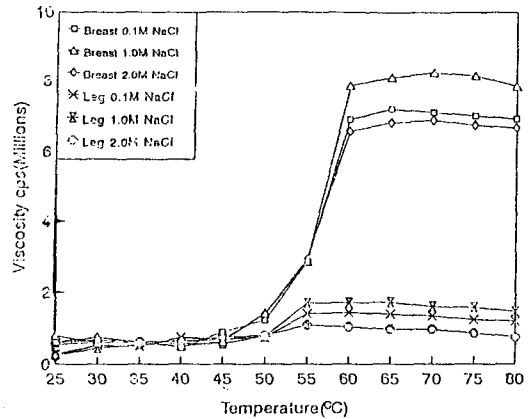


Fig. 5. Changes in viscosity of breast and leg protein by gradual heating at different NaCl concentration (Viscometer ran at a setting of 12 rpm. Salt soluble protein was extracted with 0.5M NaCl at pH 7.0).

하며 백색근(가슴육)에 비해 Z-line이 더 넓다는 것 등 근육의 구조적 차이 때문에 염용성 단백질이 영향을 받는 것으로 보고되기도 한다⁽²⁴⁾. 점도는 육단백질의 추출외에도 단백질이 소금에 의해 팽윤되고, 흐트러진 구조사이에 여러 결합이 형성되므로서 더 증가되는 것이다. 소금농도별로 비교해 보면 1M의 NaCl에서 추출한 단백질이 가장 높은 점도를 나타내었고, 2.0M이 가장 낮은 점도를 나타내었다. 열에 의한 점도의 증가는 노계육에서 추출된 염용성 단백질의 양과 용해도 정도에 따라 밀접한 관련이 있을 것으로 생각된다. 본 실험에서는 1M의 소금량이 가장 용해성이 좋은 것으로 판단되었으며 가열에 의한 gel 형성이 가장 잘 되는 것으로 나타났다.

요 약

산란노계의 가슴 및 다리육으로부터 염용성 단백질을 추출하여 부위별 열에 의한 변성정도를 고찰하였다. 65℃에서 30분간 가열한 염용성 단백질의 농도별 점도 변화를 보면 가슴육 단백질은 7 mg/ml 이후 부터, 다리육 단백질은 21 mg/ml 이후 부터 급격히 증가하였다. 가열한 염용성 단백질 용액은 pH 6.0과 1% NaCl에서 탁도와 점도가 가장 높았다. 25℃에

서 80℃까지 염용성 단백질을 가열시켰을 때 가슴육과 다리육 단백질의 탁도는 모두 40℃ 이후 부터 꾸준히 증가하기 시작하였다. 점도는 가슴육 단백질이 45℃에서 60℃, 다리육 단백질이 50℃에서 55℃ 영역에서 급증하였다. 그러므로 노계육에서 추출한 단백질의 변성은 응집(탁도증가) 후에 gel 형성(점도증가)이 되며, 가슴육 단백질이 다리육에 비해 더 낮은 농도에서 gel이 형성되었다. 또한 가슴육 단백질이 열변환 개시온도가 더 낮았고, 그 후 온도영역에서도 gel 형성 능력이 좋았다.

참고문헌

1. Kondaiah, N. and Panda, B. : Physico-chemical and functional properties of spent hen components. *J. Food Sci. and Technol.*, **24**, 267 (1987).
2. 이성기, 김희주, 강창기, 채영석 : 성장단계에 따른 적색 및 백색계육 염용성 단백질의 gel화 특성에 관한 연구. *한국축산학회지* **37**, 87 (1995).
3. Foegeding, E. A., Allen, C. A. and Dayton, W. R. : Effect of heating rate on thermally formed myosin, fibrinogen and albumin gels. *J. Food Sci.*, **51**, 104 (1986).
4. Foegeding, E. A. : Thermally induced changes in muscle proteins. *Food Technol.*, **42**, 58 (1988).
5. Carballo, J., Cavestany, M. and Jimenez-Colmenero, F. : Rheological changes during thermal gelation of meat batters containing surimi from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) or sardine (*Sardina pilchardus* (Walb)). *J. Sci. Food Agric.*, **59**, 117 (1992).
6. Jimenez-colmenero, F., Careche, J., Carballo, J. and Cofrades, S. : Influence of thermal treatment on gelation of actomyosin from different myosystems. *J. Food Sci.*, **59**, 211 (1994).
7. Asghar, A., Samejima, K. and Yasui, T. : Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **22**, 27 (1985).
8. Samejima, K., Egelanddal, B. and Fretheim, K. : Heat gelation properties and protein extractability of beef myofibrils. *J. Food Sci.*, **50**, 1540 (1985).
9. Asghar, A., Samejima, K. and Yasui, T. : Biochemical and functional characteristics of myosin from red and white muscles of chicken as influenced by nutritional stress. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 2217 (1984).
10. Xiong, Y. L. and Brekke, C. J. : Protein extractability and thermally induced gelation properties of myofibrils isolated from pre- and postrigor chicken muscles. *J. Food Sci.*, **56**, 210 (1991).
11. Dudziak, J. A. and Foegeding, E. A. : Gelation and thermal transitions in post-rigor turkey myosin actomyosin suspensions. *J. Food Sci.*, **53**, 1278 (1988).
12. Foegeding, E. A. : Functional properties of turkey salt-soluble protein. *J. Food Sci.*, **52**, 1495 (1987).
13. A. O. A. C. : Official Methods of Analysis, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1990).
14. Gornall, A. G., Bardawill, C. J. and David, M. M. : Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**, 751 (1949).
15. Acton, J. C., Hanna, M. A. and Stterlee, L. D. : Heat-induced gelation and protein-protein interaction of actomyosin. *J. Food Biochem.*, **5**, 101 (1981).
16. O'Neill, E., Morrissey, P. A. and Mulvihill, D. M. : Heat-induced gelation of actomyosin. *Meat Sci.*, **33**, 61 (1993).
17. Xiong, Y. L. and Brekke, C. J. : Changes in protein solubility and gelation properties of chicken myofibrils during storage. *J. Food Sci.*, **54**, 1141 (1989).

18. Xiong, Y. L. and Brekke, C. J. : Physicochemical and gelation properties of pre- and postrigor chicken salt-soluble proteins. *J. Food Sci.*, **55**, 1544 (1990).
19. Xiong, Y. L. : Thermally induced interactions and gelation of combined myofibrillar protein from white and red broiler muscles. *J. Food Sci.*, **57**, 581 (1992).
20. Ziegler, G. R. and Acton, J. C. : Heat-induced transitions in the protein-protein interaction of bovine natural actomyosin. *J. Food Biochem.*, **8**, 25 (1984).
21. Ishioroshi, M., Samejima, K. and Yasui, T. : Heat-induced gelation of myosin filaments at a low salt concentration. *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2807 (1983).
22. Samejima, K., Ishioroshi, M. and Yasui, T. : Relative roles of the head and tail portions of the molecule in heat-induced gelation of myosin. *J. Food Sci.*, **46**, 1412 (1981).
23. Maurer, A. J., Baker, R. C. and Vadehra, D. V. : The influence of type of poultry and carcass part on the extractability and emulsifying capacity of salt-soluble proteins. *Poultry Sci.*, **48**, 994 (1969).
24. Cassens, R. G. and Cooper, C. C. : Red and white muscle. In *Advances in Food Research*, Chichester, C. O., Mark, E. M. and Stewart, G. F. (Ed.). Academic Press, New York, p. 11 (1971).

(1998년 8월 29일 접수)