

부추(*Allium tuberosum*) 씨의 이화학적 특성과 항산화 활성

차재영 · 김성규 · 김현정 · 송재영¹ · 조영수*

동아대학교 생명자원과학대학 생명자원과학부

¹경상대학교 의과대학 미생물학교실

Chemical Compositions and Antioxidative Activity of Leek (*Allium tuberosum*) Seeds

Jae-Young Cha, Sung-Kyu Kim, Hyun-Jeong Kim, Jae-Young Song¹ and Young-Su Cho*

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

¹Department of Microbiology, College of Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-750, Korea

Abstract

The chemical compositions as amino acids, minerals, fatty acids, and total polyphenolic compounds of the seeds of leek (*Allium tuberosum*) were analyzed. The antioxidative activity of water soluble extract from leek seeds was also tested in DPPH (α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl) method. The chemical compositions of leek seeds were moisture 4.4%, crude protein 25.7%, crude fat 16.6%, and crude ash 2.9%. Major amino acid compositions were proline 11 g, glutamic acid 4.9 g, arginine 2.1 g, aspartic acid 1.6 g, leucine 1.3 g, valine 1.2 g, and methionine 1.1 g as per 100 g. Mineral contents were K 215 ppm, Ca 142 ppm, Fe 124 ppm, and Mg 100 ppm. Major fatty acid compositions were linoleic acid 71.9%, oleic acid 12.7%, palmitic acid 8.6%, and stearic acid 1.4%. The changes of contents in polyphenolic compound from leek seeds caused by heat treatment were also listed in the following order; 20°C(364 mg/100g), 40°C(462 mg/100g), and 60°C(551 mg/100g). Antioxidative activity as electron donating ability showed in the following order; 0.05% BHT(butylated hydroxytoluene)(45.6%) > 0.05% water-extract(31.3%) > 0.1% water extract(30.0%). On the basis of chemical analysis, the leek seeds showed to have relatively high contents of nutrients as amino acids, minerals, fatty acids.

Key words – leek seed, *Allium tuberosum*, chemical composition, antioxidation.

서 론

부추(*Allium tuberosum*)는 우리나라 농가에서 재배되고 있는 녹황색채소로서 실부추를 비롯한 10여종이 알려져 있

*To whom all correspondence should be addressed
TEL : 051-200-7586, 200-7501, FAX : 051-200-7505
E-mail : choys@mail.donga.ac.kr

다[14,24]. 부추는 allium속에 속하는 다년생 초본으로 최대 10년까지 재파종 없이 년 10회 정도의 수확이 가능한 채소로 독특한 맛과 향기가 있어서 이른봄부터 인경과 균엽을 식품소재로 사용해 오고 있다. 녹황색채소 중에서도 부추는 식이섬유와 클로로필이 풍부할 뿐 아니라, 비타민 A, B₁, C가 풍부하여 영양학적으로도 높이 평가되고 있다[22]. 부추는 allium 속의 마늘, 양파와 마찬가지로 항산화효과,

항균효과, 암예방효과 등의 생리적 기능과 함께 보혈, 청혈, 구충, 이뇨, 강심, 진통, 해독, 중풍, 치질, 당뇨 등 다양한 효험이 있는 것으로 알려져 있다[11,13]. 또한 부추에서 항혈전 성분인 adenosin과 약물대사에 관여하는 효소의 활성을 억제하는 1,2,3,4-tetrahydro- β -carbone-3-carboxylic acid 성분이 분리되어 보고된 바 있다[3-5,9,18].

부추는 7~8월 사이에 개화하기 시작하여 10월경에 검은색의 씨가 들어있는 열매가 여물게 되는데, 이를 “구자”라 하여 한방에서 약재로 사용되고 있으며, 부추의 생리활성은 대부분 구자에서 유래된 성분들이다[10]. 이처럼 부추의 근엽은 대부분 식용으로 소비되고 있으나 부추씨(구자)는 한약재로 일부 소비되고 있을 뿐 생산량에 비해서 소비량이 극히 미진한 상태에 있다. 최근, 항신료 및 식용식물 등으로부터 생물활성 물질을 탐구하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 이들 폐놀계 성분들은 항산화 작용을 가진 대표적인 물질로 보고되고 있다[2,12,20,25]. 이상과 같이 부추씨는 매년 파종을 하지 않기 때문에 보다 유효 적절하게 이용할 수 있는 방법을 모색하여 소비를 촉진시킬 필요성이 제기되며, 또한 구자의 약효성이 있기 때문에 보다 많은 소비로 인해 국민의 건강증진뿐 아니라 농가소득에도 일익을 담당할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 이상과 같은 배경 하에서 부추씨의 이화학적 특성을 살펴보고 항산화 효과에 대해서도 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험재료의 부추씨는 1999년 11월 경남 진주시 부근의 농가에서 채취하여 음지에서 충분히 말린 후 70°C에서 하룻밤 건조시켜 분말화 시켜 -20°C에서 보관하면서 시험에 사용하였다.

일반성분 분석

부추씨의 수분, 조단백질, 조지방 및 조회분 등의 일반성분은 A.O.A.C. 방법으로 정량하였다. 분쇄한 부추씨는 105°C에서 건조시켜 수분함량을 구하였다. 조단백질은 micro Kjeldahl 법으로 전질소 함량을 구한 후 질소 환산계수 6.25를 곱하여 산출하였다. 조지방은 Soxhlet법으로 추출한 다음 정량 하였으며, 조회분은 화학법으로 정량하였다.

아미노산 분석

분쇄한 부추씨 100 mg을 가수분해용 시험관에 취하여 6 N HCl 3 mL를 가하여 털기시킨 후 질소가스를 충진하여 밀봉한 후 110°C에서 24시간 가수분해 시켰다. 가수분해된 시료를 개관하여 염소를 제거하고, 0.2 N sodium citrate buffer (pH 2.2)에 용해시켜 0.2 μm membrane filter로 여과하여 아미노산 자동분석기(Biochrome 20, Pharmacia Biotech. Co., U.S.A.)로 분석하였다.

무기질 분석

우 등의 방법[23]에 따라 분쇄하지 않은 부추씨를 전처리한 후 원자흡수 분광분석기(Perkin Elmer AAnalyst 300, U.S.A.)로 측정하였다.

지방산 분석

분쇄한 부추씨로부터 총지질은 Folch 등의 방법[6]에 따라 chloroform : methanol 2:1 혼합액으로 추출하였다. 분리된 지방에 methanol : HCl(5 : 1, v/v) 용액을 가하여 70°C에서 3시간 methylation시킨 후 hexane으로 추출하여, omega wax capillary column (30 m × 0.25 mm, Supelco, U.S.A.)을 사용하여 가스クロ마토그래피(GC-17A, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 분석하였다. FID형 검출기, 캐리어가스는 헬륨을 사용하였으며, column, injector 및 detector 온도는 180°C, 250°C 및 250°C에서 분석하였다. 지방산 표준품은 Sigma Chemical Co.의 지방산 methylester를 사용하였으며 GC에서 분리된 각 지방산 methylester의 면적과 총 면적에 대한 각 peak 면적(%)을 계산하여 각 지방산의 조성비로 하였다.

폴리페놀 화합물의 측정

폴리페놀 화합물의 함량은 폐놀성 물질이 phosphomolybdate와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 Folin-Denis 법[21]을 약간 변형시켜 측정하였다. 이때 분말화한 부추씨로부터 폴리페놀 화합물의 추출 수율을 높이기 위하여, 폴리페놀과 반응하여 갈변을 일으키는 갈변효소 polyphenol oxidase를 불활성화시켜[15] 폴리페놀의 손실을 방지하기 위한 수단으로 20°C, 40°C 및 60°C에서 각각 20분간 열을 가한 후 3,000 rpm에서 원심분리하여 상층액을 취하여 동결건조 시킨 수용성 추출물을 사용하여 폴리페놀 화

합물 함량을 측정하였다. 즉, 부추씨의 수용성 추출물을 1 mg/1 ml 증류수에 녹인 다음 0.2 ml를 취하여 증류수를 가하여 2 ml로 만든 후, 여기에 0.2 ml Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합하고 3분간 실온에서 방치하였다. 정확히 3분 반응시킨 후 Na₂CO₃ 포화용액 0.4 ml를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 ml로 만든 후, 실온에서 1시간 방치하여 상층액을 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 탄닌산(tannic acid) 1 g을 50% 메탄올 용액 1 ml에 녹이고 최종농도가 0, 0.1, 0.3, 0.5 및 1.0 mg/ml 용액이 되도록 취하여 위에서와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 작성한 tannic acid 표준곡선으로부터 부추씨의 폴리페놀 화합물 함량을 구하였다.

항산화력 측정

부추씨 수용성 추출물의 항산화력을 DPPH를 활용시키는 능력으로 조사하였다. DPPH 용액은 100 ml 에탄올에 DPPH 16 mg을 녹인 후 증류수 100 ml를 혼합하여 Whatman filter paper No. 2에 여과시켜 만들었다. 이 용액 5 ml에 일정농도(0.05, 0.1%)의 시료용액 1 ml를 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시킨 후 528 nm에서 흡광도의 감소로 측정하였다[19]. 이때 대조구인 BHT는 0.05% 농도로 첨가하여 위에서와 동일한 방법으로 흡광도 감소를 측정하였다. DPPH를 이용한 전자공여능(electron donating ability; EDA)[8]은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{EDA} = \frac{\text{시료무첨가구 흡광도} - \text{시료첨가구 흡광도}}{\text{시료무첨가구 흡광도}} \times 100$$

결과 및 고찰

일반성분

부추씨의 일반성분은 Table 1과 같다. 부추씨의 조단백질 함량은 25.7%, 조지방 함량은 16.6%, 조회분 함량은 2.9%, 수분 함량은 4.4%였다.

아미노산 조성

부추씨의 아미노산 조성을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 건물 중량 100 g 당 proline 11.03 g으로 가장 높았다.

Table 1. The Chemical compositions in leek (*Allium tuberosum*) seeds.

Moisture	4.38±0.21
Crude protein	25.69±1.33
Crude fat	16.57±1.78
Crude ash	2.90±0.41

Values in the table are the average of three samples.

Table 2. The concentrations of amino acid in leek(*Allium tuberosum*) seeds (g/100 g)

Proline	11.03
Glutamic acid	4.91
Arginine	2.17
Aspartic acid	1.61
Leucine	1.31
Lysine	1.27
Valine	1.16
Methionine	1.15
Isoleucine	0.97
Glycine	0.95
Phenylalanine	0.94
Threonine	0.88
Serine	0.87
Histidine	0.54
Tyrosine	0.36

Values in the table are the average of three samples.

다음으로 glutamic acid 4.91 g, arginine 2.17 g, aspartic acid 1.61 g, leucine 1.31 g, valine 1.16 g, methionine 1.15 g 순으로 나타났다. 최 등[3]은 부추 잎으로부터 유리 아미노산의 상대적 함량(%)을 나타낸 결과에서는 alanine 9.90%에서 가장 높았으며, glutamic acid 8.67%, valine 7.44%, aspartic acid 6.31%, arginine 5.00% 순으로 나타나 부추씨와 약간 다른 경향을 나타내었다. 그러나 부추 잎과 씨에서 공통적으로 glutamic acid와 aspartic acid의 산성 아미노산이 높은 농도로 함유되어 있었다. 식품 성분표에서 부추 잎의 구성 아미노산 조성에서도 전질소 g당 glutamic acid 650 mg, aspartic acid 490 mg, leucine 390 mg, alanine 330 mg, valine 290 mg 등으로 나타나 부추 잎과 씨에서 동일한 양상을 보였다. 그러나 proline의 경우는 부추씨에서는 높게 나타났으나, 부추 잎에서는 비교적 낮게 나타나 큰 차이를 보였다.

무기질 조성

부추씨의 무기질 조성은 Table 3과 같다. 부추씨의 무기질 성분 중 칼륨 215 ppm, 칼슘 142 ppm, 철 124 ppm, 마그네슘 100 ppm 순으로 나타났다. 생체의 주요 무기질 구성성분인 칼슘과 철분은 부추씨에 상당히 많이 함유하고 있어서 현대인에게서 부족하기 쉬운 무기질을 공급할 수 있는 좋은 공급원으로 이를 적절하게 이용할 수 있다면 사용 가치가 높을 것으로 판단된다.

지방산 조성

부추씨의 지방산 조성은 Table 4와 같다. 주요 지방산으로 linoleic acid ($C_{18:2}$, n-6) 71.9%, oleic acid ($C_{18:1}$) 12.7%, palmitic acid ($C_{16:0}$) 8.6% 및 stearic acid ($C_{18:0}$) 1.4% 순으로 전체의 약 93%를 차지하였으며, 구성비율에 있어서는 큰 차이를 보였다. 황 등[8]도 포도씨로부터 지방산 조성을 분석한 결과 주요 지방산으로 linoleic acid 71%, oleic acid 17.5%, palmitic acid 8.5%, and stearic acid 2.1% 순으로 나타나 본 실험 결과와 비슷한 경향을 보였다.

열침에 따른 폴리페놀 화합물의 함량변화

부추씨로부터 열침 온도에 따른 총폴리페놀 화합물의

함량 변동을 알아보기 위하여 20°C, 40°C 및 60°C에서 각각 20분간 처리하여 측정한 결과는 Table 5와 같다. 열침 온도에 따른 폴리페놀 화합물의 함량변동은 20°C 추출물에 비해 40°C 추출물에서 27%, 60°C 추출물에서 51% 증가하였다. 이러한 결과는 폴리페놀 화합물이 열에 의해 쉽게 추출되므로써 수율이 증가한 것으로 생각되며, 또한 불용성 폴리페놀 화합물이 고분자 화합물로부터 유리되어 유리형 폴리페놀 화합물로 분해 된 것으로 시사된다[7]. 저자들도 꾸지뽕나무 열매로부터 같은 방법으로 열침 온도에 따른 폴리페놀 화합물의 함량 변동을 측정한 결과에서도 비슷한 경향을 보였다[2]. 또한 애사과의 열침에 따른 폴리페놀 화합물의 함량변동을 측정한 결과에서도 동일한 경향을 보고한 바 있다[16]. 이는 식물 중에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물과 그 산화 효소인 polyphenol oxidase의 반응에 의해 폴리페놀 화합물이 quinone 형태로 산화되어 중합되므로서 melanin이 형성되는 갈변현상에 의한 것으로 알려져 있다[17]. 따라서 60°C에서 20분간 열처리에 의해 polyphenol oxidase를 불활성화시켜 폴리페놀 화합물의 손실을 방지하기 때문에 폴리페놀 화합물의 추출수율이 증가된 것으로 사료된다.

항산화 실험

DPPH는 비교적 안정한 레디칼로서 메탄올에 녹이게 되면 보라색을 나타내는데 식물 추출물 등의 항산화 활성을 갖는 물질과 반응하게 되면 색이 소실되는 원리를 이용한 항산화 측정법이다. 이러한 DPPH법을 이용한 전자공여능 측정법은 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높기 때문에 많이 이용되는 방법이다. 본 실험에서 부추씨 수용성

Table 3. The concentration of minerals in leek(*Allium tuberosum*) seeds (ppm)

K	214.9
Ca	142.0
Fe	124.3
Mg	99.6
Mn	30.8
Na	25.9
Cu	23.3

Values in the table are the average of three samples.

Table 4. The compositions of fatty acid in leek(*Allium tuberosum*) seeds (%)

Palmitic acid	8.60
Stearic acid	1.44
Oleic acid	12.71
Linoleic acid	71.93
Arachidic acid	0.39
Behenic acid	0.77

Values in the table are the average of three samples.

Table 5. The changes of total polyphenolic compound by heat treatment in leek(*Allium tuberosum*) seeds

Total polyphenolic compounds (mg/100 g dry weight water extract) ^{a)}	
20°C	364±3
40°C	462±6
60°C	551±9

^{a)}tannic acid equivalent by Folin-Denis method.

Values in the table are the average of four samples.

Table 6. Electron donating ability of water-extract from leek(*Allium tuberosum*) seeds (unit: %)

Control	100.00
BHT (0.05%)	45.58
Water-extract (0.05%)	31.28
Water-extract (0.1%)	29.99

Values in the table are the average of three samples

추출물과 인공합성 항산화제인 BHT를 DPPH 환원법으로 항산화 활성을 측정한 결과, 부추씨는 BHT 보다 약간 활성이 낮게 나타났다(Table 6). 김 등[12]도 돈지 및 팔유를 기질로 하여 한약재 에탄올 추출물을 이용한 항산화 활성 측정에서 대부분 약재 추출물에서 항산화 효과를 나타내었으며, 부추씨(구자) 에탄올 추출물도 사용된 시료의 보통수준을 보였다. 또한, 박 등[20]은 부추로부터 아세톤 추출물을 이용하여 흰쥐의 간조직을 이용한 지질과산화 반응에서 시료 무첨가구에 비해 오히려 약간 증가하는 경향을 보고한 바 있다. 따라서, 부추 잎과 씨 추출물에 의한 항산화 활성은 대체로 약한 것으로 시사되었다.

요 약

식용식물 이면서 한방재료로 이용되고 있는 부추의 이용 효율을 증대시킬 목적으로 부추씨의 이화학적 특성과 수용성 추출물의 항산화 활성을 측정하였다. 부추씨의 일반적 조성을 보면 조단백질 25.7%, 조지방 16.6%, 조회분 2.9%, 수분 4.4%로 나타났다. 아미노산 조성은 건물 중량 100g 당 proline 11.0 g으로 가장 높았으며, glutamic acid 4.91 g, arginine 2.12 g, aspartic acid 1.62 g, leucine 1.31 g, valine 1.16 g, methionine 1.15 g 순으로 나타났다. 부추씨의 무기질 성분은 칼륨 215 ppm, 칼슘 142 ppm, 철 124 ppm, 마그네슘 100 ppm 순으로 나타나 칼슘과 철분을 많이 함유하였다. 주요 지방산으로 linoleic acid ($C_{18:2}$) 71.9%, oleic acid($C_{18:1}$) 12.7%, palmitic acid($C_{16:0}$) 8.6% 및 stearic acid($C_{18:0}$) 1.4% 순으로 전체의 약 93%를 차지하였다. 부추씨로부터 열침 온도에 따른 총폴리페놀 화합물의 함량 변동은 20°C 추출물에 비해 40°C 추출물에서 27%, 60°C 추출물에서 51% 증가하였다. 부추씨 수용성 추출물을 DPPH 환원법으로 항산화 활성을 측정한 결과, 부추씨는 BHT 보

다 활성이 낮게 나타났다. 이상과 같이 부추씨는 아미노산, 무기질 및 지방산을 풍부하게 함유하고 있어 영양적인 면에서도 상당한 가치를 가지는 식품재료로 이용될 가능성이 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
- Cha, J. Y., H. J. Kim, C. H. Chung and Y. S. Cho. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenoic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1310-1315.
- Choi, J. S., J. Y. Kim, J. H. Lee, H. S. Young and T. W. Lee. 1992. Isolation of adenosine and free amino acid composition from the leaves of *Allium tuberosum*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 286-290.
- Choi, J. S., S. H. Park and I. S. Kim. 1989. Studies on the active principles of wild vegetables on biotransformation of drug. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 117-123.
- Choi, J. S., J. Y. Kim, W. S. Woo and H. S. Young. 1988. Isolation of a β -carboline alkaloid from the leaves of *Allium tuberosum*. *Arch. Pharm. Res.* **11**, 270-274.
- Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane-Starley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.
- Hong, M. J., G. D. Lee, H. K. Kim and J. H. Kwon. 1998. Changes in functional and sensory properties of chicory roots induced by roasting processes (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 413-418.
- Hwang, J. T., H. C. Kang, T. S. Kim and W. J. Park. 1999. Lipid component and properties of grape seed oils. *Korean J. Food Nutr.* **12**, 150-155.
- Kameoka, H. and A. Miyake. 1974. The constituents of the steam volatile oil from *Allium tuberosum* Rottler. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **48**, 385-390.
- Kangjoshineuhakwon. 1985. Jungyakdesajon (2nd) So-hakkyan p.2383.
- Kim, S. J. and K. H. Park. 1996. Antimicrobial substances in leek (*Allium tuberosum*). *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 604-608.
- Kim, I. W., D. H. Shin, and U. Choi. 1999. Isolation

- of antooxidative components from the bark of *Rhus verniciflua* STOKES screened from some Chinese medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 855-863.
13. Kwak, Y. J., H. J. Jun, M. J. Lee, T. W. Kwon and J. S. Kim. 1998. Modulation of anticarcinogenic enzyme and plasma testosterone level in male mouse fed leek-supplemented diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 968-972.
 14. Lee, C. B. 1982. *Dehanshikmuldogam*, Hyangmoonsha, Seoul, p.204.
 15. Lee, J. H. and S. R. Lee. 1994. Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 310-316.
 16. Lee, J. J., C. S. Kim, S. H. Kim, C. S. Huh and Y. J. Baek. 1999. Changes of polyphenol contents in unripe apples according to heat treatments. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 147-152.
 17. Lee, S. S. and K. R. Kim. 1991. Studies on the internal browning of apple fruits caused by excessive boron application III. Correlation between internal browning of fruits and polyphenol content (in Korean). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **32**, 314-323.
 18. Mackenzie, I. A. and D. A. Ferns. 1977. The composition of volatiles from different parts of *Allium tuberosum* plants. *Pytochemistry* **16**, 763-768.
 19. Mitsuda, H., K. Yasumoto, and K. Iwami. 1966. Antioxidative action of indol compounds during the antioxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuro* **19**, 210-214.
 20. Park, J. C., S. K. Chung, J. H. Lee, J. M. Hur, M. R. Choi, S. H. Song and J. W. Choi. 1997. Effects of the components and extracts of some edible and medicinal plants on the formation of lipid peroxide in rat liver homogenate. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 1159-1163.
 21. Swain, T., W. E. Hillis, and M. Ortega. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
 22. The Korean Nutrition Society. 1995. *Recommended dietary allowances for Koreans*. 6th revision. Jinsu Pub. Co., Seoul, p. 248.
 23. Woo, S. J. and S. S. Ryuu. 1983. Preparation method for atomic absorption spectrophotometry of food samples. *Korean J. Food Sci. Technol.* **15**, 225-230.
 24. Yoo, S. O. and J. H. Bae 1993. Investigation of Korean native Chinese chives on flower bud differentiation. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **34**, 395-401.
 25. Yoshida T., T. Saito and S. Kadoya. 1987. New acylated flavonol glucosides in *Allium tuberosum* Rottler. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 97-101.